

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 723 779**

51 Int. Cl.:

A01N 45/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.09.2001** **E 11164838 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.02.2019** **EP 2347654**

54 Título: **Formulación para el control de piojos y garrapatas en el ganado**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
02.09.2019

73 Titular/es:
ELANCO US INC. (100.0%)
2500 Innovation Way
Greenfield, IN 46140, US

72 Inventor/es:
LOWE, LIONEL BARRY y
ROTHWELL, JAMES TERENCE

74 Agente/Representante:
CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 723 779 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).

DESCRIPCION

Formulación para el control de piojos y garrapatas en el ganado

Campo técnico

5 La presente invención se refiere a combinaciones de compuestos plaguicidas activos adecuados para su uso como agentes activos en formulaciones plaguicidas, a las propias formulaciones y a las diversas aplicaciones de esas formulaciones como plaguicidas, específicamente en el control de todas las especies de plagas de Ftirápteros y Acáridos. Dichas aplicaciones incluyen el control de dichos plagas de Ftirápteros y Acáridos externos en el ganado.

Antecedentes de la invención

10 Históricamente, el daño más grande a los animales domésticos y cultivos ha sido causado y continúa siendo causado por plagas tales como insectos, hongos, nematodos y microbios. Los insectos representan particularmente una causa de preocupación ya ellos son los más numerosos de todos los organismos vivos y constituyen aproximadamente el 72% de todas las especies animales. Aproximadamente el 1% de los insectos se consideran plagas dado que atacan a humanos y/o animales domésticos, transmiten enfermedades a humanos, animales y plantas, destruyen cultivos, objetos y estructuras y compiten por el alimento y otras necesidades. Se estima que enormes pérdidas agrícolas son debidas en todo el mundo a la presencia de insectos.

15 Los animales domésticos, los cuales incluyen animales de valor agrícola tales como ovejas, ganado, caballos, cabras, cerdos y otros rumiantes y monogástricos son, casi invariablemente, el sujeto de la actividad de plagas que incluyen insectos, acáridos, acarinos, sifonápteros, ftirápteros, anopluros y malófagos. Los parásitos externos tales como garrapatas, piojos y moscas irritan a los animales y pueden causar pérdidas económicas en la forma de cuero, lana o piel de oveja de pobre calidad, carne/tejido de pobre calidad, aumento de peso reducido e incluso muerte, como un resultado de los parásitos perjudiciales que portan los animales.

20 Las pérdidas resultantes de las enfermedades humanas y animales causadas por los insectos son igualmente enormes. De hecho, a los insectos se les considera que son los portadores de más del 250 virus que son patógenos de humanos y animales superiores. Los números de muertes de humanos causadas por enfermedades transmitidas por mosquitos tales como malaria y filariasis linfática son inmensas. Las moscas igualmente transmiten enfermedades relacionadas con humanos y animales tales como tracoma, tripanosomiasis y ceguera de los ríos.

30 Sin embargo, al margen de los casi un millón de especies de artrópodos que incluyen piojos, garrapatas, moscas y ácaros, solamente un pequeño porcentaje requiere la aplicación de medidas de control. Hasta la fecha, el procedimiento fundamental para el control de insectos y otras plagas, particularmente con respecto a animales domésticos (tales como ovejas, ganado, cabras, caballos y cerdos) ha sido mediante la aplicación de composiciones plaguicidas químicas sintéticas. Se estima que existen al menos 35.000 productos plaguicidas formulados en todo el mundo con compuestos químicos como ingredientes activos. Dichos productos plaguicidas incluyen antimicrobianos, larvicidas, insecticidas, productos para bañar animales, avicidas y desinfectantes.

35 El uso extensivo de insecticidas químicos desde los años 1940 ha dado como resultado un gran número de problemas incluyendo la difusión de la resistencia de los insectos, aparición de plagas secundarias, riesgos para la salud humana y animal, así como efectos perjudiciales sobre peces y aves, polución ambiental y el incremento de costes económicos de los nuevos insecticidas.

40 Muchas especies de insectos han desarrollado resistencia a la acción de insecticidas específicos, de manera tal que se necesitan cambios en las prácticas de control. Existe un conjunto siempre creciente de plagas de insectos que han desarrollado resistencia múltiple. La resistencia de los genes que tienen prolongada persistencia en los genomas de los insectos imposibilita la reutilización satisfactoria de un insecticida para el control de una población de insectos con genes resistentes.

45 Los restos de plaguicida/insecticida y consecuentemente sus muchos riesgos potenciales en humanos, animales y medioambientales se contemplan igualmente como uno de los problemas principales resultantes del uso de productos químicos, particularmente de aquellas formulaciones que contienen agentes activos que incluyen organofosfatos o piretroides sintéticos. Con la excepción de insecticidas microbianos, casi todos los plaguicidas dan como resultado restos de diversos productos químicos y sus productos de degradación o metabolitos, los cuales pueden estar presentes en cantidades detectables (ppb a ppm) en alimentos a pesar del procesado de los alimentos. Los restos en tejido/carne son igualmente un asunto principal cuando se considera el uso de insecticidas sobre animales de granja.

50 Los riesgos potenciales del uso de dichos insecticidas incluyen reacciones tóxicas agudas al insecticida tales como envenenamiento, irritaciones de piel y ojos, así como posibles efectos a largo plazo tales como cáncer, defectos de nacimiento, y trastornos reproductivos. La toxicidad por inhalación aguda, así como la penetración dérmica, son igualmente riesgos potenciales. Los peligros para la salud en humanos puede igualmente surgir de la exposición repetida a un producto químico durante un periodo limitado de tiempo.

En particular, los compuestos activos actualmente usados de piretroides sintéticos y organofosfatos, los cuales son comúnmente usados en formulaciones químicas para el control de piojos y garrapatas, particularmente sobre ovejas, no solamente son tóxicos para los animales, sino también para el operario humano que les aplica. La exposición en granjeros u operarios que manipulan tanto concentrados de plaguicidas como grandes volúmenes de plaguicida diluido para su uso, es un motivo de preocupación. Además, es posible que el operario ingiera plaguicidas no solamente por la boca, sino también al respirar (por ejemplo, pulverización de aerosoles) y por absorción a través de la piel (vertido accidental). De preocupación particular ha sido el uso de organofosfatos en donde la exposición accidental causa envenenamiento agudo y crónico que afecta al sistema nervioso.

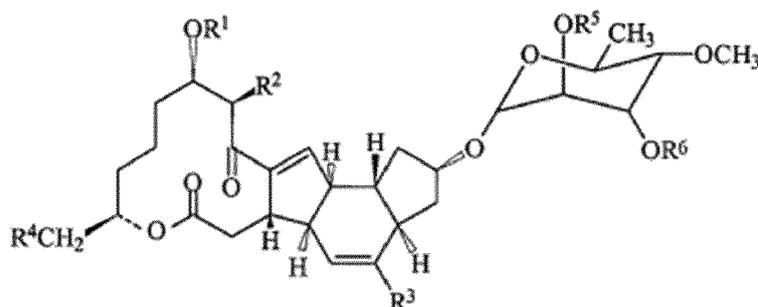
De acuerdo con ello, se ha buscado que el control de insectos y otras plagas esté encaminado al margen de la confianza exclusiva sobre los insecticidas y hacia una optimización del control de insectos y plagas desde el punto de vista medioambiental y económico (control integrado de plagas). La aplicación del control microbiano en el cual los insectos son atacados por patógenos tales como virus, bacterias, hongos y protozoos están favorecidas ya que dichos insecticidas microbianos son altamente selectivos para las plagas de insectos y no dejan restos tóxicos. Sin embargo, dichos insecticidas microbianos no dejan de tener sus problemas, tal como la dificultad en su aplicación así como el confinamiento del enemigo/parásito/enfermedad natural a una gran extensión. Además, tienen igualmente la desventaja de una corta acción residual y una extrema especificidad lo que limita la aplicabilidad general.

Recientemente se ha aplicado el control biológico en el área de los insecticidas/plaguicidas mediante la liberación de insectos machos esterilizados. La ingeniería genética se ha aplicado recientemente también mediante la introducción masiva de mutaciones perjudiciales tales como translocaciones cromosómicas. Sin embargo, dichos procedimientos son muy costosos y se requieren criterios rigurosos antes de contemplar la liberación de machos estériles. Los quimioesterilizantes que esterilizan grandes segmentos de poblaciones de plagas de insectos son igualmente conocidos, pero son fuertes carcinógenos que impide su uso.

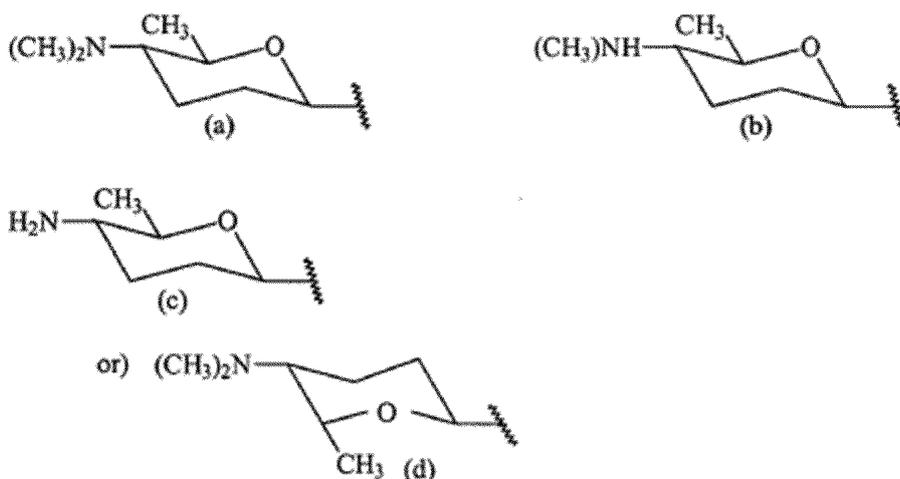
El uso de insecticidas y plaguicidas químicos y su medioambiente y viabilidad económica, la naturaleza peligrosa y magnitud de la persistencia de los restos, así como el incremento de resistencia de insectos y plagas, conjuntamente con los altos niveles de toxicidad de muchos insecticidas químicos, han dado como resultado la investigación de nuevas sustancias o vías para el control de insectos y otras plagas.

Por lo tanto, existe una necesidad de compuestos y combinaciones de los mismos que puedan usarse como agentes activos en plaguicidas, en particular contra insectos que aquejan a los animales domésticos o sus entornos, y los cuales sean eficaces a bajas proporciones de aplicación, selectivos en la acción biológica y que tengan baja toxicidad y un alto margen de seguridad para los humanos, cultivos, animales de granja, organismos acuáticos y pájaros. Dichos compuestos y combinaciones deben ser a la vez respetuosos con el medio ambiente dado que deben tener de manera demostrable bajos impactos sobre el medioambiente, así como ser económicamente viable su uso a gran escala. Además, no debe haber ninguna o poca resistencia de los insectos u otras plagas a dichos compuestos o combinaciones.

El producto de fermentación A83543, también conocido como espinosina, incluye una familia de compuestos relacionados (espinosinas) producidos por la *Saccharopolyspora spinosa*. Son productos de fermentación obtenidos de manera natural con un perfil de seguridad positivo en contraste con los compuestos obtenidos orgánicamente de manera sintética actualmente usados (tales como piretroides sintéticos, organofosfatos, organoclorados y carbamatos) y los cuales han mostrado previamente que tienen excelente actividad insecticida. De acuerdo con ello, por el término "compuestos A83543", el cual tiene el mismo alcance que la frase "espinosina y derivados y análogos de la misma", se entiende componentes que consisten en un sistema de anillo 5,6,5-tricíclico, fusionado a una lactona monocíclica de 12 átomos, un azúcar neutro (2N,3N,4N-tri-O-metilrannosa) y amino azúcar (forosamina). La familia de componentes de A83543 incluye un género expuesto en la Solicitud de Patente EPO No. 0375316 y que tiene la fórmula general siguiente:



en la que R¹ es H o un grupo seleccionado entre



y R^2 , R^3 , R^4 , R^5 y R^6 son hidrógeno o metilo; o una sal de adición de ácido de los mismos cuando R^1 es distinto de hidrógeno.

5 La familia de compuestos procedentes del producto de fermentación de A83543 se ha mostrado que comprende los compuestos individuales A83543A, A83543B, A83543C, A83543D, A83543E, A83543F, A83543G, A83543H, A83543J, A83543L, A83543M, A83543N, A83543Q, A83543R, A83543S, A83543T, A83543U, A83543V, A83543W, A83543X. Boeck y otros describen las espinosinas A-H y J y las sales de las mismas en las Patentes de EE.UU. Nos. 5.362.634, 5.496.932 y 5.571.901. Mynderse y otros describen las espinosinas L-N, sus derivados N-demetilo y sales de las mismas en la Patente de EE.UU. No. 5.202.242. Turner y otros describen las espinosinas Q-T, sus derivados N-demetilo y sales de las mismas en las Patentes de EE.UU. Nos. 5.591.606, 5.631.155 y 5.767.253. Las espinosinas K, O, P, U, V, W y Y están descritas en el artículo de DeAmicis, CN. Y otros, en American Chemical Society's Symposium Series: Phytochemicals for Pest Control (1997), Capítulo 11 "Physical and Biological Properties of Spinosyns: Novel Macrolide Pest-Control Agents from Fermentation", págs. 146-154.

15 La espinosina A (A83543A) fue la primera espinosina aislada e identificada a partir del caldo de fermentación de la *Saccharopolyspora spinosa*. El posterior examen del caldo de fermentación reveló que la cepa progenitora de *S. spinosa* produjo un cierto número de espinosinas (A83543A a J). Comparada con la espinosina A, las espinosinas B a J se caracterizan por diferencias en los patrones de sustitución sobre el grupo amino de la forosamina, en sitios seleccionados sobre el sistema de anillo y sobre el azúcar neutro. Las cepas de *S. spinosa* producen una mezcla de espinosinas cuyos componentes fundamentales son espinosina A (~85%) y espinosina D (~15%). Estas son las dos espinosinas que actualmente se conocen como las más activas como insecticidas.

25 De manera similar a las espinosinas, las lactonas macrocíclicas han mostrado previamente también que presentan excelente actividad insecticida. Las lactonas macrocíclicas tienen una estructura de anillo compleja e incluyen dichos compuestos antihelmínticos bien conocidos tales como avermectinas y milbemicinas. Las avermectinas se aíslan a partir de productos de fermentación de la *Streptomyces avermitilis* y la ivermectina es un compuesto que es un producto químico semi-sintético formado por la modificación de avermectina. La estructura básica de las avermectinas es un anillo lactona de 16 átomos al cual se han agregado tres grupos sustituyentes principales: un grupo hexahidrobenzofurano, un grupo disacárido (en C-13) y un anillo espirocetal (C-17 a C-28). La doramectina es una nueva avermectina. Las milbemicinas son otros compuestos los cuales no son avermectinas, pero que pueden considerarse que entran dentro de la clase de compuestos que son lactonas macrocíclicas. Las milbemicinas difieren estructuralmente del grupo de avermectina, fundamentalmente en la ausencia de un grupo disacárido en C-13. La milbemicina D y la milbemicina 5-oxima son dos de dichas lactonas macrocíclicas. La moxidectina se obtiene del producto de fermentación de la nemadectina y posee un sustituyente metoxima en C-23.

35 La Patente WO 01/70028 divulga composiciones plaguicidas que comprenden una combinación de al menos un compuesto A83543 y al menos una lactona macrocíclica y su uso para el control o erradicación de plagas de Dípteros en animales domésticos.

La Patente WO 00/02453 divulga composiciones adecuadas para el control de plagas de animales especialmente insectos y representantes del orden de los Acáridos que comprenden emamectina.

La Patente de EE.UU. 6.001.981 divulga espinosinas de la serie A83543 y su uso contra plagas, incluyendo Ftirápteros, Sifonápteros y Acáridos.

40 La Patente WO 01/40446 divulga una formulación de vertido que comprende uno o más de los agentes activos zeta-cipermetrina, ivermectina, hexafluomeron y espinosad.

La presente invención reside en el descubrimiento de una combinación sinérgica de compuestos plaguicidas, la formulación y aplicación de agentes plaguicidas activos específicos basada en la combinación sinérgica y su uso en formulaciones plaguicidas contra plagas de Ftirápteros y Acáridos, particularmente en animales domésticos.

Objeto de la invención

5 Es un objeto de la presente invención el proporcionar una formulación para su uso en el control de plagas de Ftirápteros y Acáridos en el ganado, en el que la formulación comprende una combinación plaguicida activa de compuestos solos o conjuntamente con un vehículo o diluyente aceptable, de manera tal que dicha combinación plaguicida activa es sistémicamente suministrada a dichas plagas de Ftirápteros y Acáridos.

10 El término “Ftiráptero” o “plagas de Ftirápteros” tal como se usa en la presente invención, define miembros del orden de insectos Ftirápteros, los cuales son parásitos durante una o más fases de su ciclo de vida, incluyendo la fase inmadura (la cual se define como incluyendo las formas de larvas (ninfas)), la fase adulta o ambas fases e incluye, además, los huevos de insectos Ftirápteros.

15 El término “Acárido” o “plagas de Acaridos” tal como se usa en la presente invención, define miembros de los Arácnidos del orden Acáridos, los cuales son parásitos durante una o más fases de su ciclo de vida, incluyendo la fase inmadura (la cual se define como incluyendo las formas de larvas (ninfas)), la fase adulta o ambas fases e incluye, además, los huevos de Acáridos.

20 Es de señalar además que para los propósitos de la presente solicitud, el término “espinosina o análogo o derivado del mismo”, se define de manera que incluye un factor de espinosina individual (A83543A-H, J-W o Y), un derivado N-demetilo u otro derivado de un factor espinosina individual, o una sal del mismo, o una combinación de los mismos, acorde con la divulgación de las referencias anteriormente mencionadas. Tal como se ha establecido anteriormente, el término “compuesto A83543” tal como se usa en la presente invención, indica un factor espinosina individual, o un análogo, o derivado de una sal del mismo, o una combinación de los mismos.

25 El término “control o erradicación” se usa para referirse a una disminución en el número de insectos o arácnidos vivos (forma adulta o inmadura) o a una disminución en el número de huevos de insectos o arácnidos viables. La extensión de la reducción depende, en parte, de la proporción de aplicación y el compuesto activo usado.

El término “cantidad eficaz” se usa igualmente en la presente invención para indicar la cantidad que es suficiente para causar una reducción medible en la población del insecto o arácnido tratado.

La palabra “vehículo” tal como se usa a lo largo de la presente memoria descriptiva, incluye mezclas de vehículos, es decir, mezclas de más de una substancia.

30 El término “sinérgico” tal como se usa en la presente invención, se define para indicar una combinación de componentes en los que la actividad de la combinación es superior a la suma de las actividades individuales de cada componente de la combinación.

35 El término “lactona macrocíclica” tal como se usa en la presente invención, define compuestos de las clases de milbemidas y avermectinas, incluyendo tanto los compuestos de origen natural como los derivados sintéticos de los mismos, especialmente los mencionados en la presente invención y en la técnica citada en la misma.

El término “animal doméstico” tal como se usa en la presente invención, se define para incluir animales de valor agrícola y animales de compañía, incluyendo pero sin limitarse a los mismos, ganado, camélidos, cerdos, perros, gatos, ovejas, aves de corral, caballos y cabras, así como otros rumiantes y monogástricos.

40 El término “activo sistémicamente” tal como se usa en la presente invención, se define para indicar que tiene un efecto o eficacia solamente cuando está presente dentro del sistema de una plaga, tal como de la ingestión o de otra administración que da como resultado una presencia sistemática de un compuesto activo en una plaga. El término no indica que tenga un efecto o eficacia cuando está presente con el sistema de un animal doméstico huésped, está limitado a la actividad o eficacia cuando está presente sistémicamente dentro de una plaga.

Sumario de la invención

45 La invención se define en las reivindicaciones adjuntas.

50 Un primer aspecto de la presente invención proporciona una formulación para su uso en el control de piojos o garrapatas en el ganado, incluyendo dicha formulación una cantidad eficaz de una composición activa sistémicamente que comprende una combinación sinérgica de espinosad, o una sal de la misma, y una lactona macrocíclica seleccionada entre: ivermectina, abamectina, moxidectina, doramectina, eprinomectina y milbemidina, y un vehículo, diluyente o excipiente aceptable fisiológicamente para animales domésticos, en el que la formulación es para ser administrada oralmente.

Esta invención se basa en el sorprendente descubrimiento de una interacción sinérgica entre espinosinas y lactonas macrocíclicas. Sin desear teorizar, es de señalar que las lactonas macrocíclicas tienen un efecto fundamental sobre

- 5 el sistema nervioso del insecto mediante la activación de receptores glutamato inhibidores, en tanto que las espinosinas activan fundamentalmente los receptores acetilcolina nicotínicos en las neuronas de los insectos causando la hiperactividad de las neuronas. No obstante, tanto las espinosinas como las lactonas macrocíclicas tienen un efecto secundario sobre los canales de cloruro regulados por el ácido gamma aminobutírico (GABA) en neuronas de artrópodos, al ser GABA un neuro-transmisor inhibidor. Por ello, es posible que, cuando se combinan conjuntamente las espinosinas y las lactones macrocíclicas, tienen un efecto sinérgico sobre el receptor de GABA, lo que da lugar a efectos en el sistema nervioso de un insecto, no estando esto relacionado con el efecto originario tanto de las espinosinas como las lactonas macrocíclicas.
- 10 En particular, en la presente invención se ha demostrado de manera sorprendente que se produce sinergismo cuando una espinosina y una lactona macrocíclica se suministran conjuntamente a plagas animales de Fterápteros y Acáridos, de una manera tal que dichos compuestos químicos son ingeridos o de otras maneras están sistémicamente presentes en las plagas. De manera sorprendente, este efecto no se ha observado en ensayos *in vitro* basados en el contacto, tal como de papel tratado o inmersión temporal en soluciones tratadas. Sin desear teorizar, se especula que esta diferencia está relacionada con los mecanismos de acción y la naturaleza de ambos compuestos químicos que tienen baja presión de vapor y no atraviesan fácilmente la cutícula de los artrópodos.
- 15 Típicamente, el primer aspecto de la presente invención proporciona una formulación para el control de piojos y garrapatas en el ganado, siendo dicha composición sistémicamente activa en dichas plagas y siendo una combinación sinérgica de un compuesto de una espinosina y una lactona macrocíclica, en la que los compuestos de espinosina:lactona macrocíclica están presentes dentro del intervalo de 1000:1 a 1:1000 p/p. En particular, la relación de ivermectina:espinosad podría ser de 1:1000 en una composición sistémicamente activa en el gusano del corazón (*Dirofilaria immitis*) o moscas.
- 20 Sin embargo, se ha observado que la sinergia también opera a relaciones más bajas. De acuerdo con ello, típicamente, en la composición sistémicamente activa de la invención, el compuesto espinosina:compuesto lactona macrocíclica están presentes dentro del intervalo de 100:1 a 1:100 p/p.
- 25 Igualmente típicamente, en la composición sistémicamente activa de la invención, el compuesto espinosina:compuesto lactona macrocíclica están presentes dentro del intervalo de 10:1 a 1:10 p/p.
- Además típicamente, en la composición sistémicamente activa de la invención, el compuesto espinosina:compuesto lactona macrocíclica están presentes dentro del intervalo de 9:1 a 1:9 p/p.
- 30 Más típicamente, en la composición sistémicamente activa de la invención, el compuesto espinosina:compuesto lactona macrocíclica están presentes dentro del intervalo de 8:1 a 1:8 p/p.
- Igualmente típicamente, en la composición sistémicamente activa de la invención, el compuesto espinosina:compuesto lactona macrocíclica están presentes dentro del intervalo de 7:1 a 1:7 p/p.
- Igualmente típicamente, en la composición sistémicamente activa de la invención, el compuesto espinosina:compuesto lactona macrocíclica están presentes dentro del intervalo de 6:1 a 1:6 p/p.
- 35 Más típicamente, en la composición sistémicamente activa de la invención, el compuesto espinosina:compuesto lactona macrocíclica están presentes dentro del intervalo de 5:1 a 1:5 p/p.
- Incluso más típicamente, en la composición sistémicamente activa de la invención, el compuesto espinosina:compuesto lactona macrocíclica están presentes dentro del intervalo de 4:1 a 1:4 p/p.
- 40 Lo más típicamente, en la composición sistémicamente activa de la invención, el compuesto espinosina:compuesto lactona macrocíclica están presentes dentro del intervalo de 3:1 a 1:3 p/p.
- Incluso lo más típicamente, en la composición sistémicamente activa de la invención, el compuesto espinosina:compuesto lactona macrocíclica están presentes dentro del intervalo de 2:1 a 1:2 p/p.
- Incluso lo más típicamente, en la composición sistémicamente activa de la invención, el compuesto espinosina:compuesto lactona macrocíclica están presentes en la proporción de 1:1 p/p.
- 45 Una realización del primer aspecto de la presente invención proporciona una composición sistémicamente activa que es una combinación sinérgica de espinosad y una avermectina.
- 50 La lactona macrocíclica del primer aspecto de la invención puede ser ivermectina (22,23-dihidroavermectina B₁ descrita en la Patente EP 295117) o abamectina. La lactona macrocíclica del primer aspecto de la invención puede incluir moxidectina, doramectina (descrita en la Patente EP 0214731B), eprinomectina, y milbemicina incluyendo la milbemicina oxima, milbemicina D (Antibiótico B41D) (descrita en la Patente EE.UU. 3.950.360).
- La lactona macrocíclica del primer aspecto de la invención está seleccionada entre el grupo que consiste en ivermectina, moxidectina, doramectina, milbemicina oxima, Milbemicina D, eprinomectina y abamectina.

Incluso más típicamente, la lactona macrocíclica del primer aspecto de la invención es ivermectina.

Más típicamente, la composición activa es, en consecuencia, una combinación sinérgica de espinosad e ivermectina, la cual es activa sistemáticamente en plagas de Ftrirápteros y Acáridos.

5 Típicamente en las formulaciones de la presente invención, el vehículo puede ser no acuoso o acuoso y la composición activa está suspendida, disuelta o dispersada en el vehículo. También típicamente, la composición activa puede estar mezclada con un diluyente o vehículo aceptable veterinariamente o farmacéuticamente, el cual está seleccionado teniendo en cuenta la vía pretendida de administración y de acuerdo con la práctica convencional.

10 En otra realización, los vehículos o excipientes usados en las formulaciones suministradas oralmente del primer aspecto de la presente invención, incluyen excipientes para comprimidos tales como almidón o lactosa, excipientes para cápsulas o vehículos y excipientes comúnmente usados en soluciones o suspensiones incluyendo agua, aromatizantes y agentes de coloración. La selección del vehículo se realiza, por supuesto, en base a la compatibilidad con la composición activa, incluyendo consideraciones tales como pH, contenido de humedad y estabilidad. La selección del vehículo se realiza, igualmente, dependiendo del modo de aplicación de la formulación, tal como si es para ser aplicada típicamente a un animal doméstico, o administrada oralmente o parenteralmente a un animal doméstico o si está destinada para ser administrada directamente, tal como mediante un cebo a las plagas de Ftrirápteros, Sifonápteros o Acáridos.

Una realización del primer aspecto de la invención proporciona una formulación para el control de plagas de Ftrirápteros y Acáridos, incluyendo dicha formulación:

20 (a) desde 0,1 hasta 40% en peso de una composición activa que comprende una combinación sinérgica de espinosad, o sal de la misma, y una lactona macrocíclica seleccionada entre: ivermectina, abamectina, moxidectina, doramectina, eprinomectina y milbemicina, y

(b) desde 60-99,9% en peso de un vehículo adecuado.

25 Típicamente, cada dosis de formulación de la invención contendrá 30 µg - 2 g de cada uno del compuesto de espinosad y lactona macrocíclica, más típicamente una formulación contendrá 1 mg - 1 g de cada uno del compuesto de espinosad y lactona macrocíclica.

Típicamente, las formulaciones del primer aspecto de la presente invención pueden aplicarse al ganado.

30 Típicamente, una composición activa o una formulación de la presente invención está formulada para uso de manera tal que cada uno de espinosad y lactona macrocíclica estén presentes en un intervalo de concentración de aproximadamente 1-500 ppm. Más típicamente, cada uno de espinosad y lactona macrocíclica están presentes en un intervalo de concentración de aproximadamente 1-300 ppm. Incluso más típicamente, cada uno de espinosad y lactona macrocíclica están presentes en un intervalo de concentración de aproximadamente 1-100 ppm. Con respecto de formulaciones orales, tales como comprimidos, típicamente la dosis administrada será desde 0,01 a 50 mg/kg de peso de cuerpo animal, más típicamente 0,1 a 20 mg/kg.

35 Típicamente, una formulación del primer aspecto de la presente invención está en la forma de un comprimido, cápsula, blo, solución, suspensión u otro elixir. Las formulaciones pueden ser igualmente formulaciones de liberación sostenida. Dichas formulaciones están preparadas de una manera convencional de acuerdo con la práctica veterinaria y farmacéutica convencional. Típicamente, pueden prepararse cápsulas, bolos o comprimidos mediante la mezcla de la combinación activa con un diluyente o vehículo finamente dividido adecuado, conteniendo adicionalmente un desintegrante y/o un aglomerante tal como talco, almidón o lactosa.

40 En las formulaciones de la presente invención que tienen actividad plaguicida contra plagas de Ftrirápteros y Acáridos, el agente activo es una combinación de espinosad y al menos un agente activo seleccionado entre lactonas macrocíclicas incluyendo ivermectina, abamectina, moxidectina, doramectina, eprinomectina y milbemicina.

45 Las formulaciones de la presente invención pueden de manera adecuada incluir variadamente uno o más ingredientes adicionales tales como conservantes, agentes de esparcido, promotores de adherencia, solubilizadores activos tales como ácido oleico o ácido láctico, modificadores de la viscosidad, bloqueadores o absorbedores de UV, colorantes y estabilizadores tal como antioxidantes.

Las formulaciones de acuerdo con el primer aspecto de la presente invención se usan para prevenir las infestaciones por garrapatas y piojos del ganado.

50 Típicamente, las composiciones y formulaciones activas de la presente invención son eficaces contra formas inmaduras (incluyendo ninfas) y adultas de plagas de Ftrirápteros y Acáridos. Las plagas no tienen que ser, aunque típicamente están presentes, sobre un animal doméstico huésped.

Más típicamente, las composiciones y formulaciones activas de la presente invención son eficaces contra formas inmaduras y adultas de plagas de Ftrirápteros y Acáridos en animales domésticos. También típicamente, las compo-

siones y formulaciones activas de la presente invención son también eficaces en la disminución de huevos de Ftrípteros y Acáridos viables que puedan estar presentes en animales domésticos.

5 Más típicamente, una formulación administrada oralmente de la presente invención actúa para controlar piojos en el ganado y actúa para controlar garrapatas (por ejemplo, *Boophilus bovis*) en el ganado. También más típicamente, una formulación administrada oralmente de la presente invención actúa para control piojos y garrapatas en el gana-

10 Las formulaciones de la presente invención se preparan de acuerdo con técnicas conocidas. Cuando la formulación es una solución, el parasiticida/insecticida se mezcla con el vehículo o soporte, usando calor y agitación cuando así se requiere. Los ingredientes auxiliares o adicionales pueden agregarse a la mezcla del compuesto activo y vehículo o puede mezclarse con el compuesto activo antes de la adición del vehículo.

Las composiciones de la presente invención pueden contener tan poco como 1 ppm de compuesto de lactona macrocíclica y espinosad por aplicación, observándose aún un efecto sinérgico.

15 Las composiciones y formulaciones activas de la invención son no tóxicas para humanos y animales, así como para cultivos y plantas, y los restos en la lana, pellejo y tejido de animales tratados o administrados con las formulaciones están a niveles medioambientalmente aceptables. Además, no se produce irritación de la piel u otra toxicidad a los usuarios finales motivada por las formulaciones de la presente invención. Igualmente, se minimiza la contaminación medioambiental.

20 También de manera ventajosa, puesto que la espinosad y las lactonas macrocíclicas son muy eficaces a bajos niveles debido a su efecto sinérgico cuando se combinan entre sí, la presente invención es de utilidad frente a poblaciones de plagas de Ftrípteros y Acáridos en animales domésticos que tienen niveles existentes de resistencia tanto a compuestos de espinosina como de lactonas macrocíclicas, cuando estos compuestos se usan por separado.

Tal como se ha expuesto anteriormente, la administración de las formulaciones del primer aspecto de la presente invención es mediante administración oral.

25 Las formulaciones del primer aspecto de la presente invención variarán con respecto al peso de la combinación activa, dependiendo de la especie de animal doméstico huésped a tratar, así como del peso corporal. Las formulaciones pueden administrarse como una dosis de desde 0,001 mg hasta aproximadamente 50 mg por kg de peso corporal del animal, más típicamente desde 0,01 hasta aproximadamente 30 mg por kg de peso corporal del animal, e incluso más típicamente desde 0,1 hasta aproximadamente 20 mg por kg de peso corporal del animal. Esta puede administrarse como una dosis única o como varias dosis. Igualmente, se contemplan dentro de la presente invención intervalos de dosis más altas así como más bajas.

30 Los compuestos de lactona macrocíclica usados en la presente invención incluyen compuestos antihelmínticos bien conocidos tales como avermectinas y milbemicinas. Tal como se ha expuesto anteriormente, las avermectinas se aislaron de productos a partir de productos de fermentación de *Streptomyces avermitilis* y el aislamiento y estructura química de los ocho componentes individuales que constituyen las avermectinas (por otra parte conocidas como compuestos C-076) se describen en detalle en la memoria descriptiva de la Patente Inglesa UK 1573995. La ivermectina es un compuesto, el cual es un producto químico semi-sintético formado por la modificación de avermectina. La ivermectina comercialmente disponible incluye, por ejemplo, el análogo 25-isopropilo de ivermectina. Al ser lipofílica la ivermectina, puede prepararse para los fines de las formulaciones de la presente invención mediante la disolución de una ivermectina en un disolvente orgánico tal como cloroformo, cloruro de metileno, acetona y alcoholes.

35 La milbemicinas tal como se ha expuesto anteriormente en detalle, son otros compuestos que no son avermectinas pero que pueden considerarse que entran dentro de la clase de compuestos que son lactonas macrocíclicas. Las milbemicinas difieren estructuralmente del grupo avermectina, fundamentalmente en la ausencia de un grupo disacárido sobre C-13. Ejemplos de dichos compuestos se encuentran descritos en la Patente Inglesa UK 1390336 y las Solicitudes de Patentes EP 170006, 254583, 334484 y 410615.

40 La espinosad puede presentarse igualmente como una sal en el agente activo y formulaciones de la presente invención. Las sales se preparan usando procedimientos convencionales para la preparación de sales. Por ejemplo, la espinosina A puede neutralizarse con un ácido apropiado para formar una sal de adición de ácido. Las sales de adición de ácido de espinosad que pueden usarse en la presente invención son útiles e incluyen sales formadas mediante la reacción de o bien un ácido orgánico o bien inorgánico tal como, por ejemplo, sulfúrico, clorhídrico, fosfórico, acético, succínico, cítrico, láctico, maleico, fumárico, cólico, pamñoico, mícico, glutámico, camfórico, glutámico, glicólico, ftálico, tartárico, fórmico, láurico, esteárico, salicílico, metanosulfónico, bencenosulfónico, sórbico, pítrico, benzóico, cinnámico, y otros ácidos similares.

45 Generalmente, los concentrados emulsificables de espinosad comprenden una concentración conveniente de espinosad disuelta en un vehículo inerte, el cual es, o bien un disolvente miscible en agua o bien una mezcla de disolventes y emulsificadores no miscibles en agua. Un intervalo de concentración preferido es 1-500 g/l de espinosad, más preferiblemente el intervalo de concentración está seleccionado entre el grupo que consiste en 1-400 g/l, 1-350 g/l, 1-300 g/l, 1-250 g/l, 1-200 g/l, 1-150 g/l, 1-100 g/l, 1-90 g/l, 1-80 g/l, 1-70 g/l, 1-60 g/l, 1-50 g/l, 1-40 g/l, 1-30 g/l, 1-20 g/l, incluso más preferiblemente 25 g/l. Los disolventes orgánicos útiles incluyen compuestos aromáticos inclu-

yendo xilenos y fracciones del petróleo. Igualmente, pueden usarse otros disolventes orgánicos, tales como disolventes terpénicos, incluyendo derivados de la colofonia, cetonas alifáticas tal como ciclohexanona y alcoholes complejos tal como 2-etoxietanol.

5 Los emulsificadores adecuados para concentrados emulsificables pueden elegirse entre tensioactivos no iónicos convencionales, incluyendo aductos de óxido de etileno de alquilfenoles y tensioactivos aniónicos, incluyendo sales alquil/aril sulfonato.

10 Las suspensiones acuosas (AS) comprenden suspensiones de una espinosad insoluble en agua activa dispersada en un vehículo acuoso a una concentración dentro del intervalo de desde aproximadamente 1-500 g/l, preferiblemente el intervalo de concentración está seleccionado entre el grupo que consiste en aproximadamente 1-400 g/l, aproximadamente 1-300 g/l, aproximadamente 1-250 g/l, aproximadamente 1-200 g/l, aproximadamente 1-150 g/l, aproximadamente 1-100 g/l, aproximadamente 1-50 g/l, aproximadamente 1-45 g/l, aproximadamente 1-40 g/l, aproximadamente 1-30 g/l, más preferiblemente aproximadamente 25 g/l. Generalmente las suspensiones se preparan mediante el triturado finamente de espinosad y mezclado dentro de un vehículo que comprende agua y tensioactivos seleccionados entre tipos tales como no iónicos, ligninas sulfonadas y alquilsulfatos. Igualmente, pueden agregarse ingredientes inertes.

Las suspensiones y emulsiones acuosas están preferiblemente diluidas con agua para obtener la concentración de espinosad deseada en las formulaciones finales de la invención.

En otra formulación preferida, la una o más sustancias activas adopta/n la forma de una solución del compuesto activo/s en agua.

20 **Mejor modo y otros modos de llevar a cabo la invención**

25 La preparación de las formulaciones preferidas de la presente invención puede hacerse mediante procedimientos convencionales, diversos ejemplos de los mismos se encuentran más adelante. El procedimiento preferido para preparar una combinación de espinosad e ivermectina de la presente invención es, o bien co-formular la combinación, o bien formular cada uno de los compuestos por separado y, a continuación, combinarlos entre sí. Los compuestos podrían incluso existir en la combinación como fases separadas. Por ejemplo, un compuesto activo de la composición sinérgica podría estar en solución, estando el otro compuesto activo en suspensión; una composición de este tipo se usaría, a continuación, para preparar una formulación adecuada de la presente invención.

Ejemplos

Introducción

30 La sinergia (o co-potenciación) se produce cuando el efecto combinado de dos plaguicidas es significativamente mayor que el efecto aditivo de cada uno individualmente a las concentraciones ensayadas. Por ejemplo, el procedimiento de Sun y Johson, "Analysis of joint action of insecticides against house flies", J. Econ. Entomol., vol. 53, págs. 887-892, (1960), requiere el cálculo de coeficientes de co-toxicidad. Los coeficientes de co-toxicidad de 100 indican acción aditiva únicamente, en tanto que 130 o superiores indican sinergia o potenciación. Como alternativa, puede usarse una vía de modelo lineal para generar líneas de dosis-respuesta para cada compuesto químico. Las líneas para cada compuesto químico por separado se usaron para predecir la eficacia de las combinaciones dando por supuesto una acción independiente, es decir, sin sinergia o potenciación. Las líneas predichas se compararon con el efecto observado de las combinaciones y puede observarse potenciación significativa.

40 Las lactonas macrocíclicas tienen un efecto fundamental sobre el sistema nervioso del insecto mediante la activación de los receptores glutamato inhibidores, en tanto que las espinosinas activan fundamentalmente los receptores acetilcolina nicotínicos en las neuronas de los insectos causando hiperactividad de las neuronas. Sin embargo, tanto las espinosinas como las lactonas macrocíclicas tienen un efecto secundario sobre los canales de cloruro regulados por el ácido gamma aminobutírico (GABA) en las neuronas de artrópodos, al ser GABA un neuro-transmisor inhibidor. Por ello, es posible que, cuando se combinan las espinosinas y las lactonas macrocíclicas tengan un efecto sinérgico sobre el receptor GABA dando lugar a efectos en un sistema nervioso del insecto que no estaría relacionado con el efecto fundamental tanto de las espinosinas como de las lactonas macrocíclicas. El objetivo de estos estudios fue el comprobar la hipótesis en plagas de Fítrápteros, Sifonápteros y Acáridos de importancia veterinaria.

50 Los ejemplos siguientes ilustran el sorprendente resultado que produce la sinergia cuando una espinosina y una lactona macrocíclica se administran conjuntamente a una plaga animal, de una manera tal que los productos químicos son ingeridos o están presentes sistémicamente en la plaga. De manera sorprendente, este efecto no se ha observado en ensayos *in vitro* basados en el contacto, tal como de papel tratado o inmersión temporal en soluciones tratadas. Se contempla que esta diferencia está relacionada con los mecanismos de acción y la naturaleza de ambos compuestos químicos que tienen baja presión de vapor y no atraviesan fácilmente la cutícula de artrópodos

Ejemplo 1

55 **Ensayos *in vitro* para investigar posible sinergia entre espinosad e ivermectina en piojos**

Materiales y Procedimientos

5 Usando los procedimientos de Rugg y Thompson (J Aust Ent Soc, vol. 32, págs. 1-3, (1993)) se dejaron alimentar grupos de 4 x 15 piojos sobre la epidermis de oveja molida conteniendo un intervalo de concentraciones de espinosad o ivermectina durante 48 horas. La mortalidad se comprobó después de 48 horas y los valores LC90 se determinaron mediante análisis de probit. Los piojos se expusieron a la concentración LC90 de espinosad e ivermectina y a 1/2, 1/4 y 1/8 de LC90. Además, los piojos se expusieron a combinaciones 1:1, 1:4, 4:1, 9:1 y 1:9 de cada compuesto químico, siendo cada concentración de compuesto químico una fracción de la LC90.

10 El procedimiento de modelos lineales generalizado para datos binomiales sobredispersos que usa la función de enlace logística, se usó para un análisis de los grupos de tratamiento. El análisis estima las líneas de dosis-respuesta (sobre la escala de dosis logarítmica) para cada combinación química. Las líneas de respuesta a la dosis se usaron para predecir la eficacia de las combinaciones que da por supuesto la acción independiente y la compara con la eficacia observada.

Resultados

15 Existe una potenciación significativa en la mayoría de las combinaciones ensayadas. La potenciación la más pronunciada es usando relaciones 4:1 y 9:1 de espinosad:ivermectina.

Ejemplo comparativo**Ensayo del papel de contacto con respecto de piojos**Materiales y Procedimientos

20 Se expusieron grupos de 4 x 10-13 piojos a un intervalo de concentraciones de espinosad o ivermectina sobre cuadrados de algodón en placas Petri. La mortalidad se evaluó después de 18 horas y los valores LC90 se determinaron mediante análisis de probit. Los piojos se expusieron a la concentración LC90 de espinosad o ivermectina y a 1/2, 1/4 y 1/8 de LC90. Además, los piojos se expusieron a combinaciones 1:1, 1:4, 4:1, 9:1 y 1:9 de cada compuesto químico, siendo cada concentración de compuesto químico una fracción de la LC90.

Resultados

25 Todas las eficacias estimadas para las combinaciones en grupos son menores de las predichas bajo acción independiente, es decir, no existe evidencia de sinergia.

Exposición

El resultado negativo en el ensayo de papel de contacto comparado con el ensayo de ingestión apoya la hipótesis de que ambos productos químicos deben presentarse sistémicamente a la plaga para que se produzca la potenciación.

30 **Ejemplo 2****Ensayos *in vitro* para investigar sinergia entre espinosad e ivermectina en garrapatas del ganado**

i) ESTUDIOS DE INMERSION DE LARVAS

Materiales y Procedimientos

35 Se usó el ensayo de inmersión de larvas descrito por Sabatini, Kemp y otros (Vet Parasitol, vol. 95, págs. 53-62, (2001)), excepto que las larvas se desecaron durante 12 horas para inducir las a embeber el líquido de inmersión cuando se sumergieron. Se sumergieron grupos de 500 larvas en líquidos que contenían un intervalo de concentraciones de espinosad o ivermectina durante 20 minutos y, a continuación, se transfirieron a envases de papel. La mortalidad se evaluó después de 24 horas y los valores LC90 se determinaron mediante análisis de probit. Las larvas de garrapatas se expusieron a la concentración LC90 de espinosad o ivermectina y a 1/2, 1/4 y 1/8 de LC90. Además, las larvas se expusieron a combinaciones 1:1, 1:4, 4:1, 9:1 y 1:9 de cada compuesto químico, siendo cada concentración de compuesto químico una fracción de la LC90.

Resultados

Existe una potenciación significativa en la mayoría de las combinaciones ensayadas. La potenciación la más pronunciada es usando relaciones 4:1 y 9:1 de espinosad:ivermectina.

45 ii) ESTUDIO DE INYECCION DE ADULTOS

Materiales y Procedimientos

Se inyectaron garrapatas engordadas adultas con 2 microlitros de un intervalo de concentraciones de espinosad o ivermectina. Los datos de puesta de huevos e incubación de larvas se recopilaron de acuerdo con procedimientos

convencionales, por ejemplo Sabatini y Kemp (Vet Parasitol, vol. 95, págs. 53-62, (2001)) y se usaron para calcular valores LC90. Los adultos se inyectaron con la concentración LC90 de espinosad o ivermectina y a 1/2, 1/4 y 1/8 de LC90. Además, los adultos se inyectaron con combinaciones 1:1, 1:4, 4:1, 9:1 y 1:9 de cada compuesto químico, siendo cada concentración de compuesto químico una fracción de la LC90.

5 **Resultados**

Existe una potenciación significativa en la mayoría de las combinaciones ensayadas. La potenciación la más pronunciada es usando relaciones 4:1 y 9:1 de espinosad:ivermectina.

Ejemplo comparativo

Inmersión de larvas de garrapatas sin embeber el fluido de inmersión

- 10 Se usó el ensayo de inmersión de larvas descrito por Sabatini, Kemp y otros (Vet Parasitol, vol. 95, págs. 53-62, (2001)). Se sumergieron grupos de 500 larvas en líquidos que contenían un intervalo de concentraciones de espinosad o ivermectina durante 20 minutos y, a continuación, se transfirieron a envases de papel. La mortalidad después de la inmersión se evaluó después de 24 horas y los valores LC90 se determinaron mediante análisis de probit. Las larvas se expusieron a la concentración LC90 de espinosad o ivermectina y a 1/2, 1/4 y 1/8 de LC90. Además, las larvas se expusieron a combinaciones 1:1, 1:4, 4:1, 9:1 y 1:9 de cada compuesto químico, siendo cada concentración de compuesto químico una fracción de la LC90.
- 15

Resultados

Se observó una relación de dosis respuesta para ambos compuestos. Las eficacias estimadas para las combinaciones son menores de las predichas bajo acción independiente, es decir, no existe evidencia de potenciación.

20 Exposición

Los resultados negativos para la potenciación en el ensayo en el que no tiene lugar el embebido del medio de ensayo, comparado con la evidencia positiva de potenciación cuando las larvas embeben el medio de ensayo, apoya la hipótesis de que ambos productos químicos deben presentarse sistémicamente a las garrapatas para que se produzca la potenciación.

25 **Ejemplos de formulaciones sinérgicas de espinosad e ivermectina para el control de plagas de Ftrápteros y Acáridos**

Ejemplo 3

Formulación de comprimido para perros, para un perro de 20 kg, comprimido de 500 mg

Ingredientes	g/kg
<u>Núcleo del comprimido</u>	
Espinosad	400
Ivermectina	40
Agente aglomerante, p. ej., Povidona	24
Agente aglomerante/dispersante, p. ej., glicolato de almidón sódico	20
Lubricante, p. ej., estearato magnésico	7
<u>Recubrimiento</u>	
Agente de formación de película, hidroxipropil metilcelulosa	25
Plastificante, p. ej., glicerina	4
Agente de color	20

30

REIVINDICACIONES

- 5 **1.** Una formulación para su uso en el control de piojos o garrapatas en el ganado, incluyendo dicha formulación una cantidad eficaz de una composición sistémicamente activa que comprende una combinación sinérgica de espinosad, o una sal del mismo, y una lactona macrocíclica seleccionada entre: ivermectina, abamectina, moxidectina, doramectina, eprinomectina y milbemicina, y un vehículo, diluyente o excipiente aceptable fisiológicamente para animales domésticos, en la que la formulación es para ser administrada oralmente.
- 2.** La formulación para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la lactona macrocíclica está seleccionada entre ivermectina, abamectina, moxidectina, doramectina, eprinomectina, milbemicina oxima y Milbemicina D.
- 10 **3.** La formulación para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en la que la formulación está en la forma de un comprimido, cápsula, bolo, solución, suspensión u otro elixir.
- 4.** La formulación para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en la que dicha composición sistémicamente activa comprende la lactona macrocíclica ivermectina.