

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



# [12] 发明专利说明书

专利号 ZL 01823637.5

[51] Int. Cl.

A01N 63/02 (2006.01)

A01P 7/00 (2006.01)

[45] 授权公告日 2007 年 10 月 24 日

[11] 授权公告号 CN 100344234C

[22] 申请日 2001.9.17 [21] 申请号 01823637.5

[86] 国际申请 PCT/AU2001/001169 2001.9.17

[87] 国际公布 WO2003/024223 A 0.3.27

[85] 进入国家阶段日期 2004.3.16

[73] 专利权人 伊莱利利公司

地址 美国印第安纳州

[72] 发明人 L·B·罗维 J·T·罗斯维尔

[56] 参考文献

US5202242A 1993.4.13

WO0002453A1 2000.1.20

US6001981A 1999.12.14

审查员 毕雯倩

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 张元忠 庞立志

权利要求书 1 页 说明书 25 页

[54] 发明名称

杀虫制剂

[57] 摘要

本发明涉及防治或消灭一般在家畜上的虱目、蚤目和蜱螨目害虫的活性组合物，包括至少一种 A83543 化合物和至少一种大环内酯的增效组合。本发明还涉及活性组合物在杀虫制剂中的应用、制剂本身以及这些制剂作为杀虫剂，特别是在防治所有虱目、蚤目和蜱螨目害虫品种上的多种应用。上述的应用包括防治家畜上的上述外寄生虱目、蚤目和蜱螨目害虫，所述家畜包括但不限于绵羊、牛、家禽、猪、山羊、骆驼、马、狗和猫。

1. 一种防治或消灭家畜害虫的内吸活性组合物，该组合物包含：  
0.1-40%重量的多杀菌素或其盐和大环内酯按 10:1-1:10 重量/重量比的组合，所述的大环内酯选自伊维菌素，和  
60-99.9%重量的至少一种兽医可接受的载体、稀释剂或赋形剂；  
其中所述害虫选自虱目、蚤目和蜱螨目；所述家畜选自羊、牛、家禽、猪、山羊、骆驼、马、狗和猫。
2. 根据权利要求1的活性组合物，其中该组合物为口服剂型、肠胃外剂型或外用剂型。
3. 根据权利要求1的活性组合物，其中该组合物适合于以饵剂施药。
4. 根据权利要求2的活性组合物，其中所述外用剂型选自点注剂、倾注剂、喷剂、浸渍剂、洗液、凝胶、药膏、油膏、乳油、棒剂、肥皂、洗发剂、喷射流体和喷射/喷洒途径组合物。
5. 根据权利要求4的活性组合物，其中该活性组合物是适合于局部施用于家畜外表皮的倾注组合物。
6. 10:1-1:10 重量/重量比的多杀菌素或其盐和大环内酯的组合在制备一种防治或消灭家畜的虱目、蚤目和/或蜱螨目害虫的内吸活性组合物中的用途，其中所述的大环内酯选自伊维菌素，所述家畜选自羊、牛、家禽、猪、山羊、骆驼、马、狗和猫。
7. 根据权利要求6的用途，其中所说的活性杀虫组合物是局部用组合物。
8. 根据权利要求6的用途，其中所说的活性杀虫组合物是饵剂组合物。

## 杀虫制剂

### 技术领域

本发明涉及在杀虫制剂中适于用作活性剂的杀虫活性化合物的组合、制剂本身以及这些制剂作为杀虫剂，特别是在防治所有虱目、蚤目和蜱螨目害虫上的多种应用。上述的应用包括防治家畜上的上述外寄生虱目、蚤目和蜱螨目害虫以及上述制剂防治上述害虫的家庭和农业应用，所述家畜包括但不限于绵羊、牛、家禽、猪、山羊、骆驼（camelids）、马、狗和猫。

### 发明背景

历史上，对家畜和作物最大的危害是由害虫如昆虫、真菌、线虫和微生物造成的，并且继续由它们来危害。特别是昆虫，其代表了一个重要因素，占据了所有活生物体的大多数，构成了所有动物品种的大约 72%。约 1% 的昆虫被认为是害虫，因为它们侵袭人类和/或家畜，给人类、动物和植物传播病害，摧毁作物、物品和建筑并竞争食物和其它的必需品。据估计由于昆虫的存在造成了世界范围的巨大的农业损失。

家畜包括有农业价值的动物如绵羊、牛、马、山羊、猪和其它反刍动物以及单胃动物，它们几乎总是遭到害虫活动的侵袭，这些害虫包括昆虫、害螨、蜱螨目、蚤目、虱目和食毛目。外寄生虫如蜱、虱和蚤刺激动物，以低质量的畜皮、羊毛或绵羊皮、低质量的肉类/组织、重量的减少、甚至由于动物携带有害寄生虫而死亡的形式造成经济损失。

由昆虫所造成的人类和动物病害所带来的损失也是巨大的。事实上，昆虫被认为是人类和高级动物的超过 250 种病原病毒的载体，蚊子传播疾病如疟疾和淋巴丝虫病所造成的人类死亡数目是巨大的。苍蝇也传播人类和动物相关的病害如砂眼、锥虫病和河盲。

但是，在接近一百万节肢动物包括虱、蜱、蝇和螨中，只有一小部分需要进行防治。迄今，防治昆虫和其它害虫的主要方法，特别是有关家畜（如绵羊、牛、山羊、马和猪）上防治的主要方法是施用合成的化学杀虫剂组合物。据估计世界上有至少 35,000 种由化学药品作为活性成分的

制剂化的杀虫剂产品。上述杀虫剂产品包括抗菌剂、杀幼虫剂、杀虫剂、动物药浴剂、杀害鸟剂和消毒剂。

20 世纪 40 年代以来化学杀虫剂的广泛应用导致了大量问题的产生，包括广泛的昆虫抗性、次要害虫的出现、对人和动物健康的危害以及对鱼和鸟类的有害影响、环境污染和新杀虫剂经济成本的增长。

许多昆虫种类对某些杀虫剂产生了抗性，因此在防治实践中需要进行更换。曾经宽的害虫谱变成了多抗性。昆虫基因组中具有长期效应的抗性基因成功的排除了再利用杀虫剂来防治带有抗性基因的昆虫种群。

农药残留以及它们随后的许多潜在的对人类、动物和环境的危险也被视为是由使用化学药品所造成的主要问题之一，特别是那些含有有机磷酸酯或人工合成拟除虫菊酯作活性剂的制剂。除了微生物杀虫剂外，几乎所有的杀虫剂都导致了多种化学药品及其降解产物或代谢产物的残留，尽管进行了食品加工，但在食品中仍有可以探测的量(ppb 至 ppm)存在。考虑到农场动物上杀虫剂的使用，组织/肉类残留也是一重要问题。

使用这些杀虫剂所带来的潜在人类危险包括对杀虫剂的急性毒性反应如中毒、皮肤和眼睛刺激，以及可能的长期影响如癌症、出生缺陷、和生殖紊乱。急性吸入毒性和皮肤渗透也有潜在的危险。由于反复的暴露在化学药品下，经过一段时间后会也会引起人类健康威胁。

特别地，目前使用的活性成分人工合成拟除虫菊酯和有机磷酸酯通常用于杀虫制剂中防治虱和蝇，特别是绵羊上的虱和蝇，这些活性成分对动物和施用它们的人类操作者都有毒。农民或操作者手拿杀虫剂浓缩物和使用大体积的经稀释的杀虫剂时的暴露是一个需要关注的问题。另外，操作员可能不仅通过口，而且通过呼吸（如喷雾漂移）和皮肤吸收（偶尔溢出）而摄入杀虫剂。使用有机磷酸酯要特别注意，偶然的暴露可造成急性和慢性神经系统中毒。

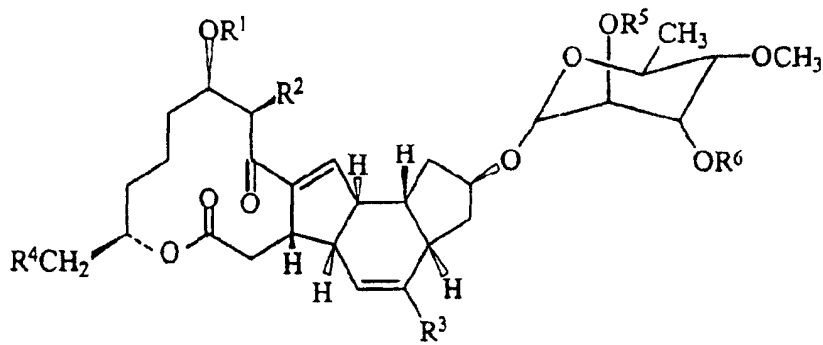
因此，昆虫和其它害虫的防治寻求直接脱离单一的依赖于杀虫剂，而转向有利于环境的经济的昆虫和害虫防治（病虫害综合治理）。生物防治用例如病毒、细菌、真菌和原生动物的病原物侵染昆虫，其使用得到了满意的效果，因为这些微生物杀虫剂对昆虫害虫是高选择性的，并且不会留下毒性残留。但是这些生物杀虫剂也不是没有问题，

例如大范围施用以及限定天敌/寄生虫/病害时的困难。另外，它们还有残效期短和极度特异性的缺点，限制了普遍使用。

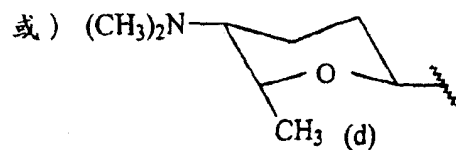
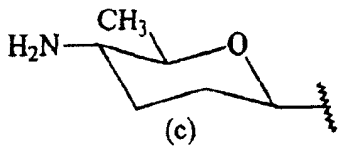
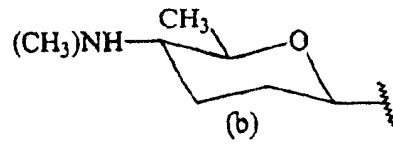
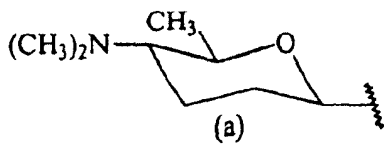
近来在使用杀虫剂的区域通过释放不育的雄性昆虫进行生物防治。最近也通过有害突变体如染色体易位的大量导入而使用了基因工程。但是，这种方法是非常昂贵的，在不育的雄性计划释放前需要严格的标准。使大量昆虫害虫种群不育的化学不育剂也是公知的，但由于是强烈的致癌物质，妨碍了它们的使用。

化学杀虫剂的应用和它们的环境和经济寿命，自然危害和持续残留的长短以及害虫抗性的增长，加上许多化学杀虫剂的高毒性，促使人们寻找防治昆虫和其它害虫的新物质或方法。

因此在杀虫剂中需要用作活性剂的化合物和它们的组合，特别用来防治家畜或其环境上的昆虫，所述化合物和组合在低剂量下就有效，有生物选择性，对人类、作物、经济动物、水生生物和鸟类低毒并且高度安全。上述化合物和组合必须对环境安全，因此一定要证明它们对环境有低的影响，并且经济可行可大规模使用。另外，昆虫或其它害虫必须对上述化合物或组合没有或几乎没有抗性。发酵产物 A83543，也称多杀菌素，包括土壤放线菌 (*Saccharopolyspora spinosa*) 制备的一族相关化合物 (多杀菌素)。这些是由发酵产物自然衍生而来，相对于目前使用的有机衍生化合物 (如人工合成拟除虫菊酯、有机磷酸酯、有机氯和氨基甲酸酯) 具有肯定的安全谱 (positive safety profile)，并且已经表现出了良好的杀虫活性。因此，“A83543 化合物”与“多杀菌素和衍生物及其类似物”范围相同，指包含与 12 元大环内酯稠合的 5, 6, 5-三环系、中性糖 (2N, 3N, 4N-三-O-甲基鼠李糖) 和氨基糖 (forosamine) 的成分。A83543 的一族自然成分包括 EPO 专利申请 No. 0375316 中所述的一类化合物，并具有下面的通式：



其中 R<sup>1</sup> 是 H 或选自



, R<sup>2</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>5</sup> 和 R<sup>6</sup> 是氢或甲基; 或 R<sup>1</sup> 不是氢时的酸加成盐。

来自 A83543 发酵产物的一族化合物如下所示, 包括单独的化合物 A83543A、A83453B、A83543C、A83453D、A83543E、A83453F、A83543G、A83453H、A83543J、A83453L、A83543M、A83453N、A83543Q、A83453R、A83543S、A83453T、A83453U、A83543V、A83453W、A83453X。Boeck 等人在 US 专利 Nos 5, 362, 634、5, 496, 932 和 5, 571, 901 中描述了多杀菌素 A-H 和 J 及其盐, 加入此处作为参考。Mynderse 等人在 US 专利 No, 5, 202, 242 中描述了多杀菌素 L-N、它们的 N-二甲基衍生物及其盐, 加入此处作为参考。Turner 等人在 US 专利 Nos 5, 591, 606、5, 631, 155 和 5, 767, 253 中描述了多杀菌素 Q-T、它们的 N-二甲基衍生物及其盐, 也加入此处作为参考。多杀菌素 K、O、P、U、V、W 和 Y 由 DeAmicis, C. V. 等人在 American Chemical Society' Symposium

Series 的论文中进行了描述: Phytochemicals for pest Control (1997), 11章“Physical and Biological Properties of Spinosyns: Novel Macrolide Pest-Control Agents from Fermentation” pp 146-154.

多杀菌素 A (A83543A) 是第一个从土壤放线菌的发酵液体培养基中分离并鉴定的多杀菌素。随后对发酵液体培养基的细查显示土壤放线菌的母株 (parent strain) 中产生了若干多杀菌素 (A83543A-J)。比较多杀菌素 A、多杀菌素 B-J, 氨基糖的氨基取代方式, 在环系和中性糖上所选的位置不同。土壤放线菌的菌株所制备的多杀菌素混合物中主要成分是多杀菌素 A (~85%) 和多杀菌素 D (~15%)。这两种多杀菌素是目前公认的用作杀虫剂的最强的活性成分。

与多杀菌素相似, 大环内酯先前也表现出良好的杀虫效果。大环内酯具有复合的环结构, 包括公知的驱虫化合物如阿维菌素和米尔菌素 (milbemycins)。阿维菌素由链霉菌 (*Streptomyces avermitilis*) 的发酵产物中分离而来, 伊维菌素通过改进阿维菌素所形成的半合成化合物。阿维菌素的基本结构是 16 元内酯环, 添加了三个主要的取代基: 六氢苯并咪喃基、二糖基 (C-13) 和螺缩酮 (spiroketal) 环 (C-17 至 C-28)。多拉菌素 (Doramectin) 是一种新阿维菌素。米尔菌素是其它的化合物不是阿维菌素, 但可被认为属于大环内酯这一类化合物。米尔菌素在结构上不同于阿维菌素的基团, 主要是在 C-13 上缺少二糖基。米尔菌素 D 和米尔菌素 5-肟就是两种上述的大环内酯。莫西菌素 (moxidectin) 由奈马菌素 (nemadectin) 的发酵产物衍生而来, 在 C-23 上有一甲肟 (methoxime) 取代基。

本发明属于杀虫化合物的增效组合, 基于该增效组合的制剂和某些杀虫活性剂的应用以及它们在杀虫制剂中, 特别是在家畜上防治虱目、蚤目和蜱螨目害虫的应用。

#### 发明目的

因此, 本发明的一个目的是提供一种杀虫组合物, 对虱目、蚤目和蜱螨目害虫有内吸活性, 是含有至少一种 A83543 化合物和至少一种大环内酯的增效组合。

本发明的另一个目的是提供一种杀虫组合物, 对家畜包括牛、骆驼、猪、狗、马、猫、绵羊、山羊和家禽上的虱目、蚤目和蜱螨目害

虫有内吸活性，是含有至少一种 A83543 化合物和至少一种大环内酯的增效组合。

本发明的另一个目的是提供一种或多种对虱目、蚤目和蜱螨目害虫有内吸活性的杀虫制剂，含有至少一种 A83543 化合物和至少一种大环内酯的增效组合作为主要活性成分，和至少一种可接受的载体或稀释剂。

本发明的另一个目的是提供一种或多种用于家畜包括牛、骆驼、猪、狗、马、猫、绵羊、山羊和家禽上对虱目、蚤目和蜱螨目害虫有内吸活性的杀虫制剂，含有至少一种 A83543 化合物和至少一种大环内酯的增效组合作为主要活性成分，和至少一种可接受的载体或稀释剂。

本发明的另一个目的是提供一种在家畜包括牛、骆驼、猪、狗、马、猫、绵羊、山羊和家禽上消灭和/或防治虱目、蚤目和蜱螨目害虫的方法，包括将杀虫活性化合物组合单独或与可接受的载体或稀释剂一起使用或用药于所述动物上，所述的杀虫活性组合通过内吸作用传递给所述的虱目、蚤目和蜱螨目害虫。

本发明的另一个目的是提供一种消灭和/或防治虱目、蚤目和蜱螨目害虫的方法，包括将杀虫活性化合物组合单独或与可接受的载体或稀释剂一起用药于上述动物上，所述的杀虫活性组合对所述害虫有内吸作用。

此处所用的术语‘虱目’或‘虱目害虫’定义为虱目昆虫的成员，在其生活史的一个或多个龄期具有寄生性，包括幼虫期（定义为幼虫（若虫）形式）、成虫期或两个龄期，还包括虱目昆虫的卵期。

此处所用的术语‘蚤目’或‘蚤目害虫’定义为蚤目昆虫的成员，在其生活史的一个或多个龄期具有寄生性，包括幼虫期（定义为幼虫形式）、成虫期或两个龄期，还包括蚤目昆虫的卵期。

此处所用的术语‘蜱螨目’或‘蜱螨目害虫’定义为蜱螨目昆虫的成员，在其生活史的一个或多个龄期具有寄生性，包括幼虫期（定义为幼虫（若虫）形式）、成虫期或两个龄期，还包括蜱螨目昆虫的卵期。

还要注意为了本申请，术语‘多杀菌素或类似物或其衍生物’定义为包括单个多杀菌素（A83543A-H, J-W 或 Y）、单个多杀菌素的 N-二甲基或其它的衍生物、或其盐、或其组合，与上文提到的文献中的内容一致，并加入此处作为参考。如上所述，此处所使用的术语“A83543 化合物”指单个的多杀菌素、或类似物、衍生物或其盐、或其组合。



所使用的术语‘防治或消灭’指活的昆虫或蛛形纲（成虫或幼虫形式）害虫数目的减少或能存活的昆虫或蛛形纲卵数目的减少。减少的程度有赖于施用次数、所使用的活性成分、流行的气候条件以及其它本领域技术人员公知的条件。

此处所使用的术语‘有效量’指在经过处理的昆虫或蛛形纲种群中能够引起可测量的减少的量。

本发明说明书所使用的词‘载体’包括载体混合，也就是多于一种物质的混合物。

此处所使用的术语‘增效’指在一组合成分中，组合的活性大于该组合中每个成分单独活性之合。

此处所使用的术语‘大环内酯’定义为米尔菌素和阿维菌素类的化合物，包括自然产生的化合物及其人工合成的衍生物，特别是此处和本领域所提到的。

此处所使用的术语‘家畜’定义为有农业价值的动物和伴侣动物，包括但不限于牛、骆驼、猪、狗、猫、绵羊、家禽、马和山羊以及其它反刍动物和单胃动物。

此处所使用的术语‘内吸活性’指只有当存在于目标害虫体内时才具有的效果或效力，例如摄取或其它方式用药后导致两种活性剂在目标害虫中存在。该术语不是指在寄主家畜的系统中出现的有害效果，只限于在害虫体内出现的活性或效力。

#### 发明概述

本发明第一方面提供一种防治或消灭虱目、蚤目和蜱螨目害虫的活性组合物，所述组合物对所述的害虫具有内吸活性，包括至少一种A83543化合物和至少一种大环内酯化合物的增效组合。

本发明第二方面提供一种在家畜上防治或消灭虱目、蚤目和蜱螨目害虫的制剂，所述制剂包括有效量的本发明第一方面的内吸活性组合物和家畜生理上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

本发明第三方面提供一种在家畜上防治或消灭虱目、蚤目和蜱螨目害虫的外用制剂，所述制剂包括有效量的本发明第一方面的内吸活性组合物和家畜生理上可接受的载体。

本发明第四方面提供一种在家畜上防治或消灭虱目、蚤目和蜱螨目害虫的杀虫诱饵制剂，所述制剂包括有效量的本发明第一方面的内吸

活性组合物和可接受的载体。

本发明第五方面提供一种在家畜上防治或消灭虱目、蚤目和蜱螨目害虫的口服用药制剂，所述制剂包括有效量的本发明第一方面的内吸活性组合物和家畜生理上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

本发明第六方面提供一种在家畜上防治或消灭虱目、蚤目和蜱螨目害虫的肠胃外用制剂，所述制剂包括有效量的本发明第一方面的内吸活性组合物和家畜生理上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

本发明第七方面提供一种在家畜上防治或消灭虱目、蚤目和蜱螨目害虫的方法，所述方法包括在所述动物外表面的局部外用有效量的本发明第一方面的内吸活性组合物，或本发明第二或第三方面的制剂。

本发明第八方面提供一种防治或消灭虱目、蚤目和蜱螨目害虫的方法，所述方法包括对所述害虫直接施用有效量的本发明第一方面的内吸活性组合物，或本发明第二或第四方面的制剂。

本发明第九方面提供一种在家畜上防治或消灭虱目、蚤目和蜱螨目害虫的方法，所述方法包括对所述害虫口服施用有效量的本发明第一方面的内吸活性组合物，或本发明第二或第五方面的制剂。

本发明第十方面提供一种在家畜上防治或消灭虱目、蚤目和蜱螨目害虫的方法，所述方法包括对所述害虫肠胃外施用有效量的本发明第一方面的内吸活性组合物，或本发明第二或第六方面的制剂。

本发明第十一方面提供本发明第一方面的内吸活性组合物在制备防治或消灭家畜上的虱目、蚤目和蜱螨目害虫的药剂中的应用。

本发明第十二方面提供本发明第一方面的内吸活性组合物在制备防治或消灭虱目、蚤目和蜱螨目害虫的诱饵制剂中的应用。

本发明的另一方面提供在家畜上用于防治或消灭虱目、蚤目和蜱螨目害虫的本发明第一方面的活性组合物或本发明第一至第六任何一方面的制剂。

本发明的另一方面提供用于防治或消灭虱目、蚤目和蜱螨目害虫所使用的本发明第一方面的活性组合物或本发明第四方面的制剂。

本发明断定多杀菌素和大环内酯能发现惊奇的增效交互作用。同时不想受到理论的限制，应该注意，大环内酯通过刺激抑制谷氨酸受体对昆虫的神经系统起主要作用，而多杀菌素则主要刺激昆虫神经元上的烟碱乙酰胆碱受体，造成神经元的过度兴奋。但是，多杀菌素和大

环内酯都对节肢动物神经元上的伽马氨基丁酸 (GABA) 门控氯化物通道有二次效应, GABA 是抑制性神经递质。因此, 当多杀菌素与大环内酯组合使用时可能对 GABA 受体有增效效果, 从而对昆虫的神经系统产生影响, 但这不涉及多杀菌素或大环内酯的主要作用。

特别地, 在本发明中当多杀菌素和大环内酯通过昆虫摄取或其它的内吸方式一起传递给虱目、蚤目和蜱螨目动物害虫时惊奇的证明了有增效作用的产生。令人惊奇的是该效果在依赖于接触如处理纸片或瞬时浸入处理溶液中的体外试验中观察不到。虽然不想受理论的限制, 据推测该差别涉及作用机制和两种化学药剂的低蒸汽压和不能轻易通过节肢动物表皮的本性。

两种活性剂施用后在害虫的体内存在。该效果在仅仅依赖于接触的试验中观察不到。

一般地, 本发明第一方面提供一种防治或消灭一般在家畜上的虱目、蚤目和蜱螨目害虫的活性组合物, 所述组合物对所述的害虫具有内吸活性, 是多杀菌素和大环内酯化合物的增效组合, 其中, 多杀菌素: 大环内酯化合物的范围为 1000: 1-1: 1000w/w。特别地, 伊维菌素: 多杀菌素的比例在防治犬恶丝虫 (*Dirofilaria immitis*) 或跳蚤的内吸活性组合物中可以是 1: 1000。

然而, 据观察增效作用在低比例下也能发生。因此, 一般地, 在本发明的内吸活性组合物中, 多杀菌素化合物: 大环内酯化合物的范围为 100: 1-1: 100w/w。

又一般地, 在本发明的内吸活性组合物中, 多杀菌素化合物: 大环内酯化合物的范围为 10: 1-1: 10w/w。

再一般地, 在本发明的内吸活性组合物中, 多杀菌素化合物: 大环内酯化合物的范围为 9: 1-1: 9w/w。

更一般地, 在本发明的内吸活性组合物中, 多杀菌素化合物: 大环内酯化合物的范围为 8: 1-1: 8w/w。

又一般地, 在本发明的内吸活性组合物中, 多杀菌素化合物: 大环内酯化合物的范围为 7: 1-1: 7w/w。

又一般地, 在本发明的内吸活性组合物中, 多杀菌素化合物: 大环内酯化合物的范围为 6: 1-1: 6w/w。

更一般地, 在本发明的内吸活性组合物中, 多杀菌素化合物: 大环内酯化合物的范围为 5: 1-1: 5w/w。

更一般地, 在本发明的内吸活性组合物中, 多杀菌素化合物: 大环内酯化合物的范围为 4:1-1:4w/w。

最一般地, 在本发明的内吸活性组合物中, 多杀菌素化合物: 大环内酯化合物的范围为 3:1-1:3w/w。

又最一般地, 在本发明的内吸活性组合物中, 多杀菌素化合物: 大环内酯化合物的范围为 2:1-1:2w/w。

又最一般地, 在本发明的内吸活性组合物中, 多杀菌素化合物: 大环内酯化合物的比例为 1:1w/w。

本发明第一方面的一个实施方案提供一种内吸活性组合物, 是多杀菌素和阿维菌素的增效组合。

一般地, 本发明第一方面的大环内酯选自伊维菌素 (EP295117 中描述的 22, 23-二氢阿维菌素 B<sub>1</sub>)、阿巴菌素、阿维菌素 A<sub>1a</sub>、阿维菌素 A<sub>1b</sub>、阿维菌素 A<sub>2a</sub>、阿维菌素 A<sub>2b</sub>、阿维菌素 B<sub>1a</sub>、阿维菌素 B<sub>1b</sub>、阿维菌素 B<sub>2a</sub>、阿维菌素 B<sub>2b</sub>。又一般地, 本发明第一方面的大环内酯选自以上自然产生的阿维菌素, 但含有除了异丙基或 (S)-仲丁基的 25-取代基, 在欧洲专利申请 0214731、0284176、0308145、0317148、0335541 和 0340832 中有描述。又一般地, 本发明第一方面的大环内酯可包括莫西菌素 (和 EP259779A 中公开的衍生物)、多拉菌素及其类似物 (在 EP0214731B 中描述)、塞拉菌素 (selamectin)、埃普利诺菌素 (eprinomectin)、包括米尔菌素肟、米尔菌素 D (抗生素 B41D) 及其类似物 (描述在 US3,950,360 中) 的米尔菌素和奈马菌素 (在 EP170006A 中描述)。

更一般地, 本发明第一方面的大环内酯选自伊维菌素、莫西菌素、多拉菌素、塞拉菌素、米尔菌素肟、米尔菌素 D、埃普利诺菌素和阿巴菌素 (abamectin)。

又更一般地, 本发明第一方面的大环内酯是伊维菌素。

因此, 更一般地, 活性组合物是对虱目、蚤目和蜱螨目害虫有内吸活性的多杀菌素和伊维菌素的增效组合。

一般在本发明的制剂中, 载体可不含水或含水, 活性组合物悬浮、溶解或分散在载体中。又一般地, 活性组合物可与制药上或兽医上可接受的稀释剂或载体混合, 稀释剂或载体根据有关预定的用药途径和工艺上通常的实践进行选择。在一个实施方案中, 本发明第三和第四

方面制剂中所使用的载体或赋形剂包括粉末载体、溶剂、乳化剂、润湿和分散剂以及水。特别地，在本发明第四方面的诱饵制剂中，载体或赋形剂包括食物源、引诱剂或两者都有如血液或其它的组织提取液，一般还包括一种或多种酵母、糖、信息素、香料、香剂、溶剂、润湿和分散剂。

另一实施方案中，本发明第五方面的口服给药制剂中所使用的载体或赋形剂包括片剂赋形剂如淀粉或乳糖，胶囊赋形剂或通常用于溶液或悬浮液中的载体和赋形剂包括水、增香剂和着色剂。当然，载体的选择要基于活性组合物的兼容性，需要考虑的包括 pH、水分含量和稳定性。载体的选择也要根据制剂的使用方式，例如是否对家畜局部用药或口服或肠胃外对家畜给药，或直接给药，例如通过饵料对虱目、蚤目和蜱螨目害虫用药。

本发明第二至第六方面中任一方面的实施方案提供了防治或消灭虱目、蚤目和蜱螨目害虫的制剂，所述制剂包括：

- (a) 本发明第一方面 0.1-40% 重量的活性组合物和
- (b) 60-99.9% 重量的适合的载体。

一般在本发明制剂的每种剂量中，多杀菌素化合物和大环内酯化合物中的每一种含有 30 $\mu$ g-2g，更一般地，制剂中多杀菌素化合物和大环内酯化合物中的每一种含有 1mg-1g。

本发明第三方面的制剂一般是液体的，可制成浓缩物，然后使用前进行稀释。

本发明第四方面的制剂是诱饵制剂，一般为固体，包括粉剂、颗粒剂或干燥剂的形式。又一般地，这种诱饵制剂也可以是液剂或糊剂的形式。

长期通常的实践是局部使用含有活性杀虫剂/驱虫剂和载体/赋形剂的制剂来防治绵羊、牛和包括但不限于山羊、猪和马的其它家畜上外寄生虫。因此一般地，本发明第三方面的制剂是倾注 (pour-on) 制剂，包括有效量的本发明第一方面的活性组合物和局部可接受的载体。

又一般地，局部使用制剂可以是喷剂或浸渍液或液剂如注射液体。

本发明第三方面的倾注制剂一般是液体，通常以行或点施用于家畜的外表，当被上述虱目、蚤目和蜱螨目害虫摄食时，例如取食经过处

理的家畜的表皮后，在上述害虫中通过内吸起作用，从而保护动物防治了虱目、蚤目和蜱螨目害虫如蜱、跳蚤和虱子的若虫和成虫，也可以减少存活的虱目、蚤目和蜱螨目害虫卵的数量。

当制剂局部施用于局部区域，活性剂可在动物的表皮移动，从而遍及整个外表皮。

上述本发明第三方面的倾注制剂中的载体（这里也称‘赋形剂’）经过加工在动物的表皮上达到良好的皮肤展着性和/或渗透性。迄今，商品化的倾注制剂是悬浮剂、乳油或液剂，通常包含至少一种有机溶剂。上述倾注制剂的载体所通常使用的溶剂包括丙二醇、石蜡、异链烷烃、芳香烃、异丙基肉豆蔻酸酯（IPM）、二甘醇、醇和正丙醇。

值得注意的是本发明的局部施药制剂可多种方式用来防治虱目、蚤目和蜱螨目的节肢动物。就本发明的局部施药制剂来说，只纯粹的留在家畜的外表皮上，它们就会对例如羽虱和其它以动物的表皮为食从而摄取内吸活性制剂的害虫产生效果。本发明的局部施药制剂被局部施用后，至少部分的透过动物的表皮，渗入胞外液，然后通过动物的淋巴系统排入血液中，这些制剂对吸血害虫如跳蚤、蜱和一些虱子是有效的。这些害虫如果取食了含有本发明内吸活性组合物的血液就会被杀死。因此，本发明的局部施药制剂既可以在寄主内内吸使用（通过渗入寄主动物的表皮），又可在寄主的表面使用。

本发明第三方面的另一实施方案提供了在家畜上防治虱目、蚤目和蜱螨目害虫的倾注制剂，所述制剂包括

(a) 0.1-40%重量的至少一种本发明第一方面的活性剂，和

(b) 60-99.9%重量的适合的载体，选自 TPM/醇、OP/IPM/OSU、和 GTCC/PMP/CAP，其中

TPM 是三丙二醇甲醚；

P 是辛基棕榈酸酯或 2-乙基己基棕榈酸酯，是一种良好的润滑剂，也可用作润肤剂和溶剂；

P 可被 OS（辛基硬脂酸酯或 2-乙基己基硬脂酸酯）取代；

PM 是异丙基肉豆蔻酸酯，具有良好的展着和润肤特性，可用 IPP 或 IPL 替换使用；

PP 是异丙基棕榈酸酯；

PL 是异丙基月桂酸酯；

MP 是 PPG2 肉豆蔻醚丙酸酯 (myristyl ether propionate), 可迅速展着, 提高其它材料的润湿性;

SU 是二-2-乙基己基琥珀酸, 提高亲脂材料在皮肤上的润湿和展着性;

CS 是异十六烷基硬脂酸酯, 可用作润肤剂、润滑剂和展着剂;

TCC 是三辛酸/癸酸甘油酯, 是活性物质良好的载体或赋形剂;

AP 选自支链酯的混合物, 可用作润肤剂和展着剂;

醇可以是苯甲醇、丙基醇、双丙酮醇或其它适合的醇。

可在本发明制剂中使用的其它适合的载体包括有机和无机醇, 包括丙二醇, 通常用于伊维菌素的载体、乙醇、丙醇、苯甲醇、乙二醇和清洁剂。

一般地, 本发明第三方面的制剂可以是粉剂、乳油、悬浮剂、喷剂、乳剂、泡沫、糊剂、气雾剂、药膏、油膏或凝胶。更一般地, 制剂是液剂, 一般是水溶性的。

一般地, 本发明第二、三、五或六方面的制剂可有效的用于家畜如绵羊、牛、山羊、骆驼、猪、狗、猫、家禽和马、其它反刍动物和单胃动物上。

一般地, 本发明第四方面的饵剂的使用不同于施用或施用到家畜上, 而是获得直接接触, 从而导致活性剂在已知的三个目害虫的体内出现, 这是本领域技术人员公知的。

一般地, 本发明第三方面的倾注制剂可以一或几行或点倾注于家畜的背部中线或肩上。更一般地, 倾注制剂沿着动物背部的脊椎倾注。倾注制剂也可用其它常规方法用于动物上, 包括在动物身上通过市售的涂抹器、通过注射器、喷涂或喷洒途径涂上至少一小部分面积的浸渍材料。

一般地, 对于家畜的局部施药, 每公斤动物体重大约 0.1-2000mg 活性组合物是有效的剂量。一般地, 大约 2-100mg 的本发明第一方面的活性组合物施用到牛或绵羊 (每公斤体重) 上。

一般地, 本发明的制剂如倾注制剂, 根据活性成分的效力加工成活性组合物的浓度约 0.1-40% 重量/体积, 更一般的 0.1-20% 重量/体积, 优选的约 0.5-5%。

一般地, 本发明的活性组合物或制剂经过加工使得 A83543 化合物

和大环内酯化合物中每一个的浓度约 1-500ppm。更一般地，A83543 化合物和大环内酯化合物中每一个的浓度约 1-300ppm。更一般地，A83543 化合物和大环内酯化合物中每一个的浓度范围约 1-100ppm。对于即将使用的制剂如稀释的浸渍液和喷剂，1-500ppm 浓度是最一般的。本发明倾注制剂的活性物质一般的浓度为 1-100g/L，更一般的 5-50g/L，又更一般的 10-25g/L。对于口服制剂如本发明的片剂和肠胃外制剂，一般的给药剂量为每公斤动物体重 0.01-50mg，更一般的 0.1-20mg/kg。本发明的诱饵制剂，一般的浓度为 0.05-1000mg/kg，更一般的 1-100mg/kg。

一般地，为了有效防治虱目、蚤目和蜱螨目害虫，只需要小体积的倾注制剂，例如每次使用 0.5-80ml，对于大动物例如牛来说每次施用 10-60ml 是优选的，对于小动物如绵羊、狗和猫来说每次施用 1-20ml。

一般地，本发明第五方面的制剂为片剂、胶囊剂、丸剂、液剂、悬浮剂或其它的酞剂。制剂也可以是持续释放剂。上述制剂可用常规方法根据制药和兽医上的工艺常用标准来制备。一般地，胶囊剂、丸剂或片剂通过活性组合物与适合的磨细的稀释剂或载体混合制备，另外含有分解剂和/或粘合剂如滑石、淀粉或乳糖。

又一般地，本发明第六方面的制剂是活性组合的无菌水溶液或悬浮液，含有肠胃外可接受的载体水和任选的其它赋形剂例如盐或葡萄糖。

在对虱目、蚤目和蜱螨目害虫具有杀虫活性的本发明制剂中，活性剂是至少一种选自多杀菌素化合物（包括多杀菌素）类的化合物和至少一种选自大环内酯包括伊维菌素、阿巴菌素、莫西菌素、多拉菌素、埃普利诺菌素和米尔菌素的活性剂的组合。

本发明的制剂可适当的包含一种或多种不同的助剂成分如防腐剂、展着剂、增粘剂、活性物质增溶剂如油酸和乳酸、粘度调节剂、UV 阻断剂或吸收剂、着色剂和稳定剂如抗氧化剂。适合的表面活性剂包括阴离子、阳离子、非离子和两性表面活性剂也可加入到本发明的倾注制剂中。

异丙基肉豆蔻酸酯（IPM）、异丙基棕榈酸酯（IPP）、饱和 C<sub>12</sub>-C<sub>18</sub> 脂肪醇的辛酸/癸酸酯、油酸、油酸酯、油酸乙酯、甘油三酸酯、硅油和双丙二醇单甲醚（DPM）是倾注制剂中常用的展着剂。

一般地，本发明第七至第十方面防治侵害家畜的蜱、虱、蚤和其它虱目、蚤目和蜱螨目害虫的方法，所述家畜包括但不局限于牛、绵羊、



山羊、猪、马、骆驼、狗、猫和家禽以及其它反刍动物和单胃动物。

一般地，本发明的活性组合物、制剂和方法对防治虱目、蚤目和蜱螨目害虫的幼虫（包括若虫）和成虫是有效的。这些害虫虽然一般在寄主家畜上出现，但不是必须的。

更一般地，本发明的活性组合物、制剂和方法对防治家畜上的虱目、蚤目和蜱螨目害虫的幼虫和成虫是有效的。又一般地，本发明的活性组合物、制剂和方法对于减少家畜上能存活的虱目、蚤目和蜱螨目害虫卵的数量也是有效的。

更一般地，本发明的局部、口服或肠胃外制剂能防治绵羊上的羽虱（*Bovicola Ovis*），防治牛、山羊和骆驼上类似的虱子，防治牛上的牛蜱（如 *Boophilus bovis*），防治狗、猫和其它家畜上的蚤目害虫（猫栉头蚤及其它蚤）。又更一般地，本发明的局部、口服或肠胃外制剂能防治牛上的虱和蜱以及狗和猫上的蚤。

本发明的制剂根据公知的方法进行制备。制剂是液剂时，驱虫剂/杀虫剂与载体或赋形剂混合，必要时加热并搅拌。辅料或助剂可加入到活性物质和载体的混合物中或在载体加入前与活性物质混合。

每次施用大环内酯化合物和多杀菌素化合物中每一种含量为 1ppm 的本发明制剂，仍然能观测到增效效果。

本发明的活性组合物和制剂对人类和动物以及作物和植物无毒，经过制剂处理或用药的动物上畜毛、畜皮和组织中的残留环境上可以接受。另外对本发明方法和制剂的最后使用者无皮肤刺激或其它毒性。环境污染也很小。

更为有利的是所述多杀菌素和大环内酯由于组合使用时的增效作用，在低浓度下就非常有效，本发明用于在家畜上防治虱目、蚤目和蜱螨目害虫，多杀菌素化合物和大环内酯单独使用时，上述害虫对它们存在一定的抗性。

通常，本发明第三方面的制剂和本发明的活性组合物通过外表/局部对家畜用药。上述局部施药可采取浸渍、淋浴、注射、喷洒、手工施用如撒粉、或其它放置或布置含有活性物质制剂的方法。因此，本发明的活性组合物一般加工成许多局部用药杀虫制剂。

优选的上述局部杀虫制剂包括点注剂、倾注剂、喷剂、浸渍剂、粉剂、洗液、凝胶、药膏、油膏、调味剂、擦毛剂、乳油、棒剂、肥皂、

洗发剂、颈圈、装饰物 (medallions)、耳标和顶带。包含水和有机溶剂的基于乳剂和悬浮剂是优选的,如上所述,制剂可制成浓缩的形式,使用前再稀释。

更优选的是浸渍制剂、倾注制剂、注射流体制剂和注射/喷洒途径制剂。

可湿性粉剂是本发明的另一制剂,通过混合活性物质和粉剂载体来制备,润湿并悬浮在水中。可加入表面活性剂。由于它们的相对安全,可湿性粉剂可喷施到家畜的环境包括禽舍、畜栏、牛棚和猪圈中。

乳剂是本发明的另一制剂,是活性物质在水不溶有机溶剂中的溶液,通常为 1-40%,可含有任意的表面活性剂来促进乳化性、润湿性和展着性。溶剂的选择基于对植物、人类和动物的安全,挥发性、可燃性和成本。乳油水乳剂的喷洒可用于防治家庭中的虱目、蚤目和螨目害虫。

如上所述,本发明第五方面的制剂通过口服用药,而本发明第六方面的制剂是肠胃外施药,例如肌肉、皮下或静脉。

本发明第五和第六方面的制剂可根据所要处理的寄主家畜的种类和体重变化有关活性组合物的重量。每公斤动物体重施用 0.001mg-约 50mg 的制剂剂量,更一般的是每公斤动物体重施用 0.01mg-约 30mg 的剂量,又更一般的每公斤动物体重施用 0.1mg-约 20mg 的剂量。可单剂量或多剂量施用。更高和更低的剂量范围也是本发明可以预期的。

本发明第四方面饵剂的施用不同于施用或施用到家畜上,而是获得直接接触(例如通过害虫摄食饵料),从而导致了活性剂在已知的三目害虫的体内出现,这一点是本领域技术人员公知的。

本发明第一方面活性组合物中的多杀菌素成分可以是单个的化合物、两种或多种化合物的混合物、包含 A83543A 和 A83543D 中至少一种的混合物、或至少一种 A83543 化合物与制备多杀菌素所用发酵培养基的干燥部分的混合物。

本发明所使用的大环内酯化合物包括上述公知的驱虫化合物如阿维菌素和米尔菌素及其衍生物和类似物。如上所述,阿维菌素由链霉菌的发酵产物中分离而来,分离方法和构成阿维菌素(另外称为 C-076 化合物)的八个单独成分的化学结构在英国专利说明书 1573995 中有详细的描述。伊维菌素是由阿维菌素改进形成的半合成化合物。商品

化的伊维菌素包括例如伊维菌素的 25-异丙基类似物。鉴于本发明的制剂和本发明的方法，亲脂性的阿维菌素可通过将阿维菌素溶解在有机溶剂如氯仿、二氯甲烷、丙酮和醇中来制备。上文所详细讨论的米尔菌素是另一种化合物，不是阿维菌素，但可被认为属于大环内酯这一类化合物中。米尔菌素在结构上区别于阿维菌素组，主要是在 C-13 上没有二糖基。上述化合物的例子描述在 UK 专利 1390336 和 EP 专利申请 170006、254583、334484 和 410615 中，加入此处作为参考。

多杀菌素化合物在本发明的活性剂、制剂和方法中也可以盐的形式存在。这些盐用盐的标准制备方法来制备。例如，多杀菌素 A 可与适合的酸中和形成酸加成盐。本发明所使用的多杀菌素的酸加成盐包括与下列酸所形成的盐，有机或无机酸例如硫酸、盐酸、磷酸、乙酸、琥珀酸、柠檬酸、乳酸、马来酸、延胡索酸、胆酸、棕榈酸 (pamoic)、粘酸、谷氨酸、樟脑酸、戊二酸、乙醇酸、邻苯二甲酸、酒石酸、甲酸、月桂酸、硬脂酸、水杨酸 (salicylic)、甲基磺酸、苯磺酸、山梨酸、苦味酸、安息香酸、肉桂酸等。

通常，A83543 化合物的乳油包括溶解在惰性载体中的 A83543 化合物的常规浓缩物，该载体是与水混溶的溶剂或水不溶有机溶剂和乳化剂的混合物。所述多杀菌素优选的浓度是 1-500g/L，更优选的浓度选自 1-400g/L、1-350g/L、1-300g/L、1-250g/L、1-200g/L、1-150g/L、1-100g/L、1-90g/L、1-80g/L、1-70g/L、1-60g/L、1-50g/L、1-40g/L、1-30g/L、1-20g/L，又更优选的是 25g/L。所使用的有机溶剂包括芳香烃二甲苯和石油馏分。也可使用其它的有机溶剂，例如萜烯类溶剂，包括树脂衍生物、脂肪酮如环己酮和复合醇如 2-乙氧基乙醇。

乳油中的乳化剂可选自常规的包括烷基酚环氧乙烷加成物的非离子表面活性剂和包括烷基/芳基磺酸盐的阴离子表面活性剂。

水悬浮剂 (AS) 包括水不溶多杀菌素活性化合物以约 1-500g/L 的浓度分散在水载体中的悬浮液，优选的浓度选自约 1-400g/L、约 1-300g/L、约 1-250g/L、约 1-200g/L、约 1-150g/L、约 1-100g/L、约 1-50g/L、约 1-45g/L、约 1-40g/L、约 1-30g/L，更优选的约 25g/L。通常，通过将多杀菌素化合物研磨细，混入含有水和选自非离子型磺化木质素和烷基磺酸酯表面活性剂的载体中来制备悬浮剂。也可加入惰性成分。

水悬浮剂和乳剂优选用水进行稀释以获得本发明最后制剂中所要的多杀菌素浓度。在另一优选的制剂中，一种或多种活性物质可采用活性物质的水溶液形式。将杀虫剂喷到畜栏、牛棚和猪圈的表面是最常用的方法。喷雾或浸渍对于小的反刍动物来说是最常用的杀虫剂施用方法，通常用水作为主要载体。

在本发明制剂特别是浸渍洗涤制剂中，多杀菌素化合物和大环内酯化合物中的每一种优选的浓度约 500ppm 或更少。更优选地，每一种的浓度约 400ppm 或更少。又优选地，每种浓度约 300ppm 或更少，更优选的 200ppm 或更少，又更优选的 100ppm 或更少，最优选的 50ppm 或更少。

### 实施本发明的最佳方案和其它方案

本发明优选的制剂可根据常规的方法来制备，下面是几个实施例。制备本发明多杀菌素和伊维菌素组合的优选方法是将组合共同加工或者每种化合物单独加工然后再合并。化合物甚至在组合物以分离的两相存在。例如增效组合物中一种活性化合物可在溶液中，另一种活性化合物在悬浮液中；然后，上述组合用来制备本发明适合的制剂。

### 实施例

#### 前言

在试验浓度下两种杀虫剂合并后的效果明显大于每个单独施用效果的合，产生了增效作用（或共增强作用）。例如，Sun 和 Johnson（1960）的方法“Analysis of joint action of insecticides against house flies” *J. Econ. Entomol* 53:887-892，需要计算共毒系数。共毒系数 100 只表示相加作用，而 130 或更高表示增效或增强。另外用广义的线形模型方法可得到每种化学药品的剂量反应线（dose-response lines）。每种单个化学药品的线根据独立作用来预测组合的效果，即没有增效或增强。预测的线与所观察到的组合的效果进行比较，可看到明显的增强作用。

大环内酯通过刺激抑制谷氨酸受体对昆虫的神经系统起主要作用，而多杀菌素则主要刺激神经元上的烟碱乙酰胆碱受体，造成神经元的过度兴奋。但是，多杀菌素和大环内酯都对节肢动物神经元上的伽马氨基丁酸（GABA）门控氯化物通道有二次效应，GABA 是抑制神经递质。因此，当多杀菌素与大环内酯组合使用时可能对 GABA 受体有增

效效果，从而对昆虫的神经系统产生影响，但这不涉及多杀菌素或大环内酯的主要作用。本研究的目的是验证在虱目、蚤目和蜱螨目害虫上的兽医价值。

下面的实施例阐述了令人惊奇的结果，当多杀菌素和大环内酯以被害虫摄食或内吸的方式一起用于动物害虫上时产生了增效作用。令人惊奇的是该效果在依赖于接触如处理纸片或瞬时浸入处理溶液中的体外试验中观察不到。据推测该差别涉及作用机制和两种化学药剂的低蒸汽压和不能轻易通过节肢动物表皮的本性。

### 实施例 1

用虱子研究多杀菌素和伊维菌素可能有增效作用的体外试验

#### 材料和方法

利用 Rugg 和 Thompson (*J Aust Ent Soc*, 1993; 32:1-3) 的方法，给  $4 \times 15$  的一组虱子饲喂含有一定范围浓度的多杀菌素或伊维菌素的磨碎的绵羊表皮 48 小时。48 小时后测算死亡率，根据概率分析确定 LC90 值。虱子暴露在多杀菌素或伊维菌素的 LC90 浓度以及 LC90 的 1/2、1/4 和 1/8 浓度下。另外，虱子暴露在每种化学药品的 1:1、1:4、4:1、9:1 和 1:9 组合下，化学药品的每种浓度是 LC90 的分数。

对于不均匀分布的二项数据利用对数函数的广义线性模型方法来分析处理组。分析测定每种化学药品或组合的剂量反应线（根据对数剂量数值）。用剂量反应线根据单独作用预测组合的效果并与所观察到的效果进行比较。

#### 结果

大部分供试的组合具有明显的增效作用。增效最强的是 4:1 和 9:1 比例的多杀菌素:伊维菌素。

### 对比实施例

虱子的纸接触试验

#### 材料和方法

在皮氏培养皿中的棉蕾上， $4 \times 10^{-13}$  的一组虱子暴露在一定浓度范围的多杀菌素或伊维菌素下。18 小时后测算死亡率，根据概率分析确定 LC90 值。虱子暴露在多杀菌素或伊维菌素的 LC90 浓度以及 LC90

的 1/2、1/4 和 1/8 浓度下。另外，虱子暴露在每种化学药品的 1:1、1:4、4:1、9:1 和 1:9 组合下，化学药品的每种浓度是 LC90 的分数。

### 结果

该组中所有组合的测定效果都低于单独作用下预测的效果，即不能证明有增效作用。

### 讨论

纸接触试验相对于摄食试验的否定效果支持了两种化学药品必须通过害虫的内吸作用才能产生增效这一假说。

## 实施例 2

在跳蚤上研究多杀菌素和伊维菌素的增效体外试验

### I) 成虫蚤的人造膜体系

#### 材料和方法

由 Wade 和 Georgi (*J Med Entomol* 1988; 25:186-190) 设计的人造膜系统 (人造狗) 将血液饲喂成虫蚤，适于检测内吸杀虫剂的效果。一组 25 头的跳蚤饲喂含有一定浓度范围多杀菌素或伊维菌素的柠檬酸血液 24 小时。24 小时后测算死亡率，根据概率分析确定 LC90 值。蚤暴露在多杀菌素或伊维菌素的 LC90 浓度以及 LC90 的 1/2、1/4 和 1/8 浓度下。另外，蚤暴露在每种化学药品的 1:1、1:4、4:1、9:1 和 1:9 组合下，化学药品的每种浓度是 LC90 的分数。

### 结果

供试的大多数组合表现出了明显的增效作用。增效最显著的是 4:1 和 9:1 比例的多杀菌素:伊维菌素。

### II) 蚤幼虫饲养研究

#### 材料和方法

使用 El-Gazzar 等人 (*J Med Entomol* 1986; 23:651-654) 的方法。一组 50 头的幼虫蚤取食含有一定浓度范围多杀菌素或伊维菌素的幼虫饲养培养基 4 周。4 周后计算活的羽化出的成虫、茧和死亡蛹的数目。测算幼虫死亡率，根据概率分析确定 LC90 值。幼虫暴露在多杀菌素或伊维菌素的 LC90 浓度以及 LC90 的 1/2、1/4 和 1/8 浓度下。另外，幼虫暴露在每种化学药品的 1:1、1:4、4:1、9:1 和 1:9 组合下，化学药品的每种浓度是 LC90 的分数。

## 结果

供试的大多数组合表现出了明显的增效作用。

### 实施例 3

在牛蝇上研究多杀菌素和伊维菌素增效作用的体外试验

#### I) 幼虫浸渍研究

##### 材料和方法

使用 Sabatini、Kemp 等 (*Vet Parasitol* 2001; 95:53-62) 所描述的幼虫浸渍试验, 只是幼虫先干燥 12 小时, 再浸渍在浸渍液中进行吸收。一组 500 头的幼虫浸渍在含有一定浓度范围多杀菌素或伊维菌素的液体中 20 分钟, 然后转移到纸盒中。24 小时后测算死亡率, 根据概率分析确定 LC90 值。蝇幼虫暴露在多杀菌素或伊维菌素的 LC90 浓度以及 LC90 的 1/2、1/4 和 1/8 浓度下。另外, 幼虫暴露在每种化学药品的 1:1、1:4、4:1、9:1 和 1:9 组合下, 化学药品的每种浓度是 LC90 的分数。

##### 结果

供试的大多数组合表现出了明显的增效作用。增效最显著的是 4:1 和 9:1 比例的多杀菌素:伊维菌素。

#### II) 成虫注射研究

##### 材料和方法

吃饱的成虫牛蝇注射 2 微升的一定浓度范围的多杀菌素或伊维菌素。根据例如 Sabatini 和 Kemp (*Vet Parasitol* 2001; 95:53-620) 的标准方法收集产卵和幼虫孵化数据, 用作计算 LC90 值。成虫用多杀菌素或伊维菌素的 LC90 浓度以及 LC90 的 1/2、1/4 和 1/8 浓度注射。另外, 成虫用每种化学药品的 1:1、1:4、4:1、9:1 和 1:9 组合进行注射, 化学药品的每种浓度是 LC90 的分数。

##### 结果

供试的大多数组合表现出了明显的增效作用。增效最显著的是 4:1 和 9:1 比例的多杀菌素:伊维菌素。

### 对比实施例

没有吸收浸渍液的蝇幼虫浸渍试验

使用 Sabatini、Kemp 等 (*Vet Parasitol* 2001; 95:53-62) 所描述的幼虫浸渍试验。一组 500 头的幼虫浸渍在含有一定浓度范围多杀菌素或伊维菌素的液体中 20 分钟, 然后转移到纸盒中。24 小时后测算浸渍死亡率, 根据概率分析确定 LC90 值。蜱幼虫暴露在多杀菌素或伊维菌素的 LC90 浓度以及 LC90 的 1/2、1/4 和 1/8 浓度下。另外, 幼虫暴露在每种化学药品的 1:1、1:4、4:1、9:1 和 1:9 组合下, 化学药品的每种浓度是 LC90 的分数。

### 结果

观察两种化合物的剂量反应关系。组合的测定效果低于单独作用下所预测的效果, 即不能证明有增效作用。

### 讨论

与幼虫吸收试验方法中的增效证据相比, 浸渍试验方法中没有发生增效作用这一否定结果支持了两种化学药品必须通过蜱的内吸作用才能发生增效这一假说。

## 多杀菌素伊维菌素增效制剂防治虱目、蚤目 和蜱螨目害虫的实施例

### 实施例 4

#### 倾注制剂

成分	g/L
多杀菌素	20
伊维菌素	5
抗氧化剂如 BHT	0.5
Crodamol IPM	15
Crodamol OSU	15
Crodamol OP	加至 100%

制剂用涂药器从头顶到基部尾巴沿动物的背部中线施药, 通常用带喷嘴的自动装填剂量枪沿着背部撒一条窄或宽的带或线。该制剂每公斤体重使用 0.2mL。另外, 每种体重等级使用一定的量, 例如对于绵羊, 小于 30kg 的动物用 10mL, 31-50kg 的动物用 15mL, 51kg 以上的动物用 20mL。绵羊和其它产纤维动物应在修剪或纤维收集的 24 小时内处



理。

#### 实施例 5

胶悬剂，多杀菌素 20g/L，伊维菌素 5g/L

活性化学药品用球磨机研磨成细的颗粒。

	% w/w
多杀菌素	2
伊维菌素	0.5
丙二醇	10
表面活性剂如 Pluronic P123	2
矿物增稠剂如 Veegum	2
Xanthum gum 如 Rhodopol 23	0.2
杀菌剂如 Agent Dovicil 75	0.2
抗泡沫剂如 Antifoam C	0.1
去离子水	加至 100%

胶悬剂 (SC) 用水稀释至 1:1000，用作浴液或浸渍液。化学药品通过浸渍施到动物身上。另外，可通过淋浴浸渍或喷射途径弄湿动物的皮肤。绵羊可用手动喷射杆吸取稀释的化学药品施到羊毛上进行处理。对于伤口涂剂，稀释的化学药品可注入伤口中。许多动物品种可通过喷洒稀释的产品进行处理来防治感染家畜的虱目、蚤目和蜱螨目害虫。

#### 实施例 6

乳油，多杀菌素 20g/L，伊维菌素 5g/L

活性化学药品用球磨机研磨成细的颗粒。

	% w/w
多杀菌素	2
伊维菌素	0.5
抗氧化剂如 BHT	0.5
10% 的离子和非离子表面活性剂的混合物	
例如 Toximul 3453F	6.8
Toximul 3454FA	3.2

**芳香烃溶剂**

例如 Solvesso 150

加至 100%

乳油 (EC) 用水稀释至 1:1000, 用作浴液或浸渍液。化学药品通过浸渍施到动物身上。另外, 可通过淋浴浸渍或喷射途径弄湿动物的皮肤。绵羊可用手动喷射杆吸取稀释的化学药品施到羊毛上进行处理。对于伤口涂剂, 稀释的化学药品可注入伤口中。许多种动物可通过喷洒稀释的产品进行处理来防治侵染家畜的虱目、蚤目和蜱螨目害虫。

**实施例 7**

口服片剂, 对于 20 公斤的狗, 500mg 片剂。

成分	g/kg
<u>片剂内核</u>	
多杀菌素	400
伊维菌素	40
结合剂, 如 Povidone	24
粘合剂/崩解剂, 如羟基乙酸淀粉钠	20
润滑剂如硬脂酸镁	7

包衣

成膜剂羟丙基甲基纤维素	25
可塑剂如甘油	4
着色剂	20

**实施例 8**

注射制剂

成分	g/L
多杀菌素	100
伊维菌素	20
溶剂如丙二醇	350
溶剂如甘油 甲醛	500
防腐剂	0.1

---

抗氧化剂	0.1
实施例 9	
饵剂	
成分	g/kg
多杀菌素	0.1
伊维菌素	0.05
研磨的干牛血	100
研磨干燥的狗食物	400
酵母	1
防腐剂	0.01
蛭石	500