

20 JUN 1959



P.- 18.284.-

A. 40381  
Case 16.374

249560

MEMORIA DESCRIPTIVA  
para solicitar  
P A T E N T E D E I N T R O D U C C I O N  
e n  
E S P A Ñ A  
por DIEZ años

a nombre de AMERICAN CYANAMID COMPANY, entidad norteamericana, establecida en 30, Rockefeller Plaza, Nueva York, N.Y., Estados Unidos de America, por:

"UN METODO DE COMBATIR INSECTOS Y OTROS ARTRÓPODOS QUE INFESTAN ANIMALES DE SANGRE CALIENTE"

Este invento se refiere al control o represión de insectos y otros artrópodos y más en particular aquellos que se alimentan sobre o en el cuerpo de los animales de sangre caliente.

Un gran número de diferentes artrópodos que viven sobre  
5 o en el cuerpo de los animales de sangre caliente, causan considerables pérdidas económicas. Los métodos conocidos hasta el presente para combatir estos artrópodos no son completamente satisfactorios. Uno de estos casos es la mosca del ganado, Hypoderma, que ataca al ganado en determinadas épocas del año con el  
10 desarrollo final de larvas bajo la piel de su lomo. Hasta el momento del presente invento, se podía hacer muy poco para evitar el desarrollo de estas larvas en el cuerpo del animal y, una vez



20 J

infectado, tenía lugar inevitablemente un daño considerable en la carne y la piel del animal. La producción de leche del ganado infectado ha sido afectada también perjudicialmente durante determinadas fases del desarrollo de este insecto.

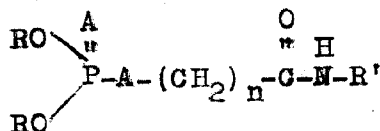
5 El ciclo de vida de la mosca del ganado comprende la colocación de los huevos en los talones del ganado. Cuando las larvas se incuban, agujerean la piel, emigran dentro del cuerpo y, finalmente, al esófago o canal espinal en donde se desarrollan durante algún tiempo. A continuación, emigran al lomo del animal donde se desarrollan más durante un período de tiempo de 10 unos dos meses. Finalmente, las larvas atraviesan la piel del animal y caen en la tierra en donde se transforman en crisálida y se convierten en mosca en otro mes. Los ataques por estos insectos molestan al ganado, afectan perjudicialmente a su producción de leche y al aumento de peso, estropean la carne en 15 zonas en que se desarrollan las larvas y producen defectos en la piel, que reducen su valor para la obtención de cuero. El ciclo de vida de la mosca del ganado en el animal, es de unos 9 a 11 meses, durante cuyo tiempo no ha sido hasta ahora posible hacer 20 gran cosa para eliminar la infección. El presente invento proporciona medios de destruir estos insectos durante sus diferentes fases de desarrollo, mientras se hallan en el cuerpo del animal.

Los mosquitos son, desde luego, plagas de insectos bien conocidas que se alimentan de los animales de sangre caliente, 25 molestan a los animales, perturban su alimentación y bienestar general siendo, asimismo, portadores de enfermedades infecciosas. Los mosquitos que se alimentan de los animales de sangre caliente, tratados de acuerdo con las enseñanzas del presente invento, 30 pueden también destruirse.



Los piojos son, asimismo, otros insectos bien conocidos que infectan naturalmente a una gran variedad de animales de sangre caliente perjudicando a estos animales. Son, asimismo, portadores bien conocidos de enfermedades. Estos y muchos otros insectos relacionados que se alimentan sobre los animales de sangre caliente se matan, asimismo, alimentándose en animales de sangre caliente tratados de acuerdo con las enseñanzas del presente invento.

Hemos descubierto que determinados fosfatos de carbamilalquilo que tengan la fórmula general:



en la que R es metilo, A es oxígeno o azufre, n es un número entero pequeño y R' es hidrógeno, un radical alquilo inferior (hasta 8 átomos de carbono), bencilo o ciclohexilo, son insecticidas sistémicos eficaces para los animales de sangre caliente cuando se administran oral o parenteralmente o intramuscularmente a los mismos en cantidades que oscilan de 1 mg a 250 mg, aproximadamente, de fosfato de carbamilalquilo por kg. de peso de cuerpo del animal, dependiendo la cantidad del fosfato empleado particular, del animal en tratamiento y del tipo de tratamiento deseado, según se explicará más en particular en lo que sigue.

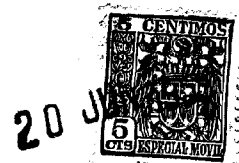
Estos fosfatos de carbamilalquilo y un método de preparación de los mismos se describen en la patente de los EE. UU. Nº. 2.494.283.

Aunque el fósforoditioato de O,O-dimetil-S-(N-metilcarbamil)-metilo es un insecticida sistémico particularmente eficaz



y es el que se prefiere actualmente del grupo comprendido bajo la fórmula general anterior para su empleo en el control de insectos que se alimentan sobre animales de sangre caliente; entre los otros compuestos de este grupo que pueden utilizarse eficazmente se incluyen el fósforo-ditioato de O,O-dimetil-S-(N-etilcarbamil)-metilo, fósforo-ditioato de O,O-dimetil-S-(N-propilcarbamil)-metilo, fósforo-ditioato de O,O-dimetil-S-(N-isopropilcarbamil)-metilo, fósforo-tioato de O,O-dimetil-S-(N-metilcarbamil)-metilo, fósforotioato de O,O-dimetil-S-(N-metilcarbamil)-etilo, fósforotioato de O,O-dimetil-O-(N-metilcarbamil)-metilo, fosfato de O,O-dimetil-O-(N-metilcarbamil)-metilo, fósforoditioato de O,O-dimetil-S-(N-metilcarbamil)-etilo y aún otros.

Nuestro descubrimiento de que determinados fosfatos de carbamil-alquilo de la citada patente de los EE. UU. Número 2.494.283 pueden administrarse a los animales de sangre caliente con objeto de matar los insectos que se alimentan sobre o en dichos animales es muy sorprendente por una serie de razones. Los fosfatos de carbamil-alquilo de la misma patente de los EE.UU. N.º. 2.494.283 son un grupo muy tóxico para los mamíferos. Hemos encontrado que algunos de ellos pueden administrarse sin peligro a los animales en determinadas concentraciones sin efectos nocivos; sin embargo, estas concentraciones son tales que matarán a los insectos que se alimentan del animal. Este tipo de actividad sistémica insecticida en los animales de sangre caliente para estos compuestos no ha sido observado con anterioridad a nuestro invento, que nosotros sepamos. Es asimismo, sorprendente porque algunos de los fosfatos de carbamil-alquilo más eficaces como insecticidas de contacto son ineficaces o solamente parcialmente efectivos cuando se administran a



los animales de sangre caliente. Muchos de los fosfatos de alquil-carbamilo matan al animal antes de matar al insecto que se alimenta de él y, desde luego, no pueden emplearse como insecticidas sistémicos en los mamíferos.

5           Según se indicó anteriormente, las cantidades eficaces de fosfatos de carbamil-alquilo que pueden utilizarse en la práctica del procedimiento del presente invento pueden oscilar entre 1 mg a 250 mg por kg de peso de cuerpo. El insecticida es más tóxico para algunos ani-males que para otros. Sin embargo, 10 afortunadamente la cantidad de fosfato insecticida que es eficaz para destruir los tipos y clases de insectos deseados, es tan pequeña comparada con la dosis letal DL<sub>50</sub> que el insecticida puede utilizarse sin peligro cuando se administra de acuerdo con las instrucciones de este invento. Según se indicará en 15 lo que sigue, cantidades de algunos de los fosfatos de carbamil-alquilo tan bajas como 2,5 mg por kg de peso de cuerpo y posiblemente menos, son muy eficaces frente a algunas fases de desarrollo del Hypoderma lineatum en el ganado. Los ensayos han demostrado que cantidades tan elevadas como 60 mg/kg de peso 20 de cuerpo no matan el ganado, aunque con dosis de 80 mg/kg de cuerpo, algún ganado muere con el mismo fosfato de carbamil-alquilo particular. Otros fosfatos de carbamil-alquilo son menos tóxicos y pueden administrarse sin peligro en cantidades mayores. Sin embargo, éstos pueden no tener propiedades insecticidas tan eficaces; y la dosis recomendada puede ser superior en 25 estos casos.

Una ventaja importante del invento se basa en el hecho de que la droga se metaboliza rápidamente en el cuerpo del animal, de modo que la carne del mismo puede comerse por el hombre al 30 cabo de un período de tiempo razonablemente corto después de ha-



ber tratado el animal con el insecticida.

Una ventaja más del invento se basa en el hecho de que una simple dosis del fosfato de carbamil-alquilo destruirá las tres fases de desarrollo de la mosca del ganado que tienen lugar en el cuerpo del animal. Así, uno o dos cursos de tratamiento por año es todo lo que se requiere para combatir esta plaga de insectos. Un tratamiento puede ser también suficiente para liberar al animal de piojos y otros artrópodos que puedan vivir en el mismo. Aunque una dosis matará insectos transitorios como los mosquitos que atacan al animal, al cabo de unas pocas horas después del tratamiento, es evidente que se precisarán dosis repetidas para combatir los mosquitos durante un largo período de tiempo. Este tipo de represión del mosquito puede ser conveniente en circunstancias particulares, aunque no se recomienda durante largos períodos de tiempo.

Según se indicó anteriormente, los insecticidas sistémicos del presente invento pueden administrarse por vía oral o parenteral. Cuando se administran oralmente, pueden hallarse en cualquier forma conveniente y usual de medicación oral, como cápsulas, tabletas o solución. El insecticida puede añadirse a la alimentación o bebida de los animales. Si se desea, el insecticida puede introducirse en el cuerpo del animal mediante inyección hipodérmica o intramuscular. En circunstancias especiales, cuando los compuestos se absorban a través de la piel, pueden emplearse baños o pulverizaciones. El modo de administración del insecticida no es particularmente importante siempre que se introduzcan las cantidades prescritas del insecticida en el cuerpo del animal, en el que puede distribuirse a través de todo el cuerpo por medio del sistema circulatorio.

Para aclarar el invento con más detalle, se dará una serie



de formas específicas de realización de los procedimientos preferidos. Se comprenderá que el invento no se halla limitado al empleo de los compuestos particulares utilizados para aclarar el invento, a los métodos particulares de administración citados ni a las especies particulares de animal o insecto así tratados.

#### EJEMPLO I

Un rebajo de ganado que se sabía que estaba infectado con Hypoderma en la primera fase de desarrollo se seleccionó y se dividió al azar en grupos según se indicará en la tabla que sigue. El ganado se examinó atentamente hasta que se observaron algunas larvas vivas en la piel del lomo, indicando así una infección natural. Un grupo de ganado se trató en la bebida con dosis individuales simples de fósforoditioato de O,O-dimetil-S-(N-metil-carbamil)-metilo administrado en la proporción de 16 mg./kg. de peso de cuerpo en una suspensión acuosa que contenía 0,2% en peso de agar y, aproximadamente, 3,5% en peso de dicho ditioato. Otro grupo de ganado se dosificó del mismo modo con la misma droga en la proporción de 44 mg./kg. de peso de cuerpo. Se observó el número total de larvas vivas en cada grupo de ganado. El ganado se examinó nuevamente al cabo de dos semanas y al cabo de cuatro semanas. Los resultados se indican en la tabla siguiente.

(Sigue Tabla I)

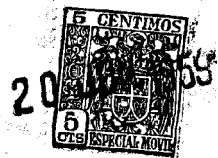


TABLA I

ACTIVIDAD SISTEMICA CONTRA LARVAS (esp. HYPODERMA)

ENSAYOS PROFILACTICOS

5	Ganado Nº.	Tratamiento dosis oral simple	Pretratamiento total	Número de larvas vivas en el lomo				
				Media	Post-tratamiento			
					2 semanas	4 semanas		
					Total	media	Total	media
	20	Ninguna	5	<1	78	4	132	7
	20	16 mg./kg.	4	<1	6	<1	3	<1
10	14	44 mg./kg.	4	<1	4	<1	0	0

< = menor de

Como se observará, se encontró un total de 132 larvas vi-  
vas en el ganado sin tratar, mientras que al cabo de cuatro se-  
manas solamente se encontraron tres larvas vivas en el grupo de  
15 20 animales tratados con 16 mg. de insecticida por kg de peso  
de cuerpo. En el grupo de 14 animales que recibieron la dosis  
superior, no se observaron larvas vivas. Este tratamiento fué,  
por tanto, eficaz para destruir la primera fase de larvas de  
Hypoderma y fué también eficaz para destruir las larvas de la  
20 segunda fase que se hallaban presentes en el momento del trata-  
miento.

EJEMPLO II

En otra serie de tratamientos, se escogió un ganado infec-  
tado con larvas de Hypoderma en la segunda y tercera fases de  
25 desarrollo. Se administraron cantidades de fósforditiato de  
O,O-dimetil-S-(N-metilcarbamil)-metilo que oscilaban de 2,5 a  
10 mg/kg de peso de cuerpo en forma oral como la bebida del ejem-  
plo I. Seis días después del tratamiento, se sacrificaron los  
animales y se examinaron cuidadosamente las larvas muertas y vi-  
30 vas. Los resultados se indican en la tabla siguiente:



TABLA II

## ACTIVIDAD SISTEMICA FRENTE A LARVAS (ESP. HYPODERMA) EN EL LOMO DEL GANADO.

5	Vaca Nº.	Dosis oral simple mg/kg	Número de larvas muertas/número total encontrado 6 días después tra- tamiento	
			2ª fase	3 fase
10	34	10	37/37	56/56
	49	10	5/5	28/28
	45	10	3/3	7/10
	39	10	9/9	21/24
	47	10	10/10	23/29
	Total			64/64
Porcentaje			100	92
15	36	5	36/36	18/18
	42	5	5/5	2/17
	Total			41/41
Porcentaje			100	67
20	30	2.5	25/29	2/36
	35	2.5	52/55	8/21
	Total			77/84
Porcentaje			92	18

Como se observará de lo anterior, una cantidad tan peque-  
ña como 5 mg. por kg. de peso de cuerpo de fósforoditioato de  
25 0,0-dimetil-S-(N-metilcarbamil)-metilo fué efectiva en un 100%  
frente a la segunda fase de las larvas de Hypoderma lineatum;  
y sólo 2,5 mg./kg. de peso de cuerpo fué eficaz en un 92%. Es-  
tos resultados indican también que el fósforoditioato de 0,0-di-  
metil-S-(N-metilcarbamil)-metilo fué muy eficaz frente a las lar-  
30 vas de la tercera fase.

La administración intramuscular fué también eficaz puesto  
que en dos animales que recibieron 10 mg./kg. de peso de cuerpo  
se destruyeron las cuatro larvas de la segunda fase y 29 de 33 de  
la tercera fase a los 6 días después del tratamiento.

35

EJEMPLO III

La eficacia de los fosfatos de carbamil-alquilo del presen-



te invento como insecticidas sistémicos en animales de sangre caliente se demostró en una serie de diferentes animales con diferentes dosis, utilizando mosquitos como artrópodo de ensayo. Mosquitos Aedes aegypti se criaron en un insectario por los métodos usuales y se eligieron las hembras. Se colocaron en recipientes apropiados que se mantuvieron frente a la piel afeitada de ratones de tal manera que los mosquitos pudieran alimentarse libremente del ratón. Los ratones se trataron con una variedad de compuestos del tipo indicado anteriormente con diversos grados de dosificación. Se llevaron a cabo observaciones de los mosquitos a las 72 horas después de dejarlos actuar sobre los ratones tratados. La dosis de insecticida en mg/kg. de peso de cuerpo en el ratón necesaria para matar la mitad de los mosquitos que se alimentan sobre el ratón se determinó y se indicó en la tabla que sigue en la columna DE<sub>50</sub>. Asimismo, se observó la dosis de insecticida en los ratones que dió lugar a la muerte de la mitad de los ratones y se indicó en la tabla siguiente:

TABLA III

Fórmula básica		RATON MG/KG		
		<u>DE<sub>50</sub></u>	<u>DL<sub>50</sub></u>	<u>DL<sub>50</sub></u> <u>DE<sub>50</sub></u>
RO	$\begin{matrix} S & O \\   &   \\ P-S-CH_2 & CNR' \\   &   \\ RO & H \end{matrix}$			
20				
25	<u>COMPUESTO</u>			
	R= , R' =			
	-CH <sub>3</sub> , -H	135	> 250	> 2
	-CH <sub>3</sub> , -CH <sub>3</sub>	5	95	19
	-CH <sub>3</sub> , -C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	23	125	5
30	-CH <sub>3</sub> , -OH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	21	200	10
	-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> , -H	> 10	10	< 1
	-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> , -CH <sub>3</sub>	> 50	< 20	-
	-C <sub>2</sub> H <sub>7</sub> , -CH <sub>3</sub>	501	< 50	-
	> = mayor de		< = menor de	i = inactivo



Como se observará, los insecticidas sistémicos eficaces indicados en el primer grupo destruyen aproximadamente la mitad de los mosquitos con dosificaciones que oscilan de 5 mg./kg. de peso de cuerpo en el caso del compuesto fósforoditiato de O,O-dimetil-S-(H-metilcarbamil)-metilo a 135 mg./kg. en el caso del fósforoditiato de O,O-dimetil-S-carbamilmetilo. Las cantidades de insecticida necesarias para destruir la mitad de los ratones oscilan desde 2 a unas 19 veces las dosis DE<sub>50</sub>.

Con objeto de comparar, la tabla indica asimismo los resultados que se obtienen utilizando compuestos estrechamente relacionados; esto es, aquellos en que el grupo R era etilo o propilo. Como se observará, estos compuestos son inactivos o tienen valores DL<sub>50</sub> mayores que el valor DE<sub>50</sub> y, desde luego, no pueden emplearse como insecticidas sistémicos en los animales de sangre caliente. Esto es muy sorprendente a la vista del hecho de que algunos de estos compuestos del último tipo son más eficaces como insecticidas de contacto que los compuestos preferidos del presente invento.

#### EJEMPLO IV

Se determinó la eficacia del fósforoditiato de O,O-dimetil-S-(N-metilcarbamil)-metilo como insecticida sistémico en corderos y terneros utilizando mosquitos como artrópodo de ensayo (*Aedes aegypti*) en un experimento en el que este compuesto se administró a corderos y terneros por vía oral en dosis de 10 y 25 mg. por kg. de peso de cuerpo. Se dejó que los mosquitos hembra se alimentaran en zonas afeitadas del cuerpo de los animales como en el ejemplo III durante períodos de 1 hora, 4 horas y 24 horas después de la administración oral de la droga. Los resultados de esta serie de ensayos se indican en la siguiente tabla:

20 JUL



TABLA IV

Huesped	Dosis oral mg/kg	% de muertes en 72 horas (Nº. de Aedes alimentados en períodos diferentes después de la dosis)		
		1 hora	4 horas	24 horas
Cordero	10	83(23)	70(17)	9(22)
Cordero	25	76(24)	71(21)	4(25)
Ternero	10	32(25)	85(28)	4(27)
Ternero	25	96(23)	100(25)	5(22)

10 La mortalidad de los mosquitos alimentados en controles sin tratar es menor del 10%.

15 Estos resultados indican que el insecticida resulta eficaz en un período muy breve de tiempo. Sin embargo, al cabo de 24 horas, el insecticida ha perdido prácticamente toda su eficacia según se indica por el número relativamente pequeño de mosquitos que murieron después de alimentarse sobre el animal 24 horas después de la dosificación.

EJEMPLO V

20 La eficacia del fósforoditiato de O,O-dimetil-S-(N-metil-carbamil)-metilo frente a los piojos (esp. Polyplax) en ratones se demostró del siguiente modo.

25 A una serie de ratones se le administraron dosis orales simples del insecticida con un grado de dosificación de 12,5 mg./kg. de peso de cuerpo. Al cabo de 24 horas, se determinó el número total de piojos muertos y vivos en cada ratón y en el suelo de su jaula.. Los resultados de este estudio se presentan en la tabla siguiente:

20



TABLA V

Dosis oral simple mg/kg	Nº. ratones	Nº. piojos retirados	Totales		piojos muertos % del total
			Nº piojos recuperados sobre huesped	% piojos apartados	
5					
10	1	405	288	64	62
12.5	2	160	18	89	85
12.5	3	135	50	73	73
12.5	4	256	234	52	50
12.5	5	413	2070	13	17
-----					
15	1	10	76	11	17
Ninguno	2	13	119	9	14
Ninguno	3	17	278	6	8
Ninguno	4	11	155	7	8

Estos resultados indican que el compuesto ensayado es eficaz para eliminar y matar los piojos en ratones infectados naturalmente, siendo el % de piojos eliminados del huesped y el % de piojos muertos en total esencialmente superior en el caso de los ratones tratados que en el caso de los controles.

EJEMPLO VI

Se trataron ratas y cobayas con cantidades variables de fósforoditicoato de O,O-dimetil-S-(N-metilcarbanil)-metilo y se observó la eficacia del tratamiento para matar mosquitos que se dejaron alimentar sobre los animales de ensayo. Una via de administración del insecticida fué por administración oral con el fosfato en suspensión en una solución de agar al 0,2%. En otra serie, la droga se administró por inyección subcutánea de una suspensión de la misma en aceite de sésamo a una concentración aproximadamente de un 1%, regulándose la inyección para dar las cantidades de insecticida en mg/kg de peso de cuerpo del cobaya,



según se indica en la tabla siguiente. Se dejaron alimentar los mosquitos en zonas afeitadas del animal, como en los casos anteriores descritos en los otros ejemplos; y al cabo de un periodo de 72 horas, se observó el número de mosquitos muertos y el porcentaje de muertes calculado.

**TABLA VI**

		% de muertes en 72 horas (no. de Aedes alimentado después de dosis C mg./kg.)								
10	Huesped	vía y medio	1,5	3,13	6,25	12,5	25	50	100	200
	cobaya	oral-agar			5(37)	87(23)	94(39)	95(20)	90(20)	94(32)
	cobaya	S.C.-aceite			8(49)	92(53)	94(58)			
	rata	oral-agar	0(18)	60(39)	90(30)					

15 Mortalidad de mosquitos alimentados en controles sin tratar, menor del 10%.

Se observará que el fósforoditioato de O,O-dimetil-S-(N-metilcarbamil)-metilo fué eficaz cuando se administró oral y subcutáneamente destruyendo los mosquitos a concentraciones tan bajas como 3,13 mg/kg de peso de cuerpo.

25 El compuesto que se prefiere emplear en la práctica del presente invento, el fósforoditioato de O,O-dimetil-S-(N-metilcarbamil)-metilo puede prepararse por el procedimiento de la patente de los EE.UU. No. 2.494.283, sustituyendo en el ejemplo 7 por una cantidad de  $\alpha$ -cloro-N-metil-acetamida equivalente la cantidad de cloro-acetamida utilizada en aquel ejemplo. El producto resultante es un sólido incoloro, cristalino, que tiene un punto de fusión 50-52°C. Análogamente, el fósforoditioato de O,O-dimetil-S-(N-metilcarbamil)-metilo puede prepararse sustituyendo la cloroacetamida del ejemplo 7 por una cantidad equivalente de  $\alpha$ -cloro-N-etilacetamida. El producto es, asimismo, un sólido cristalino incoloro que tiene un punto de fusión de 66-68°C.



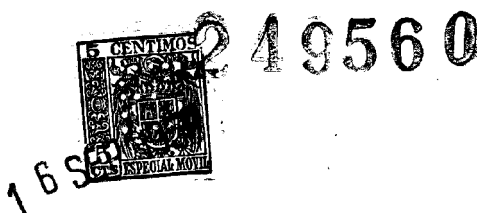


249.560

P - 18.284

16 SEP. 1959

A. 40381  
Case 16.374  
Rehecha I



MEMORIA DESCRIPTIVA

para solicitar

P A T E N T E     D E     I N T R O D U C C I O N

en

E S P A Ñ A

por DIEZ años

a nombre de AMERICAN CYANAMID COMPANY, entidad norteamericana, establecida en 30, Rockefeller Plaza, Nueva York, N.Y., Estados Unidos de América, por:

"UN METODO DE COMBATIR INSECTOS Y OTROS ARTRÓPODOS QUE INFESTAN ANIMALES DE SANGRE CALIENTE".

Este invento se refiere al control o represión de insectos y otros artrópodos y más en particular aquellos que se alimentan sobre o en el cuerpo de los animales de sangre caliente.

Un gran número de diferentes artrópodos que viven sobre o en el cuerpo de los animales de sangre caliente causan considerables pérdidas económicas. Los métodos conocidos hasta el presente para combatir estos artrópodos no son completamente satisfactorios. Uno de estos casos es la mosca del ganado, Hypoderma, que ataca al ganado en determinadas épocas del año con el desarrollo final de larvas bajo la piel de su lomo. Has-

249560



ta el momento del presente invento, se podía hacer muy poco para evitar el desarrollo de estas larvas en el cuerpo del animal y, una vez infectado, tenía lugar inevitablemente un daño considerable en la carne y la piel del animal. La producción de leche del ganado infectado ha sido afectada también perjudicialmente durante determinadas fases del desarrollo de este insecto.

5 El ciclo de vida de la mosca del ganado comprende la colocación de los huevos en los talones del ganado. Cuando las larvas se incuban, agujerean la piel, emigran dentro del cuerpo y, finalmente, al esófago o canal espinal en donde se desarrollan durante algún tiempo. A continuación, emigran al lomo del animal donde se desarrollan más durante un período de tiempo de unos dos meses. Finalmente, las larvas atraviesan la piel del animal y caen en la tierra en donde se transforman en crisálida y se convierten en mosca en otro mes. Los ataques por estos insectos molestan al ganado, afectan perjudicialmente a su producción de leche y el aumento de peso, estropean la carne en zonas en que se desarrollan las larvas y producen defectos en la piel, que reducen su valor para la obtención de cuero. El ciclo de vida de la mosca del ganado en el animal, es de unos 9 a 11 meses, durante cuyo tiempo no ha sido hasta ahora posible hacer gran cosa para eliminar la infección. El presente invento proporciona medios de destruir estos insectos durante sus diferentes fases de desarrollo, mientras se hallan en el cuerpo del animal.

15 20 25 30 Los mosquitos son, desde luego, plagas de insectos bien conocidas que se alimentan de los animales de sangre caliente, molestan a los animales, perturban su alimentación y bienestar general siendo, asimismo, portadores de enfermedades infecciosas. Los mosquitos que se alimentan de los animales de sangre

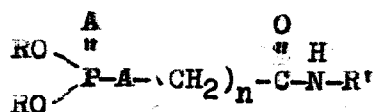
249560



caliente, tratados de acuerdo con las enseñanzas del presente invento, pueden también destruirse.

Los piojos son, asimismo, otros insectos bien conocidos que infectan naturalmente a una gran variedad de animales de sangre caliente perjudicando a estos animales. Son, asimismo, portadores bien conocidos de enfermedades. Estos y muchos otros insectos relacionados que se alimentan sobre los animales de sangre caliente se matan, asimismo, alimentándose en animales de sangre caliente tratados de acuerdo con las enseñanzas del presente invento.

Hemos descubierto que determinados fosfatos de carbamilalquilo que tengan la fórmula general:



en la que R es metilo, A es oxígeno o azufre, n es un número entero pequeño y R' es hidrógeno, un radical alquilo inferior (hasta 8 átomos de carbono), bencilo o ciclohexilo, son insecticidas sistémicos eficaces para los animales de sangre caliente cuando se administran oral o parenteralmente o intramuscularmente a los mismos en cantidades que oscilan de 1 mg a 250 mg, aproximadamente, de fosfato de carbamilalquilo por kg de peso de cuerpo del animal, dependiendo la cantidad del fosfato empleado particular, del animal en tratamiento y del tipo de tratamiento deseado, según se explicará más en particular en lo que sigue.

Estos fosfatos de carbamilalquilo y un método de preparación de los mismos se describen en la patente de los EE.UU. No. 2.494.283.

Aunque el fósforoditricato de O,O-dimetil-S-(N-metilcarbamil)-metilo es un insecticida sistémico particularmente eficaz y es el que se prefiere actualmente del grupo comprendido bajo



249560

16

la fórmula general anterior para su empleo en el control de insectos que se alimentan sobre animales de sangre caliente; entre los otros compuestos de este grupo que pueden utilizarse eficazmente se incluyen el fósforo-ditioato de O,O-dimetil-S-(N-etilcarbamil)-metilo, fósforo-ditioato de O,O-dimetil-S-(N-propilcarbamil)-metilo, fósforo-ditioato de O,O-dimetil-S-(N-isopropilcarbamil)-metilo, fósforo-tioato de O,O-dimetil-S-(N-metilcarbamil)-metilo, fósforotioato de O,O-dimetil-S-(N-metilcarbamil)-etilo, fósforotioato de O,O-dimetil-O-(N-metilcarbamil)-metilo, fosfato de O,O-dimetil-O-(N-metilcarbamil)-metilo, fósforoditioato de O,O-dimetil-S-(N-metilcarbamil)-etilo y aún otros.

Nuestro descubrimiento de que determinados fosfatos de carbamil-alquilo de la citada patente de los EE.UU. No. 2.494.283 pueden administrarse a los animales de sangre caliente con objeto de matar los insectos que se alimentan sobre o en dichos animales es muy sorprendente por una serie de razones. Los fosfatos de carbamil-alquilo de la misma patente de los EE.UU. No. 2.494.283 son un grupo muy tóxico para los mamíferos. Hemos encontrado que algunos de ellos pueden administrarse sin peligro a los animales en determinadas concentraciones sin efectos nocivos; sin embargo, estas concentraciones son tales que matarán a los insectos que se alimentan del animal. Este tipo de actividad sistémica insecticida en los animales de sangre caliente para estos compuestos no ha sido observado con anterioridad a nuestro invento, que nosotros sepamos. Es, asimismo, sorprendente porque algunos de los fosfatos de carbamil-alquilo más eficaces como insecticidas de contacto son ineficaces o solamente parcialmente efectivos cuando se administran a los animales de sangre caliente. Muchos de los fosfatos de alquil-

249560



carbamilo matan al animal antes de matar al insecto que se alimenta de él y, desde luego, no pueden emplearse como insecticidas sistémicos en los mamíferos.

5 Según se indicó anteriormente, las cantidades eficaces de fosfatos de carbamil-alquilo que pueden utilizarse en la práctica del procedimiento del presente invento pueden oscilar entre 1 mg a 250 mg por kg de peso de cuerpo. El insecticida es más tóxico para algunos animales que para otros. Sin embargo, afortunadamente la cantidad de fosfato insecticida que es eficaz para destruir los tipos y clases de insectos deseados, es tan pequeña comparada con la dosis letal  $DL_{50}$  que el insecticida puede utilizarse sin peligro cuando se administra de acuerdo con las instrucciones de este invento. Según se indicará en lo que sigue, cantidades de algunos de los fosfatos de carbamil-  
10 alquilo tan bajas como 2,5 mg por kg de peso de cuerpo y posiblemente menos, son muy eficaces frente a algunas fases de desarrollo del Hypoderma lineatum en el ganado. Los ensayos han demostrado que cantidades tan elevadas como 60 mg/kg de peso de cuerpo no matan el ganado, aunque con dosis de 80 mg/kg de peso de cuerpo, algún ganado muere con el mismo fosfato de carbamil-alquilo particular. Otros fosfatos de carbamil-alquilo son menos tóxicos y pueden administrarse sin peligro en cantidades mayores. Sin embargo, éstos pueden no tener propiedades insecticidas tan eficaces; y la dosis recomendada puede ser superior en estos casos.  
25

Una ventaja importante del invento se basa en el hecho de que la droga se metaboliza rápidamente en el cuerpo del animal, de modo que la carne del mismo puede comerse por el hombre al cabo de un período de tiempo razonablemente corto después de haber tratado el animal con el insecticida.  
30

249560

16



Una ventaja más del invento se basa en el hecho de que una simple dosis del fosfato de carbamil-alquilo destruirá las tres fases de desarrollo de la mosca del ganado que tienen lugar en el cuerpo del animal. Así, uno o dos cursos de tratamiento por año es todo lo que se requiere para combatir esta plaga de insectos. Un tratamiento puede ser también suficiente para liberar al animal de piojos y otros artrópodos que puedan vivir en el mismo. Aunque una dosis matará insectos transitorios como los mosquitos que atacan al animal, al cabo de unas pocas horas después del tratamiento, es evidente que se precisarán dosis repetidas para combatir los mosquitos durante un largo período de tiempo. Este tipo de represión del mosquito puede ser conveniente en circunstancias particulares, aunque no se recomienda durante largos periodos de tiempo.

Según se indicó anteriormente, los insecticidas sistémicos del presente invento pueden administrarse por vía oral o parenteral. Cuando se administran oralmente, pueden hallarse en cualquier forma conveniente y usual de medicación oral, como cápsulas, tabletas o solución. El insecticida puede añadirse a la alimentación o bebida de los animales. Si se desea, el insecticida puede introducirse en el cuerpo del animal mediante inyección hipodérmica o intramuscular. En circunstancias especiales, cuando los compuestos se absorban a través de la piel, pueden emplearse baños o pulverizaciones. El modo de administración del insecticida no es particularmente importante siempre que se introduzcan las cantidades prescritas del insecticida en el cuerpo del animal, en el que puede distribuirse a través de todo el cuerpo por medio del sistema circulatorio.

Para aclarar el invento con más detalle, se dará una serie de formas específicas de realización de los procedimientos



249560

preferidos. Se comprenderá que el invento no se halla limitado al empleo de los compuestos particulares utilizados para aclarar el invento, a los métodos particulares de administración citados ni a las especies particulares de animal o insecto así tratados.

5

EJEMPLO I

Un rebaño de ganado que se sabía que estaba infectado con Hypoderma en la primera fase de desarrollo se seleccionó y se dividió al azar en grupos según se indicará en la tabla que sigue. El ganado se examinó atentamente hasta que se observaron algunas larvas vivas en la piel del lomo, indicando así una infección natural. Un grupo de ganado se trató en la bebida con dosis individuales simples de fósforoditicoato de O,O-dimetil-S-(N-metilcarbamil)-metilo administrado en la proporción de 16 mg/kg de peso de cuerpo en una suspensión acuosa que contenía 0,2% en peso de agar y, aproximadamente, 3,5% en peso de dicho diticoato. Otro grupo de ganado se dosificó del mismo modo con la misma droga en la proporción de 44 mg/kg de peso de cuerpo. Se observó el número total de larvas vivas en cada grupo de ganado. El ganado se examinó nuevamente al cabo de dos semanas y al cabo de cuatro semanas. Los resultados se indican en la tabla siguiente.

10

15

20

TABLA I

ACTIVIDAD SISTEMICA CONTRA LARVAS (esp. HYPODERMA)

ENSAYOS PROFILACTICOS

Ganado  
-Ns.

Tratamiento  
dosis oral simple

Pretratamiento  
Total

Número de larvas vivas en el lomo  
Post-tratamiento  
2 semanas 4 semanas  
Total Media Total Media

20	Ninguna	5	<1	78	4	132	7
20	16 mg./kg.	4	<1	6	<1	3	<1
14	44 mg./kg.	4	<1	4	<1	0	0

< = menor de

249560

16S



249560



5 Como se observará, se encontró un total de 132 larvas vivas en el ganado sin tratar, mientras que al cabo de cuatro semanas solamente se encontraron tres larvas vivas en el grupo de 20 animales tratados con 16 mg de insecticida por kg. de peso de cuerpo. En el grupo de 14 animales, que recibieron la dosis superior, no se observaron larvas vivas. Este tratamiento fué, por tanto, eficaz para destruir la primera fase de larvas de Hypoderma y fué también eficaz para destruir las larvas de la segunda fase que se hallaban presentes en el momento del tratamiento.

10

EJEMPLO II

15 En otra serie de tratamientos, se escogió un ganado infectado con larvas de Hypoderma en la segunda y tercera fases de desarrollo. Se administraron cantidades de fósforoditicoato de O,O-dimetil-S-N-metilcarbamil)-metilo que oscilaban de 2,5 a 10 mg/kg de peso de cuerpo en forma oral como la bebida del ejemplo I. Seis días después del tratamiento, se sacrificaron los animales y se examinaron cuidadosamente las larvas muertas y vivas. Los resultados se indican en la tabla siguiente:



1658

TABLA II

249560

ACTIVIDAD SISTEMÁTICA FRENTE A LARVAS (ESP. HYPODERMA) EN EL LOMO DEL GANADO

Vaca No.	Dosis oral simple mg/kg	Número de larvas muertas/número total encontrado 6 días después tratamiento	
		2ª fase	3ª fase
5			
34	10	37/37	56/56
43	10	5/5	28/28
45	10	3/3	7/10
39	10	9/9	21/24
47	10	10/10	23/29
Total		64/64	135/147
Porcentaje		100	92
10			
36	5	36/36	18/18
42	5	5/5	2/17
Total		41/41	20/35
Porcentaje		100	67
15			
30	2.5	25/29	2/36
35	2.5	52/55	8/21
Total		77/84	10/57
Porcentaje		92	18

20 Como se observará de lo anterior, una cantidad tan pequeña como 5 mg por kg de peso de cuerpo de fosforoditioato de O,O-dimetil-S-(N-metilcarbamil)-metilo fué efectiva en un 100% frente a la segunda fase de las larvas de Hypoderma lineatum; y sólo 2,5 mg/kg de peso de cuerpo fué eficaz en un 92%. Estos resultados indican también que el fosforoditioato de O,O-dimetil-S-(N-metilcarbamil)-metilo fué muy eficaz frente a las larvas de la tercera fase.

25 La administración intramuscular fué también eficaz puesto que en dos animales que recibieron 10 mg/kg de peso de cuerpo se destruyeron las cuatro larvas de la segunda fase y 29 de 33 de la tercera fase a los 6 días después del tratamiento.



44956

EJEMPLO III

La eficacia de los fosfatos de carbamil-alquilo del presente invento como insecticidas sistémicos en animales de sangre caliente se demostró en una serie de diferentes animales con diferentes dosis, utilizando mosquitos como artrópodo de ensayo. Mosquitos Aedes aegypti se criaron en un insectario por los métodos usuales y se eligieron las hembras. Se colocaron en recipientes apropiados que se mantuvieron frente a la piel afeitada de ratones de tal manera que los mosquitos pudieran alimentarse libremente del ratón. Los ratones se trataron con una variedad de compuestos del tipo indicado anteriormente con diversos grados de dosificación. Se llevaron a cabo observaciones de los mosquitos a las 72 horas después de dejarlos actuar sobre los ratones tratados. La dosis de insecticida en mg/kg de peso de cuerpo en el ratón necesaria para matar la mitad de los mosquitos que se alimentan sobre el ratón se determinó y se indicó en la tabla que sigue en la columna DE<sub>50</sub>. Asimismo, se observó la dosis de insecticida en los ratones que dió lugar a la muerte de la mitad de los ratones y se indicó en la tabla siguiente:

TABLA III

Fórmula básica	RATON MG/KG		
	DE <sub>50</sub>	DL <sub>50</sub>	DL <sub>50</sub> DE <sub>50</sub>
$\begin{matrix} \text{RO} & \text{S} & & \text{O} \\ & \parallel & & \parallel \\ & \text{P-S-CH}_2 & \text{CNR}^i & \\ & &   & \\ \text{RO} & & \text{H} & \end{matrix}$			
COMPUESTO	DE <sub>50</sub>	DL <sub>50</sub>	DL <sub>50</sub> DE <sub>50</sub>
R=, R <sup>i</sup> =			=
-CH <sub>3</sub> , -H	135	>250	> 2
-CH <sub>3</sub> , -CH <sub>3</sub>	5	95	19
-CH <sub>3</sub> , -C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	23	125	5
-CH <sub>3</sub> , -CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	21	200	10
-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> , -H	> 10	10	< 1
-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> , -CH <sub>3</sub>	> 50	< 20	-
-C <sub>2</sub> H <sub>7</sub> , -CH <sub>3</sub>	501	< 50	-

> = mayor de      < = menor de      i = inactivo



248550

Como se observará, los insecticidas sistémicos eficaces indicados en el primer grupo destruyen aproximadamente la mitad de los mosquitos con dosificaciones que oscilan de 5 mg/kg de peso de cuerpo en el caso del compuesto fósforoditicoato de O,O-dimetil-S-(N-metilcarbamil)-metilo a 135 mg/kg en el caso del fósforoditicoato de O,O-dimetil-S-carbamilmetilo. Las cantidades de insecticida necesarias para destruir la mitad de los ratones oscilan desde 2 a unas 1<sup>2</sup> veces las dosis DE<sub>50</sub>.

Con objeto de comparar, la tabla indica asimismo los resultados que se obtienen utilizando compuestos estrechamente relacionados; esto es, aquellos en que el grupo R era etilo o propilo. Como se observará, estos compuestos son inactivos o tienen valores DL<sub>50</sub> mayores que el valor DE<sub>50</sub> y, desde luego, no pueden emplearse como insecticidas sistémicos en los animales de sangre caliente. Esto es muy sorprendente a la vista del hecho de que algunos de estos compuestos del último tipo son más eficaces como insecticidas de contacto que los compuestos preferidos del presente invento.

#### EJEMPLO IV

Se determinó la eficacia del fósforoditicoato de O,O-dimetil-S-(N-metilcarbamil)-metilo como insecticida sistémico en corderos y terneros utilizando mosquitos como artrópodo de ensayo (Aedes aegypti) en un experimento en el que este compuesto se administró a corderos y terneros por vía oral en dosis de 10 y 25 mg por kg de peso de cuerpo. Se dejó que los mosquitos hembra se alimentaran en zonas afeitadas del cuerpo de los animales como en el ejemplo III durante períodos de 1 hora, 4 horas y 24 horas después de la administración oral de la droga. Los resultados de esta serie de ensayos se indican en la siguiente tabla:



16

TABLA IV

249560

Huesped	Dosis oral mg/kg	% de muertes en 72 horas 'No. de Aedes alimentados en periodos diferentes despues de la dosis)		
		1 hora	4 horas	24 horas
5	Cordero 10	83(23)	70(17)	9(22)
	Cordero 25	76(24)	71(21)	4(25)
	Ternero 10	32(25)	85(28)	4(27)
	Ternero 25	96(23)	100(25)	5(22)

10 La mortalidad de los mosquitos alimentados en controles sin tratar es menor del 10%.

Estos resultados indican que el insecticida resulta eficaz en un periodo muy breve de tiempo. Sin embargo, al cabo de 24 horas, el insecticida ha perdido prácticamente toda su eficacia según se indica por el número relativamente pequeño de mosquitos que murieron después de alimentarse sobre el animal 24 horas después de la dosificación.

15

EJEMPLO V

20 La eficacia del fosforoditicoato de O,O-dimetil-S-(N-metil-carbamil)-metilo frente a los piojos (esp. Polyplax) en ratones se demostró del siguiente modo.

A una serie de ratones se le administraron dosis orales simples del insecticida con un grado de dosificación de 12,5 mg/kg de peso de cuerpo. Al cabo de 24 horas, se determinó el número total de piojos muertos y vivos en cada ratón y en el suelo de su jaula. Los resultados de este estudio se presentan en la tabla siguiente:

25

TABLA V

49580

169



Totales					
Dosis oral simple mg/kg	No. ratones	No. piojos retirados	No. piojos recuperados sobre huesped	% piojos apartados	piojos muertos % del total
12.5	1	405	288	64	62
12.5	2	160	18	89	85
12.5	3	135	50	73	73
12.5	4	256	234	52	50
12.5	5	413	2070	13	17
Ninguno	1	10	76	11	17
Ninguno	2	13	119	9	14
Ninguno	3	17	278	6	8
Ninguno	4	11	155	7	8

15

Estos resultados indican que el compuesto ensayado es eficaz para eliminar y matar los piojos en ratones infectados naturalmente, siendo el % de piojos eliminados del huesped y el % de piojos muertos en total esencialmente superior en el caso de los ratones tratados que en el caso de los controles.

20

EJEMPLO VI

Se trataron ratas y cobayas con cantidades variables de fosforoditioato de O,O-dimetil-S-(N-metilcarbamil)-metilo y se observó la eficacia del tratamiento para matar mosquitos que se dejaron alimentar sobre los animales de ensayo. Una vía de administración del insecticida fué por administración oral con el fosfato en suspensión en una solución de agar al 0,2%. En otra serie, la droga se administró por inyección subcutánea de una suspensión de la misma en aceite de sésamo a una concentración aproximadamente de un 1%, regulándose la inyección para

30

TABLA VI

Huesped	vía y medio	% de muertes en 72 horas (no de Aedes alimentado después de dosis 0 mg/kg)							
		1,5	3,15	6,25	12,5	25	50	100	200
cobaya	oral-agar			5(37)	87(23)	94(39)	95(20)	90(20)	94(32)
cobaya	S.C.-aceite			8(49)	92(53)	94(58)			
rata	oral-agar	0(18)	60(39)	90(30)	95(20)				

Mortalidad de mosquitos alimentados en controles sin tratar, menor del 10%.

249560



16

249560



Se observará que el fósforoditioato de O,O-dimetil-S-(N-metilcarbamil)-metilo fué eficaz cuando se administró oral y subcutáneamente destruyendo los mosquitos a concentraciones tan bajas como 3,13 mg/kg de peso de cuerpo.

5 El compuesto que se prefiere emplear en la práctica del presente invento, el fósforoditioato de O,O-dimetil-S-(N-metilcarbamil)-metilo puede prepararse por el procedimiento de la patente de los EE.UU. No. 2.494.283, sustituyendo en el ejemplo 7 por una cantidad de  $\alpha$ -cloro-N-metil-acetamida equivalente la  
10 cantidad de cloro-acetamida utilizada en aquel ejemplo. El producto resultante es un sólido incoloro, cristalino, que tiene un punto de fusión 50-52°C. Análogamente, el fósforoditioato de O,O-dimetil-S-(N-metilcarbamil)-metilo puede prepararse sustituyendo la cloroacetamida del ejemplo 7 por una cantidad equivalente  
15 lente de  $\alpha$ -cloro-N-etilacetamida. El producto es, asimismo, un sólido cristalino incoloro que tiene un punto de fusión de 66-68°C.

#### N O T A

Los puntos de invención propia, no nueva, pero no establecida, practicada ni divulgada en España, que se presentan  
20 para que sean objeto de esta Patente de Introducción, por DIEZ años, son los siguientes:

12. - Un método de combatir insectos y otros artrópodos que infestan animales de sangre caliente, que comprende la introducción en el cuerpo de un animal de sangre caliente sobre  
25 el que se alimentan los citados insectos de un compuesto que tenga la fórmula general:





245560<sup>16 SEP</sup>

62. - Un método de combatir insectos y otros artrópodos que infestan animales de sangre caliente.

Tal y como se ha descrito en la Memoria que antecede y con los fines que se han especificado.

.5 Esta Memoria consta de diecinueve hojas escritas por una sola cara.

Madrid,

16 SEP. 1959  
P. A.

Alberto de Elzaburu  
Por