

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 877 329**

51 Int. Cl.:

A01N 43/80 (2006.01)
A01N 47/12 (2006.01)
A01N 47/18 (2006.01)
A01N 53/00 (2006.01)
A01P 7/00 (2006.01)
A61K 31/42 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.08.2008 E 18205103 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.05.2021 EP 3473101**

54 Título: **Composiciones de isoxazolina y su uso como antiparasitarios para felinos**

30 Prioridad:

17.08.2007 US 95644807 P
17.08.2007 EP 07016152
21.12.2007 EP 07150309
14.07.2008 US 8044408 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
16.11.2021

73 Titular/es:

INTERVET INTERNATIONAL B.V. (100.0%)
Wim de Körverstraat 35
5831 AN Boxmeer, NL

72 Inventor/es:

HECKEROTH, ANJA, REGINA,;
LUTZ, JÜRGEN;
MERTENS, CHRISTINA;
WILLIAMS, HEIKE;
ZOLLER, HARTMUT y
MITA, TAKESHI

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 877 329 T3

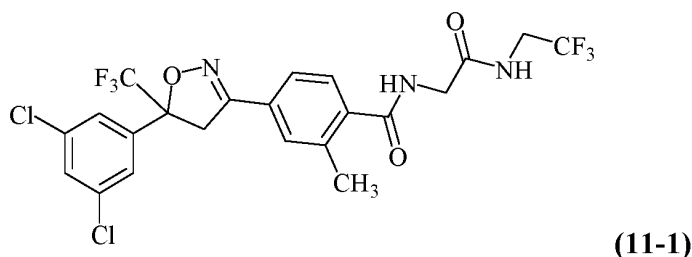
Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar 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).

5 Campo de la invención

10 Antecedentes de la invención

15

25 La invención se dirige a una isoxazolina de Fórmula (11-1)



30

35

45

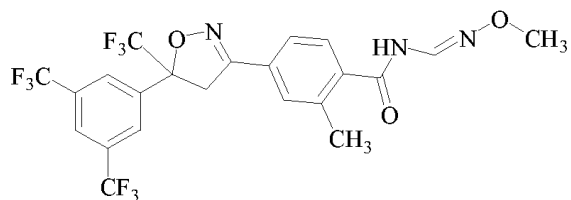
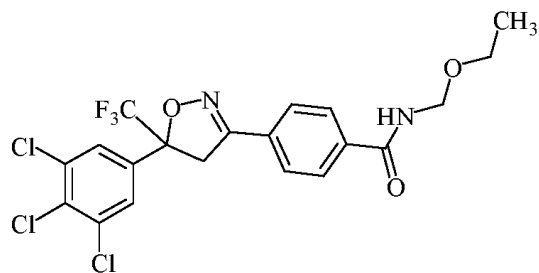
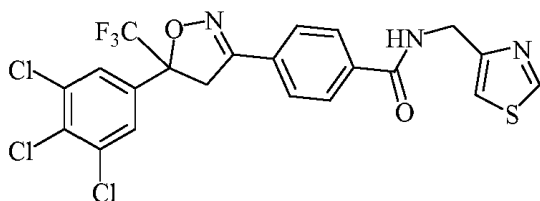
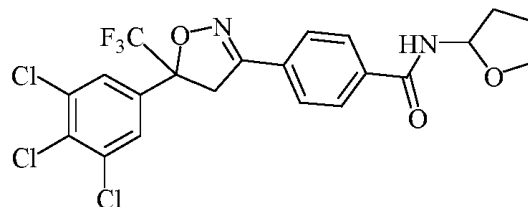
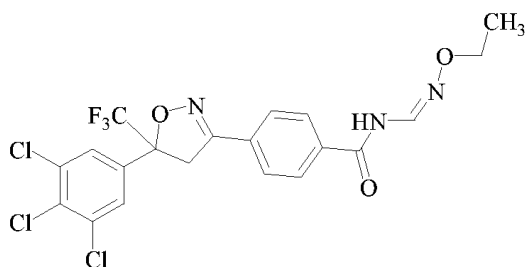
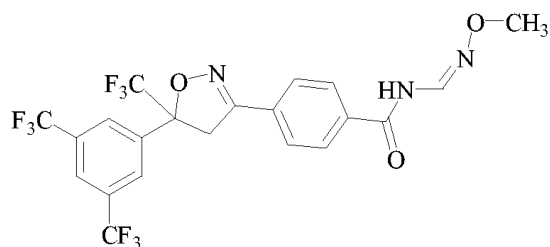
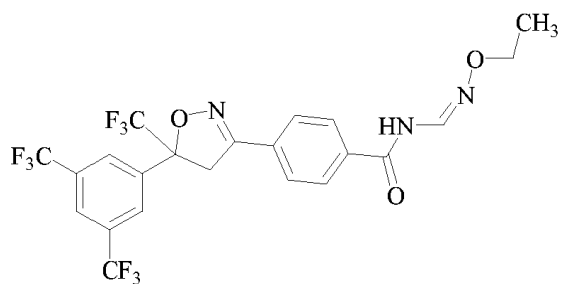
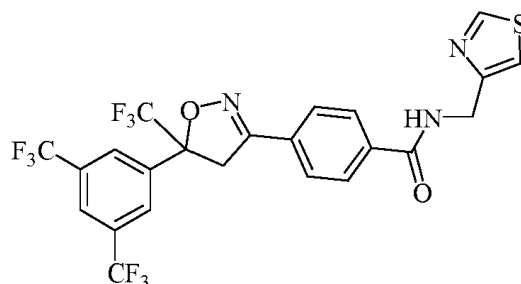
50

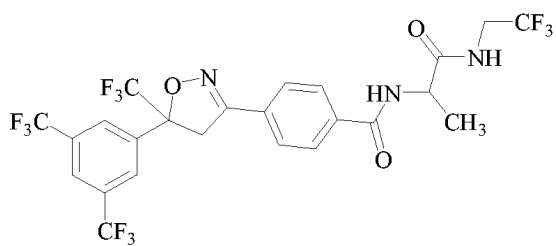
Descripción detallada de las realizaciones preferidas***I. La isoxazolina***

5

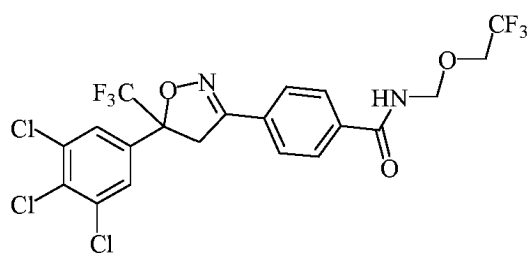
La isoxazolina usada de acuerdo con esta invención tiene la Fórmula 11-1.

Los ejemplos de isoxazolinas comparativas incluyen las siguientes:

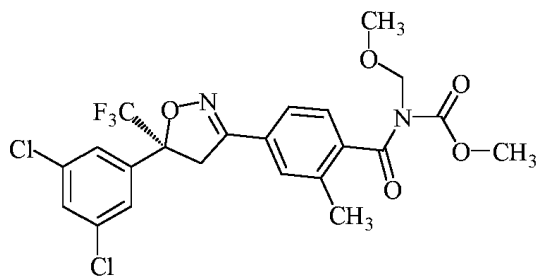
**(5-1),****(5-2),****(5-3),****(5-4),****(5-5),****(5-6),****(5-7),****(5-8),**



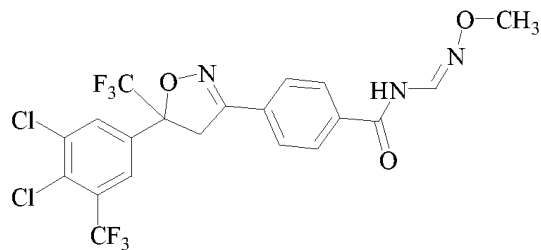
(5-9),



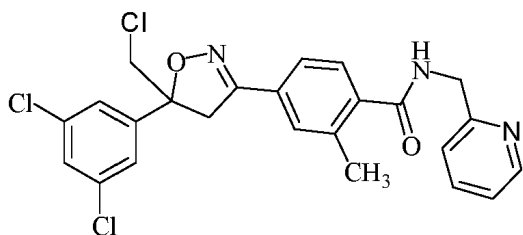
(5-10),



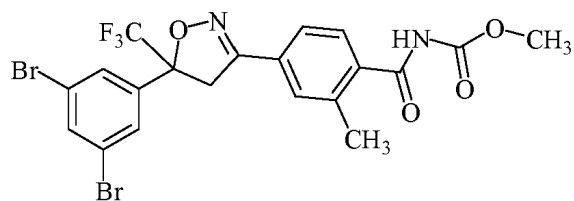
(5-11)



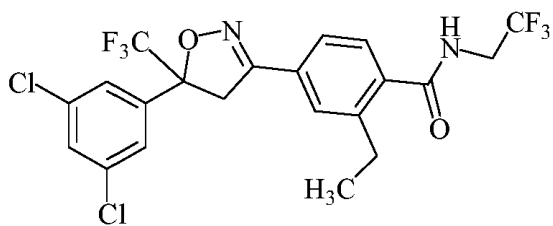
(5-12))



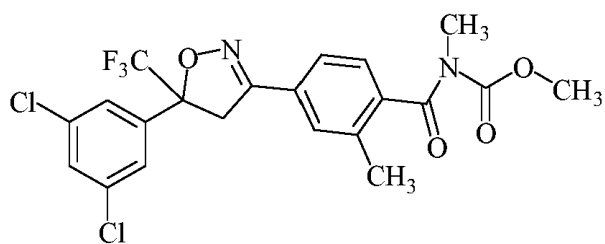
(5-13)



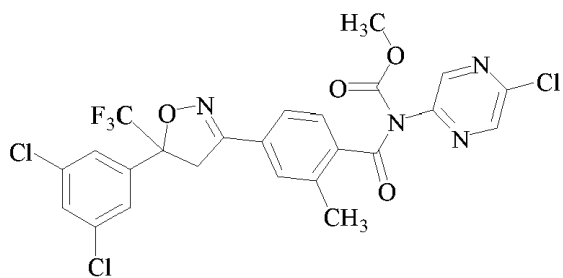
(5-14)



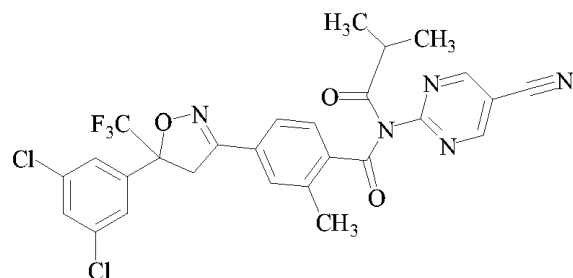
(5-15),



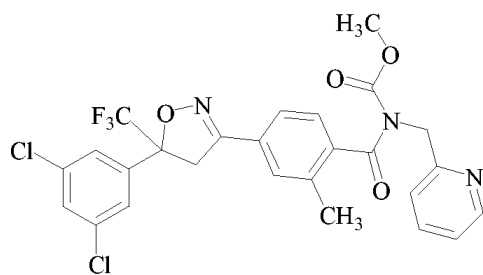
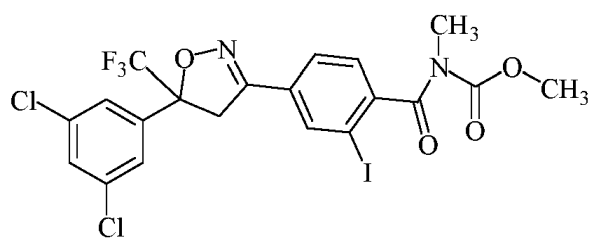
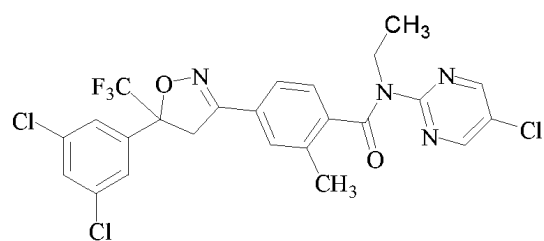
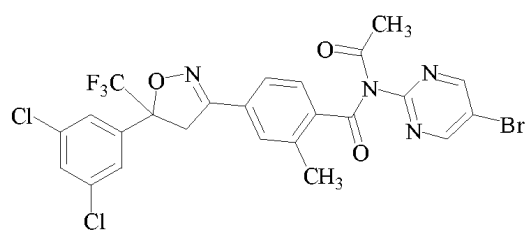
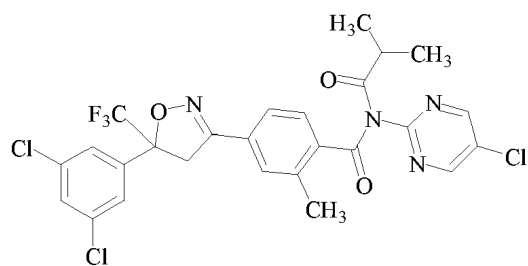
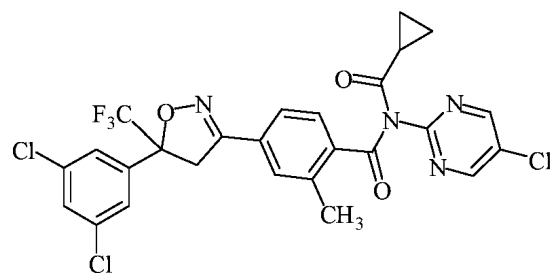
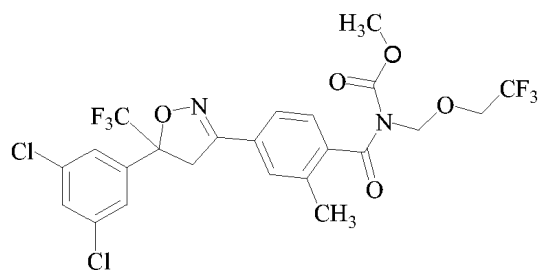
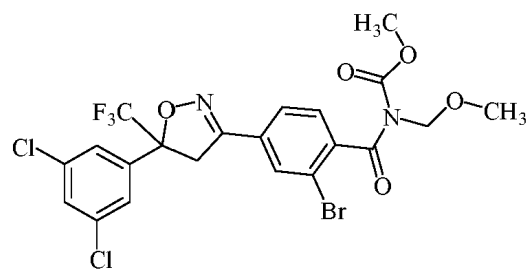
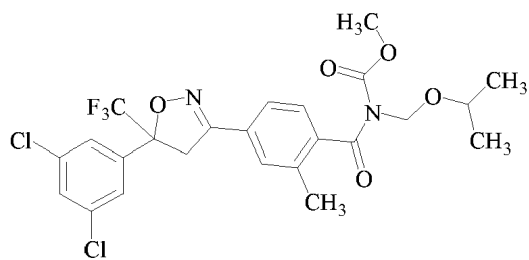
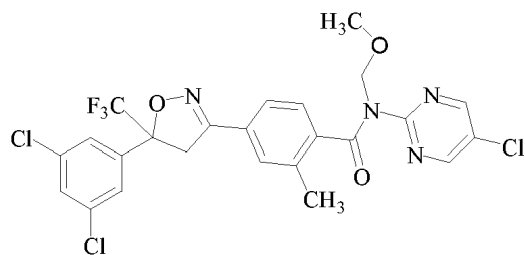
(5-16),

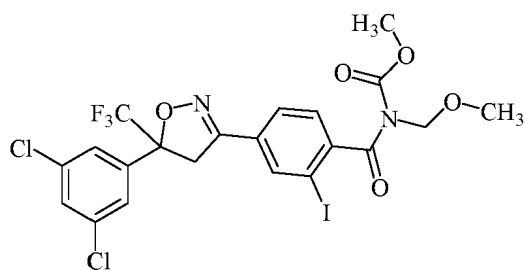


(5-17),

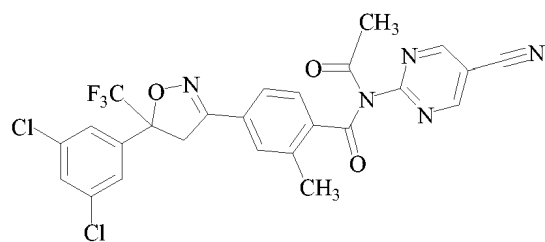


(5-18).

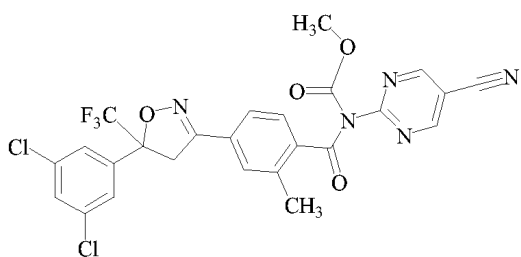
**(5-19),****(5-20),****(5-21),****(5-22),****(5-23),****(5-24),****(5-25),****(5-26),****(5-27),****(5-28),**



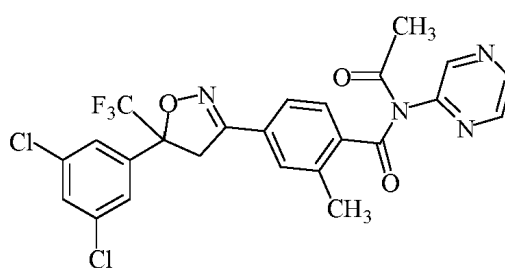
(5-29),



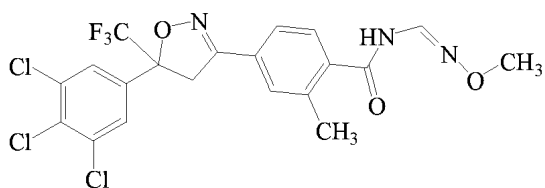
(5-30),



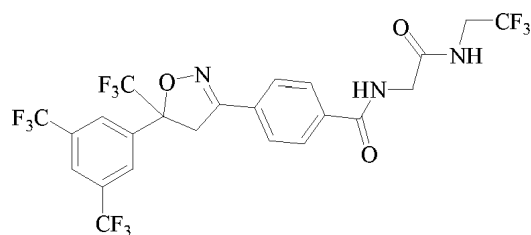
(5-31),



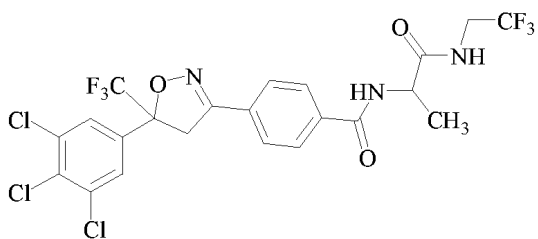
(5-32),



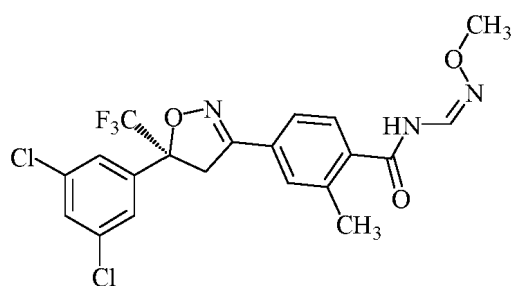
(5-33),



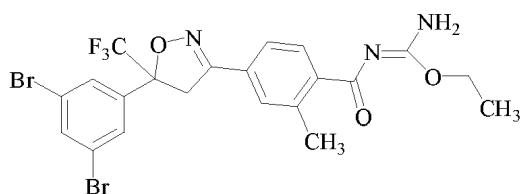
(5-34),



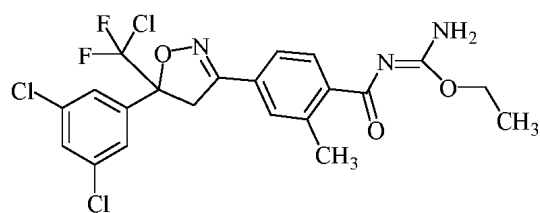
(5-35),



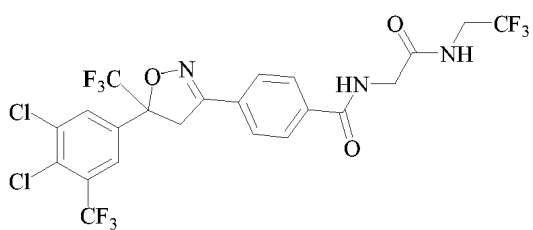
(5-36),



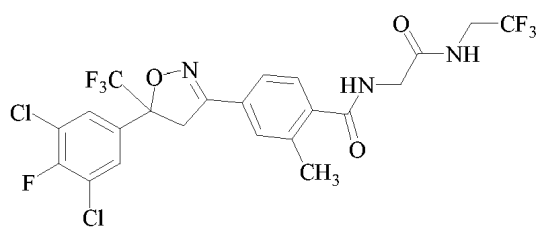
(5-37),



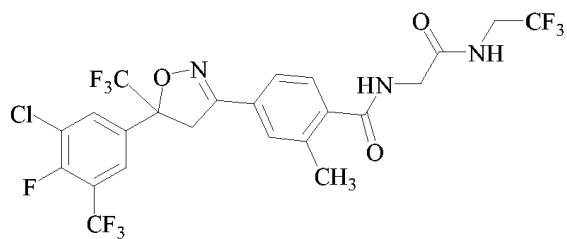
(5-38),



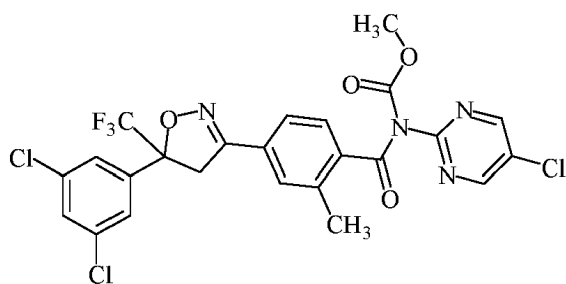
(5-39),



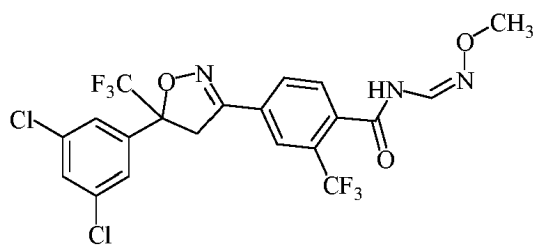
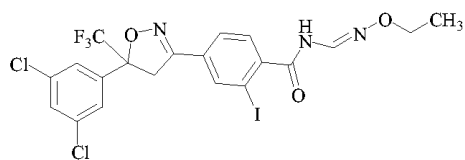
(5-40),



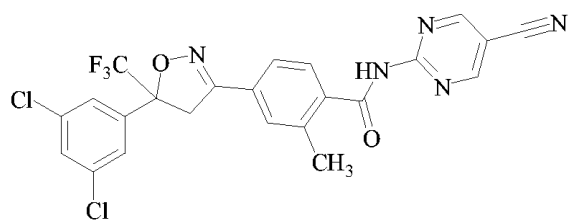
(5-41).



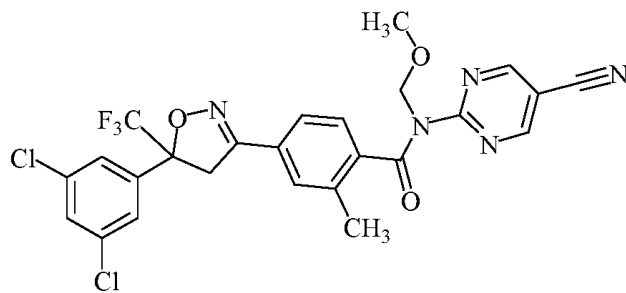
(5-42),


$$(5-43),$$


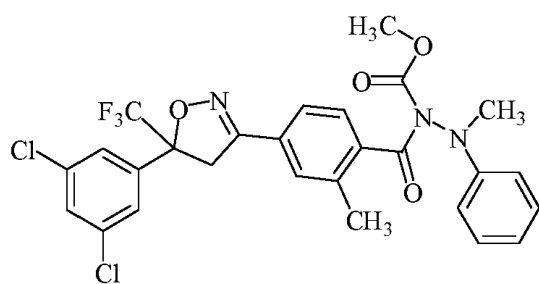
(5-44),



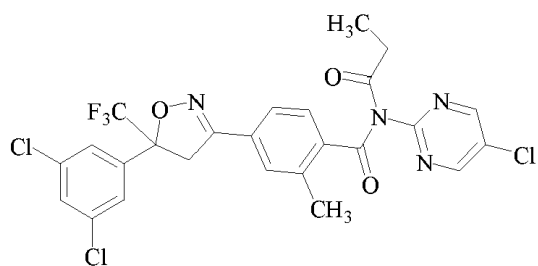
(5-45),



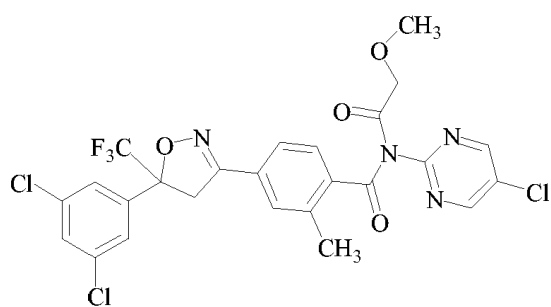
(5-46).



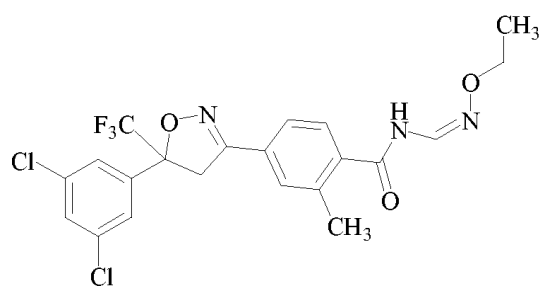
(5-47),



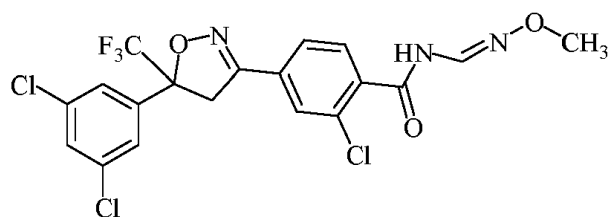
(5-48),



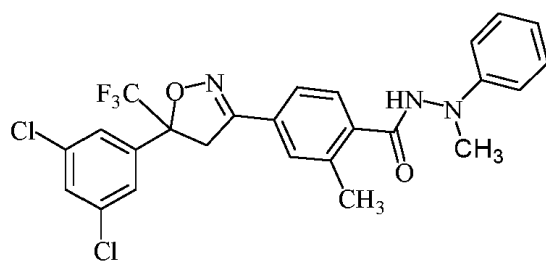
(5-49),



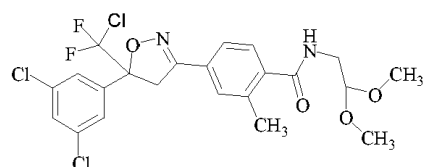
(5-50),



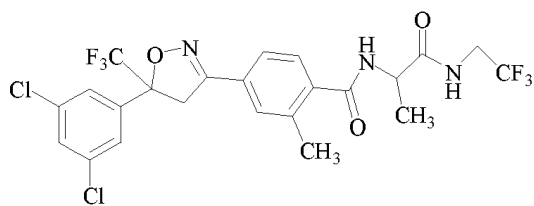
(5-51).



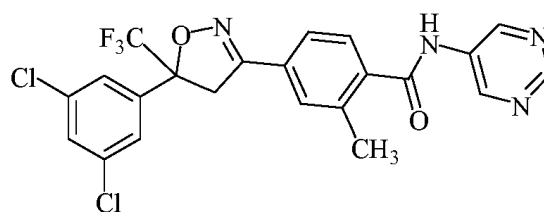
(5-52),



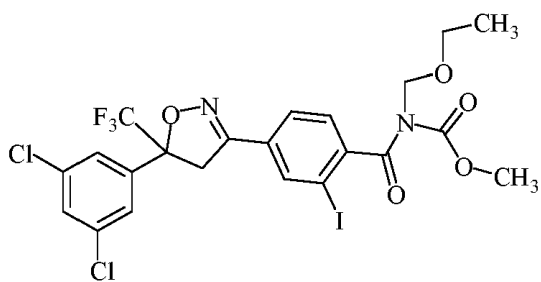
(5-53),



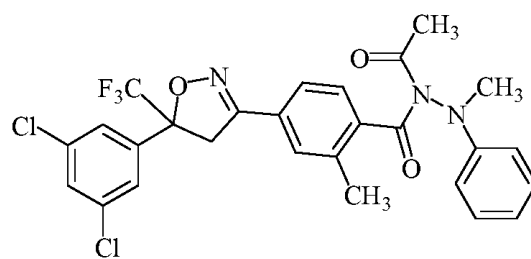
(5-54),



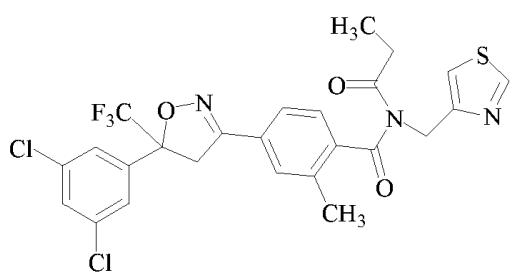
(5-55),



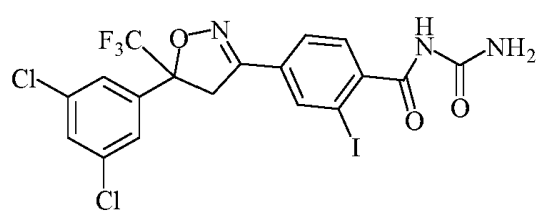
(5-56),



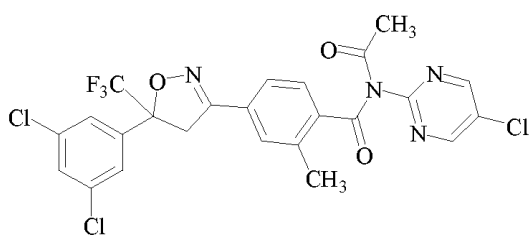
(5-57).



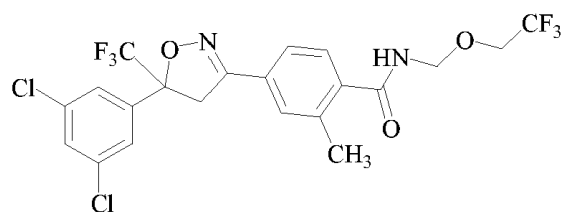
(5-58),



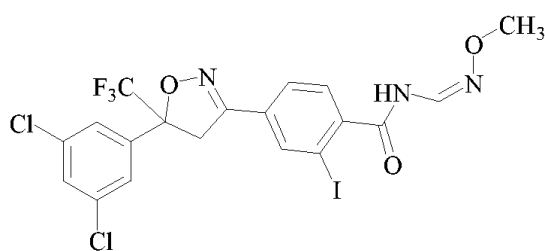
(5-59),



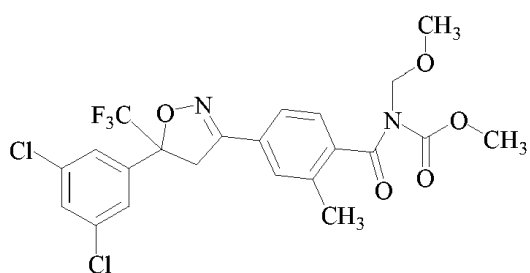
(5-60),



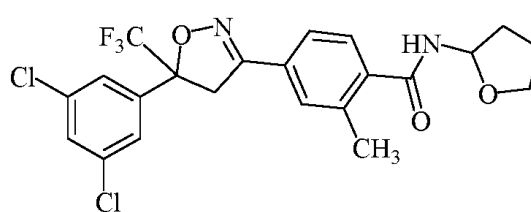
(5-61),



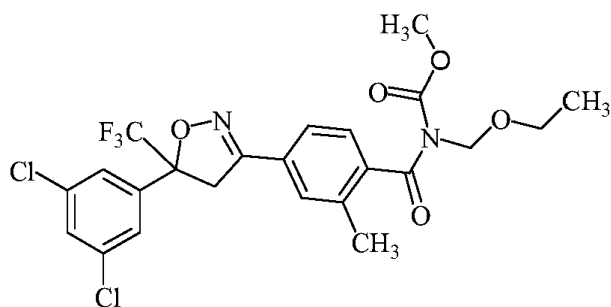
(5-62).



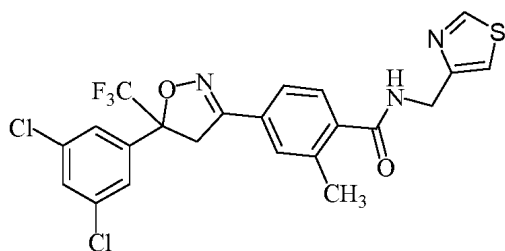
(5-63),



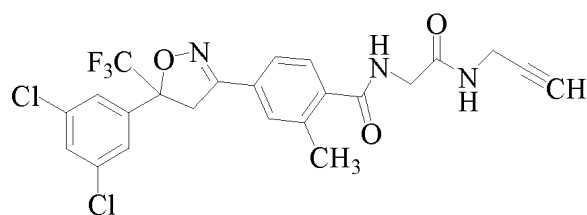
(5-64),



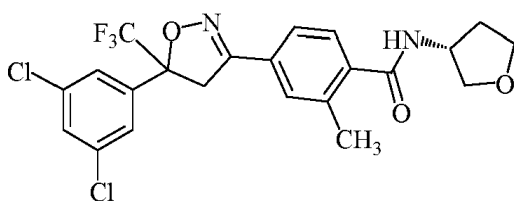
(5-65).



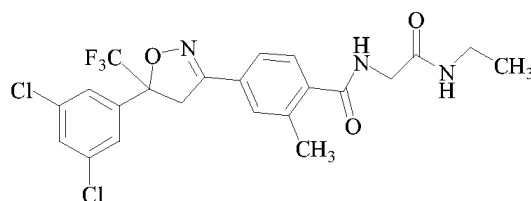
(5-66),



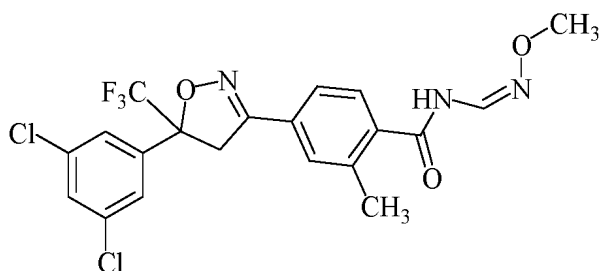
(5-67),



(5-68), y

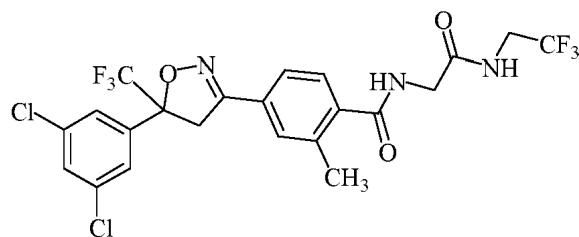


(14-1).



(10-1).

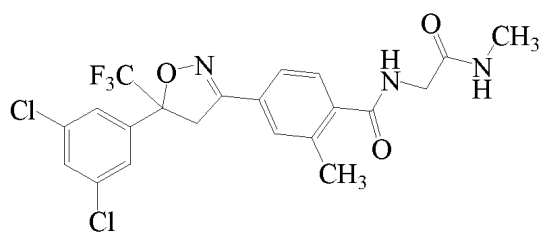
La isoxazolina de acuerdo con la presente invención tiene la siguiente fórmula:



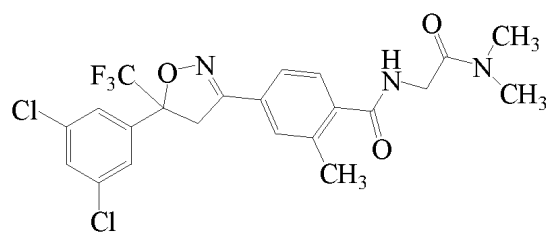
(11-1).

El nombre químico de esta isoxazolina es 4-[5-(3,5-diclorofenil)-5-trifluorometil-4,5-dihidroisoxazol-3-il]-2-metil-N-[(2,2,2-trifluoro-etilcarbamoil)-metil]-benzamida. Se puede encontrar, por ejemplo, CAS RN [864731-61-3]. Se ha descubierto de acuerdo con la presente invención que el Compuesto 11-1 exhibe resultados *in vivo* particularmente beneficiosos con respecto a la duración de la inhibición de pulgas usando una de diversas vías de administración, incluyendo, administración tópica, oral, o subcutánea. Véase, por ejemplo, el Ejemplo 5 a continuación.

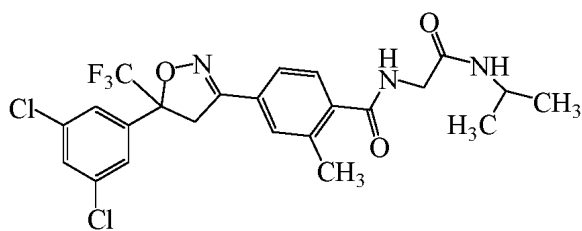
Las isoxazolinas comparativas incluyen las siguientes:



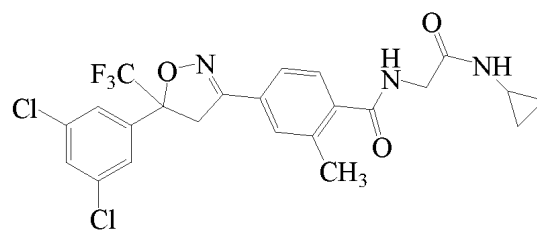
(5-69),



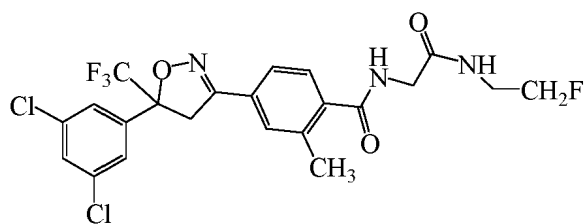
(5-70),



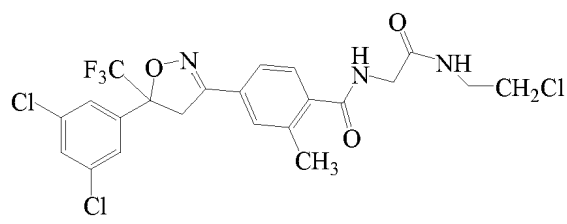
(5-71),



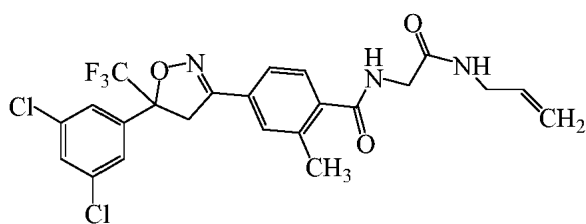
(5-72),



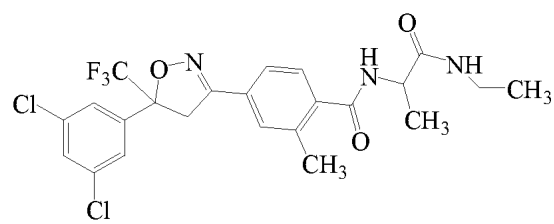
(5-73),



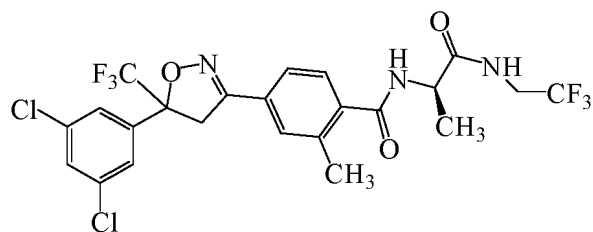
(5-74),



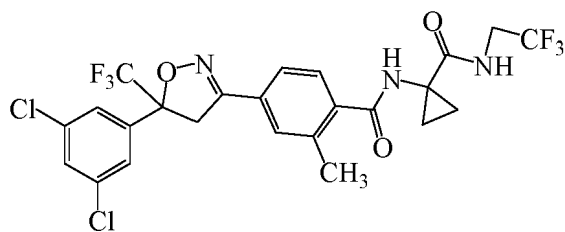
(5-75),



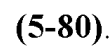
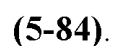
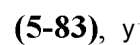
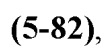
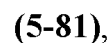
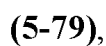
(5-76),



(5-77),

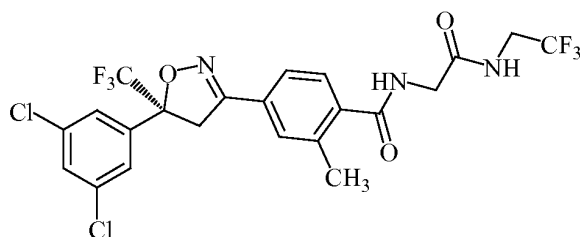


(5-78),



10

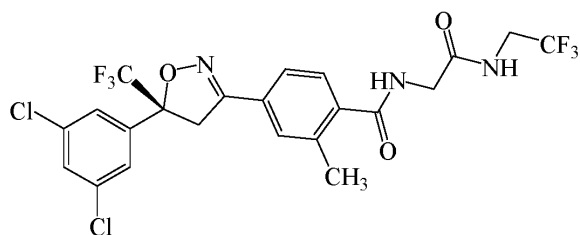
15



(17-1).

En otras realizaciones, el carbono quiral tiene una configuración a derechas (o "R" o "recta").

5 Un ejemplo de dicho compuesto es



(11-1R).

10 La isoxazolina puede tener adicionalmente otros isómeros conformacionales, tales como, por ejemplo, sustituyentes con un doble enlace *cis* o *trans*.

15 Con frecuencia, se puede aislar un isómero específico a partir de la correspondiente mezcla racémica (o una de sus sales) usando, por ejemplo, técnicas de cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC). Dicha técnica viene ilustrada en el **Ejemplo 7** siguiente para el aislamiento de los enantiómeros R y S del Compuesto **11-1** racémico. En algunos casos, cuando un isómero es difícil de separar, se aísla un derivado del isómero más fácilmente aislable a partir de la correspondiente mezcla racémica de derivados (o una de sus sales) y posteriormente se convierte en el isómero. Alternativamente, con frecuencia se puede sintetizar directamente un isómero específico a partir de, por ejemplo, un material de partida ópticamente puro.

20 En algunas realizaciones, la relación de un enantiómero (por ejemplo, el Compuesto 17-1) con respecto al otro enantiómero (por ejemplo, el Compuesto **11-1R**) en la composición farmacéutica usada con la presente invención es mayor de 1:1. En algunos casos, por ejemplo, la relación es mayor de aproximadamente 70:30, mayor de aproximadamente 85:15, mayor de aproximadamente 90:10, mayor de aproximadamente 95:5, mayor de aproximadamente 98:2 o mayor de aproximadamente 99:1.

25 En algunas realizaciones, la concentración de un enantiómero (por ejemplo, el Compuesto 17-1) en la composición (o, más normalmente, una composición de precursor) es mayor de aproximadamente un 50 % (en peso). En algunas de dichas realizaciones, por ejemplo, la concentración es mayor de aproximadamente un 70 % (en peso), mayor de aproximadamente un 85 % (en peso), mayor de aproximadamente un 90 % (en peso), mayor de aproximadamente un 95 % (en peso), mayor de aproximadamente un 98 % (en peso), mayor de aproximadamente un 99 % (en peso), o mayor de aproximadamente un 99,5 % (en peso).

35 A menos que se afirme lo contrario, se pretende que una estructura de isoxazolina que no indica una conformación particular englobe composiciones de todos los isómeros conformacionales posibles de la isoxazolina, así como de las composiciones que comprenden menos de todos (por ejemplo, uno de) los isómeros conformacionales posibles.

Sales de la isoxazolina

40 Como se ha comentado anteriormente, la isoxazolina usadas en la presente invención pueden estar en forma de sal. La sal puede ser ventajosa debido a una o más de sus propiedades físicas, tales como estabilidad farmacéutica a diferentes temperaturas y humedades; propiedades cristalinas; y/o solubilidad deseada en agua, aceite u otros disolventes. Normalmente las sales de ácido y base se pueden formar por medio de, por ejemplo, mezcla de un compuesto con un ácido o una base, respectivamente, usando varios métodos conocidos en la materia. En general, cuando se pretende administrar la sal *in vivo* (es decir, a un animal) para un beneficio terapéutico, preferentemente la sal es aceptable farmacéuticamente.

50 En algunos casos, se puede preparar una sal de adición de base de la isoxazolina de **Fórmula (11-1)** haciendo reaccionar la isoxazolina con una cantidad aproximadamente estequiométrica de una base orgánica o inorgánica, normalmente una base orgánica o inorgánica fuerte. Ejemplos de sales de adición de base pueden incluir, por ejemplo, sales metálicas, y sales orgánicas. Las sales metálicas, en particular, incluyen sales de metal alcalino (grupo Ia, por

ejemplo, litio, sodio o potasio), sales de metal alcalino térreo (grupo IIa, por ejemplo, bario, calcio y magnesio), sales de metales pesados (por ejemplo, cinc e hierro) y otras sales de metal aceptables fisiológicamente. Dichas sales pueden prepararse a partir de calcio, litio, magnesio, potasio, sodio y cinc. Por ejemplo, se puede mezclar una isoxazolina libre de ácidos con hidróxido de sodio para formar dicha sal de adición de base.

En algunos casos, se puede preparar una sal de adición ácida de la isoxazolina de **Fórmula (11-1)** haciendo reaccionar la isoxazolina con una cantidad aproximadamente estequiométrica de un ácido orgánico o inorgánico. Ejemplos de ácidos inorgánicos contemplados para preparar las sales aceptables farmacéuticamente incluyen ácido clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, nítrico, carbónico, sulfúrico y fosfórico. Con frecuencia, los ejemplos de ácidos orgánicos apropiados para preparar sales aceptables farmacéuticamente incluyen generalmente, por ejemplo, las clases alifática, cicloalifática, aromática, aralifática, heterocíclica, carboxílica y sulfónica de ácidos orgánicos. Ejemplos específicos de ácidos orgánicos incluyen ácido cólico, sórbico, láurico, acético, trifluoroacético, fórmico, propiónico, succínico, glicólico, glucónico, diglucónico, láctico, málico, tartárico, cítrico, ascórbico, glucurónico, maleico, fumárico, pirúvico, aspártico, glutámico, aril carboxílico (por ejemplo, benzoico), antranílico, mesílico, esteárico, salicílico, p-hidroxibenzoico, fenilacético, mandélico, embónico (pamoico), alquilsulfónico (por ejemplo, etanosulfónico), arilsulfónico (por ejemplo, bencenosulfónico), pantoténico, 2-hidroxietanosulfónico, sulfanílico, ciclohexilaminosulfónico, β -hidroxibutírico, galactárico, galacturónico, adípico, algínico, butírico, alcanfórico, alcanforsulfónico, ciclopentanopropiónico, dodecilsulfónico, glicoheptanoico, glicerofósforo, heptanoico, hexanoico, nicotínico, 2-naftalensulfónico, oxálico, palmoico, pectínico, 3-fenilpropiónico, pícrico, piválico, tiociánico, tosílico y undecanoico.

En algunos casos, se puede preparar una sal orgánica de la isoxazolina de **Fórmula (11-1)** por medio de, por ejemplo, cuaternización de un grupo básico que contiene nitrógeno sobre la isoxazolina con un agente tal como un haluro de alquilo- C_1 - C_6 (por ejemplo, cloruros, bromuros y yoduros de metilo, etilo, propilo y butilo), sulfato de dialquilo (por ejemplo, sulfato de dimetilo, dietilo, dibutilo o diamilo), haluros de cadena larga (por ejemplo, cloruros, bromuros o yoduros de decilo, laurilo, miristilo y estearilo), haluro de arilalquilo (por ejemplo, bromuro de bencilo y fenetilo) y similares.

Debe entenderse que el contraión de una sal de ácido o base puede, en algunos casos, ser ópticamente activo (por ejemplo, sales de D-lactato y L-lisina) o racémicas (por ejemplo, sales de DL-tartrato y DL-arginina).

Solvatos de la isoxazolina

En algunos casos, la isoxazolina de **Fórmula (11-1)** está en forma de complejos estables con moléculas de disolvente que permanecen intactas una vez que se han retirado las moléculas de disolvente que no han formado complejos de los compuestos. Generalmente, estos complejos son denominados "solvatos". En algunos casos, el solvato será capaz de aislamiento por ejemplo cuando se incorporan una o más moléculas de disolventes a la estructura reticular cristalina del sólido cristalino. "Solvato" engloba tanto solvatos de fase de disolución como solvatos aislables. Ejemplos de solvatos apropiados incluyen etanolatos, metanolatos y similares. Un "hidrato" es un solvato donde la molécula de disolvente es agua. Preferentemente, un solvato que se pretende usar *in vivo* es farmacéuticamente aceptable.

II. Preparación de isoxazolinás

Los métodos de preparación de isoxazolinás se conocen en la materia. Los métodos de preparación de isoxazolina de **Fórmula (11-1)**, por ejemplo, se han descrito en la Patente de EE.UU. de N° de Publicación US 2007/0066617 (incorporado por referencia en esta patente). La patente de EE.UU. N° de Publicación US2007/0066617 discute la preparación del Compuesto **11-1** en el Ejemplo 21 de la página 72.

III. Métodos de Tratamiento que Usan una Composición de esta Invención

Generalmente, la isoxazolina de **Fórmula (11-1)** se puede usar para controlar los ectoparásitos en animales, y, a su vez, enfermedades directamente provocadas por dichos ectoparásitos y/o enfermedades provocadas por patógenos transportados por dichos ectoparásitos. Se contempla que se puede usar la composición para tratar una gama de animales, especialmente animales de sangre caliente. Dichos animales de sangre caliente incluyen, por ejemplo, mamíferos. Los mamíferos incluyen, por ejemplo, humanos. Otros mamíferos incluyen, por ejemplo, mamíferos salvajes o de granja (por ejemplo, cerdos, bóvidos, ovejas, cabras, etc.), mamíferos de laboratorio (por ejemplo, ratones, ratas, gerbillos de Mongolia, etc.), mamíferos de compañía (por ejemplo, perros, gatos, equinos, etc.), animales de peletería (por ejemplo, visones, zorros, chinchillas, conejos, etc.) y mamíferos salvajes y de zoo (por ejemplo, búfalo, ciervo, etc.). En algunas realizaciones, se usan las composiciones para tratar mamíferos caninos (por ejemplo, perros, tales como por ejemplo, perros de compañía de pura raza o bastardos, perros de exposición, perros de trabajo, perros para pastoreo, perros de caza, perros de guarda, perros policía, perros de carreras y/o perros de laboratorio). En otras realizaciones, las composiciones se usan para tratar felinos (por ejemplo, gatos domésticos). Se contempla que las composiciones también son apropiadas para tratar animales que no sean mamíferos, tales como pájaros (por ejemplo, pavos, pollos, gansos, patos, loros, etc.). También se contempla que dichas composiciones se pueden utilizar para tratar animales de sangre fría, tal como, por ejemplo, peces (por ejemplo, salmón, trucha, carpas, etc.).

Se ha descubierto de acuerdo con la presente invención que la isoxazolina de **Fórmula (11-1)** es generalmente de valor particular para el control de ectoparásitos, es decir, artrópodos que son perjudiciales, o que se difunden o que actúan como vectores de enfermedades en animales de sangre caliente. Generalmente, las isoxazolininas son beneficiosas para controlar diferentes etapas de ciclo de vida de parásitos, incluyendo las etapas de huevo, ninfa, larva, juvenil y adulto. Los ectoparásitos (generalmente las plagas de insectos y acáridos) incluyen las siguientes.

A. Insectos que pican. Estos incluyen, por ejemplo, larvas de dípteros migratorios, tales como, por ejemplo *Hypoderma* sp. en ganado vacuno, *Gastrophilus* en caballos y *Cuterebra* sp. en roedores; moscas que pican, tales como, por ejemplo mosca adulta que chupa sangre (por ejemplo, mosca de los cuernos (*Haematobia irritans*), mosca de los caballos (*Tabanus* spp.), mosca de los establos (*Stomoxys calcitrans*), mosca negra (*Simulium* spp.), mosca de los ciervos (*Chrysops* spp.), mosca de los piojos (*Melophagus ovinus*), mosca tse-tse (*Glossina* spp.); larvas de moscas parasitarias, tales como, por ejemplo, estro (*Oestrus ovis* y *Cuterebra* spp.), mosca azul (*Phaenicia* spp.), gusano barrenador (*Cochliomyia hominivorax*), gusanillo del ganado (*Hypoderma* spp.) y gusano del vellón; y mosquitos, tales como, por ejemplo, *Culex* spp., *Anopheles* spp. y *Aedes* spp.

B. Ácaros. Estos incluyen:

- i. *Mesostigmata* spp., tal como mesostigmátidos, que incluyen ácaros de pollo (*Dermanyssus gallinae*).
- ii. *Astigmata* spp., tal como ácaros de la roña y sarna, que incluyen *Sarcoptidae* spp. (por ejemplo, *Sarcoptes scabiei*); y ácaros de sarna equina, que incluyen *Psoroptidae* spp. (por ejemplo, *Chorioptes bovis* y *Psoroptes ovis*).
- iii. *Prostigmata* spp., tal como larvas rojas de trombicúlidos, que incluyen *Trombiculidae* spp. (por ejemplo, larva roja de trombicúlidos de Norte América, *Trombicula alfreddugesi*).
- iv. Demodex

C. Garrapatas: Estas incluyen por ejemplo, garrapatas de cuerpo blando, tales como, *Argasidae* spp. (por ejemplo, *Argas* spp., y *Ornithodoros* spp.); y garrapatas de cuerpo duro, tales como *Ixodidae* spp. (por ejemplo, *Ixodes ricinus*, *Rhipicephalus sanguineus*, *Haemophysalis* spp., *Dermacentor reticulatus*, *Dermacentor variabilis*, *Amblyomma americanum* y *Boophilus* spp.).

D. Piojos: Estos incluyen, por ejemplo, piojos masticadores, tales como *Menopon* spp. y *Bovicola* spp., y piojos succionadores, tales como, *Haematopinus* spp., *Lnognathus* spp. y *Solenopotes* spp.

E. Pulgas: Estas incluyen, por ejemplo, *Ctenocephalides* spp., tales como pulgas de perro (*Ctenocephalides canis*) y pulgas de gato (*Ctenocephalides felis*); *Xenopsylla* spp., tal como pulgas de rata oriental (*Xenopsylla cheopis*); *Pulex* spp., tales como pulgas de humanos (*Pulex irritans*); pulgas de erizo (*Archaeopsylla erinacei*) y pulgas de pájaro (*Ceratophyllus gallinae*).

F. Bichos: Estos incluyen, por ejemplo, *Cimicidae* o chinches comunes (*Cimex lectularius*); y *Triatominae* spp., tales como bichos triatómidos (también conocidos como vinchucas) (por ejemplo, *Rhodnius prolixus* y *Triatoma* spp.).

Una "infestación" se refiere a la presencia de parásitos en número que poseen un riesgo de molestia o peligro para humanos o animales. La presencia puede ser en el entorno (por ejemplo, en el lecho animal) o en la piel o pelaje del animal, etc. A menos que se afirme lo contrario, cuando la infestación es en un animal (por ejemplo, en la sangre u otros tejidos internos), se pretende que el término infestación sea sinónimo del término "infección", ya que ese término es generalmente conocido en la materia.

La frase "control de infestación por ectoparásitos" significa reducir o erradicar la presencia de parásitos en y/o sobre el animal, y/o para inhibir parcial o completamente el desarrollo de la infestación por parásitos en y/o sobre el animal. Esto se puede conseguir, por ejemplo, matando, repeliendo, expeliendo, incapacitando, disuadiendo, eliminando, aliviando o minimizando el parásito. El control de los ectoparásitos puede ser insecticida y/o acaricida. El efecto de la isoxazolina puede ser, por ejemplo, ovicida, larvicida, ninfocida, adulticida o una de sus combinaciones. Además, el efecto se puede manifestar por sí mismo directamente matando los parásitos bien de forma inmediata o después de que haya transcurrido un tiempo (por ejemplo, cuando tiene lugar la muda o mediante la destrucción de los huevos). Alternativamente (o adicionalmente), el efecto se puede manifestar en sí mismo indirectamente, por ejemplo, por medio de la reducción del número de huevos depositados y/o la tasa de incubación.

En general, una cantidad de isoxazolina que sea suficiente para "controlar" o ser "eficaz" frente a un parásito diana es una cantidad que sea suficiente para reducir o erradicar el número de parásitos en y/o sobre el animal, y/o para inhibir parcial o completamente el desarrollo de la infestación por parásitos en y/o sobre el animal. Cuando se administra isoxazolina sistémicamente, generalmente una cantidad eficaz constituye una cantidad que tiene como resultado concentraciones en tejido y/o en sangre generalmente tóxicas cuando son ingeridas por un parásito diana.

Normalmente, el experto en la materia puede determinar una dosis "eficaz", por ejemplo, observando o detectando cambios en una enfermedad clínica o comportamiento de un animal hospedador, así como por medio de la observación de los cambios relativos en el número de parásitos después de dicho tratamiento. En general, se considera que una dosis es eficaz para controlar un parásito diana cuando la dosis es suficiente para provocar que la cuenta de parásitos actual o potencial se reduzca al menos aproximadamente un 5 %. En algunas de las citadas circunstancias, por ejemplo, se considera que la dosis es eficaz cuando la dosis es suficiente para provocar que una cuenta de parásitos

actual o potencial se reduzca en al menos aproximadamente un 10 % (o al menos aproximadamente un 30 %, al menos aproximadamente un 50 %, al menos aproximadamente un 60 %, al menos aproximadamente un 75 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, o al menos aproximadamente un 99 %).

- 5 Generalmente, la dosis óptima depende de múltiples factores, incluyendo, por ejemplo, la isoxazolina particular; la identidad de cualquier otro principio(s) activo(s) que se esté administrando al receptor animal; la ruta de administración; el tipo y la gravedad de la enfermedad diana y el patógeno; el tipo (por ejemplo, especies y variedad), edad, tamaño, sexo, dieta, actividad y enfermedad del receptor animal en cuestión; y consideraciones farmacológicas, tales como actividad, eficacia, perfiles farmacocinéticos y toxicológicos de la isoxazolina y otro(s) principio(s) activo(s) que se
10 estén administrando al receptor animal. En el sentido de que se administran múltiples principios activos para los efectos combinados sobre el parásito o la enfermedad diana, la cantidad de cada principio que constituye una "cantidad eficaz" es una cantidad que, cuando se combina con los otros principios activos, provoca el efecto deseado.

- La isoxazolina de **Fórmula (11-1)** puede administrarse múltiples veces para un único tratamiento. Se administra una
15 dosis individual para controlar eficazmente un parásito diana durante una duración más larga. En algunas de tales realizaciones, por ejemplo, la dosis única es eficaz para controlar un parásito diana durante al menos aproximadamente 2 semanas, al menos aproximadamente 3 semanas, al menos aproximadamente 1 mes, al menos aproximadamente 2 meses, al menos aproximadamente 3 meses, al menos aproximadamente 4 meses o al menos aproximadamente 6 meses. La frecuencia de los tratamientos es bimensual, trimestral, semestral o incluso más larga
20 (por ejemplo, anual). Dichos tratamientos de múltiples dosificaciones se contemplan para incluir múltiples dosis por día durante uno o más días, dosis diarias para múltiples días y/o dosis administradas con una separación de dos o más días. La duración durante la cual la isoxazolina de **Fórmula (11-1)** tiende a ser eficaz frente a varios ectoparásitos por medio de administración sistémica es sorprendente. Esto es particularmente cierto, debido a que dichas actividades duraderas pueden, en muchos casos, obtenerse por medio del uso de dosis reducidas que no sean tóxicas
25 para los receptores animales sin requerir el uso de un medio de liberación controlado. Sin pretender quedar limitado a ninguna teoría particular, se plantea la hipótesis de que esta duración larga proviene de la isoxazolina que tiene una toxicidad particularmente elevada cuando se ingiere por parte del parásito diana.

- Para muchos receptores animales, la dosis de isoxazolina y la formulación se escogen para mantener un nivel de
30 isoxazolina en el suero de al menos aproximadamente 1 ng/ml (por ejemplo, de 1 a 50 ng/ml). En general, la cantidad de isoxazolina administrada al receptor animal es de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 200 mg/kg de peso corporal. En algunas realizaciones se administra, por ejemplo, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 200 mg/kg de peso corporal. En otras realizaciones, se administra por ejemplo de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal. En otras de las citadas realizaciones, se administra de 1 a
35 aproximadamente 30 mg/kg de peso corporal. Dosificaciones mayores tienden a proporcionar una duración de actividad más larga.

- Se contempla que la duración de la actividad de la isoxazolina se puede ampliar incluso más (o se puede hacer más uniforme) por medio del uso de una formulación de liberación controlada o forma de dosificación. Por ejemplo, se
40 puede administrar la isoxazolina en microesferas, gránulos, o implantes (por ejemplo, un implante subcutáneo) que liberan la isoxazolina, por ejemplo, por medio de difusión y/o erosión. El uso de dicha forma de dosificación que contiene de aproximadamente 1 a aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal (o de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 mg/kg de peso corporal, tal como aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal) de isoxazolina puede permitir una actividad uniforme que dura varios meses o más (por ejemplo, un año).

- En algunas realizaciones de la presente invención, la isoxazolina de **Fórmula (11-1)** para tratar parasitosis de un animal (o para preparar un medicamento para tratar parasitosis de un animal). El término "parasitosis" incluye enfermedades patológicas y enfermedades asociadas a o provocadas por uno o más ectoparásitos directamente, tales como, por ejemplo, anemia y dermatitis alérgica de las pulgas. También incluye enfermedades o afecciones
50 patológicas o asociadas a provocadas por uno o más patógenos transmitidos por vectores, tales como, por ejemplo, la enfermedad de Lyme, erliquiosis (particularmente erliquiosis canina) y rickettsiosis exantemática a partir de garrapatas de vectores. La frase "tratamiento de parasitosis" significa inhibir parcial o completamente el desarrollo de parasitosis de un animal susceptible a parasitosis, reducir o eliminar completamente los síntomas de parasitosis de un animal que tiene parasitosis, y/o curar parcial o completamente la parasitosis de un animal que tiene parasitosis. En
55 general, el tratamiento de los parásitos se consigue por medio de la administración de la isoxazolina de **Fórmula (11-1)** para controlar la infestación por ectoparásitos.

- La presente invención también se refiere a métodos de tratamiento donde al menos un objetivo auxiliar para el control de los ectoparásitos en y/o sobre un animal es controlar una infestación por ectoparásitos en un entorno que está
60 ocupado (periódicamente o continuamente) por el animal. En dichas realizaciones, por ejemplo, el animal es un animal de compañía (por ejemplo, un gato o un perro). El entorno puede ser, por ejemplo, un hogar u otro refugio; una habitación; un corral, establo u otro medio de confinamiento; lecho, etc.

- Los términos "administrar" y "administración" se refieren al suministro de la isoxazolina de **Fórmula (11-1)**, sal de isoxazolina, solvato de la isoxazolina o sal, o profármaco de la isoxazolina. En algunas realizaciones de esta invención, la administración sistémica es deseable. "Administración sistémica" es una administración en un punto lejano del sitio

donde al menos reside una parte de los parásitos diana. Con la administración sistémica, al menos una parte de la isoxazolina alcanza el parásito diana por medio del torrente sanguíneo del receptor animal, otros fluidos corporales (fluidos linfáticos) y/o tejidos (por ejemplo, piel o tejido graso). Normalmente, el parásito ingiere la isoxazolina junto con la sangre del receptor animal, otros fluidos corporales, y/o tejido. La administración sistémica se puede conseguir de varias formas.

En algunas realizaciones, la composición de isoxazolina se administra sistémicamente a través de una vía oral en una forma de dosificación unitaria, tal como, por ejemplo, una cápsula blanda o dura, una píldora, un polvo, gránulos, un comprimido (por ejemplo, un comprimido masticable), una pasta, una solución, una suspensión (acuosa o no acuosa), una emulsión (de aceite en agua o de agua en aceite), un elixir, un jarabe, un bolo, un brebaje, o a través del alimento o el agua de beber del animal receptor. Cuando la composición se administra a través del alimento de un animal, puede, por ejemplo, suministrarse como un alimento discreto o como un premio masticable. Alternativamente (o adicionalmente), puede, por ejemplo, dispersarse de forma íntima en la comida regular del animal receptor, usarse como un aderezo o en forma de gránulos o líquido que se añade a la comida terminada. Cuando la composición se administra como un aditivo alimenticio, puede ser conveniente preparar una "premezcla" donde la composición se dispersa en un vehículo líquido o sólido. Esta "premezcla", a su vez, se dispersa en la comida del animal usando, por ejemplo, un mezclador convencional. Cuando la composición se administra en el agua de beber del animal receptor o como un brebaje, puede ser conveniente usar una formulación en solución o en suspensión. Esta formulación puede ser, por ejemplo, una suspensión concentrada que se mezcla con agua o una preparación seca que se mezcla y se suspende en agua. En ambos casos, es preferible tener la isoxazolina en una forma finamente pulverizada.

La composición de isoxazolina puede alternativamente (o adicionalmente) administrarse sistémicamente por vía tópica usando una formación transdérmica (es decir, una formulación que pasa a través de la piel). Alternativamente (o adicionalmente), la composición se puede administrar sistémicamente por vía tópica por medio de la mucosa. Las formulaciones típicas para administración transdérmica y mucosal incluyen, por ejemplo, unción dorsal continua, unción dorsal puntual, baños parasiticidas, mousses, champús, polvos, geles, hidrogeles, lociones, disoluciones, cremas, pomadas, polvos de uso externo, apósitos, espumas, películas, parches cutáneos, bandas para extremidades, collares, marcas auriculares, obleas, esponjas, fibras, vendas y microemulsiones. Los métodos de unción dorsal continua y unción dorsal puntual, por ejemplo, comprender aplicar la composición de isoxazolina en un punto específico de la piel o pelo, tal como sobre el cuello o la columna vertebral del animal. Esto se puede conseguir, por ejemplo, por medio de aplicación de un hisopo o gota de la formulación de unción dorsal continua o unción dorsal puntual a un área relativamente pequeña de la piel o pelo del animal receptor (es decir, generalmente no mayor de aproximadamente un 10 % de la piel o pelo del receptor animal). En algunas realizaciones, se difunde la isoxazolina desde el punto de aplicación hasta áreas amplias del pelo debido a la naturaleza difusora de los componentes de la formulación y a los movimientos del animal mientras, en paralelo, se produce la absorción a través de la piel y la distribución por medio de los tejidos y/o fluidos del receptor animal.

La composición de isoxazolina alternativamente (o adicionalmente) puede administrarse de forma sistémica por vía parenteral, tal como por inyección intramuscular, inyección intravenosa, inyección subcutánea, implante (por ejemplo, implante subcutáneo) infusión, bolo, etc. En algunas de tales realizaciones, la forma de dosificación parental proporciona al animal receptor de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 200 mg/kg de peso corporal de la isoxazolina.

Otros modos de administración contemplados incluyen, por ejemplo, rectal, vaginal y a través de la inhalación (por ejemplo, a través de una bruma o un aerosol).

IV. Composiciones Farmacéuticas

Esta invención también se dirige a composiciones farmacéuticas (o medicamentos) que comprenden la isoxazolina de **Fórmula (11-1)**, sal de isoxazolina, solvato de la isoxazolina o sal. Las composiciones también pueden comprender (y generalmente comprenderán) uno o más excipientes aceptables farmacéuticamente.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden fabricar, por ejemplo, por medio de procesos conocidos en la materia. Estos procesos incluyen, por ejemplo, varios procesos conocidos de mezcla, disolución, granulado, emulsión, encapsulado, atrapamiento y liofilización. La formulación óptima depende de, por ejemplo, la ruta de administración.

Por ejemplo, las formas de dosificación sólidas se pueden preparar, por ejemplo, mezclando estrecha y uniformemente la isoxazolina con cargas, aglutinantes, lubricantes, sustancias de deslizamiento, desintegrantes, agentes aromatizantes (por ejemplo, edulcorantes), tampones, conservantes, colorantes de calidad farmacéutica o pigmentos, y agentes de liberación controlada.

Las formas de dosificación orales distintas de las sólidas se pueden preparar mezclando la isoxazolina con, por ejemplo, uno o más disolventes, agentes potenciadores de la viscosidad, tensioactivos, conservantes, estabilizantes, resinas, cargas, aglutinantes, lubricantes, sustancias de deslizamiento, desintegrantes, co-disolventes, edulcorantes, aromatizantes, agentes perfumantes, tampones, agentes de suspensión y colorantes o pigmentos de calidad

farmacéutica.

Los aglutinantes contemplados incluyen, por ejemplo, gelatina, goma arábica y carboximetil celulosa.

- 5 Los lubricantes contemplados incluyen, por ejemplo, estearato de magnesio, ácido esteárico y talco.

Desintegrantes contemplados incluyen, por ejemplo, almidón de maíz, ácido alginico, carboximetilcelulosa de sodio y croscarmelosa de sodio.

- 10 Tampones contemplados incluyen, por ejemplo, citrato de sodio, y bicarbonato y carbonato de magnesio y de calcio.

Disolventes contemplados incluyen, por ejemplo, agua, petróleo, aceites animales, aceites vegetales, aceite mineral y aceite sintético. También se pueden incluir glicoles o disolución salina fisiológica (por ejemplo, etilenglicol, propilenglicol, o polietilenglicol). Preferentemente, el disolvente tiene propiedades químicas suficientes y cantidad para mantener la isoxazolina solubilizada a temperaturas en las cuales se almacena y se usa la composición.

- 15

Los agentes de mejora de la viscosidad contemplados incluyen, por ejemplo, polietileno, metilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, alginato de sodio, carbómero, povidona, goma arábica, goma guar, goma xantana, tragacanto, metilcelulosa, carbómero, goma xantana, goma guar, povidona, carboximetilcelulosa de sodio, silicato de aluminio y magnesio, polímeros de carboxivinilo, carragenina, hidroxietil celulosa, laponita, sales solubles en agua de éteres de celulosa, gomas naturales, silicato de aluminio y magnesio coloidal o sílice finamente dividida, homopolímeros de ácido acrílico reticulado con un éter de alquilo de pentaeritritol o un éter de alquilo de sacarosa, y carbómeros.

- 20

- 25 Tensioactivos contemplados incluyen, por ejemplo, ésteres de ácido graso de polioxietilensorbitán; éteres de monoalquilo de polioxietileno; monoésteres de sacarosa; ésteres de lanolina y éteres; sales de sulfato de alquilo; y sales de sodio, potasio y amonio de ácidos grasos.

Conservantes contemplados incluyen, por ejemplo, fenol, ésteres de alquilo de ácido parahidroxibenzoico (por ejemplo, *p*-hidroxibenzoato de metilo (o "metilparabeno") y *p*-hidroxibenzoato de propilo (o "propilparabeno"), ácido sórbico, o ácido *o*-fenil-fenol benzoico y sus sales, clorobutanol, alcohol bencílico, timerosal, acetato fenilmercúrico y nitrato, nitromersol, cloruro de benzalconio y cloruro de cetilpiridinio.

- 30

Los estabilizadores contemplados incluyen, por ejemplo, agentes quelantes y antioxidantes.

- 35

Las formas de dosificación sólidas pueden también comprender, por ejemplo, uno o más excipientes para controlar la liberación de la isoxazolina. Por ejemplo, se contempla que la isoxazolina se puede difundir en, por ejemplo, hidroxipropilmetil celulosa. Algunas formas de dosificación orales (por ejemplo, comprimidos y píldoras) también pueden prepararse con recubrimientos entéricos.

- 40

La administración tópica se puede conseguir usando, por ejemplo, una disolución concentrada, suspensión (acuosa o no acuosa), emulsión (agua en aceite o aceite en agua), o microemulsión que comprenda una isoxazolina disuelta, suspendida, o sometida a emulsión en un vehículo líquido aceptable farmacéuticamente. En dichas realizaciones, opcionalmente y generalmente puede estar presente un inhibidor de cristalización.

- 45

Cuando se usa una formulación líquida por vía tópica sobre la piel, se puede administrar, por ejemplo, en unción dorsal continua, difusión, frotamiento, atomización, pulverización, inmersión, baño o lavado. Se puede verter o atomizar una formulación para unción dorsal continua o para unción dorsal puntual, por ejemplo, sobre un punto limitado de la piel (normalmente no mayor que aproximadamente un 10 % de la piel). En algunas de dichas realizaciones, la formulación permite o facilita que la isoxazolina penetre en la piel y actúe sobre otras partes corporales (por ejemplo, el cuerpo entero). Dicha formulación de unción dorsal continua o unción dorsal puntual se puede preparar por medio de disolución, suspensión o emulsión de la isoxazolina en un disolvente o mezcla de disolventes adaptada para la piel. También se pueden incluir otros excipientes, tal como, por ejemplo, un tensioactivo, colorante, antioxidante, estabilizador, adhesivo, etc. Los disolventes contemplados incluyen, por ejemplo, agua, alanol, glicol, polietilenglicol, polipropilenglicol, glicerina, alcohol bencílico, feniletanol, fenoxietanol, acetato de etilo, acetato de butilo, benzoato de bencilo, éter monometílico de dipropilenglicol, éter monobutílico de dietilenglicol, acetona, etilmetil cetona, hidrocarburos alifáticos y/o aromáticos, aceite vegetal o sintético, DMF, parafina líquida, silicona, dimetilacetamida, N-metilpirrolidona, o 2,2-dimetil-4-oxi-metilen-1,3-dioxolano.

- 50

- 55

- 60 En algunas realizaciones, una formulación tópica (en particular una formulación para unción dorsal continua o unción dorsal puntual) comprende un vehículo que favorece la absorción o penetración de la isoxazolina a través de la piel al interior del torrente sanguíneo, otros fluidos corporales (linfa) y/o un tejido corporal (tejido graso). Ejemplos contemplados de mejoradores de penetración dérmica incluyen, por ejemplo, dimetilsulfóxido, miristato de isopropilo, pelargonato de dipropilenglicol, aceite de silicona, ésteres alifáticos, triglicéridos y alcoholes grasos.

- 65

Estas formulaciones tópicas también pueden comprender (o alternativamente), por ejemplo, uno o más agentes de

difusión. Estas sustancias actúan como vehículos que contribuyen a la distribución de un principio activo en la piel o pelo del receptor animal. Pueden incluir, por ejemplo, miristato de isopropilo, pelargonato de dipropilenglicol, aceites de silicona, ésteres de ácido graso, triglicéridos y/o alcoholes grasos. Varias combinaciones de disolvente/aceite de difusión también son apropiadas, tales como, por ejemplo, disoluciones oleosas, disoluciones alcohólicas y isopropanólicas (por ejemplo, disoluciones de 2-octil dodecanol o alcohol oleílico), disoluciones de ésteres de ácidos monocarboxílicos (por ejemplo, miristato de isopropilo, palmitato de isopropilo, éster oxálico de ácido láurico, éster oleílico de ácido oleico, éster decílico de ácido oleico, laurato de hexilo, oleato de oleilo, oleato de decilo y ésteres de ácido caproico de alcoholes grasos saturados que tienen una cadena de carbono de 12 a 18 átomos), disoluciones de ésteres de ácidos dicarboxílicos (por ejemplo, ftalato de dibutilo, isoftalato de diisopropilo, éster diisopropílico de ácido adípico, y adipato de di-n-butilo), o disoluciones de ésteres de ácidos alifáticos (por ejemplo, glicoles). Cuando la formulación comprende un agente de difusión, también puede resultar ventajoso incluir un dispersante, tal como, por ejemplo, pirrolidin-2-ona, N-alquilpirrolidin-2-ona, acetona, polietilenglicol o uno de sus éteres o ésteres, propilenglicol o triglicéridos sintéticos.

Cuando se formulan, por ejemplo, en una pomada, se contempla que la isoxazolina se pueda mezclar con, por ejemplo, bien una base parafínica o una base de pomada miscible con agua. Cuando se forma como una crema, se contempla que la isoxazolina se pueda formular con, por ejemplo, una base de crema de aceite en agua. En algunos casos, la fase acuosa de la base de crema incluye, por ejemplo, al menos aproximadamente un 30 % (peso/peso) de un alcohol polihídrico, tal como propilenglicol, butan-1,3-diol, manitol, sorbitol, glicerol, polietilenglicol o una de sus mezclas.

Las preparaciones inyectables pueden formularse de acuerdo con, por ejemplo, la técnica conocida usando disolventes, agentes solubilizantes, agentes protectores, agentes dispersantes, agentes humectantes y/o agentes de suspensión adecuados. Los materiales vehículo contemplados incluyen, por ejemplo, agua, etanol, butanol, alcohol bencílico, glicerina, 1,3-butanodiol, solución de Ringer, solución de cloruro de sodio isotónica, aceites fijados blandos (por ejemplo, mono- o diglicéridos sintéticos), aceite vegetal (por ejemplo, aceite de maíz), dextrosa, manitol, ácidos grasos (por ejemplo, ácido oleico), dimetil acetamida, tensioactivos (por ejemplo, detergentes iónicos y no iónicos), N-metilpirrolidona, propilenglicol y/o polietilenglicoles (por ejemplo, PEG 400). Los agentes solubilizantes contemplados incluyen, por ejemplo, polivinilpirrolidona, aceite de ricino polioxiethylado, éster de sorbitán polioxiethylado y similares. Los agentes protectores contemplados incluyen, por ejemplo, alcohol bencílico, triclorobutanol, éster de ácido *p*-hidroxibenzoico, *n*-butanol y similares.

En algunas realizaciones, una formulación parental, por ejemplo, se prepara a partir de polvos o gránulos estériles que tienen uno o más de los materiales vehículos analizados anteriormente para otras formulaciones. La isoxazolina, por ejemplo, se disuelve o se suspende en un líquido que comprende agua, polietilenglicol, propilenglicol, etanol, aceite de maíz, aceite de algodón, aceite de cacahuate, aceite de sésamo, alcohol bencílico, cloruro sódico y/o diversos tampones. El pH generalmente puede ajustarse, si es necesario, con un ácido, base o tampón adecuados.

Para administración rectal, puede usarse un supositorio. El supositorio puede prepararse, por ejemplo, mezclando una isoxazolina con un excipiente no irritante adecuado que es sólido a temperaturas habituales, pero líquido a la temperatura rectal y, por lo tanto, se fundirá en el recto para liberar el fármaco. Los excipientes contemplados incluyen, por ejemplo, tales como manteca de cacao; mono-, di- o triglicéridos sintéticos; ácidos grasos; y/o polietilenglicoles.

Generalmente, se pueden añadir otros ingredientes inertes a la composición según se desee. Para ilustrarlo, se contempla que estos pueden incluir, por ejemplo, lactosa, manitol, sorbitol, carbonato de calcio, carbonato de sodio, fosfato tribásico de calcio, fosfato dibásico de calcio, fosfato de sodio, caolín, azúcar apto para compresión, almidón, sulfato de calcio, dextro o celulosa microcristalina, dióxido de silicio coloidal, almidón, glicolato de almidón de sodio, crospovidona, celulosa microcristalina, tragacanto, hidroxipropilcelulosa, almidón pregelatinizado, povidona, etilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa y metilcelulosa.

Una discusión general relativa a la formulación de fármacos y varios excipientes puede encontrarse en, por ejemplo, Gennaro, A.R., et al., eds. Remington: The Science and Practice of Pharmacy (Lippincott Williams & Wilkins, 20a Ed., 2000). Se puede encontrar otra discusión general respecto a la formulación de fármacos y diferentes excipientes en, por ejemplo, Liberman, H.A., et. al., Pharmaceutical Dossage Forms (Marcel Decker, Nueva York, N.Y., 1980).

La concentración de la isoxazolina de **Fórmula (11-1)** (o cualquier sal de la isoxazolina, solvato de la isoxazolina o sal, o profármaco de la isoxazolina) en la composición puede variar ampliamente dependiendo de, por ejemplo, el modo de administración. En general, la concentración es de aproximadamente 1 a aproximadamente un 70 % (en peso). En algunas de dichas realizaciones, por ejemplo, la concentración es de 1 a aproximadamente un 50 % (en peso), o desde aproximadamente un 10 a aproximadamente un 50 % (en peso). En otras realizaciones, la concentración es desde aproximadamente 35 a aproximadamente 65 % (en peso) desde aproximadamente 40 hasta aproximadamente 60 % (en peso), desde aproximadamente un 45 a aproximadamente un 55 % (en peso) desde aproximadamente 50 % (en peso).

V. Terapias de Combinación

Los métodos de esta invención son terapias de combinación donde la isoxazolina se administra en combinación con

uno o más principios activos diferentes. Los otros principio(s) activo(s) son uno o más compuestos que no son isoxazolininas. El otro ingrediente(s) activo(s) puede(n) dirigirse a los mismos patógenos o a patógenos y enfermedades diferentes.

- 5 Los antihelmínticos se administran en combinación con la isoxazolina. Los antihelmínticos incluyen, por ejemplo, avermectinas (por ejemplo, ivermectina, moxidectina y milbemicina).

La isoxazolina se administra en combinación con (y, en algunos casos, en la misma composición con) uno o más parasiticidas endectocidas de lactona macrocíclica. Estos parasiticidas tienden a ser útiles frente, por ejemplo, un
10 amplio espectro de endoparásitos y ectoparásitos en mamíferos.

Un parasiticida de lactona macrocíclica particularmente contemplado es ivermectina. Ivermectina es un derivado semi-sintético de avermectina, y generalmente se produce en forma de una mezcla de al menos un 80 % de 22,23-dihidroavermectina B_{1a} y menos de un 20 % de 22,23-dihidroavermectina B_{1b}. Ivermectina se divulga en la patente de EE.UU. 4.199.569. Se ha usado ivermectina como agente antiparasitario para tratar varias enfermedades
15 parasitarias desde mediados de los años 80.

Otros parasiticidas de lactona macrocíclica incluyen, por ejemplo:

- 20 A. **Abamectina**. Este compuesto, por ejemplo, se identifica como avermectina B_{1a}/B_{1b} en la patente de EE.UU. 4.310.519. Abamectina contiene al menos un 80 % de avermectina B_{1a}, y no más de un 20 % de avermectina B_{1b}.
B. **Doramectina**. Este compuesto se conoce como 25-ciclohexil-avermectina B₁. Su estructura y preparación se comentan en, por ejemplo, la patente de EE.UU. 5.089.480.
C. **Moxidectina**. Este compuesto se comenta en, por ejemplo, la patente de EE.UU. 4.916.154.
25 D. **Selamectina**. Este compuesto también se conoce como 25-ciclohexil-25-de(1-metilpropil)-5-desoxi-22,23-dihidro-5-(hidroxiimino)-avermectina B₁ monosacárido.
E. **Milbemicina**. Este compuesto también se conoce como B41. Se aísla a partir del caldo de fermentación de una cepa productora de Milbemicina de *Streptomyces*. El microorganismo, las condiciones de fermentación, y los procedimientos de aislamiento se comentan, por ejemplo, en las patentes de EE.UU. 3.950.360 y 3.984.564.
30 F. **Emamectina**. Este compuesto también se conoce como 4"-desoxi-4"-epimetilaminoavermectina B₁. Su preparación se comenta, por ejemplo, en las patentes de EE.UU. Nos. 5.288.710 y 5.399.717. Es una mezcla de dos homólogos, 4"-desoxi-4"-epi-metilaminoavermectina B_{1a} y 4"-desoxi-4"-epi-metilaminoavermectina B_{1b}. Las sales de emamectina se usan comúnmente. Ejemplos no limitantes de dichas sales son los comentados en la patente de EE.UU. 5.288.710, que incluyen sales derivadas de ácido benzoico, ácido benzoico sustituido, ácido bencenosulfónico, ácido cítrico, ácido fosfórico, ácido tartárico, y ácido maleico. Una sal particularmente
35 contemplada es benzoato de emamectina.
G. **Eprinomectina**. Este compuesto se conoce como 4"-epi-acetilamino-4"-desoxi avermectina B₁. Se desarrolló para su uso en todas las clases de ganado y grupos de edad. Fue la primera avermectina en mostrar generalmente un amplio espectro de actividad frente a endoparásitos y ectoparásitos, al tiempo que dejaba residuos mínimos en
40 carne y leche. Generalmente, tiene la ventaja adicional de ser altamente potente cuando se administra por vía tópica.

En las terapias de combinación contempladas, se puede administrar la isoxazolina de **Fórmula (11-1)** antes, simultáneamente y/o después de otro(s) principio(s) activo(s). Además, se puede administrar la isoxazolina en la
45 misma composición que el otro principio(s) activo(s) y/o en composiciones separadas del otro principio(s) activo(s). Además, la isoxazolina y el otro principio(s) activo(s) se pueden administrar por medio de la misma ruta de administración y/o por medio de rutas de administración diferentes.

Cuando se administra la isoxazolina en una terapia de combinación, la relación en peso de los principios activos puede variar ampliamente. Los factores que influyen esta relación incluyen, por ejemplo, la isoxazolina particular; la identidad del otro(s) principio(s) activo(s) a administrar en la terapia de combinación; el modo(s) de administración de la isoxazolina y del otro principio(s) activo(s); la enfermedad diana y el patógeno; el tipo (por ejemplo, especie y variedad), edad, tamaño, sexo, dieta, actividad y enfermedad del receptor de interés; y consideraciones farmacológicas, tales como la actividad, eficacia, perfiles farmacocinético y toxicológico de la isoxazolina y del otro(s)
50 principio(s) activo(s). La relación en peso de la isoxazolina con respecto al otro(s) principio(s) activo(s) es de aproximadamente 1:3000 a aproximadamente 3000:1. En algunos de dichos casos, la relación en peso es de aproximadamente 1:300 a aproximadamente 300:1. En otros de los citados casos, la relación en peso es de aproximadamente 1:30 y aproximadamente 30:1.

Además de los otros principios activos, se contempla que la isoxazolina pueda administrarse con uno o más de otros compuestos que afecten beneficiosamente (por ejemplo, mejoren o prolonguen) a la actividad (u otra característica, tal como la seguridad) de la isoxazolina. Por ejemplo, se contempla que se pueda administrar la isoxazolina con uno o más agentes sinérgicos, tal como, por ejemplo butóxido de piperonilo (PBO) y fosfato de trifenilo (TPP). Otros agentes sinérgicos incluyen, por ejemplo, N-(2-etilhexil)-8,9,10-trinorborn-5-en-2,3-dicarboxamida (también conocida como "ENT 8184" o "MGK 264") y Verbutin (también conocido como "MB-599"). Se puede encontrar una discusión
65 relativa a los agentes sinérgicos insecticidas en, por ejemplo, The Pesticide Manual, 13ª edición, citado anteriormente.

EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos son únicamente ilustrativos y no de acuerdo con la invención. Los números de compuesto referenciados en estos ejemplos se refieren a los números de compuestos de las estructuras de la memoria descriptiva detallada anterior.

Ejemplo 1: Eficacia de los Compuestos 10-1 y 11-1 frente a pulgas de gato (*Ctenocephalides felis*)

Se suministraron pulgas adultas (20-30) en membranas artificiales con sangre marcada con el Compuesto 10-1, el Compuesto 11-1 o un control positivo (fipronilo) a una concentración de 100, 10 o 1 ppm. Se evaluó la eficacia de las pulgas tras 48 h de suministro continuada por medio de comparación del número de pulgas muertas y dañadas con el número de pulgas suministradas. La eficacia frente a pulgas fue de un 100 % para el Compuesto 10-1, el Compuesto 11-1 y fipronilo a 100, 10 y 1 ppm.

Ejemplo 2: Estudios animales modelo para el Compuesto 11-1

El objetivo de estos estudios fue evaluar la eficacia del Compuesto 11-1 frente a varios parásitos. Los parásitos fueron:

Artrópodos	Especie	Familia	Nombre común
Insecto	<i>Ctenocephalides felis</i>	Pulícidos	Pulga de gato
Insecto	<i>Cimex lectularius</i>	Cimícidos	Chinche
Ácaro	<i>Ornithodoros moubata</i>	Argásidos	Garrapata de pollo
Ácaro	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Ixódidos	Garrapata de perro marrón
Ácaro	<i>Myocoptes musculus</i>	Miocóptidos	Ácaro de pelo de roedor

A. Eficacia frente a pulgas de ratones

Se dividieron los ratones en grupos de tres, y se trataron por vía tópica con 100 ppm de peso corporal, por vía oral con 10 mg/kg de peso corporal o por vía subcutánea con 10 mg/kg de peso corporal del Compuesto 11-1, fipronilo (control positivo) o nada (control negativo). Estos ratones se sedaron y se infestaron con pulgas adultas (*C. felis*) 1, 3, 6 y 24 h después del tratamiento. Se recuperaron las pulgas de los ratones tras aproximadamente 30 minutos desde el suministro. Se llevó a cabo la evaluación de la inhibición de las pulgas (% de pulgas muertas y dañadas) 1 y 24 h después de cada infestación. Los resultados se muestran en la **Tabla 1**.

Tabla 1

Resultados de la Evaluación del Experimento de Eficacia <i>in vivo</i> del Compuesto 11-1 frente a Pulgas de Ratones				
	Tiempo de Infestación Tras el Tratamiento			
	1 h	3 h	6 h	24 h
Inhibición de pulgas usando administración oral del Compuesto 11-1 1 h después de la infestación	43,3 %	44,3 %	17,7 %	37,7 %
Inhibición de pulgas usando administración subcutánea del Compuesto 11-1 1 h después de la infestación	7,7 %	31,0 %	21,0 %	100 %
Inhibición de pulgas usando administración tópica del Compuesto 11-1 1 h después de la infestación	0 %	0 %	0 %	2 %
Inhibición usando administración oral del Compuesto 11-1 24 h después de la infestación	67,7 %	48,7 %	26,7 %	82,0 %
Inhibición usando administración subcutánea del Compuesto 11-1 24 h después de la infestación	40,0 %	42,3 %	36,7 %	100 %
Inhibición usando administración tópica del Compuesto 11-1 24 h después de la infestación	97,7 %	99,0 %	81,0 %	93,3 %
Inhibición usando administración oral de fipronilo 1 h después de la infestación	0-2 %	0-2 %	0-2 %	0-2 %
Inhibición usando administración subcutánea de fipronilo 1 h después de la infestación	0-2 %	0-2 %	0-2 %	0-2 %
Inhibición usando administración tópica de fipronilo 1 h después de la infestación	0-2 %	0-2 %	0-2 %	0-2 %
Inhibición usando administración oral de fipronilo 24 h después de la infestación	3,3 %	12,3 %	6,7 %	7,7 %
Inhibición usando administración subcutánea de fipronilo 24 h después de la infestación	1,0 %	15,7 %	97,7 %	94,3 %
Inhibición usando administración tópica de fipronilo 24 h después de la infestación	100 %	94,3 %	100 %	76,7 %

(continuación)

Resultados de la Evaluación del Experimento de Eficacia <i>in vivo</i> del Compuesto 11-1 frente a Pulgas de Ratones				
	Tiempo de Infestación Tras el Tratamiento			
	1 h	1 h	1 h	1 h
Inhibición de control negativo 1 h después de la infestación	No detectado	No detectado	No detectado	No detectado
Inhibición del control negativo 24 h después de la infestación	No detectado	No detectado	No detectado	No detectado

En general, con el Compuesto 11-1, únicamente se encontraron unas pocas pulgas dañadas con respecto a las pulgas muertas. Con fipronilo, sin embargo, se encontraron pulgas muertas y pulgas dañadas generalmente en la misma cantidad. No se observaron efectos secundarios con el Compuesto 11-1 o fipronilo durante el presente experimento.

B. Eficacia frente a ácaros sobre ratones

Todos los ratones usados en el estudio tuvieron una infestación presente por ácaros con *M. musculus* que consistió en todas las etapas del parásito con al menos una tasa de infestación media ("++"). Se dividieron los ratones en grupos de tres, y se trataron de forma tópica con 100 ppm de peso corporal, por vía oral con 100 mg/kg de peso corporal, o por vía subcutánea con 10 mg/kg de peso corporal del Compuesto 11-1, fipronilo (control positivo) y no se trataron (control negativo). Se repitió este tratamiento posteriormente 7 días después. Se evaluó la tasa de infestación por ratón ("+" = tasa de infestación baja, "++" = tasa de infestación media, "+++" = tasa de infestación elevada) repetidamente los días 1, 6, 9, 13 y 23. Se definió la eficacia como la inhibición de la tasa de infestación de ácaros sobre ratones tratados con respecto al grupo de control negativo. La **Tabla 2** muestra los resultados.

Tabla 2

Resultados de la Evaluación del Experimento Eficacia <i>in vivo</i> del Compuesto 11-1 frente a Ácaros en Ratones						
	Día 0	Día 1	Día 6	Día 9	Día 13	Día 23
Infestación tras la administración oral del Compuesto 11-1	++ a +++	+ a ++ (ácaros restantes ligeramente dañados)	++	2 ratones: no detectado	no detectado	no detectado
				1 ratón: + (ácaros restantes dañados)		
Infestación tras la administración subcutánea del Compuesto 11-1	++ a +++	+ a ++ (ácaros restantes ligeramente dañados)	++	no detectado	no detectado	no detectado
Infestación tras la administración tópica del Compuesto 11-1	++ a +++	+ (ácaros restantes gravemente dañados)	2 ratones: no detectado	no detectado	no detectado	no detectado
			1 ratón: + (ácaros restantes dañados)			
Infestación tras la administración oral de fipronilo	++ a +++	+++	++ a +++	++ a +++	+	+
Infestación tras la administración subcutánea de fipronilo	++ a +++	+++	2 ratones: + a ++	2 ratones: + a ++	+	+ a ++
			1 ratón: +++	1 ratón: +++		
Infestación tras la administración tópica de fipronilo	++ a +++	2 ratones: + a ++	+ a ++	2 ratones: no detectado	no detectado	no detectado
		1 ratón: +++ (todos los ácaros dañados)		1 ratón: + (ácaros restantes dañados)		
Infestación con el control negativo	++ a +++	++ a +++	++ a +++	++ a +++	++ a +++	++ a +++

No se observaron efectos secundarios con el Compuesto 11-1 o fipronilo durante el estudio de eficacia de ácaros.

C. Eficacia contra garrapatas blandas (Argásidos) y chinches⁹ en cobayas

Se trataron seis cobayas por vía oral, subcutánea o intraperitoneal con 10 mg/kg de peso corporal del Compuesto 11-1 o fipronilo (control positivo). Las cobayas se co-infestaron localmente con pulgas blandas juveniles (*O. moubata*) y chinches (*C. lectularius*) una vez antes del tratamiento y a diferentes puntos de tiempo después del tratamiento entre los días 2 y 50. Se recogieron diez garrapatas/chinches hinchados para evaluar el porcentaje de individuos muertos por especie 24 h después de cada infestación.

Para las cobayas tratadas con Compuesto 11-1, las garrapatas y las chinches murieron en 1 a 5 h después de la infestación hasta el Día 29 y en 8 a 24 h después del día 29. Para las cobayas tratadas con fipronilo, las garrapatas y las chinches murieron en 1 a 7 h después de la infestación hasta el Día 29 y en 8 a 24 h después del día 29. Los resultados de eficacia con respecto a las garrapatas se muestran en la **Tabla 3**.

Tabla 3

Resultados para el experimento que evalúa la eficacia <i>in vivo</i> del Compuesto 11-1 contra garrapatas blandas (<i>O. moubata</i>) en cobayas		
Animal	Tratamiento	Observaciones
1	Administración oral de Compuesto 11-1	Se observó un 100 % de eficacia hasta el Día 31.
2	Administración subcutánea de Compuesto 11-1	Se observó un 100 % de eficacia hasta el Día 31. Se observó un 70 % de eficacia hasta el Día 33. No se detectó eficacia después del Día 33.
3	Administración intraperitoneal de Compuesto 11-1	Se observó un 100 % de eficacia hasta el Día 31. No se detectó eficacia después del Día 31.
4	Administración oral de fipronilo	Se observó un 100 % de eficacia hasta el Día 50.
5	Administración subcutánea de fipronilo	Se observó un 100 % de eficacia hasta el Día 50.
6	Administración intraperitoneal de fipronilo	Se observó un 100 % de eficacia hasta el Día 50.

Los resultados de eficacia con respecto a las chinches se muestran en la **Tabla 4**.

Tabla 4

Resultados para el experimento que evalúa la eficacia <i>in vivo</i> del Compuesto 11-1 contra chinches (<i>C. lectularius</i>) en cobayas		
Animal	Tratamiento	Observaciones
1	Administración oral de Compuesto 11-1	Se observó un 100 % de eficacia hasta el Día 31.
2	Administración subcutánea de Compuesto 11-1	Se observó un 100 % de eficacia hasta el Día 35. Se observó un 90 % de eficacia hasta el Día 40. Y se observó un 20 % de eficacia hasta el Día 42. No se detectó eficacia después del Día 42.
3	Administración intraperitoneal de Compuesto 11-1	Se observó un 100 % de eficacia hasta el Día 33. Y se observó un 90 % de eficacia hasta el Día 35. No se detectó eficacia después del Día 35.
4	Administración oral de fipronilo	Se observó un 100 % de eficacia hasta el Día 18. Se observó del 80 al 100 % de eficacia hasta el Día 33. Y no se detectó eficacia en el Día 46.
5	Administración subcutánea de fipronilo	Se observó del 90 al 100 % de eficacia hasta el Día 16. Se observó del 80 al 100 % de eficacia hasta el Día 35. Se observó un 50 % de eficacia el Día 37. Y se detectó de cero al 20 % de eficacia después del Día 37.

(continuación)

Resultados para el experimento que evalúa la eficacia <i>in vivo</i> del Compuesto 11-1 contra chinches (<i>C. lectularius</i>) en cobayas		
Animal	Tratamiento	Observaciones
6	Administración intraperitoneal de fipronilo	Se observó un 100 % de eficacia hasta el Día 18. Se observó del 70 al 100 % de eficacia hasta el Día 31. Y no se detectó eficacia después del Día 48.

No se observaron efectos secundarios con el Compuesto 11-1 o fipronilo durante este estudio. Aunque la cobaya tratada por vía oral con Compuesto 11-1 (es decir, Animal n.º 1) murió después del Día 31, su muerte no tuvo síntomas clínicos y no se consideró estar relacionado con el tratamiento, dado que se produjo mucho después del tratamiento.

D. Eficacia contra garrapatas duras (*Ixódidos*) en cobayas

Se dividieron las cobayas en grupos de tres. Se sometió cada grupo a uno de los siguientes tratamientos bien con el Compuesto 11-1, fipronilo (control positivo) o ninguno (control negativo):

Estudio 1:

1. 100 ppm de peso corporal de administración tópica por inmersión animal
2. 10 mg/kg de peso corporal de administración oral
3. 10 mg/kg de peso corporal de administración subcutánea
4. Sin tratamiento (control negativo)

Estudio 2:

1. 25 ppm de peso corporal de administración tópica por inmersión animal
2. 2,5 mg/kg de peso corporal de administración oral
3. 2,5 mg/kg de peso corporal de administración subcutánea
4. Sin tratamiento (control negativo)

Un día antes del tratamiento, se infestaron todas las cobayas con 100 garrapatas duras juveniles vitales ("ninfas") (garrapatas de perro marrones, *R. sanguineus*). Se contaron las ninfas hinchadas desprendidas (eN) del Día 4 al Día 8 para calcular la eficacia de los tratamientos de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\text{Eficacia sobre ninfas hinchadas (\%)} = \frac{(\sum \text{eN grupo control} - \sum \text{eN grupo tratamiento})}{\sum \text{eN grupo control}} \times 100$$

Además, se evaluaron las garrapatas recogidas para la muda a la siguiente etapa.

En el primer estudio, se recogieron 32 ninfas hinchadas de *R. sanguineus* de los animales del grupo de control negativo no tratado. Y en el segundo estudio, se recogieron 75 ninfas hinchadas de *R. sanguineus* de los animales del grupo de control negativo no tratado. Se observó la muda a la siguiente etapa para los grupos de control negativos en ambos estudios. Por el contrario, no se recogieron ninfas de ninguno de los grupos tratados con el Compuesto 11-1 o fipronilo en ningún estudio. De este modo, la inhibición de las ninfas tanto para el Compuesto de 11-1 como para fipronilo fue de un 100 %. No se observaron efectos secundarios con el Compuesto 11-1 o con fipronilo durante ningún estudio.

Ejemplo 3. Eficacia de diversas isoxazolininas contra pulgas de gatos (*Ctenocephalides felis*) en ratones.

En este experimento, los ratones se asignaron aleatoriamente a un grupo de tratamiento o un grupo de control negativo (no tratado). Cada grupo consistió en tres ratones. Los ratones en los grupos de tratamiento se administraron por vía oral con 20 mg/kg de peso corporal de diversas isoxazolininas disueltas en DMF al 7 %-premezcla y agua purificada al 93 % (*aqua ad ijectabilia*). El volumen de aplicación de estos tratamientos fue 0,01 ml/g de peso corporal. Una hora después del tratamiento, cada ratón se sedó y se infestó generalmente (cuerpo completo) con 30 pulgas adultas vitales (*C. felis*). Para lograr esto, los ratones sedados se colocaron en un tarro de infestación y las pulgas se colocaron directamente sobre el pelaje. Las evaluaciones para la inhibición y la mortalidad se llevaron a cabo 1 h, 24 h y 48 h después de cada infestación. La eficacia se calculó como el porcentaje de pulgas inhibidas en los grupos de

tratamiento con respecto al grupo de control negativo.

$$\text{Eficacia de las pulgas (\%)} = \frac{(Mc - Mt)}{Mc} \times 100$$

- 5 Los resultados de eficacia se muestran en la **Tabla 5**. Todos los tratamientos mostrados en la **Tabla 5** fueron bien tolerados por los ratones.

Tabla 5

Resultados para el experimento que evalúa la eficacia <i>in vivo</i> de diversas isoxazolinas contra pulgas en ratones					
Tiempo después de la infestación	Compuestos que muestran inhibición <10 %	Compuestos que muestran 10 % ≤ inhibición < 30 %	Compuestos que muestran 30 % ≤ inhibición < 60 %	Compuestos que muestran 60 % ≤ inhibición < 90 %	Compuestos que muestran inhibición ≥ 90 %
1 h	5-15 (0 %), 5-19 (0 %), 5-52 (0 %), 5-53 (0 %), 5-47 (0 %), 5-54 (0 %), 5-16 (0 %), 5-48 (0 %), 5-21 (0 %), 5-22 (0 %), 5-23 (0 %), 5-49 (0 %), 5-24 (0 %), 5-25 (0 %), 5-55 (0 %), 5-29 (0 %), 5-26 (0 %), 5-43 (0 %), 5-44 (0 %), 5-51 (0 %), 5-56 (0 %), 5-45 (0 %), 5-17 (0 %), 5-46 (0 %), 5-31 (0 %), 5-18 (0 %), 5-32 (0 %), 5-57 (0 %), 5-33 (0 %), 5-35 (0 %), 5-40 (0 %), 5-41 (0 %), 5-28 (1,1 %), 530 (2,2 %), 5-34 (2,3 %), 5-38 (2,3 %), X-1 (4,3 %), 5-20 (4,4 %), 5-14 (4,4 %), 5-42 (5,5 %), 5-37 (7,7 %), & 11-1R (0 %)	5-62 (10 %), 5-58 (11,1 %), 5-27 (12,2 %), 539 (13,3 %), 5-13 (16,7 %), 5-59 (18,8 %), 5-61 (21,1 %), 5-60 (26,6 %), & 5-50 (27,7 %)	5-63 (30 %), 5-36 (45,7 %), 5-64 (50 %), & 5-65 (58,8 %)	10-1 (63,3 %), 5-68 (75,5 %), 5-66 (77,8 %), 11-1 (78,9 %), & 5-67 (80 %)	14-1 (97,8 %) & 17-1 (100 %)

(Continuación)

Resultados para el experimento que evalúa la eficacia <i>in vivo</i> de diversas isoxazolinas contra pulgas en ratones					
Tiempo después de la infestación	Compuestos que muestran inhibición <10 %	Compuestos que muestran 10 % ≤ inhibición < 30 %	Compuestos que muestran 30 % ≤ inhibición < 60 %	Compuestos que muestran 60 % ≤ inhibición < 90 %	Compuestos que muestran inhibición ≥ 90 %
24 h	11-1R (0 %)	5-14 (13,3 %) & 5-13 (18,9 %)	5-15 (31,1 %), 5-17 (36,7 %), 5-16 (46,7 %) & 5-18 (54,4 %)	5-31 (65,6 %), 5-30 (67,8 %), 5-29 (68,9 %), 5-32 (70 %), 5-28 (70 %), 5-27 (72,2 %), 5-21 (75,6 %), 5-25 (75,6 %), 5-44 (75,6 %), 5-26 (77,8 %), 5-62 (81,1 %), 5-53 (82,2 %), 5-22 (82,2 %), 5-24 (84,4 %), 5-46 (85,6 %), 5-40 (85,6 %), 5-57 (86,7 %), 5-23 (87,8 %), & 5-56 (87,8 %)	5-19 (90 %), 5-48 (91,1 %), 5-68 (91,1 %), 5-55 (92,2 %), 5-43 (92,2 %), 5-45 (92,2 %), 5-65 (92,2 %), 5-41 (94,3 %), 5-59 (94,4 %), 5-47 (95,6 %), 5-61 (95,6 %), 5-50 (95,6 %), 5-63 (95,6 %), 10-1 (95,6 %), 5-34 (96,6 %), 5-52 (96,7 %), 5-49 (96,7 %), 5-38 (96,7 %), 5-20 (96,7 %), 5-60 (96,7 %), 11-1 (96,7 %), 5-51 (97,8 %), 5-64 (97,8 %), 5-54 (98,9 %), 5-37 (99 %), 5-39 (99 %), 5-36 (99 %), 5-33 (100 %), 5-35 (100 %), 5-42 (100 %), 5-58 (100 %), 5-66 (100 %), 5-67 (100 %), 17-1 (100 %), 14-1 (100 %), & X-1 (100 %)
48 h	11-1R (0%)	5-13 (18,9 %) & 5-14 (22,2 %)	5-15 (36,7 %), 5-17 (41,1 %), 5-16 (54,4 %), & 5-18 (54,4 %)	5-31 (65,6 %), 5-29 (68,9 %), 5-30 (68,9 %), 5-32 (71,1 %), 5-28 (71,1 %), 5-21 (77,8 %), 5-26 (77,8 %), 5-44 (78,9 %), 5-62 (81,1 %), 5-22 (83,3 %), 5-25 (84,4 %), 5-27 (84,4 %), 5-40 (85,6 %), 5-24 (86,7 %), 5-46 (86,7 %), 5-57 (87,7 %), & 5-56 (88,9 %)	5-53 (91,1 %), 5-48 (91,1 %), 5-43 (92,2 %), 5-55 (93,3 %), 5-45 (93,3 %), 5-65 (93,3 %), 5-19 (94,4 %), 5-23 (94,4 %), 5-41 (95,6 %), 5-59 (95,6 %), 5-68 (95,6 %), 5-34 (96,6 %), 5-52 (96,7 %), 5-47 (96,7 %), 5-60 (96,7 %), 5-38 (97,7 %), 5-49 (97,8 %), 5-51 (97,8 %), 5-20 (97,8 %), 5-61 (97,8 %), 5-64 (97,8 %),

(Continuación)

Resultados para el experimento que evalúa la eficacia <i>in vivo</i> de diversas isoxazolinas contra pulgas en ratones					
Tiempo después de la infestación	Compuestos que muestran inhibición <10 %	Compuestos que muestran 10 % ≤ inhibición < 30 %	Compuestos que muestran 30 % ≤ inhibición < 60 %	Compuestos que muestran 60 % ≤ inhibición < 90 %	Compuestos que muestran inhibición ≥ 90 %
					10-1 (97,8 %), 11-1 (97,8 %), 5-63 (98,9 %), 5-39 (99 %), 5-36 (99 %), 5-54 (100 %), 5-33 (100 %), 5-35 (100 %), 5-42 (100 %), 5-37 (100 %), 5-58 (100 %), 5-50 (100 %), 5-66 (100 %), 5-67 (100 %), 17-1 (100 %), 14-1 (100 %), & X-1 (100 %)

Ejemplo 4. Eficacia de diversas isoxazolinas contra pulgas marrones de perros (*Rhipicephalus sanguineus*) en cobayas.

5

En este experimento, las cobayas se asignaron aleatoriamente a un grupo de tratamiento o un grupo de control negativo (no tratado). Cada grupo consistió en tres cobayas. El día cero, cada cobaya se infestó con 100 ninfas vitales de *R. sanguineus*. El Día 1, las cobayas en los grupos de tratamiento se administraron por vía oral con 10 mg/kg de peso corporal de diversas isoxazolinas disueltas en DMF al 7 %-premezcla y agua purificada al 93 % (*aqua ad ijectabilia*). Se contaron las ninfas hinchadas desprendidas (eN) del Día 4 al Día 8 para calcular la eficacia de los tratamientos de acuerdo con la siguiente fórmula:

10

$$\text{Eficacia sobre ninfas hinchadas (\%)} = \frac{(\sum \text{eN grupo control} - \sum \text{eN grupo tratamiento})}{\sum \text{eN grupo control}} \times 100$$

- 15 Además, se evaluaron las garrapatas recogidas para la muda a la siguiente etapa. Los resultados de eficacia se muestran en la **Tabla 6**. No se observaron efectos secundarios con ninguno de los compuestos probados en la **Tabla 6** durante el estudio.

Tabla 6

Resultados para el experimento que evalúa la eficacia <i>in vivo</i> de diversas isoxazolinas contra pulgas marrones de perro en cobayas	
Compuestos que muestran inhibición <10 %	5-43 (0 %) & 5-45 (0 %)
Compuestos que muestran 10 % ≤ inhibición < 30 %	5-44 (15,6 %), 5-42 (16,5 %), 5-14 (22,4 %), & 5-46 (26,4 %)
Compuestos que muestran 30 % ≤ inhibición < 60 %	5-50 (32,3 %), 5-48 (36,5 %), 5-51 (52,1 %), 5-49 (54,2 %), & 5-47 (58,5 %)
Compuestos que muestran 60 % ≤ inhibición < 90 %	5-57 (71,9 %), 5-56 (76,0 %), 5-53 (76,4 %), 5-60 (78,9 %), 5-65 (79,2 %), 5-63 (85,3 %), & 5-62 (88,5 %)
Compuestos que muestran inhibición ≥ 90 %	5-52 (93,4 %), 5-55 (94,8 %), 5-59 (96,3 %), 5-54 (100 %), 5-58 (100 %), 5-61 (100 %), 5-64 (100 %), 5-68 (100 %), 5-66 (100 %), 5-67 (100 %), 10-1 (100 %), 11-1 (100 %), & 14-1 (100 %)

Ejemplo 5: Eficacia del Compuesto 11-1 contra a pulgas de gato (*C. felis*) y garrapatas de perro marrones (*R. sanguineus*) en perros

- 5 En el Día cero, se trató un grupo de 4 beagles por vía oral con cápsulas de gelatina que contenían 20 mg/kg de peso corporal del Compuesto 11-1. Se trató por vía tópica otro grupo de 4 beagles por medio de lavado con 2 l de una solución que contenía 200 ppm de peso corporal del Compuesto 11-1 disuelto en DMF-premezcla/agua corriente (1:100, basado en volumen). Finalmente, un grupo de 3 beagles se dejó sin tratar como el control negativo. Dos días antes del tratamiento en el Día cero, se infestaron todos los beagles con aproximadamente 80 pulgas adultas no alimentadas (*C. felis*) y aproximadamente 60 garrapatas adultas no alimentadas (*R. sanguineus*). Se evaluó la carga parasitaria de cada beagle en el Día 2 (aproximadamente 48 h después del tratamiento) retirando y contando las pulgas y las garrapatas. Las pulgas y las garrapatas se clasificaron de acuerdo con la vitalidad (pulgas: muertas o vivas; garrapatas: muertas o vivas, e hinchadas o no hinchadas). Se calculó la eficacia a partir del número medio de pulgas y garrapatas vitales en el grupo tratado (Mt) con respecto al número medio de pulgas y garrapatas vitales en el grupo de control negativo (Mc) usando la siguiente fórmula:

$$\text{Eficacia de las pulgas / garrapatas (\%)} = \frac{(Mc - Mt)}{Mc} \times 100$$

- El Compuesto 11-1 exhibió una eficacia de pulgas y garrapatas del 100 % después del tratamiento por vía oral y tópica. No se observaron efectos secundarios durante este estudio.

Ejemplo 6: Estudio de eficacia adicional del Compuesto 11-1 contra pulgas de gato (*C. felis*) y garrapatas de perro marrones (*R. sanguineus*) en perros.

- 25 Se asignaron aleatoriamente beagles a 5 grupos de tratamiento de 4 animales cada uno, y un grupo de control no tratado de 3 animales. Los perros en los grupos de tratamiento se trataron el Día Cero como se muestra en la **Tabla 7**:

Tabla 7

Grupos de tratamiento para el estudio de eficacia del compuesto 11-1 contra pulgas de gato (<i>C. felis</i>) y garrapatas de perro marrones (<i>R. sanguineus</i>) en beagles	
Grupo	Tratamiento
A	1 mg/kg de peso corporal del Compuesto 11-1 en forma de comprimido para administración oral. La composición fue el 13,33 % del Compuesto 11-1; el 3,29 % de lactosa monohidrato (Granulac 200); el 0,01 % de lauril sulfato sódico; el 0,90 % de Povidona 25; el 0,15 % de agua; el 40,98 % de lactosa monohidrato (Flowlac 100); el 33,33 % de almidón de maíz; el 3,00 % de sílice, anhídrido coloidal; el 4,00 % de glicolato de almidón sódico; y el 1,00 % de estearato de magnesio.
B	1 mg/kg de peso corporal del Compuesto 11-1 en forma de una solución inyectable para administración subcutánea. Un ml de la composición contenía 20 mg del Compuesto 11-1; 0,4 ml de dimetil sulfóxido; 0,24 ml de propilenglicol; y lactato de etilo suficiente para llevar el volumen total a 1 ml.
C	1 mg/kg de peso corporal del Compuesto 11-1 en forma de una solución tópica para administración de unción dorsal puntual (la solución incluyó un mejorador de absorción). Un ml de la composición contenía 20 mg del Compuesto 11-1; 0,35 ml de sulfóxido de dimetilo y éter monometílico de dipropilenglicol suficiente para llevar el volumen total a 1 ml.
D	1 mg/kg de peso corporal del Compuesto 11-1 en forma de una solución tópica para administración de unción dorsal puntual (la disolución incluyó un mejorador de absorción y un agente de difusión). Un ml de la composición contenía 20 mg del Compuesto 11-1; 0,35 ml de dimetil sulfóxido; 0,1 ml de miristato de isopropilo; y éter monometílico de dipropilenglicol suficiente para llevar el volumen total a 1 ml.
E	1 mg/kg de peso corporal del Compuesto 11-1 en forma de una solución tópica para administración de unción dorsal puntual. Un ml de la composición contenía 20 mg del Compuesto 11-1; y lactato de etilo suficiente para llevar el volumen total a 1 ml.
F	Ninguno (control negativo)

- Los perros se infestaron con aproximadamente 80 pulgas (*C. felis*) y 60 garrapatas (*R. sanguineus*) los Días -2, 7, 14, 21, 28, 35, 42 y 49. Se contaron las pulgas y las garrapatas el Día 2 (aproximadamente 48 h después del tratamiento) así como los Días 9, 16, 23, 30, 37, 44 y 51 (aproximadamente 48 h después de cada re-infestación de pos-tratamiento) para evaluar la actividad insecticida y acaricida de los grupos tratados. En el Grupo B, se llevó a cabo la infestación adicional con pulgas y garrapatas el Día 56, con una cuenta respectiva de pulgas y garrapatas el Día 58. Además de

las cuentas de pulgas y garrapatas, se recogieron muestras de sangre antes de los tratamientos, así como aproximadamente 2 h, 4 h, 8 h, 24 h y 72 h después del tratamiento en el Día Cero, y después una vez cada uno de los Días 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 y 56. La concentración del Compuesto 11-1 en plasma sanguíneo se analizó por medio de HPLC/EM/EM. El LOQ de este método fue de 5 ng/ml. La **Tabla 8** muestra las eficacias observadas de garrapatas:

Tabla 8

Eficacias de diversos tratamientos con el Compuesto 11-1 contra garrapatas de perro marrones (<i>R. sanguineus</i>) en beagles									
Grupo	Día 2	Día 9	Día 16	Día 23	Día 30	Día 37	Día 44	Día 51	Día 58
A	99,4	99,3	98,3	98,2	98,9	94,6	82,0	82,0	
B	100	99,3	100	98,8	99,5	98,8	95,1	88,8	74,0
C	81,9	98,7	94,8	98,2	96,2	87,0	76,5	55,3	
D	83,1	96,1	98,3	98,2	96,2	94,1	73,8	63,4	
E	70,6	90,2	95,9	91,5	97,8	89,2	79,8	59,6	
F	0	0	0	0	0	0	0	0	

La **Tabla 9** muestra las eficacias observadas de pulgas:

Tabla 9

Eficacias de diversos tratamientos con el Compuesto 11-1 contra pulgas de gato (<i>C. felis</i>) en beagles									
Grupo	Día 2	Día 9	Día 16	Día 23	Día 30	Día 37	Día 44	Día 51	Día 58
A	100	100	100	100	100	99,6	100	100	
B	100	100	100	100	99,6	100	100	100	99,7
C	100	100	100	100	100	100	100	100	
D	100	100	100	100	100	100	100	100	
E	100	100	100	100	100	100	100	100	
F	0		0	0	0	0	0	0	

La concentración media observada en plasma del Compuesto 11-1 durante el estudio se muestra en la **Figura 1**. En la **Figura 1**, los datos de "PO" se refieren al **Grupo A**, los datos de "SC" se refieren al **Grupo B**, los datos de "W/ENH SUPERIOR" se refieren al **Grupo C**; los datos de "W/ENH SUPERIOR & DIFUSIÓN" se refieren al **Grupo D** y los datos de "TOP W/LACTATO DE ETILO" se refieren al **Grupo E**. Los datos para el **Grupo F** (el control) no se incluyeron en la **Figura 1**, debido a que no se administró nada de Compuesto 11-1 a ese grupo.

Ejemplo 7: Aislamiento de los enantiómeros R y S del Compuesto 11-1

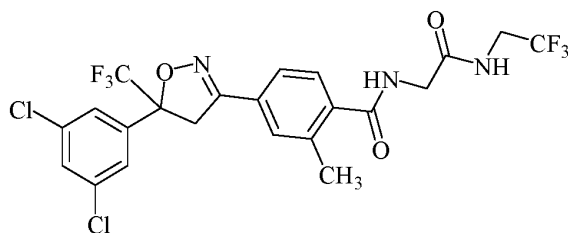
Se disolvió el Compuesto 11-1 (260 mg) en una mezcla 1:1 de n-hexano/etanol (13 ml) a 40 °C. Se separó un 80 % de esta disolución en alícuotas de 400 µl en un sistema de cromatografía líquida semi-preparativa equipado con una columna Diacel Chiralpak® AD-H con una longitud de columna de 250 mm, un diámetro de 10 mm y un tamaño de partícula de 5 µm. La fase móvil consistió en una mezcla de 8:2 de n-hexano/etanol. Se usó un caudal de 4 ml/min. Se recogieron las fracciones quirales de ambos enantiómeros y se evaporaron a vacío. Se controló la pureza de las fracciones combinadas por medio de cromatografía analítica quiral usando una columna Diacel Chiralpak® AD-H (250 x 4,6 mm, 5 µm) y detección UV a 254 nm. Para ambos enantiómeros se determinó una pureza mayor de un 99 %. La técnica permitió la obtención de 88 mg del Compuesto 11-1 (el enantiómero-S) que tenía una rotación óptica de $[\alpha]_D^{23} +63,97^\circ$ (etanol, c = 2,87 mg/ml); y 80 mg del Compuesto 11-1R (el enantiómero-R) que tenía una rotación óptica de $[\alpha]_D^{23} -61,07^\circ$ (etanol, c = 3,93 mg/ml).

Las palabras "comprender", "comprende" y "que comprende" han de interpretarse de forma inclusiva en lugar de exclusiva. Esta interpretación pretende ser la misma que la interpretación que se da a estas palabras en la ley de patentes de los Estados Unidos.

La expresión "farmacéuticamente aceptable" se usa como adjetivo para hacer referencia a que el nombre modificado es apropiado para su uso en un producto farmacéutico. Cuando se usa, por ejemplo, para describir una sal, excipiente, o solvato, caracteriza a la sal, excipiente, o solvato como compatible con los otros ingredientes de la composición, y no perjudicial para el animal receptor de interés en el sentido de que el(los) efecto(s) perjudicial(es) representen más que el(los) beneficio(s) de la sal, excipiente o solvato.

REIVINDICACIONES

1. Una isoxazolina de Fórmula (11-1):



(11-1)

para su uso en el control de infestaciones por parásitos de un animal, en donde una cantidad de 0,01 a 200 mg/kg de peso corporal de la isoxazolina o de una sal de la isoxazolina, o de un solvato de la isoxazolina o de una sal, que es eficaz para controlar una infestación ectoparasitaria, se administra en combinación con uno o más parasiticidas endectocidas de lactona macrocíclica seleccionados de ivermectina, abamectina, doramectina, moxidectina, selamectina, milbemicina, emamectina y eprinomectina, a una frecuencia bimensual, trimestral, semestral o mayor y en donde la relación en peso del compuesto de isoxazolina y los parasiticidas endectocidas de lactona macrocíclica es de 1:3000 a 3000:1.

2. La isoxazolina para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el parasitocida endectocida de lactona macrocíclica es ivermectina.

3. La isoxazolina para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el parasitocida endectocida de lactona macrocíclica es abamectina.

4. La isoxazolina para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el parasitocida endectocida de lactona macrocíclica es doramectina.

5. La isoxazolina para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el parasitocida endectocida de lactona macrocíclica es moxidectina.

6. La isoxazolina para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el parasitocida endectocida de lactona macrocíclica es selamectina.

7. La isoxazolina para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el parasitocida endectocida de lactona macrocíclica es milbemicina.

8. La isoxazolina para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el parasitocida endectocida de lactona macrocíclica es emamectina.

9. La isoxazolina para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el parasitocida endectocida de lactona macrocíclica es eprinomectina.

10. La isoxazolina para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde el animal es un gato o perro.

11. La isoxazolina para su uso de acuerdo con la reivindicación 10, en donde el animal es un gato.

12. La isoxazolina para su uso de acuerdo con la reivindicación 10, en donde el animal es un perro.

FIGURA 1

Concentración media en plasma del Compuesto 11-1 Durante el Estudio del Ejemplo 6
Evaluación de la Eficacia del Compuesto 11-1 Frente a Pulgas de Gato (*C. felis*) y Garrapatas Marrones de Perro (*R. sanguineus*) en Perros

