



(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 290 000**

(51) Int. Cl.:

A61P 33/10 (2006.01)

A61K 31/415 (2006.01)

A61K 31/365 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Número de solicitud europea: **00305463 .2**

(86) Fecha de presentación : **29.06.2000**

(87) Número de publicación de la solicitud: **1066854**

(87) Fecha de publicación de la solicitud: **10.01.2001**

(54) Título: **Composiciones antihelmínticas que contienen combinaciones de avermectinas o milbemicinas con compuestos bis-arílicos.**

(30) Prioridad: **08.07.1999 GB 9916052**

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.02.2008

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.02.2008

(73) Titular/es: **PFIZER Inc.**
235 East 42nd Street
New York, New York 10017, US

(72) Inventor/es: **Bruce, Christopher Ian**

(74) Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 290 000 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composiciones antihelmínticas que contienen combinaciones de avermectinas o milbemicinas con compuestos bis-arílicos.

Este invento se refiere a combinaciones, especialmente combinaciones sinérgicas, de una avermectina o una milbemicina que es selamectina con un compuesto bis-arílico que es fipronilo, y a su uso para combatir infecciones por parásitos, especialmente por helmintos.

Las avermectinas son un grupo de agentes antiparasítricos de amplio espectro, previamente denominados compuestos C-076. Se producen en la fermentación que lleva a cabo una cepa del microorganismo *Streptomyces avermitilis* bajo condiciones aerobias, en un medio nutritivo acuoso que contiene sales inorgánicas y fuentes asimilables de carbono y nitrógeno. En la Memoria Descriptiva de Patente Británica 1573955 se describen con detalle el aislamiento y la estructura química de los ocho componentes individuales que constituyen el complejo C-076.

El complejo C-076 comprende ocho compuestos distintos aunque estrechamente relacionados, descritos como C-076 A1a, A1b, A2a, A2b, B1a, B1b, B2a y B2b. La serie "a" de compuestos se refiere a las avermectinas naturales en que el sustituyente 25 es (S)-sec-butilo, y la serie "b" a aquéllas en que el sustituyente 25 es isopropilo. Las designaciones "A" y "B" se refieren a avermectinas en que el sustituyente 5 es metoxilo e hidroxilo, respectivamente, el número "1" se refiere a avermectinas en que está presente un doble enlace en la posición 22-23, y el número "2" a avermectinas en que hay un enlace sencillo entre C-22 y C-23 y en que hay un sustituyente hidroxilo en la posición 23.

En las Solicitudes de Patente Europea 0214731, 0284176, 0317148, 0308145, 0340832, 0335541 y 0350187 se describen preparaciones de compuestos relacionados con las avermectinas presentes en la naturaleza pero que, en la posición 25, tienen un grupo distinto de los grupos isopropilo y (S)-sec-butilo hallados en los compuestos avermectínicos originales descritos en la Memoria Descriptiva de Patente Británica 1573955. Dichos compuestos pueden prepararse mediante la fermentación llevada a cabo por cepas concretas de *Streptomyces avermitilis* en presencia de ácidos orgánicos o derivados de los mismos. La producción de dichas avermectinas se describe en Journal of Antibiotics (1.991) 44, nº 3, páginas 357-365.

Las milbemicinas forman otro grupo de macrólidos relacionados que se distinguen de las avermectinas por carecer de un resto de azúcar fijado a la posición C-13. En la Patente Británica 1390336 y en las Publicaciones de Patente Europea 170006, 254583, 334484 y 410615 se describen ejemplos de dichos compuestos. Además de estos productos de fermentación, en un gran número de publicaciones se describen compuestos obtenidos semisintéticamente de ellos, muchos de los cuales poseen actividades antiparasíticas útiles. Algo de esta química es revisada en *Macrolide Antibiotics* (Antibióticos Macrólidos), compilado por S. Omura, Academic Press, New York (1.984), y por H. G. Davies y R. H. Green en *Natural Product Reports* (1.986) 3, 87-121, y en Chem. Soc. Rev. (1.991) 20, 271-339. Se sabe que las avermectinas y milbemicinas y sus derivados son activos como agentes antiparasítricos.

En las siguientes patentes, solicitudes y sus equivalentes se describen otros derivados de avermectinas y milbemicinas que pueden mencionarse:

Europeas: 214.731, 340.932, 334.848, 335.541, 350.187, 410.615, 623.137, 712.411, 629.202, 702.688, 674.649, 710.242, 677.054 y 745.089;

WO 94/15944; y US 4.199.569.

Los términos avermectinas y milbemicinas aquí usados incluyen tanto compuestos presentes en la naturaleza como derivados sintéticos de los mismos, especialmente los mencionados en la técnica aquí citada.

También se conocen compuestos bis-arílicos que tienen propiedades insecticidas y acaricidas. Estos compuestos comprenden anillos aromáticos directamente unidos que pueden incluir al menos un átomo de nitrógeno. Los ejemplos de esta clase de compuestos incluyen derivados de N-fenilpirazol que tienen propiedades antiartrópodos, antihelmintos nematodos de plantas y antiprotozoarias.

En el Documento WO 98/11780 se describen composiciones que contienen un derivado de 1-fenilpirazol y un endectoparasitocida de lactona macrocíclica.

S. L. Cutler, en el Journal of Small Animal Practice (Febrero de 1998), 39 (2): 86-7, "Ectopic *Psoroptes cuniculi* infestation in a pet rabbit", discute el tratamiento con una inyección de ivermectina seguida de una aplicación de fipronilo.

Se ha hallado ahora que ciertas avermectinas y milbemicinas presentan una sinergia inesperada con miembros de los anteriormente mencionados compuestos bis-arílicos en cuanto a su actividad antiparasítica, lo que permite un control más eficaz de los parásitos, especialmente de los que afectan al ganado y a los animales de compañía. Los ejemplos de dichos parásitos incluyen el gusano del corazón (*Dirofilaria immitis*) y diversos ectoparásitos de animales de compañía. Esto es particularmente inesperado ya que, dado el anunciado modo de acción de los compuestos aver-

mectínicos y milbemicínicos como agonistas en el complejo del receptor-canal de cloruro con compuerta de glutamato de los invertebrados y la actividad antagonista de los compuestos bis-arílicos en ese sitio, podía preverse que dicha combinación produjera un deterioro de la eficacia biológica.

5 De acuerdo con un aspecto del invento, se proporciona una composición que comprende una combinación de un compuesto bis-arílico y una avermectina o milbemicina o un derivado de las mismas, y, si es necesario, un vehículo farmacéutico o veterinario adecuado, en la que el compuesto bis-arílico es fipronilo y la avermectina o milbemicina es selamectina.

10 El invento incluye también el uso de dicha composición en medicina para, por ejemplo, tratar o prevenir infestaciones parasíticas de seres humanos o animales, incluyendo la infestación de animales de compañía tales como perros y gatos por el gusano del corazón y otros parásitos.

15 Otro aspecto del invento es la administración de un compuesto bis-arílico como el anteriormente definido y una avermectina o milbemicina como la anteriormente definida, sea en combinación en la misma composición o sea por medio de tratamientos separados, sea de forma sustancialmente simultánea o sea a intervalos espaciados, a un animal para tratar o prevenir una infestación parasítica. La persona experta puede concebir diferentes modos de administración mediante los cuales el compuesto bis-arílico sea administrado separadamente del compuesto avermectínico o milbemicínico.

20 Otro aspecto del invento es el uso de una composición que comprende una avermectina o milbemicina como la anteriormente definida y un compuesto bis-arílico como el anteriormente definido, en la fabricación de un medicamento antiparasítico.

25 Otro aspecto del invento es un envase farmacéutico que comprende un compuesto bis-arílico como el anteriormente definido y una avermectina o milbemicina como la anteriormente definida.

Para uso en mamíferos, incluyendo los seres humanos, los compuestos, solos o en las combinaciones anteriormente mencionadas, pueden administrarse solos pero, generalmente, se administrarán mezclados con un agente diluyente o vehículo farmacéutico o veterinariamente aceptable, seleccionado teniendo en cuenta la futura vía de administración y la práctica farmacéutica estándar. Por ejemplo, pueden administrarse oralmente, incluyendo sublingualmente, en forma de tabletas que contengan excipientes tales como almidón o lactosa, o en cápsulas u óvulos, solos o mezclados con excipientes, o en forma de elixires, disoluciones o suspensiones que contengan agentes saborizantes o colorantes. Los compuestos podrían ser incorporados a cápsulas o tabletas para dirigirse al colon o al duodeno por medio de la disolución retardada de dichas cápsulas o tabletas durante un tiempo concreto después de la administración oral. La disolución podría ser controlada mediante la susceptibilidad de la formulación a las bacterias que se hallan en el duodeno o el colon, de modo que no tuviera lugar una disolución sustancial antes de que se alcanzara la zona diana del tracto gastrointestinal. Los compuestos pueden ser inyectados parenteralmente, tal como, por ejemplo, intravenosa, intramuscular o subcutáneamente. Para administración parenteral, se utilizan mejor en forma de una disolución o suspensión acuosa estéril que puede contener otras sustancias, tales como, por ejemplo, sal o glucosa suficientes para que la disolución sea isotónica con respecto a la sangre. Pueden ser administrados tópicamente en forma de cremas, geles, suspensiones, lociones, ungüentos, polvos medicinales para uso externo, composiciones pulverizables o vendas que llevan el fármaco incorporado, o por medio de un parche dérmico, formas todas ellas estériles. Por ejemplo, pueden ser incorporados a una crema que consista en una emulsión acuosa u oleosa de polietilenglicoles o parafina líquida, o pueden ser incorporados a un ungüento que consista en una base de vaselina blanca, o como un hidrogel con derivados de celulosa o de poliácrlato o con otros agentes modificadores de la viscosidad, o como un polvo seco o una composición pulverizable líquida o un aerosol con agentes propulsores de butano/propano, HFA o CFC, o como una venda que lleva el fármaco incorporado, en forma de una venda de tul, con vendas de gasa impregnadas de vaselina blanca o polietilenglicoles o con vendas de hidrogel, hidrocoloide, alginato o película. Los compuestos podrían ser también administrados intraocularmente en forma de gotas oculares con apropiados tampones, agentes modificadores de la viscosidad (por ejemplo, derivados de celulosa), conservantes [por ejemplo, cloruro de benzalconio (BZK; del inglés, benzalkonium chloride)] y agentes para ajustar la tonicidad (por ejemplo, cloruro sódico). Dichas técnicas de formulación son bien conocidas en este campo técnico. En algunos casos, las formulaciones pueden además contener ventajosamente un antibiótico. Todas las formulaciones citadas pueden contener además estabilizadores y conservantes apropiados.

Para uso veterinario, los compuestos pueden ser administrados de acuerdo con la práctica veterinaria normal en forma de una formulación adecuadamente aceptable, y el veterinario determinará el régimen de dosificación y la vía de administración que sean más apropiados para un animal concreto.

60 Para aplicación tópica, pueden usarse baños, composiciones pulverizables, polvos, composiciones para vertimiento, composiciones para salpicadura, concentrados emulsionables, fluidos para proyección, champús, collares, elementos para colgar o fijar, o arneses. Dichas formulaciones se preparan de una manera convencional de acuerdo con la práctica veterinaria y farmacéutica estándar. De este modo, pueden prepararse cápsulas, bolos o tabletas mezclando el ingrediente activo con un adecuado agente diluyente o vehículo finamente dividido que, además, contiene un agente disgregativo y/o un agente aglutinante tal como almidón, lactosa, talco o estearato magnésico. Puede prepararse una formulación en forma de pócima para animales dispersando los ingredientes activos en una disolución acuosa junto con agentes dispersivos o humectantes, y pueden prepararse formulaciones inyectables en forma de una disolución

o emulsión estéril. Pueden prepararse formulaciones para vertimiento o para salpicadura disolviendo los ingredientes activos en un vehículo líquido aceptable, tal como butil-digol, parafina líquida o un éster no volátil, con o sin la adición de un componente volátil tal como isopropanol.

5 Alternativamente, las formulaciones para vertimiento, salpicadura o pulverización pueden prepararse mediante encapsulación para que quede un resto de agente activo en la superficie del animal. Estas formulaciones variarán en cuanto al peso del compuesto activo dependiendo de la especie del animal huésped que se va a tratar, la gravedad y el tipo de la infección, y el tipo y el peso corporal del huésped. Las combinaciones pueden administrarse continuamente, particularmente para profilaxis, mediante métodos conocidos. Generalmente, para administración oral, parenteral y
10 por vertimiento, será satisfactoria una dosis de aproximadamente 0,001 a 10 mg por kg de peso corporal del animal, administrada como una única dosis o en dosis divididas durante un periodo de 1 a 5 días, pero, por supuesto, puede haber casos en que se prescriban intervalos de dosificación mayores o menores, y estos están dentro del alcance de este invento.

15 Como una alternativa, las combinaciones pueden administrarse con el pienso del animal y, con este fin, puede prepararse un aditivo o premezcla concentrado de pienso para mezclamiento con el pienso normal del animal.

20 Para uso como insecticidas y para tratar plagas agrícolas, los compuestos se aplican en forma de composiciones pulverizables, polvos, formulaciones para vertimiento, emulsiones y similares de acuerdo con la práctica agrícola estándar.

Para uso humano, las combinaciones se administran de acuerdo con la práctica médica normal en forma de formulación farmacéuticamente aceptable.

25 Las combinaciones de compuestos del invento pueden formularse del modo anteriormente descrito en forma de mezcla; alternativamente, el compuesto avermectínico o milbemicínico y el compuesto bis-arílico pueden administrarse como dosis separadas, y dicho tratamiento está aún dentro del alcance del invento.

30 Las composiciones, tratamientos, etc. del invento pueden combinarse con otros agentes, tratamientos, etc. útiles frente a ciertas enfermedades diferentes o para la reducción o supresión de otros síntomas. Los ejemplos de dichos agentes (que se proporcionan a modo de ilustración y no han de considerarse restrictivos) incluyen otros agentes antiparasitarios, tales como, por ejemplo, lufenurón, imidacloprid, organofosfatos y piretroides; antihistamínicos, tales como, por ejemplo, clorfeniramina, trimetoprima, difenhidramina y doxilamina; antifúngicos, tales como, por ejemplo, fluconazol, ketoconazol, itraconazol, griseofulvina y anfotericina B; agentes antibacterianos, tales como, por ejemplo, enrofloxacin, marbofloxacin, ampicilina y amoxicilina; antiinflamatorios, tales como, por ejemplo, prednisona, betametasona, dexametasona, carprofeno y ketoprofeno; complementos dietéticos, tales como, por ejemplo, ácido gamma-linoleico; y emolientes. Por consiguiente, el invento proporciona además un producto que contiene un compuesto del invento y uno o más compuestos seleccionados procedentes de la lista anterior, en forma de una preparación combinada para uso simultáneo, separado o sucesivo en el tratamiento de estados mediados por parásitos, y los
40 métodos de tratamiento relacionados, etc.

La avermectina o milbemicina es selamectina, descrita en la Solicitud de Patente Internacional PCT/EP 94/00095.

45 El compuesto bis-arílico es 5-amino-3-ciano-1-(2,6-dicloro-4-trifluorometilfenil)-4-trifluorometilsulfinilpirazol, un compuesto conocido como fipronil, descrito en el Documento EP-295117.

50 Cuando se usan como agentes plaguicidas en un animal huésped, las composiciones del invento pueden ser aplicadas al paciente huésped humano o animal en una cantidad típica de 0,001-10 mg de compuesto avermectínico o milbemicínico/kg de peso corporal. La relación ponderal de compuesto avermectínico o milbemicínico al arilpirazol estará generalmente en el intervalo de 1 a 100, preferiblemente de 1 a 10. Los efectos sinérgicos de ciertas combinaciones permiten que se emplee una dosificación reducida de ambos compuestos para obtener un efecto antiparasítico dado, reduciéndose los riesgos de efectos secundarios indeseados, toxicidad y desarrollo de resistencia a los compuestos implicados, y una duración más prolongada de acción.

55 La terapia de combinación del invento es eficaz para tratar una diversidad de estados causados por endoparásitos, incluyendo en particular la helmintiasis, que es muy frecuentemente causada por un grupo de gusanos parásitos descritos como nematodos y que puede causar importantes pérdidas económicas en los ganados porcino, ovino, equino y bovino y afectar además a animales domésticos y aves de corral. Los géneros más comunes de nematodos que infectan a los animales anteriormente mencionados son *Haemonchus*, *Trichostrongylus*, *Ostertagia*, *Teladorsagia*, *Nematodirus*, *Cooperia*, *Ascaris*, *Bunostomum*, *Oesophagostomum*, *Chabertia*, *Strongylus*, *Trichonema* y *Dictyocaulus*. Las combinaciones son también eficaces frente a otros nematodos que afectan a varias especies de animales e incluyen, por ejemplo: *Dirofilaria* en perros, y varios parásitos que pueden infestar el ganado, animales de compañía tales como gatos y perros, y también seres humanos, e incluyen parásitos gastrointestinales tales como *Ancylostoma*, *Uncinaria*, *Necator*, *Ascaris*, *Strongyloides*, *Trichinella*, *Capillaria*, *Toxocara*, *Toxascaris*, *Trichuris* y *Enterobius*, y parásitos que
65 se encuentran en la sangre o en otros tejidos y órganos, tales como gusanos de la familia *Filariidae* y los estadios extraintestinales de *Strongyloides*, *Toxocara* y *Trichinella*. Son especialmente útiles para tratar animales de compañía afectados por el gusano del corazón.

Las combinaciones son también valiosas en el tratamiento de infecciones por ectoparásitos, incluyendo ectoparásitos artrópodos particulares de seres humanos, animales y pájaros huésped, tales como garrapatas, ácaros, piojos, pulgas, moscardas, insectos que pican y larvas de dípteros migratorios que pueden afectar a los ganados bovino y equino. Las combinaciones son también insecticidas activos frente a plagas domésticas tales como las de cucaracha, polilla, escarabajo de las alfombras y mosca doméstica, y son además útiles frente a plagas de artrópodos que afectan al grano ensilado y a plantas agrícolas, tales como arañuelas, áfidos y orugas, y frente a ortópteros migratorios tales como las langostas.

La eficacia de las composiciones de acuerdo con una realización del invento frente al gusano del corazón (*Dirofilaria immitis*) es demostrada mediante el ejemplo siguiente.

Ejemplo

Se recuperaron larvas L3 infecciosas de *Dirofilaria immitis* de *Aedes aegypti* previamente infectados y se cultivaron *in vitro* hasta el estadio L4 mediante las técnicas descritas por D. Abraham *et al.* [J. Parasit. 73 (2), 1.987, páginas 377-383].

Procedimiento de ensayo

El análisis de los compuestos tuvo lugar cuando > 95% de las larvas habían mudado al estadio L4. El sistema analítico consistió en una placa de microtitulación de 96 pocillos en que se habían distribuido 79 μ l de medio analítico, 1 μ l del compuesto de ensayo, y 20 μ l de medio analítico que contenían de 15 a 20 *D. immitis* L4. Se disolvió cada compuesto de ensayo en dimetilsulfóxido (DMSO) y se hicieron las diluciones utilizando este disolvente. Las placas de microtitulación del ensayo se mantuvieron durante 72 horas a 37 grados centígrados, bajo una atmósfera que comprendía CO₂ al 5% en aire.

Procedimiento analítico

Los efectos de cada compuesto en cada concentración y cada combinación se evaluaron comparando la motilidad de las larvas L4 en los pocillos testigo y en los pocillos tratados. Se realizaron observaciones microscópicas a las 2, 4, 24, 48 y 72 horas en cada pocillo. Las observaciones se calificaron de acuerdo con los niveles de motilidad de las larvas, los cuales variaban de 0 (todas muertas) a 5 (todas con motilidad normal).

El procedimiento anterior se llevó a cabo usando disoluciones que contenían los compuestos mostrados en la Tabla 1 siguiente, en las concentraciones indicadas. El Compuesto (1) es monosacárido de 5-oximino-22,23-dihidro-25-ciclohexilavermectina B1 (selamectina), descrito como Ejemplo 5 en el Documento WO 94/15944.

(Tabla pasa a página siguiente)

TABLA 1

Gusano del corazón (D. immitis) L4 in vitro

Observaciones duplicadas (horas después del tratamiento)

Compuesto(s)	µg/ml	2 h	4 h	24 h	48 h	72 h
TESTIGO	–	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
(1)	10	2/2	2/0	3/3	4/4	3/4
(1)	1	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
Fipronilo	10	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
(1) + Fipronilo	10 10	4/2	1/0	0/0	0/0	0/0
(1) + Fipronilo	10 1	4/4	1/3	1/0	2/3	0/3

Claves - Calificación de las observaciones:

0 = sin motilidad, larvas muertas

1 = motilidad en al menos 1 larva; muertas todas las demás

2 = muertas $\geq$ 80% de las larvas; poco activas las demás

3 = muertas < 80% de las larvas; poco activas las demás

4 = todas las larvas (o la mayoría) móviles aunque poco activas

5 = normales en cuanto a aspecto y motilidad.

De los resultados presentados en la Tabla 1 puede desprenderse que, aunque el Compuesto (1) solo ejercía solamente un efecto moderado en cuanto a causar mortalidad o parálisis, y el fipronilo solo no ejercía efecto observable alguno en una concentración de 10 µg/ml, la combinación de estos compuestos era muy eficaz.

Todas las publicaciones anteriormente mencionadas se incorporan aquí por referencia en su totalidad.

La referencia a “tratamiento” incluye aquí los tratamientos preventivo, paliativo y curativo.

REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende una combinación de un compuesto bis-arílico y una avermectina o milbemicina o un derivado de las mismas, y, si es necesario, un vehículo farmacéutico o veterinario adecuado, en la que el compuesto bis-arílico es fipronilo y la avermectina o milbemicina es selamectina.

2. Una composición de acuerdo con la Reivindicación 1 para uso en medicina.

3. El uso de una avermectina o milbemicina y un compuesto bis-arílico de acuerdo con la Reivindicación 1 en la fabricación de un medicamento antiparasítico.

4. El uso de acuerdo con la reivindicación 3, en el que la avermectina o milbemicina y el compuesto bis-arílico se administran en combinación en la misma composición o por medio de tratamientos separados, sea de forma sustancialmente simultánea o sea a intervalos espaciados.

5. Un envase farmacéutico que comprende una avermectina o milbemicina y un compuesto bis-arílico de acuerdo con la Reivindicación 1.

6. Un método para matar o dañar un parásito en un locus, que comprende administrar a dicho locus una combinación eficaz de una avermectina o milbemicina y un compuesto bis-arílico de acuerdo con la Reivindicación 1, en el que el locus no está sobre ni en un ser humano ni un animal no humano.

7. Un procedimiento para preparar una composición de acuerdo con la Reivindicación 1, que comprende mezclar un compuesto bis-arílico de acuerdo con la Reivindicación 1 con una avermectina o milbemicina de acuerdo con la Reivindicación 1, y, opcionalmente, un vehículo farmacéutico o veterinario.