[19]中华人民共和国专利局

[51]Int.Cl[6]
A61K 31/35
A61K 9/22

[12]发明专利说明书

[21] ZL 专利号 90100954.7

[45]授权公告日 1997 年 10 月 1 日

[11] 授权公告号 CN 1035986C

[22]申请日 90.2.21 [24]颁证日 97.7.25
[21]申请号 90100954.7
[30]优先权
[32]89.2.28 [33]US[31]07/316,625
[73]专利权人 美国氰胺公司
地址 美国康涅狄格州
[72]发明人 欧文·博伊登·伍德
里查德·博德曼·图特希尔
约瑟夫·查尔斯·迪茨
[74]专利代理机构 上海专利商标事务所
代理人 全永留
[56]参考文献
EP293549 1988.12.7 C07D493/22
审查员 曹津燕

权利要求书 1 页 说明书 25 页 附图页数 0 页

[54]发明名称 持久释放的丸药组合物的制备方法

[57]摘要

本发明涉及一种制备持久释放的丸药组合物的方法，该丸药能在延长的时间内有效地保护反刍动物使其不受蠕虫、内寄生虫、外寄生虫和蜱螨类的成虫和幼虫的侵染,其特征在于,它包括步骤:混合如下组分:0.3%—10%重量的 LL-F28249α,23-(O-甲基肟)LL-F28249α 或其衍生物,10%—20%重量的甘油单硬脂酸酯,3.0%—10%重量的巴西棕榈蜡,及 70.0%—85%重量的硫酸钡或重晶石细粉;以及将混合物制成丸药。

权 利 要 求 书

1. 一种反刍动物口服的持久释放丸药的制备方法，该丸药能在延长的时间内有效地保护反刍动物使其不受蠕虫、内寄生虫、外寄生虫和蜱螨类的成虫和幼虫的侵染，其特征在于，它包括步骤：混合如下组分：0.3%－10%重量的 LL-F28249α，23-(O-甲基肟) LL-F28249α或其衍生物，10%－20% 重量的甘油单硬脂酸酯，3.0%－10%重量的巴西棕榈蜡，及 70.0%－85% 重量的硫酸钡或重晶石细粉；以及将混合物制成丸药。

2. 根据权利要求 1 所述的方法，其特征在于，组分如下：1.0%－8.5% 重量所述的 23-(O-甲基肟) LL-F28249α 或 LL-F28249α，14%－16% 重量的甘油单硬脂酸酯，3.0%－5.0% 重量的巴西棕榈蜡，及 70%－80% 重量的重晶石。

3. 根据权利要求 1 所述的方法，其特征在于，组分如下：0.3%－1.0% 重量的 LL-F28249α，或 23-(O-甲基肟) LL-F28249α，14%－16% 重量的甘油单硬脂酸酯，3.0%－5.0% 重量的巴西棕榈蜡，及 78.01%－82.7%重量的硫酸钡或重晶石细粉。

说　明　书

持久释放的丸药组合物的制备方法

本发明涉及一种丸药组合物，它含预防有效量的LL-F28249α，23-(O-甲基肟）LL-F28249α或其衍生物，及用该药给反刍动物服用，以防止或控制线虫、内寄生虫、外寄生虫或螨在较长的时间内对该动物的侵染。

更具体地说，本发明涉及一种新颖持久释放的药剂，它包括0.3%－10.0%重量LL-F28249α，23-(O-甲基肟）LL-F28249α。或其衍生物，约10.0%－20.0% 重量的甘油单硬脂酸酯，3.0%－10.0%重量的蜡西棕榈蜡，及70.0%－85.0% 重量的硫酸钡。它还涉及一种方法，能在较长时间内防止反刍动物受线虫、内、外寄生虫和蜱螨类的侵染，通过给反刍动物口服该丸药，如上所述，在较长时间内，将治疗及预防有效量的LL-F28249α，23-(O-甲基肟）LL-F28249α，或其衍生物，持续地释放入治疗动物的瘤胃，以消灭所述寄生虫的感染阶段并消除对牧场的污染。

使人惊奇的是，还发现通过服用本发明的丸药，其中极低水平的LL-F28249α或23-(O-甲基肟）LL-F28249α控制和防止反刍动物中线虫的侵染，该药剂含约0.3%到少于1.0%重量的LL-F28249α，23-(O-甲基肟）LL-F28249α或其衍生物，约14%－16% 重量的甘油单脂酸酯，约3%－5% 重量的巴西棕榈蜡，及约78.01－82.7% 重量的重晶石。

而且我们还发现，本发明的丸药能有效地提供影响家畜的寄生虫

的预防控制，这种控制很明显地由于极低水平的ＬＬ－ Ｆ28249 α或23-(Ｏ－ 甲基肟）ＬＬ－ Ｆ28249 α的不断存在。还发现对反刍动物的这种预防治疗不仅使该动物免于受线虫、内寄生虫、外寄生虫和蜱螨类的侵染，而且与未处理动物，或用其他驱虫剂、抗菌剂或杀螨剂处理的动物相比，使该动物显著增加了体重。

有效地控制和/ 或防止昆虫、线虫和蜱螨类侵染反　动物，如牛、绵羊、山羊、骡犏、水牛、鹿等的较佳丸药组合物，含约1.0%-8.5%重量的ＬＬ－ Ｆ28249 α，或23-(Ｏ-甲基肟）ＬＬ－ Ｆ28249 α，约14.0%-16.0% 重量的甘油单脂酸酯，约3.0%-5.0% 重量的巴西棕榈蜡，及约70.0%-80.5%重晶石。

本发明中一个较佳实施例为给反刍动物口服的一种持久释放丸药，能有效地在较长时内（可在六个月以内）保护该动物使不受蠕虫、内寄生虫、外寄生虫和蜱螨类的成虫和幼虫的侵染，该药主要含约0.3%-10%重量的ＬＬ－ Ｆ28249 α，23-(Ｏ－ 甲基肟）ＬＬ－ Ｆ28249 α其衍生物，约10%-20% 重量的甘油单脂酸酯，约3.0%-10%重量的巴西棕榈蜡，及约70.0%-85% 重量的硫酸钡或重晶石细粉。一个最佳持久释放的丸药主要含约0.3%到小于1%重量的ＬＬ－ Ｆ28249 α，或23-(Ｏ－ 甲基肟）ＬＬ－ Ｆ28249 α，约14%-16% 重量的甘油单硬脂酸酯，约3.0%-5.0% 重量的巴西棕榈蜡，及约78.01%-82.7%重量的硫酸钡或重晶石细粉。

使人吃惊的是反刍动物的预防治疗（在有些实施例中每天以超低的剂量）不仅防止和/ 或控制线虫，内、外寄生虫和蜱螨类的侵染，而且与未处理动物或用其它驱虫剂，抗菌剂或杀螨剂处理的动物相比，使动物显著地增加体重。

本发明持久释放丸药配方的制备，通过在重量基础上混合，在低于蜡或混合物的熔点下，将约0.3%-10%活性组分，约3.0%-10%巴西棕

棕蜡，约10%-20% 甘油单硬脂酸酯，及约79%-85% 高密度，药物学上和药理上可接受的选自硫酸钡和重晶石填充剂混合而成。这混合物可用于注模步骤，或用挤压机或切片机将混合物做成小丸药或片剂，然后用于注模。

混合后，混合物被排出，或被转到成丸挤压机，或直接装到注模中，如果需要提高丸药的均一性，可利用三段温度分布使混合物成丸，此分布包含一进料部分，其温度保持在低于蜡熔点下，一灼热的过渡部分，温度保持在高于蜡和硬脂酸酯的熔点以上，及一计量部分，温度保持在低于蜡和硬脂酸的温度以下，使用装有粉碎机括片的直通模，设有粉碎机括片装置保持在与计量部分温度区域相似的温度处。

所得的挤压成形物质用空气冷却，然后切成所需大小的丸药。为了提高均一性，还可以通过将活性组分、蜡、及硫酸钡或重晶石细粉混合物压成薄片，然后用商业上可得的装置使成颗粒状，或用蜡使做成颗粒。

所得的丸剂和/ 或干燥的混合物材料被转送到注模系统中，此系统用三段温度分布操作，与成丸药时所用的相似，即：一进料相在软化点下，一过渡相在软化点之上，及一注入相，其中混合物在混合物软化点温度下注入模具。冷却模具，使丸药冷却。生产出大丸药从模具中取出，包装。

以上过程中可用硫酸钡或其它填充剂，及加重剂，较佳的是用重晶石细粉。在这个过程中用重晶石细粉片用纯的USP级硫酸钡有几个优点，例如用重晶石可增加药剂的硬度，减少大丸药的磨损率。这样，该大丸药具有更具控制磨损率，及更持久释放LL-F28249 α，或23-(O-甲基肟) LL-F28249 α的速率。

同样，在处理含蜡，甘油单硬脂酸酯和活性组分的混合物时，发理用重晶石细粉比用USP级硫酸钡所产生粘度减少，这样更易常握

的固体混合物。

用注模制备本发明的大丸药避免对固体混合物的冷冻碾磨，及使用附加的润滑剂，而这些在其它方法中常常是必需的，如固体的片剂模压方法。另外一个优点是避免了保持在100 目网筛上的微粒药物的再循环。片剂模压中模压需100 目筛孔的物质，因为用大于100 目筛孔的材料将引起丸药中活性组分的释放加快。

用注模方法制备本发明ＬＬ－ Ｆ28249 α和23-(Ｏ－ 甲基肟) ＬＬ－ Ｆ28249 α丸药的一个较佳方法中，操作周期可减少到约40 -50 秒。当操作条件温度保持在140 ℃以下时，可保持预期的全部活力。显得非常需要的实际操作条件包括：a)增加温度分布，即：一个在室温的筒及90℃喷嘴温度；b)注射时间为20秒；c)注射压力为0.5 吨表压；及d)20秒钟的冷却时间。这些条件导致在89-90 ℃之间的熔化温度，远远低于分解的临界温度。时间/ 温度研究表明，因为这杰出的稳定性，使熔渣的连续再循环成可能。注模生产大丸药比浇注大丸药有更高密度，更硬，及以更低的速率磨损（由甲醇崩解法测定）。而且，流变学数据表明重晶石的更好的“可湿性”，可能保护活性组分不受热分解。

虽然注模方法是制备本发明的药剂的较好方法，但须意识到用手模方法也可以制备该药剂。也可看到丸药的大小可以有显著的变动，以适合所有反刍动物的大小和种类。用手工模制技术，单硬脂酸酯和巴西棕榈蜡先行混合，熔融、加热到105 ±5 ℃。在此熔化物中加入活性组分，混合成均匀的悬浮液。在此悬浮液中，边加入重晶石边不断搅拌。混合直到获得一种均匀的似乳油混合物。所得的物质注入模中，冷却到室温，去模。制备的丸药的大小和重量当然是由所用模型的大小决定的。

以下非限制性实施例用来进一步解释本发明。

实施例1： 制备接种物

用来培养各种阶段的菌种的一典型培养基是按下列配方制备的：

葡萄糖……1.0%

糊精……2.0%

酵母浸膏……0.5%

NZ 胺……0.5%

碳酸钙……0.1%

水……足量……至……100%

将此培养基灭菌，取100 毫升此无菌培养基，置于瓶中，用长在琼脂斜面上的蓝灰色链霉菌NRRL15773（Streptomyces Cyaneogriseus noncyanogenus NRRL 15773）的菌丝体碎片接种。在28℃，在旋转摇床上剧然摇动此培养基，产生初级接种物。然后将它接种在1 升此无菌培养基中，在28℃需氧培养48小时，产生二级接种物。

实施例2： 发酵

按下列配方制备发酵培养基：

葡萄糖……1.0%

大豆胨……1.0%

糖浆……2.0%

碳酸钙……0.1%

水……足量……至…100%

将此培养基灭菌，取30升，用实施例1 中制备的二级接种物1 升接种。发酵在30℃进行，每分种通入30升无菌空气流，反压为8 表压，用叶轮以500rpm搅动91小时，收获发酵后的浆状物。

实施例3： 分离LL-F28249 α

取如实施例2 制备的所收获的发酵浆状物共26升，用1500克硅藻

土混合，过滤。菌丝体滤饼用5 升水洗涤，弃去滤液及洗涤水。菌丝体饼与10升甲醇混合1 小时，过滤，用5 升甲醇洗涤。甲醇提取物和甲醇洗涤液合在一起，蒸发至大约1-2 升的液体残留物。此液体残留物与两倍于它体积的二氯甲烷混合半小时。分离二氯甲烷相，然后浓缩成浆，得27克粗产物。

27克粗产物溶于二氯甲烷和甲醇的混合物中，通过棉花和无水硫酸钠过滤，然后蒸发，得7.0 克油状物。

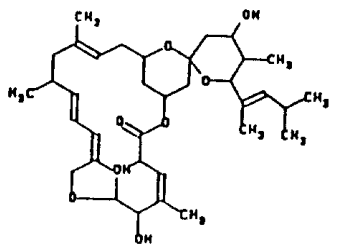
将170 克硅胶在含12.5% 乙酸乙酯的二氯甲烷中搅成淤浆，装入柱中使形成2.5 ×58厘米的柱。将油状物溶解于含12.5% 乙酸乙酯的二氯甲烷中，施加到柱上。用同样的混合溶剂展开，流动相以1.3 毫升/ 分钟流下，收集每15分钟流出的部分。在10次分级收集后，流速减到0.5 毫升/ 分钟，这样1-10次分级收集为20毫升，均匀地降至约10毫升，级分11-98 为大约7 毫升，在第99级分时，流速增加到在10分钟内，得25毫升流出液，总共收集到105 个极分。用薄层色谱法在乙酸乙酯：二氯甲烷 (1:1)中测定这些级分。

将级分55-62 合在一起，蒸发，得150 毫克含ＬＬ－ Ｆ28249 α和 β的固体。

用以80%(v/v)甲醇水溶液展开的反相柱 (Whatman，2.2 ×50厘米)， 通过制备型ＨＰＬＣ，用色谱法分离含ＬＬ－ Ｆ28249 α和 β的150 毫克的固体。收集流速为约10毫升/ 分钟，2 分钟的流出液。

将级分58-69 合在一起，蒸发去甲醇，加入叔丁醇，混合物冷冻干燥，得60毫克纯ＬＬ－ Ｆ28249 α。

此化合物可以以下分子式说明：



实施例4：5- O- 叔丁基二甲基甲硅烷基LL- F28249 α

在500 毫升CH_2Cl_2中，在20℃，氮气氛下，加入70克LL-F28249 α与82.04 克咪唑搅拌。然后，在5 分钟中加入含43克叔丁基二甲基甲硅基氯的400 毫升CH_2Cl_2，1小时后，用高效液相色谱法（HPLC）测定反应是否完全，具体地是采用Whatman Partisil CCS/ C_8，快速分析柱，以1 毫升/ 分钟流速，在10分钟时间内用50% CH_3CN/50%水以曲线梯度方法展开。另加入3 克叔丁基二甲基甲硅烷基氯，3 小时后，组合物为92.3% 产物，0.3%LL- F28249 α及1.16% 二甲硅烷基化的物质。混合物用CH_2Cl_2稀释，倒入2升水中。分离CH_2Cl_2层。水相用2 升CH_2Cl_2萃取，合并有机层并用Na_2SO_4干燥。CH_2Cl_2在真空中蒸发，产生166 克标题化合物，用质谱方法和核磁共振（NMR）谱法鉴定证实。

实施例5：5- O- 叔丁基二甲基甲硅烷基-23 氧代LL- F28249 α

在5 升干CH_2Cl_2中，在N_2气氛下搅拌116 克5-O- 叔丁基两甲基甲硅烷基化LL- F28249 α，并在22℃加入540 克NaOAc，再加172.5 克吡啶镒氯铬酸盐（PCC）。1 小时后，由于HPLC测试反应未完全，另加入15克PCC.2 小时后，再加入10克PCC，搅拌反应共5 小时。混合物注入6 升冰水混合物中，分离CH_2Cl_2层。水层用CH_2Cl_2萃取，合并CH_2Cl_2层并用水洗涤及干燥（Na_2SO_4）。CH_2Cl_2在真空中蒸发，产生197.8 克粗产物，溶于2 升Et_2O中并过滤。Et_2O溶液用水洗涤(2×1000毫升)，干燥（Na_2SO_4），并且蒸发至干燥，产生60克标题化合物，用质谱方法和NMR光谱学方法鉴定证实。

上述步骤中吡啶鎓氯铬酸盐用吡啶重铬酸盐替代，也可得标题化合物。

实施例6： 23- 氯代- L L- F28249 α

在1.5 升Me OH中，通过加温使60克5-O- 叔丁基二甲基甲硅烷基-23-氧代- L L- F28249 α溶解，在0 ℃时，加入含30克对甲苯磺酸的300 毫升Me OH液。混合物搅拌3 小时，倒入6 升饱和$NaHCO_3$溶液的6 升水中。搅拌后，用4 升Et OAc 萃取混合物，分层。水相用Na Cl 使之饱和，用6 升Et OAc 萃取两次。第一次的Et OAc 萃取液层用饱和Na Cl 溶液洗涤，并与其它Et OAc 萃取液合并，干燥（Na_2SO_4）。Et OAc 在真空中蒸发，得148.1 克黑暗色残余物。粗产物通过HPLC色谱法分离，HPLC系在1200克SiO_2上，用含1%异丙醇的CH_2Cl_2洗脱，用紫外线标测器/254 mM过滤器控制。将级分39-42 合在一起，蒸发至干燥，得12.65 克标题化合物，分析如下：

$C_{36}H_{50}O_3$分析计算值C，70.79；H，8.25

实测值：C，70.33； H，8.31

标题化合物进一步用质谱法和NMR光谱法鉴定证实。

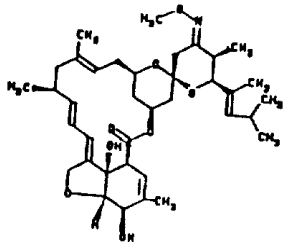
实施例7： 23-(O- 甲基肟) L L- F28249 α

室温下，在930 毫升干二氧杂环己烷中，加入70克23- 氧代- L L- F28249 α，11.8克Na OAc，11.8 克$CH_3ONH_2 \cdot HCl$ 和2.1 毫升HOAc 。混合在N_2气氛下搅拌3 天，在HPLC测定无起始物质后，在真空中蒸发去650 毫升二氧杂环己烷。残余物倒入5 升水中，产物用CH_2Cl_2 (4×2 升) 萃取。合并的萃取物用水洗涤，干燥（Na_2SO_4），蒸发至干。残留物溶于1500毫升Et_2O中，溶液用水洗涤，干燥（Na_2SO_4），蒸发至干。这样得11.84 克标题化合物，用质谱法和NMR光谱法鉴定证实。它还可分析如下：

$C_{37}H_{53}O_8N{\cdot}1.5H_2O$ 的分析计算值：C，66.64；H，8.46；N，2.10

实测值：C，66.82；H，8.13；N，2.32

此化合物可用下图表示



实施例8：持久释放丸药的制备

根据下列配方制备药剂：

组分	%
23-(O-甲基肟) L L-F28249 α (89%实测)	0.34
甘油单硬脂酸酯	15.95
巴西棕榈蜡	3.96
重晶石	79.75

将单硬脂酸酯和巴西棕榈蜡混合，溶融，加热至105 ±5 ℃。在这个熔融物中加入活性组分，混合成均匀的悬浮液。在悬浮液中，边加入重晶石，边不断搅拌，直至获得似乳油状混合物，不停止搅拌。所得物质倒入模型中，冷却至室温，去模。所得丸药重量在51到53克之间。每个药剂两端呈半球形，厚度为3/4 英寸，宽度为7/8 英寸，长度为3.0 英寸。

甘油单硬脂酸酯规格表明这物质应是白色粉末，或念珠状，基本上无外来物质。颗粒大小不应超过美国标准筛子第20号的5%，酸值2-3.0，含湿量不超过1.5%。总共的单硬脂酸酯应超过40%，但游离酸不应超过1.5%。

巴西棕榈蜡应为黄色粉末，基本无外来物质。100%的蜡应能通过

美国标准筛子第80号。蜡的酸值应为2.0-6.9，丙酮可溶性树脂状物质在15℃不应超过5.0%。

重晶石应为灰色粉末，基本上无外来物质，堆积密度大约为150英磅/立方英尺。粒子的大小须是：不超过4%能留在美国标准筛子第200号上，不少于80%能通过美国标准筛子第325号。对可接受产物的化学分析为：Ba SO_4 90-94%；Si O_2 7-8%，及 Fe_2O_3 0.1-0.2%。本发明的药剂的密度应在2.35到2.6 ±0.6之间。

其它丸药组合物以同样方法制备，在表1中显示。

实施例9：本发明丸药的磨损率的决定

在表1中命名为A，B和C的药物释放率由最初检测该丸药的化合物23-(O-甲基肟) L L- F28249 α的量决定，该丸药系被选择来测试的小牛服用。这些测试表明用来评价的药剂含0，713，1035，或1260毫克23-(O-甲基肟) L L- F28249 α。将50-53克重丸药分为二半，称量，口服，每头小牛半颗。处理过的小牛然后按传统的或标准养牛过程那样圈养，喂食及饮水。所有动物的食谱为标准牛配给量。

在口服后70，119和167天后，解剖每个处理组的四头动物，重新找到丸药，检查其表面为粗糙的还是光滑的，然后称量。结果记录下来，评估。每次处理的第二组动物在处理后119天后，重复上面步骤，在每个处理组的第3组动物处理167天后再次重复此步骤。

为方便起见，从每个处理组，每组四头小牛所得的结果平均，列在表2中。

实施例10：持久释放丸药配方的制备，及它对胃肠蠕虫和微小牛蜱控制的评估

主要含23-(O-甲基肟) L L- F28249 α，甘油单硬脂酸酯，巴西棕榈蜡和重晶石的持久释放丸药，是通过在混合器中，将各种组

分的合适量混合，保持约80℃10分钟而制备的。

混合后，混合物排出，移到成丸挤压机上，和/或直接排入至注模。

如果进行成丸形生产，混合物用设有20号筛孔破碎括片的直通1/8英寸模，具有进料部分(50-60℃),热过渡部分(100-110℃)，和冷却计量部分(50-60℃)的钟状温度分布图加工成丸形。模的温度保持在55-60 ℃。所得一条挤压出物质用空气冷却（吹向模开口的空气流），用热面切削器切成1/4"英寸长的丸药。

在直接送入干混合物的情况下，可用如振荡筛（Vibra- Screen)的进料系统，用热流道系统和一关闭喷嘴将物质移到注模中去。注模的操作条件应与上述成丸操作所述的钟状温度分布一致。即进料时间(10-20秒),注入时间(10-20秒),注入压力0.5 吨表压，及维持时间(5-10 秒),所产的丸药每个重51克，密度为2.5g/cc,由Delamer Press测量的硬度为77-80 千克。

用这种方法制备的丸药如以下所示。

通过注模方法制备的药剂组成

重量%

组分	丸药 I	J	K	L
23-(O- 甲基肟)				
LL- F28249 α	0.0	3.24	4.84	6.46
甘油单硬脂酸酯	14.40	14.40	14.40	14.40
巴西棕榈蜡	3.60	3.60	3.60	3.60
重晶石	82.20	78.76	77.16	75.54
（重量单位为克）				
23-(O- 甲基肟)	0	28.49	42.15	26.49

LL- F28249 α				
甘油单硬脂酸脂	125.20	125.28	125.28	59.04
巴西棕榈蜡	31.32	31.32	31.32	14.76
重晶石	713.60	685.21	671.29	309.71

为评估以上组合物对侵染牛的胃肠蠕虫和牛蜱（在牛体内或牛身上）的控制，进行了以下测试。

52头abedeen angus 小牛（小于1 岁）及在牧场上，被选择来评述上面所描述并命名为I，J，K和L的丸药。

依次含0，713，1035，或1260毫克23-(O- 甲基肟) LL- F28249 α的药，其一半的重量为约25克。

在处理的前一周，对小牛上的两类不同的线虫卵计数，并估定蜱侵染的严重程度。这些动物耳上作标鉴，称重，并分入四个处理组中，每组12头牛。第5 组4 个动物也在耳上作标签并称重。这组是用来研究解剖后重新找到的丸药再用到其它动物上的可用性。

对不同线虫卵的计数在一周，二周，1 月及连续5 个月进行，或者直到不须作适当的控制为止。

在以下表3 和表4 中获得的数据表明，在测试的前67天不处理的对照动物，在这部分的整个测试阶段中一直受严重的侵染。这些动物然后用左旋咪唑治疗，可见线虫侵染的显著降低。接受本发明的含713 到1260毫克23-(O- 甲基肟) LL- F28249 α丸药处理的动物，在处理后28天到167 天基本上无线虫侵染。

在用含1035毫克到1260毫克23-(O- 甲基肟) LL- F28249 α的丸药处理后一周内，可清除蜱。接受含713 毫克活性组分的丸药处理的动物用二周消除蜱。对照动物不得不浸入杀蜱溶液以防止死亡。治疗动物97天保持无蜱，对照组动物直到寒冷的气候到来才能消除蜱的侵染。

实施例11：持久释放的丸药对牛的痒螨疥癣的预防控制的评估

每1/2 丸药含375 毫克23-(O- 甲基肟) L L- F28249 α，通过实施例10中所述的注模技术制备。制备的丸药具以下组分。

组分	重量%	克数
23-(O- 甲基肟) L L- F28249 α	1.53	1.61
甘油单硬脂酸酯	15.73	16.52
巴西棕榈蜡	3.93	4.12
重晶石	78.81	82.75
	100.00	105.00

接受丸药的牛给予50克丸药的一半，含750 毫克23-(O- 甲基肟) L L- F28249 α。

选择杂种的小母牛测试。动物置于干燥的地方，并起用健康方案以防止普通的疾病。它们耳上做标签，并置于牧畜栏中枷内，以防止舔上疥癣感染。

然后将活螨接到每头动物身上。在严重感染的供体动物上取下片断，移到候选动物上。

从未置于牲口棚的动物中随机选四个未感染动物。这四个动物然后接受丸药处理，在一周后受感染。在随后两周内，共六次，把螨放有这些动物的每一头上。

小心防止动物中的交叉污染。在每周间隙，刮下螨，并在当天评估。

螨按阶段用20-30 x 解剖显微镜计数，375 毫克重丸药使接受6次螨接种的牛防止了痒螨疥癣侵染。

所获数据在下面表5 中显示。

实施例12：含23-(O- 甲基肟) L L- F28249 α的丸药对牛上

的吹吮虱和秋家蝇的评估

这些评估中用的丸药是由实施例10中所述的注模技术制备。制备的药剂有以下组分。

药剂	Ⅰ		Ⅱ		Ⅲ	
组分	重量%	克数	重量%	克数	重量%	克数
23-(O- 甲基肟) LL- F28249 α	1.62	6.64	3.24	28.49	4.84	42.15
甘油单硬脂酸酯	14.40	59.04	14.40	125.28	14.40	125.28
巴西棕榈蜡	3.60	14.76	3.60	31.32	3.60	31.32
重晶石	80.38	329.56	78.76	685.21	77.16	671.29

为了便于评估，药剂剖成两半

丸药Ⅰ：含375 毫克ＡＩ／半粒丸药

丸药Ⅱ：含750 毫克ＡＩ／半粒丸药

丸药Ⅲ：含1125毫克ＡＩ／半粒丸药

ＡＩ＝活性组分

在处理前，给所有的动物称重，耳上作标签，并检查虱子。通过肉眼观察以下部位的2-3 厘米的毛发处来估计虱的数目：耳朵，眼睛，鼻口部，下巴，胸部，颈部垂肉，肩部，背脊，尾部，及髋部。动物随机地被分到每个含5 头动物的3 个处理组及一个对照组中去。组Ⅰ，Ⅱ，和Ⅲ均给予含实验化合物的丸药，而组1 不处理。所有的动物圈在2 英亩地内，能自由地接近苜蓿干草及矿物质补充物。在测试中第7 天，第14天，第28天及两月一次，估算动物上的虱数。

在人工灯光下，牛关在总闸门内估计虱数。

在第7 、28天及随后每月取排泄物试样（约10克），做线虫分析，

试样贮存在-10 ℃。

所有动物的丸药处理组(375毫克，750 毫克，及1125毫克）均在处理一周后，显示蓝牛虱，牛管虱（Solenoptes capillatus）水平的显著降低。

在100 天内，在所有药剂处理牛上可见 吸吮虱（Silenoptes capillatus） 的完全控制。

实施例13：对慢释放丸药在较长时间内对牛皮蝇属（Hypoderma spp.)控制的评估

在此评估中用的药剂是用上面实施例10中所述的注模方法制备的。所评估的丸药具以下组成：

组分	重量	克数
23-(O- 甲基肟）LL- F28249 α	1.6	3.2
甘油单硬脂酸酯	14.4	28.8
巴西棕榈蜡	3.6	7.2
重晶石	80.4	160.8
	100.0	200.0

在这些测试中，自然感染第一龄期皮蝇（Hypoderma spp）的杂种牛随机地分入四头牛一组的处理组中。一组作为未处理对照，另一组接受50-54 克重丸药的一半，含375 毫克23-(O- 甲基肟）LL- F28249 α。半粒丸药用一种枪(balling gun)使小牛应用。

在服药后，在每周的基础上通过肉眼观察及触诊小牛背来确证牛蝇的存在，以决定药效。用23-(O- 甲基肟）LL- F28249 α处理对皮蝇（Hypoderma spp.)完全有效。在72天的试验中，接受含375 毫克上述化合物的药剂处理的牛背上不出现蝇，未处理对照动物在58天

内平均为12（在4-19之间）蝇/ 头，及71天内为8.8 。

实施例14：含75到1875毫克ＬＬ- Ｆ28249 α的丸药对牛的线虫和蜱的延长期控制的评估。

评估用药按下列步骤制备：

混合单硬脂酸酯及巴西棕榈蜡，熔化并加热至105 ±5 ℃。再加入活性组分，并混合成均一的悬浮液。在悬浮液中，边不停搅拌边加入重晶石，继续搅拌直至得均匀乳油状混合物。得到的物质倒入模中，冷却到室温，并去模。得到的丸药重量在51到53克。每个药剂两端为半圆形，厚3/4 英寸，宽7/8 英寸，长3.0 英寸。

半粒丸药（重25.5到27.5克）给牧场上牛服用。根据120 天内内及外寄生虫的数目来评估药效。

组分	重量%	克数	重量%	克数	重量%	克数
ＬＬ- Ｆ28249 α	0.34	5.1	1.69	25.35	8.44	126.6
甘油单硬脂酸酯	15.95	239.25	15.73	235.95	14.65	219.75
巴西棕榈蜡	3.96	59.40	3.93	58.95	3.66	54.90
重晶石	79.75	1196.25	78.65	1178.75	73.25	1098.75

丸药Ⅰ每半粒含75毫克ＬＬ- Ｆ28249 α．丸药Ⅱ每半粒含375毫克ＬＬ- Ｆ28249 α，药剂Ⅲ每半粒含1875毫克ＬＬ- Ｆ28249 α。

在此测试中，放牧动物随机地分入5 个动物1 组的组中去，并在耳上做标签。在测试前，检测所有动物的排泄物，以确定每克测试动物排泄物中线虫卵的平均数目。所有的小牛似乎都是每克排泄物含2700个到3000个卵。测试开始是所有动物接受重为25到27克的半粒丸药。对照动物在测试开始，及在第62天，接收3.75毫克/ 千克体重的左旋咪唑，其它处理组接受如上述依次含75，375 或1875毫克ＬＬ- Ｆ28

249 α的一半药剂Ⅰ，Ⅱ或Ⅲ。动物然后置于单个围场内，并在维持达120 天的时期内，间歇检查。在处理后第7,16,32,62,91 及106 天，从每个动物处收集排泄物，并确定每克排泄物中线虫卵的平均数，所得数据表明给予75毫克重的丸药减少了线虫卵数，并且线虫的水平比用左旋咪唑两次处理的低。375 毫克及1875毫克丸药在一周内减少99.9% 的线虫卵，并且对线虫的控制达99.9% 。接受375 和1875毫克丸药的动物，在统计上很明显，具更好的重量表现。接受75毫克丸药的动物的重量与左旋咪唑控制的一致。

表　　1

缓慢释放丸药组合物

组分	A	B	C	D	E	F	G	H
23-(O-甲基肟)LL-F28249 (89%实测)	0.34	1.69	8.44	1.70				
23-(O-甲基肟)LL-F28249 (90%实测)					1.63	3.26	4.90	6.50
甘油单硬脂酸脂	15.95	15.73	14.65	15.70	14.40	14.40	14.40	14.40
巴西棕榈蜡	3.96	3.93	3.66	3.90	3.60	3.60	3.60	3.60
重晶石	79.75	78.65	73.25	78.75	80.37	78.74	77.10	75.50
	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

表 2

表1中丸药A,B和C的磨损率

药剂检测平均含23-(O-甲基肟)LL-F28249alpha的量(mg)	起始丸药平均重量(mg)	重新找到丸药的天数	23-(O-甲基肟)LL-F28249alpha的平均输送量毫克/ 每头/ 天数	这阶段中动物平均重量(kg)	23-(O-甲基肟)LL-F28249alpha从第一天到重新找到丸药间给出的释放率毫克/公斤/ 天	23-(O-甲基肟)LL-F28249alpha从70天到119天和119天到167天之间给出的平均释放率毫克/公斤/天
713	26.7	70	6.07	113.4	0.054	-
713	26.7	119	4.95	119.6	0.041	0.028
713	27.1	167	3.45	122.4	0.028	0.0014
1035	26.2	70	8.59	121.8	0.071	-
1035	26.7	119	6.19	111.0	0.056	0.025
1035	26.1	167	5.31	129.7	0.041	0.0
1260	25.8	70	10.41	129.0	0.081	-
1260	25.6	119	6.67	113.3	0.059	0.012
1260	25.8	167	7.09	129,2	0.055	0.06

表　3

对含23-(O-甲基肟)LL-F28249alpha 的丸药
对牛线虫侵染的延长期控制评价

处理后天数	0 mg丸药		713mg丸药		1035mg丸药		1260mg 丸药	
	动物 WB/T1	平均 EPG	动物 WB/T1	平均 EPG	动物 WB/T1	平均 EPG	动物 WB/T1	平均 EPG
0	12/12	519	12/12	873	12/12	552	12/12	581
28	11/11	1041	12/12	0	12/12	0	12/12	0
44	11/11	1465	12/12	0	12/12	0	10/10	0
65	10/10#	2043	12/12	0	12/12	0	10/10	0
97	7/7	108	8/8	0	8/8	0	6/6	0
116	7/7	308	7/8	25	8/8	0	6/6	0
140	3/3	317	4/4	25	5/5	0	3/3	0
167	2/3	717	4/4	0	3/5	0	1/3	100

WB/T1 = 所用丸药/ 动物总数
# 在测试的第67天用左旋咪唑(3.75mg/kg) 处理的对照动物
EPG = 每克排泄物中线虫卵

表 4

含23-(O-甲基肟)LL-F28249alpha 的丸药对牛中线虫在较长时间内控制的效果评估

处理后解剖的日子	丸药浓度 MG*	动物数 药剂重量/总数	血矛线虫 成虫	血矛线虫 幼虫	百分数 胃线虫 成虫	胃线虫 幼虫	点状古柏线虫 成虫	点状古柏线虫 幼虫	结节线虫 成虫	网尾线虫 成虫
70	1260	4/4	100	100	100		100	-	100	100
	1035	4/4	100	100	100		99.9	-	100	100
	713	4/4	100	100	100		100	-	100	100
	——**	——	——	——	——		——	——	——	——
	0	4/4	4617 (4000-6167)	542 (333-667)	200 (66-533)		35783 (19600-51033)	0	665 (310-1072)	67 (5-11
119	1260	3/3	100	100	100	100	100	100	100	100
	1035	3/3	100	100	100	100	100	100	100	100
	713	3/4	100	100	100	100	98.8	97.2	100	100
	——**	——	——	——	——	——	——	——	——	——
	0	3/3	1752 (55-2400)	674 (67-1155)	441 (67-756)	74 (0-133)	23959 (18778-32500)	1322 (433-2533)	228 (60-400)	120 (0-31
167	1260	1/3+	98.5	97.3	92.8		73.4	100	100	100
	1035	3/5	99.3	100	100		99.4	100	100	100
	713	4/4	100	100	100		99.5	100	100	100
	——**	——	——	——	——		——	——	——	——
	0	2/3	2067 (1467-2533)	617 (533-1881)	10130 (3200-22898)		29567 (14033-59667)	400 (33-933)	413 (88-880)	2 (0-5

* 每头(半粒丸药[25克])

** 线虫数:数字,用( )表示系数字的范围

\+ 用丸药后动物无虫

表　5

每头动物上平均活螨数（痒螨属）

处理	处理前一天	处理后天数 8	16	22	29	34	43	47	56
含375mg23-(O- 甲基肟) LL-F28249alpha丸药	XX	-	-	0	0	0	0	0	0
	XX	-	-	0	0	0	0	0	0
	XX	-	-	0	0	0	0	0	0
	XX	-	-	0	0	0	0	0	0
未处理对照组	274	130	421	757	285	464	停止		
	123	149	50	403	218	停止			
	69	66	39	20	6	27	14	16	14
	1	4	3	9	1	5	9	16	16

XX= 测试开始一周后感染，然后发现螨群不能在丸药处理动物上生长，计数根据
2刮出物/ 动物/ 试样阶段

- = 螨群不能生长

表 6

含75,375和1875毫克LL-F28249alpha的药剂对牛上线虫控制的评估

处理	#小牛	每克排泄物中线虫卵平均数			
		0 天	7	62	119
				左旋咪唑	
（推荐剂量） 左旋咪唑 0 天及第62天	10	(2850)	5 (99.9%)	755	146
丸药 I (75mg)	10	(2850)	940 (67%)	205	5
丸药 II (375mg)	10	(2850)	0 (100%)	0	5*
丸药 III (1875mg)	10	(2850)	0 (100%)	0	5**

* 有25 EPG的动物

** 用药剂处理的6 个动物无EPG,未处理的4 个动物具EPG 值的正值

表 7

LL-F28249 丸药对牛中线虫的药效

处理	# 小牛	线虫控制% 血矛线虫	胃线虫	古柏线虫	结节线虫
75 mg 丸药	10	92	100	0	25
375 mg 丸药	10	100	100	97	99+
1875 mg 丸药	10	100	100	99+	100
左旋咪唑	10	2325	729	5937	117
控制的虫的平均数 (57 天前去虫)					

表 8

在第一天及第62天接受左旋咪唑的牛，及接受含LL-F28249alpha，并且每天输送LL-F28249alpha 0.37mg/头/ 日，1.96mg/ 头/ 日或3.76mg/ 头/ 日的牛的增重

处理	从第一天起平均增重(kg)		
	第 7天	第62天	第110 天
左旋咪唑（第1 天及第62天 3.75mg/kg）	7	0	21
丸药 I 75mg (0.0031mg/kg/day)	5	7	24
丸药 II 375mg (0.016mg/kg/day)	6	11	37
丸药 III 1875mg (0.031mg/kg/day)	8	15	40