

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 440 791**

51 Int. Cl.:

**C07K 5/08** (2006.01)

**C07K 7/64** (2006.01)

**A61K 38/12** (2006.01)

**A61P 31/04** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.04.2007 E 07735435 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.09.2013 EP 2010202**

54 Título: **Compuestos antibacterianos**

30 Prioridad:

**18.04.2006 IN MU06072006**  
**31.05.2006 US 809674 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**30.01.2014**

73 Titular/es:

**PIRAMAL ENTERPRISES LIMITED (50.0%)**  
**Piramal Tower, Ganpatrao Kadam Marg, Lower**  
**Parel**  
**Mumbai 400 013, IN y**  
**COUNCIL OF SCIENTIFIC AND INDUSTRIAL**  
**RESEARCH (50.0%)**

72 Inventor/es:

**MAHAJAN, GIRISH BADRINATH;**  
**GEORGE, SAJI DAVID;**  
**RANADIVE, PRAFULL VASANT;**  
**MISHRA, PRABHU DUTT SATYANARAYAN;**  
**EYYAMMADICHIYIL, SREEKUMAR**  
**SANKARANARAYANAN;**  
**PANSHIKAR, RAJAN MUKUND;**  
**SAWANT, SATISH NAMDEO;**  
**KRISHNA, SRIDEVI;**  
**SIVAKUMAR, MEENAKSHI;**  
**PARI, KOTEPPA;**  
**THOMAS, BECKY MARY;**  
**PATEL, ZARINE ERUCH;**  
**VISHWAKARMA, RAM;**  
**NAIK, CHANDRAKANT GOVIND;**  
**D'SOUZA, LISETTE y**  
**DEVI, PRABHA**

74 Agente/Representante:

**RUO, Alessandro**

**ES 2 440 791 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 antibacterianos.

## 5 CAMPO DE LA INVENCION

10 [0001] Esta invención se refiere a un compuesto novedoso PM181104, que tiene actividad antibacteriana, que se obtiene por la fermentación del microorganismo perteneciente a la especie *Kocuria* (ZMA B-1/MTCC 5269). La invención también incluye todas las formas estereoisoméricas y todas las formas tautoméricas de PM181104 y sales y derivados farmacéuticamente aceptables de las mismas. La presente invención se refiere adicionalmente a los procedimientos para la producción del compuesto o compuestos antibacterianos novedosos, a la producción del microorganismo perteneciente a la especie *Kocuria* (ZMA B-1/MTCC 5269), y a composiciones farmacéuticas que contienen el compuesto o compuestos novedosos como un ingrediente activo, y a su uso en medicinas para el tratamiento y la prevención de enfermedades causadas por infecciones bacterianas.

## 15 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

20 [0002] La aparición de resistencia bacteriana a varios agentes antimicrobianos, tales como antibióticos betalactámicos, macroluros, quinolonas y vancomicina se está convirtiendo en un problema de salud fundamental en todo el mundo (Trends in Microbiology, 1994, 2, 422-425). El problema más significativo en la práctica clínica es el aumento en la incidencia de infecciones por *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA). Actualmente, el único tratamiento eficaz para infecciones múltiples por MRSA es la vancomicina. Sin embargo, existen varios informes sobre la aparición de resistencia a la vancomicina en algunas cepas de MRSA aisladas (Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1998, 42, 2188-2192). Otro grupo de bacterias resistentes a múltiples fármacos clínicamente relevantes que ha surgido recientemente son los enterococos, algunos de los cuales también muestran resistencia a la vancomicina. La aparición de infecciones por enterococos resistentes a la vancomicina (VRE) ha forzado un dilema entre los médicos. Las combinaciones de linezolid, un compuesto de oxazolidinona y estreptogramina son los nuevos fármacos de elección para el tratamiento de infecciones por MRSA. Sin embargo, la resistencia a estas combinaciones de oxazolidinonas (Clinical Infectious Diseases, 2003, 36, suplemento 1, S11-S23; Annals of Pharmacotherapy, 2003, 37, 769-74) y estreptograminas (Current Drug Targets Infectious Disorders, 2001, 1, 215-25) y diversos glicopéptidos (Clinical Infectious Disorders 2003, 36, suplemento 1, S11-S23) requieren el desarrollo expandido de agentes con dianas o modos de acción alternativos. La creciente resistencia del patógeno adquirido en la comunidad importante *Streptococcus pneumoniae* a la penicilina y otros antibacterianos se está convirtiendo en un problema de salud global. Han surgido en varios países cepas resistentes a múltiples fármacos de *Mycobacterium tuberculosis*. La aparición y la proliferación de patógenos resistentes nosocomiales y adquiridos en la comunidad se está convirtiendo en una gran amenaza para la salud pública global. El documento WO-A-94/14 838 se refiere a los antibióticos GE 37468 A, B y C.

40 [0003] Existe una necesidad urgente de descubrir nuevos compuestos que puedan usarse como fármacos para tratar pacientes infectados con bacterias, particularmente las bacterias resistentes a múltiples fármacos, tales como MRSA y VRE.

## RESUMEN DE LA INVENCION

45 [0004] La presente invención se refiere a un compuesto purificado novedoso (designado en el presente documento como PM181104), aislado a partir del caldo fermentado del microorganismo perteneciente a la especie *Kocuria* (ZMA B-1/MTCC 5269), que tiene actividad antibacteriana.

50 [0005] La invención también se refiere a todas las formas estereoisoméricas y todas las formas tautoméricas de PM181104 y una sal o sales farmacéuticamente aceptables, y un derivado o derivados de éster y éter del mismo, representado por la fórmula I (como se describe en el presente documento).

55 [0006] El compuesto PM181104, e isómeros, sal o sales farmacéuticamente aceptables y derivado o derivados del éster y éter del mismo, son útiles para el tratamiento y prevención de enfermedades causadas por bacterias, particularmente bacterias resistentes a múltiples fármacos, tales como MRSA y VRE.

60 [0007] La invención se refiere adicionalmente a composiciones farmacéuticas que comprenden el compuesto novedoso PM181104, un isómero, las sales farmacéuticamente aceptables, y los derivados éster y éter del mismo, como un ingrediente activo para el tratamiento de afecciones medicas causadas por bacterias, particularmente las bacterias resistentes a múltiples fármacos, tales como MRSA y VRE.

[0008] La presente invención se refiere adicionalmente a procedimientos para la producción del compuesto PM181104 y/o sus isómeros a partir del microorganismo perteneciente a la especie *Kocuria* (ZMA B-1/MTCC 5269).

**[0009]** La presente invención también se refiere a los procedimientos para la producción del microorganismo perteneciente a la especie *Kocuria* (ZMA B-1/MTCC 5269), que en el cultivo produce el compuesto PM181104 y sus isómeros.

**[0010]** La presente invención también se refiere a los procedimientos para la producción de los derivados de éster y éter del compuesto PM181104.

DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

**[0011]**

La figura 1 muestra el espectro de absorción ultravioleta (UV) de PM181104.

La figura 2 muestra el espectro de absorción de infrarrojo (IR) de PM181104.

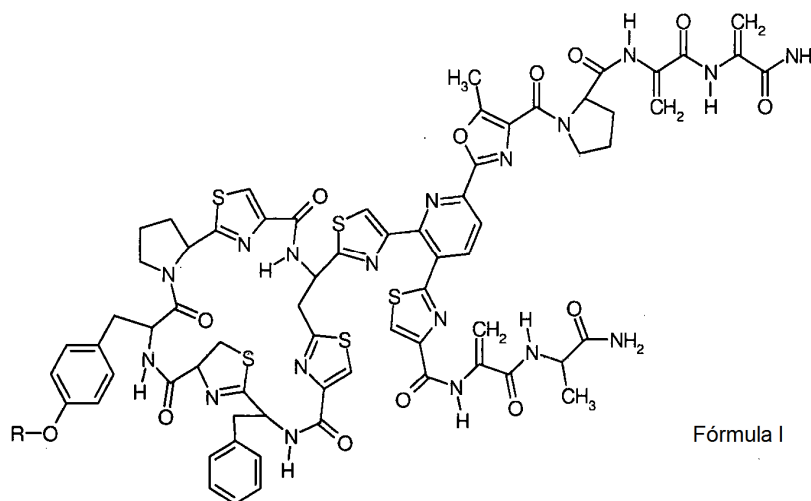
La figura 3 muestra el espectro de RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz) de PM181104 en DMSO-d<sub>6</sub>.

La figura 4 muestra el espectro de RMN de <sup>13</sup>C (125 MHz) de PM181104 en DMSO-d<sub>6</sub>.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

**[0012]** La presente invención proporciona un novedoso compuesto antibacteriano PM181104 y también incluye todas las formas estereoisoméricas y todas las formas tautoméricas de PM181104 y las sales farmacéuticas aceptables y derivados, tales como los esteres y éteres del mismo.

**[0013]** Por consiguiente, la presente invención se refiere a compuestos antibacterianos novedosos de la siguiente fórmula I;



en la que R = H (PM181104), alquilo, alquilcarbonilo, (HO)<sub>2</sub>PO-, alquil-OPO(OH)-, (alquil-O)<sub>2</sub>PO-, cicloalquilo, cicloalquilcarbonilo, arilo, arilcarbonilo, heterociclilo y heterociclil carbonilo.

**[0014]** Como se usa en el presente documento, el término "alquilo" ya sea usado solo o como parte de un grupo sustituyente, se refiere al radical de los grupos alifáticos saturados, incluyendo grupos alquilo de cadena lineal o ramificada. Además, a menos que se indique de otra forma, el término "alquilo" incluye grupos alquilo no sustituidos, así como grupos alquilo, que están sustituidos con uno o más sustituyentes diferentes. En realizaciones preferidas, un alquilo de cadena lineal o de cadena ramificada tiene 20 o menos átomos de carbono en su estructura (por ejemplo, C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub> para la cadena lineal, C<sub>3</sub>-C<sub>20</sub> para la cadena ramificada). Ejemplos de residuos alquilo que contienen de 1 hasta 20 átomos de carbono son: metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo, decilo, undecilo, dodecilo, tetradecilo, heptadecilo y eicosilo, los n-isómeros de todos estos residuos; isopropilo, isobutilo, 1-metilbutilo, isopentilo, neopentilo, 2,2-dimetilbutilo, 2-metilpentilo, 3-metilpentilo, isohexilo, 2,3,4-trimetilhexilo, isodecilo, sec-butilo o terc-butilo. Un alquilo sustituido se refiere a un residuo alquilo en el que uno o más, átomos de hidrógeno, por ejemplo 1, 2, 3, 4 ó 5 átomos de hidrógeno se remplazan por sustituyentes, por ejemplo, halógeno, hidroxilo, sulfonilo, alcoxilo, cicloalquilo, ciano, azido, amino, aciloxilo, heterociclo, aralquilo, arilo o grupos fluorescentes, tales como NBD [N-(7-nitrobenz-2-oxa-1,3-diazol-4-il)amino] o el grupo BODIPY [4,4-difluoro-5,7-

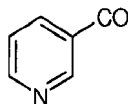
dimetil-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno].

**[0015]** Como se usa en el presente documento, el término "cicloalquilo" se refiere a un sistema anular saturado mono- o bicíclico que contiene de 3 a 10 átomos de carbono, y más preferiblemente que tiene 3, 4, 5, 6 ó 7 átomos de carbono en la estructura anular. Ejemplos de residuos cicloalquilo que contienen 3, 4, 5, 6 ó 7 átomos de carbono en el anillo son ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo o cicloheptilo. Además, a menos que se indique lo contrario, el término "cicloalquilo" incluye cicloalquilo no sustituido y cicloalquilo que está sustituido con uno o más grupos idénticos o diferentes seleccionados entre halógeno, hidroxilo, alcoxilo, alquilo, cicloalquilo, ciano, amino, aminoalquilo, aciloxilo, heterociclo, aralquilo y/o un grupo arilo.

**[0016]** Como se usa en el presente documento, el término "arilo" se refiere a un grupo hidrocarburo monocíclico o policíclico que tiene hasta 10 átomos de carbono en el anillo, en los que se encuentra presente al menos un anillo carbocíclico que tiene un sistema conjugado de electrones  $\pi$ . Ejemplos adecuados de residuos arilo  $C_6-C_{10}$  incluyen fenilo, naftilo o bifenilo, especialmente fenilo y el naftilo. Los residuos arilo, por ejemplo fenilo o naftilo, en general pueden sustituirse opcionalmente con uno a más sustituyentes, hasta cinco sustituyentes idénticos o diferentes seleccionados entre los grupos que consisten en halógeno, alquilo, hidroxilo, aciloxilo, amino, amino sustituido y ciano.

**[0017]** El término "heterociclilo" se refiere a un sistema anular saturado, parcialmente insaturado o aromático, heterocíclico monocíclico o policíclico que contiene 5, 6, 7, 8, 9 ó 10 átomos en el anillo de los cuáles 1, 2 ó 3 son heteroátomos idénticos o diferentes seleccionados entre: nitrógeno, oxígeno y azufre. Ejemplos adecuados de dichos grupos heterociclilos son piridinilo, piperazinilo, piperidinilo, imidazolilo, pirrolidinilo y morfilinilo. En el sistema anular policíclico heterocíclico, el heterociclilo puede comprender anillos condensados, en los que dos o más carbonos son comunes a dos anillos adyacentes, o anillos puenteados, en los que los anillos se encuentran unidos a través de átomos no adyacentes. En el sistema anular heterocíclico policíclico, el heterociclilo preferiblemente comprende dos anillos condensado (bicíclico), al menos uno de los cuales es un anillo heterocíclico de 5 a 6 miembros. Grupos ejemplares bicíclicos heterocíclicos incluyen benzoxazolilo, quinolilo, isoquinolilo, carbazolilo, indolilo, isoindolilo, fenoxazinilo, benzotiazolilo, benzimidazolilo, benzoxadiazolilo y benzofurazanilo. Los residuos heterociclilos, en general pueden sustituirse opcionalmente con uno o más sustituyentes idénticos o diferentes seleccionados entre los grupos que consisten en halógeno, alquilo, hidroxilo, alcoxilo, aciloxilo, amino, amino sustituido y ciano.

**[0018]** De acuerdo con una realización preferida de la presente invención, el grupo R en la fórmula I puede representar H,  $CH_3CH_2CO$ ,  $CH_3(CH_2)_{15}CH_2CO$  o



**[0019]** De acuerdo con una realización más preferida, el compuesto novedoso PM181104 representado por la fórmula I anterior (en la que R = H) se aísla a partir del caldo fermentado del microorganismo perteneciente a la especie *Kocuria* (ZMA B-1/MTCC 526 9) y se purifica adicionalmente.

**[0020]** El compuesto novedoso PM181104 tiene la fórmula molecular  $C_{69}H_{66}N_{18}O_{13}S_5$  (peso molecular 1514) y se puede caracterizar por cualquiera de una o más de sus propiedades fisicoquímicas y espectrales, tales como datos espectroscópicos de cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC), espectro de masas (EM), ultra violeta (UV), infrarrojo (IR) y resonancia magnética nuclear (RMN) como se analizará a continuación en el presente documento.

**[0021]** La estructura del compuesto novedoso PM181104 se ha elucidado y su caracterización completa se hace mediante datos espectroscópicos de HPLC, EM, UV, IR y RMN. La estructura se confirmó por medio de un estudio tridimensional (3D) de RMN del bioactivo PM181104 marcado con  $^{15}N$  y  $^{13}C$ .

**[0022]** El compuesto PM181104 y sus derivados de éster y éter son nuevos antibióticos activos contra bacterias, particularmente las bacterias resistentes a múltiples fármacos, tales como MRSA y VRE.

**[0023]** El microorganismo, que puede usarse para la producción del compuesto PM181104, es una cepa de la especie *Kocuria* (ZMA B-1/MTCC 5269), en lo sucesivo en el presente documento denominado como el cultivo N<sup>o</sup> ZMA B-1, aislado a partir de una muestra marina recogida en Palk Bay, en la costa de Tamil Nadu, India.

**[0024]** La presente invención proporciona adicionalmente un procedimiento para la producción del compuesto PM181104 a partir del cultivo ZMA B-1, sus mutantes y variantes, que comprende las etapas de: hacer crecer el

cultivo N° ZMA B-1 en condiciones aerobias sumergidas en un medio nutritivo que contiene una o más fuentes de carbono y una o más fuentes de nitrógeno y opcionalmente sales nutrientes inorgánicas y/o elementos traza; aislar el compuesto PM181104 del caldo de cultivo; y purificar el compuesto PM181104 usando procedimientos de purificación usados generalmente en la técnica relacionada.

**[0025]** Como se usa en el presente documento, el término "mutante" se refiere a un organismo o célula que porta una mutación, que es un fenotipo alternativo al tipo natural.

**[0026]** Como se usa en el presente documento, el término "variante" se refiere a un organismo individual que se reconoce como diferente de un tipo estándar arbitrario en esta especie.

**[0027]** La identificación preliminar del cultivo N° ZMA B-1, que es el productor de PM181104, se realizó mediante el examen de la morfología de su colonia, observación de cantidad de humedad y la reacción de tinción de Gram. Los estudios microscópicos de la cepa del cultivo aislado N° ZMA B-1 se realizaron en el caldo Zobell Marine Broth 2216 (caldo marino 2216), que contenía agar al 1,5% y se hicieron observaciones a los 1, 2 y 3 días de incubación a 25 °C.

**[0028]** El crecimiento en el caldo Zobell Marine Broth 2216 (caldo marino 2216), que contiene agar al 1,5%, genera colonias de 2 mm de diámetro con una superficie lisa, de pigmentación de color naranja amarillo, un margen regular y una consistencia suave. No se observan pigmentos difusibles en este medio. Bajo un microscopio de luz de contraste de fase, se observan cocos en una ampliación de 400x. Los cocos se separan bien y se aíslan. Son Gram positivos y sin movimiento. La morfología observada clasifica a este organismo como un miembro de la familia *Micrococcaceae*. La identificación de los aislados se realizó comparando su reacción en cadena de polimerasa 16S ARNr (PCR) con las secuencias existentes disponibles en el sitio web del National Center for Biotechnology Information (NCBI) (URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). El cultivo N° ZMA B-1 se depositó en la Colección de Cultivos Tipo Microbiano (MTCC), en el Institute of Microbial Technology, Sector 39-A, Chandigarh -160 036, India una Agencia de Depósito Internacional (IDA) reconocida por la Organización Mundial de la Propiedad Intelectual (OMPI) y se le otorgó el número de acceso MTCC 5269.

**[0029]** Además del microorganismo específico descrito en el presente documento, ha de apreciarse que los mutantes, tales como los producidos por el uso de mutágenos químicos o físicos incluyendo rayos X, rayos UV, y organismos cuya estructura genética se ha modificado con técnicas de biología molecular, también se pueden cultivar para producir el compuesto PM181104.

**[0030]** La búsqueda de los mutantes adecuados y las variantes que pueden producir el compuesto de acuerdo con la invención puede confirmarse por medio de HPLC y/o la determinación de actividad biológica de los compuestos activos acumulados en el caldo de cultivo, por ejemplo probando los compuestos en busca de actividad antibacteriana.

**[0031]** El medio y/o medio nutritivo usados para el aislamiento y la purificación del cultivo N° ZMA B-1, que produce el compuesto PM181104, contiene preferiblemente fuentes de carbono, nitrógeno y sales inorgánicas nutritivas. Las fuentes de carbono son, por ejemplo, una o más de almidón, glucosa, sacarosa, dextrina, fructosa, melazas, glicerol, lactosa o galactosa. Una fuente de carbono preferida es la glucosa. Las fuentes de nitrógeno son, por ejemplo, una o más de harina de soja, harina de cacahuete, extracto de levadura, extracto de carne de res, peptona, extracto de malta, licor de maíz fermentado, gelatina o ácidos casaminoicos. Las fuentes preferidas de nitrógeno son peptona y el extracto de levadura. Las sales inorgánicas de nutrientes son, por ejemplo, una o más de cloruro sódico, cloruro potásico, cloruro cálcico, cloruro de magnesio, cloruro de estroncio, bromuro potásico, fluoruro sódico, fosfato ácido sódico, fosfato ácido potásico, fosfato disódico, carbonato cálcico, bicarbonato sódico, silicato sódico, nitrato amónico, nitrato potásico, sulfato sódico, sulfato amónico, sulfato de magnesio, citrato férrico o ácido bórico. Se prefieren carbonato cálcico, cloruro sódico y cloruro de magnesio.

**[0032]** Se puede mantener el cultivo N° ZMA B-1 a una temperatura que varía de 21 °C a 35 °C y un pH de aproximadamente 6,5 a 8,5. Típicamente, el cultivo N° ZMA B-1 se mantiene a 27 °C-29 °C y un pH de aproximadamente 7,4-7,8. Los cultivos que ya han crecido se pueden conservar en el frigorífico a 4 °C-8 °C.

**[0033]** El cultivo de las semillas de cultivo del cultivo N° ZMA B-1 puede realizarse a una temperatura que varía de 25 °C a 35 °C y un pH de aproximadamente 6,5 a 8,5, durante 20-55 horas a 200-280 rpm. Típicamente, la semilla del cultivo N° ZMA B-1 se cultiva a 29 °C-31 °C y un pH de aproximadamente 7,4-7,8, durante 24-48 horas a 230-250 rpm.

**[0034]** La producción del compuesto PM181104 se puede realizar cultivando el cultivo N° ZMA B-1 por fermentación a una temperatura que varía de 26 °C a 36 °C y un pH de aproximadamente 6,5 a 8,5, durante 24-96 horas a 60-140 rpm y 100 a 200 lpm de aireación. Típicamente, el cultivo N° ZMA B-1 se incuba a 30 °C-32 °C y a un

pH 7,4-7,8 durante 40-72 horas a 90-110 rpm y 140-160 lpm de aireación.

5 [0035] La producción del compuesto PM181104 se puede realizar cultivando el cultivo N° ZMA B-1 en un caldo nutritivo adecuado en las condiciones que se describen en el presente documento, preferiblemente en condiciones aerobias sumergidas, por ejemplo en matraces de agitación, así como en fermentadores de laboratorio. El avance de la fermentación y la producción del compuesto PM181104 puede detectarse por cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) y midiendo la bioactividad del caldo de cultivo frente a especies estafilococos y/o enterococos con el procedimiento de ensayo de difusión en placa de agar microbiano conocido. El cultivo preferido es *Staphylococcus aureus* 3066, que es una cepa resistente a la meticilina, un antibiótico β-lactámico indicado en la bibliografía, y *Enterococcus faecium* R2 (VRE), que es resistente a la vancomicina. En el caldo de cultivo resultante, el compuesto PM181104 está presente en el filtrado de cultivo, así como en la masa celular y se puede aislar usando técnicas de separación conocidas, tales como extracción con disolvente y cromatografía en columna. Por lo tanto, el compuesto PM181104 puede recuperarse del filtrado de cultivo por extracción a un pH de aproximadamente 5 a 9 con un disolvente inmiscible en agua, tal como éter de petróleo, diclorometano, cloroformo, acetato de etilo, éter dietílico o butanol, o por cromatografía de interacción hidrófoba usando resinas poliméricas, tales como "Diaion HP-20<sup>®</sup>" (Mitsubishi Chemical Industries Limited, Japón), "Amberlite XAD<sup>®</sup>" (Rohm and Haas Industries, Estados Unidos), carbón activado, o por cromatografía de intercambio iónico a pH 5-9. El material activo se puede recuperar de la masa celular por extracción con un disolvente miscible en agua, tal como metanol, acetona, acetonitrilo, n-propanol o iso-propanol, o con un disolvente inmiscible en agua, tal como éter de petróleo, diclorometano, cloroformo, acetato de etilo o butanol. Otra opción es extraer el caldo completo con un disolvente seleccionado entre éter de petróleo, diclorometano, cloroformo, acetato de etilo, metanol, acetona, acetonitrilo, n-propanol, iso-propanol o butanol. Típicamente, el material activo se extrae con acetato de etilo del caldo completo. La concentración y liofilización de los extractos produce el material activo en bruto.

25 [0036] El compuesto PM181104 de la presente invención puede recuperarse del material en bruto por fraccionamiento utilizando cualquiera de las siguientes técnicas: cromatografía de fase normal (utilizando alúmina o gel de sílice como fase estacionaria; eluyentes tales como éter de petróleo/acetato de etilo, diclorometano, acetona, cloroformo, metanol o combinaciones de los mismos; y las adiciones de aminas, tales como NEt<sub>3</sub>); cromatografía de fase inversa (utilizando gel de sílice de fase inversa tal como gel de dimetiloctadecilsilil sílice, (RP-18) o gel de dimetiloctilsilil sílice (RP-8) como fase estacionaria; y eluyentes tales como agua, tampones (por ejemplo, fosfato, acetato, citrato (pH 2-8)), y disolventes orgánicos (por ejemplo, metanol, acetonitrilo, acetona, tetrahydrofurano o combinaciones de estos disolventes); cromatografía de permeación en gel (utilizando resinas tales como Sephadex LH-20<sup>®</sup> (Pharmacia Chemical Industries, Suecia), TSKgel<sup>®</sup> Toyopearl HW (TosoHaas, Tosoh Corporation, Japón) en disolventes tales como metanol, cloroformo, acetona, acetato de etilo, o sus combinaciones, o Sephadex<sup>®</sup> G-10 y G-25 en agua); o por cromatografía a contracorriente (utilizando un sistema de eluyente bifásico hecho de dos o más disolventes tales como agua, metanol, etanol, iso-propanol, n-propanol, tetrahydrofurano, acetona, acetonitrilo, cloruro de metileno, cloroformo, acetato de etilo, éter de petróleo, benceno y tolueno). Estas técnicas se pueden utilizar repetidamente, solas o en combinación. Un procedimiento típico es la cromatografía sobre gel de sílice de fase inversa (RP-18).

40 [0037] El compuesto PM181104 e isómeros del mismo, se pueden convertir en sus sales farmacéuticamente aceptables, las cuáles se contemplan en su totalidad por la presente invención. Las sales se pueden preparar por procedimientos estándares conocidos por un experto en la técnica, por ejemplo, sales como las sales de sodio y de potasio, se pueden preparar al tratar el compuesto PM181104 e isómeros del mismo, con una base adecuada de sodio o potasio, por ejemplo hidróxido sódico, hidróxido potásico.

50 [0038] Los ésteres y éteres del compuesto PM181104 representados por la fórmula I pueden prepararse por los métodos que se describen en la bibliografía (Advanced Organic Chemistry, 1992, 4ª Edición, J. March, John Wiley & Sons). Los ésteres también pueden prepararse por el procedimiento descrito en la bibliografía (J. Med. Chemistry, 1992, 35, 145-151). En una realización preferida de la invención, los compuestos de la fórmula I, en la que R es alquilo, cicloalquilo, arilo o heterociclilo, se preparan haciendo reaccionar el PM181104 con un ácido apropiado que tenga la fórmula RCOOH; en la que R es alquilo, cicloalquilo, arilo o heterociclilo, en presencia de un agente de acoplamiento, tal como dicitlohexil carbodiimida (DCC) y cantidades catalíticas de una base tal como la dimetilaminopiridina (DMAP).

55 [0039] Los ésteres del fosfato se pueden preparar por un procedimiento indicado en la bibliografía (Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 1994, vol. 4, N° 21, 2567-2572). Los éteres se pueden preparar por el procedimiento como se describe en la patente de Estados Unidos N° 7.022.667.

60 [0040] El compuesto PM181104 tiene actividad antibacteriana contra una gran variedad de cepas bacterianas. El compuesto PM181104, los estereoisómeros, las sales farmacéuticamente aceptables y derivados tales como los ésteres y éteres del mismo, solos o juntos, se pueden administrar a animales, tales como mamíferos, incluyendo

seres humanos, como productos farmacéuticos y en forma de composiciones farmacéuticas. Por consiguiente, la presente invención también se refiere al compuesto PM181104, sus estereoisómeros, sus sales farmacéuticamente aceptables y sus derivados de éster y éteres para usarse como productos farmacéuticos y para el uso del compuesto PM181104, los estereoisómeros, las sales farmacéuticamente aceptables y sus derivados de éter para la producción de medicamentos que tienen actividad antibacteriana.

[0041] La presente invención se refiere adicionalmente a composiciones farmacéuticas que contienen una cantidad eficaz del compuesto PM181104 y/o estereoisómeros y/o una o más sales farmacéuticamente aceptables y/o derivados, particularmente los ésteres y éteres del mismo, junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable. La cantidad eficaz del compuesto PM181104, o sus estereoisómeros, o sus sales farmacéuticamente aceptables o sus derivados, como ingrediente activo en las preparaciones farmacéuticas normalmente es desde 0,01 mg a 100 mg.

[0042] La presente invención también se refiere a un procedimiento para la preparación de un medicamento que contiene el compuesto PM181104 y/o estereoisómeros y/o una o más sales farmacéuticamente aceptables y/o éster y éter derivados del mismo, para el tratamiento y prevención de enfermedades causadas por infecciones bacterianas.

[0043] Los compuestos de la presente invención son especialmente útiles como agentes antibacterianos. La presente invención igualmente se refiere al uso del compuesto PM181104 y/o estereoisómeros y/o una o más sales farmacéuticamente aceptables y/o derivados del mismo para la fabricación de un medicamento para la prevención o el tratamiento de enfermedades causadas por infecciones bacterianas. Las infecciones bacterianas para cuyo tratamiento se usan los compuestos de la presente invención, pueden ser causados por bacterias pertenecientes a las especies estafilococos, estreptococos, enterococos y bacilos.

[0044] La expresión "especie *Staphylococcus*" se refiere a una bacteria Gram-positiva, la cual aparece como cúmulos en forma de uvas cuando se ven a través de un microscopio y como colonias grandes, redondas, colonias doradas-amarillas, frecuentemente con  $\beta$ -hemólisis, cuando crecen en placas de agar de sangre. El *Staphylococcus aureus* que pertenece a la especie estafilococo causa una diversidad de infecciones que supuran (forman pus) tales como lesiones superficiales de la piel como furúnculos, orzuelos y furunculosis; infecciones más serias como la neumonía, mastitis, flebitis, meningitis e infecciones del tracto urinario; e infecciones arraigadas, tales como osteomielitis y endocarditis. El *Staphylococcus aureus* es la principal causa de infecciones adquiridas en el hospital (nosocomio) de las heridas quirúrgicas e infecciones asociadas con la manipulación de aparatos médicos. El *Staphylococcus aureus* provoca el envenenamiento de alimentos al liberar enterotoxinas en el alimento, y síndrome de shock tóxico por la liberación de superantígenos hacia el torrente sanguíneo.

[0045] La expresión "especie *Streptococcus*" se refiere a un género de bacterias esféricas, Gram positivas y a un miembro de la división *Firmicutes*. Los estreptococos son bacterias del ácido láctico. La especie *Staphylococcus* es responsable de enfermedades infecciosas tales como meningitis, neumonía bacteriana, endocarditis, erisipelas y fascitis necrotizante (las infecciones bacterianas que se "comen la carne").

[0046] La expresión "especie *Enterococcus*" se refiere a un género de bacteria ácido láctica de la división *Firmicutes*. Son cocos Gram positivos que frecuentemente se encuentran en pares (diplococos). Los enterococos son organismos facultativos anaerobios. Los enterococos se encuentran entre las causas más frecuentes de infecciones adquiridas en los hospitales. Los enterococos desarrollan resistencia a los antibióticos tales como la gentamicina y la vancomicina.

[0047] La expresión "especie *Bacillum*" se refiere a un gran número de diversas bacterias en forma de bastón, Gram positivas, que tienen movimiento por flagelas peritrocas y son aeróbicas. Es también un miembro de la división *Firmicutes*. Los miembros de este género son capaces de producir endosporas que son altamente resistentes a condiciones ambientales desfavorables. El *Bacillus cereus* que pertenece a la especie *Bacillum* provoca dos tipos de intoxicaciones por consumo de alimentos. Un tipo está caracterizado por síntomas de náuseas, vómitos y contracciones abdominales. El segundo tipo se manifiesta principalmente por contracciones abdominales y diarrea. Las infecciones atribuidas al *Bacillus subtilis* que pertenece a la especie *Bacillum*, incluyen bacteremia, endocarditis, neumonía, y septicemia en pacientes con sistema inmunológico comprometido.

[0048] Los compuestos de la presente invención se pueden administrar por vía oral, nasal, tópica, subcutánea, intramuscular, intravenosa o por otros modos de administración.

[0049] Las composiciones farmacéuticas que contienen PM181104 o un estereoisómero o una sal farmacéuticamente aceptable o un derivado de éster o éter del mismo, con otras sustancias farmacéuticamente activas se pueden preparar mezclando los compuestos activos con uno o más auxiliares farmacológicamente

aceptables tolerados y/o excipientes, tales como agentes humectantes, solubilizadores tales como tensioactivos, vehículos, agentes de tonicidad, cargas, colorantes, enmascaradores del sabor, lubricantes, disgregantes, diluyentes, aglutinantes, plastificantes, emulgentes, bases para ungüentos, emolientes, agentes espesantes, polímeros, lípidos, aceites, codisolventes, agentes complejantes o sustancias tamponantes, y convirtiendo la mezcla en una forma farmacéutica adecuada, tal como, por ejemplo, comprimidos, comprimidos recubiertos, cápsulas, gránulos, polvos, cremas, ungüentos, geles, jarabes, emulsiones, suspensiones o soluciones adecuadas para la administración parenteral.

**[0050]** Ejemplos de auxiliares y/o excipientes que pueden mencionarse son cremofor, poloxámero, cloruro de benzalconio, laurilsulfato sódico, dextrosa, glicerina, estearato de magnesio, polietilenglicol, almidón, dextrina, lactosa, celulosa, carboximetilcelulosa sódica, talco, agar-agar, aceite mineral, aceite animal, aceite vegetal, ceras orgánicas y minerales, parafina, geles, propilenglicol, alcohol bencílico, dimetilacetamida, etanol, poliglicoles, tween 80, solutol HS 15 y agua.

**[0051]** También es posible administrar las sustancias activas tal cuales, sin vehículos o diluyentes, en una forma adecuada, por ejemplo, en cápsulas.

**[0052]** Como es habitual, la formulación galénica y el procedimiento de administración, así como el intervalo de dosificación son adecuados en un caso específico dependen de la especie que se va a tratar y del estado de la afección o enfermedad respectiva, y se puede optimizar usando procedimientos conocidos en la técnica. Como promedio, la dosis diaria del compuesto activo en un paciente es de 0,0005 mg a 15 mg por kg, normalmente 0,001 mg a 7,5 mg por kg.

**[0053]** Los siguientes ejemplos se proporcionan como ejemplos ilustrativos de la presente invención:

Ejemplo 1

Aislamiento del cultivo N<sup>o</sup> ZMA B-1 de la fuente marina

a) Composición del medio de aislamiento:

Caldo marino Zobell 2216 (agarificado con agar-agar al 1,5%)

**[0054]** 5,0 g de digesto péptico de tejido animal, 1,0 g de extracto de levadura, 0,1 g de citrato férrico, 19,45 g de cloruro sódico, 8,8 g de cloruro de magnesio, 3,24 g de sulfato sódico, 1,8 g de cloruro cálcico, 0,55 g de cloruro potásico, 0,16 g de bicarbonato sódico, 80,0 mg de bromuro potásico, 34,0 mg de cloruro de estroncio, 22,0 mg de ácido bórico, 4,0 mg de silicato sódico, 2,4 mg de fluorato sódico, 1,6 mg de nitrato de amonio, 8,0 mg de fosfato disódico, 15,0 mg de polvo de agar, 1,0 l de agua bidestilada, pH final (a 25 °C) 7,4 a 7,8.

b) Procedimiento

**[0055]** La muestra de esponja, *Spirastrella inconstans* var. *digitata* (Dendy) se recogió de Palk Bay en la costa de Tamil Nadu, India, mediante buceo a una profundidad de tres metros. La muestra de esponja se aclaró en agua marina estéril e inmediatamente se transfirió a recipientes estériles de polietileno. Los recipientes se almacenaron a -20 °C y se transportaron manteniendo la temperatura por debajo de 0 °C, al laboratorio para estudios posteriores. Al llegar al laboratorio, las muestras de esponja se almacenaron a menos de 0 °C y más tarde se descongelaron a temperatura ambiente (25 ± 2 °C) justo antes del aislamiento del cultivo. La muestra de esponja se cortó asépticamente en piezas de 2 x 2 cm y se suspendió en 5 ml de agua marina estéril en un tubo de ensayo esterilizado de 25 ml. El tubo de ensayo se agitó vorticialmente durante 30 segundos; el agua marina se drenó y se añadió agua de mar limpia. Se repitió el mismo proceso tres veces. Finalmente, el agua de mar se drenó y la pieza de esponja se puso sobre placas de petri que contenían el medio aislante que se ha mencionado anteriormente [caldo Zobell Marine Broth 2216 (agarificado con agar-agar al 1,5%); HiMedia]. La placa de petri se incubó a temperatura ambiente (25 ± 2 °C) hasta que se observó crecimiento en las placas. Las colonias que crecieron en las placas se aislaron en base a las características de la colonia y se sembraron por estriado en placas de petri que contenían el medio de aislamiento que se ha mencionado anteriormente [caldo Zobell Marine Broth 2216 (agarificado con agar-agar al 1,5%); HiMedia], Los aislados se subcultivaron repetidamente hasta que se obtuvo el cultivo puro N<sup>o</sup> ZMA B-1. Por lo tanto, el cultivo N<sup>o</sup> ZMA B-1 se aisló de entre los microorganismos cultivados en forma de un único aislado.

Ejemplo 2

Purificación del cultivo N<sup>o</sup> ZMA B-1



a) Composición del medio de asilamiento:

Caldo Marino Zobel 2216 (agarificado con agar agar al 1,5%)

**[0056]** 5,0 g de peptona, 1,0 g de extracto de levadura, 0,1 g de citrato férrico, 19,45 g de cloruro sódico, 8,8 g de cloruro de magnesio, 3,24 g de sulfato sódico, 1,8 g de cloruro cálcico, 0,55 g de cloruro potásico, 0,16 g de bicarbonato sódico, 0,08 g de bromuro potásico, 34,0 mg de cloruro de estroncio, 22,0 mg de ácido bórico, 4,0 mg de silicato sódico, 2,4 mg de fluorato sódico, 1,6 mg de nitrato de amonio, 8,0 mg de fosfato disódico, 15,0 g de agar, 1,0 l de agua desmineralizada, pH 7,4-7,8.

b) Procedimiento:

**[0057]** El cultivo estuvo disponible en caldo Zobell Marine Broth 2216 (agarificado con agar agar al 1,5%) en una placa de petri de 15 mm de diámetro. El cultivo de la placa de petri se sembró por estriado sobre un cultivo inclinado de caldo Zobel Marine Broth 2216 (agarificado con agar agar al 1,5%). El cultivo inclinado se incubó durante 2 días a 25 °C. Una de las colonias individuales de la parte superior del lecho inclinado se transfirió a nuevas placas inclinadas. Las placas inclinadas se incubaron durante 2 días a 25 °C. Después, se usaron para fermentación en matraces de agitación con el fin del primer cribado anti-infeccioso.

Ejemplo 3

Mantenimiento de la cepa productora - cultivo N° ZMA B-1

**[0058]**

a) Composición del medio (caldo Zobel Marine Broth 2216):

5,0 g de peptona, 1,0 g de extracto de levadura, 0,1 g de citrato férrico, 19,45 g de cloruro sódico, 8,8 g de cloruro de magnesio, 3,24 g de sulfato sódico, 1,8 g de cloruro cálcico, 0,55 g de cloruro potásico, 0,16 g de bicarbonato sódico, 0,08 g de bromuro potásico, 34,0 mg de cloruro de estroncio, 22,0 mg de ácido bórico, 4,0 mg de silicato sódico, 2,4 mg de fluorato sódico, 1,6 mg de nitrato de amonio, 8,0 mg de fosfato disódico, agar 15,0 mg, 1,0 l de agua desmineralizada, pH 7,4-7,8.

b) Después de disolver los ingredientes completamente por calentamiento, la solución resultante se distribuyó en tubos de ensayo y se esterilizó a 121 °C durante 30 min. Los tubos de ensayo se enfriaron y se les dejó solidificar en posición inclinada. Los inclinados de agar se sembraron por estriado con el cultivo ZMA B-1 por medio de un asa de alambre y se incubaron a 27-29 °C hasta que se observó un crecimiento bueno. Los cultivos que crecieron bien se almacenaron en el refrigerador a 4-8 °C.

Ejemplo 4

Fermentación del cultivo N° ZMA B-1 en matraces de agitación

**[0059]**

a) Composición del medio semilla (caldo Zobel Marine Broth 2216):

5,0 g de peptona, 1,0 g de extracto de levadura, 0,1 g de citrato férrico, 19,45 g de cloruro sódico, 8,8 g de cloruro de magnesio, 3,24 g de sulfato sódico, 1,8 g de cloruro cálcico, 0,55 g de cloruro potásico, 0,16 g de bicarbonato sódico, 0,08 g de bromuro potásico, 34,0 mg de cloruro de estroncio, 22,0 mg de ácido bórico, 4,0 mg de silicato sódico, 2,4 mg de fluorato sódico, 1,6 mg de nitrato de amonio, 8,0 mg de fosfato disódico, 1,0 l de agua desmineralizada, pH 7,4-7,8.

b) El medio anterior se distribuyó en porciones de 40 ml en matraces Erlenmeyer de 500 ml y se esterilizó en autoclave a 121 °C durante 30 min. Los matraces se enfriaron a temperatura ambiente y cada matraz se inoculó con una colonia de la cepa productora de buen crecimiento (cultivo N° ZMA B-1) en el medio inclinado y se agitó en un agitador rotatorio durante 24-48 horas a 230-250 rpm a 30 °C ( $\pm 1$  °C) para proporcionar el cultivo semilla.

c) Composición del medio de producción:

5,0 g de peptona, 1,0 g de extracto de levadura, 0,1 g de citrato férrico, 19,45 g de cloruro sódico, 8,8 g de cloruro de magnesio, 3,24 g de sulfato sódico, 1,8 g de cloruro cálcico, 0,55 g de cloruro potásico, 0,16 g de bicarbonato sódico, 0,08 g de bromuro potásico, 34,0 mg de cloruro de estroncio, 22,0 mg de ácido bórico, 4,0 mg de silicato sódico, 2,4 mg de fluorato sódico, 1,6 mg de nitrato de amonio, 8,0 mg de fosfato disódico, 1,0 l de agua desmineralizada, pH 7,4-7,8.

d) Se esterilizaron en autoclave 40 ml del medio de producción en matraces Erlenmeyer de 500 ml de

capacidad a 121 °C durante 30 min, se enfriaron a 29 °C-30 °C y se sembraron con 2 ml del cultivo semilla que se ha mencionado en el ejemplo 4b.

e) Parámetros de fermentación

Temperatura 29 °C-30 °C; agitación 230-250 rpm; tiempo de cosecha 48-72 horas.

5  
**[0060]** La producción del compuesto PM181104 en el caldo de fermentación se determinó probando la bioactividad frente a *Enterococcus faecium* R2 (VRE) y/o la cepa de *S. aureus* 3066 MRSA usando el procedimiento de difusión en agar. El pH de cosecha del caldo de cultivo fue de 7,0-8,0. El caldo de cultivo se cosechó y el total del caldo se utilizó para pruebas de bioactividad, lo que es indicativo de la presencia del compuesto PM181104 en el caldo fermentado.

Ejemplo 5

Preparación del cultivo semilla en los matraces de agitación para la fermentación

**[0061]**

a) Composición del medio:

5,0 g de peptona, 1,0 g de extracto de levadura, 0,1 g de citrato férrico, 19,45 g de cloruro sódico, 8,8 g de cloruro de magnesio, 3,24 g de sulfato sódico, 1,8 g de cloruro cálcico, 0,55 g de cloruro potásico, 0,16 g de bicarbonato sódico, 0,08 g de bromuro potásico, 34,0 mg de cloruro de estroncio, 22,0 mg de ácido bórico, 4,0 mg de silicato sódico, 2,4 mg de fluorato sódico, 1,6 mg de nitrato de amonio, 8,0 mg de fosfato disódico, 1,0 l de agua desmineralizada, pH 7,4-7,8.

b) El medio anterior se distribuyó en cantidades de 200 ml en matraces Erlenmeyer de 1 l y se esterilizó en autoclave a 121 °C durante 30 min. Los matraces se enfriaron hasta temperatura ambiente y cada matraz se inoculó con una colonia de la cepa productora que ya había crecido (cultivo N° ZMA B-1) en los medios inclinados y se agitó sobre un agitador rotatorio durante 24-48 horas a 230-250 rpm a 29 °C-31 °C para dar un cultivo semilla.

Ejemplo 6

Cultivo del cultivo N° ZMA B-1 en el fermentador

**[0062]**

a) Composición del medio de producción:

50,0 g de glucosa, 11,0 g de extracto de levadura, 4,0 g de peptona, 4,0 g de extracto de carne de res, 5 g de carbonato cálcico, 2,5 g de cloruro sódico, 1 l de agua desmineralizada, pH 7,6 (antes de la esterilización).

b) Se esterizaron *in situ* 250 l del medio de producción en un fermentador de 300 l junto con 80 ml de desmofeno como agente antiespumante, durante 30 min a 121 °C, se enfriaron a 29 °C-31 °C y se sembraron con 6 l del cultivo semilla que se ha mencionado en el ejemplo 5b.

c) Parámetros de fermentación:

Temperatura 30 °C-32 °C, agitación 100 rpm; aireación 150 lpm, tiempo de cosecha 44-66 horas.

**[0063]** La producción del compuesto PM181104 en el caldo de fermentación se determinó probando la bioactividad contra *S. aureus* 3066 (cepa MRSA) y/o *Enterococcus faecium* R2 (VRE) usando el procedimiento de difusión en agar. El pH de cosecha del caldo de cultivo fue de 7,0-8,0. El caldo de cultivo se cosechó y el caldo íntegro se usó para aislar y purificar el compuesto PM181104.

Ejemplo 7

Aislamiento y purificación del compuesto PM181104

**[0064]** El caldo completo (240 l) del Ejemplo 6 se cosechó y se extrajo usando acetato de etilo (240 l) mediante agitación en un recipiente de vidrio. La fase orgánica se separó usando un separador de pila de discos (Alfa-laval, modelo N° LAPX404) y se concentró para obtener el extracto en bruto (296 g). El material en bruto obtenido se agitó y se sónico durante 30 min usando éter de petróleo (3 x 1 l) y se filtró para obtener el residuo insoluble (38 g), que se sometió a cromatografía por cromatografía líquida al vacío usando el siguiente procedimiento.

**[0065]** El residuo insoluble (35,5 g) se disolvió en una mezcla de metanol y acetonitrilo (3:1, 400 ml) y se preadsorbió sobre LiChroprep RP-18 [25-40 µ, 40 g] y se aplicó a un embudo de filtro sinterizado (calidad G-4; 10 cm

5 x 10,5 cm) relleno con adsorbente LiChroprep RP-18 (25-40  $\mu$ , 110 g). Se realizó la elución usando una red de vacío (100-120 mm) inicialmente con agua (4 l) seguida de agua:metanol (1:1, 5 l), metanol (3 l), metanol:acetonitrilo (2,5 l) y acetonitrilo. El control de la purificación se realizó mediante bioensayo contra *Ent. faecium* R2 y/o *S. aureus* 3066 y/o HPLC analítica. El compuesto PM181104 se detectó en las fracciones de metanol, metanol:acetonitrilo y acetonitrilo. Tales fracciones se combinaron y se concentraron para obtener el material semipuro (1,826 g).

**[0066]** La purificación final se realizó mediante HPLC preparativa repetida usando las siguientes condiciones:

Columna : Eurospher RP-18 (10  $\mu$ , 32 x 250 mm)  
 Eluyente : acetonitrilo:agua (56:44)  
 Caudal : 50 ml/min  
 Detección (UV) : 220 nm  
 Tiempo de retención : 12-14 min

10 **[0067]** La pureza de las fracciones se comprobó mediante bioensayo contra *Ent. faecium* R2 y/o *S. aureus* 3066 y/o HPLC analítica. Los eluatos que contenían el compuesto PM181104 se combinaron y se concentraron a presión reducida para eliminar el disolvente para obtener 600 mg del compuesto puro.

**[0068]** Propiedades fisicoquímicas y espectrales del compuesto PM181104

15 Apariencia : sólido amorfo de color blanco  
 Punto de fusión : >300 °C (se descompone)  
 Solubilidad : Metanol, DMSO  
 HPLC : Tr 5,61 min  
 Columna : Kromasil C18 (5  $\mu$ ; 150 x 4,6 mm de D.I.) (temperatura de la columna 40 °C)  
 Fase móvil : agua:acetonitrilo (1:1)  
 Volumen de inyección : 10  $\mu$ l (concentración 0,1 mg/ml en la fase móvil)  
 Caudal : 1 ml/min  
 Detección : 220 nm  
 HR-IEN(+)-EM m/z : 1515,3733 (M+H)  
 Fórmula Molecular : C<sub>69</sub>H<sub>66</sub>N<sub>18</sub>O<sub>13</sub>S<sub>5</sub>  
 Peso Molecular : 1514  
 UV (MeOH) : 205,2, 220,6 y 306,2 nm (véase la figura 1)  
 IR (KBr) : 3368, 2981, 1654, 1516, 1429, 1314, 1199, 1269, 1074, 1034, 805, 580 cm<sup>-1</sup> (véase la figura 2)  
 RMN <sup>1</sup>H : véase la Tabla 1 y la figura 3  
 RMN <sup>13</sup>C : véase la Tabla 2 y la figura 4

Tabla 1: RMN <sup>1</sup>H del compuesto PM181104 en DMSO-d<sub>6</sub>

Pico	$\delta$	Pico	$\delta$	Pico	$\delta$
1	1,33-1,34 (d, 3H)	21	5,33 (m, 1H)	41	8,57-8,58 (d, 1H)
2	1,94 (m, 4H)	22	5,52 (s, 1H)	42	8,65 (s, 1H)
3	2,05-2,06 (m a, 1H)	23	5,63 (s, 1H)	43	8,81 (t, 2H)
4	2,12 (m a, 1H)	24	5,83 (s, 1H)	44	9,07 (s, 1H)
5	2,25-2,28 (d a, 1H)	25	5,92 (s, 1H)	45	9,16 (s, 1H)
6	2,40-2,42 (m a, 1H)	26	6,07 (s, 1H)	46	9,48 (s, 1H)
7	2,68 (s, 3H)	27	6,50 (s, 1H)	47	10,03 (s, 1H)
8	2,76-2,82 (m, 2H)	28	6,59-6,61 (d, 2H)		
9	2,97-2,99 (d, 1H)	29	6,86 (s, 1H)		
10	3,17-3,21 (m, 1H)	30	7,04-7,06 (d, 2H)		
11	3,24-3,26 (m, 1H)	31	7,17-7,18 (m, 1H)		
12	3,62 (t, 2H)	32	7,26 (d, 4H)		
13	3,69 (m, 1H)	33	7,30 (s, 1H)		
14	3,77 (s, 2H)	34	7,33-7,35 (d, 1H)		
15	4,49-4,50 (d, 1H)	35	7,53 (s, 1H)		
16	4,69-4,71 (t, 1H)	36	7,69 (s, 1H)		
17	4,80 (m, 1H)	37	7,90 (s, 1H)		
18	4,89 (m, 1H)	38	7,95 (s, 1H)		
19	4,93-4,97 (t, 1H)	39	8,27-8,29 (d, 2H)		
20	5,23 (t, 1H)	40	8,49-8,50 (d, 1H)		

Tabla 2: RMN <sup>13</sup>C del compuesto PM181104 en DMSO-d<sub>6</sub>

señal	δ	señal	δ	señal	δ
1	12,04	22	115,46*	43	151,04
2	16,88	23	116,92	44	152,08
3	25,16*	24	118,77	45	153,43
4	29,42	25	122,84	46	154,20
5	33,09	26	123,39	47	156,27
6	36,67	27	124,33	48	156,45
7	37,00	28	127,08	49	159,06
8	38,62	29	127,36	50	161,27
9	38,73	30	128,71*	51	161,54*
10	47,22	31	129,18	52	162,79
11	47,76	32	129,76*	53	163,35
12	47,88	33	130,11	54	165,58
13	48,88	34	130,99*	55	167,95
14	52,69	35	133,99	56	169,68
15	54,43	36	135,17	57	170,39
16	59,92	37	136,87	58	171,03
17	60,56	38	137,67	59	171,77
18	77,80	39	140,92	60	171,96
19	103,89	40	147,97	61	173,51
20	104,94	41	149,73	62	174,14
21	107,52	42	150,83	63	174,90

\* dos carbonos

EVALUACIÓN BIOLÓGICA DEL COMPUESTO PM181104

5

Ensayo *in vitro*

Ejemplo 8

10

**[0069]** La potencia *in vitro* se estableció con determinaciones de la concentración inhibitoria mínima (CIM) del compuesto PM181104 frente a cepas bacterianas, usando el método de dilución Macro-caldo según las directrices del National Committee for Clinical Laboratory Standard (2000) [Journal of Anti-microbial Chemotherapy, 2002, 50, 125-128 (Referencia cruzada 8: Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically-Fifth Edition: Approved Standard M7-A5. NCCLS, Wayne, PA, Estados Unidos)]. A menos que se indique otra cosa, se uso caldo Mueller-Hilton como medio nutritivo para el ensayo. Se utilizó Linezolid (elaborada por Glenmark Pharma Ltd; Lote N° K2005028) como estándar conocido en todos los experimentos *in vitro*. Para la preparación de la solución madre se disolvió el compuesto PM181104 en cloroformo (5% del volumen total requerido) y se diluyó usando metanol (95% del volumen total requerido).

15

20

Resultado:

**[0070]** Los resultados obtenidos se muestran Tabla 3 a continuación, y demuestran que el compuesto PM181104 es útil en el tratamiento de infecciones bacterianas.

25

Tabla 3: CIM del compuesto PM181104 frente a cepas bacterianas

Organismo de prueba	CIM (µg/ml)	Organismo de prueba	CIM (µg/ml)
<i>S. aureus</i> KEM-MRSA1	0,03125	<i>S. epidermidis</i> 32965	0,03125
<i>S. aureus</i> KEM-MRSA2	0,03125	<i>S. haemolytica</i> 809	0,0625
<i>S. aureus</i> KEM-MRSA7	0,01563	<i>Enterococci</i> KEM-VRE26	0,00781
<i>S. aureus</i> KEM-MRSA8	0,01563	<i>Enterococci</i> KEM-VRE27	0,00391
<i>S. aureus</i> KEM-MRSA11	0,0625	<i>Enterococci</i> KEM-VRE28	0,00781
<i>S. aureus</i> KEM-MRSA12	0,01563	<i>Enterococci</i> KEM-VRE29	0,00391
<i>S. aureus</i> KEM-MRSA18	0,01563	<i>E. faecium</i> (R-2)	0,00781
<i>S. aureus</i> KEM-MRSA19	0,00781	<i>E. faecium</i> (VR-1)	0,00781
<i>S. aureus</i> KEM-MRSA20	0,01563	<i>E. faecium</i> D-59	0,00781
<i>S. aureus</i> KEM-MRSA21	0,01563	<i>E. faecium</i> D 18F	0,00781
<i>S. aureus</i> KEM-MRSA22	0,00781	<i>E. faecium</i> (02-D3IP1)	0,00391

<i>S. aureus</i> KEM-MRSA23	0,01563	<i>E. faecium</i> 4045H	0,00781
<i>S. aureus</i> KEM-MRSA24	0,00781	<i>E. faecalis</i> (FH-1)	0,00391
<i>S. aureus</i> KEM-MRSA25	0,01563	<i>E. faecalis</i> (uD.8b)	0,00391
<i>S. aureus</i> Lilavati-MRSA3	0,01563	<i>E. faecalis</i> 4073H	0,00781
<i>S. aureus</i> Rehaja-MRSA1	0,03125	<i>E. faecium</i> ATCC 51559	0,00781
<i>S. aureus</i> Bom-MRSA2	0,0625	<i>E. faecalis</i> , ATCC 51299	0,01563
<i>Staphylococcus aureus subsp. aureus</i> ATCC 33591	0,03125	<i>E. faecalis</i> ATCC 51575	0,03125
<i>S. aureus</i> (789)	0,00781	<i>E. faecalis</i> ATCC BAA 472	0,01563
<i>S. aureus</i> (20666)	0,01563	<i>B. cereus</i>	0,00391
<i>S. aureus</i> (3066)	0,03125	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	0,00781
<i>S. aureus</i> SG511	0,0625	<i>B. subtilis</i>	0,01563
<i>S. aureus</i> wien 8	0,01563	<i>B. megaterium</i> FH 1127	0,00781
<i>S. aureus</i> wien 13	0,0625	<i>B. firmus</i>	0,01563
<i>S. aureus</i> C1 3184	0,0625	<i>Streptococcus hiraе</i> 55	0,00391
<i>S. aureus</i> (E710)	0,03125	<i>Streptococcus equinus</i> 02 D5 Gr1	0,01563
<i>S. aureus</i> ATCC29213	0,03125	<i>Streptococcus durans</i> 4939 (1) H	0,00781
<i>S. epidermidis</i> 5744IW	0,01563	<i>Streptococcus durans</i>	0,00781
<i>S. epidermidis</i> Pat 01 IV	0,0625	<i>Salmonella typhi</i> Para A	>1
<i>S. epidermidis</i> 823	0,03125	<i>Pse.aeruginosa</i> (M-35)	>1
<i>S. epidermidis</i> 6098	0,0625	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	>1
<i>S. epidermidis</i> 6493II(2) W	0,0625	<i>Citrobacterdiversus</i> 2046E	>1
<i>S. epidermidis</i> 10221II W	0,00781	<i>E. coli</i> SS	>1
Las abreviaturas usadas en la tabla 3 son: <i>S:</i> <i>Staphylococcus</i> <i>E:</i> <i>Enterococci</i> <i>B:</i> <i>Bacillus</i>			

Ensayo *in vivo*

5 **[0071]** Se estableció la potencia *in vivo* por medio de determinaciones de dosis de protección (PD) del compuesto PM181104 para su actividad antibiótica en tres modelos animales usando ratones Balb/C, tanto machos como hembras.

10 **[0072]** Los modelos usados fueron los modelos de prueba de eficacia con fines generales y otros modelos de prueba de eficacia específica en órganos/tejidos. Los modelos de prueba de eficacia con fines generales que se utilizaron fueron el modelo de infección sistémica (septicemia), el modelo de infección localizada (modelo de muslo neutropénico). Los modelos de infección específica Órgano/Tejido que se utilizaron para la prueba de eficacia fueron modelo de riñón, de infección de pulmón, de absceso dérmico.

15 Ejemplo 9

Modelo de infección sistémica

20 **[0073]** Los animales se infectaron por vía intraperitoneal con  $\sim 10^8$  a  $10^9$  cfu de un cultivo durante una noche de *Staphylococcus aureus* E710 (MRSA) resistente a la meticilina, suspendido en solución salina normal (0,85% de cloruro sódico). La solución de PM181104 se preparó en una formulación cremofor-etanol, según se describe en el ejemplo 14. La solución se administró por vía intravenosa en dosis de 5 mg, 2,5 mg y 1,25 mg/kg, inmediatamente después de la infección. Cada grupo experimental consistía en diez animales. Se determinó que el PD<sub>100</sub> del PM181104 para el modelo de septicemia es de 5 mg/kg en comparación con el antibiótico estándar Linezolid (fabricado por Glenmark Pharma Ltd; Lote N° K2005028) cuyo PD<sub>100</sub> fue de 25 mg/kg.

25 Ejemplo 10

Modelo Neutropénico en muslo

30 **[0074]** Los ratones se hicieron neutropénicos con ciclofosfamida (150 mg y 100 mg/kg) a 96 y 24 horas, respectivamente, antes de la infección con *S. aureus* E-710. Se infectaron los animales en los músculos por vía intramuscular con  $\sim 10^7$  cfu de un cultivo cultivado durante una noche de *S. aureus* E-710, suspendido en salmuera normal (cloruro sódico al 0,85%). Cada grupo experimental consistió en seis animales. Se preparó el PM181104 en

una formulación de cremofor-etanol según se describe en el ejemplo 14. La solución se administró por vía intravenosa en dosis de 5 mg/kg, después de dos horas de la infección. Se sacrificó a los animales en varios puntos del tiempo y el tejido del músculo se cosechó para determinar el recuento de microorganismos viables. Se observó una disminución aproximadamente de 1 log con PM181104 en dosis de 5 mg/kg, en el punto de tiempo de 6 horas, que fue comparable con el antibiótico estándar utilizado viz. Linezolid (fabricado por Glenmark Pharma Ltd; Lote N° K2005028) con dosis de 25 mg/kg.

## Ejemplo 11

## 10 Modelo de infección en riñón

**[0075]** Se administraron por vía intravenosa 0,2 ml de  $\lambda$  carragenano al 2% a ratones Balb/C siete días posteriores a la infección. Se inyectó por vía intravenosa un cultivo en crecimiento durante una noche en fase log de *Enterococcus faecium* ATCC 47077 ajustado aproximadamente a  $10^9$  cfu/ml, a los ratones a un volumen de 0,2 ml. Se administró a los ratones la solución de PM181104, preparada en una formulación de cremofor-etanol según se describe en el ejemplo 14, por vía intravenosa a las 4 horas, 24 horas y 48 horas después de la infección. A las 72 horas después de la infección, se sacrificaron los animales y los riñones se recolectaron para determinar la carga bacteriana. Se observó una disminución en el recuento bacteriano de aproximadamente 1 Log con dosis de 5 mg/kg de PM181104, que fue comparable con el antibiótico estándar utilizado viz. Linezolid (fabricado por Glenmark Pharma Ltd; Lote N° K2005028) en 25 mg/kg y clorhidrato de vancomicina (fabricado por HiMedia; Catálogo N° RM217-500 mg; Lote N° 06-0350) en dosis de 150 mg/kg.

## Ejemplo 12

## 25 Modelo de infección en pulmón

**[0076]** Se hicieron neutropénicos los ratones Balb/C mediante administración por vía intraperitoneal de 200 mg/kg de ciclofosfamida cuatro y dos días antes de la infección. El día de la infección, los ratones se anestesiaron y se infectaron con un cultivo en suspensión en fase log de *S. aureus* E-710 con densidad bacteriana de aproximadamente  $10^6$  a  $10^7$  cfu/ml. A las 24 y 36 horas posteriores a la infección, se administraron por vía intravenosa las primera y segunda dosis respectivas del medicamento. A las 48 horas posteriores a la infección se practicó la eutanasia a los ratones y sus pulmones se colectaron asépticamente para determinar el recuento de bacterias viables. En este modelo, el PM181104 se probó en dosis de 5 mg/kg preparado en una formulación en cremofor-etanol como se describe en el ejemplo 14. Se utilizaron como controles positivos dos antibióticos estándares viz. Linezolid (una sola dosis de 80 mg/kg a las 24 horas posteriores a la infección) y Vancomicina (dos dosis de 110 mg/kg a las 24 y 48 horas posteriores a la infección). El PM181104 mostró tener actividad bacteriostática, que fue comparable con la del estándar Linezolid (fabricado por Glenmark Pharma Ltd; Lote N° K2005028). El clorhidrato de vancomicina estándar (fabricado por HiMedia; catalogo N° RM217-500 mg; Lote N° 06-0350) mostró un perfil bacteriano. Había aproximadamente 2 Log de diferencia en el recuento bacteriano en los pulmones de animales tratados con PM181104 en comparación con los de los animales de control no tratados.

## Ejemplo 13

## 45 Modelo de absceso en la piel

**[0077]** Se infectaron ratones Balb/C por vía subcutánea con aproximadamente  $10^8$  cfu de un cultivo en crecimiento durante una noche de *S. aureus* E710 (MRSA) resistente a la meticilina. Las bacterias se suspendieron en una mezcla 1:1 de perlas de citodex al 2% en solución salina normal (cloruro sódico al 0,85%). Se preparó PM181104 en una formulación de cremofor-etanol como se describe en el ejemplo 14. Se administró la solución por vía intravenosa en dosis de 2,5 mg, 5 mg y 10 mg/kg, dos horas después de la infección. Cada grupo experimental contenía seis animales. Después de la formación de abscesos, los animales se sacrificaron y se cosecharon los abscesos para determinar las cuentas viables. Se observó una disminución en el recuento bacteriano de aproximadamente 1 Log con la dosis de 5 mg/kg de PM181104, que fue comparable con el antibiótico estándar utilizado viz. Linezolid (fabricado por Glenmark Pharma Ltd; Lote N° K2005028) en dosis de 50 mg/kg.

## 55 FORMULACIÓN DEL COMPUESTO PM181104

## Ejemplo 14

60 **[0078]** Se prepararon formulaciones inyectables mediante el siguiente procedimiento general:

Se mezclaron etanol y cremofor EL en una proporción 1:1 (en peso). A esto se le añadió PM181104 y se agitó

vorticionalmente. Esta mezcla se sónico a 25 °C. Esta mezcla (considerándola como constituyente al 10%) se diluyó añadiendo agua (90%) y se agitó vorticionalmente para obtener la formulación inyectable.

DERIVADOS DEL COMPUESTO PM181104

5 Ejemplo 15

Derivado del éster del ácido butírico de PM181104

10 **[0079]** A una solución de PM181104 (0,13 g, 0,085 mmol) en diclorometano (2 ml) se le añadieron ácido butírico (0,008 µl, 0,085 mmol), DCC (0,018 g, 0,085 mmol) y una cantidad catalítica de DMAP (0,002 g, 0,016 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 18 h en una atmósfera de nitrógeno. A la mezcla de reacción se le añadió agua fría y la fase orgánica se separó; la fase acuosa se extrajo con diclorometano (3 x 50 ml), los extractos orgánicos se combinaron y se lavaron con agua (2 x 30 ml). La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico anhidro y se concentró.  
15 El producto en bruto se purificó usando cromatografía en columna [gel de sílice (malla 60-120), metanol al 4% en cloroformo] para obtener el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco. Rendimiento: 0,11 g (81%); EM m/z (IEN): 1585 (M+H)

20 **[0080]** El derivado del éster del ácido butírico de PM181104 mostró un valor de CIM de 2,5 µg/ml frente a *E. faecium* R-2, cepa bacteriana (VRE).

Ejemplo 16

Derivado del ácido esteárico de PM181104

25 **[0081]** A una solución de PM181104 (0,12 g, 0,079 mmol) en diclorometano (2 ml) se le añadieron ácido esteárico (0,022 µl, 0,079 mmol), DCC (0,016 g, 0,079 mmol) y una cantidad catalítica de DMA (0,002 g, 0,016 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 6 h en una atmósfera de nitrógeno. A la mezcla de reacción se le añadió agua fría y la fase orgánica se separó; la fase acuosa se extrajo con diclorometano, (3 x 50 ml), los extractos orgánicos se combinaron y se lavaron con agua (2 x 30 ml). La fase orgánica se secó con sulfato sódico anhidro y se concentró.  
30 El producto en bruto se purificó usando cromatografía en columna [gel de sílice (malla 60-120), metanol al 4% en cloroformo] para obtener el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco. Rendimiento 0,1 g (71%); EM m/z (IEN): 1781 (M+H).

35 **[0082]** El derivado del éster del ácido esteárico de PM181104 mostró un valor de CIM del 1,25 µg/ml frente a la cepa bacteriana (VRE) *E. faecium* R-2.

Ejemplo 17

40 Derivado del éster del ácido nicotínico de PM181104

**[0083]** A una solución de PM181104 (0,02 g, 0,013 mmol) en N,N-dimetilformamida (1 ml) se le añadieron ácido nicotínico (0,008 g, 0,065 mmol), DCC (0,014 g, 0,065 mmol) y una cantidad catalítica de DMAP (0,0008 g, 0,0065 mol) y la mezcla de reacción se agitó durante 18 h en una atmósfera de nitrógeno. El disolvente se eliminó y al residuo se le añadieron 10 ml de diclorometano. La urea sin disolver se filtró y el filtrado se lavó con agua (2 x 10 ml). La fase orgánica se secó con sulfato sódico anhidro y se concentró a sequedad. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna [columna de fase inversa C-18 (Euroesfera, 20 nm), acetonitrilo al 55% en agua] para obtener el compuesto del título en forma un sólido de color blanco. Rendimiento 0,011 g (56%); EM m/z (IEN): 1621 (M+H).  
50

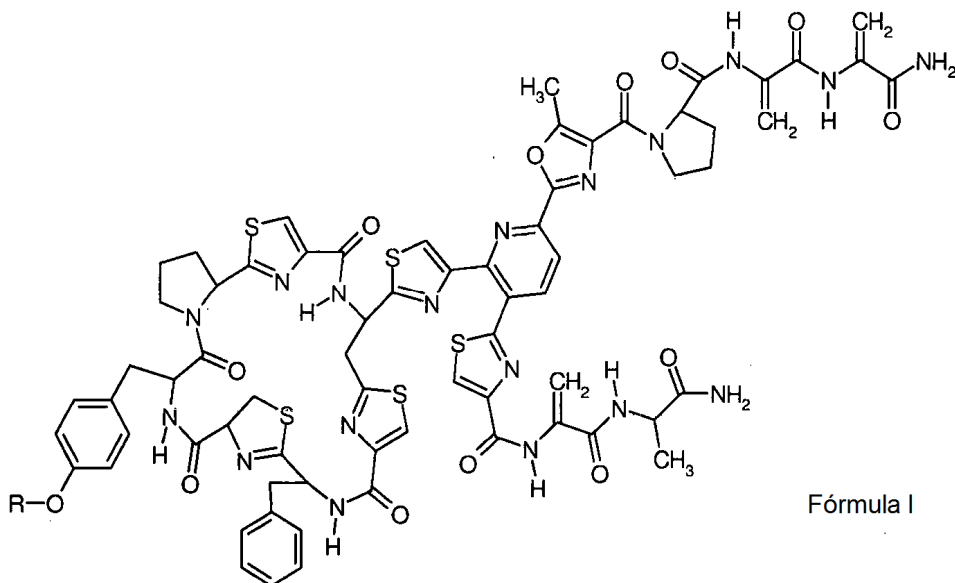
**[0084]** El derivado del éster del ácido nicotínico de PM181104 se probó frente a cepas bacterianas. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 4 que se indica a continuación, y demuestran que el derivado del éster del ácido nicotínico de PM181104 es útil en el tratamiento de infecciones bacterianas.

55 Tabla 4. CIM del derivado del éster del ácido nicotínico del PM181104 frente a cepas bacterianas.

Organismo de prueba	CIM (µg/ml)	Organismo de prueba	CIM (µg/ml)
<i>E. faecalis</i> ATCC 51299	0,312	<i>E. faecium</i> R-2 (VRE)	0,312
<i>E. faecalis</i> ATCC 51575	0,312	<i>S. aureus</i> MRSA ATCC 33591	>10
<i>E. faecalis</i> ATCC BAA472	0,312	<i>S. aureus</i> MRSA E710	>10
<i>E. faecium</i> ATCC 51559	0,156		

## REIVINDICACIONES

1. Compuestos de la siguiente fórmula I;



5 en la que R = H, alquilo, alquilcarbonilo, (HO)<sub>2</sub>PO-, alquil-OPO(OH)-, (alquil-O)<sub>2</sub>PO-, cicloalquilo, cicloalquilcarbonilo, arilo, arilcarbonilo, heterociclilo y heterociclil carbonilo; o estereoisómeros o tautómeros o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

10 2. El compuesto como se ha indicado en la reivindicación 1, en el que en los compuestos de fórmula I, R es H; dicho compuesto se designa como PM181104; o un estereoisómero o un tautómero o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

15 3. El compuesto designado como PM181104 como se ha indicado en la reivindicación 2, o un estereoisómero o un tautómero del mismo, cuyo compuesto se aísla del caldo fermentado del microorganismo perteneciente a la especie Kocuria (ZMA B-1/MTCC 5269) y está **caracterizado por**:

(a) peso molecular de 1514,

(b) fórmula molecular C<sub>69</sub>H<sub>66</sub>N<sub>18</sub>O<sub>13</sub>S<sub>5</sub>,

(c) absorbancias de espectro de UV (MeOH) a 205,2, 220,6 y 306,2 nm,

20 (d) absorbancias del espectro IR (KBr) a 3368, 2981, 1654, 1516, 1429, 1314, 1199, 1269, 1074, 1034, 805, 580 cm<sup>-1</sup>,

25 (e) espectro RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 10,03 (s, 1 H), 9,48 (s, 1 H), 9,16 (s, 1 H), 9,07 (s, 1 H), 8,81 (t, 2H), 8,65 (s, 1 H), 8,57-8,58 (d, 1 H), 8,49-8,50 (d, 1 H), 8,27-8,29 (d, 2H), 7,95 (s, 1 H), 7,90 (s, 1 H), 7,69 (s, 1 H), 7,53 (s, 1 H), 7,33-7,35 (d, 1H), 7,30 (s, 1 H), 7,26 (d, 4H), 7,17-7,18 (m, 1 H), 7,04-7,06 (d, 2H), 6,86 (s, 1 H), 6,59-6,61 (d, 2H), 6,50 (s, 1H), 6,07 (s, 1 H), 5,92 (s, 1H), 5,83 (s, 1 H), 5,63 (s, 1 H), 5,52 (s, 1 H), 5,33 (m, 1 H), 5,23 (t, 1 H), 4,93-4,97 (t, 1 H), 4,89 (m, 1 H), 4,80 (m, 1 H), 4,69-4,71 (t, 1 H), 4,49-4,50 (d, 1 H), 3,77 (s, 2H), 3,69 (m, 1 H), 3,62 (t, 2H), 3,24-3,26 (m, 1 H), 3,17-3,21 (m, 1 H), 2,97-2,99 (d, 1 H), 2,76-2,82 (m, 2H), 2,68 (s, 3H), 2,40-2,42 (m a, 1 H), 2,25-2,28 (d a, 1 H), 2,12 (m a, 1 H), 2,05-2,06 (m a, 1 H), 1,94 (m, 4H) y 1,33-1,34 (d, 3H),

30 (f) espectro RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 174,90, 174,14, 173,51, 171,96, 171,77, 171,03, 170,39, 169,68, 167,95, 165,58, 163,35, 162,79, 161,54 (2C), 161,27, 159,06, 156,45, 156,27, 154,20, 153,43, 152,08, 151,04, 150,83, 149,73, 147,97, 140,92, 137,67, 136,87, 135,17, 133,99, 130,99 (2C), 130,11, 129,76 (2C), 129,18, 128,71 (2C), 127,36, 127,08, 124,33, 123,39, 122,84, 118,77, 116,92, 115,46 (2C), 107,52, 104,94, 103,89, 77,80, 60,56, 59,92, 54,43, 52,69, 48,88, 47,88, 47,76, 47,22, 38,73, 38,62, 37,00, 36,67, 33,09, 29,42, 25,16 (2C), 16,88 y 12,04.

35

4. Un procedimiento para la producción del compuesto designado como PM181104 como se ha indicado en la reivindicación 2 o la reivindicación 3, que comprende las etapas de:



(a) cultivar el microorganismo de la especie *Kocuria* (ZMA B-1/MTCC 5269) o una de sus variantes o mutantes en condiciones aerobias sumergidas en un medio nutritivo que contiene fuentes de carbono y nitrógeno para producir el compuesto PM181104,

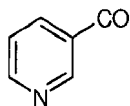
(b) aislar el compuesto PM181104 del caldo fermentado, y

(c) purificar el compuesto PM 181104.

5 **5.** Un procedimiento como se ha indicado en la reivindicación 4, que comprende adicionalmente la etapa de convertir el compuesto designado como PM181104 en su sal farmacéuticamente aceptable.

10 **6.** El procedimiento como se ha indicado en la reivindicación 4, que comprende adicionalmente la etapa de hacer reaccionar el compuesto designado como PM181104 con un ácido que tiene la fórmula RCOOH; en la que R es alquilo, cicloalquilo, arilo o heterociclilo, para obtener el compuesto de fórmula I como se ha indicado en la reivindicación 1, en la que R = alquilo, cicloalquilo, arilo y heterociclilo.

15 **7.** El compuesto como se ha indicado en la reivindicación 1, en el que R = CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>15</sub>CH<sub>2</sub>CO o



20 **8.** Una composición farmacéutica, que comprende una cantidad eficaz de un compuesto como se ha indicado en la reivindicación 1, con al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable o un aditivo o un auxiliar.

**9.** La composición farmacéutica como se ha indicado en la reivindicación 8, en la que la composición farmacéutica está en forma de un comprimido, comprimido recubierto, cápsula, gránulo, polvo, crema, pomada, gel, emulsión, suspensión o solución para inyección.

25 **10.** La composición farmacéutica como se ha indicado en la reivindicación 8, en la que dicha composición está adaptada para el tratamiento de una infección bacteriana.

**11.** La composición farmacéutica como se ha indicado en la reivindicación 10, en la que dicha infección bacteriana está provocada por bacterias pertenecientes a la especie *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus* o *Bacillus*.

30 **12.** La composición farmacéutica como se ha indicado en la reivindicación 11, en la que dichas bacterias pertenecen a la especie *Staphylococcus* o *Enterococcus*.

**13.** La composición farmacéutica como se ha indicado en la reivindicación 12, en la que dicha bacteria perteneciente a la especie *Staphylococcus* es resistente a la metilina.

**14.** La composición farmacéutica como se ha indicado en la reivindicación 12, en la que dicha bacteria perteneciente a la especie *Staphylococcus* es resistente a la vancomicina.

40 **15.** La composición farmacéutica como se ha indicado en la reivindicación 12, en la que dicha bacteria perteneciente a la especie *Enterococcus* es resistente a la vancomicina.

**16.** Uso de los compuestos como se ha indicado en la reivindicación 1, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una infección bacteriana.

45

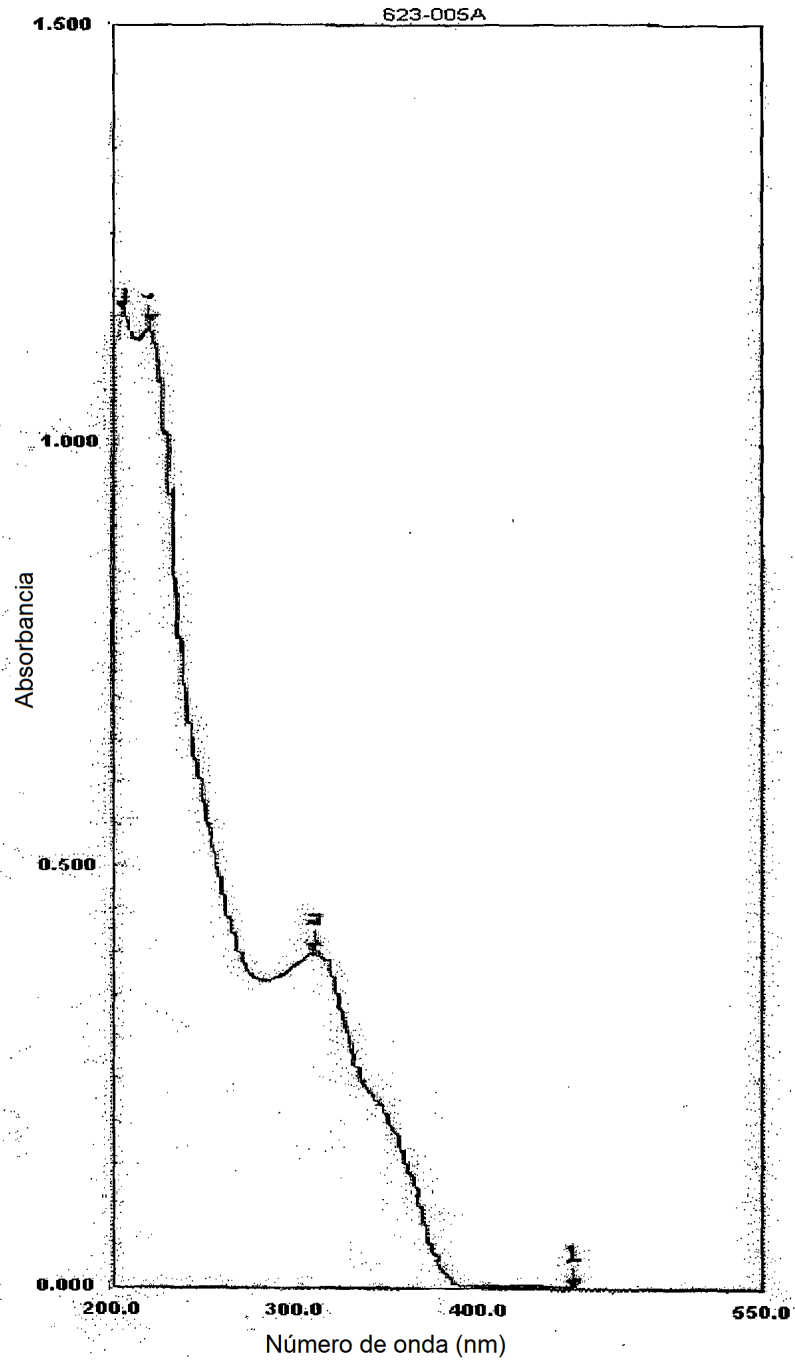


Fig. 1

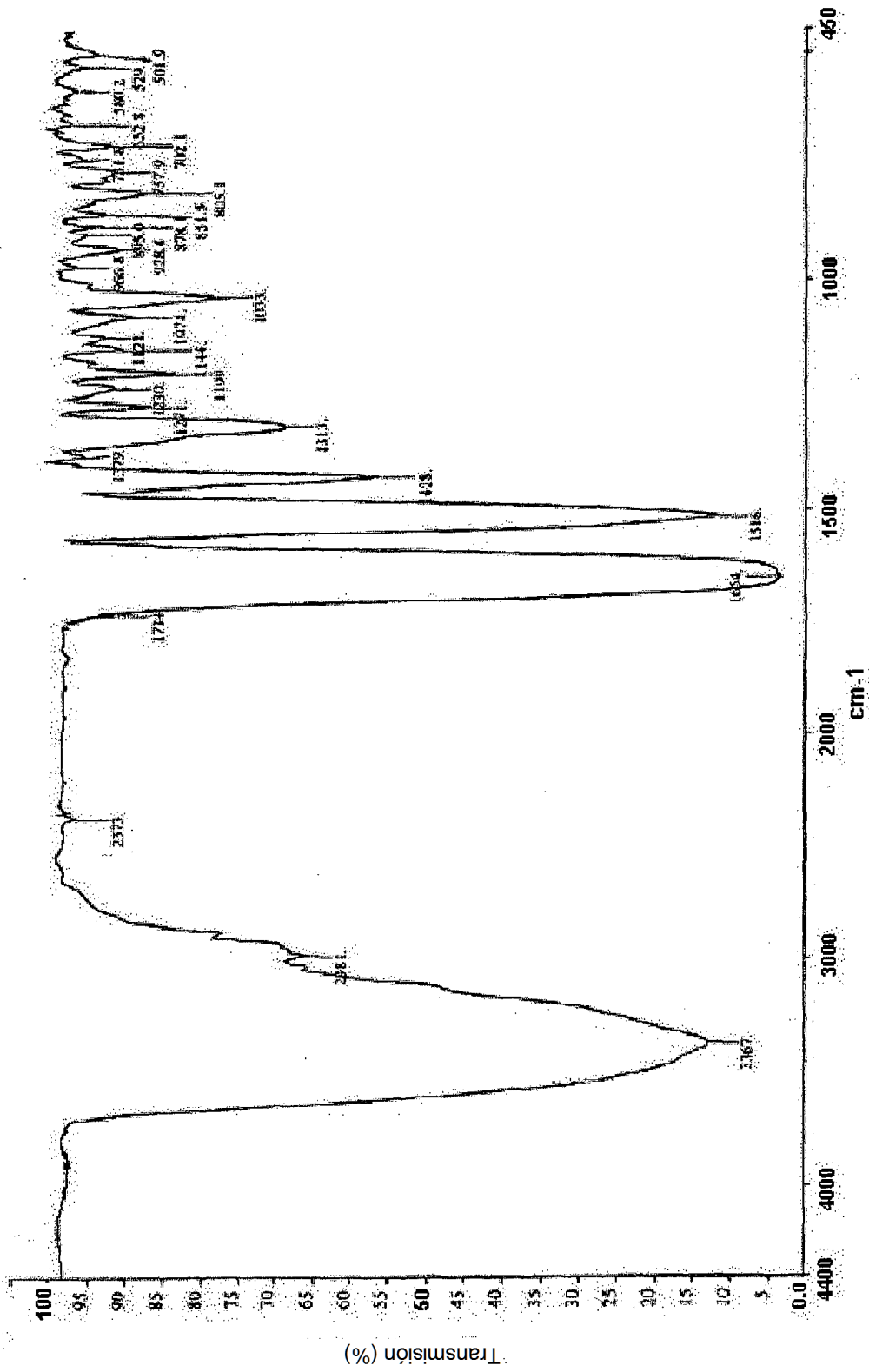


Fig. 2

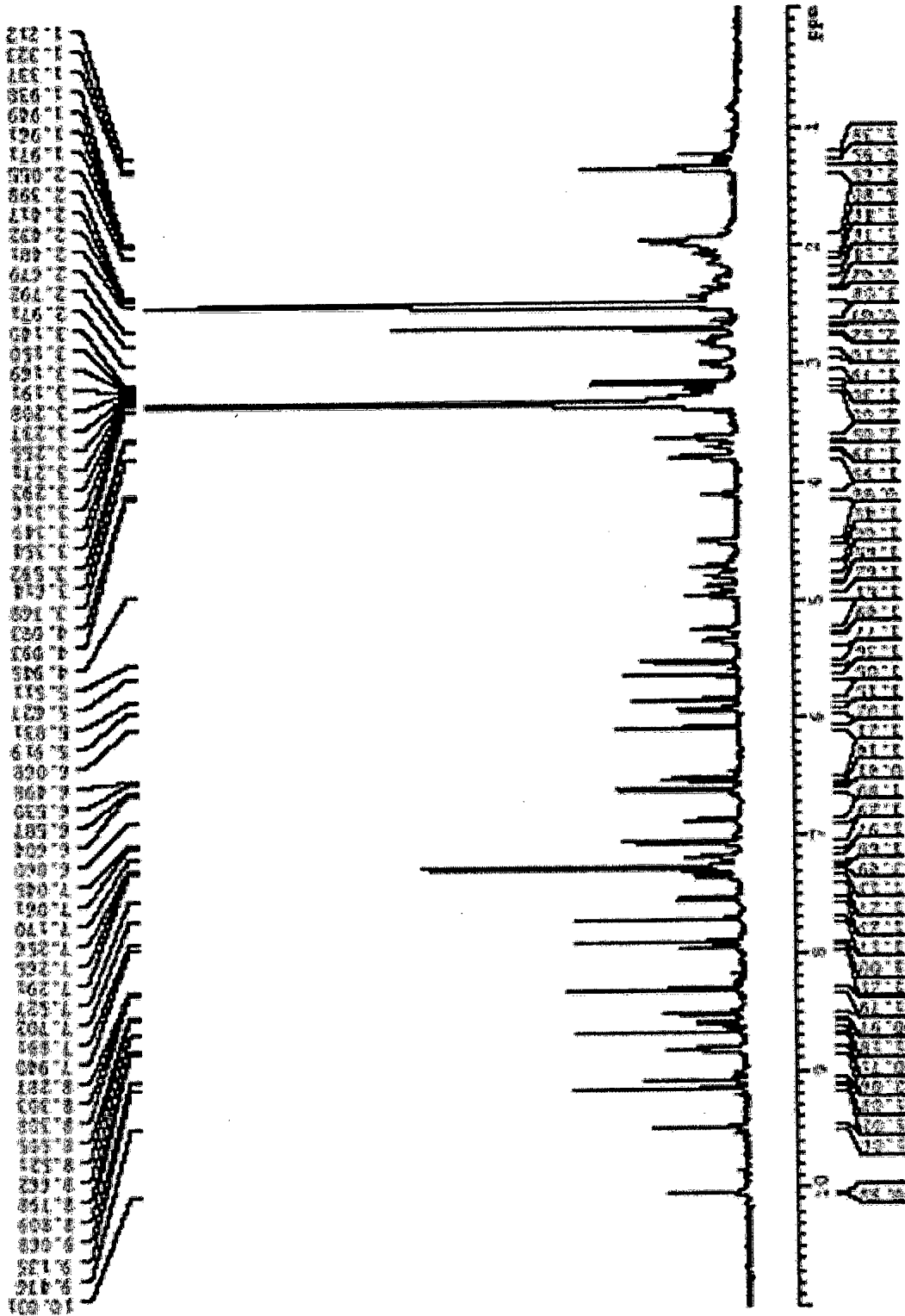


Fig. 3

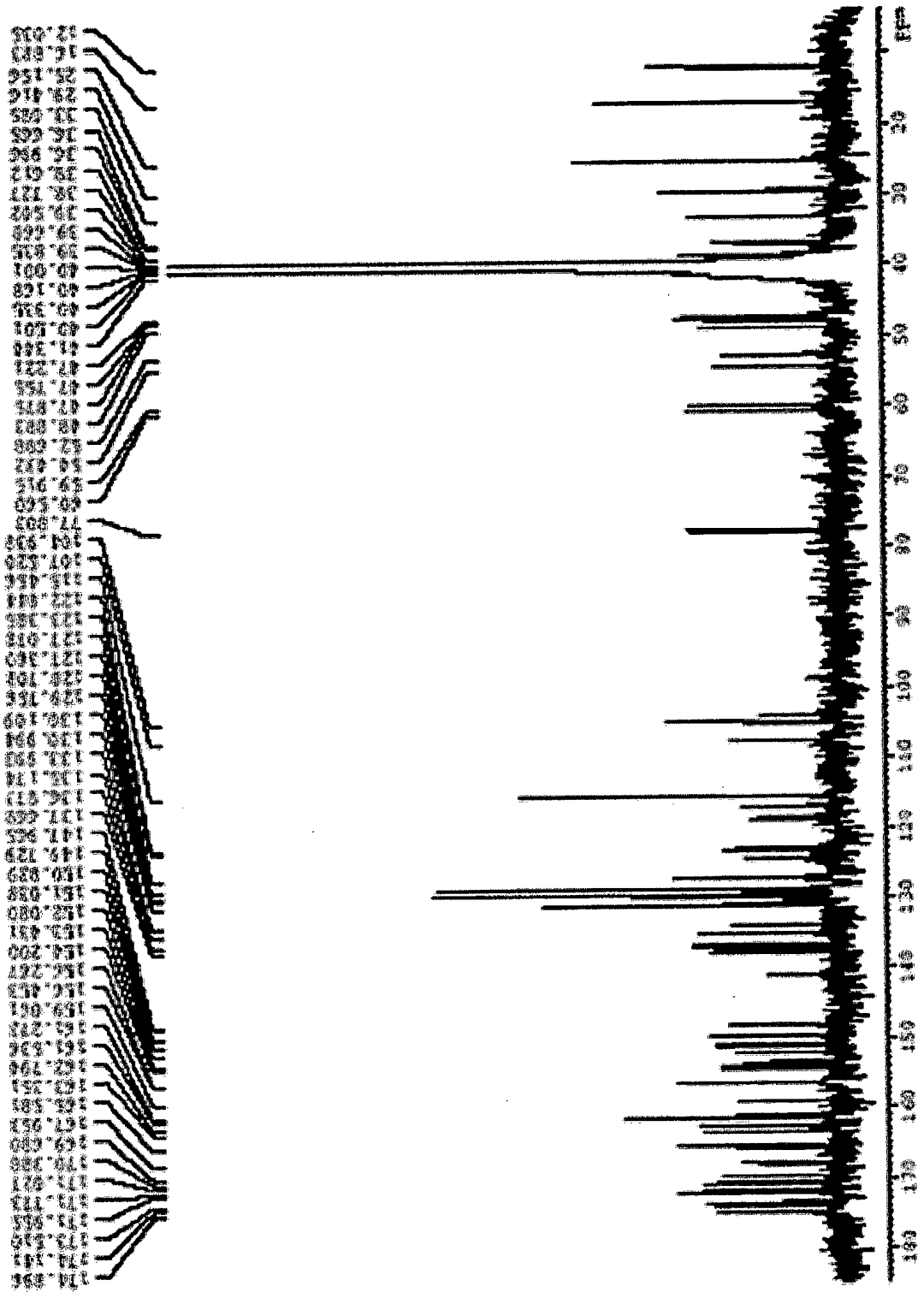


Fig. 4