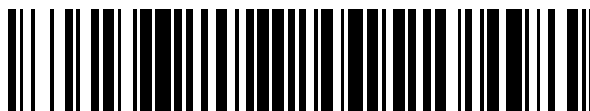


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 648 190**

51 Int. Cl.:

A61K 31/366 (2006.01)

A61P 31/04 (2006.01)

A61P 33/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.05.2012 PCT/EP2012/058256**

87 Fecha y número de publicación internacional: **08.11.2012 WO12150340**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.05.2012 E 12721456 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.10.2017 EP 2704708**

54 Título: **Compuestos para su uso en el tratamiento de la filariasis**

30 Prioridad:

05.05.2011 EP 11164963

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

29.12.2017

73 Titular/es:

**RHEINISCHE FRIEDRICH-WILHELMS-
UNIVERSITÄT BONN (100.0%)
Regina-Pacis-Weg 3
53113 Bonn, DE**

72 Inventor/es:

**PFARR, KENNETH MICHAEL;
HÖRAUF, ACHIM;
KÖNIG, GABRIELE MARIA;
SPECHT, SABINE;
SCHIEFER, ANDREA;
SCHÄBERLE, TILL FRIEDRICH;
SCHMITZ, ALEXANDER y
KEHRAUS, STEFAN**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 648 190 T3

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

DESCRIPCIÓN

Compuestos para su uso en el tratamiento de la filariasis

5 La presente invención se refiere a compuestos para su uso en el tratamiento de la filariasis y composiciones farmacéuticas para el tratamiento de la filariasis. La filariasis es una enfermedad parasitaria que está causada por nematodos filáricos de hilo o ascárides. La filariasis es una enfermedad transmitida por vector que se transmite a través de las picaduras de insectos. Las larvas infecciosas de los nematodos se pueden introducir en el cuerpo humano a través de picaduras de insectos que chupan la sangre como mosquitos o moscas.

10 La filariasis también puede afectar a animales domésticos como perros. En perros, la dirofilariasis que también se denomina enfermedad del gusano del corazón, está causada por nematodos denominados *dirofilaria immitis* y *dirofilaria repens*. Dirofilariasis se considera endémica en 49 estados de los Estados Unidos. Los vectores también son insectos que chupan la sangre como los mosquitos.

15 Las principales causas de la filariasis humana son los nematodos filáricos de las especies *wuchereria bancrofti*, *brugia malayi*, *brugia timori*, *onchocerca volvulus* y *mansonella* que tienen huéspedes humanos. Los nematodos *wuchereria bancrofti*, *brugia malayi* y *onchocerca volvulus* son responsables de la mayoría de las infecciones filáricas debilitantes en más de 80 países en desarrollo de los trópicos y subtropicos donde 1,1 billón están en riesgo de infección y aproximadamente 150 millones están infectados. Las tres especies son una fuente de graves patologías que dan como resultado una alta morbilidad y una mayor mortalidad. La infección puede causar una grave morbilidad en hasta el 50 % de los infectados con los nematodos.

UD 40386/SAM:AL

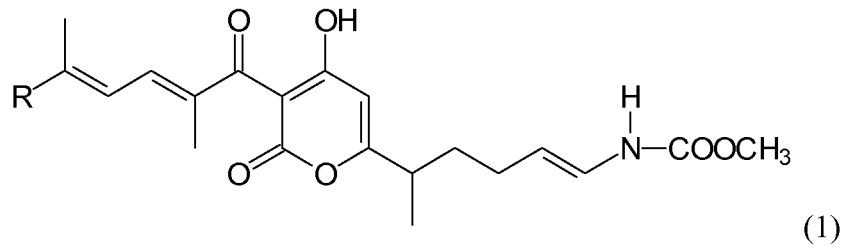
25 Las infecciones por *w. bancrofti* y *b. malayi* pueden convertirse en filariasis linfática, a menudo vista como hidrocele en hombres y/o linfedema y, en casos extremos, elefantiasis. Las infecciones por *o. volvulus* pueden convertirse en una grave dermatitis y/o oncocercosis, la deficiencia visual que da a esta última enfermedad su nombre común, ceguera de los ríos. Los programas de administración masiva de fármacos dirigidos a la comunidad están diseñados para controlar estas infecciones y eliminarlas como un problema de salud pública.

30 Los esfuerzos actuales tienen por objeto eliminar estos nematodos parásitos mediante el uso de fármacos como dietilcarbamazina, ivermectina y albendazol que matan a las larvas, pero no a los gusanos adultos. El fármaco antihelmíntico dietilcarbamazina se usa para combatir la filariasis linfática en países sin infecciones coendémicas por *o. volvulus*, es decir, fuera de África. Ivermectin se usa para combatir la oncocercosis. La mayor eficacia de ambos fármacos es contra las larvas de la primera etapa que se encuentran en el torrente sanguíneo o en la dermis. Dado que los gusanos pueden vivir hasta 14 años y son fecundos durante la mayor parte de su vida, las poblaciones en regiones endémicas deben tratarse con una alta cobertura (al menos un 65 %) durante muchos años para interrumpir la transmisión de la enfermedad a personas no infectadas. Además, la presencia de larvas en la piel o la sangre de las personas, especialmente los niños, después de muchas rondas de tratamiento demuestra que no responden a los fármacos antifiláricos actuales. Además, hay una creciente preocupación de que la resistencia en los gusanos se pueda estar desarrollando. Además, dado que la dietilcarbamazina puede conducir a graves reacciones adversas en personas infectadas con *o. volvulus*, ivermectin es efectivamente el único fármaco disponible para controlar la oncocercosis.

45 Los nematodos son huéspedes de las bacterias intracelulares obligadas del género *wolbachia*. Estas endobacterias son esenciales para la embriogénesis, el desarrollo de la larva y la supervivencia del gusano adulto. Un esfuerzo alternativo que tiene por objeto eliminar los nematodos es la eliminación de las bacterias con agentes antibacterianos. Se ha presentado el uso de doxiciclina como un tratamiento anti *wolbachia* eficaz para la filariasis (W. A. Stolk y col., The Lancet 2005, 365, 2067-2068). Sin embargo, se han identificado cientos de compuestos antibióticos de estructura química muy diferente, pero es casi imposible elegir qué compuesto usar en el tratamiento de una enfermedad específica.

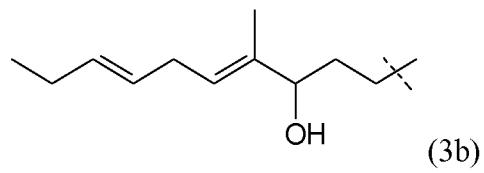
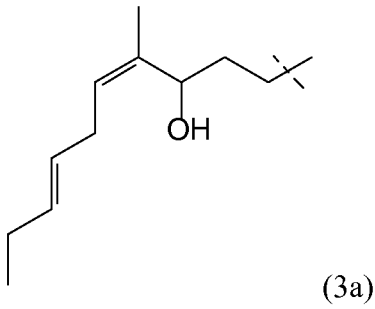
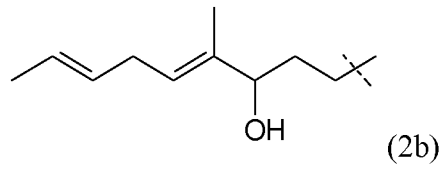
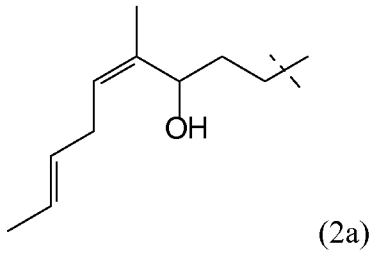
50 Por lo tanto, el objetivo subyacente de la presente invención fue proporcionar un compuesto para su uso en el tratamiento de la filariasis.

55 El problema se resuelve mediante un compuesto de acuerdo con la fórmula general (1) como se indica a continuación y/o racematos, enantiómeros, diastereómeros, solvatos, hidratos y sales y/o ésteres farmacéuticamente aceptables del mismo:

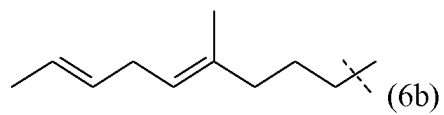
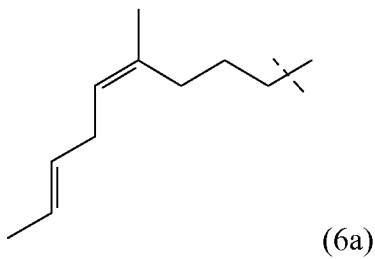
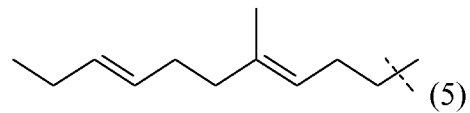
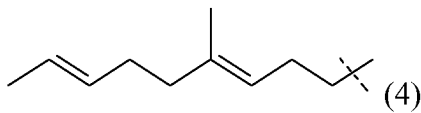


en la que:

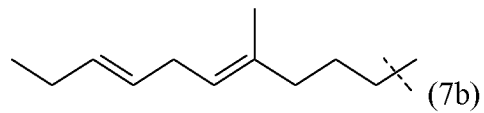
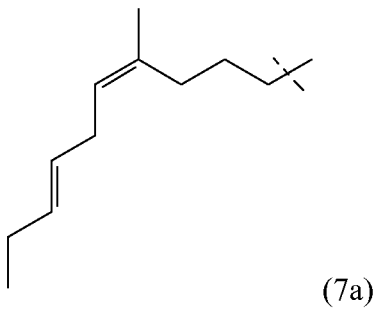
- 5 R se selecciona entre el grupo que comprende n-propilo, n-butilo y elementos estructurales (2a), (2b), (3a), (3b), (4), (5), (6a), (6b), (7a) y/o (7b) como se presenta a continuación:



10



15



para su uso en el tratamiento terapéutico o profiláctico de la filariasis.

Estos compuestos se conocen como agentes antibacterianos (documento WO99/34793 publicado el 15.07.1999). El término «filariasis» tal como se usa en el presente documento se refiere a infecciones por helmintos que son causadas por nematodos filáricos. Una infección es la colonización de un organismo huésped por especies de parásitos. Las infecciones con nematodos filáricos humanos pueden causar filariasis linfática u oncocercosis. La expresión «filariasis linfática» se refiere a una infección con los nematodos *wuchereria bancrofti*, *brugia malayi* o *brugia timori*. El término «oncocercosis» se refiere a una infección con el nematodo *onchocerca volvulus*. La filariasis linfática puede causar hidrocele, linfedema y elefantiasis. La oncocercosis puede causar inflamación de la piel y ceguera, denominada ceguera de los ríos. En perros, una infección con especies de nematodos llamada *dirofilaria immitis* o *dirofilaria repens* causa dirofilariasis.

Tal como se usa en el presente documento, la expresión «tratamiento profiláctico» se refiere a evitar o inhibir el desarrollo de una afección o trastorno clínico o a retrasar el inicio de una etapa preclínica evidente de una afección o trastorno clínico. La expresión «tratamiento profiláctico» de acuerdo con la invención debe entenderse en el sentido de que las composiciones de acuerdo con la invención pueden aplicarse antes de que se manifiesten los síntomas de la infección. Especialmente, la expresión «tratamiento profiláctico» debe entenderse como un tratamiento médico. Se puede preferir usar los compuestos de acuerdo con la invención en un tratamiento profiláctico.

La expresión «cantidad terapéuticamente eficaz» se usa en el presente documento para indicar una cantidad o dosis suficiente para provocar una mejora en una afección clínicamente significativa en la persona.

A menos que se indique otra cosa, los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que el comúnmente entendido por un experto habitual en la técnica a la cual pertenece esta invención.

De manera sorprendente, se descubrió que los compuestos de la invención son eficaces en el tratamiento de las infecciones filáricas. Los resultados *in nitro* e *in vivo* demostraron que los compuestos de la invención son eficaces contra *wolbachia* de nematodos filáricos. Por lo tanto, los compuestos de la invención tienen el potencial de ser potentes fármacos antifiláricos.

Se piensa que los efectos ventajosos se obtienen debido a la capacidad de los compuestos de la invención para interactuar con las bacterias intracelulares obligadas del género *wolbachia* de la que los nematodos son huéspedes. Ya que las endobacterias *wolbachia* son esenciales para la embriogénesis, el desarrollo de la larva y la supervivencia del gusano adulto, la eliminación de las bacterias elimina los nematodos. Un tratamiento con los compuestos de la invención agota la *wolbachia* de los gusanos y da como resultado la embriogénesis y la degradación bloqueada de embriones intrauterinos, el desarrollo de larvas bloqueado y la muerte del gusano adulto.

Ventajosamente, las pruebas de toxicidad mostraron que el tratamiento con los compuestos de la invención no afectaba al crecimiento celular, indicando, por tanto, que los compuestos no mostraban efectos citotóxicos en eucariotas.

Más ventajosamente, los compuestos de la invención no tienen eficacia contra bacterias gram-negativas y baja eficacia contra especies de *mycobacterium*. Las micobacterias son los agentes causales de la tuberculosis. Por lo tanto, los compuestos de la invención no interferirán con el tratamiento de la tuberculosis. Muy ventajosamente, los compuestos de la invención tienen el potencial de usarse en países endémicos para infecciones filáricas sin seleccionar para la *mycobacterium tuberculosis* resistente.

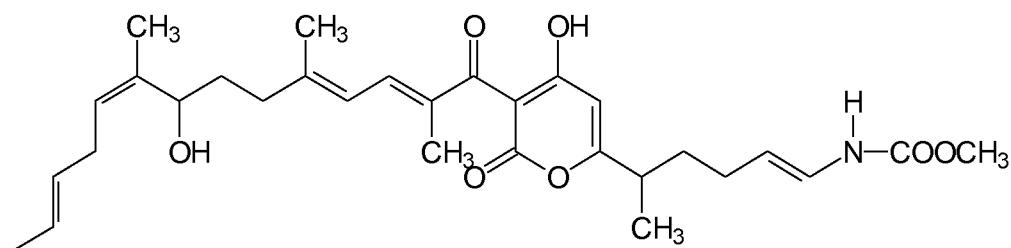
Además, un espectro estrecho de bacterias es ventajoso para los compuestos de la invención para reducir la interferencia con otros tratamientos. Por tanto, los compuestos de la invención tienen el potencial de usarse como una terapia anti-*wolbachia* en programas de administración masiva de fármacos. Aparte de eso, los compuestos de la invención se pueden administrar a todos los miembros de una población.

El sustituyente R puede ser n-propilo o n-butilo. En una realización preferente, el sustituyente R es n-propilo o n-butilo y el compuesto es mixopironina A o B, respectivamente.

Preferentemente, el sustituyente R es el elemento estructural (2a) o (3a). En una realización preferente, el sustituyente R es el elemento estructural (2a) o (2b), o (3a) o (3b) y el compuesto es coralopironina A o B, respectivamente. De la coralopironina A y B se conocen diferentes estereoisómeros. El estereoisómero (2a) de la coralopironina A se puede producir por cultivo de mixobacterias que producen naturalmente la coralopironina A.

Ventajosamente, las realizaciones en las que el sustituyente R es n-propilo, n-butilo o es el elemento estructural (2a) o (3a), los compuestos no muestran toxicidad hacia las células eucarióticas. No se evidenciaron efectos citotóxicos en los experimentos *in nitro* o *in vivo*.

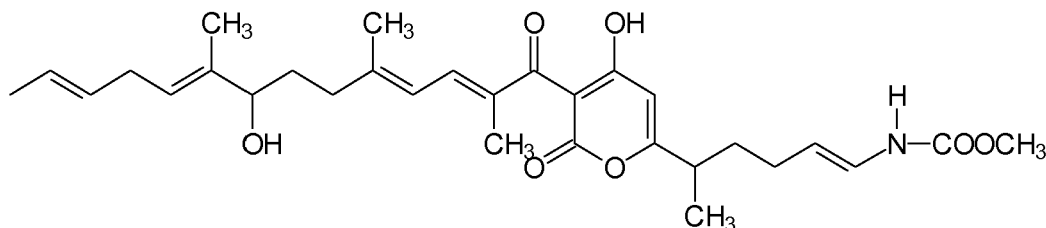
En una realización preferente, el compuesto es el compuesto de acuerdo con la fórmula (8a) como se indica a continuación y/o racematos, enantiómeros, diastereómeros, solvatos, hidratos y sales y/o ésteres farmacéuticamente aceptables del mismo:



(8a).

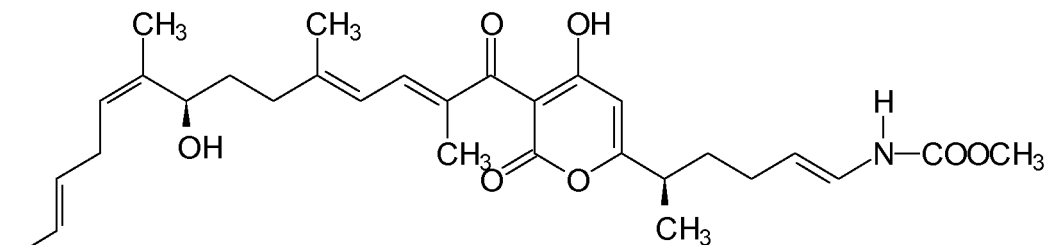
Los compuestos descritos en el presente documento contienen uno o más centros asimétricos y uno o más dobles enlaces y, por tanto, pueden dar lugar a isómeros estereo o configuracionales. La presente invención incluye todos estos posibles isómeros estereo o configuracionales así como sus mezclas, y solvatos, hidratos y sales y/o ésteres farmacéuticamente aceptables de los mismos. De las coralopironinas A y B, se conocen las mixopironinas A y B, y los diferentes estereoisómeros de las precoralopironinas A y B. La presente invención incluye en particular todos estos posibles isómeros estereo o configuracionales así como sus mezclas, y solvatos, hidratos y sales y/o ésteres farmacéuticamente aceptables de los mismos.

En una realización adicional, el compuesto puede ser el compuesto de acuerdo con la fórmula (8b) como se indica a continuación y/o racematos, enantiómeros, diastereómeros, solvatos, hidratos y sales y/o ésteres farmacéuticamente aceptables del mismo:



(8b).

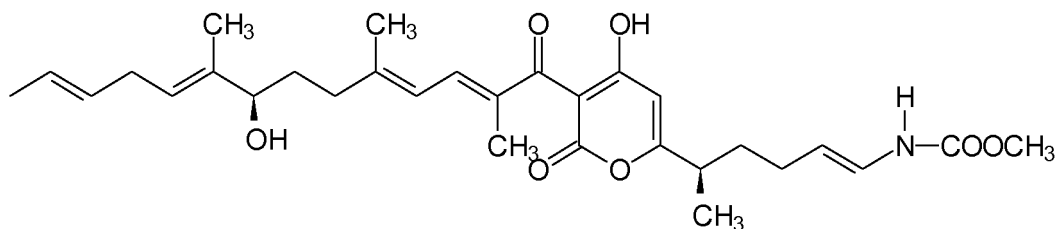
En una realización muy preferente, el compuesto es el compuesto de acuerdo con la fórmula (9a) como se indica a continuación y/o solvatos, hidratos y sales y/o ésteres farmacéuticamente aceptables del mismo:



(9a).

El compuesto de acuerdo con la fórmula (9a) comúnmente se denota coralopironina A. La coralopironina A también se denota N-[(1E)-5-[4-hidroxi-3-[(2E,4E,9Z,12E)-8-hidroxi-2,5,9-trimetiltetradeca-2,4,9,12-tetraenoil]-2-oxo-2H-piran-6-il]hex-1-en-1-il]carbamato de metilo de acuerdo con la nomenclatura IUPAC.

En una realización adicional, el compuesto puede ser el compuesto de acuerdo con la fórmula (9b) como se indica a continuación y/o solvatos, hidratos y sales y/o ésteres farmacéuticamente aceptables del mismo:



(9b).

El compuesto de acuerdo con la fórmula (9b) se denota N-[(1E)-5-[4-hidroxi-3-[(2E,4E,9Z,12E)-8-hidroxi-2,5,9-trimetiltetradeca-2,4,9,12-tetraenoil]-2-oxo-2H-piran-6-il]hex-1-en-1-il]carbamato de metilo de acuerdo con la

nomenclatura IUPAC.

Ventajosamente, en especial el compuesto de acuerdo con la fórmula (9a) mostró un efecto anti-wolbachia muy potente en pruebas *in nitro e in vivo*. Las pruebas *in vivo* también demostraron el bloqueo esperado en el desarrollo de nematodos como resultado de la pérdida de sus bacterias wolbachia intracelulares obligadas. Por lo tanto, los compuestos de la invención, especialmente el compuesto de acuerdo con la fórmula (9a), podrían ser productos quimioterapéuticos antifiláricos muy potentes.

Además, el sustituyente R puede ser un elemento estructural (4), (5), (6a) (6b), (7a) o (7b). En una realización preferente, el sustituyente R es el elemento estructural (6a) o (6b), o (7a) o (7b) y el compuesto es precoralopironina A o B, respectivamente.

En realizaciones preferentes, los compuestos para su uso en el tratamiento terapéutico o profiláctico de la filariasis se seleccionan entre el grupo que comprende coralopironina A, coralopironina B, precoralopironinas A, precoralopironinas B, mixopironina A y/o mixopironina B. En una realización muy preferente de la invención, el compuesto para su uso en el tratamiento terapéutico o profiláctico de la filariasis es coralopironina A.

Las coralopironinas y las mixopironinas se sintetizan mediante el deslizamiento de mixobacterias como *coralococcus coralloides*. Los compuestos se pueden producir por medios biotecnológicos, p. ej., el cultivo de mixobacterias que producen naturalmente los compuestos, expresión en huéspedes mixobacterianos, huéspedes como *escherichia coli* (*E. coli*), actinomicetos, pseudomonas o huéspedes fúngicos. Como alternativa, los compuestos de la invención se pueden producir por síntesis química.

Además, los compuestos de acuerdo con la presente invención son útiles en forma de solvatos, hidratos y sales y/o ésteres farmacéuticamente aceptables de los mismos. Preferentemente, los compuestos son útiles en forma de sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. La expresión «sales farmacéuticamente aceptables» se refiere a sales preparadas a partir de bases o ácidos no tóxicos farmacéuticamente aceptables.

Las sales correspondientes de los compuestos se pueden preparar de manera práctica a partir de bases no tóxicas farmacéuticamente aceptables, que incluyen bases inorgánicas y bases orgánicas. Las sales preferentes procedentes de bases inorgánicas incluyen sales de amonio, calcio, magnesio, potasio y sodio. Las sales procedentes de bases orgánicas no tóxicas farmacéuticamente aceptables incluyen sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, así como aminas cíclicas.

Preferentemente, la sal farmacéuticamente aceptable se selecciona entre el grupo de sales de sodio, potasio o amonio. Se prefieren adicionalmente las sales de adición de ácido. Las sales de adición de ácido preferentes generalmente son sales de clorhidrato o hidratos de clorhidrato.

Cuando el compuesto de la presente invención es básico, se puede preparar de manera práctica su sal correspondiente a partir de ácidos no tóxicos farmacéuticamente aceptables, que incluyen ácidos inorgánicos y orgánicos. Dichos ácidos incluyen, por ejemplo, ácido acético, bencenosulfónico, benzoico, alcanforsulfónico, cítrico, etanosulfónico, fumárico, glucónico, glutámico, bromhídrico, clorhídrico, isetiónico, láctico, maleico, málico, mandélico, metansulfónico, mícico, nítrico, pamoico, pantoténico, fosfórico, succínico, sulfúrico, tartárico, p-toluenosulfónico y similares. Se prefieren particularmente los ácidos cítrico, bromhídrico, clorhídrico, maleico, fosfórico, sulfúrico, y tartárico.

Adicionalmente son útiles los ésteres farmacéuticamente aceptables de los compuestos de acuerdo con la presente invención. La expresión «éster farmacéuticamente aceptable» se refiere a ésteres preparados a partir de grupos éster no tóxicos farmacéuticamente aceptables. En una realización, los ésteres son ésteres fisiológicamente fácilmente hidrolizables tales como ésteres de alquilo, preferentemente ésteres de alquilo C1-C4.

Es muy favorable que los compuestos de la presente invención sean altamente eficaces para agotar las endobacterias de los nematodos. Esto permite la administración de los compuestos en bajas concentraciones. Además, la biodisponibilidad de los compuestos es suficiente para alcanzar el objetivo endobacteriano a pesar de las muchas barreras físicas entre el fluido corporal y la wolbachia, que están contenidas dentro de las vesículas intracelulares. Esto es biológicamente importante ya que se necesita actividad antibacteriana frente a una bacteria intracelular. Además, la dosificación puede mantenerse en intervalos de baja concentraciones.

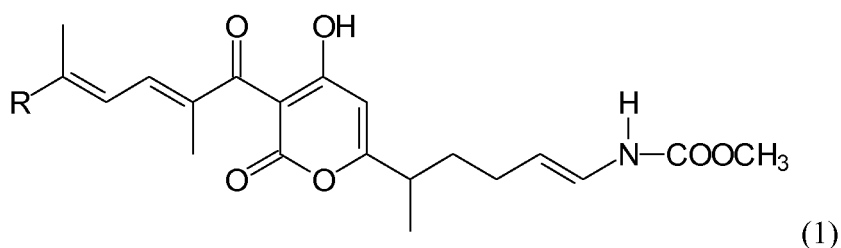
Los compuestos se pueden administrar durante un período de ≥ 14 días a ≤ 28 días, preferentemente durante un período de ≥ 10 días a ≤ 14 días, más preferentemente durante un período de ≥ 7 días a ≤ 10 días. Ventajosamente, en ratones se pudo ver que un tratamiento de 28 días dio como resultado un agotamiento $> 99\%$ de wolbachia de los nematodos.

Los compuestos de la invención son altamente eficaces en el tratamiento de la filariasis. Las infecciones con los nematodos filáricos humanos *wuchereria bancrofti*, *brugia malayi* o *brugia timori* pueden causar filariasis linfática. La filariasis linfática puede causar hidrocele y linfedema, incluyendo la elefantiasis. Otra infección filárica es causada

por el nematodo *onchocerca volvulus*. Es la principal especie de parásito filárico que se encuentra en la piel y el tejido que causa la oncocercosis humana. La oncocercosis causa enfermedad de la piel y ceguera. En realizaciones preferentes, la filariasis se selecciona del grupo que comprende filariasis linfática y oncocercosis. Estas son las principales infecciones filáricas en humanos. En otra realización, la filariasis es dirofilariasis. Dirofilariasis se refiere a la infección filárica en perros.

Los compuestos y/o racematos, enantiómeros, diastereómeros, solvatos, hidratos y sales y/o ésteres farmacéuticamente aceptables de los mismos se pueden incluir en una composición farmacéutica.

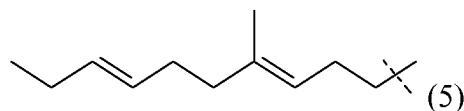
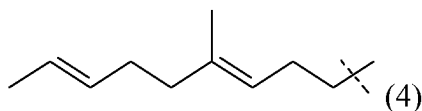
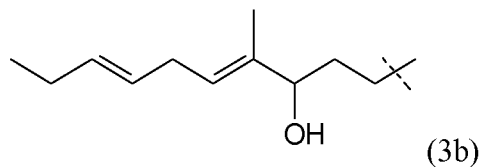
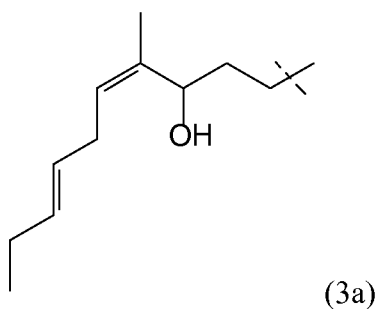
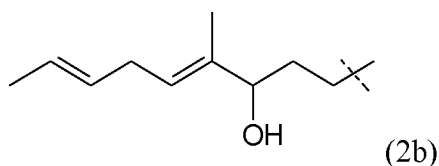
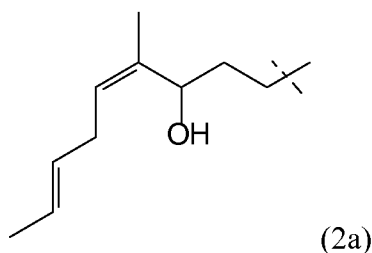
10 Otro aspecto de la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende como principio activo un compuesto de acuerdo con la fórmula general (1) como se indica a continuación y/o racematos, enantiómeros, diastereómeros, solvatos, hidratos y sales y/o ésteres farmacéuticamente aceptables del mismo:



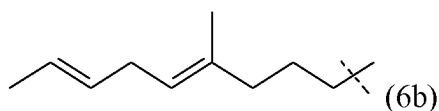
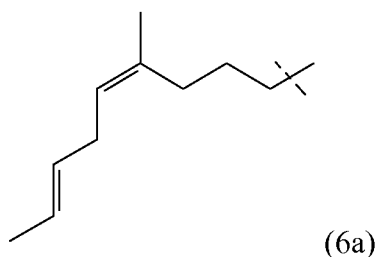
15 en la que:

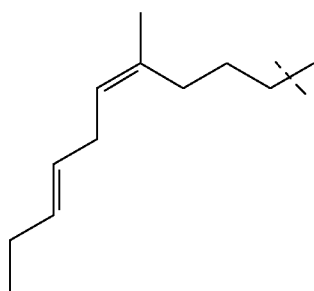
R se selecciona entre el grupo que comprende n-propilo, n-butilo y elementos estructurales (2a), (2b), (3a), (3b), (4), (5), (6a), (6b), (7a) y/o (7b) como se presenta a continuación:

20

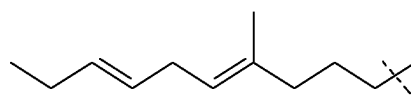


25





(7a)



(7b)

para su uso en el tratamiento terapéutico o profiláctico de la filariasis.

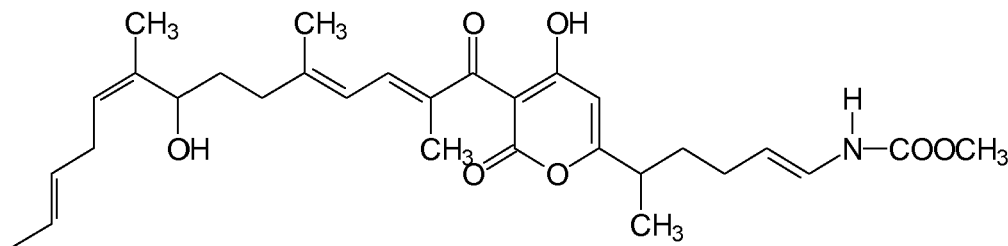
- 5 Se descubrió que la composición que comprende como principio activo un compuesto de la invención era eficaz en el tratamiento de las infecciones filáricas.

El sustituyente R puede ser n-propilo o n-butilo. En una realización preferente, el sustituyente R es n-propilo o n-butilo y el compuesto es mixopironina A o B, respectivamente. Preferentemente, el sustituyente R es el elemento estructural (2a) o (3a). En una realización preferente, el sustituyente R es el elemento estructural (2a) o (2b), o (3a) o (3b) y el compuesto es coralopironina A o B, respectivamente.

10

En una realización preferente, el compuesto es el compuesto de acuerdo con la fórmula (8a) como se indica a continuación y/o racematos, enantiómeros, diastereómeros, solvatos, hidratos y sales y/o ésteres farmacéuticamente aceptables del mismo:

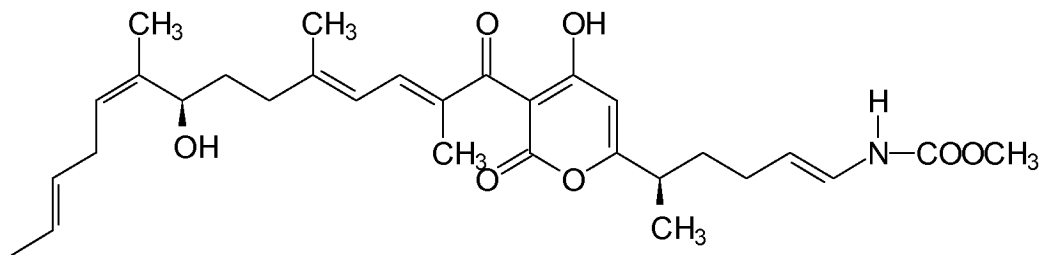
15



(8a).

En una realización muy preferente, el compuesto es el compuesto de acuerdo con la fórmula (9a) como se indica a continuación y/o solvatos, hidratos y sales y/o ésteres farmacéuticamente aceptables del mismo:

20



(9a).

Además, el sustituyente R puede ser un elemento estructural (4), (5), (6a) (6b), (7a) o (7b). En una realización preferente, el sustituyente R es el elemento estructural (6a) o (6b), o (7a) o (7b) y el compuesto es precoralopironina A o B, respectivamente.

25

En realizaciones preferentes, la invención se refiere a una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento terapéutico o profiláctico de la filariasis que comprende como principio activo un compuesto seleccionado entre el grupo que comprende coralopironina A, coralopironina B, precoralopironinas A, precoralopironinas B, mixopironina A y/o mixopironina B. En una realización muy preferente, la invención se refiere a una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento terapéutico o profiláctico de la filariasis que comprende como principio activo coralopironina A.

30

Además, los compuestos en la composición son útiles en forma de solvatos, hidratos y sales y/o ésteres farmacéuticamente aceptables de los mismos. Preferentemente, los compuestos son útiles en forma de sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. Las sales correspondientes de los compuestos se pueden preparar

35

de manera práctica a partir de bases no tóxicas farmacéuticamente aceptables, que incluyen bases inorgánicas y bases orgánicas. Las sales preferentes procedentes de bases inorgánicas incluyen sales de amonio, calcio, magnesio, potasio y sodio. Las sales procedentes de bases orgánicas no tóxicas farmacéuticamente aceptables incluyen sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, así como aminas cíclicas. Preferentemente, la sal farmacéuticamente aceptable se selecciona entre el grupo de sales de sodio, potasio o amonio. Se prefieren adicionalmente las sales de adición de ácido. Las sales de adición de ácido preferentes generalmente son sales de clorhidrato o hidratos de clorhidrato.

Cuando el compuesto de la presente invención es básico, se puede preparar de manera práctica su sal correspondiente a partir de ácidos no tóxicos farmacéuticamente aceptables, que incluyen ácidos inorgánicos y orgánicos. Dichos ácidos incluyen, por ejemplo, acético, bencenosulfónico, benzoico, alcanforsulfónico, cítrico, etanosulfónico, fumárico, glucónico, glutámico, bromhídrico, clorhídrico, isetiónico, láctico, maleico, málico, mandélico, metansulfónico, mícico, nítrico, pamoico, pantoténico, fosfórico, succínico, sulfúrico, tartárico, ácido p-toluenosulfónico y similares. Son particularmente preferentes los ácidos cítrico, bromhídrico, clorhídrico, maleico, fosfórico, sulfúrico, y tartárico.

Adicionalmente son útiles los ésteres farmacéuticamente aceptables de los compuestos de acuerdo con la presente invención. La expresión «éster farmacéuticamente aceptable» se refiere a ésteres preparados a partir de grupos éster no tóxicos farmacéuticamente aceptables. En una realización, los ésteres son ésteres fisiológicamente fácilmente hidrolizables tales como ésteres de alquilo, preferentemente ésteres de alquilo C1-C4.

Preferentemente, la composición comprende un compuesto de acuerdo con la invención y/o racematos, enantiómeros, diastereómeros, solvatos, hidratos y sales y/o ésteres farmacéuticamente aceptables del mismo como principio activo, un portador farmacéuticamente aceptable y, opcionalmente, otros ingredientes o adyuvantes terapéuticos.

El portador farmacéutico puede ser, por ejemplo, un sólido, un líquido o un gas. Los portadores y adyuvantes adecuados pueden ser sólidos o líquidos y corresponden a las sustancias empleadas ordinariamente en la tecnología de formulación para formulaciones farmacéuticas. Ejemplos de portadores sólidos incluyen lactosa, terra alba, sacarosa, talco, gelatina, agar, pectina, acacia, estearato de magnesio y ácido esteárico. Ejemplos de portadores líquidos son jarabe de azúcar, aceite de cacahuete, aceite de oliva y agua. Ejemplos de portadores gaseosos incluyen dióxido de carbono y nitrógeno.

Las composiciones pueden ser adecuadas para la administración oral, dérmica, rectal, tópica y parenteral. La administración parenteral incluye la administración subcutánea, intramuscular e intravenosa. Las composiciones farmacéuticas se pueden presentar de manera práctica en forma de dosificación unitaria y preparadas por cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica de farmacia.

En algunas realizaciones, la composición está formulada para la aplicación oral, subcutánea o intravenosa. En realizaciones preferentes, la composición está formulada para la aplicación oral. La aplicación oral proporciona una fácil administración y dosificación del compuesto.

Las composición farmacéutica de la presente invención se puede presentar como una unidad discreta adecuada para la administración oral tal como cápsulas, obleas o comprimidos, conteniendo cada uno de ellos una cantidad predeterminada del principio activo. Además, las composiciones se pueden presentar como un polvo, como gránulos, como una solución, como una suspensión en un líquido acuoso, como un líquido no acuoso, como una emulsión de aceite en agua o como una emulsión líquida de agua en aceite. Además, la composición farmacéutica se puede administrar mediante medios de liberación controlada y/o dispositivos de administración. Para las composiciones para la forma de dosificación oral, se pueden emplear medios farmacéuticos convenientes. Por ejemplo, se puede usar agua, glicoles, aceites, alcoholes, agentes aromatizantes, conservantes, agentes colorantes y similares para formar preparaciones líquidas orales tales como soluciones. Los portadores tales como almidones, azúcares, celulosa microcristalina, diluyentes, agentes de granulación, lubricantes, aglutinantes, agentes disgregantes, y similares se pueden usar para formar preparaciones sólidas orales tales como polvos, cápsulas y comprimidos. Opcionalmente, los comprimidos pueden recubrirse mediante técnicas convencionales acuosas o no acuosas.

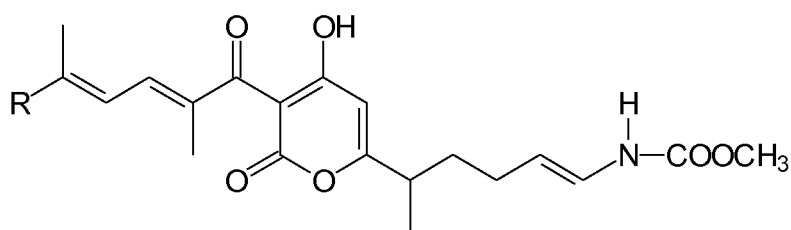
Las composiciones farmacéuticas de la presente invención adecuadas para la administración parenteral se pueden preparar como soluciones o suspensiones de los compuestos activos en agua. Se puede incluir un excipiente adecuado tal como, por ejemplo, hidroxipropilcelulosa. También pueden prepararse dispersiones en glicerol, glicoles de polietileno líquido y mezclas de los mismos en aceite.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención adecuadas para su uso inyectable incluyen soluciones o dispersiones acuosas estériles. Además, se puede incluir un conservante para evitar el crecimiento de microorganismos.

La composición de la presente invención puede estar en una forma adecuada para su uso tópico tal como, por

ejemplo, un aerosol, una crema, una pomada, una loción, un polvo de uso externo o similares. Además, las composiciones pueden estar en una forma adecuada para su uso en dispositivos transdérmicos. La composición también puede prepararse en forma de polvo o concentrado líquido.

- 5 La composición farmacéutica de la presente invención puede incluir uno o más ingredientes portadores adicionales tales como diluyentes, tampones, agentes aromatizantes, aglutinantes, agentes tensioactivos, espesantes, lubricantes, conservantes y similares. La composición farmacéutica se puede producir en condiciones estériles usando técnicas farmacéuticas convencionales bien conocidas por los expertos en la técnica.
- 10 Por tanto, un aspecto adicional de la presente invención se refiere a una composición farmacéutica en la que la composición comprende: a) un compuesto de acuerdo con la fórmula general (1) como se indica a continuación y/o racematos, enantiómeros, diastereómeros, solvatos, hidratos y sales y/o ésteres farmacéuticamente aceptables del mismo:

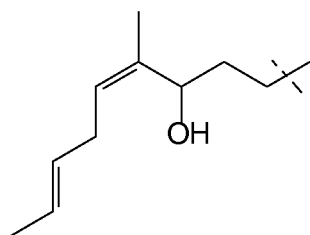


(1)

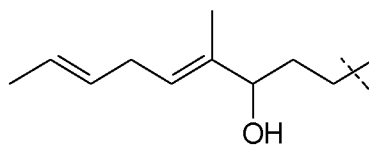
15

en la que:

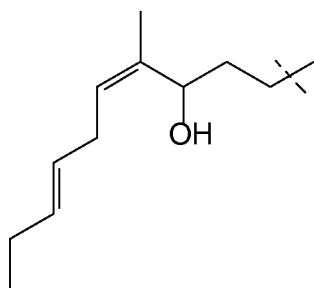
- 20 R se selecciona entre el grupo que comprende n-propilo, n-butilo y elementos estructurales (2a), (2b), (3a), (3b), (4), (5), (6a), (6b), (7a) y/o (7b) como se presenta a continuación:



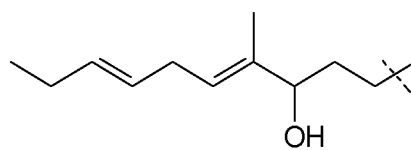
(2a)



(2b)

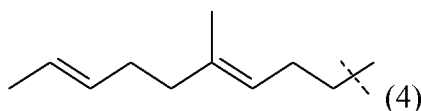


(3a)

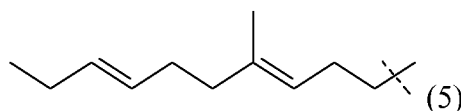


(3b)

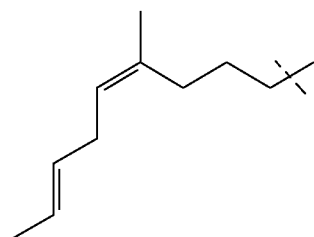
25



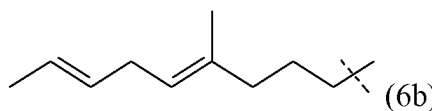
(4)



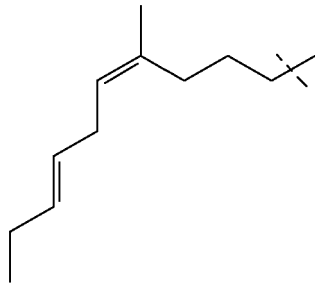
(5)



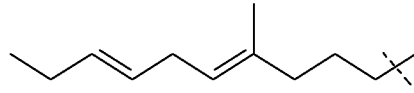
(6a)



(6b)



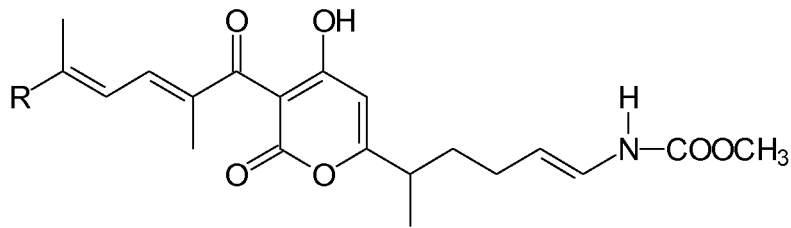
(7a)



(7b),

y b) un portador farmacéuticamente aceptable para su uso en el tratamiento terapéutico o profiláctico de la filariasis.

- 5 La presente invención también se refiere al uso de un compuesto de acuerdo con la fórmula general (1) como se indica a continuación y/o racematos, enantiómeros, diastereómeros, solvatos, hidratos y sales y/o ésteres farmacéuticamente aceptables del mismo:



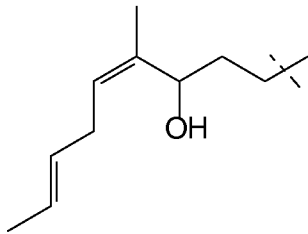
(1)

10

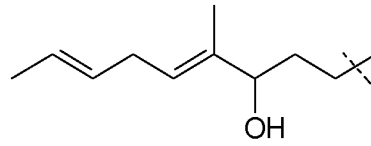
en la que:

- R se selecciona entre el grupo que comprende n-propilo, n-butilo y elementos estructurales (2a), (2b), (3a), (3b), (4), (5), (6a) (6b), (7a) y/o (7b) como se presenta a continuación:

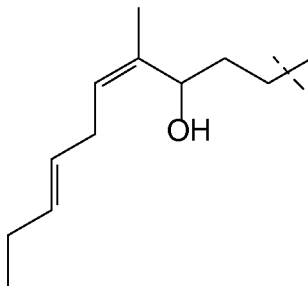
15



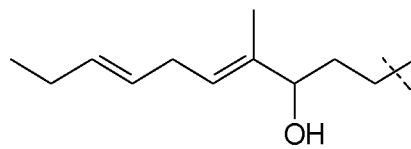
(2a)



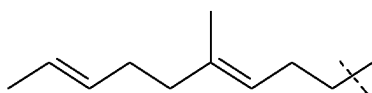
(2b)



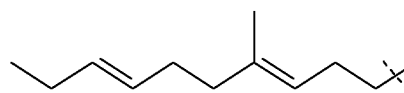
(3a)



(3b)

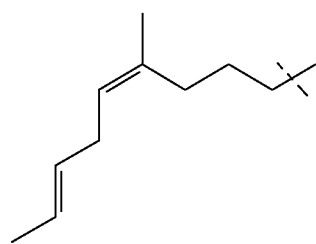


(4)

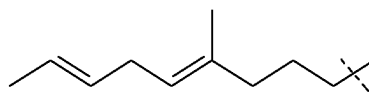


(5)

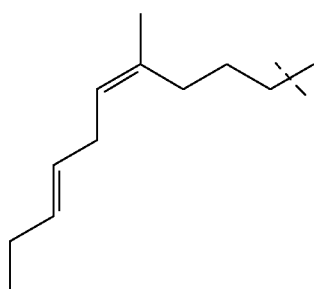
20



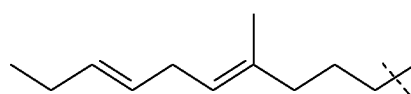
(6a)



(6b)



(7a)



(7b)

5 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento terapéutico o profiláctico de la filariasis.

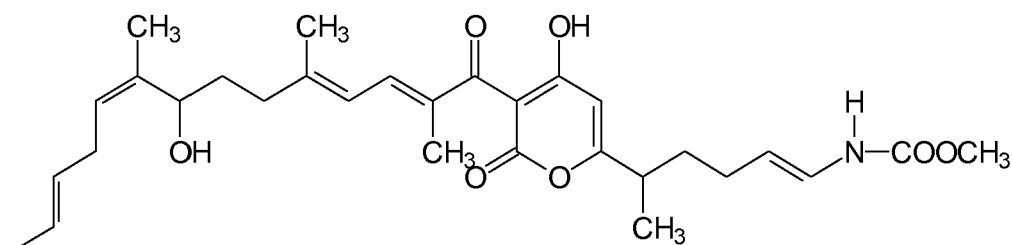
El sustituyente R puede ser n-propilo o n-butilo. En una realización preferente, el sustituyente R es n-propilo o n-butilo y el compuesto es mixopironina A o B, respectivamente. Preferentemente, el sustituyente R es el elemento estructural (2a) o (3a). En una realización preferente, el sustituyente R es el elemento estructural (2a) o (2b), o (3a) o

10

(3b) y el compuesto es coralopironina A o B, respectivamente.

En una realización preferente, el compuesto es el compuesto de acuerdo con la fórmula (8a) como se indica a continuación y/o racematos, enantiómeros, diastereómeros, solvatos, hidratos y sales y/o ésteres farmacéuticamente aceptables del mismo:

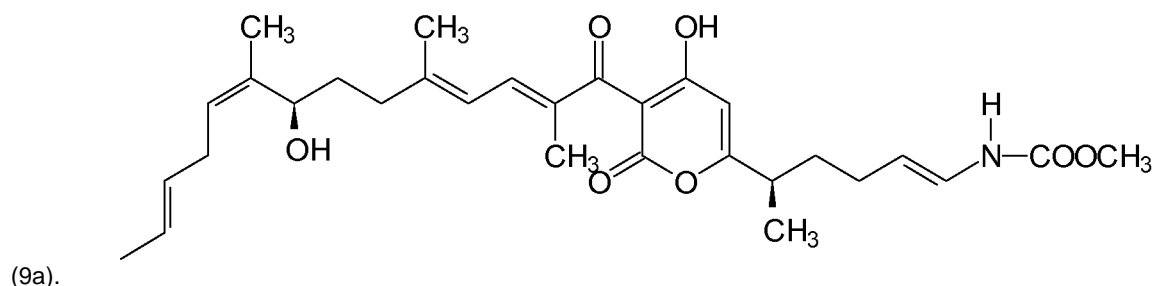
15



(8a).

En una realización muy preferente, el compuesto es el compuesto de acuerdo con la fórmula (9a) como se indica a continuación y/o solvatos, hidratos y sales y/o ésteres farmacéuticamente aceptables del mismo:

20



(9a).

25

Además, el sustituyente R puede ser un elemento estructural (4), (5), (6a), (6b), (7a) o (7b). En una realización preferente, el sustituyente R es el elemento estructural (6a) o (6b), o (7a) o (7b) y el compuesto es precoralopironina A o B, respectivamente.

30

En realizaciones preferentes, la invención se refiere al uso de un compuesto seleccionado entre el grupo que comprende coralopironina A, coralopironina B, precoralopironinas A, precoralopironinas B, mixopironina A y/o mixopironina B para la fabricación de un medicamento para el tratamiento terapéutico o profiláctico de la filariasis. En una realización muy preferente, la invención se refiere al uso de coralopironina A para la fabricación de un

medicamento para el tratamiento terapéutico o profiláctico de la filariasis.

Además, los compuestos en la composición son útiles en forma de solvatos, hidratos y sales y/o ésteres farmacéuticamente aceptables de los mismos. Preferentemente, los compuestos son útiles en forma de sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. Las sales correspondientes de los compuestos se pueden preparar de manera práctica a partir de bases no tóxicas farmacéuticamente aceptables, que incluyen bases inorgánicas y bases orgánicas. Las sales preferentes procedentes de bases inorgánicas incluyen sales de amonio, calcio, magnesio, potasio y sodio. Las sales procedentes de bases orgánicas no tóxicas farmacéuticamente aceptables incluyen sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, así como aminas cíclicas. Preferentemente, la sal farmacéuticamente aceptable se selecciona entre el grupo de sales de sodio, potasio o amonio. Se prefieren adicionalmente las sales de adición de ácido. Las sales de adición de ácido preferentes generalmente son sales de clorhidrato o hidratos de clorhidrato.

Cuando el compuesto de la presente invención es básico, se puede preparar de manera práctica su sal correspondiente a partir de ácidos no tóxicos farmacéuticamente aceptables, que incluyen ácidos inorgánicos y orgánicos. Dichos ácidos incluyen, por ejemplo, acético, bencenosulfónico, benzoico, alcanforsulfónico, cítrico, etanosulfónico, fumárico, glucónico, glutámico, bromhídrico, clorhídrico, isetiónico, láctico, maleico, málico, mandélico, metansulfónico, mícico, nítrico, pamoico, pantoténico, fosfórico, succínico, sulfúrico, tartárico, ácido p-toluenosulfónico y similares. Son particularmente preferentes los ácidos cítrico, bromhídrico, clorhídrico, maleico, fosfórico, sulfúrico, y tartárico.

Adicionalmente son útiles los ésteres farmacéuticamente aceptables de los compuestos de acuerdo con la presente invención. La expresión «éster farmacéuticamente aceptable» se refiere a ésteres preparados a partir de grupos éster no tóxicos farmacéuticamente aceptables. En una realización, los ésteres son ésteres fisiológicamente fácilmente hidrolizables tales como ésteres de alquilo, preferentemente ésteres de alquilo C1-C4.

Ejemplo 1

Cultivo y purificación de coralopironina A

El cultivo y purificación de coralopironina A se realizó como se describe en Erol O. y col., «Biosíntesis del antibiótico mixobacteriano coralopironina A», *ChemBiochem* 11: 1253-1265, 2010 con ligeras modificaciones.

En resumen, el cultivo de coralopironina A en *coralococcus coralloides* B035 (colección de cepas del instituto de biología farmacéutica de la universidad de Bonn; la cepa se aisló de una muestra de suelo) se realizó en matraces Erlenmeyer de 5 l que contenían 1,5 l de un medio de casitona (medio MD1, suplementado con glucosa al 0,2 %) con amberlita XAD-16 al 2 % (Fluka, Alemania). El medio MD1 comprende 3 g/l de casitona, 0,7 g/l de CaCl₂·2 H₂O, y 2 g/l de MgSO₄·7 H₂O. Los matraces se inocularon con 200 ml de un precultivo (cultivado durante 4 días) de las células de *coralococcus coralloides* B035 en el mismo medio y se agitaron 140 rpm en un agitador rotatorio (Multitron, Infors AG, Bottmingen, Suiza) a 30 °C durante 10-14 días. Al final del cultivo, las células bacterianas y la resina adsorbente se separaron del caldo de cultivo por centrifugación y se extrajeron con acetona (6 x 500 ml).

Después de eliminar el disolvente por evaporación, el residuo se suspendió en agua (250 ml) y se extrajo tres veces con acetato de etilo (250 ml). Las capas de acetato de etilo se combinaron y se secaron. La separación de este extracto se realizó por cromatografía en columna líquida a vacío sobre Polygoprep 60-50 RP (Macherey-Nagel) empleando consecutivamente mezclas de metanol-agua como eluyentes (gradiente de 20:80 a 100:0) para obtener 9 fracciones. El análisis espectroscópico ¹H-NMR indicó que las fracciones 6 (70:30), 7 (80:20) y 8 (90:10) contenían coralopironina A. Estas fracciones se sometieron a RP-HPLC semipreparativa (columna: Macherey-Nagel, Nucleodur Sphinx RP, 250 x 4,6 mm, 5 µm), eluyente: metanol/agua (70:30), caudal: 1,5 ml/min). Las fracciones que contenían coralopironina A se recogieron, se combinaron y posteriormente se secaron. Coralopironina A apareció como una película ligeramente amarilla con una masa de *m/z* 526 [M - H]⁻ en mediciones de espectro de masas de ionización por electropulverización de baja resolución obtenidas con un sistema Agilent 1100 con un CL/EM/EM triple cuadrupolo API 2000 (Applied Biosystems/MDS Sciex, Foster City, Canadá).

Para verificar que la coralopironina A era estable durante todo el período del experimento *in vivo*, se analizaron alícuotas de las muestras en solución salina tamponada con fosfato (PBS, PAA Laboratories, Cölbe, Alemania) que se usaron para la inyección por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Las condiciones para las ejecuciones de HPLC analítica fueron las mismas que antes. Los resultados mostraron que no se había producido degradación de coralopironina A en los días 1, 14 y 28 en comparación con la coralopironina A purificada.

Ejemplo 2

Susceptibilidad de *wolbachia* a coralopironina A *in vitro*

La actividad de la coralopironina A frente a *wolbachia* se probó *in vitro* usando la línea celular *aedes albopictus* C6/36 infectada con *wolbachia* de *a. albopictus*.

La susceptibilidad de *wolbachia* hacia coralopironina A se investigó como se ha descrito anteriormente (Henrichfreise, Schiefer y col., «Conservación funcional de la vía de biosíntesis del lípido II en las bacterias sin pared celular chlamydia y wolbachia: ¿por qué es necesario el lípido II?», (2009) Mol Microbiol, 73 (5): 913-923) con algunas modificaciones.

5 La línea celular *a. albopictus* C6/36 (colección europea de cultivos celulares) infectada con *wolbachia* de *a. albopictus* B que contenía sobrenadante como se describe en Turner y col., J Immunol 2006, 177 (2): 1240-1249 se cultivó en 96 pocillos sembrando cada pocillo con 1×10^4 células de insecto. Las células se incubaron durante 9 días a 26 °C en medio Leibovitz L15 (Invitrogen, Darmstadt, Alemania) suplementado con 5 % de suero de ternero fetal (FCS, Invitrogen), 1% de aminoácidos no esenciales (PAA Laboratories, Cölbe, Alemania), 0,59 mg/ml de caldo de triptosa fosfato (Sigma, Munich, Alemania) y 0,01 % de penicilina/estreptomocina (PAA Laboratories) con y sin 4 µg/ml de doxiciclina (Merck, Darmstadt, Alemania) y 1, 0,1 y 0,01 µg/ml de coralopironina A por duplicado. El medio fue reemplazado cada tres días. Las células tratadas se cosecharon el día 9.

15 La extracción de ADN genómico se realizó con el kit QIAamp (Qiagen, Hilden, Alemania) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El agotamiento de *wolbachia* se controló mediante PCR cuantitativa (qPCR) en tiempo real usando los cebadores 16S-rRNA-Fw (5'-TTGCTATTAGATGAGCCTATATTAG-3', SEQ ID NO: 1) y 16S-rRNA-Rev (5'-GTGTGGCTGATCATCTCT-3', SEQ ID NO: 2) que se dirigen al gen 16S-rRNA (acceso de GenBank #: X61767) de *wolbachia* y Ac-Fw (5'-ACGAACTGGGACGATATGGA-3', SEQ ID NO: 3) y Ac-Rev (5'-GCCTCTGTCAGGAGAACTGG-3', SEQ ID NO: 4) para la *actina* (acceso de GenBank #: DQ657949) de las células C6/36.

25 Las mezclas de reacción de PCR fueron 20 µl de tampón HotStar Taq 1X (Qiagen), MgCl₂ 3mM, dNTP 0,2 mM (PeqLab, Erlangen, Alemania), cebadores 16S-rRNA directo e inverso 0,5 µM o cebadores de actina directa e inversa 0,3 µM, 0,2 µl de una dilución 1:1000 en DMSO de SybrGreen (Roche, Mannheim, Alemania), 0,5 unidades de Taq polimerasa HotStar y 2 µl de gDNA. La PCR en tiempo real se realizó en un Rotor Gene 3000 (Corbett Life Science, Sydney, Australia) usando las siguientes condiciones: 95 °C durante 15 minutos seguido de 45 ciclos de 10 segundos 95 °C, 15 segundos 55 °C (16S-rRNA) o 57 °C (actina) y 20 segundos 72 °C con la señal fluorescente adquirida en el canal FAM (470 nm de excitación, 510 nm de detección). La amplificación específica se confirmó mediante un análisis de las curvas de fusión de 72 °C a 95 °C con fluorescencia adquirida en el canal FAM a intervalos de 1 °C. El número de copias de cada gen se calculó usando un plásmido que contenía el inserto adecuado como curva patrón. Para normalizar la pérdida de *wolbachia*, el número de copias de 16S-rRNA se dividió por el número de copias de actina para generar la relación 16S-rRNA/actina.

35 Se podría observar que después de nueve días de tratamiento, coralopironina A había agotado la *wolbachia* de la línea celular C6/36. La coralopironina A agotó >50 % de la *wolbachia* comenzando con 0,1 µg/ml y a 1 µg/ml había agotado *wolbachia* a niveles equivalentes a 4 µg/ml de la doxiciclina tetraciclina. Para controlar la detección de la posible toxicidad de las células C6/36, se compararon los números de copias de la actina. Todos los tratamientos que agotaron *wolbachia* no afectaron al crecimiento de las células a las concentraciones probadas.

40 Se pudo demostrar que en el ensayo de nueve días, coralopironina A agotó *wolbachia* de una forma dependiente de la dosis. Además, a 1 µg/ml, coralopironina A agotó la endobacteria de las células a niveles equivalentes a los de 4 µg/ml de doxiciclina. Por tanto, se demostró que coralopironina A era un tratamiento anti-wolbachia altamente eficaz.

45 Además, coralopironina A también tenía actividad anti-wolbachia sin efectos citotóxicos evidentes.

Ejemplo 3

Susceptibilidad de *wolbachia* a coralopironina A *in vivo*

50 El efecto de la coralopironina A *in vivo* se determinó en un modelo de roedor de ratones BALB/c infectados con el gusano filárico de roedores *litomosoides sigmodontis*, huésped de *wolbachia*. *L. sigmodontis* es un modelo bien establecido para los gusanos filáricos humanos. Una ventaja clave de este modelo es que la administración de fármacos anti-wolbachia junto con la infección por las larvas de *L. sigmodontis* permite una rápida evaluación de la actividad el día en que los gusanos se recuperan de los animales infectados. Si la terapia es un eficaz anti-wolbachia, el desarrollo de larvas será bloqueado y los gusanos de los animales tratados tendrán una longitud significativamente más corta y un fenotipo que es visible a simple vista.

60 El ciclo de vida de *L. sigmodontis* se mantuvo en el instituto de microbiología médica, inmunología y parasitología como se describe en Al-Qaoud KM y col., (1997) «Infección de ratones BALB/c con los nematodos filáricos *litomosoides sigmodontis*: papel de las células T CD4+ en el control de desarrollo de larvas», Infect Immun 65: 2457-2461.

65 Se adquirieron ratones BALB/c hembra de 6-8 semanas de edad en Charles River, Sulzfeld, Alemania. Los ratones fueron infectados con larvas de *L. sigmodontis* como se describe en Al-Qaoud KM y col. Comenzando el día después de la infección, los ratones no fueron tratados o se les administró inyecciones intraperitoneales de: dimetilsulfóxido

(DMSO) al 10 % (control del vehículo), 50 mg/kg/día de doxiciclina (Merck), o 35 mg/kg/día de coralogironina A. La doxiciclina se administró durante 14 días mientras que coralogironina A y DMSO al 10 % (control del vehículo), se administraron durante 28 días. Todas las sustancias se diluyeron en solución salina tamponada con fosfato (PBS, PAA Laboratories).

5 Para controlar la detección de la degradación a lo largo del tiempo, se congeló una alícuota de coralogironina A para el análisis HPLC en los días 1, 14 y 28. Cinco semanas después de la infección, los gusanos fueron recuperados de la cavidad pleural por lavado con PBS. Los gusanos fueron clasificados por sexo con la ayuda de un microscopio de disección y se midieron sus longitudes. Se congelaron individualmente 10 gusanos hembra de cada tratamiento para la extracción de ADN.

15 Se extrajo ADN genómico de los gusanos individuales usando los reactivos de un mini kit QIAamp (Qiagen). Se usó el protocolo de Qiagen con los siguientes cambios: los gusanos fueron incubados con proteinasa K durante una noche a 56 °C; se usaron placas de unión de ADN Wizard SV96 (Promega, Mannheim, Alemania) y un colector de distribución de vacío en lugar de columnas de ADN para unir, lavar y eluir el ADN en 50 µl de tris 10 mM, EDTA 0,5 mM, pH 9. Las placas de elución fueron selladas con plástico y se mantuvieron a -20 °C hasta su uso para qPCR.

20 El agotamiento de *wolbachia* se controló por qPCR usando los cebadores *Ls-FtsZ-Fw* (5'-CGATGAGATTATGGAACATATAA-3', SEQ ID NO: 5) y *Ls-FtsZ-Rev* (5'-TTGCAATTACTGGTGCTGC-3', SEQ ID NO: 6) y sonda de hibridación (5'-6-FAM-CAGGGATGGGTGGTGGTACTGGAA-TAMRA-3', SEQ ID NO: 7) que se dirigen a *ftsZ* (acceso de GenBank #: AJ010271), un único gen con número de copias de *wolbachia*. Las mezclas de PCR fueron un volumen de 10 µl de tampón HotStar Taq 1X (Qiagen), MgCl₂ 4,5 mM, dNTP 0,2 mM (PeqLab), sonda de hibridación 0,05 µM, 0,3 µM de cada cebador, 0,25 unidades de Taq polimerasa HotStar y 2 µl de gDNA. Las condiciones de ciclación fueron: 95 °C durante 15 minutos seguido de 35 ciclos de 94 °C durante 4 segundos, 58 °C durante 30 segundos y 72 °C durante 15 segundos con fluorescencia adquirida en el canal FAM como se describe en Arumugam S y col., Int J Parasitol 2008, 38: 981-987.

30 Para normalizar el contenido de *ftsZ* de los gusanos de diferentes longitudes, el gen de *I. sigmodontis actina* (n.º de acceso de GenBank: GU971367) se cuantificó por qPCR usando los cebadores Ac-Fw (5'-GTGCTACGTTGCTTTGGACT-3', SEQ ID NO: 8) y Ac-Rev (5'-GTAATCACTTGGCCATCAGG-3', SEQ ID NO: 9). Las mezclas de reacción de PCR fueron 10 µl de tampón HotStar Taq 1X (Qiagen), MgCl₂ 3,5 mM, dNTP 0,2 mM (PeqLab), cebadores directos e inversos 0,9 µM, 0,1 µl de una dilución 1:1000 en DMSO de SybrGreen (Roche), 0,25 unidades de Taq polimerasa HotStar y 2 µl de gDNA. La PCR en tiempo real, se realizó en un Rotor Gene 3000 (Corbett Life Science) usando las siguientes condiciones: 95 °C durante 15 minutos seguido de 35 ciclos de 10 segundos 95 °C, 20 segundos 57 °C y 20 segundos 72 °C con la señal fluorescente adquirida en el canal FAM. La amplificación específica se confirmó mediante un análisis de las curvas de fusión como antes. El número de copias de cada gen se calculó usando un plásmido que contenía el inserto adecuado como curva patrón como se describe en Strübing U y col., Int J Parasitol 2010, 40: 1193-1202.

40 La distribución normal de los datos se calculó usando la prueba de normalidad general de D'Agostino & Pearson. Para la comparación del nivel de agotamiento de *wolbachia* en gusanos, se realizó la prueba de Kruskal-Wallis con la prueba de comparación múltiple de Dunn. Para la comparación del agotamiento de *wolbachia* de las células C6/36 y la longitud de los gusanos entre los grupos de tratamiento, se realizó el ANOVA de una vía con la prueba de comparación múltiple de Bonferroni. Todas las estadísticas se calcularon usando GraphPad Prism versión 5.00 para Windows, GraphPad Software, San Diego, California, EE.UU, www.graphpad.com.

50 Se pudo observar que el tratamiento de los ratones BALB/c infectados durante 28 días con 35 mg/kg/día de coralogironina A dio como resultado el agotamiento de > 99 % de *wolbachia* en comparación con el control. El control del vehículo no tuvo efecto sobre el contenido de *wolbachia* de los gusanos.

55 Como resultado del agotamiento de *wolbachia* por tratamiento de doxiciclina durante 14 días, los gusanos fueron significativamente más cortos (8,3 mm de media) en comparación con los no tratados (38 mm) o los controles del vehículo (34 mm). Coralogironina A administrada durante 28 días a 35 mg/kg/día también dio como resultado gusanos significativamente más cortos en comparación con los gusanos del control (9 mm frente a 38 mm, respectivamente), lo que indica de nuevo que esta posología era equivalente al tiempo de tratamiento más corto con una mayor dosis de doxiciclina. Además, coralogironina A podía atravesar las muchas barreras de la membrana de la célula huésped cortical, las membranas de la vesícula y la membrana de la endobacteria que separa la endobacteria de la cavidad pleural, donde las larvas se localizan en los ratones.

60 Usando el modelo *I. sigmodontis*, se observó que *wolbachia* se agotaba de los gusanos a niveles por debajo de los observados para la doxiciclina a 50 mg/kg/día durante 14 días cuando se administraba a 35 mg/kg/día durante 28 días.

65 El tratamiento de coralogironina A de ratones infectados junto con la infección también dio como resultado gusanos significativamente más cortos. Coralogironina A era bien tolerada por los ratones a la dosificación de 35 mg/kg/día usada y no hubo efectos tóxicos visualmente evidentes.

Además, los resultados *in vivo* confirmaron que la biodisponibilidad de los compuestos en el ratón es suficiente para alcanzar el objetivo endobacteriano a pesar de las muchas barreras físicas entre el líquido de la cavidad pleural que es el sitio de los gusanos *I. sigmodontis* adultos y la *wolbachia*, que están contenidos dentro de las vesículas intracelulares. Este último punto es biológicamente importante ya que los resultados *in vivo* han demostrado actividad antibacteriana de coralopironina contra una bacteria intracelular.

LISTADO DE SECUENCIAS

10 <110> Universidad Rheinische Friedrich-Wilhelms Universitat de Bonn
 <120> Compuestos para su uso en el tratamiento de la filariasis
 <130> UD 40386/SAM

15 <150> EP11164963
 <151> 05-05-2011
 <160> 9

20 <170> PatentIn version 3.5
 <210> 1
 <211> 25
 <212> ADN
 25 <213> Artificial
 <220>
 <223> cebador

30 <400> 1
 ttgctattag atgagcctat attag 25
 <210> 2
 <211> 19
 35 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 <223> cebador

40 <400> 2
 gtgtggctga tcatcctct 19
 <210> 3
 <211> 20
 45 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 <223> cebador

50 <400> 3
 acgaactggg acgatatgga 20
 <210> 4
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Artificial

60 <220>
 <223> cebador
 <400> 4
 gcctctgtca ggagaactgg 20
 65 <210> 5

<211> 23
 <212> ADN
 <213> Artificial

5

<220>
 <223> cebador

<400> 5
 cgatgagatt atggaacata taa 23

10

<210> 6
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Artificial

15

<220>
 <223> cebador

<400> 6
 ttgcaattac tgggtgctgc 19

20

<210> 7
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Artificial

25

<220>
 <223> sonda de hibridación

30

<400> 7
 cagggatggg tgggtgtact ggaa 24

35

<210> 8
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Artificial

40

<220>
 <223> cebador

<400> 8
 gtgctacgtt gctttggact 20

45

<210> 9
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Artificial

50

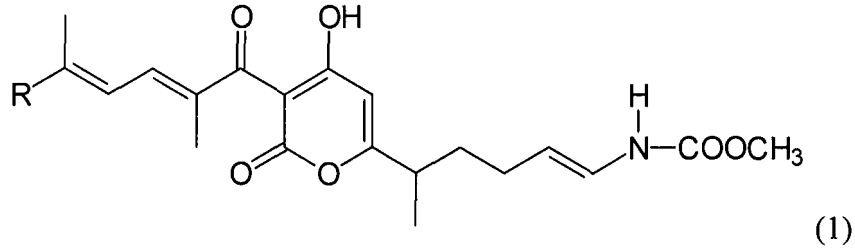
<220>
 <223> cebador

<400> 9
 gtaatcactt ggccatcagg 20

REIVINDICACIONES

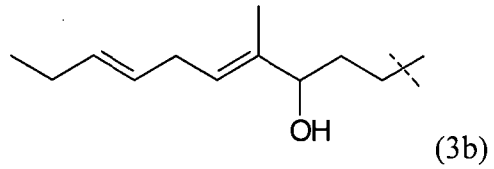
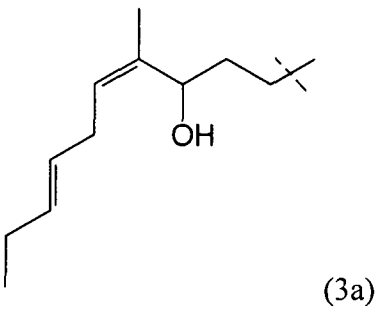
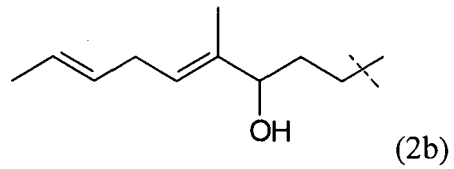
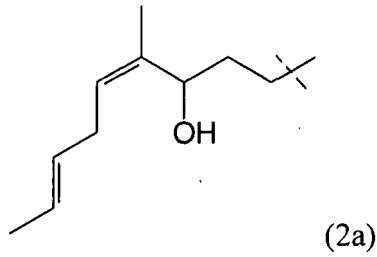
1. Un compuesto de acuerdo con la fórmula general (1) como se indica a continuación y/o racematos, enantiómeros, diastereómeros, solvatos, hidratos y sales y/o ésteres farmacéuticamente aceptables del mismo:

5

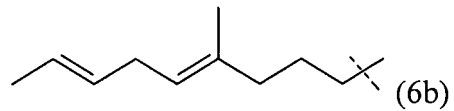
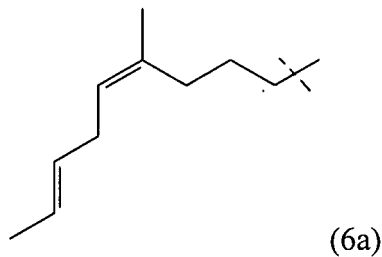
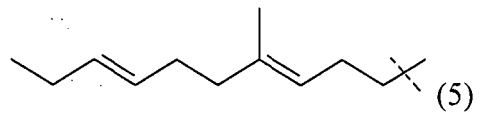
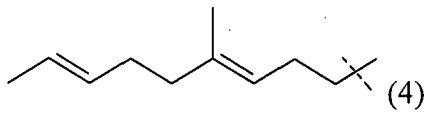


en la que:

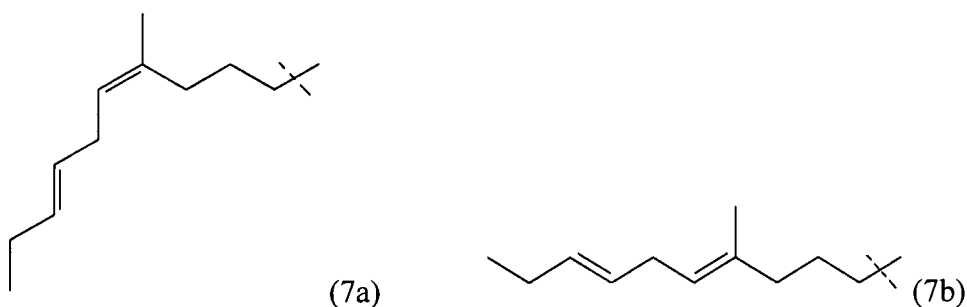
10 R se selecciona entre el grupo que comprende n-propilo, n-butilo y elementos estructurales (2a), (2b), (3a), (3b), (4), (5), (6a), (6b), (7a) y/o (7b) como se dan a continuación:



15

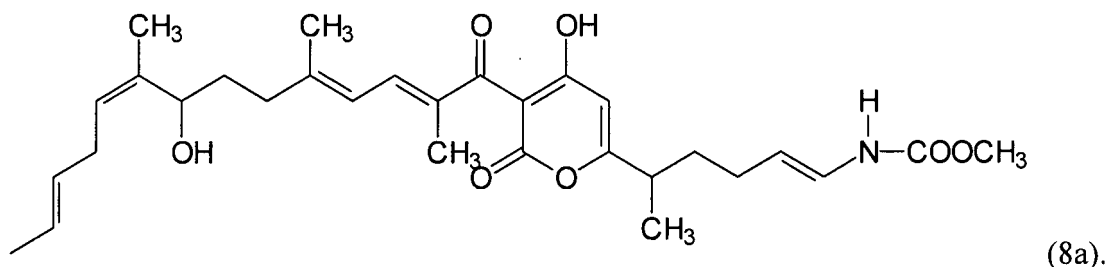


20

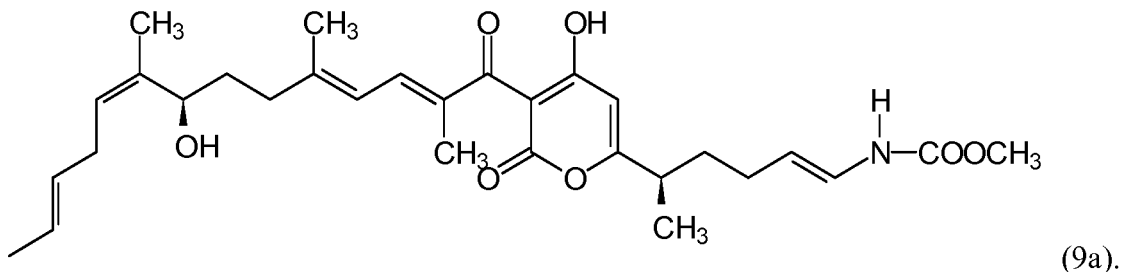


para su uso en el tratamiento terapéutico o profiláctico de la filariasis.

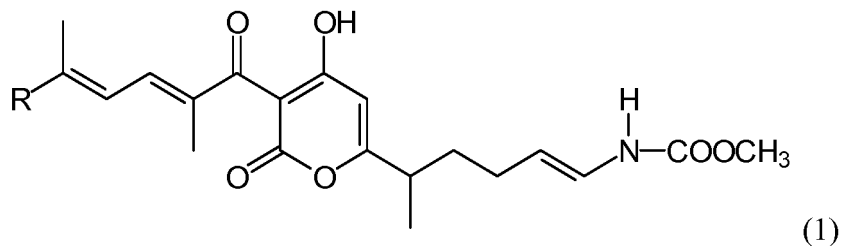
- 5 2. El compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizado por que** el compuesto es el compuesto de acuerdo con la fórmula (8a) como se indica a continuación y/o racematos, enantiómeros, diastereómeros, solvatos, hidratos y sales y/o ésteres farmacéuticamente aceptables del mismo:



- 10 3. El compuesto para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, **caracterizado por que** el compuesto es el compuesto de acuerdo con la fórmula (9a) como se indica a continuación y/o solvatos, hidratos y sales y/o ésteres farmacéuticamente aceptables del mismo:



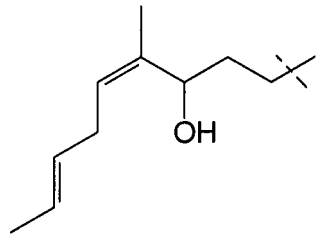
- 15 4. El compuesto para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por que** la filariasis se selecciona del grupo que comprende filariasis linfática y oncocercosis.
- 20 5. El compuesto para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por que** la filariasis es dirofilariasis.
- 25 6. Una composición farmacéutica que comprende como principio activo un compuesto de acuerdo con la fórmula general (1) como se indica a continuación y/o racematos, enantiómeros, diastereómeros, solvatos, hidratos y sales y/o ésteres farmacéuticamente aceptables del mismo:



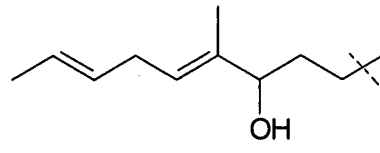
en la que:

- 30 R se selecciona entre el grupo que comprende n-propilo, n-butilo y elementos estructurales (2a), (2b), (3a), (3b),

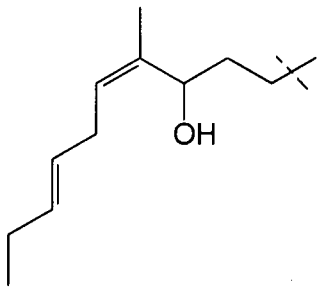
(4), (5), (6a), (6b), (7a) y/o (7b) como se dan a continuación:



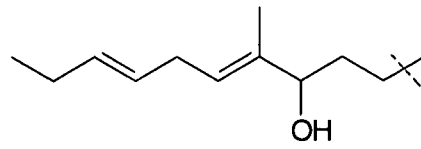
(2a)



(2b)

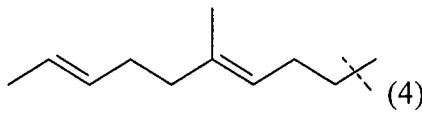


(3a)

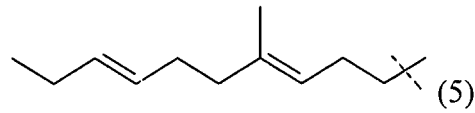


(3b)

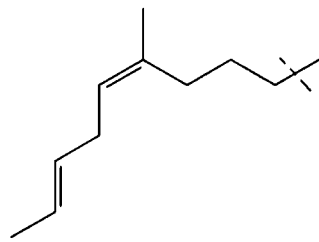
5



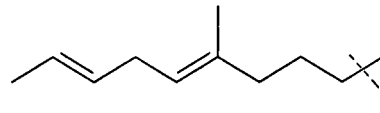
(4)



(5)

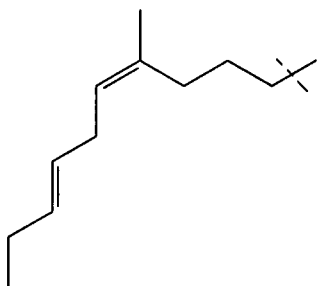


(6a)

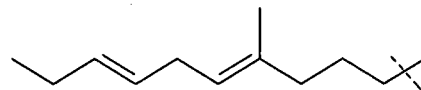


(6b)

10



(7a)



(7b)

para su uso en el tratamiento terapéutico o profiláctico de la filariasis.

15 7. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 6, **caracterizada por que** la composición está formulada para aplicación oral, subcutánea o intravenosa.