

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 553 881**

51 Int. Cl.:

A01N 25/00 (2006.01)

A01N 43/44 (2006.01)

A01P 11/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.09.2007 E 07823963 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.09.2015 EP 2081426**

54 Título: **Veneno contra plagas**

30 Prioridad:

30.09.2006 GB 0619326

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

14.12.2015

73 Titular/es:

**MORVUS TECHNOLOGY LTD. (100.0%)
Llanvetherine Court
Abergavenny NP7 8NL, GB**

72 Inventor/es:

**KNOX, RICHARD;
MELTON, ROGER y
BURKE, PHILIP**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 553 881 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

Veneno contra plagas

5 La invención se refiere a un método para envenenar de forma selectiva ratas.

El listado o discusión de un documento que se ha publicado previamente en la presente memoria descriptiva no debe considerarse necesariamente como el reconocimiento de que el documento es parte del estado de la técnica o es de conocimiento general común.

10 Las plagas tales como ratas son un problema en todo el mundo. Por ejemplo, se ha estimado que las ratas dañan o consumen el 10 % del suministro de alimentos mundial. Se estima que la población de ratas en el Reino Unido es de aproximadamente 60 millones, que es aproximadamente la misma que la población humana. Se ha producido un aumento significativo en la población de la rata parda (*Rattus norvegicus*) en el R.U., en particular en la zona de los Home Counties. El deterioro y la falta de fondos para el mantenimiento de un sistema de alcantarillado envejecido, el uso de materiales de construcción plásticos, la proliferación de establecimientos de comida rápida, el aumento de basura urbana, la falta de higiene, la reducción de financiación para el control de plagas por parte de las autoridades locales y la resistencia a la primera y la segunda generaciones de venenos pueden estar contribuyendo al aumento de la población.

20 La población de ratas se ha vuelto más resistente a muchos de los venenos conocidos. Además, los venenos conocidos son normalmente tóxicos para otras especies tales como seres humanos, mascotas, otros mamíferos y pájaros. Por ejemplo, los milanos reales son una especie protegida y sujeta a un programa de recuperación en desarrollo. La población de milanos reales podría estar en riesgo por alimentarse de ratas muertas por el veneno de ratas. A este respecto, se han hallado restos de veneno en milanos.

30 Los productos venenosos predominantes para plagas (en particular, ratas) del mercado siguen siendo la primera generación de warfarina anticoagulante y sus análogos, y la segunda generación de anticoagulantes tales como bromadiolona. Los anticoagulantes de primera generación son normalmente objeto de desarrollo de resistencia por parte de las ratas y otras plagas. Los anticoagulantes de segunda generación, aunque normalmente menos propensos a desarrollar resistencia, son extremadamente tóxicos en un amplio intervalo de otras especies.

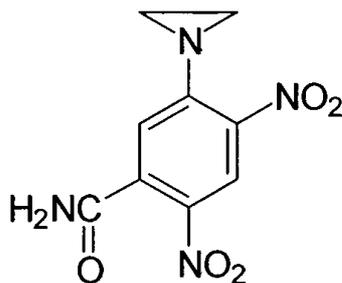
35 Las ratas son difíciles de matar con venenos puesto que sus hábitos de alimentación reflejan su puesto como carroñeros. Se sabe que las ratas inicialmente evitan nuevos alimentos y la muestra inicial cuando toman el cebo en primer lugar es muy pequeña. Si los efectos adversos se producen con rapidez a partir de ese momento, el cebo no se tomará de nuevo, situación conocida como timidez al cebo. Por consiguiente, un veneno para ratas efectivo será normalmente de acción lenta. En otras palabras, los síntomas se desarrollarán lentamente de forma que el roedor continuará comiendo el cebo, evitando de ese modo el rechazo al cebo. Se describen a continuación otras características deseables de venenos para ratas.

40 El veneno debe ser apetitoso para las plagas y debe ser tóxico para las plagas en una cantidad media de cebo consumido. Además, las plagas no deben desarrollar tolerancia inmunitaria o física al veneno.

45 Idealmente, el veneno debe ser específico para una especie o grupo de especies en particular, por ejemplo ratas. La edad y el sexo de la especie diana no deben afectar su susceptibilidad. El veneno debe presentar un riesgo mínimo para los seres humanos y otras criaturas tales como animales domésticos. También debe haber un riesgo mínimo de envenenamiento secundario de los carroñeros.

50 Idealmente, el veneno debe ser de bajo coste para producirse y formularse fácilmente en cebo sólido y/o líquido. El veneno debe degradarse preferentemente en productos inofensivos.

El compuesto Tretazicar es 5-(aziridin-1-il)-2,4-dinitrobenzamida (CB1954), cuya estructura se muestra a continuación.



55 Tretazicar tiene el número de registro C.A.S 21919-05-1 y su síntesis y uso como un agente anticancerígeno se ha descrito en Khan & Ross, "Tumour growth inhibitory nitrophenylaziridines and related compounds: structure-activity

relationships", Chem-Biol Interactions 1, 27-47 y en Cobb *et al* (1969) Biochem. Pharmacol. 18, 1519-1527.

Tretazicar es capaz de erradicar un tumor específico en rata ("tumor de Walker"), aunque tiene poco o ningún efecto en otros varios tumores (Cobb *et al* (1969) *Biochem. Pharmacol.* 18, 1519-1527) y no muestra un beneficio terapéutico en los estudios oncológicos clínicos humanos (Knox *et al* (1993) *Cancer and Metastasis Rev.* 12, 195-212). Se ha demostrado que una enzima nitrorreductasa presente en el tumor de Walker es capaz de activar Tretazicar reduciendo su grupo 4-nitro para formar el compuesto 5-aziridino-4-hidroxilamino-2-nitrobenzammina, un potente agente de reticulación de ADN electrófilo en presencia de tioésteres intracelulares (Knox *et al* (1988) *Biochem. Pharmacol.* 37, 4661-4669; Knox *et al* (1991) *Biochem. Pharmacol.* 42, 1691-1697). La enzima correspondiente en las células humanas tiene cinéticos relativamente lentos de reducción, haciendo de este modo células humanas insensibles a los efectos de CB1954 (Boland *et al* (1991) *Biochem. Pharmacol.* 41, 867-875).

Además de su potente y específica actividad antitumoral, Tretazicar ha demostrado ser tóxico para las ratas (Cobb (1970) *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 17, 231-238). No obstante, Cobb consideró necesario administrar Tretazicar directamente en el duodeno (o por otras vías tales como vía subcutánea, intravenosa e intraperitoneal) en lugar de la vía oral ya que la exposición de Tretazicar a la acidez del estómago provocaría que se inactivase (Cobb (1970) *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 17, 231-238). Workman *et al* demostraron que, cuando se envasa en una cápsula de gelatina, la biodisponibilidad oral de Tretazicar en perros fue de aproximadamente un 40 % (Workman *et al* (1986) *Cancer Chemother. Pharmacol.* 16, 1-8), pero no propusieron una formulación oral de Tretazicar para su uso antitumoral.

El documento GB 2.365.338 se refiere al uso de Tretazicar como un profármaco en el tratamiento de tumores en pacientes humanos.

Sorprendentemente, los presentes inventores han hallado actualmente que el compuesto de Tretazicar puede utilizarse como un veneno administrado por vía oral para ratas, el veneno tiene muchas, si no todas, las características deseables descritas previamente en relación con un veneno para ratas. Esto es sorprendente teniendo en cuenta que se conoce Tretazicar durante más de 35 años y se considera que es inadecuado para la administración por vía oral.

La presente invención proporciona métodos y composiciones según se definen en las reivindicaciones adjuntas.

Por la expresión "disponible por vía oral" los inventores incluyen el significado de que las ratas ingieren la formulación. En otras palabras, la formulación tiene por objeto que se introduzca o se tome por las ratas por vía oral, es decir, comiendo o bebiendo. La formulación es aquella que es eficaz para envenenar ratas cuando esta la ingiere (y si se ingiere lo suficiente matará a la rata). La formulación también permite normalmente que Tretazicar produzca su efecto citotóxico en la rata cuando la ingiere o la toma. La formulación administrada por vía oral que contiene Tretazicar se protege de la hidrólisis ácida, por ejemplo se protege del ácido del estómago.

Normalmente, las formulaciones disponibles oralmente son aquellas que resisten el ácido en el estómago de la rata y administra Tretazicar a partes del tracto gastrointestinal más allá del estómago (como los intestinos, en particular el duodeno) en una forma que puede absorberse y que tenga su efecto citotóxico.

Por "envenenamiento", los inventores incluyen el significado de que Tretazicar deteriora la función, provoca daños estructurales o de otra manera hiere a la rata con la intención de matarla. Preferentemente, las ratas mueren por la composición y el método de la presente invención.

Por el término "plaga", los inventores se refieren a animales, particularmente animales pequeños, que son molestos para el hombre. Por ejemplo, las plagas incluyen roedores (particularmente ratas), aves (por ejemplo, palomas) y pequeños mamíferos (por ejemplo, topos, conejos y ardillas), especies de paramélidos, especies *Mastomys* y ectoparásitos (por ejemplo, pulgas, garrapatas, piojos y ácaros).

En el presente documento también se describe una formulación de Tretazicar en la que el Tretazicar se protege de la hidrólisis ácida y en la que la formulación se presenta en forma líquida.

Se describe también en el presente documento una formulación administrada por vía oral de Tretazicar, en la que en la formulación administrada por vía oral, Tretazicar se protege de la hidrólisis ácida, y siempre que la formulación no sea Tretazicar sólido en una cápsula de gelatina. Para evitar cualquier duda, una cápsula de gelatina no es una microcápsula que, como se discute a continuación, se incluye en la invención.

Se sabe que el anillo de aziridina de Tretazicar es susceptible a la hidrólisis ácida (véase, por ejemplo, Workman *et al* mencionados previamente). Por consiguiente, se ha considerado previamente inadecuado administrar oralmente Tretazicar puesto que se pensó que el ambiente ácido del estómago hidroliza el anillo de aziridina. El producto del anillo abierto por la hidrólisis no tiene la toxicidad con respecto a las plagas de Tretazicar (Khan & Ross, *Chem Biol Interact.* 1, 27-47 (1969)).

Las composiciones de la invención contienen preferentemente Tretazicar en una forma que lo protegen de la hidrólisis ácida. En particular, las composiciones de la invención contienen preferentemente Tretazicar en una forma que lo protegen de la hidrólisis en un pH de 1 a 7, por ejemplo de 1 a 4, más preferentemente 1 a 3 (por ejemplo, 1 a 2) y a una temperatura de 37 °C durante al menos 1 hora. Por consiguiente, Tretazicar puede protegerse de las condiciones ácidas encontradas en el estómago de las plagas. Por ejemplo, se cree que el pH en el estómago de las ratas es de 1,9 a 3 y Tretazicar puede protegerse de la hidrólisis ácida en este intervalo de pH.

Se puede conseguir proteger Tretazicar de la hidrólisis ácida, por ejemplo, revistiendo o encapsulando Tretazicar. De este modo, puede evitarse la liberación de Tretazicar en las condiciones ácidas encontradas en los estómagos de las plagas. Por ejemplo, Tretazicar puede encapsularse en microcápsulas que comprenden un componente seleccionado entre gelatina, almidón, ceras, ftalato de acetato de celulosa, ftalato de acetato de polivinilo, copolímeros de ácido metacrílico y sus mezclas. Sin embargo, como se ha mencionado previamente, las formulaciones descritas en el presente documento no incluyen Tretazicar sólido en una cápsula de gelatina.

El término "almidón" se utiliza para incluir almidones modificados (por ejemplo, celulosa como un almidón modificado) y derivados de almidón tales como éteres y ésteres del compuesto original. Los almidones utilizados son preferentemente de calidad alimentaria o farmacéutica.

Por el término "microcápsulas", los inventores se refieren a microesferas o micropartículas que encapsulan Tretazicar que son sustancialmente esféricas y de tamaño "micrómetro (Tm)". Convenientemente, las microcápsulas que contienen Tretazicar se presentan como una suspensión o suspensión en un líquido o como un sólido

Se apreciará que mientras se desee proteger Tretazicar de la hidrólisis ácida que puede causarse de otro modo por las condiciones en el estómago de las plagas, también se desea que a la entrada en los intestinos, en particular el duodeno, Tretazicar esté disponible de modo que pueda ejercer su efecto citotóxico en las plagas y las envenene. Por consiguiente, en una realización particularmente preferente, cualquier revestimiento (por ejemplo, agente encapsulante) que protege Tretazicar de las condiciones ácidas del estómago se elimina por las condiciones encontradas en los intestinos, en las que el pH está normalmente próximo a 7 (por ejemplo, de aproximadamente 6 a 8 o 6,5 a 7,5). Se disponen materiales poliméricos, tales como ftalato de celulosa (por ejemplo, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa) y/o succinato acetato de hidroxipropilmetilcelulosa, que pueden actuar como un revestimiento o agente encapsulante de Tretazicar que resiste las condiciones ácidas del estómago, pero que se desintegra en las condiciones encontradas en el intestino por ejemplo duodeno. Convenientemente, por lo tanto, Tretazicar se encuentra en una formulación que resiste la hidrólisis ácida en el estómago pero que libera Tretazicar en los intestinos, por ejemplo, el duodeno. Tretazicar en la formulación puede presentarse en forma sólida o en forma líquida (es decir, en solución). Se prefiere que Tretazicar en la formulación esté presente en forma sólida (por ejemplo, como un polvo).

Como se ha mencionado previamente, las ratas son plagas particularmente problemáticas. Los presentes inventores han hallado sorprendentemente que Tretazicar es especialmente adecuado para el envenenamiento de ratas por diversas razones. Por ejemplo, Tretazicar es particularmente tóxico para las ratas en comparación con otros roedores. Se ha informado de que la DL₅₀ de Tretazicar en la rata es 28 mg/kg cuando se administra por vía intraperitoneal aunque de 220 mg/kg en el ratón (Sheard *et al* (1971) *Br. J. Cancer* 25, 838-844). Además, los presentes inventores han hallado sorprendentemente que los efectos tóxicos de Tretazicar en ratas se retrasan cuando se administra por vía oral. Se cree que esta característica ayuda a prevenir la timidez al cebo.

Se describe también en el presente documento una combinación de Tretazicar y cebo.

Por el término "cebo", los inventores se refieren a un medio para atraer, tentar o llamar la atención de las plagas. El cebo puede atraer, tentar o llamar la atención de las plagas utilizando el gusto, olor, forma, color o cualquier otro medio. Preferentemente, no obstante, el cebo atrae, tienta o llama la atención de las plagas por el sabor y/o aroma. Las ratas ingieren la combinación de Tretazicar y el cebo. El cebo puede ser un producto alimentario y la composición puede comprender Tretazicar y un producto alimentario.

El producto alimentario puede ser cualquier material o sustancia que se puede utilizar como alimento. Por consiguiente, el cebo puede ser simplemente un líquido para atraer a las plagas por el sabor y/o aroma. El término producto alimentario no incluye el agua en sí, pero se incluyen soluciones acuosas u oleosas de otros productos alimentarios, tales como soluciones de azúcar. En una alternativa, el cebo no consiste esencialmente de aceite de cacahuete o una mezcla de aceite de cacahuete (también conocido como aceite de maní) y acetona. En otras palabras, en esta alternativa, la combinación de Tretazicar y un producto alimentario no contiene solo Tretazicar y aceite de cacahuete o solo Tretazicar y aceite de cacahuete y acetona.

En un aspecto de la invención se proporciona una composición que comprende Tretazicar y un producto alimentario, en la que el producto alimentario es un producto alimentario sólido seleccionado entre cereales, carne, productos lácteos, frutas, verduras, judías, legumbres y frutos secos. Preferentemente, el producto alimentario comprende un cereal como trigo, avena, cebada, centeno, arroz, maíz o mijo.

Se prevé que las formulaciones que se han descrito previamente en el presente documento podrían mezclarse con cebo. Por ejemplo, las composiciones de la invención comprenden preferentemente una solución de Tretazicar mezclada con cebo. Esto permite una mezcla más completa e incluso la mezcla de Tretazicar con el cebo y puede ayudar a enmascarar el sabor u olor de Tretazicar, evitando de ese modo la timidez al cebo.

5 Por ejemplo, una solución de Tretazicar en un aceite puede mezclarse con el cebo sólido (por ejemplo, un producto alimentario sólido). El aceite es normalmente comestible y puede tener un sabor u olor que ayuda a enmascarar el sabor u olor de Tretazicar. Un aceite preferente es aceite de cacahuete. Otro aceite preferente es aceite vegetal.

10 Se describe también en el presente documento la combinación de una formulación administrada por vía oral de la formulación de Tretazicar (tal como una forma encapsulada que resiste la hidrólisis ácida en el estómago pero que se libera en los intestinos) y un dispositivo o un producto alimentario atractivo para las plagas, particularmente un producto alimentario sólido. Convenientemente, la formulación administrada por vía oral de Tretazicar se suministra a la persona que desea envenenar a las plagas en una forma para añadirse a un dispositivo o un producto
15 alimentario atractivo para las plagas, con instrucciones para su uso con respecto al envenenamiento de plagas. Convenientemente, también se puede suministrar el dispositivo o producto alimentario atractivo para las plagas, entre sí o por separado de la formulación administrada por vía oral de Tretazicar.

20 Al igual que las formulaciones que se han descrito previamente en el presente documento, las composiciones protegen preferentemente Tretazicar de la hidrólisis ácida. Por consiguiente, Tretazicar puede protegerse de la hidrólisis por las condiciones ácidas encontradas en el estómago de las plagas. En otras palabras, las composiciones se adaptan para resistir la liberación de Tretazicar hasta que alcance el intestino (por ejemplo, el duodeno) de la plaga. Esto puede conseguirse, por ejemplo, mediante el revestimiento o encapsulación de Tretazicar como se ha descrito previamente en el presente documento.

25 La presente invención también proporciona un método de envenenamiento de ratas que comprende poner a disposición de la rata una formulación administrada por vía oral de Tretazicar y permite a la rata ingerir la formulación de Tretazicar, en la que la formulación de Tretazicar comprende cebo.

30 Preferentemente, la formulación de Tretazicar se coloca en un sitio o lugar frecuentado por las ratas, como sótanos, desagües y alcantarillas.

35 La cantidad de Tretazicar en la formulación administrada por vía oral es suficiente para envenenar a las ratas que frecuentan el sitio en el que se pone a disposición la formulación. Sin embargo, a veces es difícil determinar el número de ratas que frecuentan un sitio. En cualquier caso, la cantidad de Tretazicar disponible es preferiblemente suficiente para envenenar (preferentemente matar) al menos una rata. Convenientemente, la cantidad de Tretazicar a disposición de las ratas es suficiente para envenenar (preferentemente matar) al menos 5, preferentemente al menos 10 y más preferentemente al menos 20 ratas. Se apreciará que, debido a los hábitos de alimentación de las ratas, las ratas no puede tomar (ingerir) suficiente Tretazicar para matarlas de una sola vez; más bien puede
40 requerirse la ingestión repetida para administrar la dosis letal. Por lo tanto, se alienta a las ratas volver al sitio en el que se ha colocado Tretazicar y/o más de un sitio o lugar de las ratas en el que se pone a disposición Tretazicar.

45 Normalmente, se ponen a disposición en un único sitio al menos 500 mg de Tretazicar mezclado con cebo. Por supuesto, esta cantidad variará dependiendo del número y tamaño de ratas que se considera que frecuentan el sitio y/o el número de ratas que se desea envenenar. A partir de esta base, es posible calcular la cantidad de Tretazicar que debería ser suficiente para envenenar o matar a un número determinado de ratas. Para ejemplo, cientos, miles o incluso más ratas que pueden frecuentar una alcantarilla. En este caso, podrían ponerse a disposición en un solo sitio tanto como 200 g o incluso tanto como 1 kg de Tretazicar.

50 La formulación administrada por vía oral de Tretazicar para su uso en el método de la invención comprende cebo, como se ha descrito previamente en relación con las composiciones de la invención. Más preferentemente, la formulación comprende cebo mezclado con una solución de Tretazicar, por ejemplo una solución de aceite de cacahuete.

55 Las formulaciones de Tretazicar utilizadas en el método de la presente invención se formulan preferentemente de manera que resista la liberación de Tretazicar hasta que alcance el intestino de la rata. Esto se logra normalmente por los métodos que se han descrito previamente en el presente documento, tales como la microencapsulación.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un método para envenenar a una rata que comprende poner a disposición de la rata una formulación administrada por vía oral de Tretazicar (5-(aziridin-1-il)-2,4-dinitrobenzamida) y permitir a la rata ingerir la formulación de Tretazicar, en donde la formulación de Tretazicar comprende cebo.
2. El método de la reivindicación 1, en el que la formulación de Tretazicar se coloca en un sitio frecuentado por las ratas.
- 10 3. El método de la reivindicación 1 o de la reivindicación 2, en el que la cantidad de Tretazicar disponible es suficiente para matar al menos una rata.
- 15 4. El método de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la cantidad de Tretazicar a disposición de las ratas en un solo sitio es de al menos 100 mg.
5. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que Tretazicar se protege de la hidrólisis ácida.
- 20 6. El método de la reivindicación 1, en el que la formulación de Tretazicar comprende una solución de Tretazicar mezclada con el cebo.
7. El método de la reivindicación 6, en el que la formulación disponible por vía oral de Tretazicar comprende una solución de aceite de Tretazicar mezclada con el cebo.
- 25 8. El método de la reivindicación 7, en el que el aceite es aceite de cacahuete o un aceite vegetal.
9. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que la formulación disponible por vía oral de Tretazicar se formula para resistir la liberación de Tretazicar hasta que alcance el intestino de la rata.
- 30 10. El método según la reivindicación 9, en el que Tretazicar se encapsula en microcápsulas antes de mezclarse con el cebo.
- 35 11. El método según la reivindicación 10, en el que las microcápsulas comprenden un componente seleccionado entre gelatina, almidón, ceras, ftalato de acetato de celulosa, ftalato de acetato de polivinilo, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, succinato acetato de hidroxipropilmetilcelulosa, copolímeros de ácido metacrílico y sus mezclas.
- 40 12. El método según la reivindicación 10, en el que las microcápsulas comprenden un componente seleccionado entre ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, succinato acetato de hidroxipropilmetilcelulosa y sus mezclas.
- 45 13. Una composición que comprende Tretazicar (5-(aziridin-1-il)-2,4-dinitrobenzamida) y un producto alimentario, en donde el producto alimentario es un producto alimentario sólido seleccionado entre cereales, carne, productos lácteos, frutas, verduras, judías, legumbres y frutos secos.
14. La composición de la reivindicación 13, en donde el producto alimentario comprende un cereal.
- 50 15. La composición de la reivindicación 14, en donde el cereal es trigo, avena, cebada, centeno, arroz, maíz o mijo.
16. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 13 a 15, que comprende una solución de Tretazicar en un aceite mezclado con el producto alimentario sólido.
17. La composición de la reivindicación 16, en donde el aceite es aceite de cacahuete o aceite vegetal.
18. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 13 a 17, en donde Tretazicar se protege de la hidrólisis ácida.