



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 333 889**

51 Int. Cl.:
A61K 31/455 (2006.01)
A61P 33/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **05772459 .3**
96 Fecha de presentación : **15.07.2005**
97 Número de publicación de la solicitud: **1768669**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **04.04.2007**

54 Título: **Composiciones farmacéuticas para el tratamiento de la leishmaniasis.**

30 Prioridad: **19.07.2004 US 588802 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
02.03.2010

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
02.03.2010

73 Titular/es: **Institut de Recherche pour le
Développement (IRD)
213, rue La Fayette
75480 Paris Cedex 10, FR**

72 Inventor/es: **Ouaissi, Ali;
Sereno, Denis y
Vergnes, Baptiste**

74 Agente: **Curell Suñol, Marcelino**

ES 2 333 889 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

Composiciones farmacéuticas para el tratamiento de la leishmaniasis.

5 Los protozoos que pertenecen a la familia de los *Tripanosomátidos* explican (o son responsables) de numerosas patologías que afectan al hombre o a los animales.

Así, entre los protozoos del género *Trypanosoma*, *T. brucei* y *T. cruzi* son, por ejemplo, los agentes etiológicos de la enfermedad del sueño y de la de Chagas.

10 Los protozoos del género *Leishmania*, tales como *L. aethiopica*, *L. donovani*, *L. infantum*, *L. major*, *L. mexicana* o *L. tropica*, son responsables de la leishmaniasis (también denominadas leishmaniosis). Las infecciones por estos parásitos son endémicas en más de 88 países. La WHO estima que más de 12 millones de individuos están infectados por estos parásitos y más de 350 millones se expondrán diariamente a las infecciones. Están documentadas tres formas principales de leishmaniosis, entre las cuales la forma más peligrosa, la leishmaniosis visceral, puede tener un resultado letal en ausencia de tratamiento. Esta situación ha empeorado desde la aparición del VIH, porque estas infecciones se encuentran más frecuentemente como infecciones oportunistas en individuos que están afectados por el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), en particular en el Sudoeste europeo. Los parásitos se benefician del estado de inmunodeficiencia del huésped para establecerse ellos mismos o para reactivarse.

20 Los tratamientos habituales se basan en medicamentos que son difíciles de manejar, tales como la anfotericina B o medicamentos que pertenecen a la familia del antimonio, que presentan efectos secundarios graves.

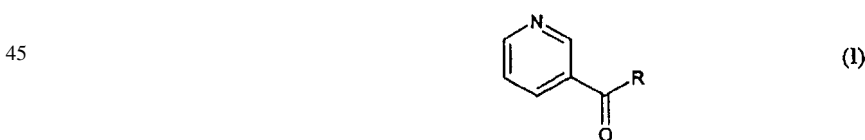
25 La niacina es el nombre genérico para 2 compuestos: la nicotinamida (NAm) y el ácido nicotínico. Ambos se utilizaron clínicamente por vez primera en 1937, cuando cada uno de estos mostró que actuaba como un factor “preventivo de la pelagra”. Altas dosis de NAm y de su derivado ácido nicotínico, se utilizan a menudo indistintamente para tratar distintas situaciones que incluyen la ansiedad, osteoartritis, y psicosis. Además, la NAm se encuentra habitualmente en ensayos terapéuticos para prevenir la recaída en el cáncer y en la diabetes insulino-dependiente (Tipo I) (4). A causa de esto, la actividad de NAm se ha evaluado en estudios de *antimycobacterium tuberculosis* llevados a cabo durante 1945-1961 y en estudios antiVIH llevados a cabo desde 1991 hasta ahora (revisados en 7).

30 Shemarova *et al* (Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal, vol 324, n° 7, julio de 2000, págs 13-15) da a conocer la eficacia antiparasitaria del ácido nicotínico.

35 La solicitud de patente WO 00/78268 da a conocer la utilización de nicotinamida en el tratamiento de la malaria.

Un objetivo de la presente invención consiste en proporcionar nuevos medicamentos que eviten los inconvenientes de los medicamentos que se utilizan habitualmente, para el tratamiento de las enfermedades parasitarias protozoarias relacionadas con la familia *Tripanosomátidos* tal como la leishmaniosis.

40 La presente invención se refiere a la utilización de por lo menos un compuesto de la fórmula general (I) siguiente:



50 en la que R representa OH o NH₂,

o de las sales farmacéuticamente aceptables de dicho compuesto,

55 para preparar un medicamento con el fin de prevenir o tratar las enfermedades parasitarias relacionadas con la familia de los *Tripanosomátidos*, en particular del género *Trypanosoma* o del género *Leishmania* bajo sus formas intra o extracelulares respectivas, más particularmente de la leishmaniosis, y especialmente para la prevención o el tratamiento de enfermedades parasitarias relacionadas con la familia de los *Tripanosomátidos* que se presentan en los pacientes inmunodeprimidos.

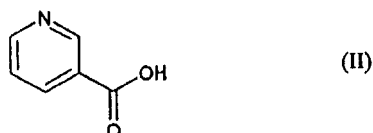
60 La expresión “parásitos” se refiere a organismos eucarióticos unicelulares que pueden infectar mamíferos y sobrevivir y/o multiplicarse en el mamífero infectado.

65 En el contexto de la presente memoria, la expresión “enfermedades parasitarias” se refiere a enfermedades causadas por parásitos como los definidos anteriormente.

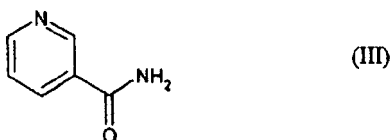
ES 2 333 889 T3

Ventajosamente, se expone la posibilidad de utilizar los compuestos de la fórmula (I) para la prevención o el tratamiento de las enfermedades parasitarias, ya que numerosos estudios de biodisponibilidad han evaluado que podrán alcanzarse altas concentraciones plasmáticas de estos compuestos, por ejemplo, 2,3 mM, sin efectos secundarios graves.

En una forma de realización de la utilización definida anteriormente de un compuesto de la fórmula (I), R representa OH, correspondiendo dicho compuesto a la niacina (vitamina B3) de la siguiente fórmula (II):



En otra forma de realización preferida de la utilización definida anteriormente de un compuesto de fórmula (I), R representa NH₂, correspondiendo dicho compuesto a nicotinamida, de la fórmula (III) siguiente:



Según otra forma de realización preferida de la utilización definida anteriormente, el medicamento es apropiado para una administración del compuesto de fórmula (I) por vía oral, intravenosa, tópica o intralesional.

Tal como se desea, en la presente memoria “intralesional” significa que el medicamento es apropiado para administrarse en los sitios de las lesiones dérmicas de los pacientes causadas por el parásito, en particular en el caso de las infecciones por *Leishmania*.

Según una forma de realización particularmente preferida de la utilización definida anteriormente, el medicamento es apropiado para una administración del compuesto de fórmula (I) a una dosis unitaria de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 10 g, en particular de aproximadamente 1 g a aproximadamente 6 g.

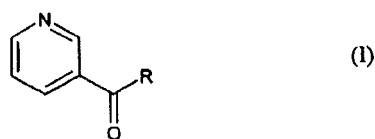
Según otra forma de realización particularmente preferida de la utilización definida anteriormente, el medicamento es apropiado para una administración del compuesto de fórmula (I) a una dosis de aproximadamente 5 mg/m²/día a aproximadamente 5 g/m²/día, en particular de aproximadamente 500 mg/m²/día a aproximadamente 3 g/m²/día.

En otra forma de realización preferida de la utilización definida anteriormente, el compuesto de la fórmula (I), asociado, por lo menos a un compuesto antiparasitario, tal como un compuesto seleccionado de entre: miltefosina, antimoniales, anfotericina B, benznidazol, nifurtimox, paromomicina, pentamidina y sus derivados, derivados del arsénico, melarsopol y difluorometilornitina.

Ventajosamente, la asociación de un compuesto de fórmula (I) con un compuesto antiparasitario posee efectos aditivos o sinérgicos que permiten una disminución en la administración de dicho compuesto antiparasitario, y por tanto, efectos secundarios disminuidos.

La presente invención se refiere, asimismo, a una composición farmacéutica que comprende como sustancias activas:

- por lo menos, un compuesto de la fórmula general (I) siguiente:



en la que R representa NH₂,

o de las sales farmacéuticamente aceptables de dicho compuesto, y

- antimoniales,
- en asociación con un portador farmacéuticamente aceptable.

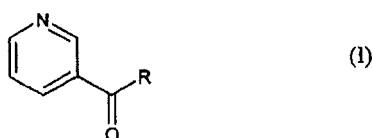
5 Según una forma de realización preferida, la composición farmacéutica definida anteriormente es apropiada para una administración por vía oral, intravenosa, tópica o intralesional.

10 Según otra forma de realización preferida, la composición farmacéutica definida anteriormente es apropiada para la administración del compuesto de fórmula (I) a una dosis unitaria de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 10 g, en particular de aproximadamente 1 g a aproximadamente 6 g.

15 Según todavía otra forma de realización preferida, la composición farmacéutica anteriormente definida es apropiada para la administración del compuesto de fórmula (I) a una dosis de aproximadamente 5 mg/m²/día a aproximadamente 5 g/m²/día, en particular de aproximadamente 500 mg/m²/día a aproximadamente 3 g/m²/día.

La presente invención se refiere asimismo a productos que contienen:

- por lo menos, un compuesto de la siguiente fórmula general (I):



25 en la que R representa NH₂,

o las sales farmacéuticamente aceptables de dicho compuesto, asociadas con

- por lo menos un compuesto antiparasitario, tal como un compuesto seleccionado de entre: antimoniales,

30 como una preparación combinada para una utilización simultánea, separada o secuencial en la prevención o el tratamiento de enfermedades parasitarias, relacionadas con la familia de los *Trypanosomatidos*, en particular el género *Leishmania* o el género *Trypanosoma* bajo sus formas intracelular o extracelular respectivas, más particularmente de leishmaniosis, y especialmente para la prevención o el tratamiento de enfermedades parasitarias que se presentan en pacientes inmunodeprimidos.

Descripción de las figuras

40 Figura 1A, Figura 1B, Figura 1C y Figura 1D

La Figura 1A representa el número promedio de leishmania viables en el estadio promastigote (eje vertical, x 10⁶/ml) como una función del tiempo (eje horizontal, días), sin presencia de nicotinamida (NAm) (control, círculos blancos), o en presencia de ella (10 mM NAm, círculos grises) o (20 mM NAm (círculos negros).

45 La Figura 1B representa el número promedio de leishmania amastigotes viables que se desarrollaron axénicamente (eje vertical, x 10⁶/ml) como una función del tiempo (eje horizontal, días), sin la presencia de nicotinamida (NAm) (control, cuadrados blancos), o en presencia de ella 10 mM NAm, (cuadrados grises) o 20 mM Nam (cuadrados negros).

50 La Figura 1C representa el número promedio de amastigotes YOPRO-1-positivos que se desarrollaron axénicamente (es decir, células apoptóticas) (eje vertical), como una función del tiempo (eje horizontal, días), en presencia de 25 mM Nam (cuadrados), 50 mM Nam (rombos), o 100 mM Nam (círculos). Los resultados se expresan como promedio de un experimento por triplicado.

55 La Figura 1D representa el índice parasitario (eje vertical) como función de la concentración de NAm (eje horizontal, mM). Los resultados representan un experimento con respecto a dos experimentos séxtuples que se llevaron a cabo (un asterisco (*) corresponde a P<0,05, dos asteriscos (**) corresponde a P<0,005 y tres asteriscos (***) corresponde a P< 0,001).

Figura 2A y Figura 2B

65 La Figura 2A representa la actividad deacetilasa dependiente del NAD de la enzima SIRT31 que se expresa como la relación de la fluorescencia a 355 nm con respecto a la fluorescencia a 460 nm (F355/F460) (eje vertical, contajes) para (desde la izquierda a la derecha) un ensayo de control sin NAD (primer histograma), un ensayo de control con NAD (segundo histograma), un ensayo con 5 mM NAm (tercer histograma), un ensayo con 20 mM NAm (cuarto

histograma), un ensayo con 5 mM NAc (quinto histograma), un ensayo con 20 mM NAc (sexto histograma) y un ensayo de control (séptimo histograma).

La Figura 2B representa la actividad deacetilasa dependiente de NAD detectada en leishmanias, expresada como la relación de la fluorescencia relativa a 355 nm con respecto a la fluorescencia a 460 nm (F355/F460) (eje vertical, contajes), para las leishmanias portadoras de un plásmido pTEX vacío (primer histograma), las leishmanias portadoras de un plásmido que expresa LmSIR2 (pTEX-LmSIR2) en presencia de 5 mM MAm, y las leishmanias portadoras de un plásmido que expresa LMSIR2 (pTEX-LmSIR2) (segundo histograma), leishmanias portadoras de un plásmido que expresa LmSIR2 (pTEX-LmSIR2) en presencia de 50 μ M pentamidina. Los resultados son proporcionados como promedio de dos experimentos duplicados.

Figura 3A y Figura 3B

La Figura 3A representa el porcentaje de inhibición del crecimiento (eje vertical) como función de la concentración de NAM (eje horizontal, mM) para las leishmanias de tipo salvaje (WT) (histograma negro), leishmanias portadoras de un plásmido pTEX-LmSIR2 (histograma rayado verticalmente) o leishmanias portadoras de un plásmido pTEX de control (histograma rayado horizontalmente).

La Figura 3B representa el porcentaje de células YOPRO-1 positivas (eje vertical) como función de la concentración de NAM (eje horizontal, mM) para las leishmanias de tipo salvaje (WT) (histograma negro), o para las leishmanias portadoras de un plásmido pTEX-LmSIR2 (histograma rayado verticalmente). Los resultados se expresan como valor promedio de un experimento cuadrúpulo.

Ejemplos

Ejemplo 1

El crecimiento de los amastigotes y promastigotes de *Leishmania* se siguió en condiciones de cultivo axénico, en presencia o ausencia de NAM.

En todos los experimentos, se utilizó una progenie clonada de *L. infantum* (MHOM/MA/67/ITMAP-263). Cada subcultivo se inició con 5×10^5 parásitos/ml de medio. Formas amastigóticas de *L. infantum*, que se desarrollaron axénicamente, se conservaron a 37°C con CO₂ al 5% mediante subpases semanales en un medio acelular denominado MAA/20 (medio para los amastigotes que crecen axénicamente) en matraces de 25 ml, tal como se ha descrito anteriormente (10). Las formas promastigotas se mantuvieron a 26°C mediante subpases semanales en medio SDM 79 suplementado con suero fetal de vaca (FCS) al 10% y 100 unidades/ml de penicilina y 100 μ g/ml de estreptomycin. Se añadió Nicotinamida (SIGMA, St. Louis) a la concentración apropiada y se determinó el número promedio de parásitos viables utilizando el análisis FACs, tal como se ha descrito previamente (11).

Tal como se muestra en las Figuras 1A y 1B, NAM inhibió intensamente la proliferación tanto de los promastigotes como de los amastigotes, con formas promastigóticas que mostraban menos sensibilidad a NAM que las amastigóticas. Con 20 mM NAM, la capacidad de los amastigotes axénicos para proliferar se abrogó completamente de forma virtual, mientras que tenía lugar un retraso en el crecimiento de los promastigotas. La actividad inhibidora del crecimiento de la nicotinamida no se limitó a *L. infantum*, ya que se encontró que también los amastigotes de *L. amazonensis* era sensibles a la actividad de NAM. Además, se encontró que el derivado ácido de NAM, el ácido nicotínico (Nico-tAc o NAc), ejerció una actividad inhibidora del crecimiento con respecto a los parásitos de *Leishmania*, aunque a concentraciones más altas.

Ejemplo 2

Se investigó entonces la naturaleza de la detención del crecimiento de los amastigotes, inducida por NAM.

Se sembraron células a razón de 5×10^5 parásitos/ml y se añadió NAM a diversas concentraciones comprendidas entre 25 y 100 mM. Después de 24, 48 y 72 horas de incubación, se recuperaron alícuotas (10^5 parásitos), se lavaron y se incubaron durante 10 minutos con 10 μ M de YOPRO-1, un marcador de células apoptóticas (sondas Molecular-Probes). El porcentaje promedio de las células YOPRO-1 positivas se determinó tal como se ha descrito anteriormente (9). A concentraciones mayores que 25 mM, NAM ejerció una más intensa actividad leishmanicida dependiente de la dosis contra los amastigotes axénicos, tal como se demostró por la existencia de células YOPRO-1 positivas. El efecto máximo se observó después de 3 días de cultivo en presencia de 100 mM de NAM (Figura 1C).

Habiendo observado que NAM indujo la muerte de los amastigotes axénicos, fue interesante examinar su efecto en la proliferación intracelular de los amastigotes.

En una primera serie de experimentos, se incubaron monocitos THP-1 durante 3 días con varias concentraciones de NAM, registrándose el crecimiento y viabilidad de las células. Hasta 10 mM de NAM, no se observó efecto sobre el

ES 2 333 889 T3

crecimiento celular y la viabilidad. Contrariamente a esto, 20 mM NAM inhibieron la proliferación de los monocitos THP-1 en un 45% aproximadamente, de acuerdo con los valores registrados para otros tipos celulares: células SupT1 y PBLs (6).

5 Entonces, macrófagos THP-1 diferenciados se infectaron con amastigotes de fase estacionaria con una relación célula huésped-parásito de 5:1. Después de 4 horas, se eliminaron los parásitos no adherentes y se añadió nicotinamida al medio a la concentración apropiada. Después de 3 días de tiempo de incubación, se fijaron las células con metanol y se tiñeron con Giemsa. Se determinó el índice parasitario PI (porcentaje promedio de los macrófagos infectados X el número de amastigotes por macrófago). Tal como se muestra en la Figura 1D, NAM inhibió significativamente la proliferación *in vitro* de los amastigotes intracelulares. Se observó la máxima actividad con 10 mM de NAM. Con esta concentración, se observó una reducción de casi el 70 % del PI. De forma interesante, con una dosis baja de 2,5 mM, NAM puede también inhibir significativamente la proliferación intracelular de amastigotes, cuando se compara con los cultivos no tratados de control ($p < 0,05$).

15 Ejemplo 3

Se ha demostrado recientemente que NAM es un sustrato *in vitro* de enzimas de tipo sir2 (5). Entonces, se llevaron a cabo experimentos complementarios para examinar si NAM podría interferir *in vitro* con la actividad deacetilasa de *Leishmania*. Para ensayar esta posibilidad, se utilizaron un “equipo de ensayo cyclex SIR2” comercializado y SIRT1 con una enzima estándar (MBL, Japón).

Tal como se muestra en la Figura 2A, la actividad deacetilasa de SIRT1 depende estrictamente de la presencia de NAD, estando casi completamente abrogada la actividad enzimática de SIRT1 por la adición de 5 mM o 20 mM NAM. Al contrario de esto, 5 mM de NicotAc no tuvieron un efecto significativo, de acuerdo con los datos proporcionados por otros investigadores (2), mientras que 20 mM de NicotAc mostró un efecto significativo.

Habiendo establecido un ensayo inhibitorio estándar, se examinó entonces el efecto de NAM sobre la actividad deacetilasa dependiente de NAD contenida en los extractos de *Leishmania*, a partir de los parásitos mutantes portadores de copias extra del gen LmSIR2 (pTEX-LmSIR2) en el ADN plasmídico vacío (pTEX) (11).

Brevemente, se recuperaron 2×10^5 parásitos y se lavaron dos veces con PBS 0,01M, pH 7,2, y se incubaron en una solución lítica (100 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, NP40 al 1%, 5 μ M Tricostatina A, pH 8,8), centrifugándose entonces las células durante 20 minutos a 10.000 rpm a 4°C. Se midió la actividad de acetilasa en presencia o ausencia de 200 μ M NAD. Los resultados se expresan como contajes relativos $F355/F460 = \text{contajes } F355/F460$ en presencia de NAD - contajes $F355/F460$ en ausencia de NAD. Esto permitió discriminar entre la fluorescencia debida a la acción de LmSIR2 y la fluorescencia debida a la presencia de compuestos que podrían interferir con el ensayo. Tal como se muestra en la Figura 2B, los parásitos que sobreexpresan LmSIR2 presentaban más actividad deacetilasa dependiente del NAD que los parásitos que transportaban el vector pTEX vacío. 5 mM de NAM inhibieron significativamente la actividad deacetilasa dependiente del NAD detectada en los parásitos que sobreexpresan LmSIR2 (Figura 2B).

45 Ejemplo 4

En las levaduras y *C. elegans*, SIR2 constituye un componente limitante de la longevidad (revisado en 3) y NAM puede acelerar el envejecimiento de las levaduras inhibiendo SIR2 *in vivo* (2). En el parásito protozoo *L. infantum*, los amastigotes que transportaban extracopias del gen *LmSIR2* (*LiSIR2*), cuando se mantuvieron bajo condiciones normales del cultivo axénico, mostraron un sorprendente aumento en la supervivencia debido a una inherente resistencia a la muerte de tipo apoptótico, conduciendo a una fase estacionaria de crecimiento más larga (11).

Para examinar posteriormente la posible correlación entre el nivel de expresión de SIR2 y la sensibilidad/resistencia a la muerte de los amastigotes de *Leishmania* inducida por NAM, se añadió NAM a cultivos de los amastigotes del mutante *L. infantum* que sobreexpresa LmSIR2 o transporta el plásmido pTEX vacío como control.

Tal como se muestra en las Figuras 3A y 3B, la adición de copias extra de LmSIR2 a los amastigotes no confirió resistencia significativa a la muerte inducida por NAM. Así, incluso si la actividad deacetilasa de LmSIR2, dependiente de NAD, es inhibida fácilmente por NAM, y LmSIR2 juega un papel en la supervivencia de los amastigotes de *Leishmania*, representará sólo una de las dianas de la detención del crecimiento de las células mediada por NAM.

El mecanismo microbicida de la acción de NAM no es habitualmente conocido. Su actividad puede llegar a entenderse como la de un antimicrobiano indirecto que presenta principalmente un efecto prohuésped. Entre las razones existentes para sugerir un efecto, están los informes bibliográficos que hablan de un papel inmunomodulador para la nicotinamida en una amplia variedad de sistemas experimentales (8,7). Además, el efecto antioxidante y crioprotector de NAM está bien documentado (12).

Así, la presente invención representa el primer informe que muestra la actividad antiparasitaria de NAM. Además, aunque NAM podría inhibir la actividad deacetilasa dependiente del NAD de las enzimas de tipo SIR2, su principal

diana en *Leishmania* parece no ser LmSIR2. De hecho, *Leishmania* posee otros dos elementos relacionados con SIR2 cuya función y localización son desconocidos habitualmente. La implicación de esta familia de proteínas en la supervivencia de los parásitos de *Leishmania*, tiene que investigarse. Puede emitirse la hipótesis de que uno o todos ellos son esenciales para la supervivencia del parásito, y que su inhibición conduce a la muerte del parásito. Alternativamente, otras funciones fisiológicas esenciales constituirían dianas para NAM. Las concentraciones de NAM y ácido nicotínico que se encontró inhibían el crecimiento intracelular de *Leishmania infantum* (IC50 inferior a 2,5 mM) eran más altas que las encontradas en la sangre entera (de aproximadamente 45 μ M), pero más próximas a la concentración plasmática de la nicotinamida que puede obtenerse (0,7 a 2,3 mM) en los pacientes tratados con radioterapia acelerada para el cáncer de cabeza y cuello (1).

En conclusión, la nicotinamida es un agente barato y disponible oralmente sin efectos secundarios significativos. Ya que la nicotinamida y sus derivados constituyen componentes potencialmente beneficiosos, la leishmaniasis se beneficiará de la utilización terapéutica de dichos componentes, en combinación, opcionalmente, con medicamentos antiparasitarios.

Referencias

1. **Bernier J., M.R.L. Strztford, J Deneckamp, M.F. Dennis, S. Bieri, F. Haven, O Kocagöncü, M. Bolla y A. Rojas.** 1998. Pharmacokinetics of nicotinamide in cancer patients treated with accelerated radiotherapy: the experience of the Co-operative group of radiotherapy of the european organization for researc and treatment of cancer. *Radiation & Oncology*. 48: 123-133.

2. **Bitterman K.J., R.M. Anderson, H.Y. Cohen, M. Latorre-Esteves y D.A. Sinclair.** 2002. Inhibition of silencing and accelerated aging by nicotinamide, a putative negative regulator of yeast sir2 and human SIRT1. *J Biol Chem*. 277: 45099-107.

3. **Imai S., F.B. Joohton, R.A. Marciniak, M. McVey, P.U. Park y L. Garante.** 2000. Sir2: an NAD-dependent histone deacetylase that connects chromatin silencing, metabolism, and aging. *Cold. Spring. Harb. Symp. Quant. Biol*. 65:297-302.

4. **Kaanders JH., L.A. Pop, H.A. Marres, I. Bruaset, F.J. van den Hoogen, M.A. Merckx y A.J. van der Kogel.** 2002. ARCON: experience in 215 patients with advanced head-and-neck cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 52: 769-78.

5. **Landry J., A. Sutton, S.T. Tafrov, R.C. Heller, J. Stebbins, L. Pillus y R. Sternglanz.** 2000. The silencing protein SIR2 and its homologs are NAD-dependent protein deacetylases. *Proc Natl Acad USA*. 97: 5807-5811.

6. **Murray M.F y A Srinivasan.** 1995. Nicotinamide inhibits VIH-1 in both acute and chronic in vitro infection. *Biochem Biophys Res Commun*. 210: 954-9.

7. **Murray M.F.** 2003. Nicotinamide: an oral antimicrobial agent with activity against both Mycobacterium tuberculosis and human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis*. 36: 453-60.

8. **Otsuka A, T., J. Hanafusa, J. Miyagawa, N. Kono y S. Tarui.** 1991. Nicotinamide and 3-aminobenzamide reduce inerferon-gamma-induced class II MHC (HLA-DR and DP) molecule expression on cultured human endothelial cells and fibroblast. *Immunopharmacol immunotoxicol*. 13: 263-280. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97: 5807-11.

9. **Sereno D., P. Holzmuller, I. Mangot, G. Cuny, A. Ouaiissi y J.L Lemesre.** 2001. Antimonial-mediated DNA fragmentation in *Leishmania infantum* amastigotes. *Antimicrob Agents Chemother*. 45:2064-9.

10. **Sereno, D y J.L. Lemesre.** 1997. Axenically cultured amastigote forms as an *in vitro* model for investigation of antileishmanial agents. *Antimicrob Agents Chemother*. 41: 972-6.

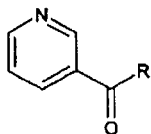
11. **Vergnes B., D. Sereno, N. Madjidian-Sereno, J.L. Lemesre y A. Ouaiissi.** 2002. Cytoplasmic SIR2 homologue overexpression promotes survival of *Leishmania* parasites by preventing programmed cell death. *Gene*. 21: 139-50.

12. **Yang, J y J.D Adams.** 2004. Nicotinamide and its pharmacological properties for clinical therapy. *Drug Design Review*. 1: 43-52.

REIVINDICACIONES

1. Utilización de por lo menos un compuesto de fórmula general (I) siguiente:

5



(I)

10

en la que R representa OH o NH₂,

o de las sales farmacéuticamente aceptables de dicho compuesto,

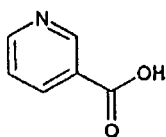
15

para la preparación de un medicamento destinado a la prevención o el tratamiento de las enfermedades relacionadas con la familia de los *Tripanosomátidos*, en particular del género *Trypanosoma* o del género *Leishmania* bajo sus formas intracelulares o extracelulares respectivas, más particularmente de la leishmaniosis, y especialmente para la prevención o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la familia de los *Tripanosomátidos* que aparecen en los pacientes inmunodeprimidos.

20

2. Utilización según la reivindicación 1, de un compuesto de fórmula general (I), en la que R representa OH, correspondiendo dicho compuesto a la niacina (vitamina B3) de la fórmula (II) siguiente:

25



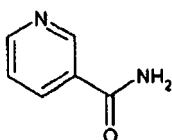
(II)

30

35

3. Utilización según la reivindicación 1, de un compuesto de fórmula general (I), en la que R representa NH₂, correspondiendo dicho compuesto a la nicotinamida, de la fórmula (III) siguiente:

40



(III)

45

4. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que el medicamento es apropiado para una administración por vía oral, intravenosa, tópica o intralesional.

50

5. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que el medicamento es apropiado para una administración del compuesto de fórmula (I) a una dosis unitaria de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 10 g, en particular de aproximadamente 1 g a aproximadamente 6 g.

55

6. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que el medicamento es apropiado para una administración del compuesto de fórmula (I) a una dosis de aproximadamente 5 mg/m²/día a aproximadamente 5 g/m²/día, en particular de aproximadamente 500 mg/m²/día a aproximadamente 3 g/m²/día.

60

7. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que el compuesto de fórmula (I) está en asociación con por lo menos un compuesto antiparasitario, tal como un compuesto seleccionado de entre: miltefosina, antimoniales, anfotericina B, benznidazol, nifurtimox, paromomicina, pentamidina y sus derivados, derivados del arsénico, melarsopol y difluorometilornitina.

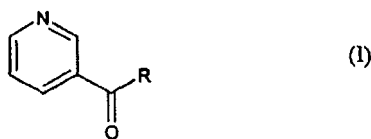
65

ES 2 333 889 T3

8. Composición farmacéutica que comprende como sustancias activas:

- un compuesto de la fórmula general (I) siguiente:

5



10

en la que R representa NH₂,

15

o de las sales farmacéuticamente aceptables de dicho compuesto, y

- antimoniales,

- en asociación con un portador farmacéuticamente aceptable.

20

9. Composición farmacéutica según la reivindicación 8, apropiada para una administración por vía oral, intravenosa, tópica o intralesional.

25

10. Composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 8 ó 9, apropiada para la administración del compuesto de fórmula (I) a una dosis unitaria de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 10 g, en particular de aproximadamente 1 g a aproximadamente 6 g.

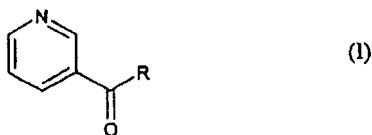
30

11. Composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 8 a 10, apropiada para la administración del compuesto de fórmula (I) a una dosis de aproximadamente 5 mg/m²/día a aproximadamente 5 g/m²/día, en particular de aproximadamente 500 mg/m²/día a aproximadamente 3 g/m²/día.

12. Productos que contienen:

- el compuesto de la fórmula general (I) siguiente:

35



40

en la que R representa NH₂,

45

o de las sales farmacéuticamente aceptables de dicho compuesto, en asociación con

- antimoniales,

50

como una preparación combinada para una utilización simultánea, separada o secuencial en la prevención o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la familia de los Tripanosomátidos en particular el género *Leishmania* o el género *Trypanosoma* bajo sus formas intracelular o extracelular respectivas, más particularmente de leishmaniosis, y especialmente para la prevención o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la familia de los Tripanosomátidos que aparecen en pacientes inmunodeprimidos.

55

60

65

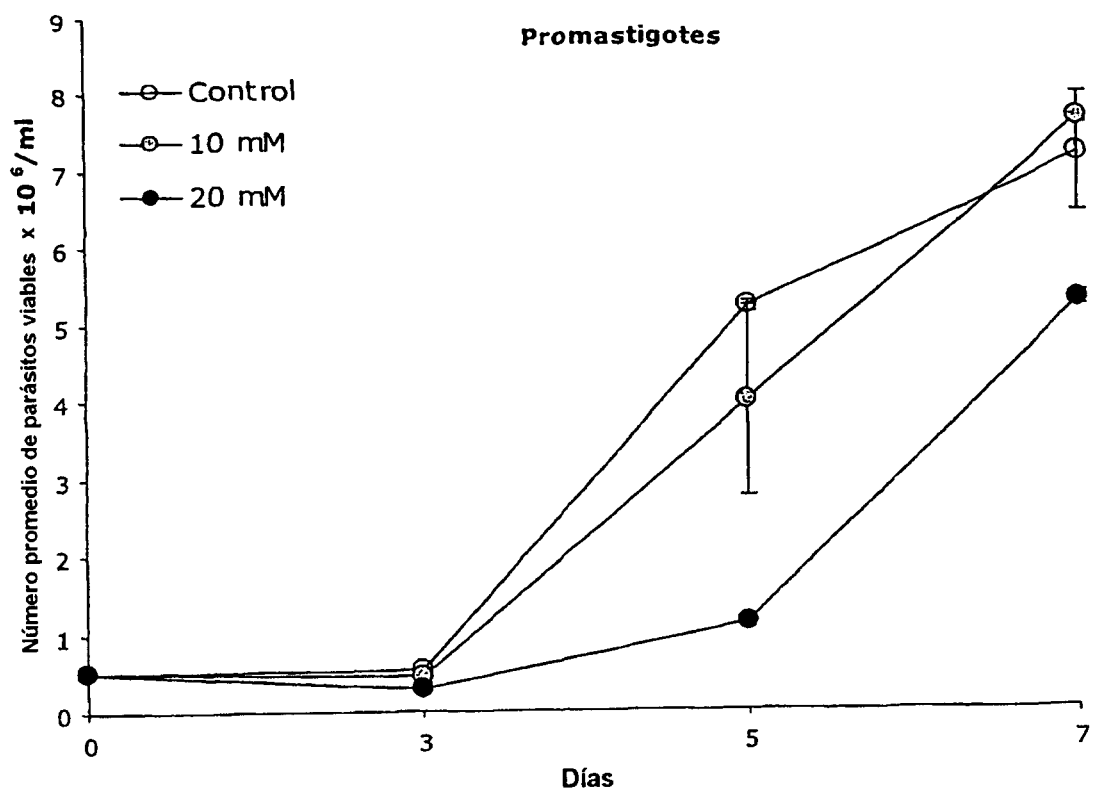


Figura 1A

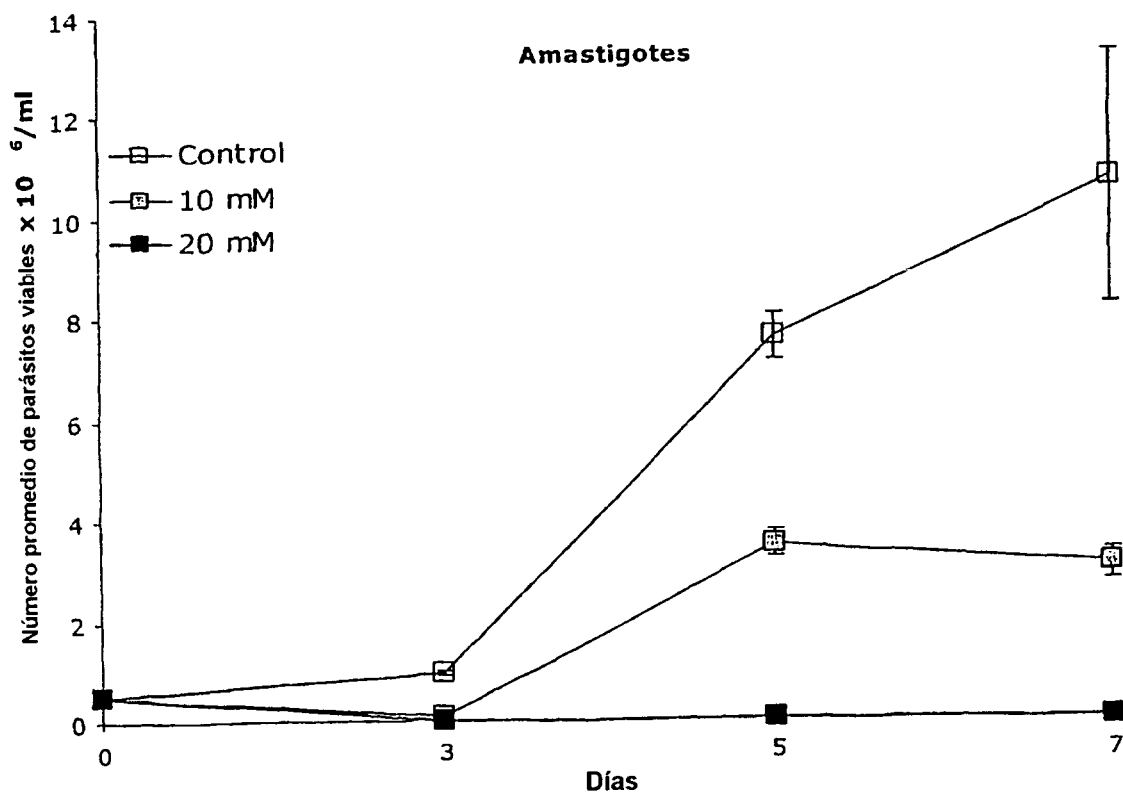


Figura 1B

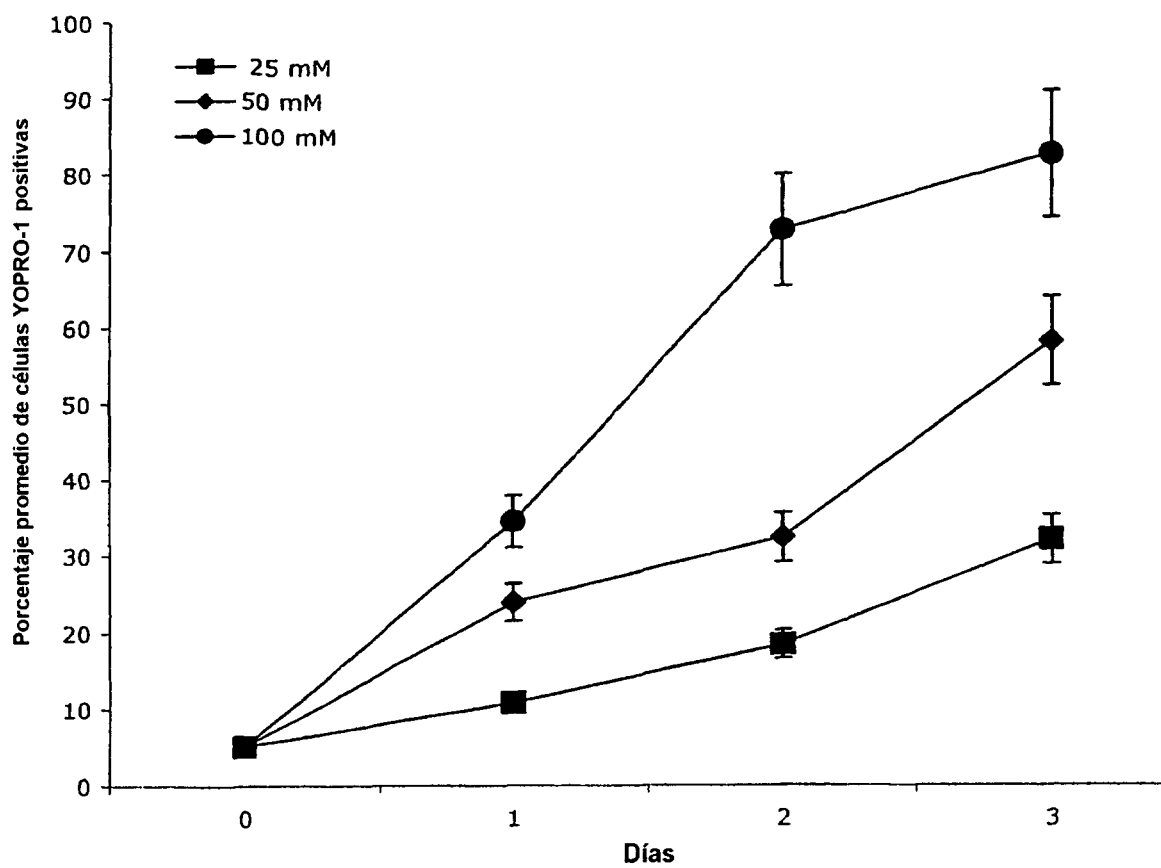


Figura 1C

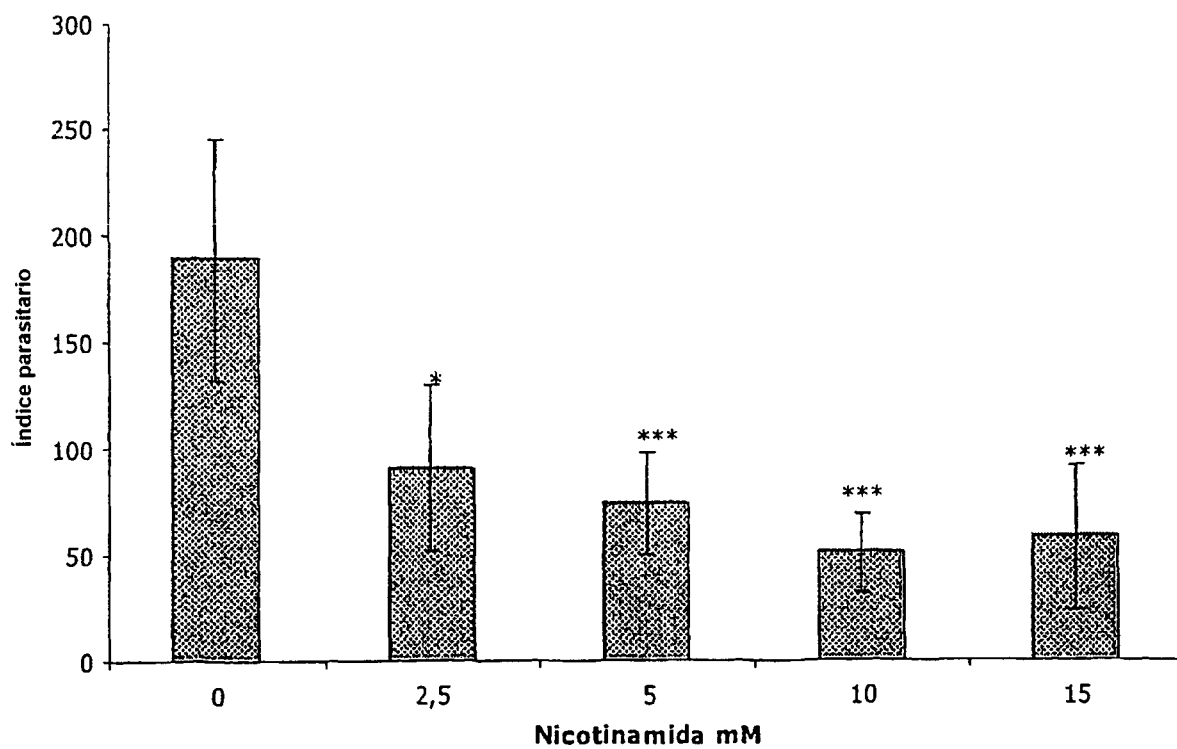


Figura 1D

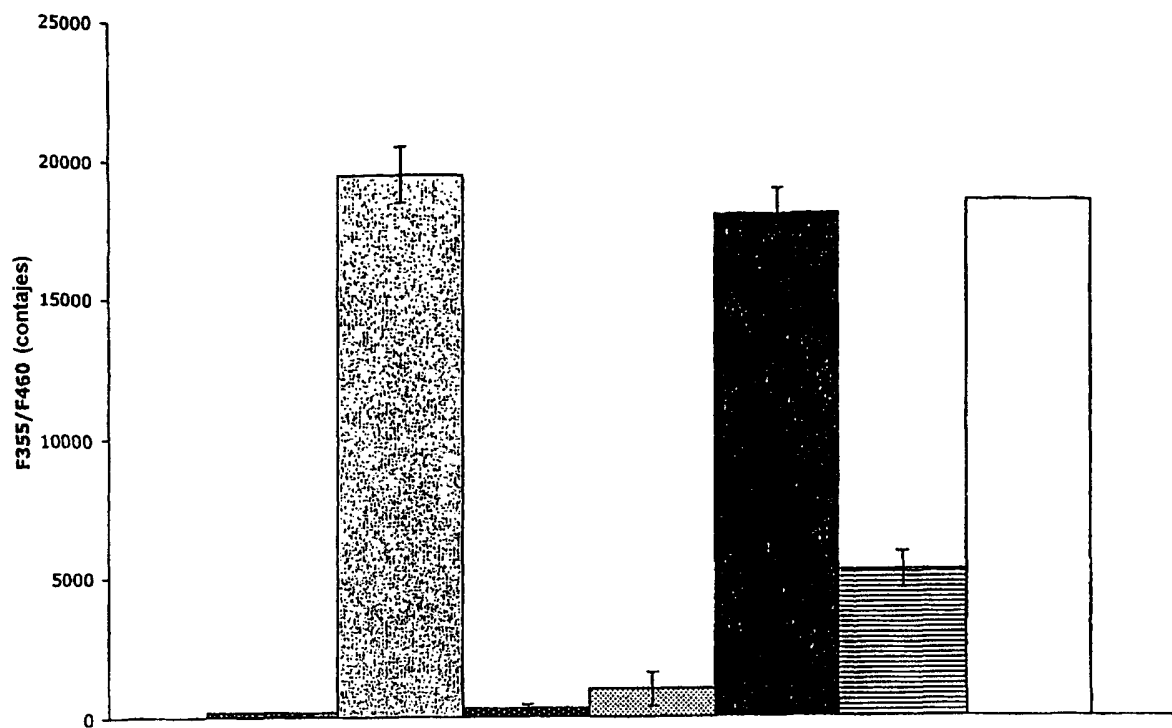


Figura 2A

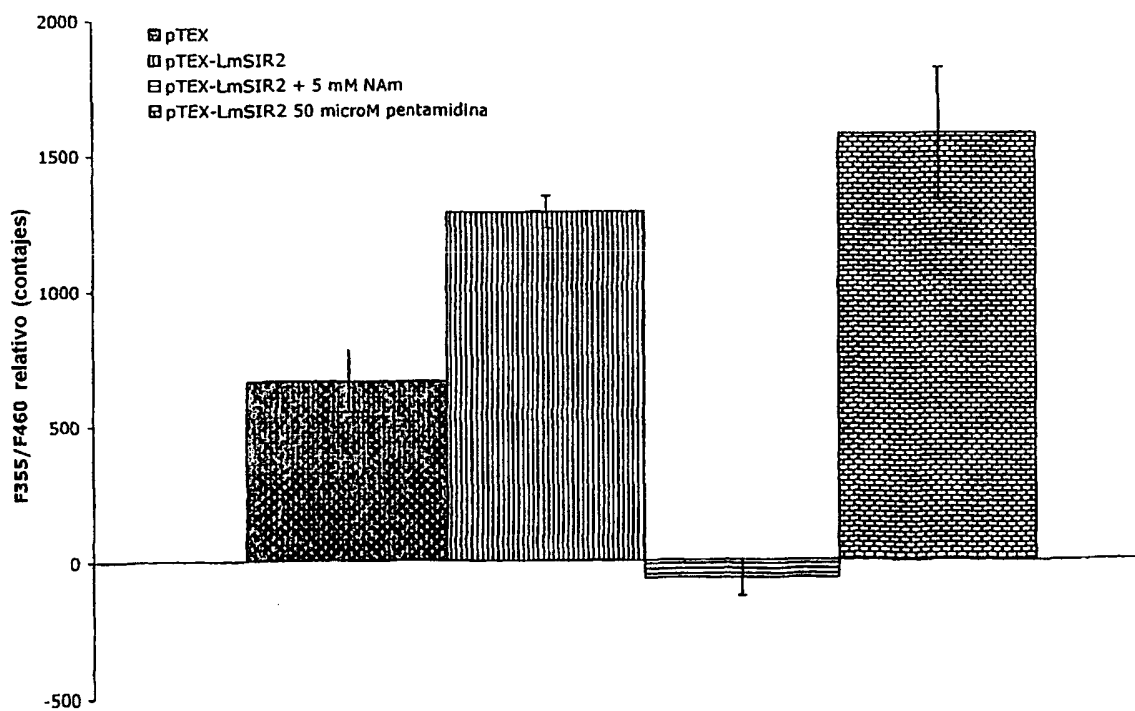


Figura 2B

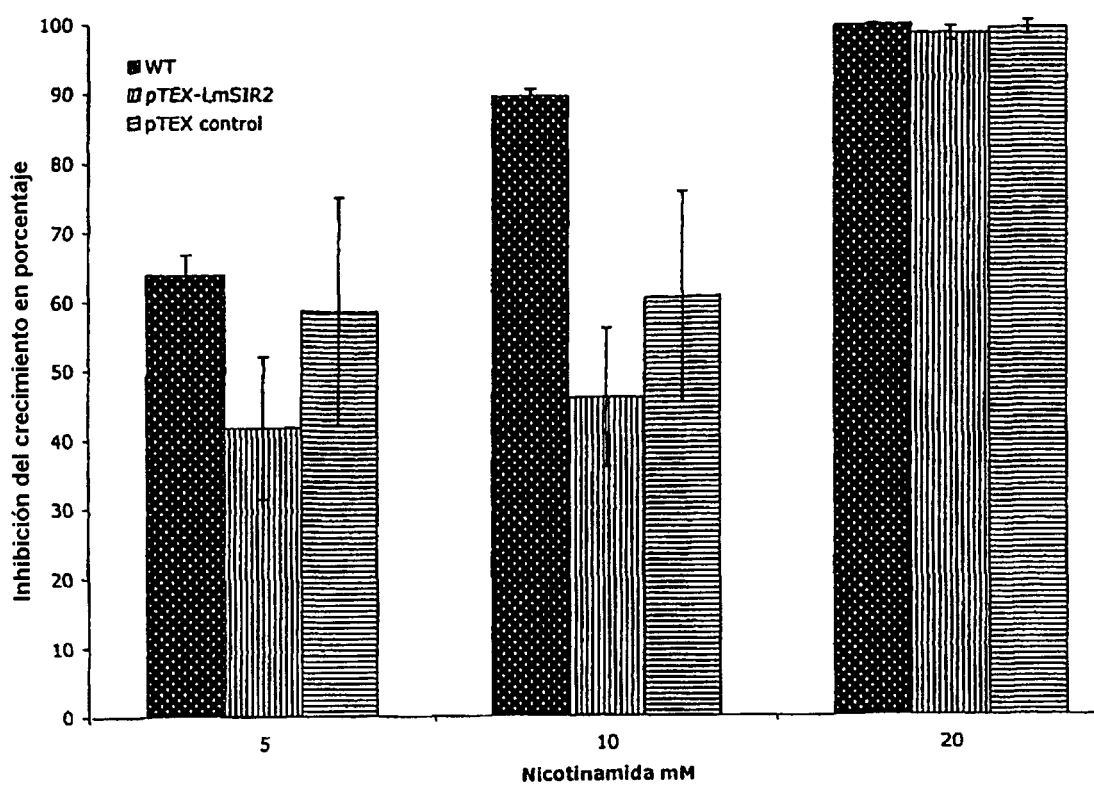


Figura 3A

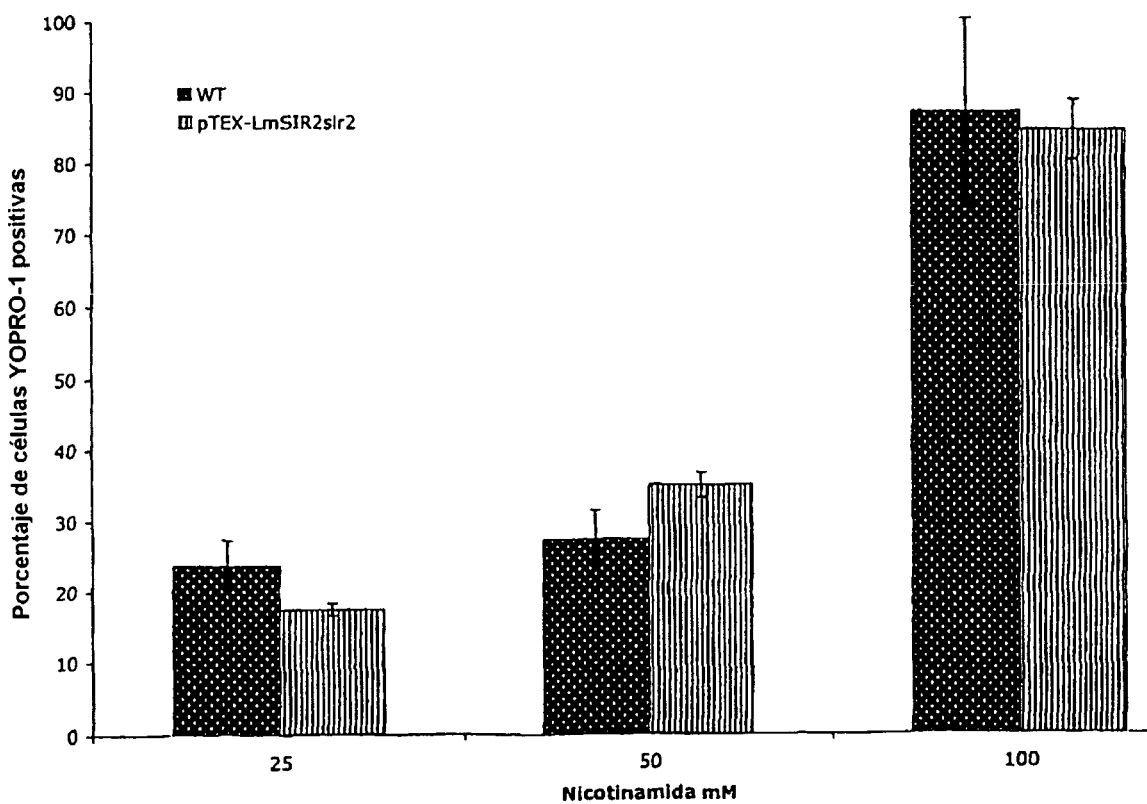


Figura 3B