

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 520 165**

51 Int. Cl.:

**C07K 7/54** (2006.01)

**A61K 38/12** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.01.2010** **E 10700336 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.08.2014** **EP 2387580**

54 Título: **Derivados de desoxiactagardina**

30 Prioridad:

**14.01.2009 US 144490 P**

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

**11.11.2014**

73 Titular/es:

**NOVACTA BIOSYSTEMS LIMITED (100.0%)  
BioPark Hertfordshire Broadwater Road  
Welwyn Garden City Hertfordshire AL7 3AX, GB**

72 Inventor/es:

**WADMAN, SJOERD NICOLAAS**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

**ES 2 520 165 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

Derivados de desoxiactagardina

5 La presente invención se refiere a determinados compuestos nuevos, composiciones farmacéuticas que comprenden los mismos y al uso de los compuestos y composiciones para el tratamiento de infecciones microbianas en particular infección por *C. difficile*, especialmente en el colon y/o la parte inferior del intestino.

10 Muchos compuestos antibióticos se han identificado a partir de fuentes naturales incluyendo microorganismos. Con frecuencia, los compuestos antibióticos tienen una estructura química complicada y en particular una estructura estereoquímica complicada.

15 Recientemente, se ha identificado una nueva serie química de antibióticos, en el documento WO 2007/083112, basada en desoxiactagardina B. La desoxiactagardina B se sintetiza por medio de la bacteria *Actinoplanes liguriae* y ella misma y un número de sus derivados muestran propiedades antibacterianas prometedoras.

20 Ahora se han identificado nuevos compuestos de desoxiactagardina de tipo A y B con propiedades optimizadas, lo que los convierte en particularmente apropiados para su uso en el tratamiento de infecciones microbianas, por ejemplo infección por *Clostridium*, tal como *C. perfringens*, *C. difficile*, *C. tetani* y/o *C. botulium*, en particular *C. difficile*, especialmente la infección de colon y/o parte inferior del intestino y diarrea asociada a infección microbiana.

En un aspecto se proporciona Desoxiactagardina B (7-amino-1-heptilamida monocarboxamida, y sus sales farmacéuticamente aceptables, solvatos e hidratos).

25 Los compuestos de la divulgación resultan ventajosos porque tienen una actividad antibacteriana muy elevada frente a una o más cepas de *C. difficile*, por ejemplo cuando la actividad se mide por medio de un ensayo convencional tal como concentraciones mínimas inhibitoras (MICs), generalmente los compuestos de la divulgación tiene un MIC de 2 µg/ml o menos frente a una o más cepas de *C. difficile*. Además, el compuesto de la divulgación tiene una actividad muy elevada frente a un número de cepas comunes de *C. difficile*.

30 Adicionalmente, los compuestos de la presente divulgación se adaptan particularmente a la administración a humanos y animales debido a que tienen baja actividad antibacteriana frente a flora intestinal sana de origen natural que se encuentra en el cuerpo. En el caso del tratamiento de diarrea inducida por una infección microbiana tal como *C. difficile* cabe esperar que se observe una recurrencia reducida de síntomas, después del tratamiento con los presentes compuestos, en comparación con el tratamiento con antibióticos conocidos, de la capacidad de la flora natural para sobrevivir al tratamiento con los presentes compuestos. En particular, los compuestos de la divulgación muestran una actividad muy baja frente a *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus rhamnosus* y una actividad moderadamente baja frente a *Peptostreptococcus anaerobius* y *Bifidobacterium adolescentis*.

40 Lo que es más, cuando se administran por vía oral, los compuestos de la divulgación no se adsorben de forma sistémica, lo que permite la administración de una concentración relativamente elevada del compuesto activo a la diana en el colon/intestinos. De este modo, debido a que no existe administración sistémica de los compuestos cuando se administran por vía oral, entonces esto puede minimizar cualquier exposición potencial de los pacientes a los efectos secundarios.

50 La infección y/o proliferación de *C. difficile* es un problema común en los pacientes durante la hospitalización. Presenta un peligro real para el sistema sanitario y puede suponer una amenaza para la vida en pacientes vulnerables tales como pacientes ancianos.

Actualmente, vancomicina es el tratamiento convencional para los casos graves de infección por *C. difficile*. Por tanto, los compuestos alternativos para su uso en el tratamiento de *C. difficile* podrían resultar útiles, se requiere que dichos compuestos tengan una actividad aproximadamente igual o mejor que la de vancomicina.

55 Determinados compuestos se encuentran bajo investigación para el tratamiento de *C. difficile* y/o enterococos resistentes a vancomicina pero, con frecuencia, el principio activo se degrada por medio del ácido y/o enzimas del estómago o intestinos. Dichos compuestos requieren la administración parenteral o formulaciones especiales tales como el revestimiento entérico o formulaciones de cápsula con el fin de garantizar que el principio activo se administra al colon de forma no degradada. Sorprendentemente, los presentes compuestos, aunque comprenden componentes de péptido, no son degradados de forma significativa por las enzimas o ácidos del estómago. De este modo, los compuestos de la divulgación son particularmente apropiados para administración oral. Esto puede resultar ventajoso ya que permite flexibilidad para formular los compuestos en una formulación simple y eficaz, permitiendo la administración de un compuesto activo no degradado al colon de forma local.

65 El compuesto de la presente divulgación, se puede preparar por medio de síntesis de desoxiactagardina B como intermedio en *A. liguriae*. El rendimiento de desoxiactagardina B es el doble o más que el rendimiento de los

intermedios de tipo actagardina A preparados por medio de *Actinoplanes garbadinensis*. Esto puede ser importante desde una perspectiva de procesado/comercial.

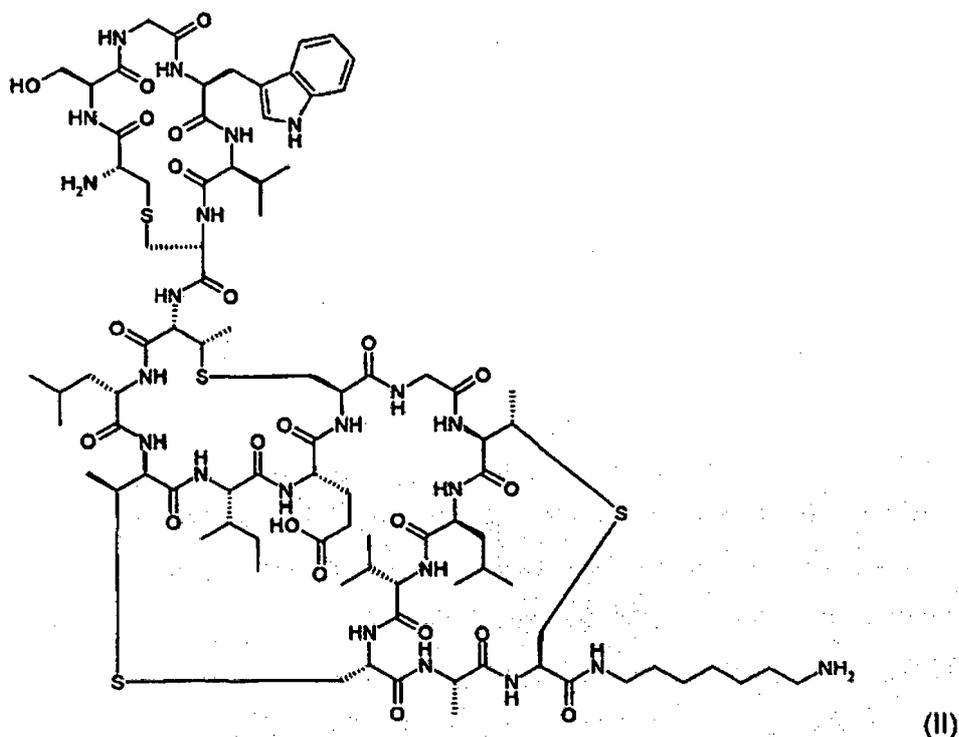
5 Las propiedades físicas de los compuestos de la divulgación tales como solubilidad, estabilidad y similares resultan adecuadas para el uso terapéutico pretendido.

#### Breve descripción de los dibujos

- Figura 1 muestra la susceptibilidad a la digestión enzimática de nisina y un derivado de desoxiactagardina B.  
 Figura 2 muestra los resultados de un modelo *in vivo* para *C. difficile*.  
 Figura 3 muestra la cantidad de compuestos recuperados tras administración oral.  
 Figura 4 muestra un análisis de HPLC de los materiales de partida para el Ejemplo 1.  
 Figura 5 muestra un análisis de HPLC tras haberse completado la reacción del Ejemplo 1.  
 Figura 6 muestra un análisis de HPLC tras la concentración C18 Bond Elut del compuesto del Ejemplo 1.  
 Figura 7 muestra un análisis de HPLC del compuesto del Ejemplo 1 tras cromatografía ultrarrápida.

#### 10 Descripción detallada

La presente invención proporciona Desoxiactagardina B (7-amino-1-heptilamida monocarboxamida, que puede venir representada por medio de la fórmula (II):



15

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, hidratos o solvatos.

20 El compuesto de la divulgación tiene un MIC frente a al menos una cepa de *C. difficile* de 1 µg/ml o menos y generalmente una actividad frente a otras cepas comunes de *C. difficile* de 2 µg/ml o menos. El compuesto de la invención tiene una actividad de 1 µg/ml o menos frente a muchas cepas comunes de *C. difficile*.

25 Los métodos de preparación de los compuestos similares a los compuestos de la presente divulgación se describen en el documento WO 2007/083112.

Los compuestos de la presente divulgación pueden estar en forma de y/o se pueden administrar como sal farmacéuticamente aceptable. Para una revisión de sales apropiadas, véase Berge et al., J. Pharm. Sci., 1977, 66, 1-19.

30 Normalmente, se puede preparar fácilmente una sal farmacéuticamente aceptable por medio del uso de un ácido o base deseados como apropiados. La sal puede precipitar a partir de una solución y se puede recoger por medio de filtración o se puede recuperar por medio de evaporación del disolvente, por ejemplo, se puede disolver el

compuesto de la invención en un disolvente apropiado, por ejemplo un alcohol tal como metanol, y se puede añadir el ácido en el mismo disolvente u otro disolvente apropiado. Posteriormente, la sal de adición ácida resultante puede precipitar directamente, o por medio de adición de un disolvente menos polar tal como éter diisopropílico o hexano, y se puede aislar por medio de filtración.

5 La persona experta apreciará que cuando el compuesto de la invención contiene más de un grupo básico también se pueden formar sales bis o tris y son sales de acuerdo con la presente divulgación.

10 Se forman sales de adición apropiadas a partir de ácidos inorgánicos u orgánicos que forman sales no tóxicas y ejemplos son lactobionato, mandelato (incluyendo (S)-(+)-mandelato, (R)-(-)-mandelato y (R, S)-mandelato), hidrocloreto, hidrobromuro, hidroyoduro, sulfato, bisulfato, nitrato, fosfato, hidrogeno fosfato, glutamato, acetato, trifluoroacetato, maleato, malato, fumarato, lactato, tartrato, citrato, formiato, gluconato, succinato, etil succinato (4-etoxi-4-oxobutanoato), piruvato, oxalato, oxaloacetato, sacarato, benzoato, glucolato, glucurinato, sulfonatos de alquilo o arilo (por ejemplo, metanosulfonato, etanosulfonato, bencenosulfonato o p-toluensulfonato) e isetonato. Un ejemplo alternativo adicional es mesilato.

15 Las sales básicas farmacéuticamente aceptables incluyen sales de amonio, sales de metales alcalinos, tales como las de sodio y potasio, sales de metales alcalino térreos tales como las sales de calcio y magnesio con bases orgánicas, incluyendo sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, tales como isopropilamina, dietilamina, etanolamina, trimetilamina, dicitclohexil amina y N-metil-D-glucamina.

20 Los expertos en la técnica de la química orgánica apreciarán que muchos compuestos orgánicos forman complejos con disolventes en los cuales reaccionan o a partir de los cuales precipitan o cristalizan. Estos complejos se conocen como "solvatos". Por ejemplo, se conoce un complejo con agua como "hidrato". Los solvatos del compuesto de la invención se encuentran dentro del alcance de la divulgación. Las sales del compuesto de la invención pueden formar solvatos (por ejemplo, hidratos) y la divulgación también incluye todos los citados solvatos.

25 El término "profármaco", según se usa en la presente memoria, significa un compuesto que se convierte en el interior del cuerpo, por ejemplo, por medio de hidrólisis en la sangre, en su forma activa que tiene efectos médicos. Se describen profármacos farmacéuticamente aceptables en T. Higuchi y V. Stella, "Prodrugs as Novel Delivery Systems", Vol. 14 de A.C.S. Symposium Series; Edward B. Roche, ed. "Bioreversible Carriers in Drug Design", American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987; y en D. Fleisher, S. Ramon y H. Barbra "Improved oral drug delivery: solubility limitations overcome by the use of prodrugs", *Advanced Drug Delivery Reviews* (1996) 19(2) 115-130, cada uno de los cuales se incorpora por referencia en la presente memoria.

30 Los profármacos son cualesquiera vehículos unidos de manera covalente que liberan un compuesto de la invención *in vivo* cuando dicho profármaco se administra a un paciente. Generalmente, los profármacos se preparan por medio de la modificación de grupos funcionales de tal modo que la modificación se escinde, bien por medio de manipulación rutinaria o *in vivo*, dando lugar al compuesto parental. Los profármacos incluyen, por ejemplo, compuestos de la presente divulgación en los cuales los grupos hidroxilo, amina o sulfhidrilo se unen a cualquier grupo que, cuando se administra a un paciente, se escinde para formar los grupos hidroxilo, amina o sulfhidrilo. De este modo, los ejemplos representativos de profármacos incluyen (pero sin limitarse a) derivados de acetato, formiato y benzoato de grupos funcionales de alcohol, sulfhidrilo y amina del compuesto. Además, en el caso de un ácido carboxílico (-COOH), se pueden emplear los ésteres, tal como ésteres metílicos, ésteres etílicos y similares.

45 Los ésteres pueden ser activos por sí mismos y/o pueden ser hidrolizables en condiciones *in vivo* en el cuerpo humano. Grupos éster hidrolizables *in vivo* farmacéuticamente aceptables y apropiados incluyen los que se rompen fácilmente en el cuerpo humano para dejar el ácido parental o su sal.

50 Las referencias siguientes a un compuesto de acuerdo con la invención incluyen derivados y sales farmacéuticamente aceptables.

55 Con respecto a los estereoisómeros, los compuestos de fórmula (II) tienen más de un átomo de carbono asimétrico. En la fórmula (II), tal y como se dibuja, el enlace con forma de cuña sólida indica que el enlace se encuentra encima del plano del papel. El enlace roto indica que el enlace se encuentra por debajo del plano del papel.

Se aprecia que los sustituyentes de los compuestos de fórmula (II) también pueden tener uno o más átomos de carbono asimétricos.

60 Los compuestos de la estructura (II) pueden aparecer como enantiómeros o diastereoisómeros individuales. Todas las citadas formas isoméricas quedan incluidas dentro de la presente invención, incluyendo sus mezclas.

65 La separación de diastereoisómeros o isómeros *cis* y *trans* se puede conseguir por medio de técnicas convencionales, por ejemplo, por medio de cristalización fraccionada, cromatografía o HPLC. También se puede preparar una mezcla estereoisomérica del agente a partir del correspondiente intermedio ópticamente puro o por medio de resolución, tal como por medio de HPLC, de la correspondiente mezcla usando un soporte quiral apropiado o por medio de cristalización fraccionada de las sales diastereoisoméricas formadas por medio de la

reacción de la correspondiente mezcla con un ácido ópticamente activo apropiado o base, según resulte apropiado. Los compuestos que se describen en la presente memoria también se amplían a sus formas tautómeras, por ejemplo, tautómeros ceto/enol.

5 El compuesto de la invención puede estar en forma cristalina o amorfa. Además, parte de las formas cristalinas del compuesto de la invención puede existir como polimorfos, estando incluidas todas sus formas en la presente divulgación.

10 En otro aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende, como principio activo, un compuesto de la invención o uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables en asociación con un excipiente farmacéuticamente aceptable, diluyente y/o vehículo para su uso en terapia, y en particular, en el tratamiento de sujetos humanos o animales que padecen un trastorno susceptible de mejora por medio de un compuesto antimicrobiano.

15 En otro aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de los compuestos de la presente divulgación y un excipiente farmacéuticamente aceptable, diluyente y/o vehículo (incluyendo sus combinaciones).

20 Se proporciona además, por medio de la presente divulgación, un proceso para preparar una composición farmacéutica, comprendiendo el proceso mezclar el compuesto de la invención o uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables, junto con un excipiente farmacéuticamente aceptable, diluyente y/o vehículo.

25 Los compuestos de la invención se pueden formular para administración de cualquier forma conveniente para su uso en medicina para humanos o veterinaria y su divulgación incluye, dentro de su alcance, composiciones farmacéuticas que comprenden el compuesto de la invención adaptado para su uso en medicina para humanos o veterinaria. Dichas composiciones se pueden presentar para su uso de manera convencional con ayuda de uno o más excipientes apropiados, diluyentes y/o vehículos. Excipientes, diluyentes y vehículos apropiados para uso terapéutico se conocen bien en la técnica farmacéutica, y se describen, por ejemplo en Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (A. R. Gennao edit., 1985). El excipiente, diluyente y/o vehículo farmacéutico se puede seleccionar con respecto a la ruta de administración pretendida y la práctica farmacéutica convencional. Las composiciones farmacéuticas pueden comprender en forma de - o además de - excipiente, diluyente y/o vehículo, cualquier aglutinante(s), lubricante(s), agente(s) de suspensión, agente(s) de revestimiento, agente(s) de solubilización apropiado(s).

35 Se pueden proporcionar conservantes, estabilizadores, colorantes e incluso agentes aromatizantes en la composición farmacéutica. Ejemplos de conservantes incluyen benzoato de sodio, ácido sórbico y ésteres de ácido p-hidroxibenzoico. También se pueden usar antioxidantes y agentes de suspensión.

40 Para algunas realizaciones, los agentes de la presente divulgación también se pueden usar en combinación con una ciclodextrina. Se sabe que las ciclodextrinas forman complejos de inclusión y complejos que no son de inclusión con las moléculas de fármaco. La formación de un complejo fármaco-ciclodextrina puede modificar la solubilidad, tasa de disolución, biodisponibilidad y/o propiedad de estabilidad de una molécula de fármaco. Generalmente, los complejos de fármaco-ciclodextrina son útiles para la mayoría de las formas de dosificación y rutas de administración. Como alternativa a la formación directa de complejos con el fármaco, la ciclodextrina se puede usar como aditivo auxiliar, por ejemplo, como vehículo, diluyente o agente de solubilización. Las alfa-, beta- y gamma-ciclodextrinas son las más usadas y ejemplos apropiados se describen en los documentos WO 91/11172, WO 94/02518 y WO 98/55148.

50 Los compuestos de la divulgación se pueden moler usando procedimientos de molienda conocidos tales como molienda en húmedo para obtener un tamaño de partícula apropiado para la formación de comprimidos y otros tipos de formulaciones. Se pueden formular preparaciones finamente divididas (nanopartículas) de los compuestos de la invención por medio de procesos conocidos en la técnica, por ejemplo véase la Solicitud de Patente Internacional N°. WO 02/001936 (SmithKline Beecham).

55 Las rutas de administración incluyen, pero sin limitarse a, una o más de: oral (por ejemplo, en forma de polvo seco/formulación en forma de partículas que fluye libremente, comprimido, cápsula, o en forma de solución o suspensión apta para ingestión), rectal, bucal y sublingual. Los compuestos de la divulgación son particularmente útiles para administración oral.

60 En algunos casos, puede resultar posible administrar los compuestos de la divulgación por medio de ruta tópica, mucosal (por ejemplo, en forma de pulverización nasal o aerosol para inhalación), nasal, parenteral (por ejemplo por medio de una forma inyectable), gastrointestinal, intraespinal, intraperitoneal, intramuscular, intravenosa, intrauterina, intraocular, intradérmica, intracraneal, intratraqueal, intravaginal, intracerebroventricular, intracerebral, subcutánea, oftálmica (incluyendo intravítrea o intracameral) o transdérmica.

65 Pueden existir diferentes requisitos de formulación/composición dependiendo del tipo de sistemas de administración diferentes. A modo de ejemplo, la composición farmacéutica de la presente divulgación se puede formular para su

administración usando una mini-bomba o por medio de ruta mucosal, por ejemplo, en forma de pulverización nasal o aerosol para inhalación o solución apta para ingestión, o por vía parenteral en la cual se formula la composición por medio de una forma inyectable, para administración, por ejemplo, por medio de una ruta intravenosa, intramuscular o subcutánea. Alternativamente, la formulación se puede diseñar para administración por ambas rutas.

5 Cuando resulta apropiado, se pueden administrar las composiciones farmacéuticas por medio de inhalación, en forma de un supositorio u óvulo vaginal, de forma tópica en forma de loción, crema, pomada o polvo de uso externo, por medio del uso de un parche cutáneo, por vía oral en forma de comprimidos que contienen excipientes tales como almidón o lactosa, o en cápsulas u óvulos solos o en forma de mezcla con excipientes, o en forma de elixires, disoluciones o suspensiones que contienen agentes aromatizantes o colorantes, o se pueden inyectar por vía parenteral, por ejemplo por vía intravenosa, intramuscular o subcutánea. Para administración parenteral, las composiciones se pueden usar del mejor modo en forma de una solución acuosa estéril que puede contener otras sustancias, por ejemplos sales o monosacáridos suficientes para preparar una solución isotónica con sangre. Para administración bucal o sublingual, las composiciones se pueden administrar en forma de comprimidos o pastillas para chupar que se pueden formular de manera convencional.

20 Debe entenderse que no es necesario administrar todos los compuestos por medio de la misma ruta. De igual forma, si la composición comprende más de un componente activo, entonces esos componentes se pueden administrar por medio de rutas diferentes.

Las composiciones de la divulgación incluyen aquellas en una forma especialmente formulada para uso parenteral, oral, bucal, rectal, tópico, implante, oftálmico, nasal o genito-urinario. En un aspecto de la invención, se administran los agentes por vía oral, además, el agente está en forma que resulta apropiado para administración oral.

25 Si se administra un compuesto de la presente divulgación por vía parenteral, entonces los ejemplos de dicha administración incluyen uno o más de: administración intravenosa, intrarterial, intraperitoneal, intratecal, intraventricular, intrauretal, intrasternal, intracraneal, intramuscular o subcutánea del agente y/o por medio del uso de técnicas de infusión.

30 Los compuestos de la invención se pueden administrar (por ejemplo, por vía oral o tópica) en forma de comprimidos, cápsulas, óvulos, elixires, disoluciones o suspensiones, que pueden contener agentes aromatizantes o colorantes, para aplicaciones de liberación inmediata, retardada, modificada, prolongada, pulsada o controlada.

35 Los compuestos de la invención también se pueden presentar para uso veterinario o humano en una forma apropiada para administración oral o bucal, por ejemplo en forma de disoluciones, geles, jarabes, enjuagues bucales o suspensiones, o un polvo seco para constitución con agua u otro vehículo apropiado antes de su uso, opcionalmente con agentes aromatizantes o colorantes. También se pueden usar composiciones sólidas tales como comprimidos, cápsulas, pastillas para chupar, pastillas, píldoras, inyección intravenosa rápida, polvo, pastas, gránulos, balas o preparaciones de premezcla. Se pueden preparar composiciones sólidas y líquidas para uso oral de acuerdo con métodos conocidos en la técnica. Dichas composiciones también pueden contener uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables y excipientes que pueden estar en forma sólida o forma líquida.

45 Los comprimidos pueden contener excipientes tales como celulosa microcristalina, lactosa, citrato de sodio, carbonato de calcio, sulfato de calcio, fosfato de calcio dibásico y glicina; manitol, almidón pre-gelatinizado, almidón de maíz, almidón de patata, desintegrantes tales como glicolato de almidón de sodio, croscarmelosa de sodio y determinados silicatos complejos, y aglutinantes de granulado tales como polivinilpirrolidona, hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), hidroxipropilcelulosa (HPC), sacarosa, gelatina y goma arábiga.

50 Adicionalmente, también se pueden incluir agentes lubricantes tales como estearato de magnesio, ácido esteárico, behenato de glicerilo y talco.

55 También se pueden emplear composiciones sólidas de tipo similar como cargas en cápsulas de gelatina o HPMC (hidroxipropil metilcelulosa). Excipientes preferidos a este respecto incluyen celulosa microcristalina, lactosa, carbonato de calcio, sulfato de calcio, fosfato de calcio dibásico y, manitol, almidón pre-gelatinizado, almidón de maíz, almidón de patata o polietilen glicoles de peso molecular elevado. Para las suspensiones acuosas y/o elixires, el agente se puede combinar con varios agentes edulcorantes o aromatizantes, materiales colorantes o colorantes, con agentes emulsionantes y/o de suspensión, y con diluyentes tales como agua, etanol, propilen glicol y glicerina, y sus combinaciones.

60 Las cápsulas pueden estar rellenas con un polvo (de un medicamento solo o en forma de mezcla con carga(s) seleccionada(s) o alternativamente un líquido, cada uno de los cuales comprende el compuesto de la invención y un vehículo. Cuando se llena la cápsula con un polvo, se puede moler el compuesto de la invención y/o el vehículo o se puede micronizar para proporcionar un material con un tamaño de partícula apropiado.

65 Se puede revestir el compuesto de la divulgación, por ejemplo con un revestimiento entérico cuando se administra por vía oral en forma de comprimido o cápsula. El comprimido o cápsula, según resulte apropiado, por ejemplo se

puede revestir con una película fina tal como una película de EUDRAGIT® de Rohm Pharma Polymers, que permite la disolución controlada en el tracto gastrointestinal. Las películas se encuentran disponibles en forma de polímeros catiónicos tales como EUDRAGITE® E 100 (copolímeros de metacrilato de aminoalquilo) o en forma de polímeros acrílicos aniónicos tales como EUDRAGIT® L (copolímeros de ácido metacrílico) y EUDRAGIT S.

5 Los polímeros acrílicos permeables tales como EUDRAGIT® RL (copolímero de amino metacrilato) y EUDRAGIT® RS también se encuentran disponibles.

10 Estas formulaciones se pueden preparar en forma de dispersión acuosa incluyendo ingredientes opcionales tales como talco, emulsión de antiespumante de silicona, polietilén glicol. Alternativamente, la formulación de revestimiento se puede preparar como solución polimérica orgánica.

15 Alternativamente, se pueden revestir los comprimidos usando sistemas de revestimiento de OPADRY® (Surelease®), disponibles en Colorcon. Generalmente, los sistemas acuosos comprenden hasta un 15 % de OPADRY®. Generalmente, los sistemas de disolvente orgánico comprenden hasta un 5 % en peso/peso de OPADRY®. Los revestimientos se pueden preparar por medio de técnicas conocidas, por ejemplo, por medio de:

1. pesada de la cantidad requerida sistema de revestimiento de película OPADRY®,
2. pesada de la cantidad requerida de agua u otro(s) disolvente(s) en el interior de un recipiente de mezcla,
- 20 3. con un impulsor de mezcla en el centro del recipiente y tan próximo a la parte inferior del recipiente como resulte posible, agitación de los disolventes para formar un vórtice sin introducción de aire en el líquido,
4. adición estacionaria y rápida del polvo de OPADRY® al vórtice, evitando la flotación del polvo sobre la superficie del líquido,
5. aumento de la velocidad del agitador con el fin de mantener el vórtice, si se requiere, y
- 25 6. una vez que se han añadido todos los ingredientes en forma de polvo, reducción de la velocidad del mezclador y continuación de la mezcla durante aproximadamente 45 minutos.

Los revestimientos se pueden aplicar por medio de técnicas conocidas, usando máquinas de revestimiento de comprimidos.

30 Generalmente, el espesor del revestimiento aplicado se encuentra dentro del intervalo de 5 a 35 micrómetros tal como de 10 a 30 micrómetros, más específicamente de 10 o 20 micrómetros, dependiendo del efecto requerido. Alternativamente, el comprimido o cápsula, según resulte apropiado, se puede introducir en otra cápsula (preferentemente una cápsula de HPMC tal como Capsugel®) para proporcionar una configuración bien de un comprimido en una cápsula o una cápsula en una cápsula que, cuando se administra a un paciente da lugar a una disolución controlada en el tracto gastrointestinal, proporcionando de este modo un efecto similar a un revestimiento entérico. De este modo, en un aspecto, la divulgación proporciona una formulación de dosificación sólida de un compuesto de la invención, por ejemplo, cuando la formulación tiene un revestimiento entérico.

40 En otro aspecto, la divulgación proporciona una formulación de dosificación sólida que comprende una cápsula protectora como capa externa, por ejemplo en forma de comprimido en una cápsula o una cápsula en una cápsula. El revestimiento entérico puede proporcionar un perfil de estabilidad mejorado con respecto a las formulaciones no revestidas.

45 Los compuestos de la divulgación también se pueden administrar por vía oral en medicina veterinaria en forma de brebaje líquido tal como una solución, suspensión o dispersión del principio activo junto con un excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

50 Los compuestos de la invención pueden formularse, por ejemplo, en forma de supositorios que, por ejemplo, contienen bases de supositorio convencional para su uso en medicina para humanos o veterinaria o como óvulos vaginales que, por ejemplo, contienen bases de óvulo vaginal.

55 Los compuestos de la divulgación también se pueden usar en combinación con otros agentes terapéuticos. De este modo, la divulgación proporciona, en un aspecto adicional, una combinación que comprende un compuesto de la invención o uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables junto con un agente terapéutico adicional. La combinación puede, por ejemplo, ser una combinación de un compuesto de la invención y un antibiótico, tal como vancomicina. La combinación se puede proporcionar en forma de co-formulación o simplemente se puede envasar junta en forma de formulaciones por separado, para administración simultánea o secuencial.

60 Cuando se usa un compuesto de la divulgación o uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables en combinación con un segundo agente terapéutico activo frente al mismo estado de enfermedad, la dosis de cada compuesto puede diferir de la empleada cuando se usa el compuesto solo. Las dosis apropiadas se aprecian fácilmente por parte de los expertos en la técnica. Se aprecia que la cantidad de un compuesto de la divulgación necesario para su uso en el tratamiento variará con la naturaleza del trastorno objeto de tratamiento y la edad y el estado del paciente y será finalmente a criterio del médico o veterinario responsable. Los compuestos de la presente divulgación pueden usarse por ejemplo para administración con otros principios activos tales como

cortocosteroides, según resulte apropiado.

- 5 Las combinaciones referidas anteriormente se pueden presentar de manera conveniente en forma de una formulación farmacéutica y, de este modo, las formulaciones farmacéuticas que comprenden una combinación como se ha definido anteriormente junto con un excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable comprenden un aspecto adicional de la divulgación. Los componentes individuales de dichas combinaciones se pueden administrar bien de forma secuencial o simultánea, en formulaciones farmacéuticas combinadas o por separado, por medio de cualquier ruta apropiada.
- 10 Cuando la administración es secuencial, se puede administrar primero bien el compuesto de la divulgación o bien el segundo agente terapéutico. Cuando la administración es simultánea, la combinación se puede administrar bien en la misma composición farmacéutica o en una composición farmacéutica diferente.
- 15 Cuando se combina en la misma formulación, se aprecia que los dos compuestos deben ser estables y compatibles el uno con el otro y con los otros componentes de la formulación. Cuando se formulan por separado, se pueden proporcionar en cualquier formulación apropiada, de manera conveniente, de cualquier forma conocida para dichos compuestos en la técnica.
- 20 Las composiciones pueden contener un 0,01-99 % del material activo. Para administración tópica, por ejemplo, generalmente la composición contiene un 0,01-10 %, más preferentemente un 0,01-1 % del material activo.
- 25 Normalmente, un médico determina la dosificación actual que será la más apropiada para un sujeto individual. El nivel de dosis específico y la frecuencia de la dosificación para cualquier individuo particular pueden variar y dependen de varios factores incluyendo la actividad del compuesto específico empleado, la estabilidad metabólica y la duración de la acción de ese compuesto, la edad, el peso corporal, el estado general de salud, sexo, dieta, modo y tiempo de administración, tasa de eliminación, combinación de fármacos, gravedad del trastorno particular y terapia que recibe el individuo.
- 30 Para administración oral o parenteral a humanos, el nivel de dosificación diaria del agente puede ser en dosis individuales o divididas. Para administración sistémica, la dosis diaria según se emplea para el tratamiento de humano adulto varía de 2-100 mg/kg de peso corporal, preferentemente de 5-60 mg/kg de peso corporal, que se puede administrar en 1 a 4 dosis diarias, por ejemplo, dependiendo de la ruta de administración y el estado del paciente. Cuando la composición comprende unidades de dosificación, cada una preferentemente contiene de 100 mg a 1 g de principio activo. La duración del tratamiento viene determinada por la tasa de respuesta en lugar de por el número arbitrario de días. En una realización, se continúa el régimen de tratamiento durante 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 días o más.
- 35 En un aspecto, la divulgación proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) o (II) en una terapia, por ejemplo, para el tratamiento de infecciones microbianas tales como infección por *C. difficile*, en particular la diarrea asociada a las mismas, o una o más infecciones microbianas descritas en la presente memoria, en particular por medio de la administración oral de un compuesto.
- 40 En un aspecto, se proporciona el uso de un compuesto para el tratamiento de la cecitis (en un sujeto animal).
- 45 En un aspecto, el compuesto de la invención se emplea para controlar el síndrome de proliferación bacteriana. El síndrome de proliferación (BOS) tiene lugar cuando aumenta significativamente la colonización bacteriana normalmente baja en el tracto gastrointestinal superior y/o en la parte inferior de los intestinos.
- 50 En un aspecto, se proporciona el uso de un compuesto de la invención para la profilaxis, tratamiento o mantenimiento de IBS (síndrome de intestino irritable). Para un ejemplo del uso de antibióticos en el tratamiento de IBS, véase Rifaximin Treatment for Symptoms of Irritable Bowel Syndrome. Andrea L, Fumi and Katherine Trexler, The Annals of Pharmacotherapy, 2008, 4, 408.
- 55 En una realización, un compuesto de la invención es útil en el tratamiento de colitis ulcerosa que incluye el tratamiento profiláctico para evitar su recurrencia. Los compuestos pueden ser particularmente apropiados para el tratamiento de la colitis ulcerosa resistente a esteroides. Véase por ejemplo Steroid-refractory ulcerative colitis treated with corticosteroids, metronidazole and vancomycin: a case report J. Miner, M. M Gillan, P. Alex, M Centola, BMC Gastroenterology 2005, 5:3.
- 60 Los compuestos de la presente divulgación pueden ser particularmente útiles para el tratamiento a largo plazo.
- Como se ha descrito anteriormente, los compuestos de la presente divulgación se pueden emplear en el tratamiento de humanos y/o animales.
- 65 En un aspecto, se proporciona un compuesto de la invención para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de infecciones microbianas tales como infección por *C. difficile*, en particular la diarrea asociada a las

mismas.

- 5 En un aspecto se proporciona un método de tratamiento que comprende la etapa de administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención o una composición farmacéutica que contiene la misma a un paciente (humano o animal) que lo necesita, por ejemplo para el tratamiento de una infección/enfermedad como se ha descrito en la presente memoria.

En el contexto de la presente memoria descriptiva, "comprender" se interpreta como "incluir".

- 10 También se pretende que los aspectos de la invención que comprenden determinados elementos se amplíen a las realizaciones alternativas, "que consisten" o "que consisten esencialmente" en los elementos relevantes.

## Ejemplos

### 15 Ejemplo 1

#### Desoxiactagardina B (7-amino-1-heptilamida monocarboxamida)

- 20 Se disolvió desoxiactagardina B (2,5 g), 1,7-diaminoheptano (0,52 g) y diisopropiletilamina (0,44 ml) en dimetilformamida seca (10 ml). Se añadió por partes, durante 2 horas, una solución de hexafluorofosfato de benzotriazol-1-il-oxi-tri-pirrolidino-fosfonio (PyBOP) (1,04 g) en dimetilformamida seca (5 ml). Se siguió la reacción por medio de HPLC analítico (Véase la Tabla 1) y se añadió PyBOP hasta que se hubo consumido el material de partida (Figuras 4 y 5).

- 25 *Tabla 1. Condiciones analíticas de HPLC para la separación de lantibiótico (por ejemplo, actagardina, actagardina B o desoxiactagardina B) y productos derivados de diaminoalcano.*

Columna:	Zorbax 5 $\mu$ C18(2) 150 x 4,6 mm					
Fase móvil A:	Acetonitrilo 30 % en tampón de fosfato de potasio 20 mM pH 7,0					
Fase móvil B:	Acetonitrilo 65 % en tampón de fosfato de potasio 20 mM pH 7,0					
Caudal:	1 ml/min					
Gradiente:	Tiempo 0 min		100 %	A	0 %	B
Tiempo 10 min	0 %	A	100 %	B		
Tiempo 11 min	0 %	A	100 %	B		
Tiempo 11,2 min	100 %	A	0 %	B		
Tiempo de ciclo	15 min					
Volumen de inyección:	10 $\mu$ l					
Detección:	210 nm					

- 30 Se vertió la mezcla de reacción bruta en metanol acuoso de un 30 % y se introdujo la solución resultante en una columna Varian Bond Elut C18 (30 g). Posteriormente, se lavó secuencialmente la columna con metanol acuoso de un 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, eluyendo la mayoría del material deseado en la fracción de un 70 % (Figura 6). La cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente diclorometano:etanol:amoníaco 10:8:1) proporcionó un material de una pureza > 90 % por medio de U.V. a 210 nm (figura 7). Rendimiento 1,4 g. Masa calculada (M+2H)<sup>+2</sup> 993, encontrada 992,91.

- 35 Se analizó el producto por medio de espectroscopia de RMN <sup>13</sup>C a 500 MHz (disolvente D<sub>3</sub> acetonitrilo:agua en una proporción de 7:3). La Tabla 2 proporciona un listado de picos.

**Tabla 2. Listados de picos de Carbono 13 para el Ejemplo 1**

<i>PICO</i>	<i>[ppm]</i>	<i>PICO</i>	<i>[ppm]</i>
<b>1</b>	<b>181,3149</b>	<b>47</b>	<b>44,6775</b>
<b>2</b>	<b>175,3919</b>	<b>48</b>	<b>44,5744</b>
<b>3</b>	<b>174,8404</b>	<b>49</b>	<b>43,8023</b>
<b>4</b>	<b>174,6462</b>	<b>50</b>	<b>42,6752</b>
<b>5</b>	<b>174,3911</b>	<b>51</b>	<b>41,1394</b>
<b>6</b>	<b>174,2256</b>	<b>52</b>	<b>40,7135</b>
<b>7</b>	<b>174,0976</b>	<b>53</b>	<b>40,0986</b>
<b>8</b>	<b>173,8498</b>	<b>54</b>	<b>36,7443</b>
<b>9</b>	<b>173,4321</b>	<b>55</b>	<b>36,5221</b>
<b>10</b>	<b>173,3003</b>	<b>56</b>	<b>36,0111</b>
<b>11</b>	<b>173,1919</b>	<b>57</b>	<b>35,0293</b>

12	172,8374	58	33,5143
13	172,5363	59	31,0095
14	172,5226	60	30,9257
15	171,6244	61	30,2204
16	171,403	62	29,4444
17	171,2443	63	28,9958
18	171,2186	64	28,1579
19	137,4317	65	27,8264
20	128,2591	66	27,3108
21	125,4133	67	26,8943
22	122,6186	68	26,6716
23	120,101	69	26,0067
24	119,489	70	25,6053
25	119,2236	71	25,5072
26	112,6147	72	23,0708
27	110,3448	73	22,7664
28	62,6628	74	22,7369
29	62,3103	75	21,9216
30	61,9417	76	20,7945
31	60,0459	77	20,7139
32	59,2589	78	20,5133
33	57,6883	79	19,7487
34	57,5602	80	19,6807
35	51,1782	81	19,3537
36	56,3394	82	18,6924
37	55,779	83	17,3511
38	55,1894	84	16,1335
39	54,8993	85	12,0709
40	54,8157	86	1,8865
41	54,4243	87	1,7212
42	53,0651	88	1,5557
43	52,6472	89	1,3899
44	51,5046	90	1,2242
45	47,0088	91	1,0588
46	44,8668	92	0,8934

**Ejemplo 2****Preparación de sal de metanosulfonato del compuesto del Ejemplo 1.**

- 5 Con el fin de obtener disoluciones apropiadas para dosificación oral e intravenosa, se comprobó que la sal de metanosulfonato del compuesto del Ejemplo 1 era apropiada.
- 10 Se suspendió el compuesto del Ejemplo 1 en agua y se añadió un exceso de ácido metanosulfónico para proporcionar una solución transparente. Se retiró el exceso de ácido metanosulfónico por medio de introducción de la solución en una columna Bond Elut C18 que se había acondicionado de acuerdo con las instrucciones del fabricante, lavando la columna abundantemente con agua y eluyendo la sal de metanosulfonato con metanol. Se retiró el disolvente por medio de evaporación dejando la sal de metanosulfonato en forma de polvo blanco.
- 15 La sal de metanosulfonato del compuesto del Ejemplo 1 fue soluble a aproximadamente 20 mg/ml en agua.

**Ejemplo 3 (Ruta alternativa para la preparación de un compuesto del Ejemplo 1)****Desoxiactagardina B [7-(t-butoxicarbonilamido)-1-heptilamida monocarboxamida]**

5 Se preparó empleando el proceso descrito para el compuesto del Ejemplo 1 a partir de Desoxiactagardina B y 7-(t-butoxicarbonilamido)-1-aminoheptano. 75 % (M+2H)<sup>+2</sup> 1043, encontrado 1044,11. Se hidrolizó t-butoxicarbonato por medio de tratamiento con ácido clorhídrico acuoso 4N durante 3 horas a temperatura ambiente. Se neutralizó la mezcla hasta pH7 y se llevó a cabo la purificación como se ha descrito en el Ejemplo 1 para proporcionar el compuesto del título. Rendimiento 65 %.

10

Se prepararon los compuestos siguientes por medio de métodos análogos al empleado para el Ejemplo 1.

**Ejemplo de Referencia 4****15 Desoxiactagardina B (2-amino-9-etilamida monocarboxamida)**

Se preparó a partir de desoxiactagardina y 1,2-etilendiamina empleando el proceso descrito anteriormente para el Ejemplo 1.

Rendimiento 96 %. Masa calc (M+2H)<sup>+2</sup> 958, encontrada 959,02.

20

**Ejemplo de Referencia 5****Desoxiactagardina B (3-amino-9-propilamida monocarboxamida)**

25 Se preparó a partir de desoxiactagardina y 1,3-diaminopropano empleando el proceso descrito anteriormente para el Ejemplo 1.

Rendimiento 87 %. Masa calc (M+2H)<sup>+2</sup> 965, encontrada 965,04.

30

**Ejemplo de Referencia 6****Desoxiactagardina B (5-amino-1-pentilamida monocarboxamida)**

Se preparó a partir de desoxiactagardina y 1,5-diaminopropano empleando el proceso descrito anteriormente para el Ejemplo 1.

35 Rendimiento 83 %. Masa calc (M+2H)<sup>+2</sup> 979, encontrada 980,06.

**Ejemplo de Referencia 7****Desoxiactagardina B (9-amino-1-nonilamida monocarboxamida)**

40

Se preparó a partir de desoxiactagardina y 1,9-diaminononano empleando el proceso descrito anteriormente para el Ejemplo 1.

Rendimiento 84 %. Masa calc (M+2H)<sup>+2</sup> 1007, encontrada 1007,51.

45

**Ejemplo de Referencia 8****Desoxiactagardina B (12-amino-1-dodecilamida monocarboxamida)**

Se preparó a partir de desoxiactagardina y 1,12-diaminononano empleando el proceso descrito anteriormente para el Ejemplo 1.

50 Rendimiento 74 %. Masa calc (M+2H)<sup>+2</sup> 1028, encontrada 1027,51.

**Ejemplo 9****55 Actividad antibacteriana de Lantibióticos de tipo B**

El compuesto de la invención muestra actividad antimicrobiana *in vitro* e *in vivo* frente a *Clostridium difficile* y pueden tener actividad mejorada en comparación con desoxiactagardina B.

60 Se llevó a cabo el ensayo de susceptibilidad de las cepas de *Clostridium difficile* por medio de diluciones antibióticas seriadas dos veces en agar anaerobio Wilkins-Chalgren en condiciones anaerobias. Se incluyó vancomicina como fármaco comparador. Se inocularon cultivos de *C. difficile* sobre placas de agar de Braziers pre-reducidas (C.C.E.Y.) y se sometieron a proliferación a 37 °C durante 48 horas en condiciones anaerobias. Se inocularon de dos a tres colonias de los cultivos de 48 horas en 5 ml de Caldo de Schaedlers pre-reducido y se sometieron a proliferación a 37 °C durante 24 horas en condiciones anaerobias. Se diluyó este cultivo con NaCl de un 0,9 % pre-reducido hasta lograr la turbidez del patrón de McFarland de 0,5 y se aplicó a las placas que contenían el fármaco a un inóculo final

65

de 105 ufc/punto. Se incluyeron placas de control de proliferación que no contenían fármaco. Se incubaron las placas en la cámara anaerobia a 37 °C durante 48 horas y se examinó la proliferación. El MIC fue la concentración más baja de fármaco que inhibió por completo la proliferación o que provocó una reducción marcada de la proliferación en comparación con la proliferación sobre placas que no contenían fármaco.

5

**Tabla 3:** Datos de MIC ( $\mu\text{g/ml}$ ) para desoxiactagardina B (DAB) y sus derivados. (Cuanto menor es el valor del resultado mayor es la actividad del compuesto de ensayo).

Compuesto de ejemplo (Ej.)							
Cepa de <i>C. diff</i>	DAB	Ej. 3 de Referencia (p=2)	Ej. 5 de Referencia (p=3)	Ej. 6 de Referencia (p=5)	Ej. 1 (p=7)	Ej. 7 de Referencia (p=9)	Ej. 8 de Referencia (p=12)
37779	4	2,2 2,2 2,1	1,1 1,1 1,1 2,2	2,2	1, 0,5 1,1 1,1 1,1	2,1	1,2 1,1
19126	4	2,1 1,2 1,1	2,2 1,1 1,1 2,2	1,1	1,1 0,5, 1 1,1 1, 0,5	2,1	1,1 2,2
B32	2	2,2	2,2	2,2	1,1	2,2	2,1
E16	2	4,2	1,2	2,2	1,2	2,2	2,2
P24	2	2,2	2,2	2,2	1,1	2,1	2,1
027SM	2	2,2	2,2	2,2	1,1	2,2	2,2
P62	2	2,2	2,2	2,2	2,1	2,2	2,2
E101	2	2,2	2,2	2,2	1,1	2,2	2,2
027Can	4	2,2 1,2 0,5 1	1,1 0,5, 0,5 1, 0,5 2,2	2,1	0,5, 0,5 0,5, 0,5 1,1 1, 0,5	0,5 1,1	1,1 1,1
E4	2						
P49	2						
P59	2						
630	4	1,1 1,1 1,1	1,1 2,2 1,1	1,1 1, 0,5 1,1 1,1	0,5, 0,5 0,5, 1 1,1 1,1		0,5, 0,5 1,1

10 En la tabla anterior, p se refiere al número de átomos en la cadena de alquilo, de modo que para el compuesto de la invención, p es 7 (heptilo).

**Ejemplo 10 - Estabilidad de lantibióticos de tipo B en fluido intestinal**

15 Los compuestos basados en lantibiótico proporcionados en la presente memoria pueden tener una estabilidad mayor frente a la degradación enzimática en comparación con los lantibióticos de tipo A, tal como nisina. En particular, los compuestos pueden tener una estabilidad mejorada frente a los jugos intestinales en comparación con los lantibióticos de tipo A.

20 Se sometieron a ensayo nisina y el compuesto del Ejemplo 1 en cuanto a su susceptibilidad frente a la digestión enzimática en el intestino usando un fluido intestinal (SIF). El SIF estaba basado en las disoluciones de USP convencionales para los fluidos intestinales simulados y su actividad se confirmó frente a albúmina de suero bovino (Hilger et al., Clin. Exp. Immunol. 2001, 123, 387-94). Se incubaron los compuestos en SIF a 37 °C y se cuantificaron sus concentraciones por medio de HPLC analítico (detección de UV a 210 nm usando las condiciones especificadas en la Tabla 1).

La Figura 1 muestra que nisina se degradó rápidamente en SIF con una semivida de aproximadamente 15 a 20 minutos. La degradación rápida de nisina en este medio apoya la observación de que la utilidad clínica de nisina para el tratamiento de infecciones colónicas es muy limitada, a menos que el compuesto se pueda proteger frente a las enzimas de degradación por medio de formulación cuidadosa.

30

La Figura 1 también muestra que el compuesto del Ejemplo 1 es esencialmente estable en SIF y susceptible de presentar una estabilidad apropiada para el tratamiento de infecciones colónicas de *C. difficile*.

**Ejemplo 11 - Eficacia in vivo de antibióticos de tipo B en el modelo de hámster de cecitis asociada a *C. difficile***

5 Se evaluó la eficacia *in vivo* de los compuestos de la invención en el tratamiento de infecciones de *C. difficile* en un modelo animal convencional para CDAD, cecitis inducida por clindamicina en el hámster. Los resultados se recogen en la Figura 2.

10 Se dosificaron aproximadamente 107 células de cepa de *C. difficile* 4013 a los grupos de 6 animales y 24 horas después se introdujo una dosis subcutánea de 10 mg/kg de fosfato de clindamicina. Tras 24 horas adicionales, posteriormente se trataron los grupos bien con un vehículo, vancomicina o con el compuesto del Ejemplo 1 tres veces al día a 10 mg/kg día.

15 El procedimiento que se ha descrito indujo una infección de *C. difficile* en los animales de ensayo, de los cuales murieron en 3 días todos los animales tratados únicamente con vehículo. Por el contrario, todos los animales tratados con vancomicina o el derivado DAB sobrevivieron durante todo el período de dosificación de 5 días, demostrando los efectos protectores de estos compuestos.

**Ejemplo 12 - ADME en el modelo de ratas**

20 Se dosificó por vía oral el compuesto del Ejemplo 1 a ratas durante 7 días y se recuperó a partir de las heces por medio de extracción con metanol. La Figura 3 muestra la cantidad de material recuperado con respecto a la cantidad administrada a la rata. Aunque la cantidad de material recuperado depende del número de extracciones, los datos muestran que al menos un 60 a un 70 % del compuesto del Ejemplo 1 se puede recuperar sin modificación alguna tras su paso a través del tracto gastrointestinal y que el compuesto del Ejemplo 1 puede alcanzar concentraciones elevadas en el colon.

**Ejemplo 13 - Toxicología en el modelo de ratas**

30 Se sometió a ensayo el compuesto del Ejemplo 1 en un experimento de toxicidad de 7 días en un modelo de ratas. Un estudio usó 50 mg/kg/día de material administrado por vía intravenosa durante 7 días. El otro estudio usó 200 mg/kg/día de material administrado por vía oral durante 7 días. Tanto la dosis intravenosa como la oral excedieron significativamente el nivel de dosis clínica anticipada (aproximadamente 3-30 mg/kg/día por medio de dosificación oral). No se observaron efectos toxicológicos significativos durante el experimento y la necropsia no reveló daño alguno.

35 Se toleró el compuesto del Ejemplo 1 sin signos obvios de toxicidad a 50 mg/kg/día por vía oral en el hámster sirio.

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Desoxiactagardina B (7-amino-1-heptilamida monocarboxamida) y sus sales, hidratos y solvatos farmacéuticamente aceptables.
2. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 10 3. La composición de acuerdo con la reivindicación 2, para administración oral o administración parenteral.
4. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o una composición de acuerdo con las reivindicaciones 2 o 3 para su uso en tratamiento.
- 15 5. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o una composición de acuerdo con las reivindicaciones 2 o 3 para su uso en el tratamiento de una infección microbiana.
6. El compuesto o la composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 5, en donde la infección microbiana es una infección de *C. difficile*.
- 20 7. El compuesto o la composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 6, en donde la infección de *C. difficile* está en el colon y/o en la porción inferior del intestino.
8. El compuesto o la composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 5, en donde la infección microbiana es proliferación bacteriana en el intestino delgado.
- 25 9. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o una composición de acuerdo con las reivindicaciones 2 o 3 para su uso en el tratamiento de colitis ulcerosa o de síndrome de intestino irritable.
- 30 10. Un método para la preparación de Desoxiactagardina B (7-amino-1-heptilamida monocarboxamida) de la reivindicación 1, comprendiendo el método las etapas de hacer reaccionar la Desoxiactagardina B con 1,7-diaminoheptano en presencia de diisopropiletilamina y hexafluorofosfato de benzotriazol-1-il-oxi-tri-pirrolidino-fosfonio (PyBOP) en DMF.
- 35 11. El método de la reivindicación 10, en el que la Desoxiactagardina B se sintetiza en *A. liguriae*.

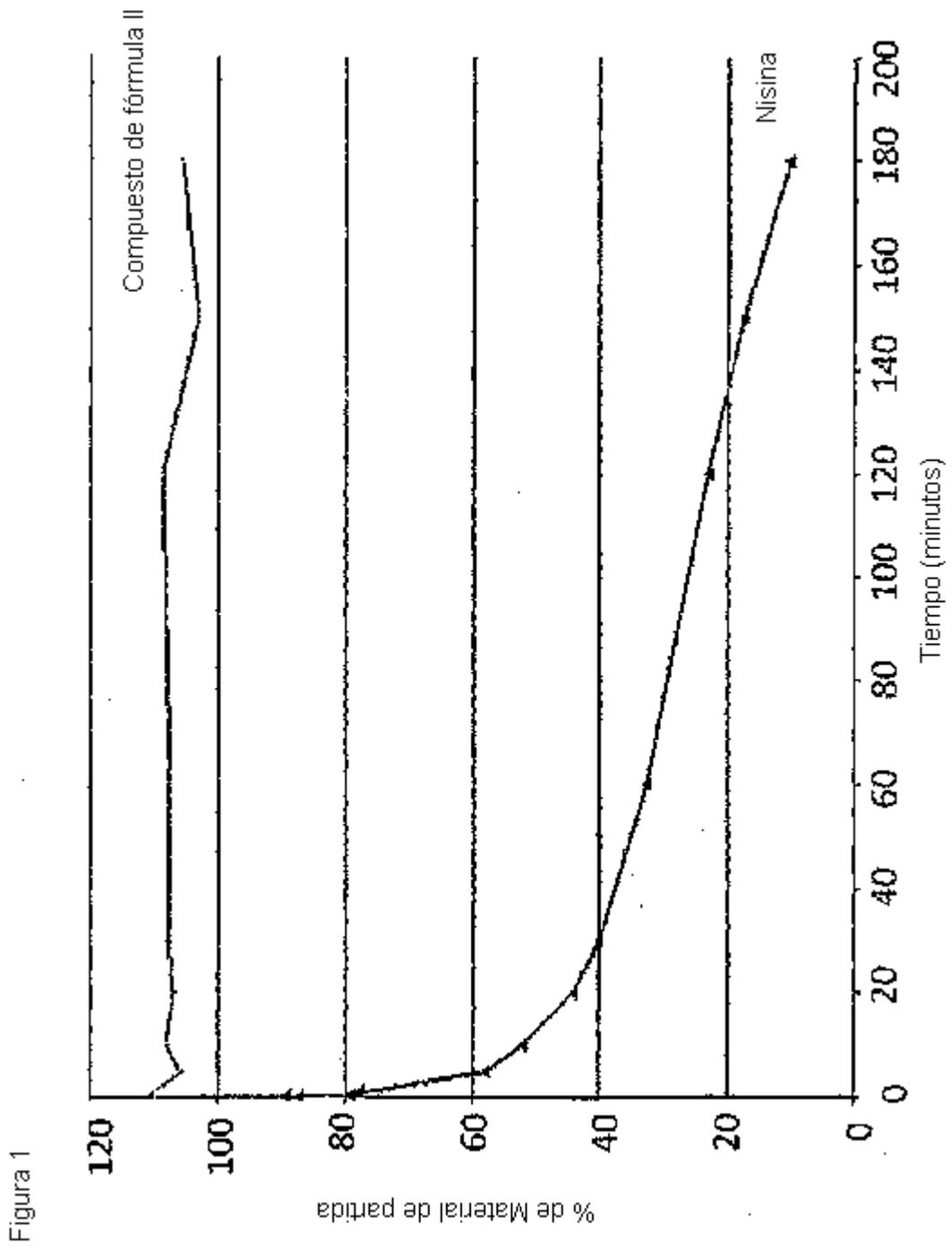


Figura 2

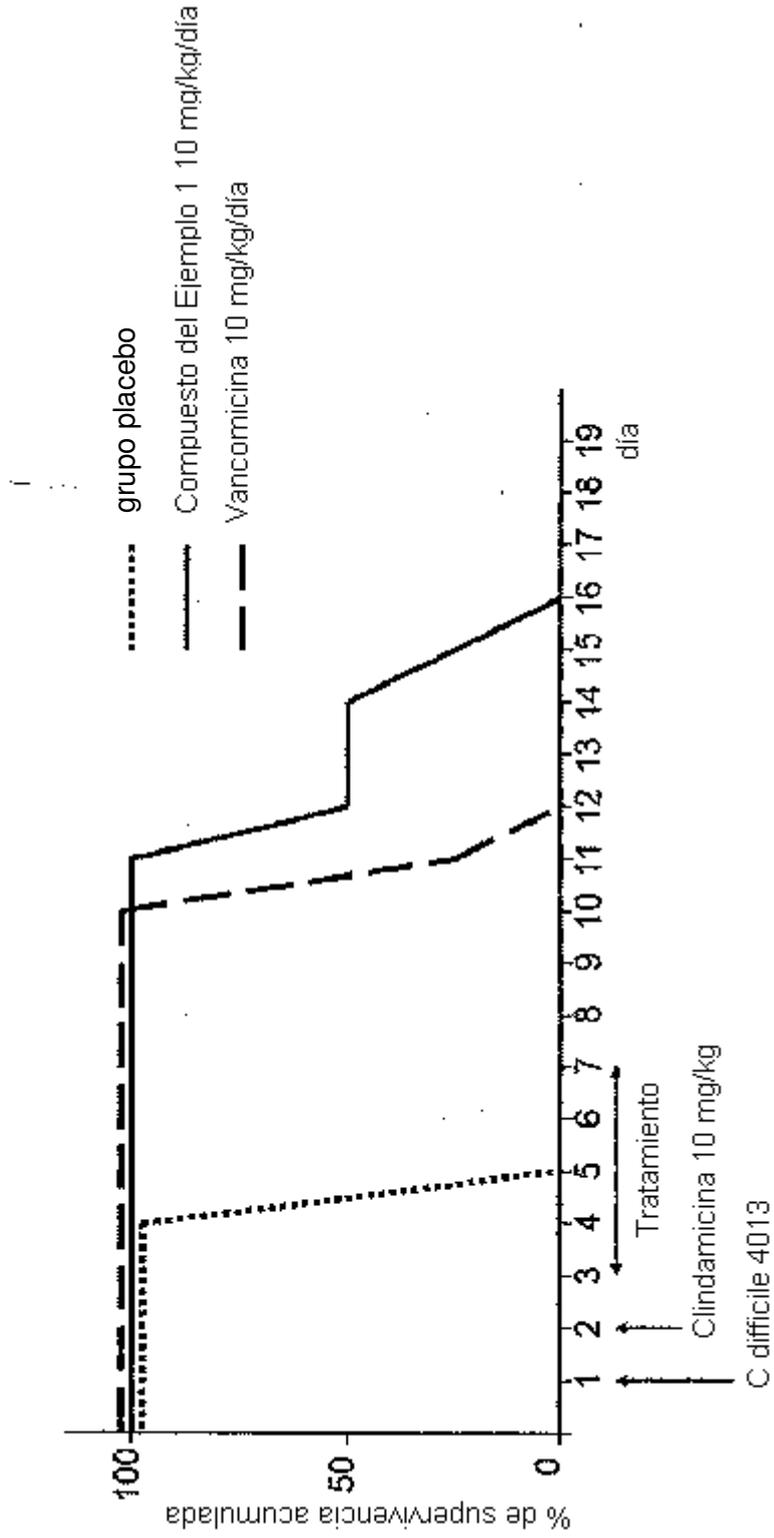


Figura 3

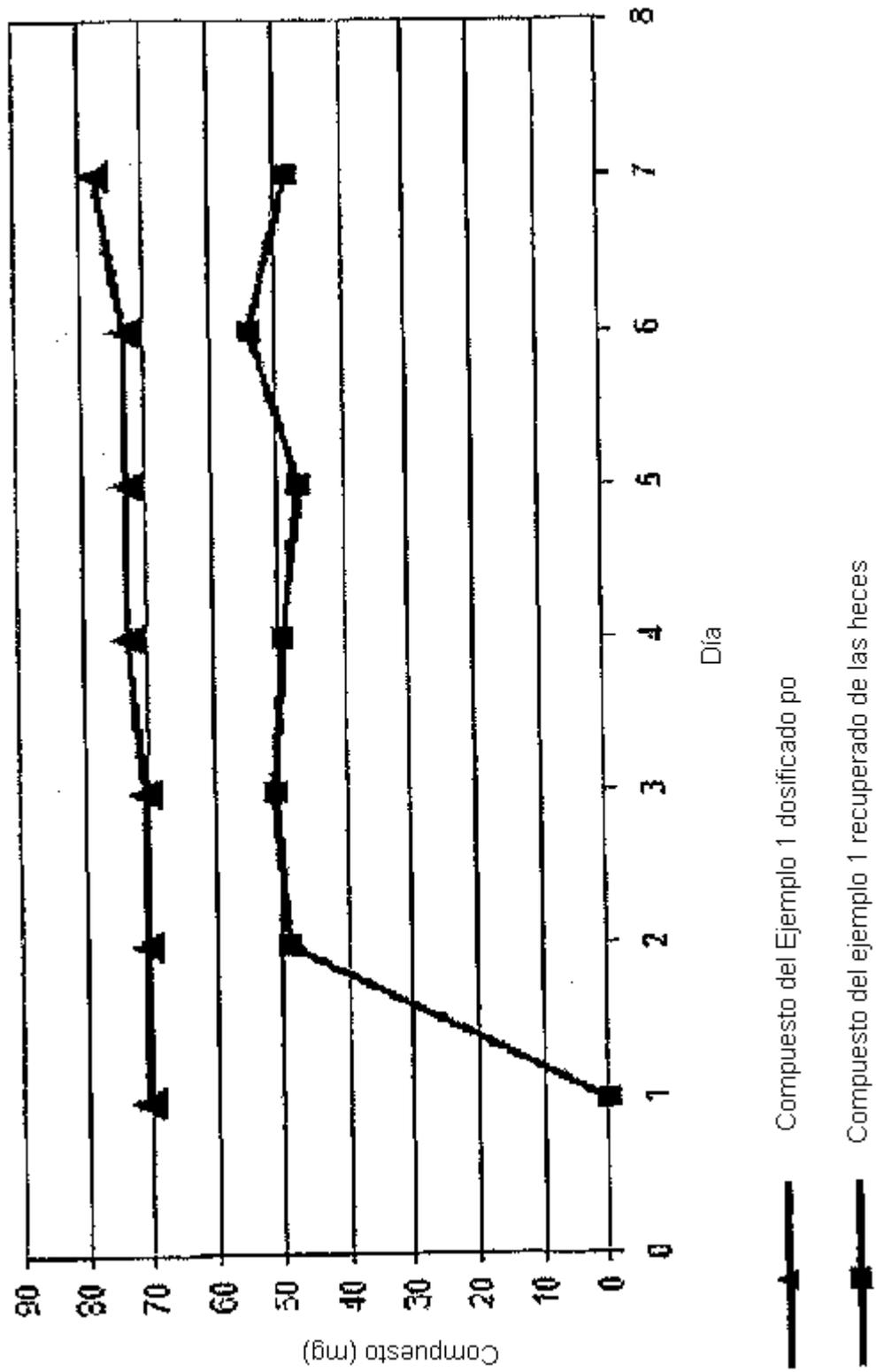


Figura 4 Cromatograma HPLC de Desoxiactagardina B

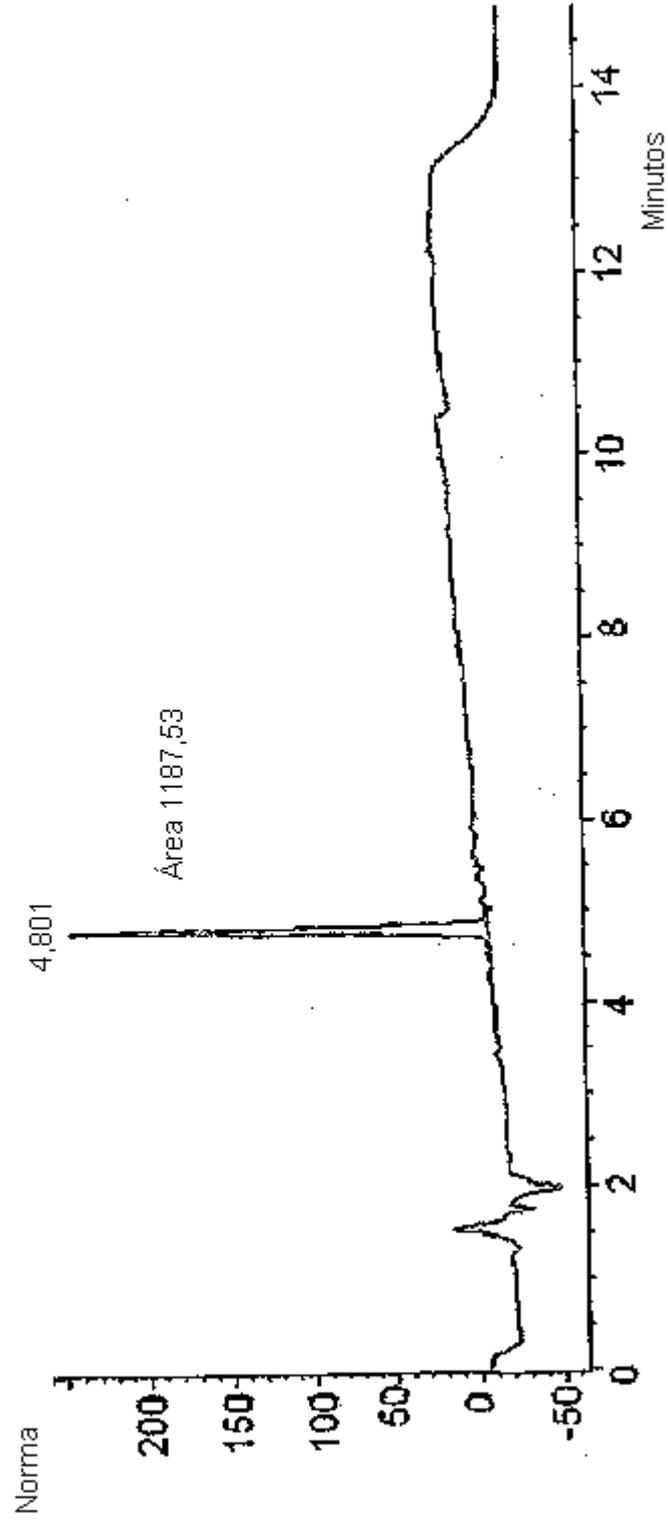


Figura 5 Cromatograma HPLC de la mezcla de reacción del Ejemplo 1

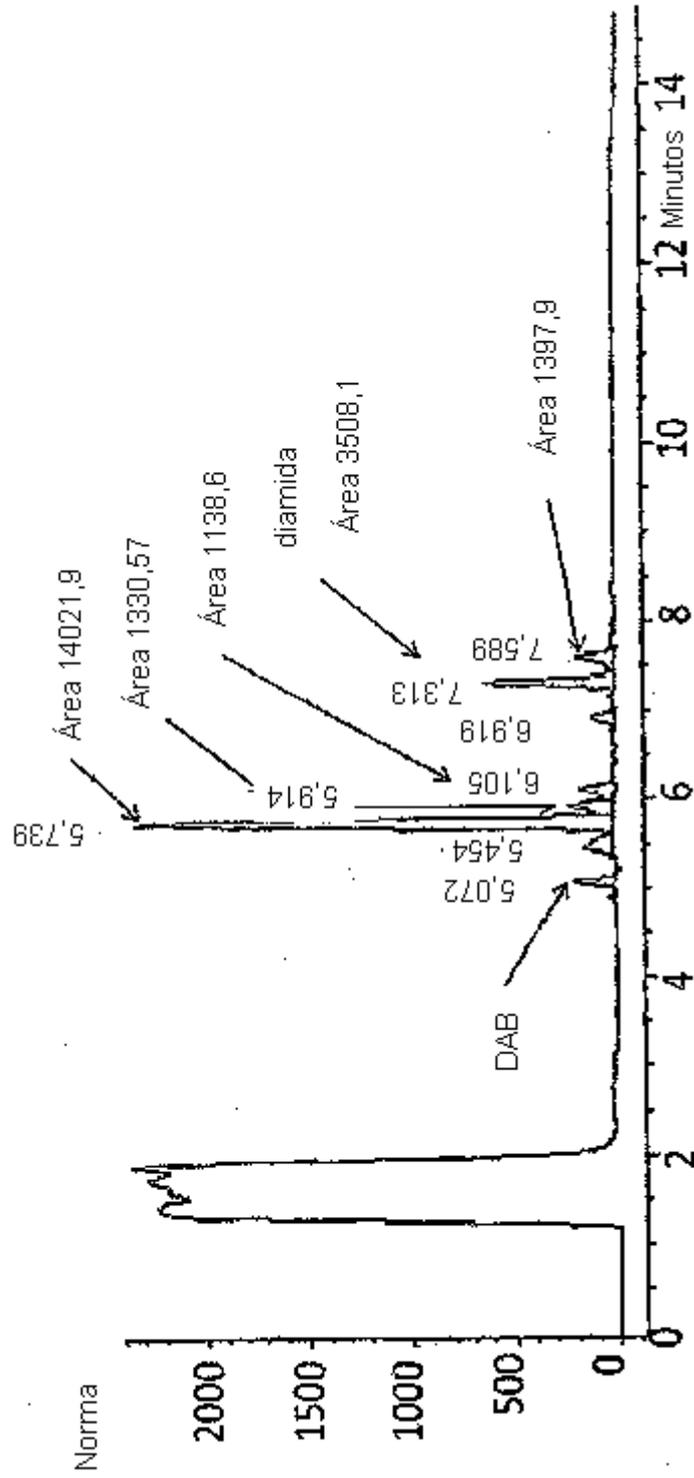


Figura 6 Cromatograma HPLC del Ejemplo 1 post C18 Bond Elut

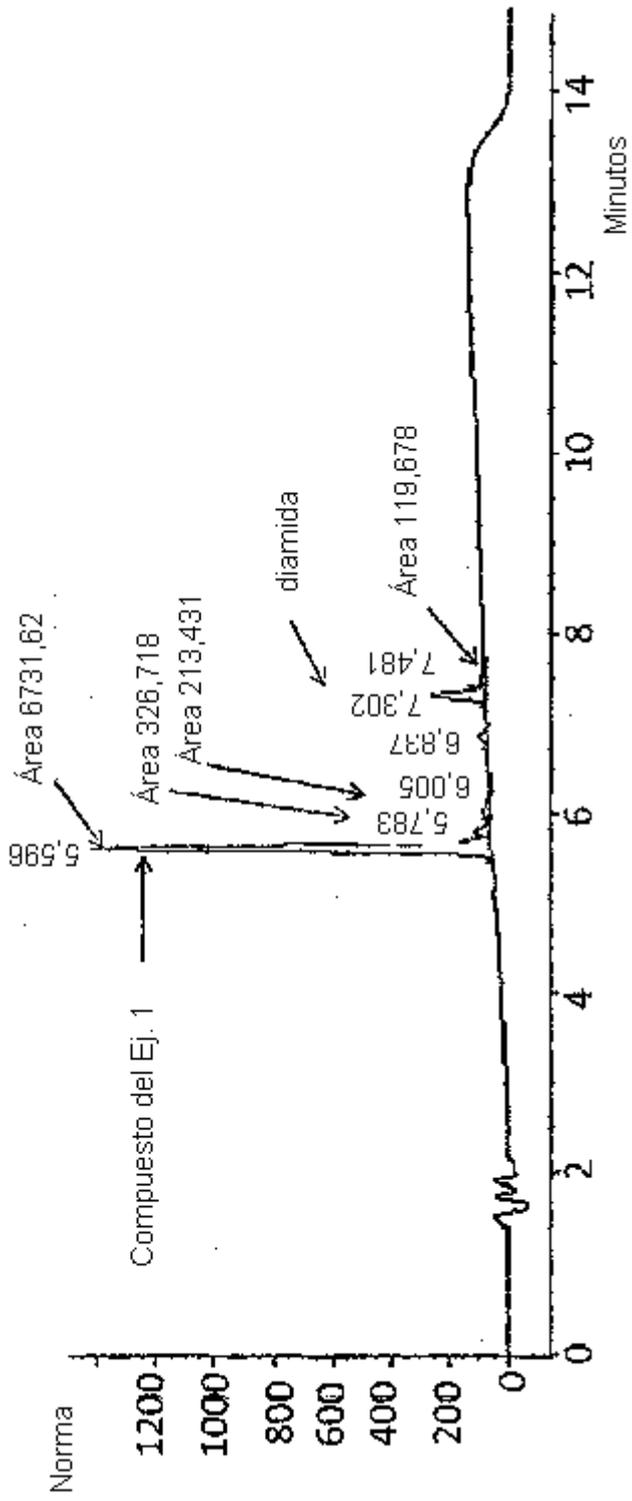


Figura 7 Cromatograma HPLC de compuesto 1 purificado instantáneo

