



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 344 275**

51 Int. Cl.:
C07F 9/572 (2006.01)
C07D 235/32 (2006.01)
C07F 9/553 (2006.01)
C07F 9/165 (2006.01)
C07F 9/141 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **06777837 .3**
96 Fecha de presentación : **18.07.2006**
97 Número de publicación de la solicitud: **1913009**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **23.04.2008**

54 Título: **Nuevos (tio)carbamatos de benzimidazol con actividad antiparasitaria y síntesis de ellos.**

30 Prioridad: **28.07.2005 EP 05106991**
28.07.2005 US 703370 P

73 Titular/es: **INTERVET INTERNATIONAL B.V.**
Wim de Körverstraat 35, P.O. Box 31
5830 AA Boxmeer, NL

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
23.08.2010

72 Inventor/es: **Chassaing, Christophe, Pierre, Alain**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
23.08.2010

74 Agente: **Ungría López, Javier**

ES 2 344 275 T3

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

DESCRIPCIÓN

Nuevos (tio)carbamatos de benzimidazol con actividad antiparasitaria y síntesis de ellos.

5 La presente invención se refiere a nuevos (tio)carbamatos de benzimidazol con actividad antiparasitaria.

10 En sus orígenes, los benzimidazoles fueron desarrollados como fungicidas para plantas y más tarde, como antihelmínticos humanos. La familia de los benzimidazoles con actividad antihelmíntica incluye tiazolil benzimidazoles y carbamatos de benzimidazol. Los benzimidazoles presentan un amplio espectro de actividad contra parásitos helmintos. Se conocen muy bien entre los benzimidazoles con actividad contra helmintos, por ejemplo tiabendazol, cambendazol y carbamatos de benzimidazol, como por ejemplo parbendazol (US3480642), mebendazol (US3657267), flubendazol (US3657267), fenbendazol (US3954791), oxfendazol (US3929821), oxibendazol (US3574845), albendazol (US3915986), ricobendazol (sulfoxido de albendazol) (US3915986) y luxabendazol (US4639463), que difieren todos ellos en los sustituyentes en el núcleo de benzimidazol de origen. Los carbamatos de benzimidazol se describen también en US 5459155.

15 Se cree que los benzimidazoles deben su actividad al hecho de que bloquean la polimerización de beta-tubulina en microtúbulos. Esto afecta a las funciones de transporte de las células dentro del parásito y finalmente elimina al parásito.

20 Se han desarrollado asimismo profármacos de fenilguanidina que se transforman metabólicamente en benzimidazoles antihelmínticos. Febantel (US 3993682), por ejemplo, es un profármaco que se convierte en fenbendazol y netobimina (US4406893) produce albendazol.

25 Generalmente, los benzimidazoles son escasamente solubles en agua. Se administran por vía oral en forma de suspensión, pasta o polvo, o a través de inyección intraruminal (McKellar and Scott, J. Vet. Pharmacol. Therap. 13, 223-247, 1990). El hecho de que los benzimidazoles, y sobre todo los carbamatos de benzimidazol, sean escasamente solubles en agua limita sus aplicaciones. En particular, la solubilidad de los carbamatos de benzimidazol es extremadamente baja, probablemente debido a la presencia del grupo carbamato en la fracción benzimidazol. Estos compuestos son prácticamente insolubles en agua. Para algunas aplicaciones útiles de los compuestos, como por ejemplo el uso en aplicaciones de acuicultura y aplicaciones de agua potable, la escasa solubilidad en agua de los benzimidazoles es un importante obstáculo.

30 Se ha dedicado un gran esfuerzo ya para resolver el problema de la escasa o falta de solubilidad en agua de los (carbamato)s de benzimidazol.

35 Se han realizado también tentativas para proporcionar derivados más solubles de benzimidazoles (profármacos, que son metabolizados para dar el compuesto activo). La eficacia del profármaco depende de muchos factores, como por ejemplo la velocidad y el grado en que se convierte el profármaco en sustancia activa y el sitio de su transformación. Asimismo, el profármaco deberá poseer una alta solubilidad en agua al pH de estabilidad máxima y una estabilidad acuosa suficiente antes de la aplicación. Naturalmente, es preciso que el profármaco sea tolerado perfectamente y que no sea más tóxico que el compuesto activo.

40 Se ha dedicado un gran esfuerzo en lo referente a los profármacos de benzimidazol en el contexto del uso de benzimidazoles para combatir las infecciones sistémicas, por ejemplo, con el estado larval de los cestodos, *Echinococcus multicularis* y *E. granulosus*. En estos casos, son importantes los niveles en plasma y en el tejido de los fármacos, ya que para que actúen sistémicamente, los benzimidazoles tienen que entrar en la corriente sanguínea.

45 En Hernández Luis y cols., en Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 11, 1359-1362, 2001 se describen determinados profármacos de albendazol. Hernández Luis y cols. intentaron mejorar la solubilidad de albendazol sintetizando tres derivados de N-acilo y dos de N-alcoxicarbonilo. Dichos derivados fueron desarrollados principalmente en el contexto del uso de profármacos de albendazol para ciertas infestaciones que se alojan en el tejido como triquinosis, enfermedad hidatídica (equinococosis) y neurocisticercosis, en las que se requieren altas dosis y un tratamiento prolongado como consecuencia de la escasa solubilidad y absorción de albendazol.

50 Otro grupo, Nielsen y cols. (Acta Pharm. Nord., 4(1), 43-49, 1992) han obtenido profármacos de tiabendazol por N-acilación de la fracción benzimidazol con diversos cloroformatos, así como por acilmetilación, también con el objetivo de mejorar la solubilidad de los benzimidazoles para su uso contra la enfermedad hidatídica. Se ha descrito un derivado de N-(4-amino-metilbenzof)oximetilo que tiene una solubilidad en agua 300 veces mayor. No obstante, este tipo de compuesto no es particularmente estable frente a la hidrólisis y por consiguiente resultaría inadecuado, por ejemplo para aplicaciones de agua potable. Por otra parte, su solubilidad sigue siendo insuficiente para su uso en aplicaciones de agua potable. Asimismo, debe señalarse que el ácido 4-aminometilbenzoico ha sido utilizado como agente antibriolítico (Kloecking, H.P., Markwardt, F., Haematología, Supplement 1, 175-9, 1970), lo que hace pensar que la pro-fracción segmentada no es farmacológicamente inactiva. El grupo de Nielsen también ha descrito derivados de N-alcoxicarbonilo de mebendazol en Int. J. Pharm. 104, 175-179, 1994.

65 Dhaneshwar y cols. Indian drugs 28(1), 24-26, 1990 prepararon bases de Mannich de abendazol y fenbendazol utilizando varias aminas secundarias, como dimetilamina, dipropilamina, pirrolidina, piperazina, etc. Por otra parte, se

ES 2 344 275 T3

describen bases de Mannich en Garst y cols (US 6093734). No obstante, la actividad real no ha sido demostrada para las bases de Mannich y este derivado presenta una baja estabilidad en agua.

5 Existe un profármaco de albendazol hidrosoluble, en concreto netobimina. Pero a pesar de que netobimina es hidroluble, se ha descrito que causa toxicidad embrionaria.

10 En WO 9312124 se describe otra clase de benzimidazoles, en concreto compuestos 2-[(3,4-dialcoxi-2-piridinil)-metil]sulfonil]-1(H)-benzimidazol-1-il sustituidos. Estos benzimidazoles son inhibidores de secreción de ácido gástrico (inhibidores de bomba de protones) y se asemejan estructuralmente a los inhibidores de la secreción de ácido gástrico muy conocidos como omeprazol y lansoprazol. En contraste con los carbamatos de benzimidazol, que son prácticamente insolubles en agua, los inhibidores de bomba de protones de benzimidazol son notablemente más solubles en agua. Por ejemplo, omeprazol tiene una solubilidad de 500 µg/mL.

15 En WO 9312124 se enumeran derivados de estos inhibidores de bomba de protones que se modifican para que contengan un grupo fosfonooximetilo unido como sustituyente N- en la posición 1 del núcleo de benzimidazol. Los compuestos modificados de esta forma tienen el efecto beneficioso de no bloquear la absorción de yodo en la glándula tiroides. Por otra parte, se describe que los compuestos tienen una alta solubilidad y estabilidad química en agua. Se cree que estos compuestos se metabolizan en el N-sustituyente de la posición 1 del núcleo de benzimidazol antes de ejercer su efecto, lo que los hace en efecto profármacos. Se preparó un jarabe para administración oral de los compuestos que contenía 1 g/L, así como una solución para administración intravenosa que contenía 4 mg/mL y 6 mg/mL.

20 Los carbamatos de benzimidazol antihelmínticos, como fenbendazol, tienen solubilidades mucho más bajas, que están incluso por debajo de 0,05 µg/mL (Nguomo, A.J. PhD. Thesis, 1983, citado por McKellar y cols en J. Vet. Pharmacol. Therap. 1990, 13, 223-247).

30 Dado que los carbamatos de benzimidazol se administran por ejemplo a los pollos y los cerdos en granjas de gran producción, sería conveniente que los compuestos se pudieran administrar a través de agua potable medicada. No obstante, debido a su baja solubilidad, la administración a través de agua potable resulta enormemente problemática.

35 Para las aplicaciones de agua potable, se ha dedicado un gran esfuerzo a encontrar una formulación adecuada para los compuestos con la que se asegure una dosificación adecuada. El problema con las suspensiones y emulsiones de fármacos insolubles en agua es que, para asegurar una dosificación precisa a través de un sistema de agua potable, la suspensión o emulsión debe ser uniforme y muy estable. EP 1214052 se refiere por ejemplo a una suspoemulsión para fluobendazol, destinada a su uso en aplicaciones de agua potable.

40 Más que preparar una suspensión emulsión, sería más conveniente si se pudieran proporcionar alternativas hidrosolubles, como por ejemplo derivados modificados de compuestos activos no solubles originales, que sigan teniendo la actividad deseada, o que se conviertan *in vivo* a las sustancias activas reales. Pero, sobre todo, las aplicaciones de agua potable requieren una solubilidad muy alta. Para una aplicación de agua potable de cualquier fármaco, normalmente es necesario producir un concentrado primero, lo que requiere una mayor solubilidad aún del fármaco. Asimismo, deberá ser necesario que el compuesto se disuelva en un breve período de tiempo. Asimismo, si no se disuelve apropiadamente el compuesto que se ha de administrar a través de agua potable, o se sedimenta transcurrido un lapso de tiempo, puede depositarse en las tuberías del sistema de agua potable y es posible que se produzca un atasco de todo el sistema.

45 Dado que el agua potable puede permanecer en los tanques o en las tuberías de un sistema de agua potable durante un período de tiempo prolongado, los compuestos que se disuelven deben ser además muy estables químicamente. Si los compuestos no son químicamente estables a lo largo de un período de tiempo prolongado, es posible que no llegue nada o sólo una cantidad insuficiente del compuesto activo real a los animales que beben el agua.

Sobre todo para las aplicaciones de agua potable, se requiere una estabilidad de al menos 8 horas, a un intervalo de pH de 5 a 9.

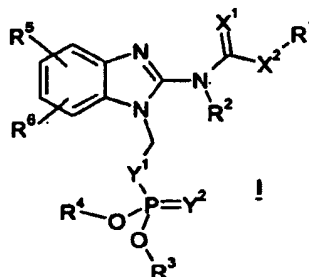
55 La Agencia de Medicinas Europea (EMA) ha publicado unas directrices sobre los “aspectos de calidad de las medicinas veterinarias farmacéuticas para administración de a través del agua potable” (EMA/CVMP/540/03). En dicha guía se reflejan los requisitos de datos de calidad para productos medicinales veterinarios que se administran en el agua potable a los animales. La guía proporciona por ejemplo los criterios para la estabilidad y solubilidad de los productos y el tiempo que se necesita para que se disuelvan completamente.

60 Por consiguiente, sobre todo para los fármacos que se administran a través de sistemas de agua potable, como los que se utilizan en las instalaciones de animales de producción a gran escala, existe un gran número de limitaciones que restringen la adecuación de muchos fármacos y especialmente carbamatos de benzimidazol, para este fin en particular.

65 La presente invención proporciona nuevos (tio)carbamatos de benzimidazol que se disuelven fácilmente en agua, que son químicamente estables y que proporcionan una excelente actividad antiparasitaria. Los compuestos según la invención son adecuados para las mismas aplicaciones terapéuticas que los carbamatos de benzimidazol según el estado de la técnica, y son especialmente adecuados para su uso como antihelmínticos.

La presente invención proporciona compuestos representados por la siguiente fórmula general:

Formula I



en la que:

X^1 y X^2 son o bien S o bien O, siendo preferible que al menos uno de los dos sea O, y siendo sobre todo preferible que ambos sean O.

Y^1 e Y^2 son o bien S o bien O, siendo preferible que al menos uno de los dos sea O, y siendo sobre todo preferible que ambos sean O.

Los compuestos preferibles según la invención son carbamatos de benzimidazol N-fosfonooximetil sustituidos que encajan con la fórmula I general, es decir compuestos en los que X^1 y X^2 , así como Y^1 e Y^2 son O.

R^1 es un alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, preferiblemente metilo.

R^2 , R^3 y R^4 son independientemente uno de otro hidrógeno o un catión, siendo el catión preferiblemente sodio, potasio o amonio. Los compuestos preferibles según la invención son sales, es decir, compuestos en los que uno o más R^2 , R^3 y R^4 son cationes. Esto incluye sales en las que por ejemplo R^2 es H y R^3 y R^4 son sodio, y aquellas en las que todos, R^2 , R^3 y R^4 son sodio, así como mezclas de ellos, como por ejemplo sales di- y tri-sódicas.

R^5 y R^6 son ambos independientemente hidrógeno o halógeno o alquilo que tiene de 1 a 8 átomos de carbono, preferiblemente de 1 a 6, siendo sobre todo preferible 4 átomos de carbono, siendo los compuestos más preferibles ésteres metílicos de ácido (5- y 6-butil-1-fosfonooximetil-1(H)-benzoimidazol-2-il)-carbámico o mezclas de ellos, y prefiriéndose sobre todo sales de los mismos (parbendazol N-fosfonooximetil sustituido), o

-OR⁷ en la que R^7 es alquilo que tiene de 1 a 8 átomos de carbono, preferiblemente de 1 a 6 átomos de carbono, siendo sobre todo preferible 3 átomos de carbono, siendo los compuestos preferibles ésteres metílicos de ácido (1-fosfonooximetil-5- y 6-propoxi-1(H)-benzoimidazol-2-il)carbámico o una mezcla de ellos y siendo sobre todo preferible sales de los mismos (oxibendazol N-fosfonooximetil sustituido), o en la que R^7 es arilo, preferiblemente un grupo fenilo que puede estar sustituido o sin sustituir.

-SR⁸ en la que R^8 es un alquilo que tiene de 1 a 8 átomos de carbono, preferiblemente de 1 a 6, siendo sobre todo preferible 3 átomos de carbono, siendo los compuestos más preferibles ésteres metílicos de ácido (1-fosfonooximetil-5-6-propilsulfanil-1(H)-benzoimidazol-2-il)-carbámico o una mezcla de ellos y siendo sobre todo preferibles sales de los mismos (albendazol N-fosfonooximetil sustituidas), o en la que R^8 puede ser arilo, preferiblemente un grupo fenilo que puede estar sustituido o sin sustituir, siendo los compuestos preferibles ésteres metílicos de ácido (5- y 6-fenil-sulfanil-1-fosfonooximetil-1(H)benzoimidazol-2-il)-carbámico o una mezcla de ellos y siendo sobre todo preferible sales de los mismos (fenbendazol N-fosfonooximetil sustituidos).

-CO-R⁹ en la que R^9 es un alquilo que tiene de 1 a 8 átomos de carbono o un cicloalquilo que tiene de 3 a 6 átomos de carbono, siendo el compuesto más preferible éster metílico de ácido (5- y 6-ciclopropanocarbonil-1-fosfonooximetil-1(H)-benzoimidazol-2-il)-carbámico o una mezcla de ellos y siendo sobre todo preferibles sales de los mismos (cidobendazol N-fosfonooximetil sustituido), o R^9 es arilo, preferiblemente un grupo fenilo sustituido o sin sustituir, siendo los compuestos preferibles éster metílico de ácido (5- y 6-benzoil-1-fosfonooximetil-1(H)benzoimidazol-2-il)-carbámico o una mezcla de ellos y siendo sobre todo preferibles sales de ellos (mebendazol N-fosfonooximetil sustituido) y cuando el grupo fenilo está sustituido, son preferibles los sustituyentes halo como flúor, que pueden estar en la posición para-, y los compuestos preferibles son éster metílico de ácido [5- y 6-(4-fluorobenzóil)-1-fosfonooximetil-1(H)-benzoimidazol-2-il]-carbámico o una mezcla de ellos y siendo sobre todo preferibles las sales de los mismos (flubendazol N-fosfonooximetil sustituido) o

-OSO₂-Ar- siendo Ar arilo, preferiblemente un grupo fenilo sustituido o sin sustituir, estando preferiblemente sustituido en la posición 4 por un átomo de flúor, y siendo los compuestos más preferibles ésteres 2-metoxi-carbonilamino-

ES 2 344 275 T3

1-fosfonooximetil-1(H)-benzimidazol-5- y 6-ílicos de ácido 4-fluorobencenosulfónico o una mezcla de ellos y más preferiblemente sales de los mismos (luxabendazol N-fosfonooximetil sustituidos) o

5 -S(O)R¹⁰, en la que R¹⁰ puede ser un alquilo que tiene de 1 a 8 átomos de carbono, preferiblemente 3 átomos de carbono, siendo los compuestos preferibles ésteres metílicos de ácido [1-fosfonooximetil-5- y 6-(propano-1-sulfinil)-1(H)-benzimidazol-2-il]-carbámico o una mezcla de ellos, siendo sobre todo preferibles sales de los mismos (ricobendazol N-fosfonooximetil sustituido), o en la que R¹⁰ puede ser arilo, preferiblemente un grupo fenilo sustituido o sin sustituir, y siendo los compuestos preferibles ésteres metílicos de ácido (5- o 6-bencenosulfinil-1-fosfonooximetil-1(H)-benzimidazol-2-il)-carbámico o una mezcla de los mismos, siendo sobre todo preferible sales de los mismos (oxfendazol N-fosfonooximetil sustituido).

15 Preferiblemente R⁵ es H y R⁶ está unido en la posición 5- o 6- del núcleo de benzimidazol. Los grupos alquilo pueden ser lineales o ramificados, como por ejemplo metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, butilo, sec-butilo, terc-butilo, hexilo y octilo y pueden estar sustituidos opcionalmente, por ejemplo, con un sustituyente halo. En los compuestos preferibles de la invención que contienen un alquilo, el alquilo es de cadena lineal y no está sustituido. El término arilo se refiere a un grupo hidrocarburo aromático que tiene de 6 a 14 átomos de carbono, como fenilo, naftilo y puede estar sustituido opcionalmente por uno o más sustituyentes como hidroxilo, halógeno, nitro, ciano, amino, alquilo, alcoxi, amino, siempre y cuando no afecte a la actividad antiparasitaria del compuesto. En los compuestos preferibles de la invención, que contienen un grupo fenilo, dicho fenilo no está sustituido o está sustituido con un sustituyente halo.

20 Algunos de los compuestos dentro de la fórmula general antes representada según la invención pueden existir, dependiendo de la ruta de síntesis seleccionada, como una mezcla de regioisómeros. Por ejemplo, se puede sintetizar una mezcla de compuestos en la que R⁶ está unido en la posición 5 del núcleo de benzimidazol y la posición 6- del núcleo de benzimidazol, respectivamente. Además de los regioisómeros puros, naturalmente, debe entenderse naturalmente que mezclas que comprenden diferentes regioisómeros forman parte igualmente de la presente invención. Algunos de los compuestos según la invención pueden contener uno o más centros quirales que forman enantiómeros ópticamente activos. Se pretende que la fórmula general (fórmula I) incluya los enantiómeros individuales, así como las mezclas de enantiómeros.

30 Los compuestos de la invención son muy solubles y estables en agua. Por ejemplo, una mezcla de sales disódicas de ésteres metílicos de ácido (5- y 6-fenilsulfanil-1-fosfonooximetil-1(H)-benzimidazol-2-il)-carbámico tiene una solubilidad en agua de 132 mM (67 g/L). Asimismo, otros compuestos según la invención como sales sódicas albendazol, mebendazol, flubendazol y luxabendazol N-fosfonooximetil sustituidas tienen solubilidades en agua de al menos 50 mM.

40 Por otra parte, se ha observado que los compuestos según la invención son estables a lo largo de 8 horas a un pH de 5 y a un pH de 9, que son los límites de pH inferior y superior en los que deberían ser estables los compuestos a lo largo de 8 horas con el fin de ser adecuados para aplicaciones de agua potable.

Asimismo, los compuestos de la presente invención tienen una excelente actividad antiparasitaria, especialmente actividad antihelmíntica *in vivo*, que es comparable con la de los carbamatos de benzimidazol insolubles en agua del estado de la técnica, tales como albendazol y fenbendazol.

45 Los compuestos de la invención son por lo tanto especialmente útiles para la administración a través de agua medicada a seres humanos y animales, tanto animales de producción de alimento (como por ejemplo ganado, cerdos, aves y pescado) como animales de compañía. La administración de agua medicada es de práctica común en el tratamiento de aves y cerdos alojados en granjas de producción a gran escala. No obstante, también puede ser adecuada la administración a animales individuales, con una administración de agua medicada. Los compuestos de la invención son especialmente útiles como antihelmínticos. La presente invención, por lo tanto, permite la administración de benzimidazoles antihelmínticos a través de agua medicada.

50 Si bien los compuestos según la invención son especialmente adecuados para su administración a través de agua medicada gracias a su alta solubilidad, se pueden administrar igualmente a través de cualquier otra ruta de administración adecuada, oral u otra, como por ejemplo inyección. Cuando se administran por vía oral, los compuestos se pueden mezclar también a través del alimento, o se pueden formular en píldoras, cápsulas, bolo o de otra forma. Si bien para los compuestos de la invención las rutas de administración oral son preferibles, el tratamiento a través de otras rutas de administración, como por ejemplo parenteral, también son posibles. Por ejemplo, para mascotas, puede ser también posible la administración subcutánea o intramuscular.

60 Los compuestos se pueden utilizar en solitario o en formulaciones ajustadas para uso específico o para los parásitos específicos o receptor implicados. Los compuestos según la invención se pueden utilizar en solitario, como único ingrediente activo en una formulación, o en combinación con otros agentes terapéuticos. La formulación y la ruta de administración dependerán de la enfermedad y el método de tratamiento. Dichas formulaciones se pueden preparar según el modo habitual con arreglo a las prácticas de medicina humana y veterinaria convencionales. La presente invención abarca además una composición farmacéutica que comprende una cantidad efectiva de uno o más compuestos según la invención.

Dichas composiciones pueden contener además cualquier auxiliar farmacéuticamente aceptable necesario, como por ejemplo un vehículo, un estabilizante u otros excipientes, y opcionalmente otros agentes terapéuticos. El término "aceptable" se refiere a que es compatible con los demás ingredientes de la composición y que no es dañino para los receptores de la misma.

5

Un vehículo puede ser un diluyente líquido o un sólido. Se puede utilizar cualquier vehículo farmacéutico convencional que no interfiera con el comportamiento del ingrediente activo en las preparaciones según la presente invención.

10

Los fármacos solubles que se administren a través el agua potable se pueden suministrar como granulados o polvos para su solución o como un pre-concentrado para solución oral. Las formulaciones destinadas a uso oral pueden contener agentes aromatizantes, agentes colorantes, agentes conservantes y similares. Se pueden preparar cápsulas, bolos y tabletas mezclando el compuesto(s)/sustancia activos con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

15

Para administración parenteral, se puede disolver el compuesto o se puede dispersar en un vehículo soporte líquido. Se pueden utilizar soluciones salinas isotónicas y soluciones inyectables esterilizadas, que contengan agentes estabilizantes farmacéuticamente aceptables. Si es necesario, se puede utilizar un conservante.

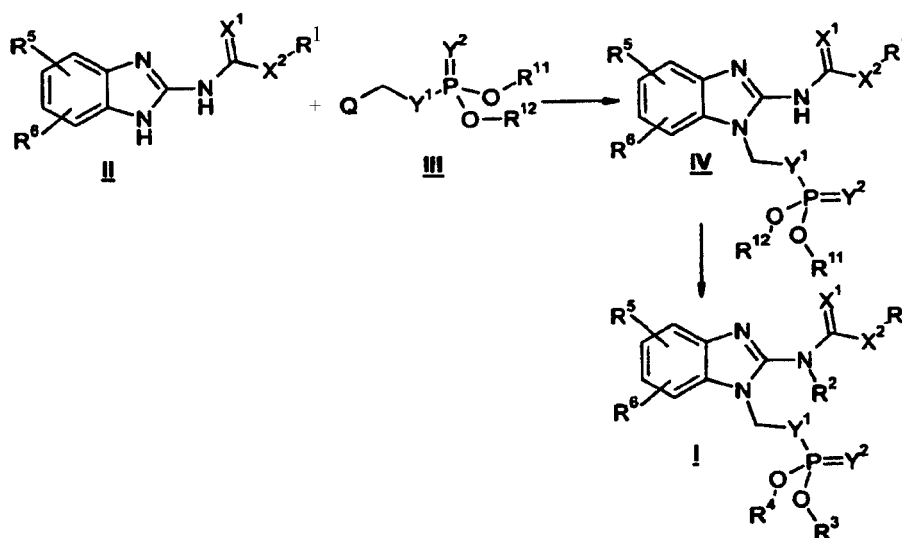
20

La cantidad efectiva o la concentración de los compuestos de la invención puede variar y depende de las necesidades individuales. La cantidad mínima depende del efecto deseado y la máxima se determina en función de los efectos secundarios no deseables. La dosis real utilizada depende del tipo y gravedad de la infección. El nivel de dosis específico está influido por muchos factores como la actividad del compuesto empleado y la especie, edad, peso corporal, salud general, dieta, tiempo de administración, ruta de administración, etc.

25

Los compuestos de la presente invención se pueden preparar siguiendo la secuencia de síntesis que se describe a continuación:

30



35

40

45

50

En la primera etapa, se hace reaccionar una sal adecuada de un (tio)carbamato de benzimidazol funcionalizada como sal sodio, potasio o litio, con un diéster de ácido fosfórico III sustituido con un grupo metileno que lleva un grupo saliente, Q, como cloro, bromo, yodo, tosilato o mesilato para dar un compuesto de fórmula IV, en el que R¹¹ y R¹² son grupos protectores.

55

Los grupos protectores adecuados son conocidos entre las personas especializadas en la técnica y pueden consistir por ejemplo en un alquilo como terc-butilo, o fenilo o bencilo. Este tipo de fosfato III se puede preparar aplicando los procedimientos de la bibliografía (v.g., Tetrahedron Letters; 2002, 43, 3793). La formación de la sal alcalina de (tio)carbamato de benzimidazol se puede conseguir por adición de una base, como hidróxido sódico, hidróxido potásico, hidruro sódico o hidruro potásico, al (tio)benzimidazol II, a un intervalo de temperatura comprendido entre -10 y 30°C, en un disolvente adecuado, preferiblemente un disolvente orgánico, como por ejemplo N,N-dimetilformamida, N,N-dimetilacetamida, N-metilpirrolidona, N-etilpirrolidina, tetrahidrofurano o dioxano. La reacción de la sal así obtenida con el triéster de fosfato III puede llevarse a cabo a temperaturas comprendidas entre 0 y 80°C, preferiblemente entre 10 y 50°C. Dependiendo de la temperatura a la que se realiza la reacción, el tiempo de reacción puede variar entre 1 y 24 horas. Dependiendo del tipo de (tio)carbamato de benzimidazol en reacción, se deberá añadir el electrofilo al nucleófilo o la adición se debe hacer de forma contraria.

65

ES 2 344 275 T3

En la segunda etapa, se pueden hidrolizar los productos intermedios IV para dar los compuestos I (en los que R², R³ y R⁴ son todos H) por adición de un ácido, como ácido acético, ácido trifluoroacético o ácido clorhídrico, opcionalmente en un disolvente orgánico, como éter dietílico, tetrahidrofurano, dioxano o diclorometano, a una temperatura comprendida entre la temperatura ambiente y 50°C.

5

En una tercera etapa opcional, se pueden convertir después los productos aislados a sus sales correspondientes I (en las que al menos uno entre R², R³ y R⁴ es un catión, preferiblemente sodio, potasio o amonio) por adición de una base, como alcóxido sódico, hidróxido sódico, alcóxido potásico, hidróxido potásico o amoniaco. La reacción se puede llevar a cabo en agua o en un disolvente orgánico como metanol, etanol, isopropanol, terc-butanol o mezclas de ellos.

10

Ejemplos

15 Ejemplo 1

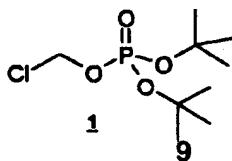
Síntesis de sal disódica de éster metílico ácido (5-fenilsulfanil-1-fosfonooximetil-1(H)-benzoimidazol-2-il)-carbámico 6 y sal disódica de éster metílico de (6-fenilsulfanil-1-fosfonooximetil)-1(H)-benzoimidazol-2-il)-carbámico 7

20 Se pueden sintetizar los compuestos aplicando la secuencia de síntesis general que se expone a continuación:

Etapa A

Síntesis de éster clorometílico de éster di-terc-butílico de ácido fosfórico 1

25



35

De acuerdo con el procedimiento de la bibliografía (Tetrahedron Letters: 2002, 43, 3793), se preparó el compuesto 1 del siguiente modo: se disolvieron fosfato di-terc-butílico potásico (6,35 g), hidrogen sulfato ditetra-n-butilamonio (917 mg) y bicarbonato sódico (8,96 g) en agua (230 mL). Se añadió diclorometano (130 mL) y se enfrió la mezcla resultante hasta 0°C. Se añadió lentamente una solución de clorosulfato de clorometilo (917 g) en diclorometano (100 mL) con agitación vigorosa. Se dejó que la mezcla de reacción alcanzara la temperatura ambiente y se siguió agitando durante toda la noche a esta temperatura. A continuación, se separó la capa orgánica, se lavó con salmuera (50 mL), se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró al vacío. Se obtuvo el producto 1 deseado como un aceite incoloro (2,4 g).

40

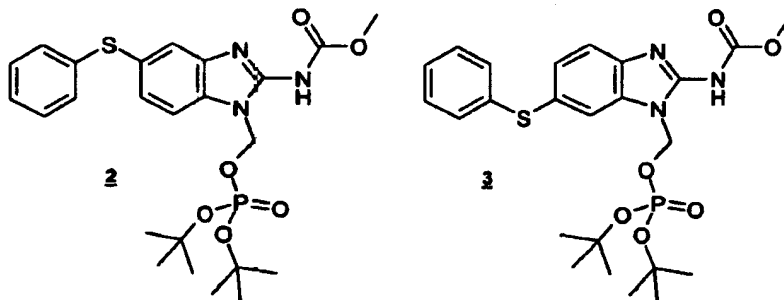
45 *Éster clorometílico de éster di-terc-butílico de ácido fosfórico 1.* Aceite incoloro. ¹H-RMN (CDCl₃) δ 5,65 (d, J = 15,0 Hz, 2H), 1,52 (s, 18H); ¹³C-RMN (CDCl₃) δ 84,2 (d, J = 7,6 Hz), 73,3 (d, J = 6,9 Hz), 29,8 (d, J = 4,3 Hz); ³¹P-RMN (CDCl₃) δ -11,8.

50

Etapa B

Síntesis de éster metílico de ácido [1-(di-terc-butoxi-fosfonooximetil)-5-fenilsulfanil-1(H)-benzoimidazol-2-il] carbámico 2 y éster metílico de ácido [1-(di-terc-butoxi-fosfonooximetil)-6-fenilsulfanil-1(H)-benzoimidazol-2-il]-carbámico 3

55



65

ES 2 344 275 T3

Se disolvió éster metílico de ácido (5-fenilsulfanil-1(H)-benzoimidazol-2-il)-carbámico (2 g) en dimetilformamida (200 mL) y se añadió una suspensión de hidruro sódico al 60% en aceite mineral (960 mg). Se agitó la solución verde resultante durante 45 minutos a temperatura ambiente y se añadió lentamente una solución de éster clorometílico de éster di-terc-butílico de ácido fosfórico (2,3 g) en dimetilformamida (100 mL). Se agitó la reacción a temperatura ambiente durante 5 horas. A continuación, se diluyó la mezcla con diclorometano (600 mL). A continuación, se lavó sucesivamente la fase orgánica con agua (300 mL), NaHCO₃ saturado acuoso (300 mL) y salmuera (dos veces 200 mL), se secó sobre Na₂SO₄ y se filtró. Se enfrió la capa orgánica a 4°C, se eliminó por filtración el éster metílico de ácido (5-fenilsulfanil-1(H)-benzoimidazol-2-il)-carbámico sin reaccionar precipitado y se concentró el filtrado al vacío. Se purificó el residuo oleoso por filtración sobre una almohadilla corta de gel de sílice. Se eluyeron los contaminantes no polares con acetato de etilo/éter de petróleo 1:1 y se eluyó después del producto deseado con éter dietílico. Se obtuvo el producto deseado como un sólido incoloro (1,4 g) en una relación 1:1 de los dos regio-isómeros 2 y 3.

Éster metílico de ácido [1-(di-terc-butoxi-fosfonooximetil)-5-fenilsulfanil-1(H)-benzoimidazol-2-il]carbámico 2. Sólido incoloro. ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ 12,2 (s, 1H), 7,49 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,47 (s, 1H), 7,34 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 7,33 (t, J = 7,3 Hz, 2H), 7,24 (t, J = 7,2 Hz, 1H), 7,19 (d, J = 7,3 Hz, 2H), 5,85 (d, J = 10,3 Hz, 2H), 3,64 (s, 3H), 1,34 (s, 18Hz); ¹³C-RMN (DMSO-d₆) δ 162,8, 154,1, 137,3, 130,8, 129,9, 129,2, 127,9, 127,6, 127,1, 116,1, 111,6, 83,1 (d, J = 7,2 Hz), 67,0, 52,5, 29,7 (d, J = 3,9 Hz); ³¹P-RMN (DMSO-d₆) δ -11,3 (t, J = 10,3 Hz).

Éster metílico de ácido [1-(di-terc-butoxi-fosfonooximetil)-6-fenilsulfanil-1(H)-benzoimidazol-2-il]-carbámico 3. Sólido incoloro. ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ 12,3 (s, 1H), 7,60 (s, 1H), 7,46 (d, 1H), 7,32 (d, 1H), 7,30 (t, 2H), 7,21 (t, 1H), 7,19 (d, 2H), 5,83 (d, J = 10,2 Hz, 2H), 3,63 (s, 3H), 1,30 (s, 18H); ¹³C-RMN (DMSO-d₆) δ 162,8, 154,1, 137,6, 130,2, 129,9, 129,8, 129,3, 128,6, 126,8, 126,4, 113,1, 115,5, 83,1 (d, J = 7,2 Hz), 67,0, 52,5, 29,6 (d, J = 3,9 Hz); ³¹P-RMN (DMSO-d₆) δ -11,4 (t, J = 10,2 Hz).

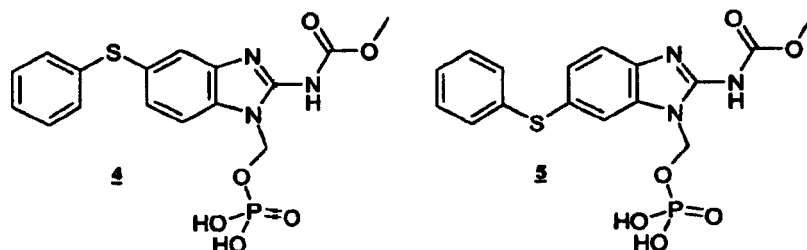
Etapa C

Síntesis de éster metílico de ácido (5-fenilsulfanil-1-fosfonooximetil-1(H)-benzoimidazol-2-il)-carbámico 4 y éster metílico de ácido (6-fenilsulfanil-1-fosfonooximetil-1(H)-benzoimidazol-2-il)-carbámico 5

30

35

40



Se disolvió una mezcla 1:1 de isómeros 2 y 3 (1 g) en dioxano (10 mL) y se añadió una solución de HCl 4N en dioxano (10 mL) con agitación. Se aseguró la conversión completa de los materiales de partida en los ácidos correspondientes por HPLC llevando un seguimiento de la reacción. Se eliminó por filtración el precipitado formado (550 mg) y se concentró el licor madre al vacío hasta la mitad del volumen. Se añadió éter dietílico (5 mL) y se obtuvo un segundo cultivo de los productos deseados (100 mg) tras la filtración. Se obtuvieron los productos deseados como un sólido incoloro (650 mg) en una proporción 1:1 de los dos regio-isómeros 4 y 5.

Éster metílico de ácido (5-fenilsulfanil-1-fosfonooximetil-1(H)-benzoimidazol-2-il)-carbámico 4. ¹H-RMN (D₂O) δ 7,41 (d, J = 1,4 Hz), 7,39 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 7,15-7,07 (m, 6H), 5,52 (d, J = 3,3 Hz, 2H), 3,53 (s, 3H); ¹³C-RMN (D₂O) δ 162,8, 158,6, 142,2, 137,9, 133,3, 129,3, 129,2, 128,3, 126,2, 124,3, 120,6, 110,2, 66,0, 52,1; ³¹P-RMN (D₂O) δ 1,97 (t, J = 3,3 Hz).

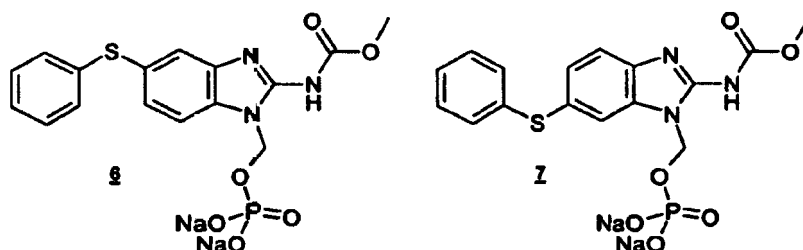
Éster metílico de ácido (6-fenilsulfanil-1-fosfonooximetil-1(H)-benzoimidazol-2-il)-carbámico 5. ¹H-RMN (D₂O) δ 7,62 (d, J = 1,4 Hz), 7,31 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 7,22-7,11 (m, 6H), 5,52 (d, J = 4,3 Hz, 2H), 3,60 (s, 3H); ¹³C-RMN (D₂O) δ 161,4, 156,2, 139,8, 137,8, 133,2, 129,3, 128,6, 128,5, 128,1, 124,4, 114,7, 66,5, 52,3; ³¹P-RMN (D₂O) δ 2,24 (t, J = 4,3 Hz).

65

ES 2 344 275 T3

Etapa D

Síntesis de sal disódica de éster metílico de ácido (5-fenilsulfanil-1-fosfonooximetil-1(H)-benzoimidazol-2-il)-carbámico 6 y sal disódica de éster metílico de ácido (6-fenilsulfanil-1-fosfonooximetil-1(H)-benzoimidazol-2-il)-carbámico 7

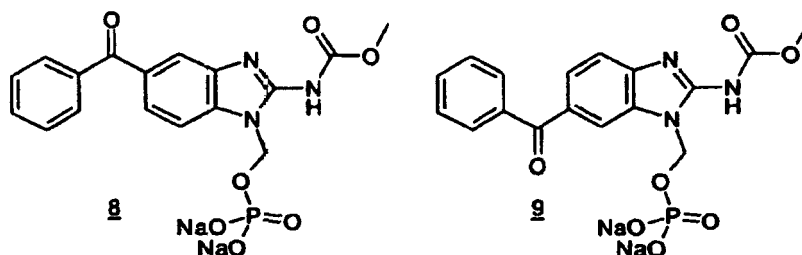


Se suspendió una mezcla 1:1 de isómeros 4 y 5 (50 mg) en metanol (2 mL) y se añadió una solución 0,1 N de metóxido sódico con agitación hasta que se alcanzó un pH 11. Se concentró la solución y después se secó con un alto nivel de vacío. Se obtuvieron los productos deseados (52 mg) como un sólido blanco en una proporción 1:1 de los dos regio-isómeros 6 y 7.

Sal disódica de éster metílico de ácido (5-fenilsulfanil-1-fosfonooximetil-1(H)-benzoimidazol-2-il)-carbámico 6 y sal disódica de éster metílico de ácido (6-fenilsulfanil-1-fosfonooximetil-1(H)-benzoimidazol-2-il)-carbámico 7. ^1RMN (D_2O) δ 7,75 (d, J = 1,3 Hz), 7,59 (d, J = 6,8 Hz, 1H), 7,58 (s, 1H), 7,46 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,40-7,26 (m, 12H), 5,69 (d, J = 6,0 Hz, 2H), 5,66 (d, J = 6,2 Hz, 2H), 3,76 (s, 3H), 3,75 (s, 3H); $^{31}\text{P-RMN}$ (D_2O) δ 2,89 (s).

Ejemplo 2

Síntesis de sal disódica de éster metílico de ácido (5-benzoil-1-fosfonooximetil-1(H)-benzoimidazol-2-il)-carbámico 8 y sal disódica de éster metílico de ácido (6-benzoil-1-fosfonooximetil-1(H)-benzoimidazol-2-il)-carbámico 9



Se sintetizaron los compuestos 8 y 9 aplicando la secuencia de síntesis del ejemplo 1.

Sal disódica de éster metílico de ácido (5-benzoil-1-fosfonooximetil-1(H)-benzoimidazol-2-il)-carbámico 8 y sal disódica de éster metílico de ácido (6-benzoil-1-fosfonooximetil-1(H)-benzoimidazol-2-il)-carbámico 9. $^1\text{H-RMN}$ (D_2O) δ 7,91-7,45 (m, 16H), 5,67-5,61 (m, 4H), 3,73-3,71 (m, 6H); $^{31}\text{P-RMN}$ (D_2O) δ 2,72 (s).

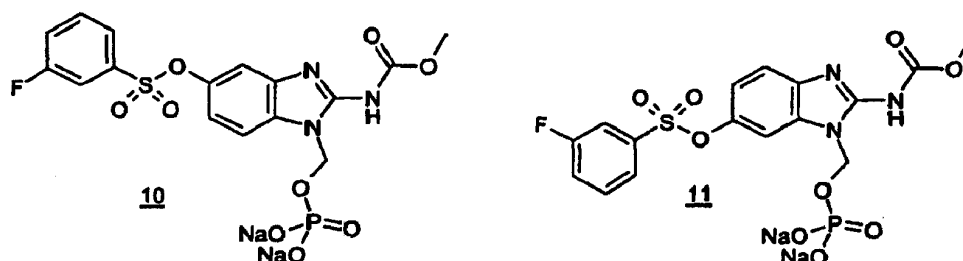
Ejemplo 3

Síntesis de sal disódica de éster 2-metoxicarbonilamino-1-fosfonooximetil-3(H)-benzoimidazol-5-ílico de ácido 3-fluoro-bencenosulfónico 10 y sal disódica de éster 2-metoxicarbonilamino-3-fosfonooximetil-3(H)-benzoimidazol-5-ílico de ácido 3-fluoro-bencenosulfónico 11

10

15

20



Se sintetizaron los compuestos 10 y 11 aplicando la secuencia de síntesis descrita en el ejemplo 1.

25

Sal disódica de éster 2-metoxicarbonilamino-1-fosfonooximetil-3(H)-benzoimidazol-5-ílico de ácido 3-fluoro-bencenosulfónico 10 y sal disódica de éster 2-metoxicarbonilamino-3-fosfonooximetil-3(H)-benzoimidazol-5-ílico de ácido 3-fluoro-bencenosulfónico 11. $^1\text{H-RMN}$ (D_2O) δ 7,83-7,75 (m, 4H), 7,39-7,20 (m, 8H), 6,80-6,70 (m, 2H), 5,58-5,61 (m, 4H), 3,71 (s, 6H); $^{31}\text{P-RMN}$ (D_2O) δ 3,23 (s).

30

Ejemplo 4

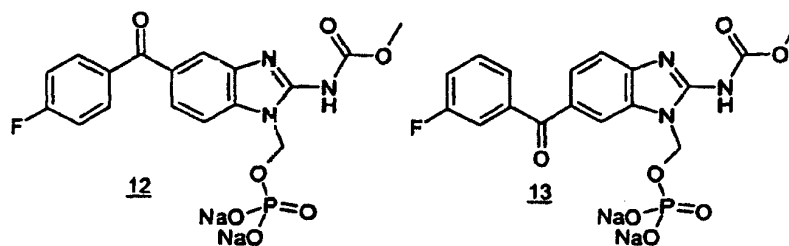
35

Síntesis de sal disódica de éster metílico de ácido (5-(4-fluoro)-benzoil-1-fosfonooximetil-1(H)-benzoimidazol-2-il)-carbámico 12 y sal disódica de éster metílico de ácido (6-(4-fluoro)-benzoil-1-fosfonooximetil-1(H)-benzoimidazol-2-il)-carbámico 13

40

45

50



Se sintetizaron los compuestos 12 y 13 aplicando la secuencia de síntesis descrita en el ejemplo 1.

55

Sal disódica de éster metílico de ácido (5-(4-fluoro)-benzoil-1-fosfonooximetil-1(H)-benzoimidazol-2-il)-carbámico 12 y sal disódica de éster metílico de ácido (6-(4-fluoro)-benzoil-1-fosfonooximetil-1(H)-benzoimidazol-2-il)-carbámico 13. $^1\text{H-RMN}$ (D_2O) δ 7,86-7,45 (m, 10H), 7,21-7,16 (m, 4H), 5,66-5,60 (m, 4H), 3,71 (m, 6H); $^{31}\text{P-RMN}$ (D_2O) δ 3,08 (s).

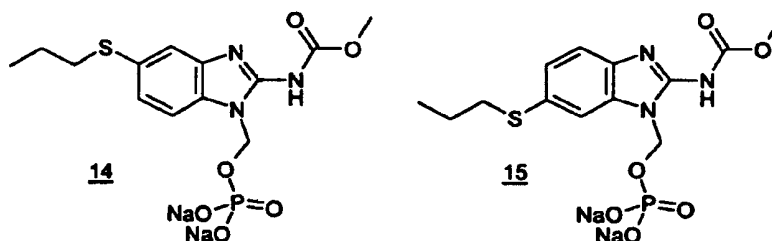
60

65

ES 2 344 275 T3

Ejemplo 5

Síntesis de sal disódica de éster metílico de ácido 1-fosfonooximetil-5-propilsulfanil-1(H)-benzoimidazol-2-il)-carbámico 14 y sal disódica de éster metílico de ácido 1-fosfonooximetil-6-propilsulfanil-1(H)-benzoimidazol-2-il)-carbámico 15

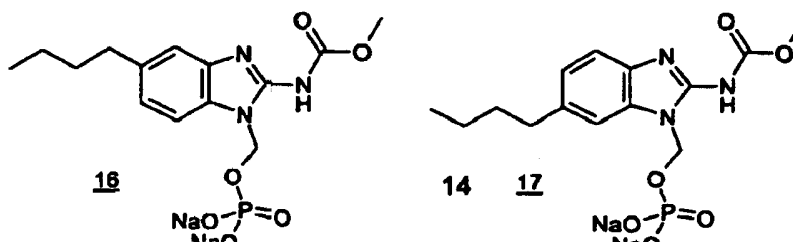


Se sintetizaron los compuestos 14 y 15 aplicando la secuencia de síntesis descrita en el ejemplo 1. En este caso, sin embargo, fue más apropiado durante la primera etapa añadir una solución de sal sódica de éster metílico de ácido (5-propilsulfanil-1(H)-benzoimidazol-2-il)-carbámico en N-metilpirrolidona a una solución de éster clorometílico de éster di-terc-butílico de ácido fosfórico.

Sal disódica de éster metílico de ácido 1-fosfonooximetil-5-propilsulfanil-1(H)-benzoimidazol-2-il)-carbámico 14 y sal disódica de éster metílico de ácido 1-fosfonooximetil-6-propilsulfanil-1(H)-benzoimidazol-2-il)-carbámico 15. $^1\text{H-RMN}$ (D_2O) δ 7,53-7,22 (m, 6H), 5,58 (s, 4H), 3,70 (s, 6H), 2,91-2,83 (m, 4H), 1,56-1,49 (m, 4H), 0,90-0,85 (m, 6H); $^{31}\text{P-RMN}$ (D_2O) δ 2,71 (s).

Ejemplo 6

Sal disódica de éster metílico de ácido (5-butil-1-fosfonooximetil-1(H)-benzoimidazol-2-il)-carbámico 16 y sal disódica de éster metílico de ácido (6-butil-1-fosfonooximetil-1(H)-benzoimidazol-2-il)-carbámico 17

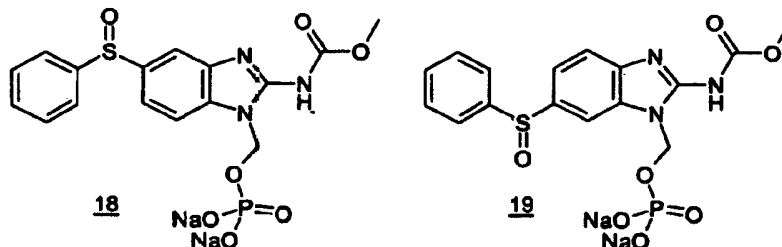


Se sintetizaron los compuestos 16 y 17 utilizando la secuencia de síntesis descrita en el ejemplo 1.

Sal disódica de éster metílico de ácido (5-butil-1-fosfonooximetil-1(H)-benzoimidazol-2-il)-carbámico 16 y sal disódica de éster metílico de ácido (6-butil-1-fosfonooximetil-1(H)-benzoimidazol-2-il)-carbámico 17. $^1\text{H-RMN}$ (D_2O) δ 7,36-7,00 (m, 6H), 5,51 (d, 4H), 3,62 (s, 6H), 2,55 (q, 4H), 1,50-1,43 (m, 4H), 1,22-1,33 (m, 4H), 0,78-0,74 (m, 6H); $^{31}\text{P-RMN}$ (D_2O) δ 2,50 (s).

Ejemplo 7

Sal disódica de éster metílico de ácido (5-bencenosulfinil-1-fosfonooximetil-1(H)-benzoimidazol-2-il)-carbámico 18 y sal disódica de éster metílico de ácido (6-bencenosulfinil-1-fosfonooximetil-1(H)-benzoimidazol-2-il)-carbámico 19



Se sintetizaron los compuestos 18 y 19 aplicando la secuencia de síntesis descrita en el ejemplo 1.

Sal disódica de éster metílico de ácido (5-bencenosulfinil-1-fosfonooximetil-1(H)-benzoimidazol-2-il)-carbámico 18 y sal disódica de éster metílico de ácido (6-bencenosulfinil-1-fosfonooximetil-1(H)-benzoimidazol-2-il)-carbámico 19. $^1\text{H-RMN}$ (D_2O) δ 7,74-7,43 (m, 16H), 5,63 (d, 4H), 3,71 (m, 6H); $^{31}\text{P-RMN}$ (D_2O) δ 3,25 (s).

Se puede valorar la utilidad de los compuestos como antihelmínticos, por ejemplo, a través de las siguientes técnicas.

Ejemplo 8

Actividad contra *Ascaridia galli* (ascaris lumbricoides de los pollos) y *Oesophagostomum dentatum* (gusano nodular de los cerdos)

Se sometieron a ensayo los efectos antihelmínticos de los compuestos de la presente invención *in vitro* utilizando estadios larvales alojados en el intestino de dos especies de nematodos parasitarios: *Ascaridia galli* (ascaris lumbricoides de los pollos), estadio larval 3 (L3) y *Oesophagostomum dentatum* (gusano nodular de los cerdos), estadios larvales 3 y 4 (L3 y 4).

Principio de los ensayos

Se incubaron varias concentraciones de compuestos en placas de microvaloración de 96 pocillos, en los que se habían distribuido parásitos a 20 larvas por pocillo. Se clasificaron los efectos antihelmínticos el día 5 por examen microscópico valorando la mortalidad, los daños, la motilidad, la progresión de desarrollo y la absorción de rojo neutro de las larvas en comparación con un control DMSO y el antihelmíntico normal fenbendazol. Se definieron los efectos antihelmínticos según la concentración efectiva mínima (MEC) tal como se indica en la tabla 1.

TABLA 1

Efectos antihelmínticos definidos según la concentración efectiva mínima (MEC)

Compuestos	Concentraciones efectivas mínimas (μM)		
	A. galli (L3)	O. dentatum (L3)	O. Dentatum (L4)
4 y 5 (mezcla 1:1)	0,050	0,050	0,050
	0,050	0,050	0,050
	0,025	0,050	0,050
	0,050	0,050	0,050
Fenbendazol	0,050	1,000	0,025

ES 2 344 275 T3

Ejemplo 9

*Evaluación de la eficacia antihelmíntica de ésteres metílicos de ácido (5- y 6-fenilsulfanil-1-fosfonooximetil-1(H)-benzoimidazol-2-il)-carbámico en pollos experimentalmente infectados con *Ascaridia galli**

Se diseñó este estudio para valorar la eficacia de los ésteres metílicos de ácido (5- y 6-fenilsulfanil-1-fosfonooximetil-1(H)-benzoimidazol-2-il)-carbámico (en adelante denominado “compuesto A”) en comparación con fenbendazol mezclado en el pienso y una formulación comercial de fenbendazol (Panacur® Suspensión 2,5% ad us. vet) contra *A. galli* en pollos infectados experimentalmente.

Se infectaron experimentalmente los pollos por vía oral (por ración de alimento) con 150 larvas que contenían huevos de *A. galli*. Se agrupó un total de 60 pollos en cajas de 5 pollos y se clasificaron en 4 grupos de tratamiento (A-D) que consistían en 15 pollos cada uno. Se alimentaron los animales con una dieta completa para pollos de corral y que tenían acceso a agua potable. Se trató el grupo A con el compuesto A, se trató el grupo B con Panacur® Suspensión 2,5%, y se alimentó al grupo C con una dieta completa medicada con fenbendazol. El grupo D sirvió como control sin tratar y se le aplicó agua desionizada sin fármaco. En la tabla 1 se muestran los detalles de los grupos de tratamiento.

Preparación de formulaciones de tratamiento

Se pesó el compuesto A introduciéndolo en tubos con tapón de rosca de 50 mL y se disolvió en NaHCO₃ acuoso. Se transfirió la suspensión de Panacur® al 2,5% a los tubos con tapón de rosca de 50 mL y se diluyó con agua desionizada. Se mezcló fenbendazol con la dieta completa para los pollos de corral.

Dosis y aplicación

Se administró una dosis a los grupos A, B y D por vía oral a través de la ración de pienso dividida en 4 dosis únicas diariamente durante 5 días consecutivos; al grupo C se le alimentó con alimento medicado. Las dosis administradas por ración fueron calculadas en función de la ingestión de alimento media medida presuponiendo que el alimento habría de ser medicado.

Los detalles sobre la dosis y sobre la administración se indican en la tabla 2.

TABLA 2

Detalles de la dosis y la administración

Grupo	Caja	Compuesto	Formulación	Dosis	Administración
A	1 2	Compuesto A	NaHCO ₃ acuoso	100 ppm	0,5 ml por ración de pienso, 4 veces al día
B	3 5 6	Suspensión Panacur® al 2,5%	Agua desionizada	60 ppm	
C	7 8 9	Fenbendazol	Alimento medicado	100 ppm	En el alimento a demanda
D	10 11 12	-	Agua desionizada	-	0,5 ml por ración de pienso, 4 veces al día

Desde el día 0 (D0) (primer tratamiento) hasta el D8 (necropsia) se recogieron los gusanos excretados una vez o dos veces al día y se realizó el recuento. Se sacrificó a los animales 4 días después del último tratamiento y se extirpó el tracto gastrointestinal y se abrió (excepto el ciego). Se realizó el recuento de los gusanos adultos presentes en el intestino.

ES 2 344 275 T3

El resultado del tratamiento fue una reducción del 100% en el número de gusanos en los grupos tratados (A-C) en comparación con el grupo de control (D).

5 Ejemplo 10

Evaluación de la eficacia antihelmíntica de ésteres metílicos de ácido (5- y 6-fenilsulfanil-1-fosfonooximetil-1(H)-benzimidazol-2-il)-carbámico en jerbos experimentalmente infectadas con Haemonchus contortus

10 Se diseñó el estudio para comparar la eficacia antihelmíntica de ésteres metílicos de ácido (5- y 6- fenilsulfanil-1-fosfonooximetil-1(H)-benzimidazol-2-il)-carbámico (en adelante denominado “compuesto A”) y fenbendazol contra nematodos strongilidos del estómago (*Haemonchus contortus*) y jerbos (*Meriones unguiculatus*) tras la administración intraperitoneal (IP), subcutánea (SC) y oral (PO). Se sometieron a prueba los compuestos en dosis de 3 mg/kg de peso corporal (PC), 1 mg/kg peso corporal y 0,3 mg/kg peso corporal.

15 Se infectó a los animales por vía oral con larvas L3 de *H. contortus*. El día 10 después de la infección (PI) se trató a los animales una vez IP, SIC o PO con los compuestos de ensayo en DMF al 10%/agua al 90% en dosis de 3,0 mg/kg peso corporal, 10,0 mg/kg peso corporal o 0,3 mg/kg peso corporal. Tres días después del tratamiento se necropsió a los animales y se determinó la carga de larvas en el estómago. Se definió la eficacia como la reducción del recuento medio de larvas (media geométrica) en los grupos de tratamiento en comparación con el grupo de control. Se investigó la relación dosis-respuesta calculando el coeficiente de correlación de Pearson.

20 Para fenbendazol y una dosis de 3 mg/kg de peso corporal, se observó una reducción del número de larvas entre 95,10% (administración SC) y 100,00% (administración IP). Para los grupos a los que se administró una dosis de 1 mg/kg de peso corporal, se observó una reducción comprendida entre 78,05% (administración PO) y 89,33% (administración IP). Para los grupos a los que se les administró una dosis de 0,3 mg/kg peso corporal, la reducción osciló entre 80,63% (administración IP) y 91,73% (administración PO).

30 Para el compuesto A y una dosis de 3 mg/kg peso corporal (equivalente fenbendazol 1,8 mg/kg peso corporal), se observó una reducción del número de larvas comprendida entre 90,81% (administración PO) y 94,84% (administración SC). Para los grupos a los que se administró una dosis de 1 mg/kg peso corporal (equivalente fenbendazol 0,6 mg/kg peso corporal) la reducción osciló entre 87,61% (administración SC) y 90,65% (administración IP). Para los grupos a los que se administró 0,3 mg/kg de peso corporal (equivalente de fenbendazol de 0,2 mg/kg peso corporal) la reducción osciló entre 47,40% (administración SC) y 87,00% (administración PO). Todas las reducciones del número de larvas de los grupos de tratamiento fueron significativamente diferentes en comparación con el grupo de control.

En la tabla 3 se muestran los resultados de la descripción.

TABLA 3

40 *Eficacia de fenbendazol y el compuesto A en una serie de larvas de H. contortus en comparación con el grupo de control sin tratar*

Ruta de administración	Equivalente fenbendazol [mg/kg]		Reducción del número de gusanos (%)	
	Fenbendazol	Compuesto A	Fenbendazol	Compuesto A
IP	3,0	1,8	100,00	93,81
SC			95,10	94,84
PO			96,49	90,81
IP	1,0	0,6	89,33	90,65
SC			89,16	87,61
PO			78,05	88,62
IP	0,3	0,2	80,63	65,02
SC			88,36	47,40
PO			91,73	87,00
IP/SC/PO	-	-	-	-

El tratamiento con el compuesto A tuvo la misma eficacia que el tratamiento con fenbendazol y la comparación de los recuentos de larvas entre los diferentes equivalentes de fenbendazol presentó una alta correlación con el coeficiente de correlación de $R = -0,7622$. La dependencia de dosis y la correlación de dosis se pudo demostrar para ambos compuestos.

5

Ejemplo 11

10 *Evaluación de la eficacia antihelmíntica de ésteres metílicos de ácido (5- y 6-fenilsulfanil-1-fosfonooximetil-1(H)-benzoimidazol-2-il)-carbámico en jerbos infectados experimentalmente con Trichostrongylus axei y T. colubriformis*

15 Se diseñó este estudio para comparar la eficacia antihelmíntica de ésteres metílicos de ácido (5- y 6-fenilsulfanil-1-fosfonooximetílico-1(H)-benzoimidazol-2-il)-carbámico (en adelante denominados “compuesto A”) y fenbendazol contra nematodos strongílidos del estómago e intestinales (*T. axei* y *T. colubriformis*) en jerbos (*Meriones unguiculatus*), después de la administración intraperitoneal (IP), subcutánea (SC) y oral (PO). Se realizó el ensayo de los compuestos en dosis de 3 mg/kg peso corporal, 1 mg/kg peso corporal y 0,3 mg/kg peso corporal.

20 Se infectó por vía oral a los animales por vía oral con larvas L3 de *T. axei* y *T. colubriformis*. El día 19 después de la infección (PI) se trató a los animales una vez IP, SC o PO con los compuestos de ensayo en DMF 10%/agua 90% una dosis de 3 mg/kg de peso corporal, 1 mg/kg peso corporal o 0,3 mg/kg peso corporal. Tres días después del tratamiento, se necropsió a los animales y se determinó la carga de gusanos en el estómago y el intestino delgado. Se definió la eficacia como una reducción del recuento medio de gusanos (media geométrica) en los grupos de tratamiento en comparación con el grupo de control. Se investigó la relación respuesta a dosis calculando el coeficiente de correlación de Pearson.

25 Para fenbendazol y una dosis de 3 mg/kg de peso corporal, se observó una reducción del número de gusanos del 100% para los tres grupos de administración y ambas especies de gusanos y fue significativamente diferente del grupo de control ($p = 0,0011$). Para los grupos a los que se les administró una dosis de 1 mg/kg de peso corporal, la reducción osciló entre 80,94% (administración IP; $p = 0,0422$) y 88,80% (administración PO; $p = 0,0162$) para la infección con *T. axei*. Para *T. colubriformis*, la reducción del número de gusanos osciló entre 80,04% (administración IP; $p = 0,0173$ y administración PO; $p = 0,0563$) y 81,10% (administración SC; $p = 0,0097\%$). Para los grupos a los que se les administró una dosis de 0,3 mg/kg peso corporal, la reducción fue 82,15% para administración SC ($p = 0,0162$) para la infección con *T. axei* y no se pudo observar ninguna reducción del número de gusanos para los otros grupos de administración (administración IP: -283,85%; $p =$ no calculable y administración PO: -115,44%; $p =$ no calculable). Para *T. colubriformis*, la reducción del número de gusanos osciló entre 43,18% (administración SC; $p = 0,2543$) y 79,33% (administración IP; $p = 0,0162$).

30 Para el compuesto A y una dosis de 3 mg/kg peso corporal (1,8 mg/kg peso corporal equivalente de fenbendazol) se observó una reducción del número de gusanos comprendida entre 98,00% (administración PO; $p = 0,0011$) y 100% (administración IP y SC; $p = 0,0011$) para la infección con *T. axei*. Para la infección con *T. colubriformis*, la reducción del número de gusanos osciló entre 85,70% (administración SC; $p = 0,0108$) y 100,00% (administración PO; $p = 0,0011$). Para los grupos a los que se les administró una dosis de 1 mg/kg peso corporal (equivalente de fenbendazol 0,6 mg/kg peso corporal), la reducción osciló entre 82,98% (administración SC; $p = 0,0108$) y 96,71% (administración PO; $p = 0,0022$) para la infección con *T. axei*. Para *T. colubriformis*, la reducción del número de gusanos osciló entre 28,18% (administración IP; $p = 0,3019$) y 68,61% (administración SC, $p = 0,0682$). Para los grupos a los que se les administró una dosis de 0,3 mg/kg peso corporal (equivalente de fenbendazol 0,2 mg/kg peso corporal), la reducción fue 69,66% para administración IP ($p = 0,0530$) y 59,20% para administración PO ($p = 0,1407$) para infección con *T. axei* y no pudo observarse reducción del número de gusanos para administración SC (-43,64%; $p =$ no calculable). Para *T. colubriformis*, no se pudo observar ninguna reducción del número de gusanos para administración IP (-50,17%; $p =$ no calculable), la administración SC (-106,50%; $p =$ no calculable) para administración PO (-3,71%; $p = 0,4740$).

55

60

65

ES 2 344 275 T3

En la tabla 4 se describen los resultados.

TABLA 4

5 *Eficacia de fenbendazol y el compuesto A sobre el número de gusanos de T. axei y T. colubriformis, en comparación con el grupo de control sin tratar*

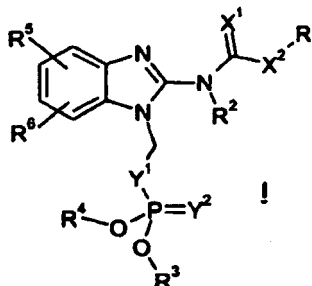
Especie gusanos	Ruta de administración	Equivalente de fenbendazol (mg/kg)		Reducción del número de gusanos (%)		
		Fenbendazol	Compuesto A	Fenbendazol	Compuesto A	
T. axei	IP	3,0	1,8	100,00	100,00	
	SC			100,00	100,00	
	PO			100,00	98,00	
	IP	1,0	0,6	80,94	83,98	
	SC			82,15	82,98	
	PO			88,80	96,71	
	IP	0,3	0,2	-283,85	69,66	
	SC			82,15	-43,64	
	PO			-115,44	59,20	
	IP/SC/PO	-	-	-	-	
	T. columbriiformis	IP	3,0	1,8	100,00	93,26
		SC			100,00	85,70
PO				100,00	100,00	
IP		1,0	0,6	80,04	28,18	
SC				81,10	68,61	
PO				80,04	37,27	
IP		0,3	0,2	79,33	-50,17	
SC				43,18	-106,50	
PO				66,75	-3,71	
IP/SC/PO		-	-	-	-	

50 El tratamiento con el compuesto A tuvo la misma eficacia que el tratamiento con fenbendazol y la comparación del recuento de gusanos entre los diferentes equivalente de fenbendazol demostró una alta correlación con el coeficiente de correlación de $R = -0,8146$ para *T. axei* y $R = -0,9161$ para *T. colubriformis*. La dependencia de dosis y la correlación de dosis se pudo demostrar para ambos compuestos.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto representado por la siguiente fórmula general:

Formula I



en la que:

X¹ y X² son O o S, siendo al menos uno entre X¹ y X² O,

Y¹ e Y² son O ó S, siendo la menos uno entre Y¹ e Y² O,

R¹ es alquilo de 1 a 4 átomos de carbono,

R² R³ y R⁴ son independientemente cada uno hidrógeno, o un catión,

R⁵ y R⁶ pueden ser independientemente hidrógeno o un halógeno o alquilo que tiene de 1 a 8 átomos de carbono;

-OR⁷ siendo R⁷ un alquilo que tiene de 1 a 8 átomos de carbono; o

-SR⁸ pudiendo ser R⁸ un alquilo que tiene de 1 a 8 átomos de carbono, o arilo, o

-CO-R⁹, siendo R⁹ un alquilo que tiene de 1 a 8 átomos de carbono, cicloalquilo que tiene de 3 a 6 átomos de carbono o R⁹ es arilo; o

-OSO₂-AR, siendo Ar un arilo, o

-S(O)R¹⁰, siendo R¹⁰ un alquilo que tiene de 1 a 8 átomos de carbono, o R¹⁰ es arilo.

2. Un compuesto según la reivindicación 1 en el que X¹ y X² son ambos O.

3. Un compuesto según las reivindicaciones 1 ó 2, siendo Y¹ e Y² ambos O.

4. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, siendo X¹ y X² así como Y¹ e Y² O.

5. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que R² es H y R³ y R⁴ son sodio o siendo R², R³ y R⁴, sodio.

6. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que R¹ es metilo.

7. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que R⁵ es H y R⁶ es n-butilo.

8. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que R⁵ es H y R⁶ es -OR⁷, siendo R⁷ n-propilo.

9. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que R⁵ es H y R⁶ es -SR⁸, siendo R⁸ n-propilo o fenilo.

10. Un compuesto según la reivindicación 9, en el que R⁸ es fenilo.

11. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que R⁵ es H y R⁶ es -CO-R⁹, siendo R⁹ fenilo, opcionalmente sustituido en la posición 4 por un átomo de flúor.

ES 2 344 275 T3

12. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que R⁵ es H y R⁸ es -OSO₂-Ar, siendo Ar fenilo sustituido en la posición 4 por un átomo de flúor.

5 13. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que R⁵ es H y R⁶ es -S(O)R¹⁰, siendo R¹⁰ n-propilo o fenilo.

14. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 6 a 13, en el que R⁶ está unido en la posición 5- o en la posición 6- del núcleo de benzimidazol.

10 15. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, para su uso como medicamento.

16. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, para su uso como agente antihelmíntico.

15 17. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

18. Uso de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en un método para la preparación de un medicamento destinado para el agua para el tratamiento de animales contra parásitos.

20 19. Uso de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en un método para la preparación de un medicamento destinado para el agua para el tratamiento de animales contra antihelmínticos.

25

30

35

40

45

50

55

60

65