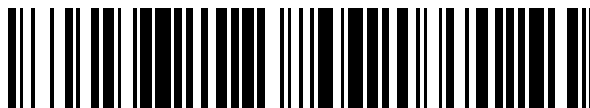


(19)

OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 378 812**

(21) Número de solicitud: 201031387

(51) Int. Cl.:

A61K 31/685 (2006.01)**A61P 33/10** (2006.01)**A61P 33/12** (2006.01)

(12)

PATENTE DE INVENCION

B1

(22) Fecha de presentación:

16.09.2010

(43) Fecha de publicación de la solicitud:

18.04.2012

Fecha de la concesión:

06.03.2013

(45) Fecha de publicación de la concesión:

19.03.2013

(73) Titular/es:

UNIVERSIDAD DE SALAMANCA (40%)
PATIO DE ESCUELAS, 1
37008 SALAMANCA (Salamanca) ES;
CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES
CIENTIFICAS (CSIC) (40%) y
APOINTECH, S.L. (20%)

(72) Inventor/es:

MURO ALVAREZ, Antonio;
LÓPEZ ABÁN, Julio;
YEPES VICTORIA, Edward y
MOLLINEDO GARCIA, Faustino

(74) Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel(54) Título: **USO DE EDELFOSINA PARA LA PREVENCION Y/O TRATAMIENTO DE HELMINTIASIS**

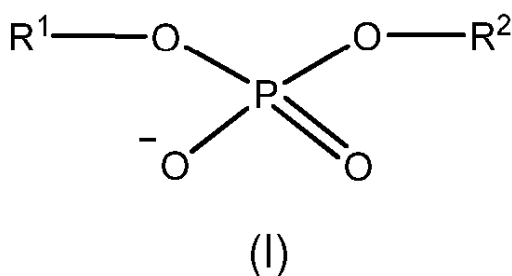
(57) Resumen:

Uso de edelfosina para la prevención y/o tratamiento de helmintiasis.

La presente invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula general (I)

****IMAGEN****

donde preferiblemente el compuesto es edelfosina (1-O-octadecil-2-O-metil-rac-glicero-3-fosfocolina), para la fabricación de un medicamento para la prevención y/o el tratamiento de helmintiasis, es decir, para su uso como antihelmíntico, preferiblemente para la prevención y/o el tratamiento de esquistosomiasis y/o estrongiloidiasis.

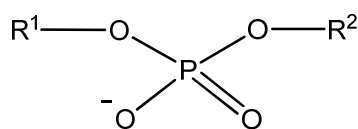


ES 2 378 812 B1

DESCRIPCIÓN

USO DE EDELFOSINA PARA LA PREVENCIÓN Y/O TRATAMIENTO DE HELMINTIASIS.

La presente invención se encuadra dentro del campo de la actividad
 5 terapéutica de compuestos o preparaciones medicinales, en concreto, la presente invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula general (I)



(I)

10 donde preferiblemente el compuesto es edelfosina (1-O- octadecil-2-O-metil-*rac*-glicero-3-fosfocolina), para la fabricación de un medicamento para la prevención y/o el tratamiento de helmintiasis, es decir, para su uso como antihelmíntico, preferiblemente para la prevención y/o el tratamiento de esquistosomiasis y/o estrongiloidiasis.

15

ESTADO DE LA TÉCNICA ANTERIOR

Según la Organización Mundial de la Salud, las enfermedades infecciosas
 20 constituyen la primera causa de morbilidad y mortalidad en los países en vía de desarrollo (Morel, 2000, Parasitol Today, 16(12):522-8). SIDA, tuberculosis y diarreas de diferentes etiologías son las más prevalentes, seguidas de enfermedades infecciosas típicamente tropicales causadas por organismos protistas como paludismo, tripanosomiasis o leishmaniasis, o causadas por
 25 helmintos, pertenecientes al reino animal, de mayor complejidad, como la filariasis, esquistosomiasis o estrongiloidiasis, etc. Algunas de ellas incluidas en las NTD (de las siglas en inglés *Neglected Tropical Diseases*). Estas últimas enfermedades han ido reemergiendo a raíz de los movimientos migratorios y al auge del turismo internacional (Pardo et al., 2005. Semergen 2005, 31 (3) 109-
 30 116).

El control de estas enfermedades se basa, además de la aplicación de las medidas generales preventivas diferentes en cada una de ellas, principalmente, en el tratamiento farmacológico y en el desarrollo de vacunas efectivas. En la actualidad no existen vacunas comerciales disponibles para el control de estas enfermedades, aunque muchos grupos están trabajando en esta dirección (Martínez-Fernández et al., 2004. Vet Parasitol., 126(3):287-9; López Abán et al., 2008. MurVet Parasitol., 153(1-2):176-81). Por el contrario, existen tratamientos farmacológicos frente a la mayor parte de ellas, basados en la utilización y la combinación de diferentes fármacos (Aparicio et al., 2003. Enferm Infecc Microbiol Clin., 21(10):579-92).

Independientemente del escenario se han descrito *resistencias* a la mayoría de los fármacos utilizados. Bien conocido son las resistencias causadas por los fármacos antipalúdicos (Woodrow y Krishna, 2006. Cell Mol Life Sci., 63(14):1586-96). La OMS recomienda la búsqueda continua de nuevos antimaláricos con vistas a paliar este efecto. No son menores las resistencias descritas frente a los fármacos de elección contra las leishmaniasis, como los antimoniales pentavalentes, pentamidina, anfotericina B, paramomicina, etc. (Croft et al., 2006. Indian J Med Res., 123(3):399-410; Loiseau y Bories, 2006. Curr Top Med Chem., 6(5):539-50). Incluso existen resistencias descritas para los antihelmínticos más utilizados. Hay evidencias de resistencias al praziquantel tanto en personas tratadas en zonas endémicas de esquistosomiasis (Ribeiro Dos Santos et al., 2006. Parasitol Res, 99(5): 505-21), como en viajeros que visitan dichas zonas (Alonso et al., 2006. Am J Trop Med Hyg., 74(2):342-4). También son conocidas las resistencias generadas frente a derivados bencimidazólicos, o frente a ivermectina (Kohler, 2001. Int J Parasitol., 31(4):336-45), este último es el tratamiento de elección de la estrongiloidosis. Por estas razones es necesario el desarrollo de nuevos fármacos útiles contras estas enfermedades.

30

Los denominados lípidos sintéticos antitumorales (ATLs, synthetic “*antitumor lipids*”) constituyen una prometedora familia de compuestos anticancerosos que

a diferencia de la mayoría de los antitumorales utilizados en clínica en la actualidad no tiene como diana el ADN (Gajate y Mollinedo, 2002. *Curr Drug Metab.*, 3(5):491-525; Mollinedo et al., 2004. *Curr Med Chem.*, 11(24):3163-84). Los ATLs pueden clasificarse en dos grandes categorías: a) los fosfolípidos alquiléter, conocidos colectivamente como éter lípidos antitumorales o análogos de alquil-lisofosfolípidos, de los que su prototipo es la edelfosina (1-*O*-octadecil-2-*O*-metil-*rac*-glicero-3-fosfocolina); b) las alquilfosfocolinas, de las que su prototipo es la miltefosina (hexadecilfosfocolina) (Gajate y Mollinedo, 2002. *Curr Drug Metab.*, 3(5): 491-525; Mollinedo et al., 2004. *Curr Med Chem.*, 11(24):3163-84). Aunque se ha considerado que los ATLs y como prototipo la edelfosina actúan de forma similar, ciertas diferencias parecen emerger entre ambos tipos de familias de ATLs. La edelfosina induce apoptosis de forma selectiva en células tumorales (Mollinedo et al, 1997. *Cancer Res*, 57(7): 1320-8), a través de un nuevo mecanismo de acción que implica la activación intracelular del receptor de muerte Fas/CD95 mediante su reclutamiento y concentración en los denominados “*lipids rafts*” (Gajate y Mollinedo, 2001. *Blood*, 98(13): 3860-3; Gajate et al., 2004. *J Exp Med*, 200(3): 353-65). La edelfosina, actuando a través de este mecanismo, parece ser particularmente eficaz frente a malignidades hematológicas (Gajate y Mollinedo, 2007. *Blood*, 109(2): 711-9). La acción antitumoral de la edelfosina es más potente que la miltefosina, comportándose como el ATL con mayor actividad anticancerosa. En tumores sólidos parece actuar vía un mecanismo diferente que implica la activación de la apoptosis a través del retículo endoplásmico (Nieto-Miguel et al., 2006. *J Biol Chem*, 281(21): 14833-40; Nieto-Miguel, 2007. *Cancer Res.*, 67(21): 10368-78). Por otra parte, aunque el proceso de apoptosis se inicie a través de distintos mecanismos, la mitocondria es fundamental en la inducción de apoptosis por edelfosina (Gajate et al, 2000. *Int J Cancer*, 86(2): 208-18; Vrablic et al, 2001. *Faseb J*, 15(10): 1739-44). Los datos obtenidos hasta el momento indican que la edelfosina induce la muerte de las células tumorales a través de la activación directa de la maquinaria apoptótica y de esta forma podría considerarse como un buen inductor de apoptosis en distintos sistemas.

Es conocido que la edelfosina ha sido empleada para el tratamiento de organismos sencillos pertenecientes al reino Protista como *Leishmania amazonensis* (Santa-Rita et al., 2004. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 54: 704–710), *Leishmania infantum* (Alzate et al., 2008. Antimicrobial agents and chemotherapy, 52(10): 3779–3782) o se ha demostrado que induce alteraciones en la membrana plasmática de *Trypanosoma cruzi* (Santa-Rita et al., 2006. Parasitol Res, 100:187–190). Sin embargo, hasta la fecha actual, los fármacos usados para el tratamiento de enfermedades causadas por protistas (por ejemplo, antimoniales pentavalentes, pentamidina, anfotericina B o paramomicina para el tratamiento de la leishmaniasis) se han mostrado inservibles en el tratamiento de enfermedades causadas por organismos superiores como por ejemplo los helmintos, tratadas por ejemplo con praziquantel (esquistosomiasis) o con ivermectina (estrongiloidosis).

Por tanto, persiste el problema de encontrar fármacos eficaces para el tratamiento de enfermedades causadas por helmintos como esquistosomiasis o estrongiloidosis, alternativos a los escasos fármacos usados actualmente, cuyo único uso está provocando la aparición de resistencias de dichos helmintos a los tratamientos efectuados.

20

EXPLICACIÓN DE LA INVENCION

La presente invención se refiere al uso de un fosfolípido alquiléter de fórmula (I), preferiblemente la edelfosina, para la fabricación de un medicamento para la prevención y/o el tratamiento de helmintiasis, es decir, para su uso como antihelmíntico, preferiblemente para la prevención y/o el tratamiento de esquistosomiasis y/o estrongiloidiasis.

A pesar de que los fármacos conocidos usados para el tratamiento de enfermedades parasitarias producidas por protistas, como por ejemplo *Leishmania* sp., no muestran resultados satisfactorios en el tratamiento de

enfermedades causadas por parásitos más complejos como por ejemplo los helmintos, los inventores de la presente invención, han demostrado que la edelfosina es eficaz en la disminución de la carga helmíntica en hospedadores de dichos parásitos. Concretamente, tal como puede verse en los ejemplos, la edelfosina es capaz de actuar en una fase temprana de la esquistomatosi-

5 edelfosina es capaz de actuar en una fase temprana de la esquistomatosi, suponiendo ello un efecto profiláctico de enorme interés. Por otra parte, la edelfosina también es capaz de actuar reduciendo la carga helmíntica de Strongiloides. El efecto técnico mostrado en la presente invención es la eficacia en el tratamiento de esquistosomiasis y/o estrongiloidiasis cuando se usa el

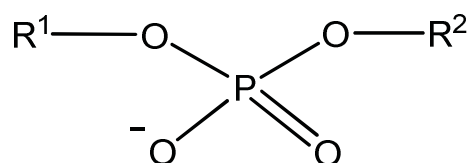
10 fármaco edelfosina, solucionando con ello un problema técnico cada vez más importante ya que, tal como se ha mencionado en el apartado anterior, el uso de los escasos antihelmínticos eficaces en el tratamiento de estas enfermedades, está provocando la aparición de resistencias de dichos helmintos.

15

Por tanto, la presente invención aporta al estado de la técnica información de alto valor para el tratamiento de los helmintos que provocan graves problemas en países tropicales y que, debido a la creciente inmigración, también supone un problema incipiente y potencialmente grave en los países desarrollados no

20 tropicales. El uso de la edelfosina supone un refuerzo en el tratamiento de dichas enfermedades y, mediante la alternancia con otros fármacos o su combinación con los mismos, podría suponer la evitación o el retraso en la aparición de resistencias frente a los fármacos antihelmínticos conocidos.

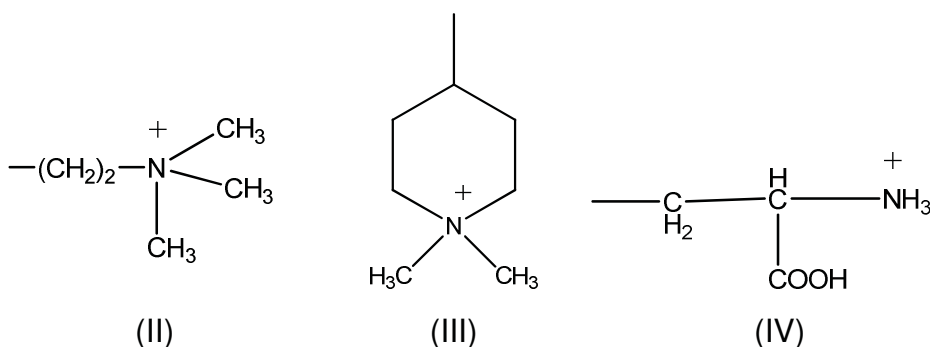
25 Un aspecto de la presente invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula general (I), o cualquiera de sus sales farmacéuticamente aceptables, para la fabricación de un medicamento para la prevención y/o tratamiento de helmintiasis,



(I)

Donde: R^1 se selecciona entre un alquilo ($C_{14}-C_{30}$), un alquenilo ($C_{14}-C_{30}$), un alquinilo ($C_{14}-C_{30}$) o un grupo $-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{OR}^3)-\text{CH}_2-\text{O}-\text{R}^4$; R^3 es un alquilo (C_1-C_8), R^4 se selecciona entre un alquilo ($C_{12}-C_{30}$), un alquenilo ($C_{12}-C_{30}$), un alquinilo ($C_{12}-C_{30}$):

R^2 se selecciona entre un grupo de fórmula (II), (III) ó (IV):



Los compuestos de fórmula general (I) tienen uno o más centros asimétricos y por tanto, pueden existir en forma de enantiómeros o diastereómeros. En la presente invención también se contempla el uso de solvatos del compuesto de fórmula general (I) (como por ejemplo, pero sin limitarse, hidratos), prodrogas (sinónimo de profármacos), o claratos. Las sales farmacéuticamente aceptables se seleccionan de entre cloruro, bromuro, yoduro o cualquier otra sal farmacéuticamente aceptable.

Los compuestos de la presente invención representados por la fórmula (I), y más concretamente, los compuestos específicos pertenecientes a esta fórmula general anteriormente descrita pueden incluir isómeros, dependiendo de la presencia de enlaces múltiples (por ejemplo, Z, E), incluyendo isómeros ópticos o enantiómeros, dependiendo de la presencia de centros quirales. Los isómeros, enantiómeros o diastereoisómeros individuales y las mezclas de los mismos caen dentro del alcance de la presente invención. Los enantiómeros o diastereoisómeros individuales, así como sus mezclas, pueden separarse mediante técnicas convencionales.

En la presente invención, el término "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales preparadas de ácidos no tóxicos farmacéuticamente aceptables, incluyendo ácidos orgánicos o inorgánicos. Los ácidos orgánicos o inorgánicos no tóxicos se seleccionan de la lista que comprende, pero sin limitarse: acético, algínico, antranílico, benzenesulfónico, benzoico, camforsulfónico, cítrico, etensulfónico, fórmico, fumárico, furoico, glucónico, glutámico, glucorénico, galacturónico, glicídico, hidrobrómico, hidrocórico, isetiónico, láctico, maleico, málico, mandélico, metanesulfónico, mícico, nítrico, pamoico, pantoténico, fenilacético, propiónico, fosfórico, salicílico, esteárico, succínico, sulfanílico, sulfúrico, tartárico o p-toluenosulfónico.

El compuesto de la invención puede estar en forma cristalina como compuestos libres o como solvatos. En este sentido, el término "solvato", tal como aquí se utiliza, incluye tanto solvatos farmacéuticamente y farmacológicamente aceptables, es decir, solvatos del compuesto de fórmula (I) que pueden ser utilizados en la elaboración de un medicamento, como solvatos farmacéuticamente no aceptables, los cuales pueden ser útiles en la preparación de solvatos o sales farmacéuticamente y farmacológicamente aceptables. La naturaleza del solvato farmacéuticamente aceptable no es crítica siempre y cuando sea farmacéuticamente aceptable. En una realización particular, el solvato es un hidrato. Los solvatos pueden obtenerse por métodos convencionales de solvatación conocidos por los expertos en la materia.

Asimismo, dentro del alcance de esta invención se encuentran las prodrogas o profármacos de los compuestos de fórmula (I). El término "profármaco" o "prodroga" tal como aquí se utiliza incluye cualquier compuesto derivado de un compuesto de fórmula (I), por ejemplo y no limitativamente: ésteres (incluyendo ésteres de ácidos carboxílicos, ésteres de aminoácidos, ésteres de fosfato, ésteres de sulfonato de sales metálicas, etc.), carbamatos, amidas, amidas biohidrolizables, ésteres biohidrolizables, carbamatos biohidrolizables, ureidos biohidrolizables, fosfatos biohidrolizables. Otros ejemplos de prodrogas incluyen compuestos que comprenden grupos -NO, -NO₂, -ONO, o -ONO₂- que

al ser administrado a un individuo puede ser transformado directa o indirectamente en dicho compuesto de fórmula (I) en el mencionado individuo. Ventajosamente, dicho derivado es un compuesto que aumenta la biodisponibilidad del compuesto de fórmula (I) cuando se administra a un individuo o que potencia la liberación del compuesto de fórmula (I) en un compartimento biológico. La naturaleza de dicho derivado no es crítica, siempre y cuando pueda ser administrado a un individuo y proporcione el compuesto de fórmula (I) en un compartimento biológico del mismo. La preparación de dicho profármaco puede llevarse a cabo mediante métodos convencionales conocidos por los expertos en la materia. Los términos “amidas biohidrolizables”, “ésteres biohidrolizables”, “carbamatos biohidrolizables”, “ureidos biohidrolizables”, “fosfatos biohidrolizables”, se refieren a carbamato, carbonato, ureido y fosfato, respectivamente, de un compuesto que: 1) no interfiera con la actividad biológica del complejo pero que confiere al compuesto propiedades ventajosas in vivo, como absorción, duración del efecto, o del inicio del efecto; o 2) es biológicamente inactivo, pero se convierte in vivo a compuesto biológicamente activo.

En la presente invención, el término “alquilo” se refiere a radicales de cadenas hidrocarbonadas lineales o ramificadas que se unen al resto de la molécula mediante un enlace sencillo, por ejemplo, metilo, etilo, *n*-propilo, *i*-propilo, *n*-butilo, *terc*-butilo, *sec*-butilo, *n*-pentilo, *n*-hexilo, etc. Los grupos alquilo pueden estar opcionalmente sustituidos por uno o más sustituyentes tales como halógeno, hidroxilo, alcoxilo, carboxilo, carbonilo, ciano, acilo, alcóxicarbonilo, amino, nitro, mercapto y alquiltio. El término “alquenilo” y “alquinilo” se refiere a radicales de cadenas hidrocarbonadas, lineales o ramificadas que tienen uno o varios dobles (alquenilo) o triples (alquinilo), respectivamente, entre sus átomos de carbono.

El término “alquenilo” se refiere a radicales de cadenas hidrocarbonadas que contienen uno o más enlaces carbono-carbono dobles, por ejemplo, vinilo, 1-propenilo, alilo, isoprenilo, 2-butenilo, 1,3-butadienilo, etc. Los radicales

alquenilos pueden estar opcionalmente sustituidos por uno o más sustituyentes tales como halo, hidroxilo, alcoxilo, carboxilo, ciano, carbonilo, acilo, alcoxicarbonilo, amino, nitro, mercapto y alquiltio.

- 5 En la presente invención el término "alquinilo" se refiere a un radical de cadenas hidrocarbonadas que contienen uno o más triples enlaces y que puede tener uno o mas enlaces dobles a lo largo de la cadena carbonada. Los radicales alquinilo pueden estar opcionalmente sustituidos por uno o más sustituyentes tales como un arilo, halógeno, hidroxilo, carboxilo, carbonilo, amino, etc.

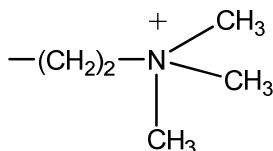
En la presente invención, el grupo R^1 es un alquilo C_{14} - C_{30} . Preferiblemente el alquilo es C_{14} , C_{15} , C_{16} , C_{17} , C_{18} , C_{19} , C_{20} , C_{21} , C_{22} , C_{23} , C_{24} , C_{25} , C_{26} , C_{27} , C_{28} , C_{29} , o C_{30} . Una realización preferida de la presente invención se refiere al uso del compuesto de fórmula general (I), tal como se ha descrito en los párrafos anteriores, donde R^1 es un alquilo C_{14} - C_{20} . Más preferiblemente el alquilo es C_{16} - C_{18} .

Otra realización preferida de la presente invención se refiere al uso del compuesto de fórmula general (I), donde R^1 es un grupo $-CH_2-CH(OR^3)-CH_2-O-R^4$.

En la presente invención, el grupo R^3 es un alquilo C_1 - C_8 . Preferiblemente el alquilo es C_1 , C_2 , C_3 , C_4 , C_5 , C_6 , C_7 o C_8 . Una realización más preferida de la presente invención se refiere al uso del compuesto de fórmula general (I), donde R^3 es un alquilo (C_1 - C_3). Más preferiblemente R^3 es un grupo metilo.

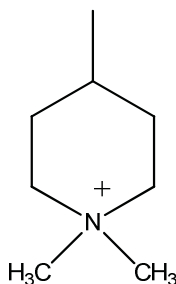
En la presente invención, el grupo R^4 es un alquilo C_{12} - C_{30} . Preferiblemente el alquilo es C_{12} , C_{13} , C_{14} , C_{15} , C_{16} , C_{17} , C_{18} , C_{19} , C_{20} , C_{21} , C_{22} , C_{23} , C_{24} , C_{25} , C_{26} , C_{27} , C_{28} , C_{29} , o C_{30} . Otra realización más preferida se refiere al uso del compuesto de fórmula general (I), donde R^4 es un alquilo (C_{14} - C_{20}).

Otra realización preferida de la presente invención se refiere al uso de cualquiera de los compuestos de fórmula general (I) descritos anteriormente, donde R^2 es un grupo de fórmula (II):



5

Otra realización preferida de la presente invención se refiere al uso de cualquiera de los compuestos de fórmula general (I) descritos anteriormente, donde R^2 es un grupo de fórmula (III):

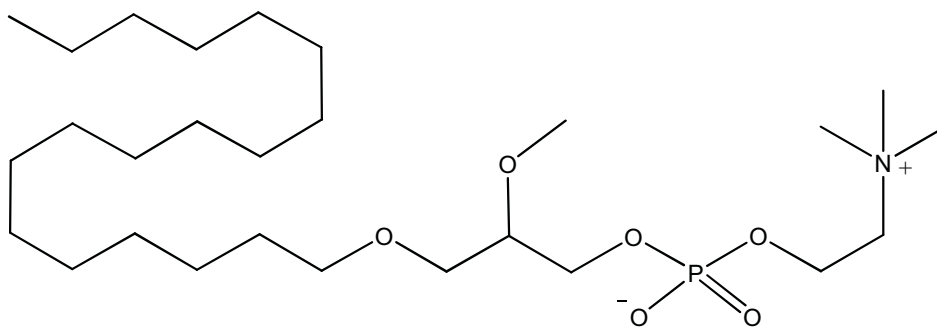


10

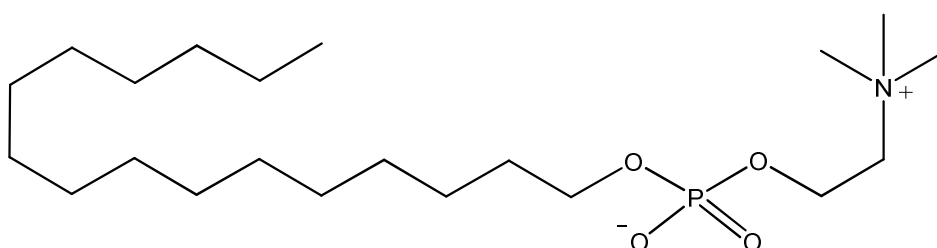
Otra realización preferida de la presente invención se refiere al uso de cualquiera de los compuestos de fórmula general (I) descritos anteriormente, donde dicho compuesto se selecciona entre miltefosina, edelfosina o perifosina.

15 Una realización más preferida de la presente invención se refiere al uso del compuesto de fórmula general (I), donde dicho compuesto es edelfosina. La edelfosina (1-O-octadecil-2-O-metil-*rac*-glicero-3-fosfocolina) también es conocida como ET-18-OCH₃.

20 La edelfosina tiene la fórmula siguiente:

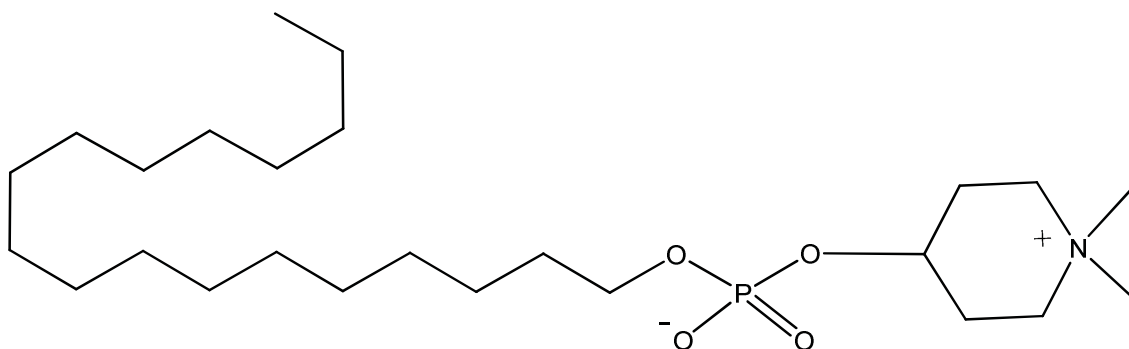


La miltefosina tiene la fórmula siguiente:



5

La perifosina tiene la fórmula siguiente:



- 10 En adelante, para referirse a cualquiera de los compuestos definidos en la presente invención, se puede emplear el término “compuesto de la invención” o “compuesto de la presente invención”.

- 15 En la presente invención el término "tratamiento" se refiere a la erradicación o mejoramiento de una enfermedad, o de uno o más síntomas asociados con la helmintiasis, así como a minimizar la propagación o el empeoramiento de la helmintiasis, o retrasar la progresión, propagación o empeoramiento de helmintiasis. En la presente invención, el término "prevención" o “profilaxis” se

refiere a evitar la aparición, recurrencia o la propagación de la helmintiasis, o de uno o más síntomas de la misma.

La helmintiasis es una enfermedad parasitaria en la que una parte del cuerpo
 5 esta infestada de gusanos, como lo son las lombrices intestinales, solitarias o
 gusanos redondos. La helmintiasis puede ser por ejemplo pero sin limitarse
 nematodiasis (helmintiasis por nemátodos), cestodiasis (helmintiasis por
 céstodos) o trematodiasis (helmintiasis por tremátodos). La nematodiasis se
 selecciona de la lista que comprende, pero sin limitarse, anisakiasis,
 10 anquilostomiasis, ascariasis, dracunculiasis, elefantiasis, enterobiasis,
 estrongiloidiasis, filariasis, oncocercosis, toxocariasis, tricuriasis o triquinelosis.
 La cestodiasis se selecciona de la lista que comprende, pero sin limitarse,
 cisticercosis, hidatidosis o teniasis. La trematodiasis se selecciona de la lista
 que comprende, pero sin limitarse, esquistosomiasis o tricuriasis.

15

Otra realización preferida de la presente invención se refiere al uso del
 compuesto de la invención, para la fabricación de un medicamento para la
 prevención y/o el tratamiento de esquistosomiasis. La esquistosomiasis está
 producida por al menos un platelminto parásito del género *Schistosoma*.

20

La esquistosomiasis (bilharziasis o bilharziosis) es una enfermedad parasitaria
 producida por gusanos platelmintos de la clase trematodos del género
Schistosoma. La esquistosomiasis generalmente es adquirida por medio de la
 ingesta de agua dulce infectada con formas larvarias (cercarias)
 25 esquistosomas. La esquistosomiasis afecta por lo menos 200 millones de
 personas alrededor del mundo, y más de 700 millones de personas viven en
 zonas endémicas. La infección es frecuente en zonas tropicales y
 subtropicales, en las zonas pobres sin agua potable y saneamiento adecuado.

30

El platelminto parásito del género *Schistosoma* se selecciona de la lista que
 comprende, pero sin limitarse, *Schistosoma bovis*, *Schistosoma bovis x*
Schistosoma haematobium, *Schistosoma curassoni*, *Schistosoma edwardiense*,

Schistosoma guineensis, *Schistosoma haematobium*, *Schistosoma haematobium* x *Schistosoma bovis*, *Schistosoma haematobium/matthei*, *Schistosoma hippopotami*, *Schistosoma incognitum*, *Schistosoma indicum*, *Schistosoma intercalatum*, *Schistosoma japonicum*, *Schistosoma leiperi*,
 5 *Schistosoma malayensis*, *Schistosoma mansoni*, *Schistosoma mansoni* X *Schistosoma rodhaini*, *Schistosoma margrebowiei*, *Schistosoma matthei*, *Schistosoma mekongi*, *Schistosoma nasale*, *Schistosoma ovuncatum*, *Schistosoma rodhaini*, *Schistosoma sinensium* o *Schistosoma spindale*.

10 En humanos, la esquistosomiasis urinaria es causada por *Schistosoma hematobium*, la esquistosomiasis intestinal está causada por cualquiera de los organismos *Schistosoma intercalatum*, *Schistosoma mansoni*, *Schistosoma japonicum*, o *Schistosoma mekongi*. Por tanto, una realización más preferida de la presente invención se refiere al uso del compuesto de la invención, donde el
 15 platelminto parásito del género *Schistosoma* se selecciona de la lista que comprende *Schistosoma mansoni*, *Schistosoma haematobium*, *Schistosoma intercalatum*, *Schistosoma japonicum* o *Schistosoma mekongi*. Preferiblemente el platelminto parásito del género *Schistosoma* es *Schistosoma mansoni*.

20 Otra realización más preferida de la presente invención se refiere al uso del compuesto de la invención, donde la esquistosomiasis está producida por al menos un platelminto parásito del género *Schistosoma* en una fase temprana inmadura en un mamífero, preferiblemente un humano. Las fases tempranas inmaduras de dicho parásito en humanos son la forma de larva (cercaria) y de
 25 esquistosómula, forma del ciclo anterior a la del parásito adulto. Preferiblemente la fase temprana inmadura es esquistosómula.

Otra realización preferida de la presente invención se refiere al uso del compuesto de la invención, para la fabricación de un medicamento para la
 30 prevención y/o el tratamiento de estrongiloidiasis. La estrongiloidiasis está producida por al menos un nemátodo parásito del género *Strongyloides*.

La estrongiloidiasis es una enfermedad causada por una infección de una especie del género *Strongyloides*, nemátodos que se encuentran ampliamente diseminados en las áreas tropicales y subtropicales. El género *Strongyloides* está clasificado en el orden *Rhabditida*, y la mayoría de los miembros son nematodos que viven en el suelo. *Strongyloides stercoralis* es el patógeno más común para los humanos. La infección grave, que resulta del aumento de la generación de larvas filariformes, ocurre cuando la inmunidad del paciente se encuentra alterada, especialmente por terapia esteroidea y, menos comúnmente, otros inmunosupresores, neoplasias hematológicas o desnutrición.

El nemátodo parásito del género *Strongyloides* se selecciona de la lista que comprende, pero sin limitarse, *Strongyloides akbari*, *Strongyloides callosciureus*, *Strongyloides cebus*, *Strongyloides fuelleborni*, *Strongyloides fuelleborni fuelleborni*, *Strongyloides fuelleborni kellyi*, *Strongyloides mirzai*, *Strongyloides myopotami*, *Strongyloides ophidiaae*, *Strongyloides papillosus*, *Strongyloides planiceps*, *Strongyloides procyonis*, *Strongyloides ransomi*, *Strongyloides ratti*, *Strongyloides robustus*, *Strongyloides stercoralis*, *Strongyloides suis*, *Strongyloides venezuelensis*, *Strongyloides vitali* o *Strongyloides westeri*. Una realización más preferida de la presente invención se refiere al uso del compuesto de la invención, donde el platelminto parásito del género *Schistosoma* se selecciona de la lista que comprende *Strongyloides venezuelensis*, *Strongyloides stercoralis* o *Strongyloides fuelleborni*. Preferiblemente el platelminto parásito del género *Schistosoma* es *Strongyloides stercoralis*.

Otra realización preferida de la presente invención se refiere al uso del compuesto de la invención, donde el medicamento además comprende al menos otra sustancia activa. Esta sustancia activa debe permitir la actividad del compuesto de la invención, es decir, debe ser compatible.

El compuesto de la presente invención, sales, enantiómeros, diastereómeros, solvatos, prodrogas (profármacos), o claratos así como las composiciones farmacéuticas que los contienen pueden ser utilizados junto con otros fármacos, o principios activos, adicionales, para proporcionar una terapia de combinación. Dichos fármacos adicionales pueden formar parte de la misma composición farmacéutica o, alternativamente, pueden ser proporcionados en forma de una composición separada para su administración simultánea o no a la de la composición farmacéutica que comprende el compuesto de la invención(I), sales, enantiómeros, diastereómeros, solvatos, prodrogas (profármacos), o claratos del mismo.

Según una realización más preferida de la presente invención, la sustancia activa es un agente antiparasitario. Preferiblemente el agente antiparasitario es un agente antihelmíntico.

Una realización aún más preferida de la presente invención se refiere al uso del compuesto de la invención, para la fabricación de un medicamento para la prevención y/o el tratamiento de esquistosomiasis, donde el medicamento además comprende praziquantel, o cualquiera de sus sales farmacéuticamente aceptables. Tal como se muestra en el ejemplo 2 de la presente invención, el uso conjunto de edelfosina y de praziquantel es compatible, por tanto, ambos antihelmínticos pueden usarse de forma conjunta. También se contemplan en la presente invención, enantiómeros, diastereómeros, solvatos, prodrogas o claratos de praziquantel. El medicamento puede comprender el compuesto de la invención junto con otros fármacos, solos, o en cualquiera de sus combinaciones, con o sin praziquantel, utilizados para el tratamiento de la esquistosomiasis como por ejemplo, pero sin limitarse, albendazol, mebendazol u Oxamniquina. El medicamento también puede comprender otros fármacos antiparasitarios.

Una realización aún más preferida de la presente invención se refiere al uso del compuesto de la invención, para la fabricación de un medicamento para la

prevención y/o el tratamiento de estrongiloidiasis, donde el medicamento además comprende ivermectina, o cualquiera de sus sales farmacéuticamente aceptables. La ivermectina es el fármaco más empleado y más eficaz hasta la fecha, para el tratamiento de estrongiloidiasis. También se contemplan en la presente invención, enantiómeros, diastereómeros, solvatos, prodrogas o claratos de ivermectina. El medicamento puede comprender el compuesto de la invención junto con otros fármacos, sólo, o en cualquiera de sus combinaciones, con o sin ivermectina, utilizados para el tratamiento de la estrongiloidiasis como por ejemplo, pero sin limitarse, albendazol, tiabendazol, pamoato de oxantel o pamoato de pirantel. El medicamento también puede comprender otros fármacos antiparasitarios.

Otra realización preferida de la presente invención se refiere al uso del compuesto de la invención, donde el medicamento además comprende al menos un excipiente y/o al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable. Además, el excipiente o el vehículo deben ser farmacológicamente aceptables.

El término “farmacológicamente aceptable” se refiere a que el compuesto al que hace referencia esté permitido y evaluado de modo que no cause daño a los organismos a los que se administra. El término “farmacéuticamente aceptable” se refiere a que el compuesto al que hace referencia permita la actividad del compuesto de la presente invención.

El término “excipiente” hace referencia a una sustancia que ayuda a la absorción del compuesto de la presente invención, estabiliza dicho compuesto o ayuda a la preparación del medicamento en el sentido de darle consistencia o aportar sabores que lo hagan más agradable. Así pues, los excipientes podrían tener la función de mantener los ingredientes unidos como por ejemplo almidones, azúcares o celulosas, función de endulzar, función de colorante, función de protección del medicamento como por ejemplo para aislarlo del aire y/o la humedad, función de relleno de una pastilla, cápsula o cualquier otra forma de presentación como por ejemplo el fosfato de calcio dibásico, función

desintegradora para facilitar la disolución de los componentes y su absorción en el intestino, sin excluir otro tipo de excipientes no mencionados en este párrafo.

- 5 El término “vehículo farmacéuticamente aceptable” hace referencia a aquellas sustancias, o combinación de sustancias, conocidas en el sector farmacéutico, utilizadas en la elaboración de formas farmacéuticas de administración e incluye, pero sin limitarse, sólidos, líquidos, disolventes o tensioactivos. El vehículo puede ser una sustancia inerte o de acción análoga al compuesto de la
10 presente invención. La función del vehículo es facilitar la incorporación del compuesto de la invención y/o de otros compuestos, permitir una mejor dosificación y administración o dar consistencia y forma al medicamento. Cuando la forma de presentación es líquida, el vehículo es el diluyente.
- 15 Otra realización preferida de la presente invención se refiere al uso del compuesto de la invención, donde el medicamento se presenta en una forma adaptada a la administración por vía oral.

En cada caso, la forma de presentación del medicamento se adaptará al tipo de
20 administración utilizada, por ello, el medicamento de la presente invención se puede presentar bajo la forma de soluciones o cualquier otra forma de administración clínicamente permitida.

La forma adaptada a la administración oral se refiere a un estado físico que
25 pueda permitir su administración oral. La forma adaptada a la administración oral se selecciona de la lista que comprende, pero sin limitarse, gotas, jarabe, tisana, elixir, suspensión, suspensión extemporánea, vial bebible, comprimido, cápsula, granulado, sello, píldora, tableta, pastilla, trocisco o liofilizado.

30 El medicamento se puede presentar en una forma adaptada a la administración por vía oral La forma adaptada a la administración parenteral se refiere a un estado físico que pueda permitir su administración inyectable, es decir,

preferiblemente en estado líquido. La administración parenteral se puede llevar a cabo por vía de administración intramuscular, intraarterial, intravenosa, intradérmica, subcutánea o intraósea pero sin limitarse únicamente a estos tipos de vías de administración parenteral.

5

Otra posibilidad es que el medicamento se presente en una forma adaptada a la administración sublingual, nasal, intracatecal, bronquial, linfática, rectal, transdérmica o inhalada. La forma adaptada a la administración rectal se selecciona de la lista que comprende, pero sin limitarse, supositorio, cápsula
10 rectal, dispersión rectal o pomada rectal. La forma adaptada a la administración transdérmica se selecciona de la lista que comprende, pero sin limitarse, parche transdérmico o iontoforesis.

Es decir, el compuesto de la presente invención, sales, enantiómeros,
15 diastereómeros, solvatos, prodrogas (profármacos), o claratos, se formulan en medicamento, en una cantidad terapéuticamente efectiva. El medicamento puede formularse junto con uno o más vehículos, adyuvantes o excipientes farmacéuticamente y farmacológicamente aceptables, así como también puede comprender otra sustancia activa, en una forma sustancialmente pura, es decir,
20 que tiene un nivel de pureza farmacéuticamente aceptable excluyendo los aditivos farmacéuticos normales tales como diluyentes y portadores, y no incluyendo material considerado tóxico a niveles de dosificación normales. Los niveles de pureza para el principio activo son preferiblemente superiores al 50%, más preferiblemente, superiores al 70%, y todavía más preferiblemente
25 superiores al 90%. En una realización preferida, son superiores al 95% de compuesto de la invención, sus sales, enantiómeros, diastereómeros, solvatos, prodrogas (profármacos), o claratos.

Teniendo en cuenta que la edelfosina es un fármaco que se comercializa como
30 anticancerígeno, su farmacocinética es conocida. Dichas características farmacocinéticas de la edelfosina pueden consultarse en Estella-Hermoso de Mendoza et al., 2009 (Estella-Hermoso de Mendoza et al., 2009. Clin Cancer

Res., 15(3):858-64).

Todos los medicamentos tienen unas características concretas en lo que se refiere a su liberación, absorción, distribución, metabolismo y eliminación.

5 Cuando se introduce un fármaco en el organismo debe superar numerosas barreras biológicas antes de llegar al receptor que dependen de la vía de administración. Para que un fármaco pueda ejercer su acción debe alcanzar una concentración adecuada y en el lugar adecuado en el cual un fármaco está en posición de interactuar con sus receptores para realizar su efecto biológico
10 sin que intervengan barreras de difusión.

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra "comprende" y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas
15 y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Las siguientes figuras y ejemplos se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

20

DESCRIPCION DE LAS FIGURAS

FIG. 1. Muestra la mortalidad larvaria valorado por motilidad en tratamiento con ET-18-OCH₃ (edelfosina) y ET-18-OH (análogo inactivo).

25

FIG. 2. Muestra la mortalidad larvaria valorado por motilidad. Motilidad de larvas L3 de *S. venezuelensis* expuestas a edelfosina.

FIG. 3. Muestra larvas L3 de *S. venezuelensis* tratadas con el donador de óxido nítrico DETA (100 g/ml) analizadas por el método TUNEL.

30

Fluorescencia roja del ADN de las células del parásito (A). Fluorescencia verde del los núcleos apoptóticos mediante microscopia confocal (B). Larva vista con microscopia óptica (C). Superposición de la fluorescencia roja y verde sobre la larva (D).

5

FIG. 4. Muestra ratones BALB/c infectados con larvas tratadas con edelfosina.

C: Cantidad de huevos por gramo de heces.

10 T post-infec: Días después de la infección de dichos ratones por las larvas tratadas con 2,5; 5 y 10 µg/ml de edelfosina.

ET-18OCH₃: Edelfosina.

15 **FIG. 5. Muestra ratones BALB/c infectados con larvas tratadas con edelfosina e ivermectina.**

C: Cantidad de huevos por gramo de heces.

T post-infec: Días después de la infección de dichos ratones por las larvas tratadas con 0,1; 0,5; 1 y 2,5 µg/ml de edelfosina y 10 µg/ml de ivermectina.

20 ET-18OCH₃: Edelfosina.

Iver: Ivermectina.

FIG. 6. Muestra ratones BALB/c infectados con 100 L3 de *S. venezuelensis* y tratados vía oral.

25

C: Cantidad de huevos por gramo de heces.

T post-infec: Días después de la infección de dichos ratones por las larvas tratadas con 1; 2,5; 5 y 10 µg/g de peso vivo (PV) de edelfosina y, 5 y 10 µg/g PV de ivermectina.

30 ET-18OCH₃: Edelfosina.

Iver: Ivermectina.

FIG. 7. Muestra la respuesta a los diferentes tratamientos al final del experimento.

En (A) se observan las medias de los parásitos adultos de *S. mansoni* recuperados por perfusión al final del ensayo y en (B) la media de los huevos por gramo de tejido, localizados en los granulomas del intestino.

TP: Medida del nº total de parásitos.

G1-NT: Grupo 1 no tratados.

Las barras horizontales representan la media de los datos: ** $p < 0.05$; *** $p < 0.0001$.

FIG. 8. Muestra el recuento de eosinófilos (A) y basófilos (B) a la octava semana del experimento.

Eosin: Eosinófilos.

Baso: Basófilos.

G1-NT: Grupo 1 no tratados.

Las columnas representan la media de los datos para cada grupo con su respectiva barra de error, los valores presentan diferencias estadísticas con * $p < 0.05$.

FIG. 9. Muestra los títulos de anticuerpos IgG2a, frente al antígeno somático de *S. mansoni* en los diferentes grupos experimentales durante la tercera semana post-infección (A; día 21) y octava semana post infección (B; día 56).

G1-NT: Grupo 1 no tratados.

Las columnas representan la medias de las densidades ópticas (D.O) de los grupos con su respectiva barra de error, los valores representan diferencias estadísticamente significativas con * $p < 0.05$.

FIG. 10. Muestra los análisis de los datos hematológicos de eosinófilos a lo largo de 8 semanas.

Eos: Eosinófilos.

5 PZQ: Plaziquantel.

EDLF: Edelfosina.

NT: No tratados.

Sem: Semana. Se muestran datos a la semana 0, 3, 5 y 8.

10 **FIG. 11. Muestra los análisis de los datos hematológicos de basófilos a lo largo de 8 semanas.**

Bas: Basófilos.

PZQ: Plaziquantel.

15 EDLF: Edelfosina.

NT: No tratados.

Sem: Semana. Se muestran datos a la semana 0, 3, 5 y 8.

20 **EJEMPLOS**

A continuación se ilustrará la invención mediante unos ensayos realizados por los inventores. Los siguientes ejemplos específicos que se proporcionan en este documento de patente sirven para ilustrar la naturaleza de la presente invención. Estos ejemplos se incluyen solamente con fines ilustrativos y no han
25 de ser interpretados como limitaciones a la invención que aquí se reivindica. Por tanto, los ejemplos descritos no pretenden limitar el campo de aplicación de la misma.

EJEMPLO 1. Actividad antihelmíntica de edelfosina frente a Strongyloides.

1.1. Mantenimiento del ciclo biológico de *S. venezuelensis*.

5 Las larvas infectivas de tercer estadio (L3) de *S. venezuelensis*, se obtuvieron a partir de la cepa que se mantiene en el Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Farmacia de La Universidad de Salamanca por pases sucesivos en ratas wistar. El ciclo se realizó a partir de heces de animales infectados se recuperan huevos de *S. venezuelensis*, para permitir el
10 desarrollo de estos a larvas de primero (L1), segundo (L2) y tercer estadio (L3). Se mezclaron las heces con un sustrato inerte formado por vermiculita., posteriormente se recogían las L3 mediante la técnica de *Baermann* con modificaciones. Esta técnica se fundamenta en el termo-hidrotropismo característico de esta fase parasitaria. Se contarón las larvas 3 y se confirmó
15 que al menos el 80% tuvieran movilidad. Finalmente se ponían en una concentración de 3.000 L3 en 0,5 ml de solución salina que eran inyectados por vía subcutánea a ratas macho de 60-120 g.

1.2. Establecimiento de un modelo de infección de *S. venezuelensis* en ratones BALB/c.

Se emplearon un total de 80 ratones BALB/c de 6 semanas, con pesos entre 18-20 g. Los ratones fueron divididos en 8 grupos de 10 ratones. Uno de los grupos se mantuvo sin infección y los 7 grupos restantes fueron infectados
25 subcutáneamente con dosis de 100, 500, 1.000, 3.000, 5.000, 10.000 y 30.000 L3 respectivamente. Para el seguimiento de las infecciones se determinó diariamente el número de huevos en heces, Se extrajo de cada animal 1,5 ml de sangre del plexo retro-ocular, 0,5 ml se depositaron en tubos de ensayo con anticoagulante (EDTA), 1 ml fue dejado en reposo 4 horas, centrifugado a
30 7.000 g, durante 10 minutos a 4°C. El suero fue retirado, almacenado congelado a -20°C, hasta su procesamiento. Se estudió el hemograma; número de plaquetas, número de leucocitos totales y fórmula leucocitaria (neutrófilos,

linfocitos, eosinófilos, basófilos) utilizando un citómetro (Beckman: Coulter LH 750). En el suero se determinó alanina transaminasa GPT (EC 2.6.1.2), aspartato transaminasa GOT (EC 2.6.1.1), lactato deshidrogenasa LDH (EC 1.1.1.27), amilasa (EC 3.2.1.2), creatin-quinasa CK (EC 2.7.3.2), glucosa, utilizando un auto-analizador (Beckman: Synchron CX9). Las determinaciones fueron realizadas en los días 0, 1, 2, 5 y 20 después de la infección. Un animal de cada grupo fue sacrificado a las 6 horas, 1, 3, 5, 7, 14 y 20 días post-infección y se recogió piel, pulmón, corazón, hígado, intestino y cerebro. Posteriormente se realizaron cortes histológicos. También se recogieron larvas del pulmón y hembras del intestino (ver figura nueva insertada).

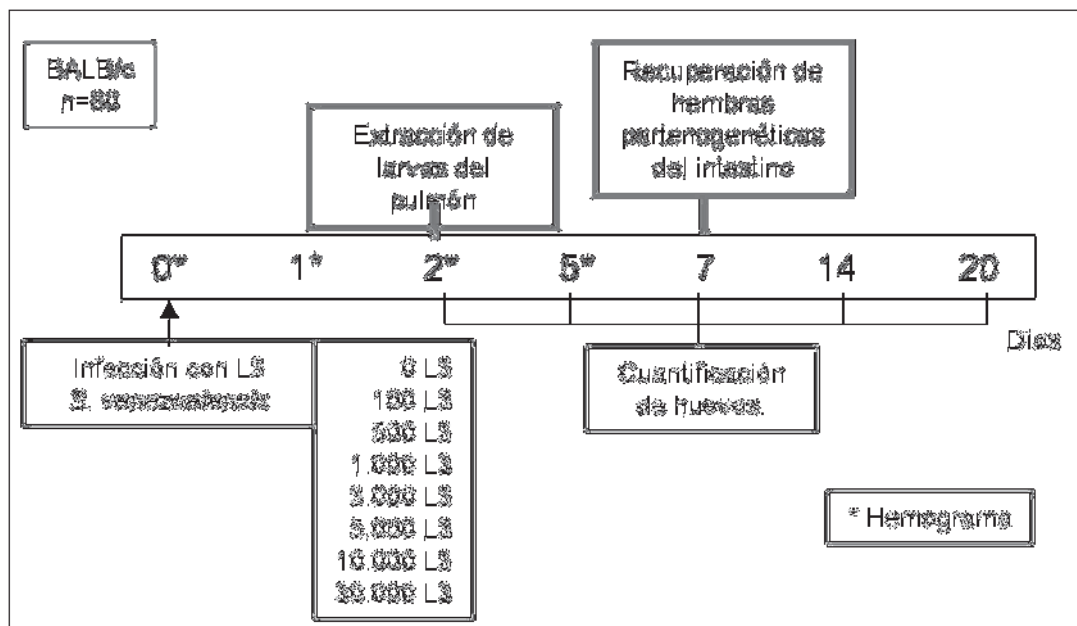


Diagrama 1. Desarrollo del modelo de estrongiloidosis en ratones BALB/c infectados con *S venezuelensis*.

1.3. Análisis estadísticos.

Los datos se expresaron como media y error estándar de la media. Para el análisis inferencial se estudió inicialmente la normalidad y homoscedasticidad de las muestras. En aquellos casos en los que las muestras tenían distribución normal y sus varianzas fueron similares, se emplearon en el

análisis pruebas paramétricas t de *Student* para comparar dos grupos o análisis de varianza (ANOVA) para comparar varios grupos. Cuando se obtuvieron diferencias entre grupos mediante ANOVA se aplicó la prueba post-ANOVA *Fisher PLSD*. Para los casos en los que la distribución no era normal se
5 realizaron pruebas no paramétricas (*Wilconxon* y *Friedman*). Se consideraron diferencias estadísticamente significativas cuando $p < 0,05$. Los datos fueron procesados con el paquete estadístico SPSS 11.5 para Windows.

1.4. Actividad in vitro frente a larvas de *Strongyloides*.

10

Se utilizaron cultivos de larvas de tercer estadio de *Strongyloides venezuelensis* cuyo ciclo biológico se mantienen en ratas Wistar mediante infecciones experimentales periódicas. Se emplearon dosis de edelfosina en un rango de entre 2,5-50 μg (FIG. 1). La viabilidad celular se midió mediante
15 movilidad larvaria y fosfatasa alcalina. En la FIG. 2 se observan los resultados de inhibición con edelfosina, mostrando que con dosis de 10 μg existió una inhibición el 60% a los 30 minutos de exposición y de 80% a las 24 horas. Se utilizó como control negativo Et18OH (edelfosina inactiva), observándose que no se producía reducción significativa.

20

Posteriormente se evaluó el mecanismo de acción utilizado por edelfosina. Se realizó técnica de TUNEL con el fin de analizar su actividad proapoptótico. Los resultados mostraron que con las dosis efectivas de edelfosina en la inhibición e la motilidad se inducía apoptosis (FIG. 3).

25

1.5. Actividad ex vivo anti-*Strongyloides*.

Larvas de tercer estadio de *S. venezuelensis* fueron tratadas con dosis de edelfosina de 2,5; 5 y 10 μg y posteriormente inoculadas a ratones CD1. Se
30 realizaron análisis coprológicos diarios para valorar el número de huevos por gramo de heces. Los resultados se muestran en la FIG. 4. Los ratones a los que se administró larvas del parásito sin tratar tenían una eliminación de

huevos que comenzó al 5º día postinfección, con un pico máximo al 7º día y una disminución al 14º día postinfección. Ratones tratados con 2,5 µg de edelfosina presentaron una reducción del 78% en el número de huevos por gramo de heces, siendo del 100% durante toda la infección cuando se administraban larvas tratadas con 10 µg del fármaco.

Posteriormente se realizó un experimento en ratones BALB/c ampliando el rango de dosis utilizadas en el experimento anterior. Las respuestas inmunológicas en helmintos son diferentes dependiendo de las cepas de ratones utilizados. Los ratones BALB/c son ratones con predominio de respuestas Th2 y por tanto indicados para realizar experimentos de eficacia terapéutica. Se utilizaron larvas 3 de *S. venezuelensis* tratadas con dosis de 0,1; 0,5; 1; 2,5 y 20 µg de edelfosina. Tras 24 h. de cultivo se introdujeron en ratones BALB/c. Se utilizaron como controles negativo y positivo larvas sin tratar y larvas tratadas con 10 µg de ivermectina (fármaco de elección den la estrongiloidosis). Los resultados se reflejan en FIG. 5. A partir de 0,5 µg de edelfosina, las larvas tratadas y posteriormente administradas a ratones BALB/c presentaban 100% de reducción durante el experimento.

1.6. Actividad in vivo anti-Strongyloides.

Se utilizaron 7 grupos experimentales de ratones BALB/c para realizar los estudios in vivo. Grupo 1: ratones infectados con 110 L3 de *S. venezuelensis*: Grupos 2 y 3: Ratones infectados y tratados con ivermectina (5 y 10 µg). Grupos 4-7: Ratones infectados y tratados con edelfosina (dosis 1; 2,5; 5 y 10 µg). Se midieron diariamente los huevos excretados en heces como marcador de infección. Los resultados obtenidos con dosis de 1 µg de edelfosina mostraron reducciones del 100% a lo largo del experimento. Ratones tratados con ivermectina no mostraron reducción del 100% en número de huevos (FIG. 6).

Ejemplo 2.- Actividad antihelmíntica de edelfosina frente a *Schistosoma mansoni*. Actividad in vivo anti-*S. mansoni*.

La edelfosina (EDLF) fue suministrada por Apointech. La dosis utilizada a cada animal fue de 45mg/Kg vía oral. El Praziquantel (PZQ) se obtuvo al resuspender una tableta de Biltricide (Bayer Vital, 51368 Leverkusen) 600mg en un volumen 10ml de (líquido) al 2 % de Propilenglicol (200 µl) y se utilizó a dosis de 100 mg/Kg/día vía oral.

2.1. Mantenimiento del Ciclo de vida del *S. mansoni*.

La cepa de *S. mansoni* fue mantenida en laboratorio de Inmunología Parasitaria y Molecular (CIETUS) a través de caracoles del género *Biomphalaria glabrata* como hospedador intermediario y ratones hembras CD1 (Edad: seis semanas) como hospedador definitivo. Los caracoles fueron mantenidos en acuarios de vidrio con capacidad de 20 litros y alimentados con lechuga en laboratorio. Ambiente controlado a temperaturas 26 a 28 °C y ciclos de 12 horas luz/oscuridad. El proceso de infección de los caracoles y la obtención de las cercarías se efectuó de acuerdo a Lewis et al. (Lewis et al., 1986. J Parasitol, 72(6): 813-29)

2.2. Infección en Ratones.

En este experimento se utilizaron cincuenta ratones hembras no consanguíneos CD1 procedentes de *Charles River* Laboratorios España (CRIFFA S.A., Barcelona). Los animales fueron mantenidos en condiciones de experimentación con ambiente y temperatura controlados, en ciclos de 12 horas luz/oscuridad, acceso libre al agua y alimento. Cuatro de los cinco grupos fueron infectados con ciento cincuenta cercarias de *S. mansoni*, cada uno de forma percutánea bajo inmovilización con una combinación de anestésico y sedante (Ketamina/Diazepam/Atropina(50/5/1/-mg/Kg)) vía i.p., para luego ser sujetos con cinta adhesiva y fijarles un cilindro plástico a nivel abdominal,

previamente afeitado, donde se depositan un volumen máximo de 0,5 ml de agua que contiene las ciento cincuenta cercarías. Los ratones son mantenidos en oscuridad por aproximadamente 45 minutos, tiempo estimado de penetración de las cercarías a través de la piel del ratón. El anterior
 5 procedimiento pretende homogenizar la infección en el grupo de ratones infectados.

El diseño experimental se puede observar de manera gráfica en el diagrama 1, donde se representan dos líneas de tiempo, la primera
 10 corresponde a parte del ciclo del *S. mansoni* en el modelo experimental y la segunda, los eventos de tratamiento y toma de muestras en las diferentes fases del ciclo. Las actividades del ensayo comienzan con la toma de muestra de sangre en los ratones tres días antes de la infección, posteriormente se suministra los diferentes tratamientos, con previa distribución de cinco grupo de
 15 ratones con 10 animales cada uno, así: No infectados no tratados o grupo control (Control), grupo infectados pero no tratados (G1-No tratados), grupo infectados tratados con PZQ (G2-PZQ), grupo infectados tratados con edelfosina (G3-EDLF), y grupo infectado tratados con la combinación PZQ más edelfosina suministrada en forma separada (G4-PZQ+EDLF).

Ciclo de vida y tratamiento Schistosomosis en modelo experimental fase temprana

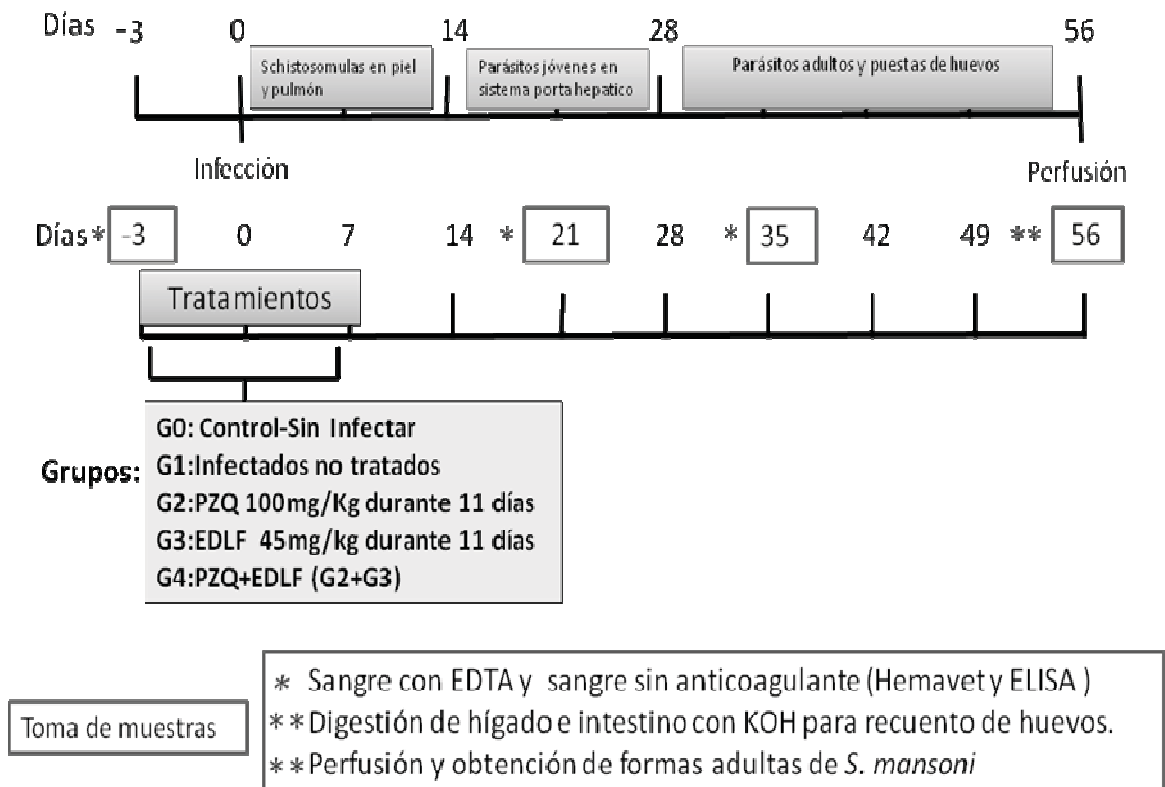


Diagrama 2. Representación del diseño experimental, con dos líneas de tiempo, la primera indicando los días en la fase del ciclo del parásito *S. mansoni* y la segunda donde se realizan los tratamientos y las tomas de muestras.

2.3. Técnicas parasitológicas.

Los animales fueron eutanasiados a las ocho semanas de experimentación (día 56), con pentobarbital sódico a una dosis 60mg/kg i.p, los datos parasitológicos como numero de parásitos obtenidos al realizar una incisión del músculo abdominal en el animal paralelamente a la línea alba, para despejar los órganos abdominales y lograr realizar la disección de la vena porta hepática efectuando un pequeño corte para facilitar la salida de los parásitos, posteriormente se realiza un corte a lado y lado el arco costal despejando la

caja torácica y dejando al descubierto el corazón por donde se inyecta en el ventrículo izquierdo con una jeringuilla (10 ml) una solución salina (0,85% NaCl, 1000 U.I. de heparina) y con este procedimiento se realiza la perfusión del hígado (Smithers y Terry, 1965. *Parasitology*, 55(4): 695-700), con el fin de
 5 recuperar las formas adultas del parásito para su clasificación y conteo; otros datos a recopilar son los huevos por gramo de hígado e intestino en cámara de *Mac Master* previa disolución del tejido en KOH al 5% durante 6-24h a 37°C (Cheever, 1970. *Bull World Health Organ*, 43(4): 601-3), estas prácticas se llevaron a cabo en el animalario de la universidad de Salamanca y en el
 10 laboratorio de Inmunología Parasitaria y Molecular (CIETUS) de conformidad con la normativa de bienestar animal de la Unión Europea.

2.4. Técnicas hematológicas.

15 Los ratones fueron sangrados cuatro veces durante todo el experimento con un intervalo aproximado de cada tres semanas, labor realizada por personal calificado. Las muestras fueron recolectadas en tubos Vacutainer® (Cat. 367841) previamente etiquetados que contenían anticoagulante EDTA, homogenizando bien la sangre con el anticoagulante para evitar alteraciones
 20 en los resultados por coagulación. Se transfirió un volumen mínimo de 20 µl en tubos *Eppendorf* (1,5 ml), para ser colocados en el soporte del equipo Hemavet® HV950 (*Drew Scientific Co. Limited, Barrow in Furness; England*) y realizar el análisis.

25 2.5. Técnica inmunológica de ELISA indirecto (*Indirect-Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*).

Para esta técnica se utilizó antígeno somático de *S. mansoni* (Ag-SO-Sm) el cual se obtuvo de tomar 20 parejas de parásitos adultos y se sometieron
 30 a congelación en nitrógeno líquido para luego ser homogenizados en un macerador de cristal, adicionando 1ml de PBS pH 7,2 con cuatro inhibidores de proteasas: 1mM de EDTA (E6758, Sigma), 1 mM de PMSF (P7626, Sigma),

1 μ M de Pepstatin A (P5318, Sigma) y 0,1 mM de TPCK (T4376, Sigma). Todo fue centrifugado a 10.000 x g a 4 °C durante 30 min, para luego recoger el sobrenadante y realizar una electroforesis en gel SDS-PAGE al 12% y cuantificar la cantidad de proteína obtenida por BCA. (Micro BCA TM Protein Assay Kit).

Con 100 μ l del antígeno somático (Ag-SO-Sm) en tampón carbonato (pH 9,6) con una concentración de 5 μ g/ml, se tapizaron cada pocillo de una placa de poliestireno de fondo plano, luego se incubó durante 24 horas a 4 °C, se descartó el líquido de la placa y se hicieron tres lavados con 200 μ l PBS-tween durante 4 min, se incorporó 100 μ l por pocillo de una solución de leche descremada al 5% en PBS, se cubrió con papel de aluminio y se incubó (1 hora a 37 °C), se descartó el líquido de la placa y se hicieron tres lavados con 200 μ l PBS-tween durante 4 min. Se diluyeron los sueros a 1:100 en PBS-tween y se dispensaron por duplicado (100 μ l/pocillo), se cubrió la placa con papel de aluminio y se incubó (1 hora a 37 °C). Se descartó el líquido de la placa y se hicieron tres lavados con 200 μ l PBS-tween durante 4 min, se añadieron 100 μ l en cada pocillo de la anti-inmunoglobulina como anticuerpo secundario a una dilución 1:1000, en PBS-tween al 5% de leche descremada. Para cada suero de cada ratón se evaluó una Anti-IgG total (A-5906, Sigma), anti-IgG1 (5037, Nordic Immunology) y anti-IgG2a (5018, Nordic Immunology), se cubrió con papel de aluminio y se incubó (1 hora a 37 °C). Se descartó el líquido de la placa y se hicieron tres lavados con 200 μ l PBS-tween durante 4 min, se añadieron 100 μ l de la solución de revelado que consta de 10 ml de tampón citrato (pH 5), 4 μ l de H₂O₂ y 0.053 g de OPD (P1526, Sigma), se incubó en oscuridad durante 20 min. Se paró la reacción con 50 μ l por pocillo de solución de H₂SO₄ 2N y se leyó la placa en un espectrofotómetro a 450 nm (Anthos 2020).

2.6. Análisis estadístico.

Los resultados se expresaron en medias $\pm$ errores estándar. Los datos fueron analizados en una dirección grupo por grupo en múltiples

comparaciones con la prueba U de *Mann Whitney*. Las diferencias entre los resultados de cada grupo se consideraron estadísticamente significativas cuando la $p < 0,05$ en la quinta versión del programa estadístico *Graphpad Prism*.

5

2.7. Resultados parasitológicos.

En los resultados obtenidos de la recuperación de vermes a las ocho semanas (56 días) de la infección, se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre el grupo infectado no tratado (G1-Control) y la reducción de vermes en el grupo infectado y tratado con edelfosina (G3-EDLF), la combinación PZQ más edelfosina (G4- PZQ+EDLF) también presentó una reducción estadísticamente significativa ($p < 0,05$) en este parámetro cuando se comparó con los ratones del grupo infectado no tratado (G1-Control) y a su vez con el grupo infectado tratado con PZQ (G2-PZQ); datos representados en la FIG. 7A.

El recuento de huevos del parásito en tejidos de los animales infectado “huevos por gramo de tejido” (h.p.g), se llevó a cabo en hígado e intestino. El conteo de número de huevos en hígado entre los grupos infectados no presentó diferencias significativas en la reducción de vermes con respecto al grupo infectado no tratado (datos no mostrados); a diferencia de los intestinos donde se presentan diferencias estadísticamente significativas. El grupo tres infectado y tratado con EDLF (G3-EDLF) mostró diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$), comparado con el grupo uno infectado no tratado (G1-No tratado) y a su vez el grupo cuatro (G4-PZQ+EDLF) presentó diferencias altamente significativas ($p < 0,0001$), comparándolo con los grupos uno (G1-No tratados) y el grupo dos infectado y tratado con PZQ (G2-PZQ), datos representados en la FIG. 2B.

2.8. Resultados hematológicos.

El análisis de los datos hematológicos recopila los resultados del hemograma. Los resultados de la serie roja: recuento de glóbulos rojos y hematocrito (HCT) no mostraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) cuando se compararon los grupos estudiados, al igual que la hemoglobina (Hb), volumen corpuscular medio (MCV), hemoglobina corpuscular media (MCH), concentración de hemoglobina corpuscular media (MCHC), dispersión en el tamaño de eritrocitos (RDW) y de plaquetas (PLT).

En la línea celular de glóbulos blancos, los resultados del conteo de leucocitos, neutrófilos, linfocitos y monocitos no presentaron diferencias estadísticamente significativas cuando se compararon los diferentes grupo infectados, mientras que los resultados de conteo de # Eosinófilos $10^3/\mu\text{L}$ (Eos) (FIG. 10) y de # Basófilos $10^3/\mu\text{L}$ (Bas) (FIG. 11), se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) al realizar comparaciones entre los grupos de ratones infectados. Los resultados se expresaron de forma gráfica en columnas y las barras de error representan el error estándar de la media.

2.9. Resultados inmunológicos- ELISA.

Los resultados de la respuesta humoral contra antígenos somáticos de *S. mansoni*, de tipo IgG2a, comparando los grupos infectados G1 y G2 con respecto al grupo (G3-EDLF) presentaron diferencias estadísticamente significativas. Frente a la IgG1 y IgG total no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos tratados.

Conclusiones del ejemplo 2

La edelfosina presenta un efecto positivo en el tratamiento temprano de la schistosomosis en el modelo experimental de ratón, donde se logra reducir la carga parasitaria de los grupos tratados con edelfosina y la combinación con

Praziquantel de manera estadísticamente significativa comparada con el grupo infectado no tratado (FIG. 7), esta reducción se ve reflejada en la disminución de formas adultas de *S. mansoni* al final del experimento como consecuencia de la muerte temprana de la fase inmadura del parásito (esquistosómula) y la
 5 disminución en la producción de huevos a nivel intestinal, lugar donde finalmente se aloja la forma adulta del parásito.

La respuesta celular ante el tratamiento con edelfosina provocó una disminución en dos grupos de las células (eosinófilos y basófilos),
 10 estadísticamente significativa, en la octava semana post infección (56 días), contrario a lo que se presenta de forma natural (FIG. 8), por el grupo infectado no tratado (G1-No tratado) donde se observa eosinofilia y basofilia; en este proceso y ante un constante estímulo antigénico provocado por el parásito y la producción de huevos, se favorece la proliferación celular hacia una respuesta
 15 exacerbada y formación de granulomas, ocasionando daño funcional en diferentes órganos como el hígado, bazo e intestinos, a diferencia del efecto que ocasiona el tratamiento con edelfosina donde no se presentó una eosinofilia y basofilia. Esto hace pensar que se deba a la disminución temprana de la carga parasitaria. Lo anterior se puede también argumentar de forma
 20 inmunológica a través de la disminución de los títulos de anticuerpos IgG2a frente antígeno somático de *S. mansoni* (Ag.SO-Sm) en los grupos tratados con (EDLF) comparados con los grupos infectado no tratado (G1-No tratado) y el grupo infectado tratado con PZQ (G2-PZQ), esto se interpreta como una baja respuesta Th1, ante la poca presencia de esquistosomulas (Cardoso, Macedo
 25 et al. 2008. PLoS Negl Trop Dis, 2(10): e308) en la primera fase de la schistosomosis, en los grupos tratados con (EDLF).

Por tanto se demuestra que un compuesto como la edelfosina podría resultar un tratamiento complementario en la equistosomosis, en combinación
 30 con el tratamiento actual (PZQ), que representa el beneficio de poder tener mayor cubrimiento del control de la enfermedad con un tratamiento complementario o combinado que cubra en lo posible todo el ciclo y formas del

parásito en el huésped definitivo. Este hallazgo podría aportar mucho en las áreas de mayor transmisión como un tratamiento profiláctico y/o combinación de moléculas que presenten sinergismo o que puedan ser combinadas con el mismo en una composición farmacéutica. Dada la preocupación de depender
 5 de un solo medicamento para tratar a más de 200 millones de personas y riesgo eminente de crear resistencia a PZQ por el uso masivo en campañas sanitarias; la edelfosina se presenta en este trabajo como un compuesto con gran potencial farmacéutico para dar solución complementaria a esta enfermedad.

10

En resumen:

- 1 La edelfosina actúa en la fase temprana de la esquistosomosis y con su efecto ayuda a disminuir la carga parasitaria.
2. La combinación de Praziquantel más edelfosina también ocasiona un efecto
 15 positivo en el tratamiento de la esquistosomosis durante la fase temprana de la enfermedad.
3. El tratamiento instaurado en forma profiláctica con edelfosina para la esquistosomosis influye en la disminución de eosinófilos y basófilos por efecto temprano en la reducción de la carga parasitaria.

1. Uso de un compuesto de fórmula general (I), o cualquiera de sus sales, isómeros o solvatos farmacéuticamente aceptables,



R² se selecciona entre un grupo de fórmula (II), (III) ó (IV):



20

- 37

4. Uso según la reivindicación 1, donde R^1 es un grupo $-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{OR}^3)-\text{CH}_2-\text{O}-\text{R}^4$.
5. Uso según la reivindicación 4, donde R^3 es un alquilo (C_1-C_3).
6. Uso según la reivindicación 5, donde R^3 es un metilo.
7. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 5 ó 6, donde R^4 es un alquilo ($\text{C}_{14}-\text{C}_{20}$).
8. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, donde R^2 es un grupo de fórmula (II).
9. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, donde R^2 es un grupo de fórmula (III).
10. Uso según la reivindicación 1, donde dicho compuesto se selecciona entre miltefosina, edelfosina o perifosina.
11. Uso del compuesto según la reivindicación 10, donde dicho compuesto es edelfosina.
12. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, para la fabricación de un medicamento para la prevención y/o el tratamiento de esquistosomiasis, producida por al menos un platelminto parásito del género *Schistosoma*.
13. Uso según la reivindicación 12, donde la esquistosomiasis está producida por al menos un platelminto parásito del género *Schistosoma* en una fase temprana inmadura.

14. Uso según la reivindicación 13, donde la fase temprana inmadura es esquistosómula.
- 5 15. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 12 a 14, donde el platelminto parásito del género *Schistosoma* se selecciona de la lista que comprende *Schistosoma mansoni*, *Schistosoma haematobium*, *Schistosoma intercalatum*, *Schistosoma japonicum* o *Schistosoma mekongi*.
- 10 16. Uso según la reivindicación 15, donde el platelminto parásito del género *Schistosoma* es *Schistosoma mansoni*.
- 15 17. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, para la fabricación de un medicamento para la prevención y/o el tratamiento de estrongiloidiasis, producida por al menos un nemátodo parásito del género *Strongyloides*.
- 20 18. Uso según la reivindicación 17, donde el nemátodo parásito del género *Strongyloides* se selecciona de la lista que comprende *Strongyloides venezuelensis*, *Strongyloides stercoralis* o *Strongyloides fuelleborni*.
19. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18, donde el medicamento además comprende al menos otra sustancia activa.
- 25 20. Uso según la reivindicación 19, donde la sustancia activa es un agente antiparasitario.
21. Uso según la reivindicación 20, donde el agente antiparasitario es un agente antihelmíntico.

22. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 12 a 16, donde el medicamento además comprende praziquantel, o cualquiera de sus sales, isómeros o solvatos farmacéuticamente aceptables.
- 5 23. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 17 ó 18, donde el medicamento además comprende ivermectina, o cualquiera de sus sales, isómeros o solvatos farmacéuticamente aceptables.
- 10 24. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 23, donde el medicamento además comprende al menos un excipiente y/o al menos un vehículo farmacéuticamente aceptables.
- 15 25. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24, donde el medicamento se presenta en una forma adaptada a la administración por vía oral.

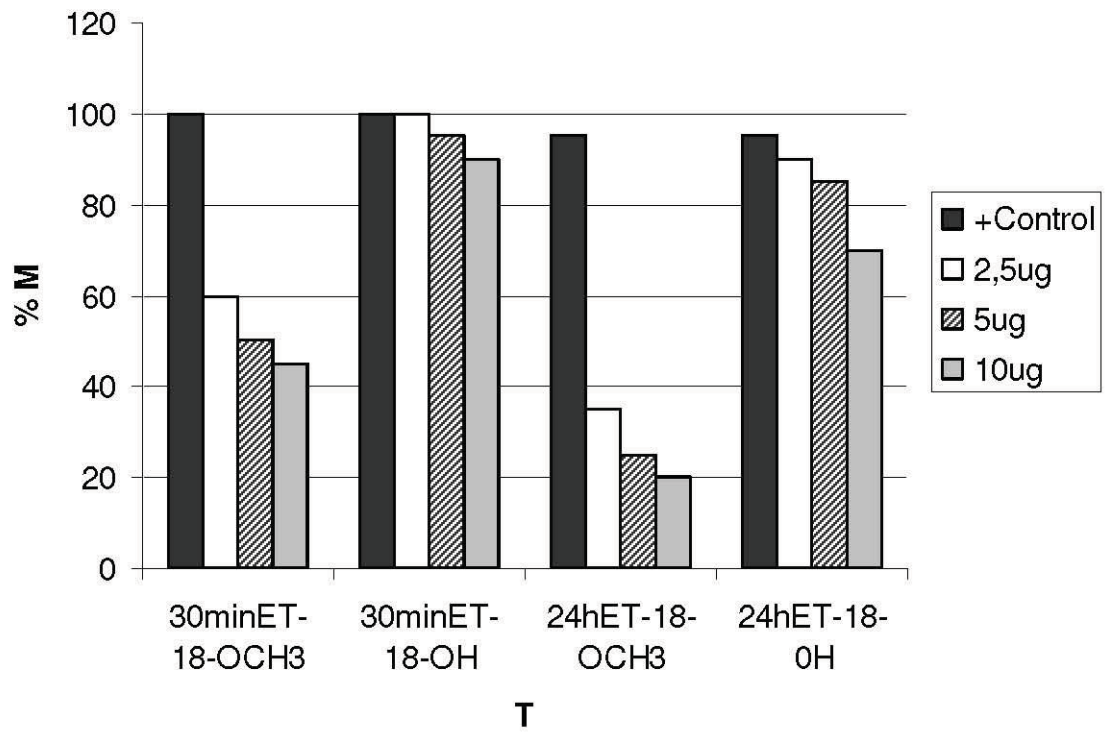


FIG. 1

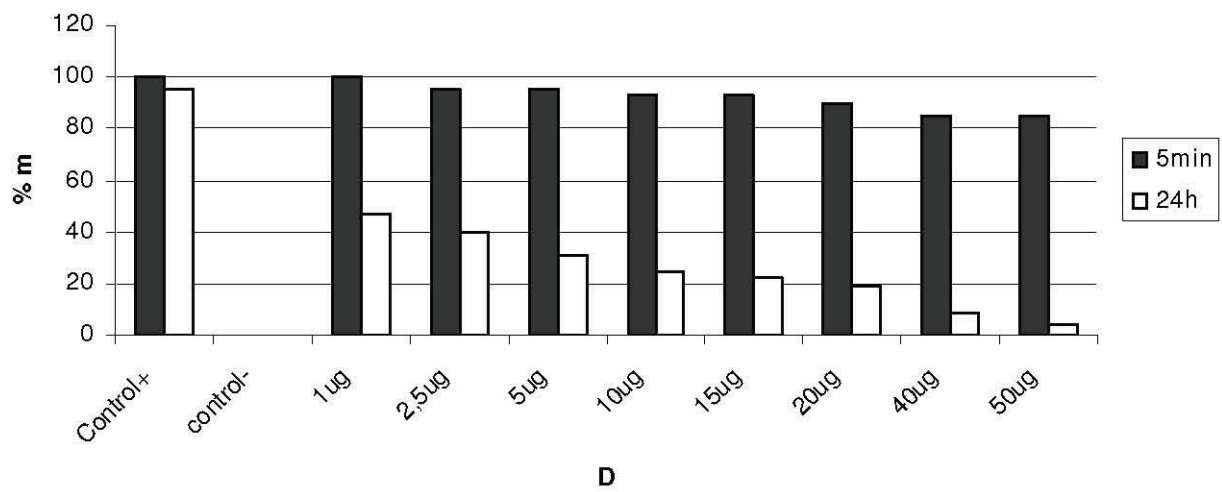


FIG. 2

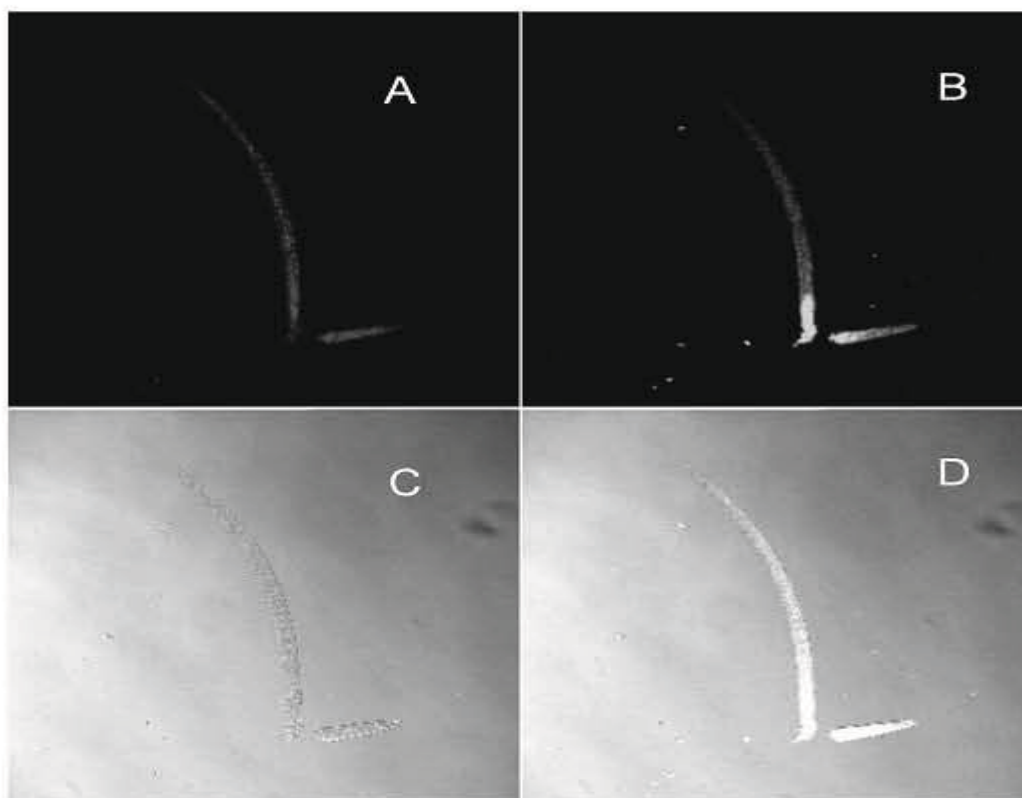


FIG. 3

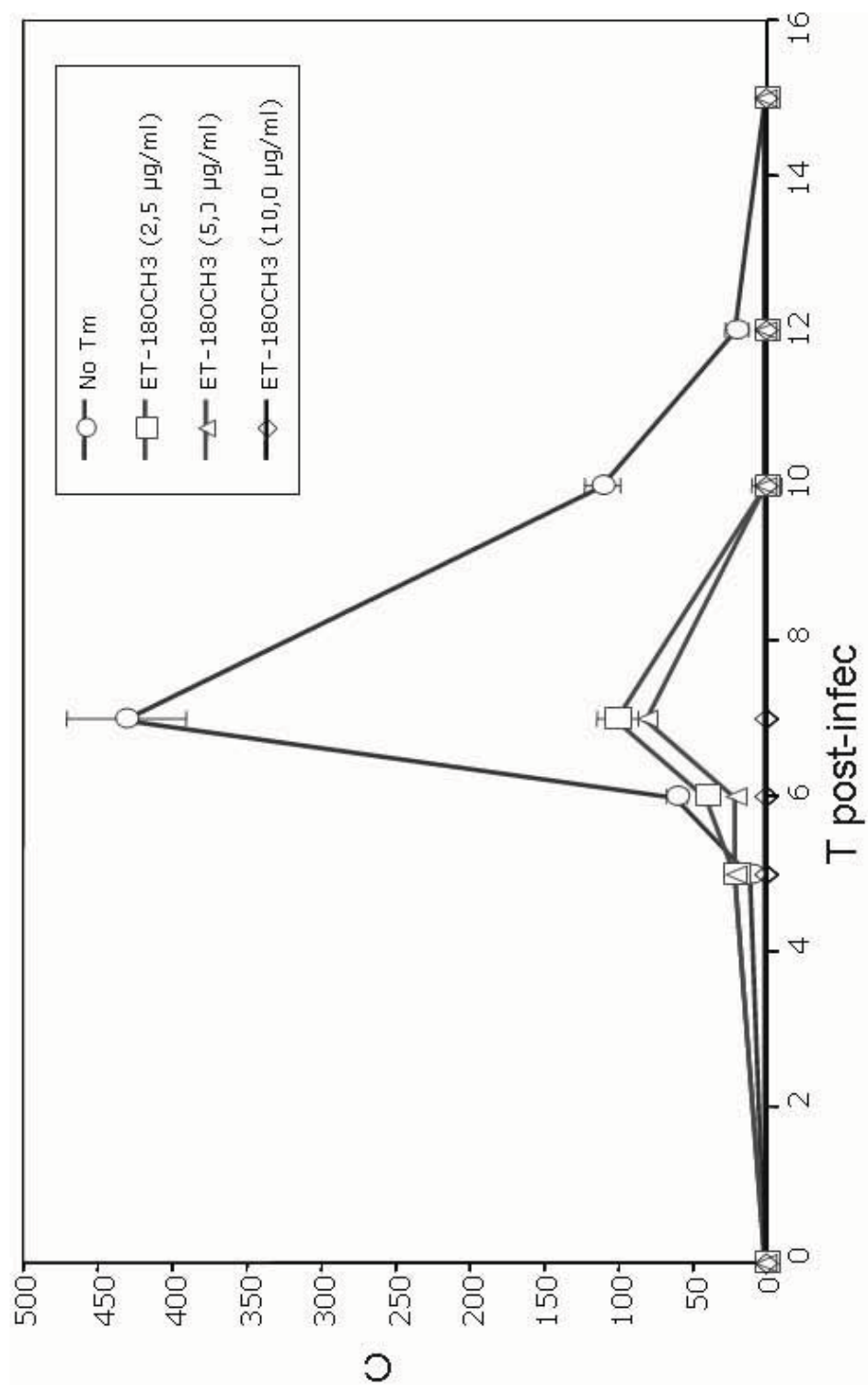


FIG. 4

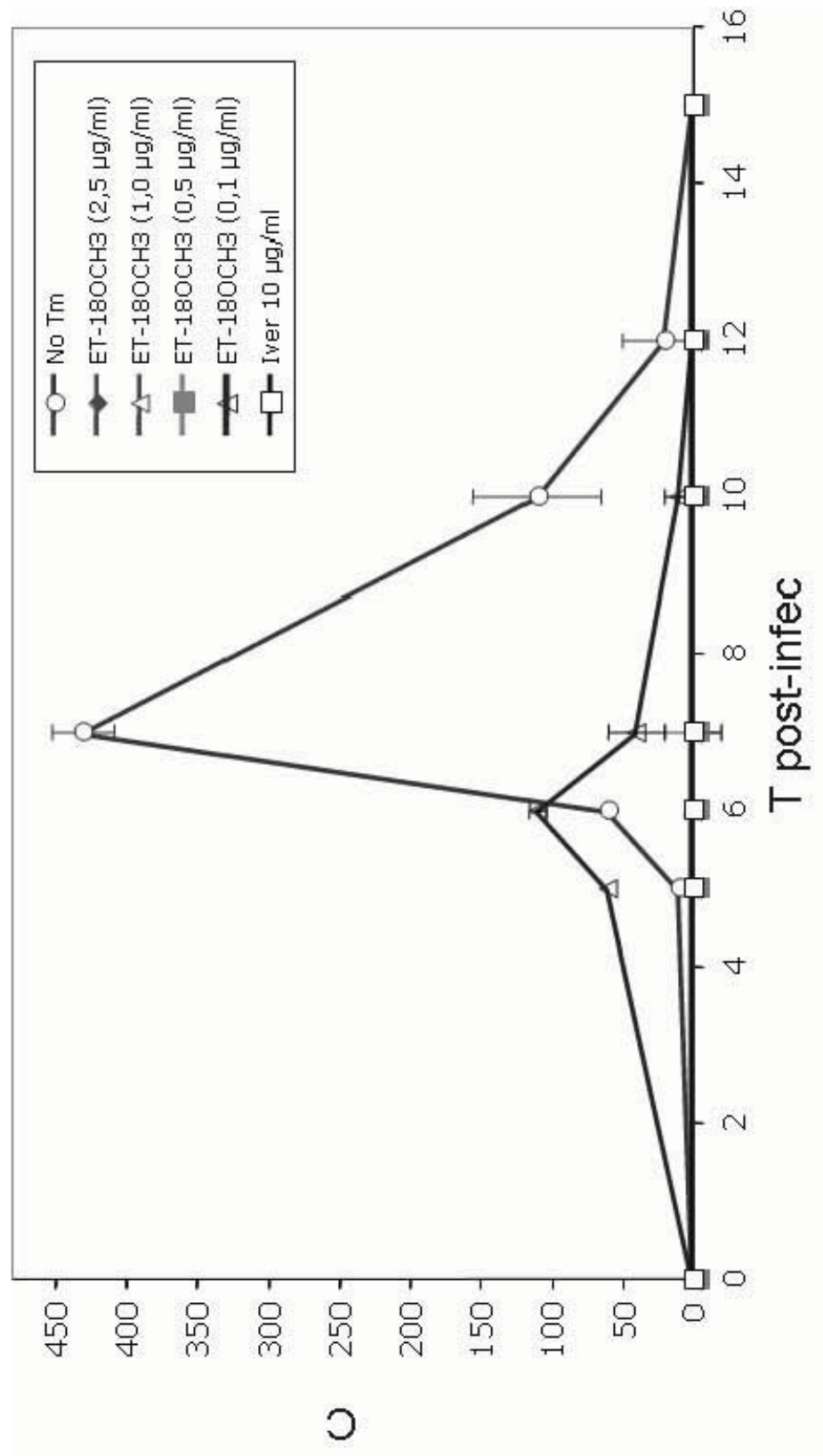


FIG. 5

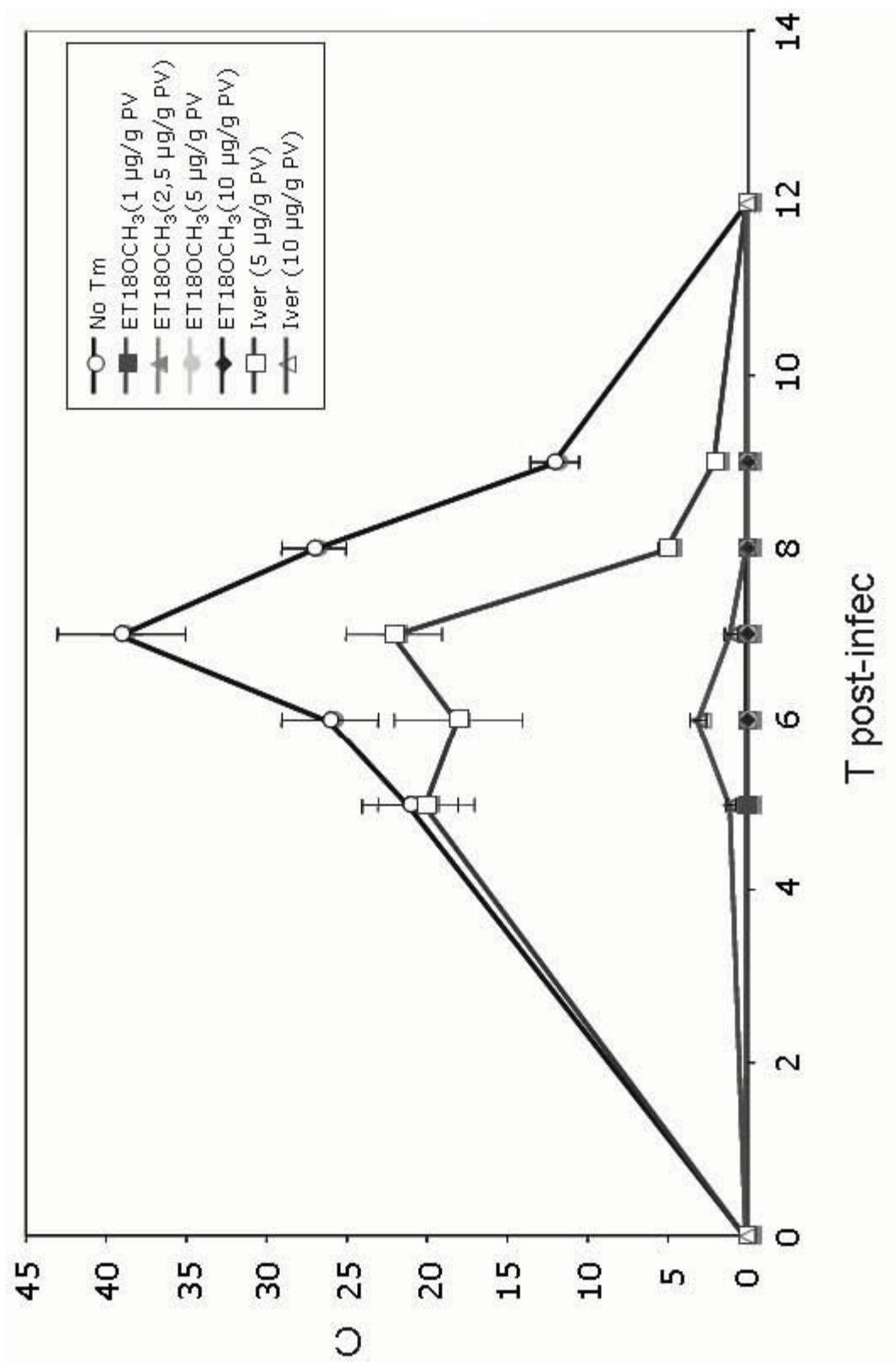


FIG. 6

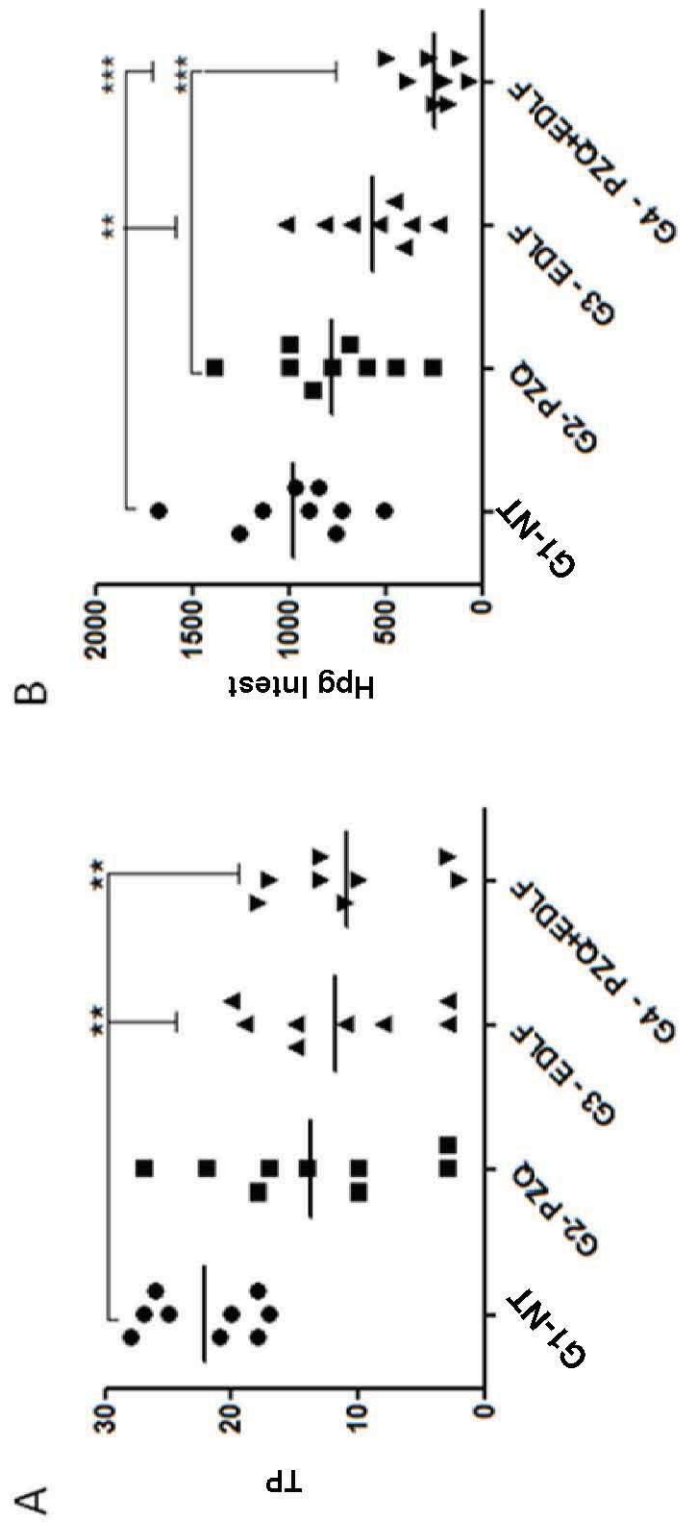


FIG. 7

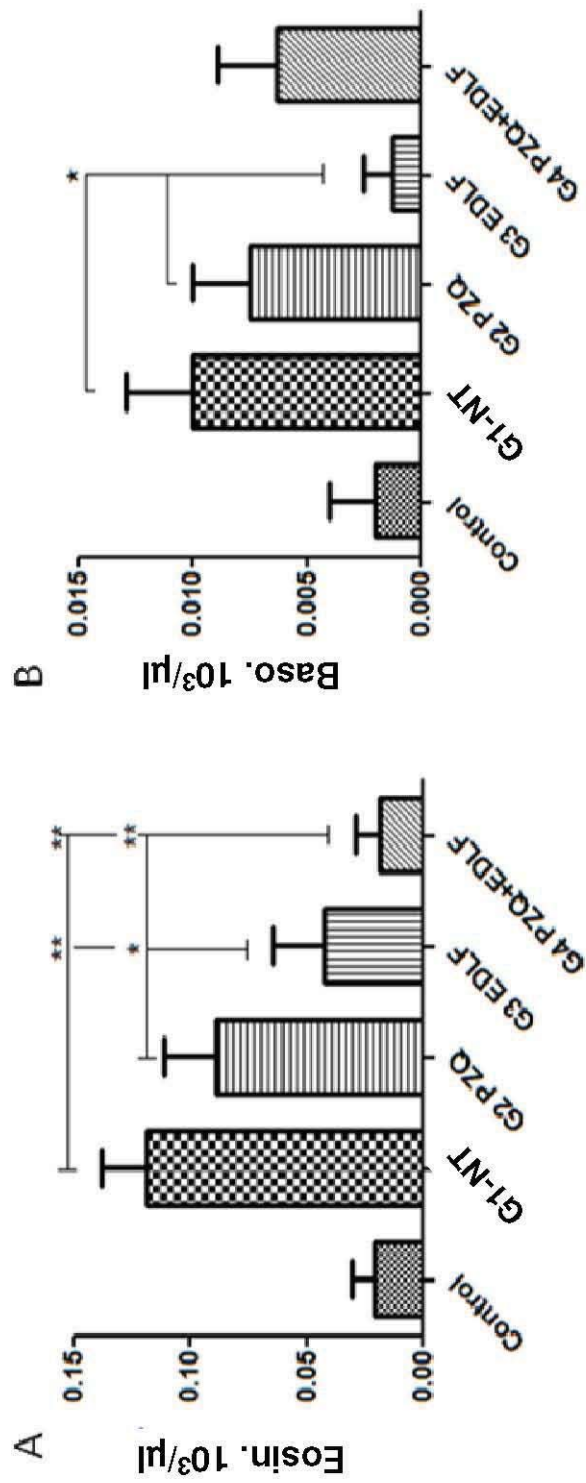


FIG. 8

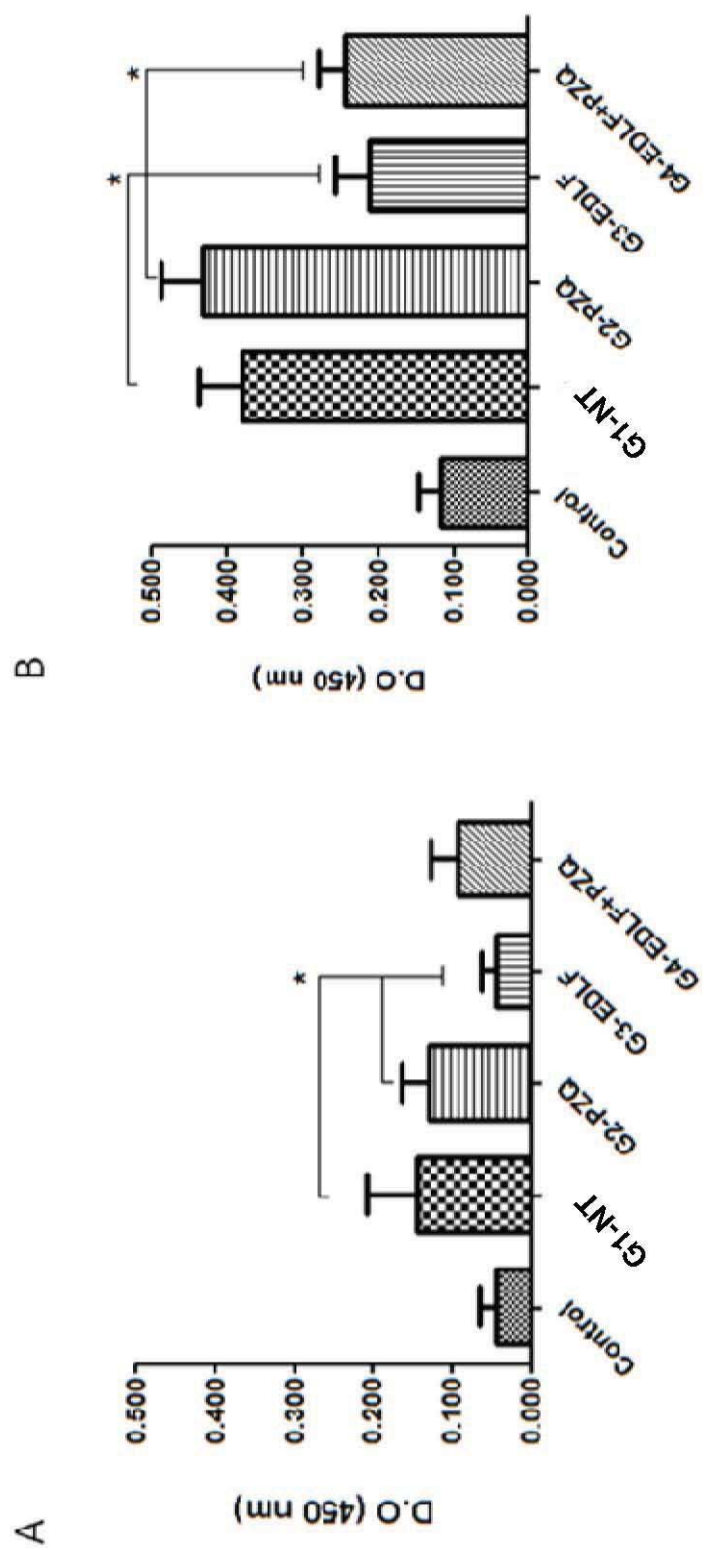


FIG. 9

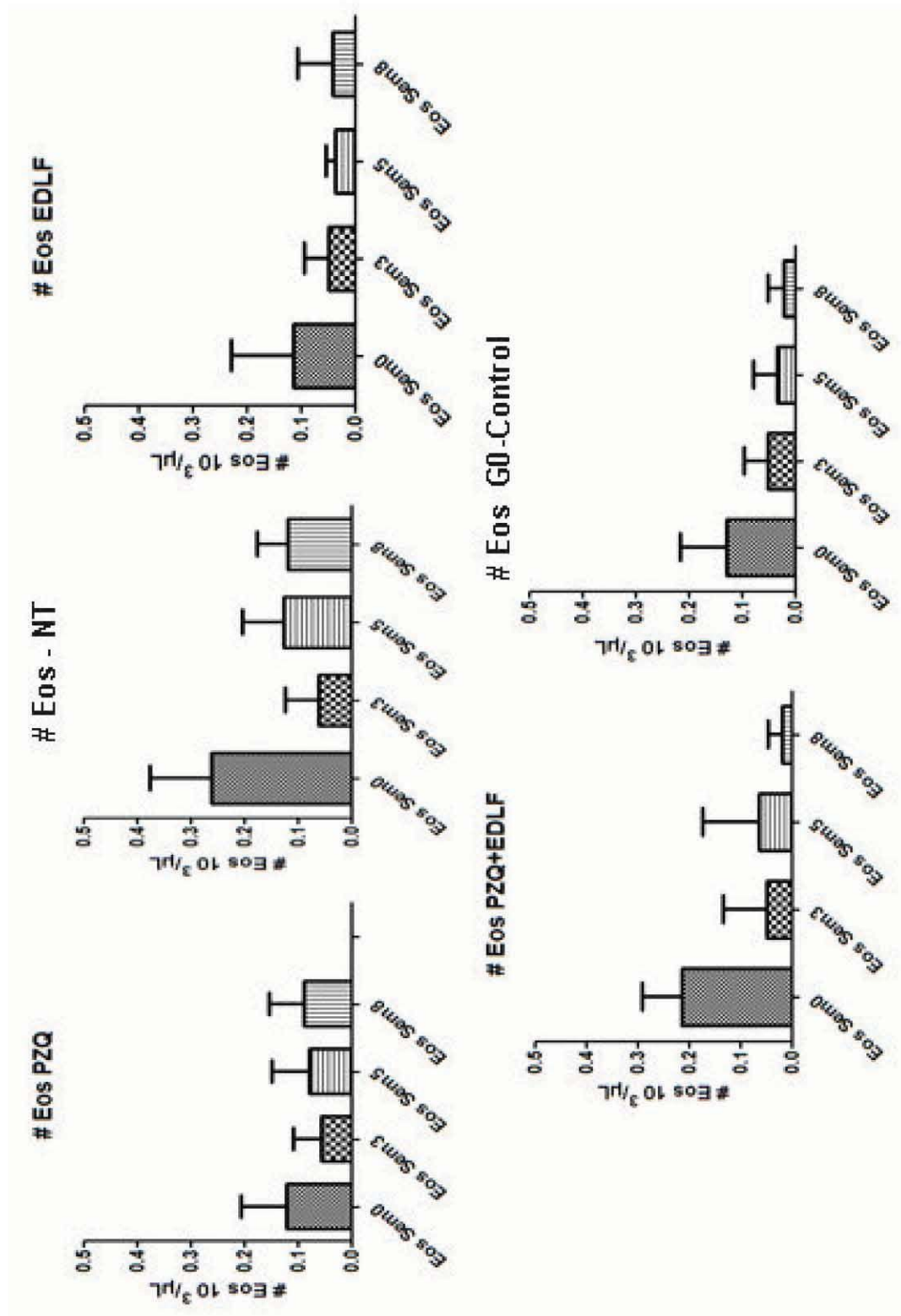


FIG. 10

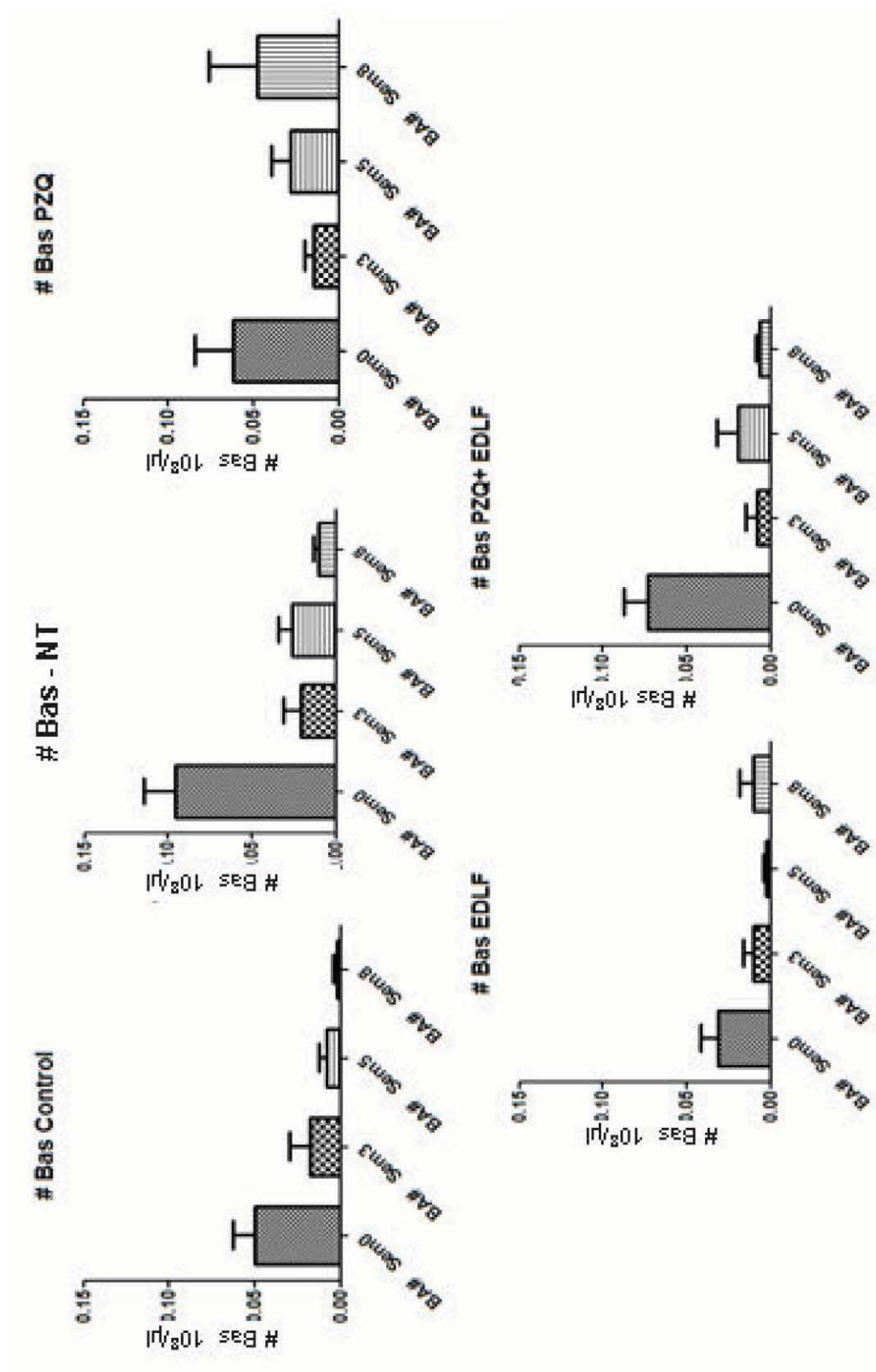


FIG. 11



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②① N.º solicitud: 201031387

②② Fecha de presentación de la solicitud: 16.09.2010

③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤① Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	NIETO-MIGUEL, T. y col. Endoplasmic reticulum stress in the proapoptotic action of Edelfosine in solid tumor cells. Cancer Research. 2007, Vol. 67, páginas 10368- 10378. Todo el documento.	1-25
A	ANDER ESTELLA-HERMOSO DE MENDOZA y col. Antitumor Alkyl Ether Lipid Edelfosine: Tissue Distribution and Pharmacokinetic Behavior in Healthy and Tumor-Bearing Immunosuppressed Mice. Clinical Cancer Research. 2009, Vol. 15, Nº 3, páginas 858-864. Todo el documento.	1-25
A	AZZOUZ, S. y col. Leishmanicidal activity of Edelfosine, Mitelfosine and Ilmofofosine. Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology. 2005, Vol. 96, Nº 1, páginas 60-65. Todo el documento.	1-25
A	FAGHIRI, Z. & SKELLY, P.J. The role of tegumental aquaporin from the human parasitic worm, Schistosoma mansoni, in osmoregulation and drug uptake. The FASEB Journal 2009, Vol. 23, Nº 8, páginas 2780–2789.	1-25

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones

☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
14.07.2011

Examinador
E. Albarrán Gómez

Página
1/4

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

A61K31/685 (2006.01)**A61P33/10** (2006.01)**A61P33/12** (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

A61K, A61P

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, MEDLINE, BIOSIS, EMBASE, REGISTRY, HCAPLUS

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 14.07.2011

Declaración**Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)**

Reivindicaciones 1-25
Reivindicaciones

SI
NO

Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)

Reivindicaciones 1-25
Reivindicaciones

SI
NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	NIETO-MIGUEL, T. y col. Endoplasmic reticulum stress in the proapoptotic action of Edelfosine in solid tumor cells. Cancer Research. 2007, Vol. 67, páginas 10368- 10378. Todo el documento.	
D02	ANDER ESTELLA-HERMOSO DE MENDOZA y col. Antitumor Alkyl Ether Lipid Edelfosine: Tissue Distribution and Pharmacokinetic Behavior in Healthy and Tumor-Bearing Immunosuppressed Mice. Clinical Cancer Research. 2009, Vol. 15, Nº 3, páginas 858-864. Todo el documento.	
D03	AZZOUZ, S. y col. Leishmanicidal activity of Edelfosine, Miltefosine and Ilmofofosine. Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology. 2005, Vol. 96, Nº 1, páginas 60-65. Todo el documento.	
D04	FAGHIRI, Z. & SKELLY, P.J. The role of tegumental aquaporin from the human parasitic worm, Schistosoma mansoni, in osmoregulation and drug uptake. The FASEB Journal 2009, Vol. 23, Nº 8, páginas 2780–2789.	

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

La presente invención tiene por objeto el uso de un compuesto de fórmula general (I), en concreto del compuesto conocido como Edelfosina para la prevención y/o tratamiento de las helmintiasis, esquistosomiasis y/o estrongiloidiasis.

La descripción de la presente solicitud solo aporta datos experimentales que avalan la actividad de Edelfosina contra Schistosoma y Strongyloides. No se incluyen datos experimentales para los compuestos Miltefosina y Perifosina que apoyen su actividad antihelmíntica.

El documento D01 describe la acción antitumoral de la Edelfosina en tumores sólidos y su posible mecanismo de acción que implica la activación de la apoptosis a través del retículo endoplasmático.

El documento D02 analiza la distribución tisular y el comportamiento farmacocinético de la Edelfosina en ratones sanos, inmunodeficientes y inmunodeficientes con tumores.

En el documento D03 describe la actividad contra Leishmania de Edelfosina, Miltefosina e Ilmofofosina.

El documento D04 se refiere al papel de la proteína tegumental de Schistosoma mansoni □aquaporin□ en la osmoregulación y en la penetración de drogas.

No se ha encontrado divulgado en el estado de la técnica el uso de Edelfosina para la prevención y/o tratamiento de las helmintiasis, esquistosomiasis y/o estrongiloidiasis.

Por lo tanto se considera que la invención recogida en las reivindicaciones 1 a 25 de la presente solicitud tiene novedad e implica actividad inventiva (Art.6.1 y 8.1. LP 11/1986).