Octrooiraad

(10)A **Terinzagelegging** (11) **8004486**

Nederland (19) **NL**

(54) **Depotpreparaat met een verlengde afgifte van de werkzame verbinding.**

(51) Int.Cl³.: A61K31/53, C07D251/54.

(71) Aanvrager: Ciba-Geigy A.G. te Bazel, Zwitserland.

(74) Gem.: Ir. G.F. van der Beek c.s.
NEDERLANDSCH OCTROOIBUREAU
Joh. de Wittlaan 15
2517 JR 's-Gravenhage.

(21) Aanvrage Nr. 8004486.

(22) Ingediend 6 augustus 1980.

(32) Voorrang vanaf 16 augustus 1979, 13 mei 1980.

(33) Land van voorrang: Zwitserland (CH).

(31) Nummers van de voorrangsaanvragen: 7516/79 , 3729/80 .

(23) - -

(61) - -

(62) - -

(43) Ter inzage gelegd 18 februari 1981.

De aan dit blad gehechte stukken zijn een afdruk van de oorspronkelijk ingediende beschrijving met conclusie(s) en eventuele tekening(en).

Depotpreparaat met een verlengde afgifte van de werkzame verbinding.

De onderhavige uitvinding heeft betrekking op een veterinair medicinaal depotpreparaat in vaste, gecomprimeerde vorm met een verlengde afgifte van de werkzame verbinding, dat ter bestrijding van in weefsels voorkomende parasitaire insectenlarven, in het bijzonder van de orde Diptera, op systemische wijze geschikt is, op een werkwijze voor de bereiding daarvan en op de toepassing daarvan.

De bestrijding van insectenlarven die als parasieten in de weefsels van de gastheren leven is van bijzonder groot belang, in het bijzonder met het oog op de aanzienlijke schade, die door de parasieten in de veehouderij en in het bijzonder in die van weidend vee kunnen worden veroorzaakt.

De dipterenlarven kunnen op zeer verschillende wijzen in de weefsels van de gastheren geraken. Zo kunnen na de eiafzetting door de moederdieren van de dipteren, die op verschillende lichaamsdelen van de gastheren kan plaatshebben, de uit de eieren gekomen larven door likken door de gastheren worden opgenomen en zich inboren in het keelgat of de larven kunnen van buiten zich inboren in de huid van de gastheren. De eieren kunnen echter ook eerst op muggen of vliegen worden gelegd. In de eieren ontwikkelen zich de larven en/ deze komen uit zodra het als drager dienende insect een geschikte gastheer heeft gevonden. Bij de levend barende dipterensoorten kunnen de larven door de moederdieren van de dipteren direct in de neus of de ogen van de gastheren worden gebracht.

Nadat de larven in de gastheren zijn geraakt kunnen zij door eigen voortbeweging in de door de larven bij voorkeur bezochte delen van het lichaam van de gastheer terechtkomen. De larven kunnen bijvoorbeeld in of onder de huid, in het maagdarmkanaal of in de neus-, keel- of voorhoofdsholte van de gastheer optreden.

De verschillende verschijningsvormen van het parasitisme door dipterenlarven bij dieren kan worden samengevat met het begrip myiasen.

Myiasen kunnen bij talrijke diersoorten voorkomen, bijvoorbeeld bij runderen, paarden, ezels, muildieren, rendieren, schapen, varkens, honden en katten.

Bij de gastheren kan de aantasting door parasitaire dipterenlarven naast andere nadelige uitwerkingen, een vermindering van

de melkopbrengst, wolverlies, vermageren en zelfs het sterven veroorzaken. Indien de gastheren door huidparasieten zijn aangetast, die de vorming van builen op de huid veroorzaken, kan daarnaast een vermindering van de kwaliteit van de huiden door perforatie worden verkregen, daar de builen een kleine opening hebben die door de larven voordat zij de gastheer voor het verpoppen verlaten wijder worden gemaakt.

Daar de larven zeer verschillende en gedeeltelijk moeilijk te bereiken lichaamsdelen van de gastheren kunnen aantasten is de bestrijding daarvan een groot probleem. Daarnaast is een mogelijke infestatie van de gastheren door in weefsels voorkomende parasitaire insectenlarven niet tot een kort, gemakkelijk te beheersen tijdsbestek beperkt. Zo kunnen in het bijzonder de vliegtijden van de vrouwelijke insecten die tot een eiafzetting of tot een afzetting van larven in staat zijn afhankelijk van de milieuomstandigheden zich uitstrekken over lange perioden, hetgeen naast een voortdurende controle van de gastheren een behandeling van de gastheren met korte tussenpozen nodig maakt. Onder omstandigheden in de praktijk vereist een dergelijke wijze van werken bijzonder veel arbeid en veel kosten en/is het bijzonder bij vrij levende kudden nauwelijks uitvoerbaar.

Voor een werkzame bestrijding op lange termijn van in weefsels voorkomende parasitaire insectenlarven is dus een preparaat vereist dat een betrouwbare bescherming op lange termijn van de gastheren tegen de parasieten verzekert zonder daarbij nadelige werkingen uit te oefenen. De verschaffing van dergelijke preparaten is op grond van de hoge en uiteenlopende eisen waaraan zij moeten voldoen een bijzonder groot probleem. De gewenste voordelen van dergelijke preparaten kunnen slechts worden bereikt door middel van een uit een aantal componenten bestaand systeem, waarbij bijvoorbeeld dient te worden verzekerd dat de afzonderlijke componenten voor de te behandelen gastheren niet toxisch zijn en ook onder invloed van de andere componenten, van de verteringssappen van de gastheren en van de door de gastheren opgenomen voeding geen toxische produkten vormen.

De efficiëntheid van de werkzame verbinding mag door de overige componenten op geen enkele wijze nadelig worden beinvloed.

Voorts moet na toediening van het preparaat aan de gastheer een werkzame concentratie in het bloed snel worden bereikt en gedurende lange tijd worden gehandhaafd, waarbij echter op geen en-

kel tijdstip een concentratie mag optreden die zo hoog is dat de concentratie schade aan de gastheer kan veroorzaken. Anderzijds mag het ook niet tot een vroegtijdige uitscheiding van de werkzame verbinding of van het preparaat door de gastheer komen.

De onderhavige uitvinding verschaft een depotpreparaat met een verlengde afgifte van de werkzame verbinding, dat naast een werkzame verbinding met de formule 1 waarin R_1 een waterstofatoom, een methyl-, ethyl- of cyclopropylgroep, R_2 een waterstofatoom of een methylgroep, R_3 een waterstofatoom, een methyl- of cyclopropylgroep, R_4 een waterstofatoom of een methylgroep en R_5 een ethyl-, n-propyl-, isopropyl- of cyclopropylgroep voorstellen of een voor herkauwers niet toxisch zuuradditiezout daarvan en een gebruikelijke hulpcomponent of een aantal van dergelijke hulpcomponenten alkylhydroxyalkylcellulose waarin de alkylgroepen onafhankelijk van elkaar 2 of 3 koolstofatomen bevatten en een hoger vetzuur met 15-18 koolstofatomen in de alkylrest of een calcium- of magnesiumzout daarvan bevat.

De werkzame verbindingen met de formule 1 ontwikkelen een syste-mische werking, hetgeen betekent dat reeds bij een lokale applicatie aan de gastheer een werkzaamheid tegen de parasitaire dipterenlarven ook in de onbehandelde lichaamsdelen optreedt. De depotpreparaten volgens de uitvinding maken dus een werkzame bestrijding van de parasitaire dipterenlarven ook in lichaamsdelen mogelijk waarbij een directe applicatie bijzonder moeilijk of nagenoeg onmogelijk is. Zij hebben in het bijzonder een goede werking tegen myiasis veroorzakende larven van insecten van de orde Diptera die tot de families Calliphoridae, Oestridae, Cuterebridae, Gasterophilidae, Sarcophagidae en Hypodermatididae behoren, bijvoorbeeld tegen larven van Lucilia spec., Cochlyomyia hominivorax, Chrysomyia bezziana, Hypoderma lineata, Hypoderma bovis, Dermatobia hominis, Oedemagena tarandi, Gasterophilus spec., Oestrus ovis, Rhinoestrus purpureus, Wohlfahrtia vigil en Cuterebra spec.

Van de verbindingen met de formule 1 is het 2-cyclopropylamino-4.6-diamino-s-triazine vanwege de uitmuntende werking in het bijzonder ter bestrijding van in weefsels voorkomende parasitaire insectenlarven in het bijzonder die van de orde Diptera geschikt.

Onder zuuradditiezouten van de verbindingen met de formule 1 dienen zouten met farmaceutisch geschikte zuren te worden verstaan, bijvoorbeeld met sterke minerale zuren zoals zoutzuur of zwavelzuur of met organische zuren zoals azijnzuur, wijnsteenzuur of

citroenzuur.

De verbindingen met de formule 1 kunnen volgens op zichzelf bekende werkwijzen worden bereid door bijvoorbeeld

a) een verbinding met de formule 2, waarin R_1, R_2 en R_5 de bij formule 1 vermelde betekenissen hebben en X een halogeenatoom, bij voorkeur een chlooratoom voorstelt met ammoniak of een primair of secundair amine met de formule 5 waarin R_3 en R_4 de bij formule 1 vermelde betekenissen hebben om te zetten (zie fig. 1) of

b) een 2.4-diamino-6-halogeen-s-triazine met de formule 3 waarin R_1, R_2, R_3 en R_4 de bij formule 1 vermelde betekenissen hebben en X een halogeenatoom, bij voorkeur een chlooratoom voorstelt met een verbinding met de formule 6 waarin R_5 de bij formule 1 vermelde betekenissen heeft om te zetten (zie fig. 2) of

c) indien in de verbindingen met de formule 1 de betekenis van R_1 gelijk is aan die van R_3 en de betekenis van R_2 gelijk is aan die van R_4,een verbinding met de formule 4 waarin R_5 de bij formule 1 vermelde betekenissen heeft en X een halogeenatoom, bij voorkeur een chlooratoom voorstelt met ammoniak of een primair of secundair amine met de formule 7 waarin de betekenis van R_1' gelijk is aan die van R_1 ($R_1 = R_3$) zoals bij formule 1 is vermeld en de betekenis van R_2' gelijk is aan die van R_2 ($= R_4$) zoals bij formule 1 is vermeld om te zetten (zie fig. 3).

De substitutie van de halogeenatomen met ammoniak, primaire en/of secundaire aminen met de formules 5, 6 en 7 wordt uitgevoerd door de uitgangsverbindingen met de formules 2,3 en 4 in inerte oplosmiddelen zoals bijvoorbeeld aceton, mengsels van aceton en water, butanon-2, dioxan of mengsels van dioxan en water op te lossen en door deze mengsels onder normale druk of eventueel onder verhoogde druk en bij temperaturen van 20-150°C, bij voorkeur 50-140°C, met ammoniak, primaire en/of secundaire aminen om te zetten.

De uitgangsverbindingen met de formules 2,3 en 4 zijn voor een groot gedeelte bekend of kunnen volgens bekende werkwijzen worden bereid.

De bereiding van de werkzame verbindingen wordt door de volgende voorbeelden geïllustreerd.

Voorbeeld I.

a) 2-Cyclopropylamino-4.6-diamino-s-triazine

Een mengsel van 100 g 2-cyclopropylamino-4-amino-6-chloor-s-triazine, 51 g ammoniak en 500 ml dioxan wordt in een autoclaaf

24 uren op 140°C verhit. Na de afkoeling wordt het dioxan onder verminderde druk door afzuigen verwijderd, de kristallijne rest wordt met water gewassen en gedroogd. Het onzuivere produkt wordt uit methanol herkristalliseerd, smeltpunt 219-222°C.

b) 2-Cyclopropylamino-4.6-diamino-s-triazine, zout met 2 mol zoutzuur

25 g 2-cyclopropylamino-4.6-diamino-s-triazine worden warm in 2000 ml absoluut ethanol opgelost. Deze oplossing wordt tot 15°C gekoeld, verder met ijs gekoeld, waarna gasvormig HCl door de oplossing werd geleid totdat de oplossing met HCl was verzadigd. Daarbij worden witte kristallen geprecipiteerd. De kristallen worden afgefiltreerd en het op deze wijze verkregen onzuivere zout wordt met veel ether gewassen, smeltpunt 195°C (onder ontleding).

Voorbeeld II.

a) 2-Cyclopropylamino-4-methylamino-6-amino-s-triazine.

Een mengsel van 12,7 g 2-cyclopropylamino-4-methylamino-6-chloor-s-triazine, 17,4 g 28-gew.procents ammonia en 30 ml dioxan wordt in een autoclaaf 4 uren op 140°C verhit. Na de afkoeling wordt het reactiemengsel aan 350 ml van een tot 0°C gekoelde oplossing van kaliumcarbonaat in water gegoten en met een mengsel van benzeen en ether (1:1) geëxtraheerd. Na het drogen met natriumsulfaat werden de oplosmiddelen onder verminderde druk verwijderd en de verkregen rest werd uit een mengsel van isopropanol en hexaan herkristalliseerd, smeltpunt 159-162°C.

b) 2-Cyclopropylamino-4-methylamino-6-amino-s-triazine, zout met 2 mol zoutzuur.

38 g 2-cyclopropylamino-4-methylamino-6-amino-s-triazine werden in 280 ml chloroform opgelost. Deze oplossing werd met ijs tot 0-5°C gekoeld en er werd gasvormig HCl in de oplossing geleid totdat de oplossing met HCl was verzadigd. Er precipiteerden witte kristallen. Ter voltooiing van de precipitatie werden 280 ml ether toegevoegd. Het onzuivere hydrochloride werd afgefiltreerd en uit methanol herkristalliseerd, smeltpunt 197-199°C.

Voorbeeld III.

2.4.6-tris-cyclopropylamino-s-triazine.

Een mengsel van 20 g 2-chloor-4.6-bis-cyclopropylamino-s-triazine, 10,1 g cyclopropylamine en 80 ml dioxan werd 22 uren in een autoclaaf op 140°C verhit. Het reactiemengsel werd onder verminderde druk tot de helft ingedampt, waarna 300 ml water werden toegevoegd. Er werd met ethylacetaat geëxtraheerd, met na-

triumsulfaat gedroogd en de oplosmiddelen werden onder verminderde druk verwijderd. De rest werd uit een mengsel van dioxan en petroleumether herkristalliseerd, smeltpunt 75-77°C.

Zoals in de voorbeelden 1 tot en met 3 kunnen bijvoorbeeld ook de volgende verbindingen met de formule 1 worden bereid:

Tabel.

nr.	Verbinding	smeltpunt in °C
1	2-cyclopropylamino-4-amino-6-dimethylamino-s-triazine	182-184
2	2,4-bis-(cyclopropylamino)-6-amino-s-triazine	137-140
3	2-cyclopropylamino-4-methylamino-6-dimethylamino-s-triazine-dihydrochloride	164-165
4	2-cyclopropylamino-4,6-bis-(dimethylamino)-s-triazine	140-142
5	2-cyclopropylamino-4-amino-6-ethylamino-s-triazine	141-145
6	2-cyclopropylamino-4-amino-6-ethylamino-s-triazine-dihydrochloride	199-200
7	2,4-bis-(cyclopropylamino)-6-dimethylamino-s-triazine	136-137
8	2-isopropylamino-4,6-diamino-s-triazine	212-213
9	2-methylamino-4,6-diamino-s-triazine	196-198
10	2-isopropylamino-4,6-diamino-s-triazine-dihydrochloride	201-203

De depotpreparaten kunnen op eenvoudige wijze worden bereid door eerst alkylhydroxyalkylcellulose in een geschikt zwelmiddel zoals bijvoorbeeld ethanol te brengen en te roeren en enige uren te laten zwellen. Daarbij ontstaat een massa met een honingachtige consistentie waaraan men onder roeren het vetzuur of een calcium- of magnesiumzout daarvan toevoegt. Daarna voegt men de werkzame verbinding en een hulpcomponent of een aantal hulpcomponenten toe nadat het geheel droog is gemengd. Het verkregen mengsel verwerkt men onder roeren tot een plastische massa waarna de plastische massa wordt gegranuleerd. Nadat het granulaat is gedroogd wordt het door een geschikte zeef gebroken en tot een vaste doseringsvorm geperst.

Van de alkylhydroxyalkylcellulosen kan bijvoorbeeld ethylhydroxyethylcellulose doelmatig worden gebruikt. Bijzonder geschikt is in water onoplosbare ethylhydroxyethylcellulose met een visco-

siteit van 10-250 cP, gemeten in een 5-gew.procents oplossing in 80 gew.dln tolueen en 20 gew.dln 95-gew.procents ethanol bij 25°C gebleken. De in het volgende als laag-viskeus genoemde ethylhydroxyethylcellulose heeft een onder gelijke omstandigheden gemeten viscositeit van 20-35 cP.

Als hogere vetzuren komen bijvoorbeeld stearinezuur en palmitinezuur alsmede de calcium- en magnesiumzouten daarvan in aanmerking, in het bijzonder stearinezuur.

Als hulpcomponenten zijn in het bijzonder vulstoffen geschikt die een groot soortelijk gewicht hebben, zoals bijvoorbeeld bariumsulfaat, bismutsubnitraat, ijzer(II)-zouten en in het bijzonder ijzerpoeder.

Daar het in het bijzonder alkylhydroxyalkylcellulose is in combinatie met het vetzuur of de zouten daarvan waardoor de graad van de afgifte van de werkzame verbinding kan worden beinvloed kan de instelling van het totale gehalte werkzame verbinding in het depotpreparaat doelmatig worden bereikt door een geschikte aanpassing van het gehalte van de vulstof, dat wil zeggen bij een verhoging van het gehalte werkzame verbinding kan de hoeveelheid van de vulstof worden verminderd, bij een verlaging van het gehalte werkzame verbinding worden vergroot.

Als milieu voor het granuleren kunnen gebruikelijke granuleringsvloeistoffen worden gebruikt, zoals bijvoorbeeld tetrachloorkoolstof, dichloormethaan en bij voorkeur ethanol.

De granulering kan op op zichzelf bekende wijze worden uitgevoerd, bijvoorbeeld door middel van een zeefrasp waarbij langwerpig gevormde deeltjes ontstaan.

Het verkregen granulaat wordt doelmatig ongeveer 24 uren bij kamertemperatuur gedroogd en daarna door een geschikte zeef gebroken. Het daarna uitgevoerde persen van het granulaat kan door middel van een geschikte tablettenpers worden uitgevoerd. Als vaste doseringsvormen komen in het bijzonder bolussen in aanmerking.

Ter verkrijging van de vaste doseringsvorm kunnen granulaten worden geperst die dezelfde bestanddelen in verschillende verhoudingen van de hoeveelheden bevatten. Door gebruik van dergelijke gemengde granulaten kan het verloop van de afgifte van de werkzame verbinding zeer goed voor het gewenste doel worden ingesteld.

Een andere mogelijkheid voor de besturing van de afgifte van de werkzame verbinding is de oppervlakte van het depotprepa-

raat partiëel te voorzien van een bekleding van een in water onoplosbaar produkt dat in de galenica voor het omhullen van preparaten gebruikelijk is.

Bijzonder geschikt zijn depotpreparaten die 0,1-60 gew.% werkzame verbinding met de formule 1, 2-15 gew.%, bij voorkeur 3-8 gew.% alkylhydroxyalkylcellulose en 0,1-5 gew.%, bij voorkeur 0,5-2 gew.% vetzuur of het calcium- of magnesiumzout daarvan, betrokken op het totale gewicht van het depotpreparaat, bevatten.

Bijzonder doelmatig is het gebruik van ethylhydroxyethylcellulose gebleken gecombineerd met stearinezuur in het tevoren vermelde gebied van de hoeveelheden.

De volgende voorbeelden illustreren de bereiding en de samenstelling van depotpreparaten volgens de uitvinding. Daarbij werd in water onoplosbare ethylhydroxyethylcellulose met een viscositeit van 20-35 cP gebruikt.

Voorbeeld IV.

12,5 g laagviskeuze ethylhydroxyethylcellulose werden onder roeren aan 30 ml ethanol toegevoegd. Het mengsel liet men tot de volgende dag zwellen, waarna 7,5 g poedervormig stearinezuur onder roeren aan het mengsel werden toegevoegd. Aan het mengsel werden onder roeren 50,0 g 2-cyclopropylamino-4.6-diamino-s-triazine en 180,0 g ijzerpoeder toegevoegd die tevoren droog met elkaar waren gemengd. Er ontstond een plastische massa die ter verkrijging van fijne, langwerpig gevormde deeltjes manuaal door een zeef van 6 M/cm werd gewreven. Het op deze wijze verkregen granulaat werd 24 uren bij kamertemperatuur gedroogd en daarna met een tabletten - pers tot 10 bolussen met elk een gewicht van 25 g en een soortelijk gewicht van 2,95 werd geperst.

Voorbeeld V.

Volgens de werkwijze van voorbeeld IV werden 10 bolussen met elk een gewicht van 25 g en een soortgelijk gewicht van 3,01 vervaardigd uitgaande van 12,5 g laagviskeuze ethylhydroxyethylcellulose, 30 ml ethanol, 2,5 g poedervormig stearinezuur, 50,0 g 2-cyclopropylamino-4.6-diamino-s-triazine en 185,0 g ijzerpoeder.

Voorbeeld VI.

Uitgegaan werd van 750 ml ethanol met een isopropanolgehalte van 5 gew.% in een planetenroerinrichting met oscillerende bezem. Aan de ethanol werden onder roeren 375 g laagviskeuze ethylhydroxyethylcellulose toegevoegd. Er werd geroerd totdat geen sedimentatie meer kon optreden. Nadat men het mengsel enige uren had laten

zwellen, bijvoorbeeld tot de volgende dag, werden aan de verkregen honingachtige massa onder roeren 75 g poedervormig stearinezuur toegevoegd. De verkregen massa werd in een planetenroerinrichting met kneedhaken met een mengsel van 1500 g 2-cyclopropylamino-4.6-diamino-s-triazine en 5550 g ijzerpoeder, die in een planetenroerinrichting met roerende vleugels tevoren ongeveer 10 minuten droog waren gemengd, onder roeren tot een plastische massa verwerkt. De verkregen massa werd met een zeefrasp fijn gegranuleerd. Het op deze wijze verkregen granulaat werd 24 uren bij kamertemperatuur op horden gedroogd en daarna met een drogende granuleerzeef met 6 M/cm gebroken. Het gerede granulaat werd met een geschikte tabletpers tot bolussen met elk een lengte van 56 mm, een breedte van 12 mm en een dikte van ten hoogste 17 mm met elk een totaal gewicht van 30 g geperst.

Voorbeeld VII.

Volgens de werkwijze van voorbeeld VI werden bolussen met elk een totaal gewicht van 26,5 g vervaardigd uitgaande van 312,5 g laagviskeuze ethylhydroxyethylcellulose, 1000 ml ethanol met een isopropanolgehalte van 5 gew.%, 125,0 g poedervormig stearinezuur, 1875,0 g 2-cyclopropylamino-4.6-diamino-s-triazine en 4312,5 g ijzerpoeder.

Voorbeeld VIII.

Volgens de werkwijze van voorbeeld VI werden bolussen met elk een totaal gewicht van 25 g vervaardigd uitgaande van 31,25 g laagviskeuze ethylhydroxyethylcellulose, 100 ml ethanol met een isopropanolgehalte van 5 gew.%, 12,50 g poedervormig stearinezuur, 187,50 g 2-cyclopropylamino-4.6-diamino-s-triazine en 393,75 g poedervormig ijzer.

Op overeenkomstige wijze zoals in de tevoren vermelde voorbeelden is beschreven kunnen ook depotpreparaten met andere concentraties werkzame verbinding worden bereid. Het gehalte werkzame verbinding van de preparaten dient bij voorkeur zodanig te worden gekozen dat de te behandelen gastheren dagelijks een dosis in het gebied van 1-100 mg/kg lichaamsgewicht worden toegediend. Het totale gewicht van de preparaten die bij voorkeur in de vorm van bolussen worden toegediend is doelmatig in het gebied van 10-100 g.

De depotpreparaten volgens de uitvinding kunnen door middel van geschikte toepassingsinrichtingen zoals bijvoorbeeld een bolus-applicator aan de te behandelen herkauwende dieren, in het bijzonder runderen en schapen worden gegeven.

De bepaling van de afgifte van de werkzame verbinding uit de depotpreparaten kan in vivo en in vitro worden uitgevoerd. Bij onderzoekingen in vitro wordt met bepaalde tussenpozen de vrijmaking van de werkzame verbinding uit de bolussen in een kunstmatig medium bepaald. Bij in vivo onderzoekingen worden de behandelde herkauwende dieren met parasieten in het ei- en/of larvenstadium geïnfecteerd en de tijd tot de volledige verdelging van de parasietenlarven wordt bepaald.

Proef 1:

Van 6 schapen werden drie dieren bolussen volgens voorbeeld IV en drie dieren bolussen volgens voorbeeld V door middel van een bolus-applicator toegediend waarbij elk dier een bolus toegediend kreeg. Het aanwezig zijn van de bolussen in de schapen werd door middel van een electro-ijzerdetector dagelijks gecontroleerd. Voor in vivo onderzoekingen werden 24 uren na de applicatie met de bolussen dagelijks ongeveer 50 tot 100 net uitgekomen larven alsmede net gelegde eieren van Lucilia sericata op de ruggen van de schapen gebracht waarna na telkens 24, 48, 72 en 96 uren na de infestatie een controle op de sterftegraad (volledige verdelging van de parasietenlarven) werd uitgevoerd.

Voor de infestatie van de gastheren werd de rughuid van de dieren met een scalpel ingesneden. De ingesneden plaats werd door besproeien met water vochtig gemaakt en de larven of de eieren werden op deze plaats gebracht. De eerste infestatie werd uitgevoerd op de schoften van de dieren. Iedere verdere infestatie werd uitgevoerd ongeveer 10 cm verder in de richting van de romp vanaf de voorgaande infestatie. De infestatieplaatsen werden door middel van verschillend gekleurde markeringen gekarakteriseerd.

De resultaten zijn in de volgende tabel samengevat:

Tabel B.

parasietenstadium	bolussen volgens voorbeeld	Larven gedood binnen 48 uren: dagen na applikatie	Larven gedood binnen 72 uren: dagen na applikatie	Larven gedood binnen 96 uren: dagen na applikatie
eieren	IV	1-32	33-46	47
	V	1-32	33-38	39
larven	VI	1-31	32-46	47
	V	1-29	30-37	38

De resultaten tonen aan dat in een tijd van ongeveer een maand de larven van de parasieten binnen 48 uren worden gedood. In het verdere verloop blijken de volgens voorbeeld IV verkregen bolussen in zoverre bijzonder doelmatig te zijn dat zij een verdelging van de larven binnen 72 uren gedurende een tijd van meer dan zes weken verzekeren.

Proef 2:

In een beproevingsinrichting werd de afgifte van de werkzame verbinding van een volgens voorbeeld VI verkregen bolus onderzocht. Als beproevingsinrichting diende hoofdzakelijk de inrichting voor het onderzoek van het uiteen vallen van tabletten die in "The United States Pharmacopeia (USP) XIX, United States Pharmacopeial Convention Inc.", 1975, blz. 650 is beschreven.

De inrichting bestond uit een draadkorf, een houder voor een immersievloeistof en een geschikte inrichting die het omhoog brengen en het neerlaten van de korf in de immersievloeistof met een constante frequentie mogelijk maakte. De frequentie lag tussen 28 en 32 cycli/min. over een verschil in hoogte van 5-6 cm. Het volume van de immersievloeistof werd zodanig gekozen dat de van gevlochten draad vervaardigde korf op het hoogste punt van de opwaartse beweging ten minste 2,5 cm beneden het vloeistofoppervlak en bij de neerwaartse beweging ten minste 2,5 cm van de bodem van de vloeistofhouder verwijderd bleef. De voor de opwaartse beweging vereiste tijd is gelijk aan die voor de neerwaartse beweging. De overgang bij het wisselen van de richting had geleidend plaats en niet plotseling. De inrichting bevatte voorts een thermostatische inrichting voor het verwarmen van de vloeistof op 35-39°C.

Anders dan in de inrichting volgens USP is voorgeschreven werd de te onderzoeken bolus niet in een in de korf gebracht buis-

je gelegd, maar direkt in de korf. Als vloeistofhouder diende een bekerglas met een inhoud van 1000 ml dat met 750 ml mineraalvrij gemaakt water was gevuld. Tijdens de eerste 8 uren van het onderzoek werd het water elk uur door een verse hoeveelheid vervangen. Later werd de vervanging om de 12 uren en tenslotte in een cyclus van 24 uren uitgevoerd. De proeftemperatuur was 37°C. De quantitatieve bepaling van het gehalte werkzame verbinding in de watermonsters werd spectrofotometrisch bij een golflengte van 207 nm uitgevoerd.

Uit het volgende diagram (fig. 4) blijkt de afgifte van de werkzame verbinding uit de bolus aan het omgevende medium, uitgedrukt in procent van het bij het begin van de proef aanwezige totale gehalte werkzame verbinding in de bolus afhankelijk van de tijd.

Proef 3:

De afgifte van de werkzame verbinding van een volgens voorbeeld VIII verkregen bolus werd met de in proef 2 beschreven beproevingsinrichting gedurende een langere periode onderzocht.

De afgifte van de werkzame verbinding in de eerste 24 uren na het begin van de proef is in fig. 2 getoond. Tijdens de eerste 2 uren werd de meting van de vrijgemaakte hoeveelheid werkzame verbinding uitgevoerd, uitgedrukt in mg, met tussenpozen van 20 minuten. In de volgende 3 uren werd met tussenpozen van een half uur, daarna 4 uren later met tussenpozen van 1 uur gemeten. Verdere metingen werden vervolgens na 7 en na 8 uren uitgevoerd.

Fig. 6 toont de meetresultaten na 24 uren na begin van de proef tot de tiende dag. Er werden eerst 3, daarna 2 metingen per dag uitgevoerd.

Fig. 7 toont de afgifte van de werkzame verbinding uitgedrukt in procent van het totale gehalte werkzame verbinding bij het begin van de proef gedurende een tijd van 61 dagen, waarbij vanaf de 4de tot en met de 21ste dag dagelijks 2 metingen werden uitgevoerd. Daarna werd dagelijks één keer gemeten.

Bij de resultaten van de proeven 2 en 3 zijn de hoeveelheden werkzame verbinding cumulatief aangegeven, dat wil zeggen dat is rekening gehouden met de totale, tot het telkens aangegeven tijdstip van de meting vrijgemaakte hoeveelheid werkzame verbinding.

De resultaten van de metingen van de afgifte van de werkzame verbinding tonen aan dat de vrijmaking van de werkzame verbinding eerst snel, dan langzamer en continu plaatsheeft. Dit betekent dat

met de depotpreparaten volgens de uitvinding zeer snel een voor een verrijking van de werkzame verbinding in het bloed van de behandelde dieren voldoende concentratie kan worden bereikt en dat een gelijkmatige nalevering van werkzame verbinding gedurende een langere periode is verzekerd.

De depotpreparaten volgens de uitvinding hebben een uitstekende en lang aanhoudende werking van de gebruikte werkzame verbinding. Met de depotpreparaten kan een werkzame concentratie in het bloed van de behandelde dieren gedurende een periode van ongeveer 6 weken worden gehandhaafd.

C O N C L U S I E S.

1. Veterinair medicinaal depotpreparaat in vaste, gecomprimeerde vorm met een verlengde afgifte van de werkzame verbinding, g e k e n m e r k t d o o r dat het depotpreparaat naast een werkzame verbinding met de formule 1 waarin R_1 een waterstofatoom, een methyl-, ethyl- of cyclopropylgroep, R_2 een waterstofatoom of een methylgroep, R_3 een waterstofatoom, een methyl- of cyclopropylgroep, R_4 een waterstofatoom of een methylgroep en R_5 een ethyl-, n-propyl-, isopropyl- of cyclopropylgroep voorstellen of een voor herkauwende dieren niet toxisch zuuradditiezout daarvan, en een gebruikelijke hulpcomponent of een aantal dergelijke hulpcomponenten alkylhydroxyalkylcellulose waarin de alkylgroepen onafhankelijk van elkaar 2 of 3 koolstofatomen bevatten en een hoger vetzuur met 15-18 koolstofatomen in de alkylrest of een calcium- of magnesiumzout daarvan bevat.

2. Veterinair medicinaal depotpreparaat volgens conclusie 1, g e k e n m e r k t d o o r dat het depotpreparaat een werkzame verbinding met de formule 1 bevat waarin R_1 tot en met R_4 de in conclusie 1 vermelde betekenissen hebben en R_5 een cyclopropylgroep vorstelt.

3. Veterinair medicinaal depotpreparaat volgens conclusie 2, g e k e n m e r k t d o o r dat het depotpreparaat als werkzame verbinding 2-cyclopropylamino-4.6-diamino-s-triazine bevat.

4. Veterinair medicinaal depotpreparaat volgens conclusie 1, g e k e n m e r k t d o o r dat het depotpreparaat een werkzame verbinding met de formule 1 bevat waarin R_1 tot en met R_4 de in conclusie 1 vermelde betekenissen hebben en R_5 een ethyl-, n-propyl- of isopropylgroep voorstelt.

5. Veterinair medicinaal depotpreparaat volgens conclusies 1-4, g e k e n m e r k t d o o r dat het depotpreparaat 0,1-60 gew.% werkzame verbinding met de formule 1, 2-15 gew.% alkylhydroxyalkylcellulose en 0,1-5 gew.% vetzuur of het calcium- of magnesiumzout daarvan, betrokken op het totale gewicht van het depotpreparaat, bevat.

6. Veterinair medicinaal depotpreparaat volgens conclusie 5, g e k e n m e r k t d o o r dat het depotpreparaat 3-8 gew.% alkylhydroxyalkylcellulose en 0,5-2 gew.% vetzuur of het calcium- of magnesiumzout daarvan, betrokken op het totale gewicht van het depotpreparaat, bevat.

7. Veterinair medicinaal depotpreparaat volgens conclusies 1-4, g e k e n m e r k t d o o r - dat het depotpreparaat als alkylhydroxyalkylcellulose ethylhydroxyethylcellulose bevat.

8. Veterinair medicinaal depotpreparaat volgens conclusie 7, g e k e n m e r k t d o o r - dat het depotpreparaat als ethylhydroxyethylcellulose een dergelijke cellulose met een lage viscositeit bevat.

9. Veterinair medicinaal depotpreparaat volgens conclusies 1-4, g e k e n m e r k t d o o r - dat het depotpreparaat als vetzuur of een calcium- of magnesiumzout daarvan stearinezuur, palmitinezuur of een calcium- of magnesiumzout daarvan bevat.

10. Veterinair medicinaal depotpreparaat volgens conclusie 9, g e k e n m e r k t d o o r - dat het depotpreparaat als vetzuur stearinezuur bevat.

11. Veterinair medicinaal depotpreparaat volgens conclusies 1-4, g e k e n m e r k t d o o r - dat het depotpreparaat naast een werkzame verbinding en een gebruikelijke hulpcomponent of een aantal dergelijke hulpcomponenten ethylhydroxyethylcellulose en stearinezuur bevat.

12. Veterinair medicinaal depotpreparaat volgens conclusies 1-4, g e k e n m e r k t d o o r - dat het depotpreparaat als hulpcomponent een vulstof met een groot soortelijk gewicht bevat.

13. Veteninair medicinaal depotpreparaat volgens conclusie 12, g e k e n m e r k t d o o r - dat het depotpreparaat als vulstof bariumsulfaat, bismutsubnitraat, ijzer(II)-zouten of ijzerpoeder bevat.

14. Veterinair medicinaal depotpreparaat volgens conclusie 13, g e k e n m e r k t d o o r - dat het depotpreparaat als vulstof ijzerpoeder bevat.

15. Werkwijze ter bestrijding van in weefsels voorkomende parasitaire insectenlarven onder toepassing van een veterinair medicinaal depotpreparaat, m e t h e t k e n m e r k, dat men als veterinair medicinaal depotpreparaat een depotpreparaat volgens conclusies 1-14 gebruikt.

16. Werkwijze voor de bereiding van een veterinair medicinaal depotpreparaat, m e t h e t k e n m e r k, dat men alkylhydroxyalkylcellulose, waarin de alkylgroepen onafhankelijk van elkaar 2 of 3 koolstofatomen bevatten, onder roeren aan een produkt met zwelvermogen toevoegt, na het zwellen een hoger vetzuur met 15-18 koolstofatomen in de alkylrest of een calcium- of magnesiumzout

daarvan onder roeren toevoegt, een door droog mengen van een werkzame verbinding met de formule 1 met een hulpcomponent of met een aantal hulpcomponenten bereid mengsel toevoegt, het totale mengsel onder roeren tot een plastische massa verwerkt, granuleert en perst.

17. Werkwijze volgens conclusie 16, m e t h e t k e n m e r k, dat men de granulering bij aanwezigheid van een vloeibaar granuleringsmilieu uitvoert.

18. Werkwijze volgens conclusie 17, m e t h e t k e n m e r k, dat men de granulering uitvoert bij aanwezigheid van tetrachloorkoolstof, dichloormethaan of ethanol.

19. Werkwijze volgens conclusie 18, m e t h e t k e n m e r k, dat men de granulering uitvoert bij aanwezigheid van ethanol.

20. Werkwijze ter bestrijding van in weefsels voorkomende parasitaire insectenlarven bij herkauwende dieren, m e t h e t k e n m e r k, dat men de insectenlarven bestrijdt met een depotpreparaat volgens conclusies 1-15.

21. Werkwijze ter bestrijding van in weefsels voorkomende parasitaire insectenlarven van de orde Diptera, m e t h e t k e n m e r k, dat men de insectenlarven bestrijdt met een depotpreparaat volgens conclusies 1-15.

22. Werkwijze ter bestrijding van in weefsels voorkomende parasitaire insectenlarven van de tot de orde Diptera behorende families Calliphoridae, Oestridae, Cuterebridae, Gasterophilidae, Sarcophagidae en Hypodermatididae, m e t h e t k e n m e r k, dat men de insectenlarven bestrijdt met een depotpreparaat volgens conclusies 1-15.

==========

1.

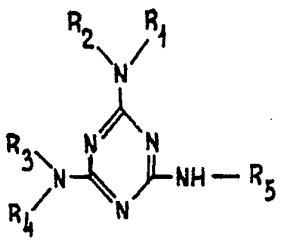
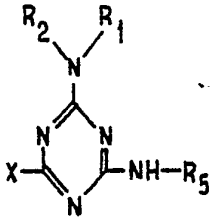
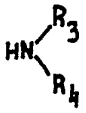


fig. 1.



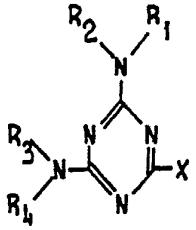
2.

+ 

5.

⟶ VERB. MET DE FORM. 1.

fig. 2.



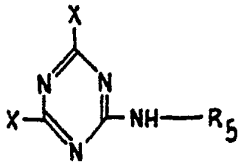
3.

+ H_2N-R_5

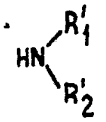
6.

⟶ VERB. MET DE FORM. 1.

fig. 3.



4.

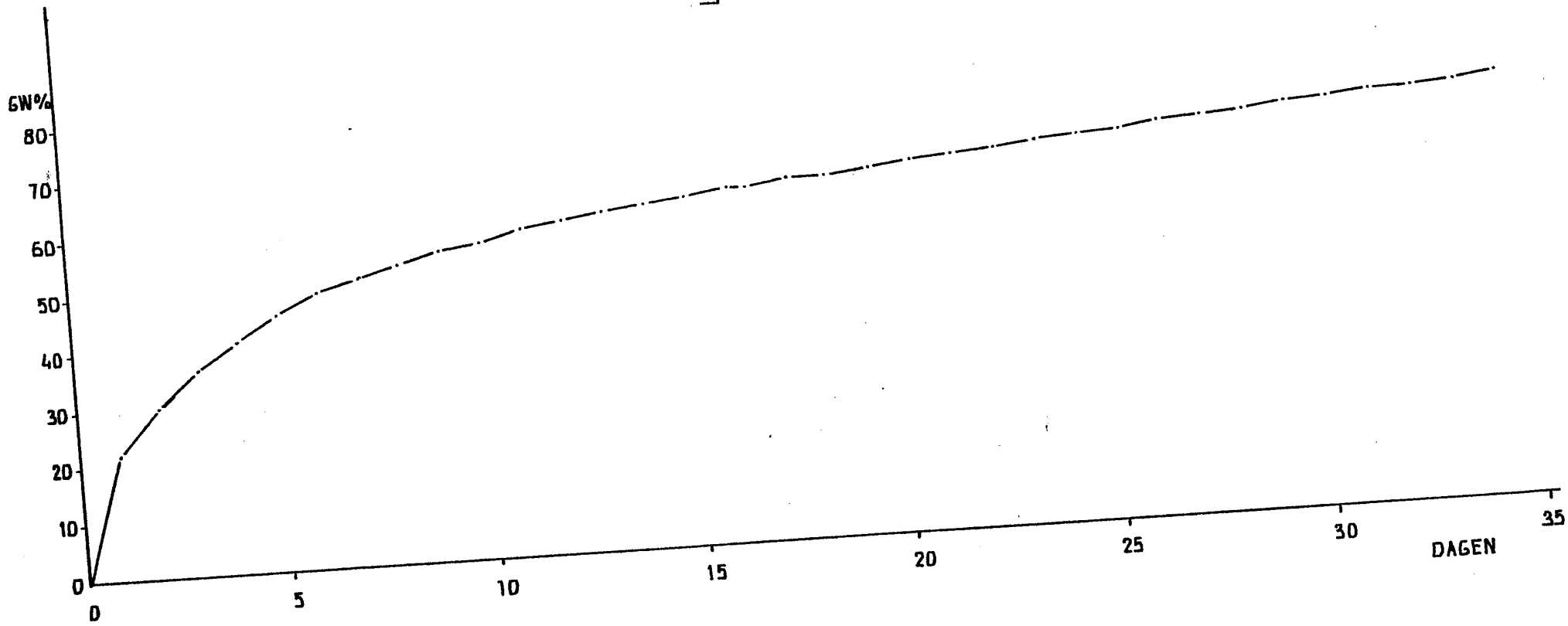
+ 

7.

⟶ VERB. MET DE FORM. 1.

8004486

fig-4



8004486

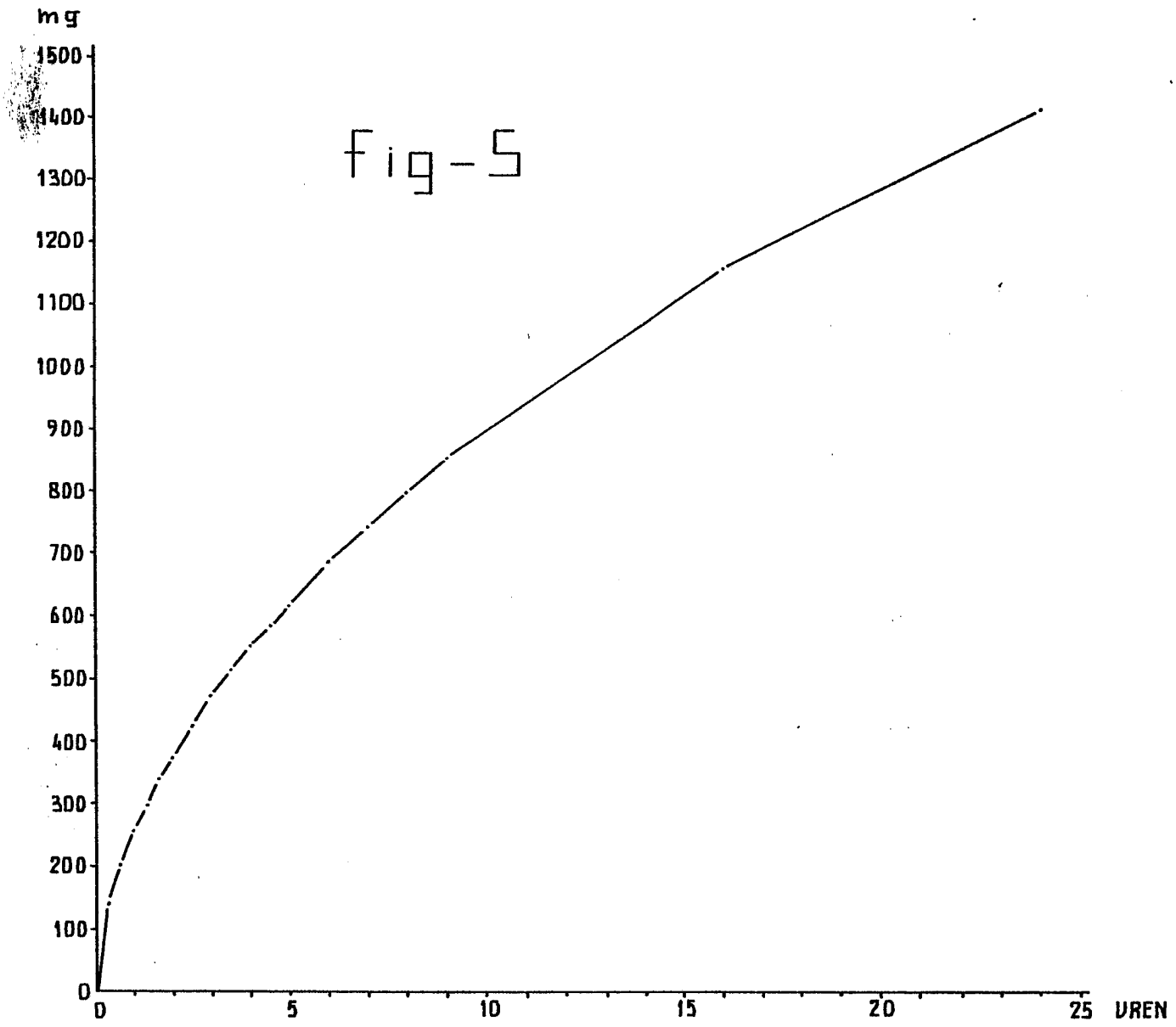


Fig-5

8004486

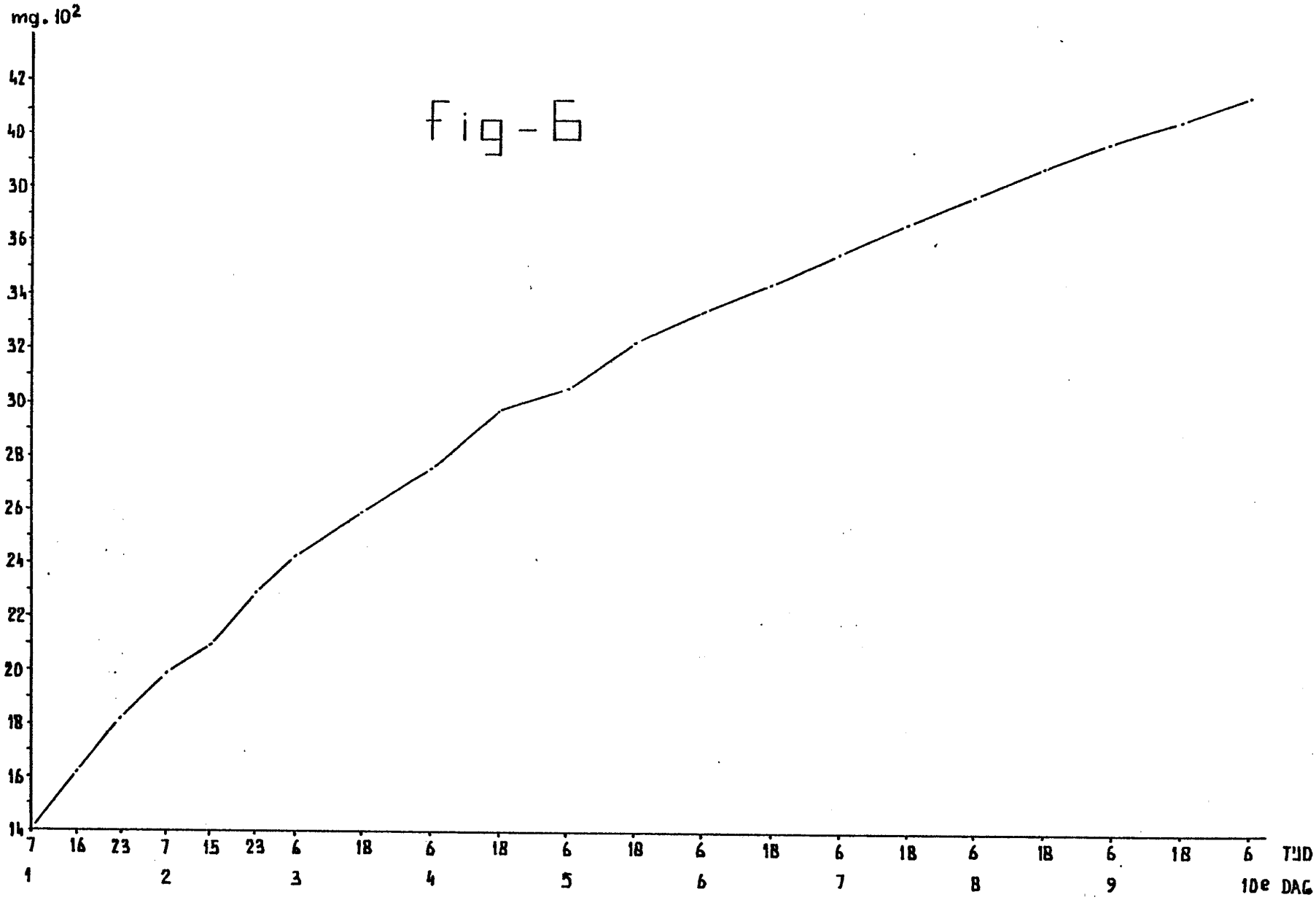


Fig-6