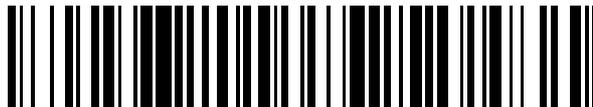


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 554 364**

51 Int. Cl.:

A61K 31/7048 (2006.01)

A61P 31/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.11.2008 E 08855084 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.10.2015 EP 2222309**

54 Título: **Compuestos macrocíclicos antibióticos y métodos de preparación y uso de los mismos**

30 Prioridad:

27.11.2007 US 996609 P

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

18.12.2015

73 Titular/es:

**MERCK SHARP & DOHME CORP. (100.0%)
126 East Lincoln Avenue
Rahway, NJ 07065, US**

72 Inventor/es:

**ICHIKAWA, YOSHI;
CHIU, YU-HUNG;
SHUE, YOUE-KONG y
BABAKHANI, FARAH, KONDORI**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 554 364 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 macrocíclicos antibióticos y métodos de preparación y uso de los mismos

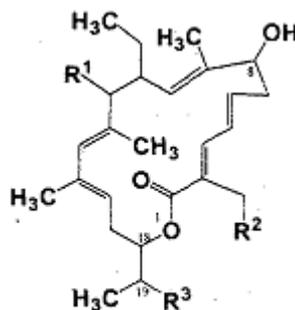
5 Campo de la invención

La invención se define en las reivindicaciones adjuntas. Otros aspectos de la divulgación se proporcionan para referencia y para poner la invención en contexto.

10 Antecedentes de la invención

Los macrociclos son una importante clase terapéutica de antibióticos. Estos compuestos se producen frecuentemente como una familia de congéneres biogénéticos estrechamente relacionados. Las Tiacumicinas son una serie de 18 miembros de antibióticos macrocíclicos en los que el anillo macrocíclico se une de forma glicosídica a uno o dos azúcares. Como se muestra en la Tabla 1, un azúcar de siete carbonos (R¹) se esterifica en diversas posiciones con ácidos grasos pequeños. El otro azúcar (R²), cuando está presente, se esterifica con un isómero de ácido benzoico sustituido tal como el ácido evernínico (Journal of Liquid Chromatography, 1988, 11: 191-201).

Las Tiacumicinas son una familia de compuestos relacionados que contienen el anillo de 18 miembros que se muestra en la Fórmula I que sigue a continuación.

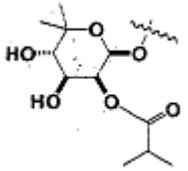
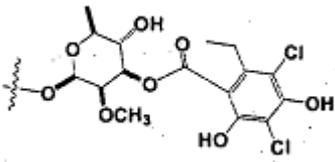
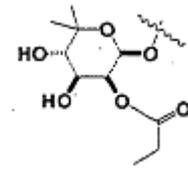
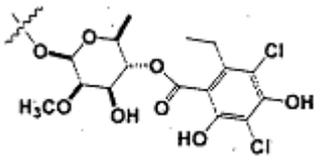
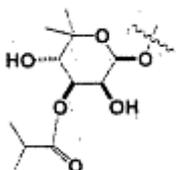
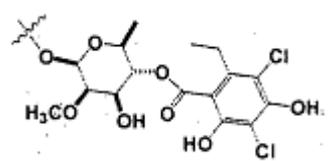


Fórmula I

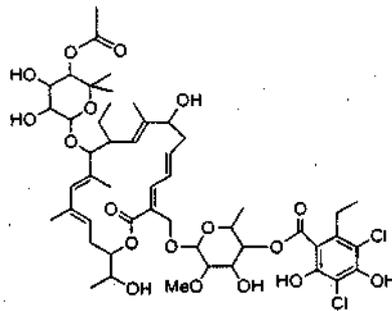
En la actualidad, se han identificado varias Tiacumicinas distintas y seis de estas (Tiacumicina A-F) se definen mediante su patrón de sustituyentes en particular R¹, R², y R³ (Véase, por ejemplo, el documento de Patente de Estados Unidos N° 4.918.174; J. Antibiotic, 1987, 40: 575-588), tal como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Sustituyentes presentes en las Tiacumcinas A-F

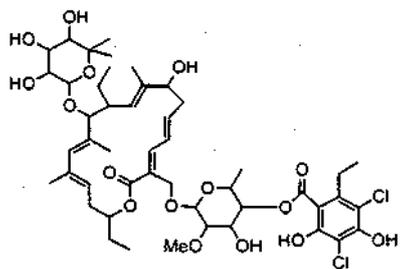
	R ¹	R ²	R ³
A		H	H
B			OH
C			OH

D			OH
E			OH
F			OH

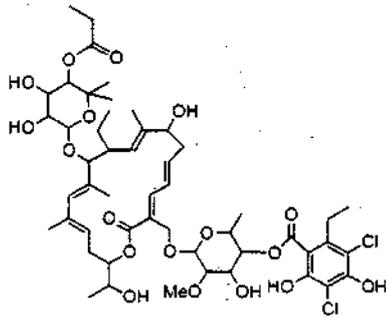
Más recientemente, un grupo de sustancias relacionadas se descubrieron y se describieron en la publicación de solicitud de Patente de Estados Unidos N° US2007-105791 e incluyen los siguientes.



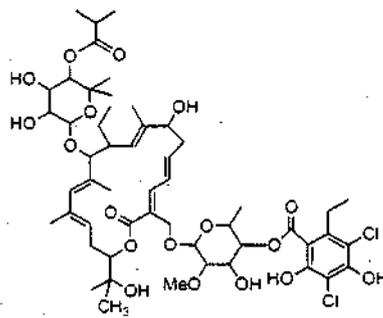
(OP-1416),



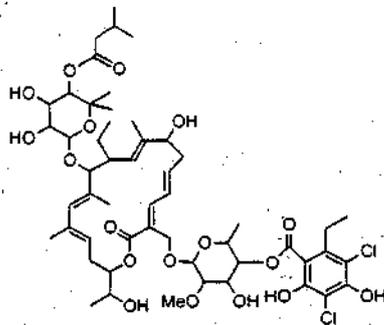
(OP-1415),



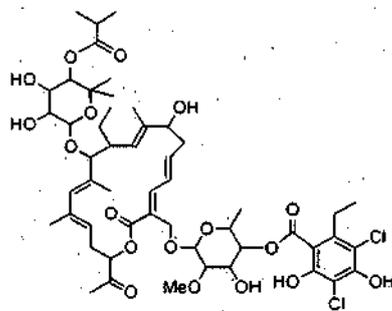
(OP-1417),



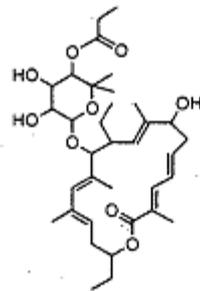
(OP-1435),



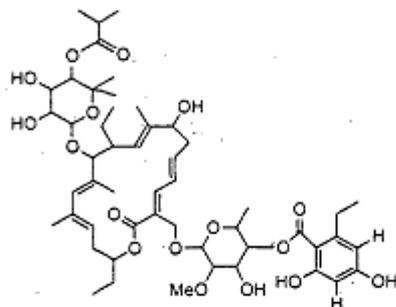
(OP-1437),



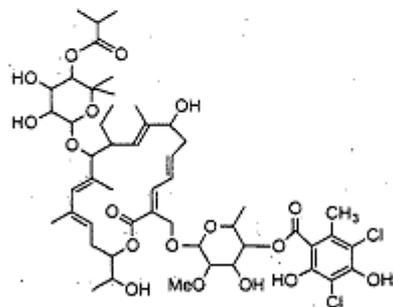
(OP-1402),



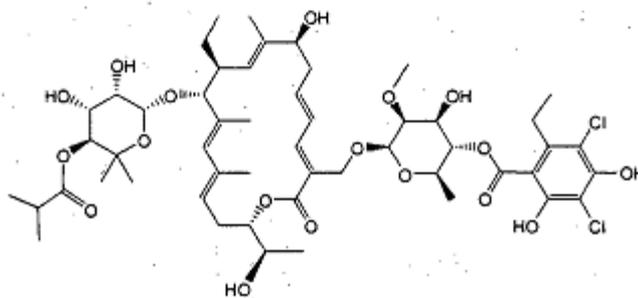
(OP-1433),



(OP-1438),



(OP-1405, Lipiarmicina A4),



(R-Tiacumicina B),

5 Las Tiacumicinas se pueden producir con bacterias, que incluyen la subespecie *hamdenensis* de *Dactylosporangium aurantiacum*, que se puede obtener en la Colección de Patentes ARS del Centro de Investigación Regional del Norte, Departamento de Agricultura de Estados Unidos, 1815 North University Street, Peoria, IL 61604, número de registro NRRL 18085. Las características de la cepa AB 718C-41 se proporcionan en J. Antibiotics, 1987, 40: 567-

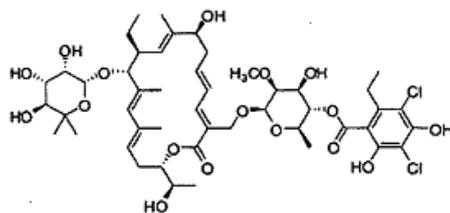
574 en el documento de Patente de Estados Unidos N° 4.918.174.

Las Tiacumicinas muestran actividad frente a diversos patógenos bacterianos y en particular frente a *C. difficile*, una bacteria Gram-positiva (Antimicrob. Agents Chemother. 1991, 1108-1111). *C. difficile* es una bacteria productora de esporas anaerobias que causa una infección del intestino. La diarrea es el síntoma más común pero también se puede producir dolor abdominal y fiebre. *C. difficile* es un agente causal principal de la colitis (es decir, inflamación del colon) y diarrea que se puede producir después de la ingesta de antibióticos. Esta bacteria se adquiere principalmente en hospitales y en instalaciones de cuidados crónicos. Dado que la Tiacumicina B muestra una actividad prometedora frente a *C. difficile*, se espera que sea útil en el tratamiento de infecciones bacterianas, especialmente las del tracto gastrointestinal, en mamíferos. Algunos ejemplos de tales tratamientos incluyen, pero no se limitan a, tratamiento de colitis y tratamiento del síndrome del intestino irritable. Las Tiacumicinas también pueden encontrar uso en el tratamiento de cánceres gastrointestinales.

Algunos antibióticos de Tiacumicina se describen en el documento de Patente de Estados Unidos N° 4.918.174 (presentado el 17 de abril de 1990), J. Antibiotics, 1987, 40: 575-588, J. Antibiotics, 1987, 40: 567-574, J. Liquid Chromatography, 1988, 11 : 191-201, Antimicrobial Agents and Chemotherapy 1991, 35: 1108-1111, documento de Patente de Estados Unidos N° 5.583.115 (presentado el 10 de diciembre de 1996), y documento de Patente de Estados Unidos N° 5.767.096 (presentado el 16 de junio de 1998). Algunos compuestos relacionados son los antibióticos de Lipiarmicina (c.f., J. Chem. Soc. Perkin Trans. I, 1987, 1353-1359 y J. Antibiotics 1988, 41: 308-315) y los antibióticos de Clostomicina (J. Antibiotics 1986, 39: 1407-1412). Babakhani *et al.* (Program and Abstracts of the Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, vol. 47, página 212) describe la actividad de OPT-80 y su metabolito de hidrólisis principal, OP-1118.

Sumario de la presente invención

La invención incluye una composición que comprende un compuesto de fórmula II



Fórmula II

para uso en un método para tratar o prevenir infecciones bacterianas en un mamífero, en el que el método comprende la administración de la composición por vía parenteral. La invención también incluye una composición farmacéutica adecuada para administración parenteral el comprende un compuesto de Fórmula II.

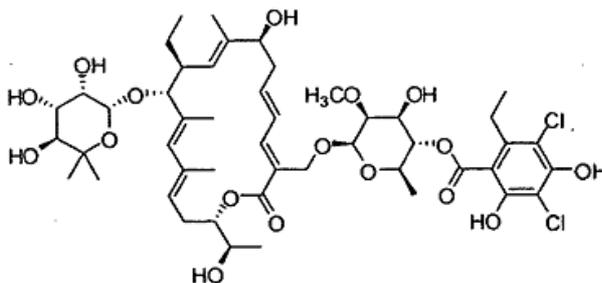
Breve descripción de las figuras

La Figura 1 muestra la Comparación de los niveles fecales de OPT-80 y de la Fórmula II con valores de MIC en presencia y ausencia de un 5 % de materia fecal con respecto a la referencia ATCC 700058 de *C. difficile*.

Descripción detallada de la invención

Descripción General

La invención comprende una composición que comprende un compuesto con la siguiente fórmula



Fórmula II

para uso en un método para tratar o prevenir infecciones bacterianas en un mamífero, en el que el método comprende la administración de la composición por vía parenteral.

5 La invención comprende una composición para uso en el método mencionado anteriormente, en el que la dosificación es de 0,001 mg a 200 mg por kilogramo de peso corporal del sujeto.

La invención comprende una composición para uso en el método mencionado anteriormente, en el que la dosificación es de 0,01 mg a 100 mg por kilogramo de peso corporal del sujeto.

10 La invención comprende una composición para uso en el método mencionado anteriormente, en el que la dosificación es de 0,1 mg a 50 mg por kilogramo de peso corporal del sujeto.

La invención comprende una composición para uso en el método mencionado anteriormente, en el que el compuesto de Fórmula II está presente en una cantidad de 1 mg a 800 mg.

15 La invención comprende una composición para uso en el método mencionado anteriormente, que comprende adicionalmente un excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

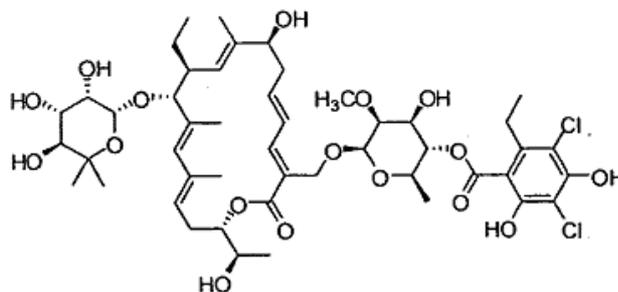
20 La invención comprende una composición para uso en el método mencionado anteriormente, para el tratamiento o la prevención de una infección por *C. difficile* en un mamífero.

La invención comprende una composición para uso en el método mencionado anteriormente, en el que la composición se administra por vía intravenosa.

25 La invención comprende una composición para uso en el método mencionado anteriormente, para el tratamiento o la prevención de una infección por *S. Aureus* en un mamífero.

La invención comprende una composición farmacéutica adecuada para administración parenteral que comprende un compuesto con la siguiente fórmula

30



Fórmula II.

35 La invención comprende una composición para uso en el método mencionado anteriormente, en el que el mamífero es un ser humano.

Definiciones

40 Como se usa en el presente documento, y a menos que se indique de otro modo, la expresión "afección asociada a antibiótico" se refiere a una afección que aparece cuando la terapia con antibióticos altera el equilibrio de la flora microbiana del intestino, permitiendo que algunos organismos patógenos, tales como cepas que producen enterotoxinas de *C. difficile*, *S. aureus* y *C. perfringens*, crezcan rápidamente. Estos organismos pueden causar diarrea, colitis pseudomembranosa, y colitis y se manifiestan con diarrea, incontinencia, calambres abdominales, tenesmo, y fiebre entre otros síntomas. La diarrea, cuando es grave, causa deshidratación y las complicaciones médicas asociadas con la deshidratación.

45 Como se usa en el presente documento, y a menos que se indique de otro modo, la expresión "sustituida de forma asimétrica" se refiere a una estructura molecular en la que un átomo que tiene cuatro valencias tetrahédricas se une a cuatro átomos o grupos diferentes. Los casos más habituales implican al átomo de carbono. En tales casos, aparecen dos isómeros ópticos (enantiómeros D y L o enantiómeros R y S) por átomo de carbono que son imágenes especulares no superponibles entre sí. Muchos compuestos tienen más de un carbono asimétrico. Esto da como resultado la posibilidad de muchos isómeros ópticos, cuyo número se determina con la fórmula 2^n , en la que n es el número de carbonos asimétricos.

50

5 Como se usa en el presente documento, y que a menos que se indique de otro modo, las expresiones "carbamato biohidrolizable", "carbonato biohidrolizable", "ureído biohidrolizable" y "fosfato biohidrolizable" se refieren a un carbamato, carbonato, ureído y fosfato, respectivamente, de un compuesto que: 1) no interfiere con la actividad biológica del compuesto pero puede conferir después a ese compuesto propiedades ventajosas *in vivo*, tales como absorción, duración de la acción, o inicio de la acción; o 2) es biológicamente inactivo pero se convierte *in vivo* con respecto al compuesto biológicamente activo. Algunos ejemplos de carbamatos biohidrolizables incluyen, pero no se limitan a, alquilaminas inferiores, etilendiaminas sustituidas, aminoácidos, hidroxialquilaminas, aminas heterocíclicas y heteroaromáticas, y poliéter aminas.

10 Como se usa en el presente documento, y a menos que se indique de otro modo, la expresión "éster biohidrolizable" se refiere a un éster de un compuesto que: 1) no interfiere con la actividad biológica del compuesto pero puede conferir después a ese compuesto propiedades ventajosas *in vivo*, tales como absorción, duración de la acción, o inicio de la acción; o 2) es biológicamente inactivo pero se convierte *in vivo* con respecto al compuesto biológicamente activo. Algunos ejemplos de ésteres biohidrolizables incluyen, pero no se limitan a, ésteres de alquilo inferior, alcoxiaciloxi ésteres, ésteres de alquilo acilamino alquilo, y ésteres de colina.

20 Como se usa en el presente documento, y a menos que se indique de otro modo, la expresión "amida biohidrolizable" se refiere a una amida de un compuesto que: 1) no interfiere con la actividad biológica del compuesto pero puede conferir después a ese compuesto propiedades ventajosas *in vivo*, tales como absorción, duración de la acción, o inicio de la acción; o 2) es biológicamente inactivo pero se convierte *in vivo* con respecto al compuesto biológicamente activo. Algunos ejemplos de amidas biohidrolizables incluyen, pero no se limitan a, amidas de alquilo inferior, amidas de alfa-aminoácido, amidas de alcoxiacilo, y amidas de alquilaminoalquilcarbonilo.

25 Como se usa en el presente documento, y a menos que se indique de otro modo, la expresión "caldo de cultivo", como se usa en el presente documento, se refiere al medio de cultivo fluido tal como se obtiene durante o después de fermentación. El caldo de cultivo comprende una mezcla de agua, el antibiótico o antibióticos deseados, nutrientes sin usar, organismos vivos o muertos, productos metabólicos, y el adsorbente con o sin producto adsorbido.

30 Como se usa en el presente documento, y a menos que se indique de otro modo, las expresiones "compuesto" o "compuestos de la invención" se usan indistintamente que hacen referencia a un compuesto de Fórmula II, Fórmula Ila, sales, estereoisómeros, mezclas de estereoisómeros, y profármacos de los mismos.

35 Como se usa en el presente documento, y a menos que se indique de otro modo, el término "excipiente" se refiere a una sustancia inerte añadida a una composición farmacológica para facilitar adicionalmente la administración de un compuesto. Algunos ejemplos de excipientes incluyen, pero no se limitan a, carbonato cálcico, fosfato cálcico, diversos azúcares y tipos de almidón, derivados de celulosa, gelatina, aceites vegetales y polietilenglicoles.

40 Como se usa en el presente documento, y a menos que se indique de otro modo, el término "halógeno" incluye F, Cl, Br e I.

45 Como se usa en el presente documento, y a menos que se indique de otro modo, el término "hidrato" se refiere a un compuesto de la presente invención o una sal del mismo que incluye adicionalmente una cantidad estequiométrica o no estequiométrica de agua unida mediante fuerzas intermoleculares no covalentes.

50 Como se usa en el presente documento, y a menos que se indique de otro modo, la expresión "mezcla isomérica" se refiere a una mezcla de dos o más especies químicas configuracionalmente distintas que tienen la misma fórmula química. Una mezcla isomérica es un género que comprende especies isoméricas individuales. Algunos ejemplos de mezclas isoméricas incluyen estereoisómeros (enantiómeros y diastereómeros), regioisómeros, cómo puede resultar por ejemplo de una reacción pericíclica. Los compuestos de la presente invención comprenden átomos de carbono sustituido de forma asimétrica. Tales átomos de carbono sustituidos de forma asimétrica pueden dar como resultado mezclas de estereoisómeros en un átomo de carbono sustituido de forma asimétrica en particular o un solo estereoisómero. Como resultado, en la presente invención están incluidas mezclas racémicas, mezclas de diastereómeros, así como diastereómeros individuales de los compuestos de la invención.

55 Como se usa en el presente documento, y a menos que se indique de otro modo, la expresión "alquilo inferior", solo o en combinación, se refiere a una cadena lineal opcionalmente sustituida o cadena ramificada opcionalmente sustituida que tiene de 1 a aproximadamente 8 carbonos (por ejemplo, C₁, C₂, C₃, C₄, C₅, C₆, C₇, C₈), más preferentemente de 1 a 4 carbonos (por ejemplo, C₁, C₂, C₃, C₄). Algunos ejemplos de radicales alquilo incluyen metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo, terc-butilo. Un "alquilo inferior" es generalmente un alquilo más corto, por ejemplo, uno que contiene de 1 a aproximadamente 4 átomos de carbono (por ejemplo, C₁, C₂, C₃, C₄).

65 Como se usa en el presente documento, y a menos que se indique de otro modo, el término "macrociclos" se refiere a moléculas orgánicas con grandes estructuras anulares que contienen normalmente más de 10 átomos.

Como se usa en el presente documento, y a menos que se indique de otro modo, la expresión "macrociclos de 18 miembros" se refiere a moléculas orgánicas con estructuras celulares que contienen 18 átomos.

5 Como se usa en el presente documento, y a menos que se indique de otro modo, la expresión "anillo con miembros" puede incluir cualquier estructura cíclica, que incluye carbociclos y heterociclos como se ha descrito anteriormente. El término "miembros" se refiere a que indica el número de átomos del esqueleto que constituye el anillo. Por lo tanto, por ejemplo, piridina, pirano y tiopirano son anillos de 6 miembros y pirrol, furano, y tiofeno son anillos de 5 miembros.

10 Como se usa en el presente documento, y a menos que se indique de otro modo, la expresión "MIC" o "concentración inhibitoria mínima" se refiere a la concentración más baja de un antibiótico que se necesita para inhibir el crecimiento de un aislado bacteriano *in vitro*. Un método común para determinar la MIC de un antibiótico es preparar varios tubos que contienen diluciones en serie del antibiótico, que a continuación se inoculan con el aislado bacteriano de interés. La MIC de un antibiótico se puede determinar a partir del tubo con la concentración más baja
15 que no muestra turbidez (sin crecimiento).

Como se usa en el presente documento, y a menos que se indique de otro modo, el término "MIC₅₀" se refiere a la concentración más baja de antibiótico necesaria para inhibir el crecimiento de un 50 % de las cepas bacterianas sometidas a ensayo dentro de una especie bacteriana dada.
20

Como se usa en el presente documento, y a menos que se indique de otro modo, el término "MIC₉₀" se refiere a la concentración más baja de antibiótico necesaria para inhibir el crecimiento de un 90 % de las cepas bacterianas sometidas a ensayo dentro de una especie bacteriana dada.

25 Como se usa en el presente documento, y a menos que se indique de otro modo, la expresión "OPT-80" se refiere a una preparación que contiene R-Tiacumicina B y compuestos relacionados con Tiacumicina B (que incluyen, pero no se limitan a, Tiacumicinas, Lipiarmicina A4 y C-19 Cetona). Algunas preparaciones de este tipo se describen con detalle en la solicitud de PCT, PCT/US03/21977, que tiene un número de publicación internacional WO 2004/014295 A2.
30

Como se usa en el presente documento, y a menos que se indique de otro modo, la expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable" se refiere a un vehículo o diluyente que es farmacéuticamente aceptable.

35 Como se usa en el presente documento, y a menos que se indique de otro modo, la expresión "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a las obtenidas a partir de bases inorgánicas y orgánicas farmacéuticamente aceptables. Algunas sales derivadas de bases apropiadas incluyen sales de metal alcalino (por ejemplo, sodio o potasio), metal alcalinotérreo (por ejemplo, magnesio), amonio y N(alquil C₁-C₄)₄⁺, y similares. Algunos ejemplos ilustrativos de algunas de estas sales incluyen hidróxido sódico, hidróxido potásico, hidroxilo de colina, carbonato sódico, y similares. La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" también se refiere a sales preparadas a partir de ácidos no tóxicos farmacéuticamente aceptables, que incluyen ácidos inorgánicos y ácidos orgánicos. Algunos ácidos no tóxicos adecuados incluyen ácidos inorgánicos y orgánicos tales como, pero no limitados a, ácidos acético, algínico, antranílico, bencenosulfónico, benzoico, alcanforsulfónico, cítrico, etenosulfónico, fórmico, fumárico, furoico, glucónico, glutámico, glucorénico, galacturónico, glicídico, bromhídrico, clorhídrico, isetiónico, láctico, maleico, málico, mandélico, metanosulfónico, múcico, nítrico, pamoico, pantoténico,
40 fenilacético, propiónico, fosfórico, salicílico, esteárico, succínico, sulfanílico, sulfúrico, tartárico, p-toluenosulfónico y similares. Son particularmente preferentes los ácidos clorhídrico, bromhídrico, fosfórico, y sulfúrico, y la más particularmente preferente es la sal de clorhidrato.
45

50 Como se usa en el presente documento, y a menos que se indique de otro modo, la expresión "composición farmacéutica" se refiere a una composición de la R-Tiacumicina que se describe en el presente documento, o sales fisiológicamente aceptables de la misma, con otros componentes químicos, tales como vehículos y/o excipientes fisiológicamente aceptables. La finalidad de una composición farmacéutica es facilitar la administración de un compuesto a un mamífero, incluyendo seres humanos.

55 Como se usa en el presente documento, y a menos que se indique de otro modo, la expresión "vehículo fisiológicamente aceptable" se usa de formas sinónima a la expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable" y se refiere a un vehículo o diluyente que no causa una irritación significativa a un organismo y no anula la actividad y propiedades biológicas del compuesto administrado.

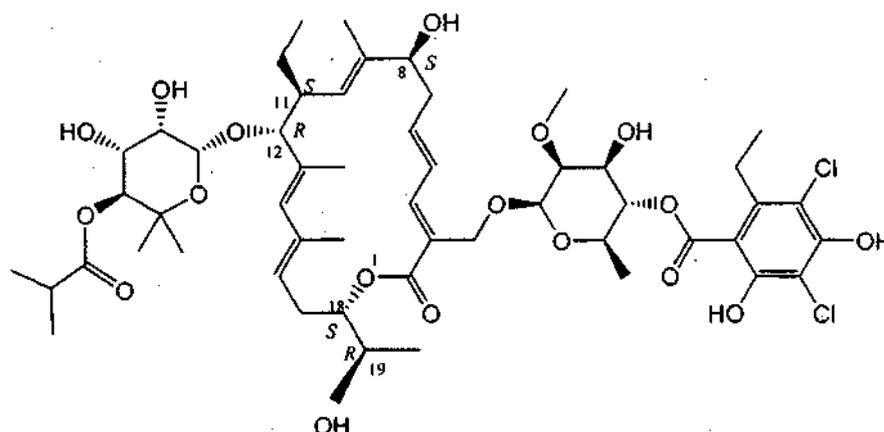
60 Como se usa en el presente documento, y a menos que se indique de otro modo, el término "profármaco" se refiere un derivado de un compuesto se puede hidrolizar, oxida, o de otro modo reaccionar en condiciones biológicas (*in vitro* o *in vivo*) para proporcionar el compuesto. Algunos ejemplos de profármacos incluyen, pero no se limitan a, compuestos que comprenden restos biohidrolizables tales como análogos de amidas biohidrolizables, ésteres biohidrolizables, carbamatos biohidrolizables, carbonatos biohidrolizables, ureídos biohidrolizables, y fosfato biohidrolizable. Otros ejemplos de profármacos incluyen compuestos que comprenden restos de --NO, --NO₂, -ONO, o -ONO₂. Cuando se usa para describir un compuesto de la invención, también se puede interpretar que el término
65

"profármaco" excluye a otros compuestos de la invención, por ejemplo, racematos.

5 Como se usa en el presente documento, y a menos que se indique de otro modo, la expresión "colitis pseudomembranosa" o "enteritis" se refiere a la formación de material pseudomembranoso (es decir, material formado por fibrina, mucosa, células epiteliales necróticas y leucocitos) debido a inflamación de la membrana mucosa del intestino tanto delgado como grueso.

10 Como se usa en el presente documento, y a menos que se indique de otro modo, la expresión configuración "R" y "S", como se usa en el presente documento, es como la define la IUPAC 1974 Recommendations for Section E, Fundamental Stereochemistry, Pure Appl. Chem. (1976) 45, 13-30. Algunas moléculas quirales se pueden denominar basándose en los números atómicos de los átomos o grupos de átomos, los ligandos que están unidos al centro quiral. A los ligandos se les da una prioridad (cuanto más elevado es el número atómico, más elevadas la prioridad) y si las prioridades aumentan en una dirección en sentido de las agujas del reloj, se dice que se encuentran en la configuración R. de otro modo, si prioritariamente se encuentran en una dirección en sentido contrario de las agujas del reloj, se dice que están en la configuración S.

20 Como se usa en el presente documento, y a menos que se indique de otro modo, la expresión "R-Tiacumicina B" se refiere al (R)-isómero ópticamente puro de la Tiacumicina B con grupo (R)-hidroxi en el C-19, tal como se muestra a continuación:



25 Como se usa en el presente documento, y a menos que se indique de otro modo, el término "estereoisómeros" se refiere a compuestos cuyas moléculas tienen el mismo número y tipo de átomos y la misma colocación atómica, pero se diferencian en su colocación espacial.

30 Como se usa en el presente documento, y a menos que se indique de otro modo, las expresiones "ópticamente puro", "estereoméricamente puro", y "básicamente estereoméricamente puro" se usan indistintamente y hacen referencia a un estereoisómero de un compuesto o una composición que comprende un estereoisómero de un compuesto y está básicamente libre del otro estereoisómero o estereoisómeros de ese compuesto. Por ejemplo, un compuesto estereoméricamente puro o composición de un compuesto que tiene un centro quiral estará básicamente libre del enantiómero opuesto del compuesto. Un compuesto estereoméricamente puro o composición de un compuesto que tiene dos centros quirales estará básicamente libre de los otros diastereómeros del compuesto. Un compuesto estereoméricamente puro habitual comprende más de aproximadamente un 80 % en peso de un estereoisómero del compuesto y menos de aproximadamente un 20 %, en peso de los otros estereoisómeros del compuesto, más preferentemente más de aproximadamente un 90 % en peso de un estereoisómero del compuesto y menos de aproximadamente un 10 % en peso de los otros estereoisómeros del compuesto, incluso más preferentemente más de aproximadamente 95 % en peso de un estereoisómero del compuesto y menos de aproximadamente un 5 % en peso de los otros estereoisómeros del compuesto, y lo más preferentemente más de aproximadamente un 97 % en peso de un estereoisómero del compuesto y menos de aproximadamente un 3 % en peso de los otros estereoisómeros del compuesto.

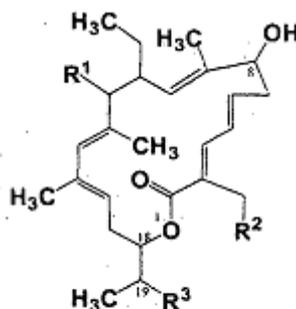
45 Como se usa en el presente documento, y a menos que se indique de otro modo, la expresión "sujeto" se refiere a un ser humano o animal con necesidad de tratamiento médico. Para los fines de la presente invención, los sujetos humanos por lo general se institucionalizan en un centro de atención médica primaria tal como un hospital o centro de enfermería. Sin embargo, el tratamiento de una enfermedad asociada con el uso de antibióticos o quimioterapias para el cáncer o terapias antivirales se puede producir de forma ambulatoria, tras el alta en un centro de atención primaria, o la puede prescribir un médico para cuidado en el hogar, no en asociación con un centro de atención médica primaria. Los animales con necesidad de tratamiento médico por lo general están bajo el cuidado de un veterinario.

50

Como se usa en el presente documento, y a menos que se indique de otro modo, el término "azúcar" se refiere generalmente a mono-, di- u oligosacáridos. Un sacárido puede estar sustituido, por ejemplo, glucosamina, galactosamina, acetilglucosa, acetilgalactosa, N-acetilglucosamina, N-acetil-galactosamina, galactosil-N-acetilglucosamina, ácido N-acetilneuramínico (ácido siálico), etc., así como azúcares sulfatados y fosforilados. Para los fines de la presente definición, los sacáridos se encuentran en su forma de piranosa o furanosa.

Como se usa en el presente documento, y a menos que se indique de otro modo, el término "Tiacumicina", como se usa en el presente documento, se refiere a una familia de compuestos en la que todos comprenden el macrociclo de 18 miembros que se muestra a continuación en la Fórmula I:

10



Fórmula I

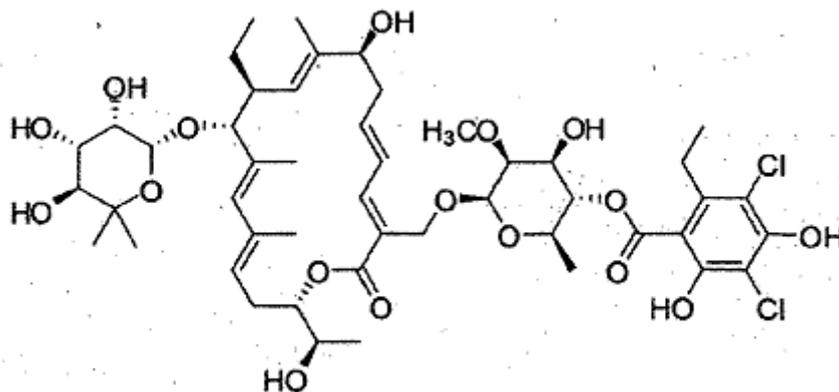
Como se usa en el presente documento, y a menos que se indique de otro modo, la expresión "rendimiento", como se usa en el presente documento, se refiere a una cantidad de Tiacumicina en bruto reconstituida en metanol hasta el mismo volumen que el caldo de fermentación original. El rendimiento se determina usando técnicas convencionales de HPLC. El rendimiento se indica en unidades de mg/l.

15

Compuesto de la Invención

El compuesto de la invención es un metabolito de la Tiacumicina B que tiene la estructura de Fórmula II, en la que se ha escindido el grupo isopropilcarboxi en el azúcar de la Tiacumicina B:

20



Fórmula II

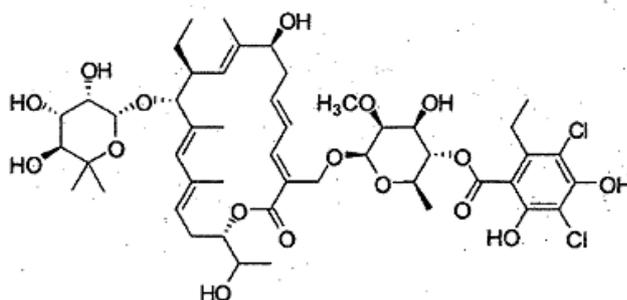
El compuesto de Fórmula II puede existir en forma libre o en forma de sus sales farmacéuticamente aceptables.

25

En ciertas realizaciones, el compuesto de la invención es un metabolito de la R-Tiacumicina B, (es decir, el compuesto de Fórmula II).

En ciertas realizaciones, el compuesto de Fórmula II es racémico y se puede representar con el compuesto de Fórmula IIa.

30



Fórmula IIa

En otras realizaciones, el compuesto de Fórmula II es básicamente estereoméricamente puro y se puede ilustrar con el compuesto de Fórmula II.

5

Usos Terapéuticos y Profilácticos del Compuesto de la Invención

La invención incluye un compuesto de Fórmula II que es eficaz en el tratamiento de trastornos asociados con infecciones bacterianas, normalmente infecciones GI causadas por cepas que producen toxinas de *Clostridium difficile* (*C. difficile*) y *Clostridium perfringens* (*C. perfringens*).

10

En otra realización de la invención se trata del efecto selectivo del compuesto de Fórmula II en *C. difficile* similar al del compuesto precursor, OPT-80, higuera tan activo como la vancomicina frente a *C. difficile*.

15

Se desvelan métodos para el tratamiento de afecciones asociadas a antibióticos que incluyen la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula II o Fórmula IIa o una sal del mismo o una composición que comprende tal compuesto a un sujeto con necesidad del mismo.

20

Se desvelan métodos para el tratamiento de una afección que aparece cuando la terapia con antibióticos altera el equilibrio de la flora microbiana del intestino, permitiendo que algunos organismos patógenos, tales como cepas que producen enterotoxinas de *C. difficile*, *S. aureus* y *C. perfringens*, crezcan rápidamente. El método incluye la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula II o Fórmula IIa o una sal del mismo o una composición que comprende tal compuesto a un sujeto con necesidad del mismo.

25

Se desvelan métodos para el tratamiento de trastornos asociados con el crecimiento anómalo de *C. difficile*, *S. aureus* y *C. perfringens* en el tracto intestinal y en ciertas realizaciones en objeto que toma antibióticos u otros fármacos antimicrobianos. Algunos trastornos que se pueden tratar de prevenir con los presentes métodos incluyen síntomas que varían de diarrea inflamaciones del colon que amenazan la vida, e incluyen, pero no se limitan a, colitis pseudomembranosa - inflamaciones graves del colon, y colitis manifestada por diarrea, incontinencia, calambres abdominales, tenesmo, y fiebre entre otros síntomas. La diarrea, cuando es grave, causa deshidratación y las complicaciones médicas asociadas con la deshidratación.

30

Algunos trastornos adicionales asociados con *C. difficile*, *S. aureus* y *C. perfringens* que se pueden tratar con un compuesto de Fórmula II o un compuesto de Fórmula IIa o una sal del mismo o una composición que comprende tal compuesto incluyen, pero no se limitan a, episodios de diarrea acuosa, a menudo con náuseas y dolor abdominal y calambres, colitis o colitis pseudomembranosa, diarrea acuosa profusa - 10 o más movimientos del intestino al día, fiebre, a menudo superior a 101 °F, dolor abdominal, que puede ser grave, sangre o pus en las heces, náuseas, deshidratación y pérdida de peso.

35

40

En ciertas realizaciones, algunos sujetos pueden desarrollar infecciones por *C. difficile*, *S. aureus* y *C. perfringens* durante o poco después de un periodo con antibióticos, pero los signos y los síntomas puede no aparecer durante semanas o incluso meses después de que se haya detenido el tratamiento. Los compuestos composición de la invención son útiles para tratamiento a largo plazo y para prevenir la reaparición de una infección bacteriana o un trastorno asociado con una infección bacteriana.

45

Sin quedar limitado por la teoría, se cree que cuando un sujeto toma un antibiótico para tratar una infección, éste a menudo destruye estas bacterias beneficiosas así como las bacterias que causan la enfermedad. Sin suficientes bacterias sanas, algunos patógenos peligrosos tales como *C. difficile* pueden crecer rápidamente sin control. Una vez que *C. difficile* se establece, éste puede producir toxinas virulentas que atacan el revestimiento del intestino. Las toxinas destruyen células y producen pseudomembranas - parches reveladores (placas) de células inflamatorias y residuos celulares en descomposición en la superficie interior del colon. Sin quedar limitado por la teoría, se cree que casi todos los antibióticos pueden hacer que las bacterias dañinas proliferen en el intestino, pero la ampicilina, amoxicilina, clindamicina, fluoroquinolonas y cefalosporinas de forma muy frecuente están implicadas en infecciones con *C. difficile*. El uso de fármacos de amplio espectro que se dirigen a una amplia gama de bacterias y la ingesta de

50

antibióticos durante un período de tiempo prolongado aumentan la posibilidad de infección. Otros agentes antimicrobianos, que incluyen fármacos antivirales y antifúngicos y medicaciones de quimioterapia también pueden conducir a un aumento del riesgo de infección con *C. difficile*.

5 Por consiguiente, el compuesto de la invención es útil en el tratamiento de infecciones, por ejemplo una infección bacteriana, causada por el crecimiento anómalo de *C. difficile*, *S. aureus* y *C. perfringens* y/o el tratamiento o la prevención de trastornos asociados con el crecimiento anómalo de *C. difficile*, *S. aureus* y *C. perfringens*.

10 Se desvelan métodos para el tratamiento de infecciones, por ejemplo una infección bacteriana, que incluye, pero no se limita a, una infección bacteriana causada por *C. difficile*, *S. aureus* y *C. perfringens* y/o el tratamiento con la prevención de trastornos asociados con *C. difficile*, *S. aureus* y *C. perfringens* que comprende administrar a un sujeto, preferentemente a un mamífero con necesidad de dicho tratamiento o prevención, una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de un compuesto de Fórmula II o Fórmula Ila o una sal o una composición que incluye tal compuesto.

15 En una realización, una composición de la invención se administra a un mamífero, preferentemente un ser humano, con un trastorno asociado con la flora GI anaerobia y microaerófila.

20 En otra realización, una composición de la invención se administra a un mamífero, preferentemente un ser humano, con una infección causada por *C. difficile*, *S. aureus* y *C. perfringens*.

En otra realización, una composición de la invención se administra a un mamífero, preferentemente un ser humano, con un trastorno asociado a *C. difficile*, *S. aureus* y/o *C. perfringens*.

25 En una realización, "tratamiento", o "que trata" se refiere a una mejora de una enfermedad o trastorno, o al menos un síntoma discernible de los mismos, asociados con una infección bacteriana asociada con el crecimiento anómalo de la flora GI anaerobia y microaerófila o *C. difficile*, *S. aureus* y *C. perfringens*. En otra realización, "tratamiento", o "que trata" se refiere a una mejora de al menos un parámetro físico que se puede medir, no necesariamente discernible por el sujeto con necesidad del tratamiento. En otra realización más, "tratamiento", o "que trata" se refiere a la inhibición de la progresión de una enfermedad o trastorno, ya sea físicamente, por ejemplo, estabilización de un síntoma discernible, fisiológicamente, por ejemplo, estabilización de un parámetro físico, o ambos. Además en otra realización, "tratamiento", o "que trata" se refiere red al retraso del inicio de una enfermedad o trastorno.

35 En ciertas realizaciones, las composiciones de la invención se administran a un sujeto, preferentemente un ser humano, como una medida preventiva frente a tales enfermedades. Como se usa en el presente documento, "prevención" o "que previene" se refiere a una reducción del riesgo de adquirir una enfermedad o trastorno dados. En un modo de la realización más preferente, las composiciones de la invención se administran como una medida preventiva para un sujeto, preferentemente un ser humano que tienen una predisposición a una infección bacteriana o trastorno asociado con el crecimiento anómalo de la flora GI anaerobia y microaerófila o *C. difficile*, *S. aureus* y/o *C. perfringens*.

Administración y Composiciones Terapéuticas/Profilácticas

45 Debido a la actividad de los compuestos de Fórmula II y Fórmula Ila y sales de los mismos, los compuestos son ventajosamente útiles en medicina veterinaria y humana. Como se ha descrito anteriormente, los compuestos de la invención son útiles para el tratamiento o la prevención de un trastorno asociado con la flora GI anaerobia y microaerófila, *C. difficile*, o un trastorno asociado con *C. difficile*, *S. aureus* y/o *C. perfringens*.

50 En algunas realizaciones, el sujeto tiene una flora intestinal anómala/alterada pero no presenta ni manifiesta ningún síntoma fisiológico asociado con el crecimiento anómalo de la flora GI anaerobia y microaerófila, *C. difficile*, *S. aureus* y/o *C. perfringens*, o un trastorno asociado con *C. difficile*, *S. aureus* y/o *C. perfringens*.

55 La divulgación incluye métodos de tratamiento y profilaxis mediante la administración a un sujeto de una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de una composición que comprende un compuesto de Fórmula II. La divulgación también incluye métodos de tratamiento y profilaxis mediante el contacto del intestino o tracto GI de un sujeto con una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de un compuesto de Fórmula II o Fórmula Ila o una sal del mismo.

60 El sujeto es un mamífero, que incluye, pero no se limita a, un animal tal como vaca, caballo, oveja, cerdo, pollo, pavo, codorniz, gato, perro, ratón, rata, conejo, cobaya, y más preferentemente es un ser humano.

65 Las composiciones, que comprenden un compuesto de Fórmula II, se pueden administrar por vía oral. Los compuestos de la invención también se pueden administrar mediante cualquier otra ruta conveniente, por ejemplo, mediante infusión o inyección de bolo, mediante absorción a través de revestimientos epiteliales o mucocutáneos (por ejemplo, mucosa oral, mucosa rectal e intestinal) y se pueden administrar junto con otro agente biológicamente activo. La administración puede ser sistémica o local. Se conocen diversos sistemas de administración, por ejemplo,

encapsulación en liposomas, micropartículas, microcápsulas, cápsulas, etc., y se pueden usar para administrar un compuesto de Fórmula II, Fórmula Ila, o una sal del mismo. También se describen métodos de administración que incluyen, pero no se limitan a, administración intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, subcutánea, intranasal, epidural, oral, sublingual, intranasal, intracerebral, intravaginal, transdérmica, por vía rectal, mediante inhalación, o por vía tópica, en particular a los oídos, nariz, ojos, o piel. El modo de administración preferente se deja al criterio del profesional, y dependerá en parte del sitio de la afección médica.

En la mayoría de los casos, la administración no dará como resultado la liberación de los compuestos de la invención en el torrente sanguíneo. Por ejemplo, después de múltiples administraciones de dosis orales, se detectaron niveles de MCC de Fórmula II bajos en plasma, la mayoría de los cuales caían por debajo del límite de cuantificación. Por el contrario, los niveles fecales de Fórmula II en los estudios eran extremadamente elevados, superando 1.000 veces sus valores de MIC con respecto a *C. difficile*.

Sin embargo, en ciertas realizaciones, puede ser útil administrar los compuestos de la invención por vía sistémica. Por consiguiente, en otras realizaciones, la administración dará como resultado la liberación de los compuestos de la invención en el torrente sanguíneo.

Puede ser deseable administrar uno o más compuestos de la invención por vía local al área con necesidad de tratamiento. Esto se puede conseguir, por ejemplo, y no a modo de limitación, mediante infusión local durante la cirugía, aplicación tópica, por ejemplo, en conjunto con un vendaje con un apósito para heridas después de la cirugía, mediante inyección, por medio de un catéter, por medio de un supositorio, o por medio de un implante, siendo dicho implante de un material poroso, no poroso, o gelatinoso, que incluye membranas, tales como membranas sialásticas, o fibras. En una realización, la administración puede ser mediante inyección directa en el sitio (o sitio anterior) de un tejido de placa aterosclerótica.

También se puede usar la administración pulmonar, por ejemplo, mediante el uso de un inhalador o nebulizador, y formulación con un agente de aerosol, o mediante perfusión en un tensioactivo pulmonar de fluorocarbono o sintético. Los compuestos de la invención se pueden formular como un supositorio, con aglutinantes y vehículos tradicionales tales como triglicéridos.

Los compuestos de la invención se pueden administrar en una vesícula, en particular un liposoma (véase Langer, 1990, *Science* 249: 1527-1533; Treat *et al.*, en *Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer*, Lopez-Berestein y Fidler (eds.), Liss, New York, pp. 353-365 (1989); Lopez-Berestein, mencionada anteriormente, pp. 317-327; véase por lo general lo mencionado anteriormente.).

Los compuestos de la invención se pueden administrar en un sistema de liberación controlada. Por ejemplo se puede usar una bomba (véase Langer, mencionado anteriormente; Sefton, 1987, *CRC Crit. Ref. Biomed. Eng.* 14: 201; Buchwald *et al.*, 1980, *Surgery* 88: 507 Saudek *et al.*, 1989, *N. Engl. J. Med.* 321: 574). También se pueden usar materiales poliméricos (véase *Medical Applications of Controlled Release* Langer and Wise (eds.), CRC Pres., Boca Raton, Fla. (1974); *Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance*, Smolen and Ball (eds.), Wiley, New York (1984); Ranger y Peppas, 1983, *J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem.* 23: 61; véase también Levy *et al.*, 1985, *Science* 228: 190; During *et al.*, 1989, *Ann. Neurol.* 25:351; Howard *et al.*, 1989, *J. Neurosurg.* 71: 105). Además, en otro ejemplo, un sistema de liberación controlada se puede colocar en la cercanía de la diana de los compuestos de la invención, por ejemplo, el hígado, necesitando de este modo solamente una fracción de la dosis sistémica (véase, por ejemplo, Goodson, en *Medical Applications of Controlled Release*, mencionado anteriormente, vol. 2, pp. 115-138 (1984)). Se pueden usar otros sistemas de liberación controlada analizados en la revisión de Langer, 1990, *Science* 249: 1527-1533).

Las composiciones contendrán una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de un compuesto de Fórmula II, Fórmula Ila o una sal del mismo, preferentemente en forma purificada, junto con una cantidad adecuada de un vehículo farmacéuticamente aceptable para proporcionar la forma para la administración apropiada para el paciente.

En una realización específica, la expresión "farmacéuticamente aceptable" se refiere a que está aprobado por una agencia reguladora Federal o un estado gubernamental o se enumera en la Farmacopea de Estados Unidos u otra farmacopea reconocida generalmente para uso en animales, y más particularmente en seres humanos. El término "vehículo" se refiere a un diluyente, adyuvante, excipiente, o medio de soporte con el que se administra un compuesto de la invención. Tales vehículos farmacéuticos pueden ser líquidos, tales como agua y aceites, que incluyen los de origen en petróleo, animal, vegetal o sintético, tales como aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo y similares. Los vehículos farmacéuticos pueden ser solución salina, goma arábiga, gelatina, pasta de almidón, talco, queratina, sílice coloidal, urea, y similares. Además, se pueden usar agentes auxiliares, estabilizantes, espesantes, lubricantes y colorantes. Cuando se administran a un paciente, los compuestos de la invención y vehículos farmacéuticamente aceptables son preferentemente estériles. El agua es un vehículo preferente cuando el compuesto de la invención se administra por vía intravenosa. Como vehículos líquidos también se pueden usar soluciones salinas y soluciones acuosas de dextrosa y glicerol, en particular para soluciones inyectables. Algunos vehículos farmacéuticos adecuados también incluyen excipientes tales como almidón, glucosa, lactosa, sacarosa, gelatina, malta, arroz, harina, tiza, gel de sílice, estearato sódico, monoestearato de glicerol, talco,

cloruro sódico, leche desnatada seca, glicerol, propileno, glicol, agua, etanol y similares. Las presentes composiciones, si se desea, también pueden contener cantidades menores de agentes humectantes o emulgentes, o agentes del tamponamiento del pH.

- 5 Los compuestos de la invención también se pueden administrar en forma de soluciones, suspensiones, emulsión, comprimidos, píldoras, gránulos, cápsulas, cápsulas que contienen líquidos, polvos, formulaciones de liberación sostenida, supositorios, emulsiones, aerosoles, pulverizaciones, suspensiones, o cualquier otra forma adecuada para su uso. El vehículo. Farmacéuticamente aceptable puede ser una cápsula. (Véase, por ejemplo, el documento de Patente de Estados Unidos Nº 5.698.155). Otros ejemplos de vehículos farmacéuticos adecuados se describen en "Remington's Pharmaceutical Sciences" de A.R. Gennaro.

15 En una determinada realización, los compuestos de Fórmula II se formulan de acuerdo con procedimientos de rutina en forma de una composición farmacéutica adaptada para administración intravenosa a seres humanos. Por lo general, los compuestos de la invención para administración intravenosa son soluciones en tampón acuoso isotónico estéril. Cuando sea necesario, las composiciones también pueden incluir un agente solubilizante. Las composiciones para administración intravenosa pueden incluir opcionalmente un anestésico local tal como lidocaína para aliviar el dolor en el sitio de inyección. Por lo general, los ingredientes se proporcionan ya sea por separado o mezclados en conjunto en forma de dosificación unitaria, por ejemplo, en forma de un polvo liofilizado seco o concentrado sin agua en un recipiente sellado herméticamente tal como una ampolla o bolsita que indica la cantidad de agente activo.

20 Cuando el compuesto de la invención se va a administrar mediante infusión, se puede distribuir, por ejemplo, con un frasco de infusión que contiene agua o solución salina de calidad farmacéutica estéril. Cuando el compuesto de la invención se administra mediante inyección, se puede proporcionar una ampolla de agua estéril para inyección o solución salina de modo que los se pueden mezclar antes de su administración.

25 Las composiciones de la invención se pueden administrar por vía oral. Las composiciones para administración oral se pueden presentar en forma de comprimidos, pastillas para chupar, suspensiones acuosas u oleosas, gránulos, polvos, emulsiones, cápsulas, jarabes de elixir es, por ejemplo. Las composiciones administradas por vía oral pueden contener uno o más agentes opcionales, por ejemplo, agentes edulcorantes tales como fructosa, aspartamo o sacarina; agentes saborizantes tales como menta, aceite de gaulteria, o cereza; agentes colorantes; y agentes conservantes, para proporcionar una preparación farmacéuticamente agradable al paladar. Además, cuando se presentan en forma de comprimido o de píldora, las composiciones se pueden revestir para retrasar la desintegración y la absorción en el tracto gastrointestinal proporcionando de este modo una acción sostenida durante un periodo de tiempo prolongado. Para la administración de los compuestos de la invención por vía oral también son adecuadas algunas membranas selectivamente permeables que rodean a un compuesto de dirección u osmóticamente activos. En estas últimas plataformas, el fluido del entorno que rodea a la cápsula está embebido por el compuesto de dirección, que se hincha para desplazar el agente o composición de agente a través de una abertura. Estas plataformas de administración pueden proporcionar un perfil de administración básicamente de orden cero en oposición a los perfiles con adiciones de formulaciones de liberación inmediata. También se puede usar un material de retraso del tiempo tal como monoestearato de glicerol o estearato de glicerol. Algunas composiciones corales pueden incluir vehículos convencionales tales como manitol, lactosa, almidón, estearato de magnesio, sacarina sódica, celulosa, carbonato de magnesio, etc. tales vehículos son preferentemente de calidad farmacéutica.

45 La cantidad de un compuesto de la invención que será eficaz en el tratamiento de un trastorno o afección en particular que se desvela en el presente documento dependerá de la naturaleza del trastorno o afección, y se puede determinar mediante técnicas clínicas convencionales. Además, algunos ensayos *in vitro* o *in vivo* se pueden usar opcionalmente para ayudar a identificar algunos intervalos óptimos de dosificación. La dosis precisa a usar en las composiciones también dependerá de la vía de administración, y de la gravedad de la enfermedad o trastorno, y se debería decidir de acuerdo con el criterio del profesional en cada circunstancia del paciente.

50 Algunas cantidades adecuadas del compuesto de Fórmula II o Ila o una sal del mismo en una composición oral para administración oral por lo general son de aproximadamente 0,001 miligramos a 4000 miligramos de un compuesto de la invención. En realizaciones preferidas de la invención, la cantidad es de aproximadamente 0,01 miligramos a 2000 miligramos, más preferentemente de aproximadamente 0,1 miligramos a 1000 miligramos, más preferentemente de 0,5 miligramos a 800 miligramos, y aún más preferentemente de 1 miligramo a 500 miligramos. En una realización preferente, la cantidad de compuesto de la invención o una sal del mismo en la composición es aproximadamente 4000 miligramos de un compuesto. En una realización preferente, la cantidad de compuesto de la invención o una sal del mismo en la composición es aproximadamente 2000 miligramos de un compuesto. En una realización preferente, la cantidad de compuesto de la invención o una sal del mismo en la composición es aproximadamente 1000 miligramos de un compuesto. En una realización preferente, la cantidad de compuesto de la invención o una sal del mismo en la composición es aproximadamente 500 miligramos de un compuesto. En otra realización preferente, la cantidad de compuesto de la invención o una sal del mismo en la composición es aproximadamente 250 miligramos de un compuesto. En una realización preferente, la cantidad de compuesto de la invención o una sal del mismo en la composición es aproximadamente 100 miligramos de un compuesto. En una realización preferente, la cantidad de compuesto de la invención o una sal del mismo en la composición es aproximadamente 50 miligramos de un compuesto. En una realización preferente, la cantidad de compuesto de la

invención o una sal del mismo en la composición es aproximadamente 10 miligramos de un compuesto. Las cantidades de dosificación que se describen en el presente documento se refieren a cantidades totales administradas; es decir, si se administra más de un compuesto de la invención, las dosificaciones preferentes corresponden a la cantidad total administrada de los compuestos de la invención. Las composiciones orales contienen preferentemente de un 10 % a un 95 % de principio activo en peso. El régimen de dosificación oral puede incluir la ingesta de múltiples dosificaciones orales en un solo día, por ejemplo, la ingesta de la dosis oral una vez al día, dos veces al día, tres veces al día, cuatro veces al día o más espaciadas durante todo el día.

Algunos intervalos de dosificación adecuados para administración oral pueden ser por lo general de aproximadamente 0,001 miligramos a 2000 miligramos de un compuesto de la invención por kilogramo de peso corporal. Preferentemente, la dosis oral es de 0,01 miligramos a 1000 miligramos por kilogramo de peso corporal, más preferentemente de 0,1 miligramos a 500 miligramos por kilogramo de peso corporal, más preferentemente de 0,5 miligramos a 200 miligramos por kilogramo de peso corporal, y aún más preferentemente de 1 miligramo a 100 miligramos por kilogramo de peso corporal. Más preferentemente, la dosis oral es de 5 miligramos de un compuesto de la invención por kilogramo de peso corporal. Las cantidades de dosificación que se describen en el presente documento se refieren a cantidades totales administradas; es decir, si se administra más de un compuesto de la invención, las dosificaciones preferentes corresponden a la cantidad total administrada de los compuestos de la invención. Las composiciones orales contienen preferentemente de un 10 % a un 95 % de principio activo en peso.

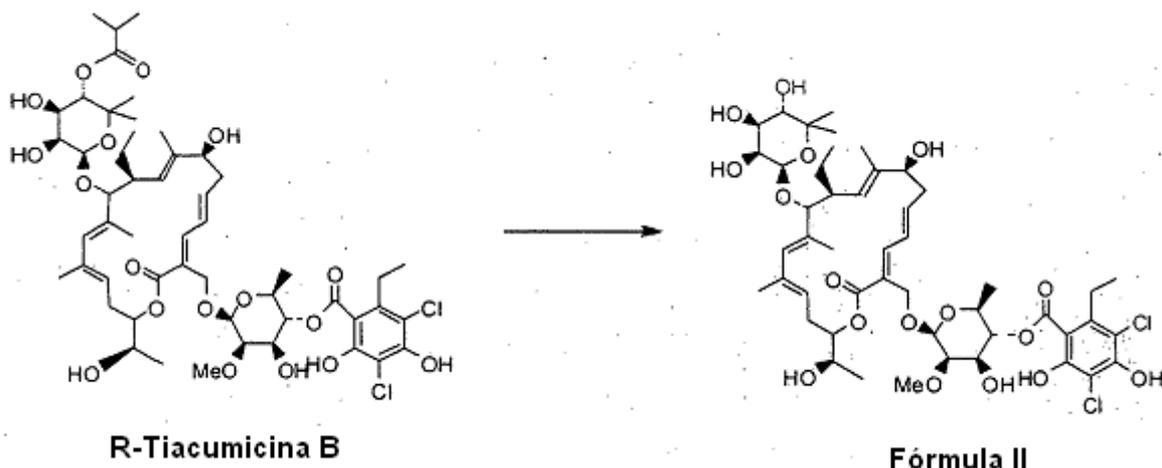
Algunos intervalos de dosificación adecuados para administración intravenosa (i.v.) son de 0,01 miligramos a 100 miligramos por kilogramo de peso corporal, de 0,1 miligramos a 35 miligramos por kilogramo de peso corporal, y de 1 miligramos a 10 miligramos por kilogramo de peso corporal. Algunos intervalos de dosificación adecuados para administración intranasal son generalmente de aproximadamente 0,01 pg/kg de peso corporal a 1 mg/kg de peso corporal. Los supositorios por lo general contienen de 0,01 miligramos a 50 miligramos de un compuesto de la invención por kilogramo de peso corporal y comprende en principio activo en el intervalo de un 0,5 % a un 10 % en peso. Algunas dosificaciones recomendadas para administración intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, subcutánea, epidural, sublingual, intracerebral, intravaginal, transdérmica o administración mediante inhalación están en el intervalo de 0,001 miligramos a 200 miligramos por kilogramo de peso corporal. Los compuestos de la invención también se pueden incorporar en una formulación tópica, por ejemplo, una pomada, suave, crema o aceite. Algunas dosis adecuadas de los compuestos de la invención para administración tópica están en el intervalo de 0,001 miligramos a 2000 miligramos, dependiendo del área a la que se administra compuesto. Las dosis eficaces se pueden extrapolar a partir de curvas de dosis-respuesta derivadas de sistemas de ensayo de modelo *in vitro* o animal. Tales modelos y sistemas animales se conocen bien en la técnica.

La invención también proporciona envases o kits farmacéuticos que comprenden uno o más envases rellenos con uno o más compuestos de la invención. Opcionalmente asociados con tal envase o envases se puede encontrar un aviso en la forma prescrita por una agencia gubernamental que regula la fabricación, uso o venta de productos farmacéuticos o biológicos, cuyo aviso reflejan la aprobación de la agencia de fabricación, uso o venta para administración en seres humanos. En cierta realización, el kit contiene más de un compuesto de la invención.

Ejemplos

Ejemplo 1. Preparación de la Fórmula II

A 0 °C, se añadió LiOH (42 mg) en 12 ml de MeOH a 783 mg de OPT-80. La Solución se mantuvo a 0 °C durante 5 h, y a continuación se inactivó mediante la adición de solución saturada de NH₄Cl. La mezcla resultante se extrajo con cloroformo. La fase orgánica se separó, se secó y se concentró. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice con CR₂Cl₂:CR₃OH a 10:1 como eluyentes. El producto deseado (154 mg) se aisló con una pureza de un 97,05 % mediante HPLC.



Datos analíticos de Fórmula II.

5 EM m/z (ESI) 1004,4 ($M + NH_4$)⁺;

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,12 (d, $J = 11,4$ Hz, 1H), 6,59 (dd, $J = 14,7, 11,4$ Hz, 1H), 5,85 (s a, 1H), 5,83 (ddd, $J = 14,7, 10,6, 4,0$ Hz, 1H), 5,47 (dd, $J = 8,1, 7,6$ Hz, 1H), 5,15 (dd, $J = 9,6, 9,6$ Hz, 1H), 4,98 (d, $J = 10,6$ Hz, 1H), 4,76-4,70 (m, 1H), 4,69 (d, $J = 11,6$ Hz, 1H), 4,63 (s a, 1H), 4,62 (s a, 1H), 4,39 (d, $J = 11,6$ Hz, 1H), 4,29-4,23 (m, 1H), 4,07-3,98 (m, 2H), 3,72-3,48 (m, 5H), 3,62 (s, 3H), 3,17 (d, $J = 5,8$ Hz, 1H), 3,14-2,96 (m, 2H), 2,81-2,45 (m, 5H), 2,33-2,25 (m, 1H), 1,92 (s, 3H), 1,81 (s, 3H), 1,67 (s, 3H), 1,64-1,57 (m, 1H), 1,34 (d, $J = 6,1$ Hz, 3H), 1,27 (s, 3H), 1,21 (t, $J = 7,3$ Hz, 3H), 1,19 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H), 1,05 (s, 3H), 0,83 (t, $J = 7,3$ Hz, 3H);

15 RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ 170,1, 168,9, 157,6, 152,7, 144,2, 140,9, 140,5, 136,9, 136,3, 134,5, 134,4, 129,1, 127,9, 125,3, 123,3, 113,9, 107,6, 107,2, 101,9, 94,6, 92,4, 82,3, 78,2, 76,9, 74,6, 74,5, 72,7, 71,9, 71,8, 71,4, 70,1, 69,2, 63,7, 62,3, 41,9, 36,9, 28,9, 28,4, 26,2, 25,9, 18,5, 17,8, 17,4, 17,2, 15,5, 14,1, 13,9, 11,2. Solubilidad acuosa: ~300 mg/ml.

20 El análisis de cromatografía por HPLC se realizó usando un módulo de separación Walters 269,5, con un detector Walters 2487.

Columna: Agilent, ZORBAX Eclipse XDB-C8 4,6 x 150 mm 3,5 micrómetros.

Longitud de onda del detector: 230 nm.

25

La fase móvil A es agua, TFA al 0,1 %, la fase móvil B es acetonitrilo, TFA al 0,05 %.

Gradiente:

Tiempo (min)	Flujo (ml/min)	A	B
	1	60	40
3	1	50	50
14	1	39	61
14,5	1	60	40
19	1	60	40

30

La Fórmula II apareció a los 4,81 min.

El pico a los 4,81 min también se encontró en el diagrama de HPLC del material en bruto de la producción de OPT-80 después de fermentación.

35

Ejemplo 2. Actividad Biológica de la Fórmula II

Cepas bacterianas:

5 La mayoría de las cepas bacterianas se adquirieron en la Colección Americana de Cultivos Tipo (Manassas, VA). Unos pocos aislados clínicos de Enterococos resistentes a Estafilococos y vancomicina se adquirieron en Christiana Care Health System (Wilmington, DE) y se identificaron con el sistema de identificación API de Biomerieux (Durham, NC).

10 Compuestos antimicrobianos:

El OPT-80 y la Fórmula II se produjeron en Optimer Pharmaceuticals. La vancomicina se adquirió en Sigma-Aldrich (St. Louis, MO).

15 Formación de perfiles de la Fórmula II

La MIC de OPT-80 y su metabolito principal, la Fórmula II, frente a bacterias GI anaerobias y aerobias se determinó usando los métodos de ensayos convencionales de susceptibilidad de CLSI.

20 Método de dilución en agar: (1)

Este método se usó para organismos anaerobios (*Bacteroides*, *Clostridium*, *Bifidiobacteria*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Veillonella*) y *Lactobacillus* spp microaerófilo, todos los cuales se adquirieron en la Colección Americana de Cultivos Tipo (ATCC):

- 25
1. Se prepararon dos diluciones de compuestos en agar Brucella complementado con hemina, vitamina K sangre de oveja lacada al 5 % para conseguir un intervalo de concentración final de 0,016 µg/ml a 16 µg/ml.
 2. Usando el método de suspensión directa de colonias, se prepararon inóculos bacterianos con densidades cercanas a las del patrón de McFarland a 0,5 (~10⁸ CFU/ml), seguido de aplicación puntual de los inóculos en placas de agar usando un replicador de Steers para administrar ~10⁵ CFU/aplicación puntual.
 - 30 3. Las placas se incubaron en una cámara anaerobia a 35 °C durante 48 horas. Para las cepas de *Lactobacillus*, se usaron Agar de Mueller Hinton y una atmósfera de incubación de CO₂ al 5 %.
 4. La concentración más baja de un antibiótico que no muestra crecimiento o reducción notable del crecimiento se leyó como la MIC.

35 Método de dilución en microcaldo de cultivo:

Este método de susceptibilidad se usó para organismos aerobios y facultativos (*Esclerichia*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Haemophilus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* y *Enterococcus*):

- 40
1. Se prepararon dos diluciones en serie de compuestos en caldo de cultivo de Mueller Hinton ajustado con catión para conseguir un intervalo de concentración de 0,125 µg/ml a 64 µg/ml.
 2. Usando el método de suspensión directa de colonias, se diluyeron inóculos bacterianos en patrón de McFarland 0,5 y se inocularon en cada placa de microtitulación hasta una densidad fina de aproximadamente
 - 45 5 x 10⁵ CFU/ml (o 5 x 10⁴ CFU/pocillo).
 3. Las placas de microtitulación se incubaron durante 16-24 horas (dependiendo del organismo) a 35 °C en aire ambiental.
 4. La MIC se leyó como la concentración más baja a la que no se produce crecimiento visible.

50 Efecto de la materia fecal en la actividad *in vitro* de OPT-80 y de la Fórmula II:

La actividad *in vitro* de OPT-80, Fórmula II, y la cepa ATCC 700057 de *C. difficile* frente a vancomicina se midió en presencia y ausencia de heces usando métodos de ensayo de susceptibilidad de dilución de microcaldo de cultivo de acuerdo con las directrices de CLSI tal como se recomienda para la *B. fragilis*. El medio de cultivo de Brucella (BB) usado para el experimento se complementó con hemina (5 µg/ml) y vitamina K (1). La suspensión fecal se preparó de acuerdo con el método que se describe en Swanson *et al.*, (Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 35 (6): 1108-1111; J of Antibiotics. XLII (1): 94-101).

- 60
1. En resumen, se preparó una suspensión fecal al 5 % mediante la adición de 5,5 gramos de muestra fecal humana recién obtenida en 1-10 ml de BB, seguido de homogenización durante aproximadamente 10 minutos.
 2. Se tomaron alícuotas de la suspensión en tubos separados que contenían 2x las concentraciones principales deseadas de los siguientes fármacos: OPT-80, Fórmula II, vancomicina (VAN), o sin fármaco (Preparaciones A-F e I, respectivamente).
 - 65 3. También se prepararon preparaciones similares de los fármacos mencionados anteriormente en BB sin heces como controles para el procedimiento experimental (Preparaciones E-G y J, respectivamente).

- Preparación A:** BB complementado con heces + 32 µg/ml de OPT-80
Preparación B: BB complementado con heces + 256 µg/ml de Fórmula II
Preparación C: BB complementado con heces + 256 µg/ml de VAN
Preparación E: BB sin complementar + 32 µg/ml de OPT-80
Preparación F: BB sin complementar + 256 µg/ml de Fórmula II
Preparación G: BB sin complementar + 256 µg/ml de VAN
Preparación I: BB complementado con heces, sin fármaco
Preparación J: BB sin complementar, sin fármaco
- 10 Después de 30 minutos de incubación a temperatura ambiente, todas las preparaciones centrifugaron para retirar el material sólido, se filtraron una vez través de un prefiltro de microfibra de vidrio de 1,2 µm, y se filtró tres veces a través de dispositivos de filtrado de 0,2 µm.
- 15 Los materiales filtrados de las preparaciones A-C se diluyeron en serie a través por toda la longitud de placas de microtitulación de 96 pocillos usando el filtrado de suspensión fecal al 5 % (es decir, la Preparación I) como el diluyente.
- 20 Los materiales filtrados de la Preparación E-G se diluyeron en serie a través por toda la longitud de placas de microtitulación de 96 pocillos usando BB (Preparación J), como el diluyente.
- 25 Las placas se transfirieron una caja de manipulación con guantes anaerobia y se permitió que se equilibraran durante 4 horas en el entorno anaerobio.
- Se prepararon inóculos bacterianos cosechando bacterias de cultivo de una noche y preparando una suspensión de McFarland a 0,5 en BB complementado con heces o sin complementar.
- 30 A continuación, los inóculos preparados se añadieron a placas que contenían fármacos diluidos en serie, dando como resultado una dilución a 1:2 de fármacos para dar la concentración final deseada.
- Las placas de microtitulación se incubaron durante ~48 horas a 35 °C en condiciones al anaerobias, y la MIC se leyó como la concentración del fármaco más baja a la que no se producía crecimiento visible.

Resultados de la formación de perfiles de la Fórmula II

- 35 La Fórmula II, del mismo modo que el compuesto precursor, demostró actividad antimicrobiana frente a algunas bacterias gram positivas (incluyendo *C. difficile*, *C. perfringens*, *B. longum*, *F. magna*, *P. asaccharolyticus*, *P. anaerobius*, *M. micros* y el *L. casei* microaerófilo), sin embargo con valores de MIC que eran de cuatro a dieciséis veces mayores que los de OPT-80. Con respecto a otros organismos gram positivos tales como *S. aureus*, *E. faecium* y *L. rhamnosus*, la Fórmula II demostró actividad *in vitro* con las MIC > 16 µg/ml. Esto demuestra claramente
- 40 que la Fórmula II se puede usar como un antibiótico de espectro muy estrecho frente a *C. difficile*.

Tabla 1. Datos de MIC sin procesar (µg/ml) para OPT-80 y Fórmula II frente a cepas de bacterias gram positivas representativas de la flora GI.

Organismos Gram Positivos	Fórmula II	OPT-80
<i>Bifidiobacterium longum</i> , ATCC 15707	1	0,125
<i>Clostridium difficile</i> , ATCC 700057	2	0,25
<i>Clostridium difficile</i> , ATCC 43255	4	0,5
<i>Clostridium perfringens</i> , ATCC 13124	1	0,125
<i>Enterococcus faecium</i> , ATCC 19434	> 64	4
<i>Enterococcus faecium</i> , cepa clínica resistente a Vancomicina Nº de ORG 360	> 64	8
<i>Enterococcus faecium</i> , cepa clínica resistente a Vancomicina Nº de ORG 364	64	2
<i>Enterococcus faecium</i> , cepa clínica resistente a Vancomicina Nº de ORG 534	> 64	4
<i>Fingoldia</i> (anteriormente <i>Peptococcus</i>) <i>magna</i> , ATCC 29328	8	1
<i>Lactobacillus casei</i> , ATCC 393	8	2
<i>Lactobacillus acidophilus</i> , ATCC 4356	> 16	> 16

<i>Lactobacillus rhamnosus</i> , ATCC 7496	> 16	8
<i>Micromonas</i> (anteriormente <i>Peptostreptococcus</i>) <i>micros</i> , ATCC 33270	1	0,125
<i>Peptoniphilus</i> (anteriormente <i>Peptococcus</i>) <i>asaccharolyticus</i> , ATCC 29743	4	1
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> , ATCC 27337	0,25	0,016
<i>Staphylococcus aureus</i> , ATCC 29213	> 64	8
<i>Staphylococcus aureus</i> , ATCC 33591 (resistente a Meticilina)	> 64	4
<i>Staphylococcus aureus</i> , cepa clínica resistente a Meticilina N° de ORG 578	> 64	8
<i>Staphylococcus epidermidis</i> , cepa clínica N° de ORG 365	64	4
<i>Streptococcus pneumoniae</i> , ATCC 49619	> 64	64
<i>Streptococcus pyogenes</i> , ATCC 19615	> 64	16

5 En el estudio de fase 2A de OPT-80 en pacientes con CDAD a los que se había administrado OPT-80 a 200 mg dos veces al día (el régimen de dosificación pretendido), los niveles fecales del OPT-80 precursor eran $1433 \pm 975 \mu\text{g/g}$, mientras que los niveles fecales del metabolito de Fórmula II eran $760 \pm 373 \mu\text{g/g}$ (6). Por lo tanto, después de la administración oral, tanto el precursor como el metabolitos tan presentes en niveles muy superiores a los de sus valores de MIC con respecto a *C. difficile* (Figura 1).

10 La Fórmula II está presente en el intestino después de dosificación oral con OPT-80 a niveles muy superiores (1.000 veces) a los de sus valores de MIC con respecto a *C. difficile*.

Figura 1. Comparación de los niveles fecales de OPT-80 y FÓRMULA II con valores de MIC en presencia y ausencia de materia fecal al 5 % con respecto a la ATCC 700058 de *C. difficile*

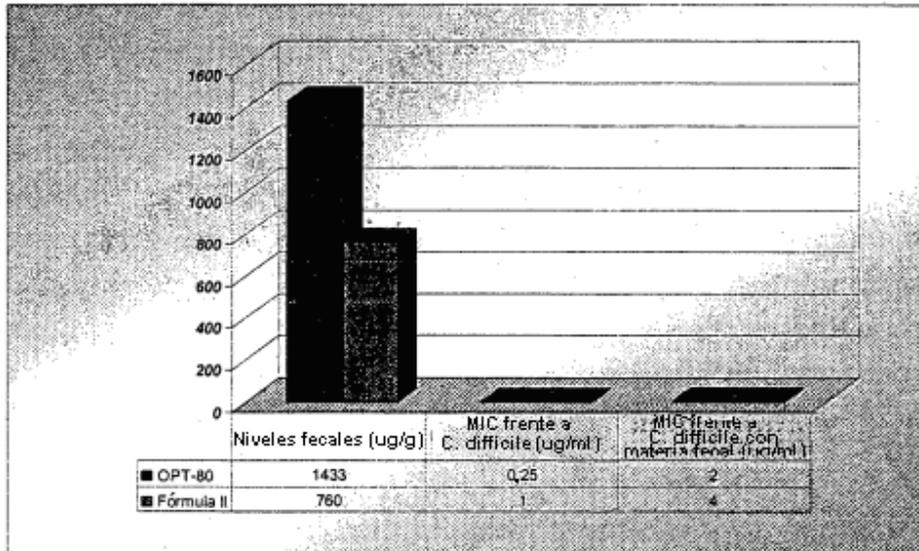


Tabla 2: Datos de MIC para OPT-80 y Fórmula II para un panel de bacterias aerobias

Compuesto	MIC del Panel Aerobio (µg/ml) II						
	ORG 83 <i>E. faecalis</i> ATCC 29212	ORG 84 <i>E. faecium</i> ATCC 700221 VRE	ORG 85 <i>E. faecium</i> ATCC 19434	ORG 97 <i>S. aureus</i> (MRSA) ATCC 33591	ORG 98 <i>S. aureus</i> (MSSA) ATCC 29213	ORG 99 <i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	ORG 101 <i>S. pyogenes</i> ATCC 19615
OPT-80	2-4	4	8	8	8	4	16-32
Fórmula II	16-64	> 32	> 64	> 64	> 64	> 32	> 32

Tabla 3: Datos de MIC para OPT-80 y Fórmula II para un panel de bacterias anaerobias

Compuesto	MIC del Panel Aerobio (µg/ml)	
	ORG 830 <i>C. difficile</i> ATCC 700057	ORG 150 <i>B. fragilis</i> 25285
OPT-80	0,030, 0,06	> 16
Fórmula II	0,5-1	> 16

5 Efecto del material fecal en la actividad *in vitro* de OPT-80 y la Fórmula II:

El efecto del material fecal en la actividad antimicrobiana de Opt-80, Fórmula II y Vancomicina, que es el único tratamiento para la CDAD aprobado por la FDA, se evaluó con respecto a la cepa 700057 de la ATCC de *C. difficile* (Tabla 3).

10 En presencia de material fecal al 5 %, se observó un aumento del número de veces de los valores de MIC para los tres fármacos; OPT-80 (2 µg/ml; ocho veces), Fórmula II (4 µg/ml; cuatro veces) y vancomicina (8 µg/ml; cuatro veces). Los datos *in vitro* demuestran que, incluso en presencia de material fecal, tanto el metabolito como OPT-80 tienen una actividad *in vitro* mejor o similar en comparación con la Vancomicina, el tratamiento aprobado para la CDAD. Además, se ha mostrado que la concentración fecal media de OPT-80 después de la administración oral es superior a 1.400 µg/g de heces (6), un nivel muy superior al de la MIC incluso en presencia de material fecal.

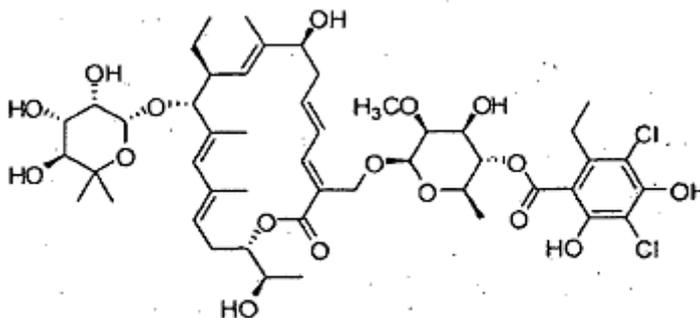
Tabla 4. Actividad *in vitro* de fármacos en presencia o ausencia de material fecal con respecto a la cepa 700057 de la ATCC de *C. difficile*

Diluyente	MIC (µg/ml)		
	OPS-80	FÓRMULA II	Vancomicina
Solo caldo de cultivo de Brucella	0,25	1	2
Caldo de cultivo de Brucella con heces	2	4	8
Número de veces de aumento en MIC	8x	4x	4x

20

REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende un compuesto con la siguiente fórmula



Fórmula II

5

para uso en un método para tratar o prevenir infecciones bacterianas en un mamífero, en donde el método comprende la administración de la composición por vía parenteral.

10 2. La composición para uso como se reivindica en la reivindicación 1, en donde la dosificación es de 0,001 mg a 200 mg por kilogramo de peso corporal del sujeto.

15 3. La composición para uso como se reivindica en la reivindicación 1, en donde la dosificación es de 0,01 mg a 100 mg por kilogramo de peso corporal del sujeto.

4. La composición para uso como se reivindica en la reivindicación 1, en donde la dosificación es de 0,1 mg a 50 mg por kilogramo de peso corporal del sujeto.

20 5. La composición para uso como se reivindica en la reivindicación 1, en donde el compuesto de Fórmula II está presente en una cantidad de 1 mg a 800 mg.

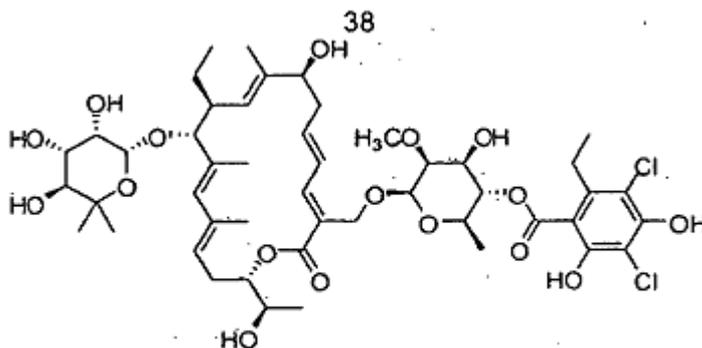
6. La composición para uso como se reivindica en la reivindicación 1, que comprende adicionalmente un excipiente o un vehículo farmacéuticamente aceptables.

25 7. La composición para uso como se reivindica en la reivindicación 1, para uso en el tratamiento o la prevención de una infección con *C. difficile* en un mamífero.

30 8. La composición para uso como se reivindica en la reivindicación 1, en donde la composición se administra por vía intravenosa.

9. La composición para uso como se reivindica en la reivindicación 1, para uso en el tratamiento o la prevención de una infección con *S. aureus* en un mamífero.

35 10. Una composición farmacéutica adecuada para administración parenteral, que comprende un compuesto con la siguiente fórmula



Fórmula II.

11. La composición para uso como se reivindica en la reivindicación 1, en donde el mamífero es el ser humano.

FIGURA 1

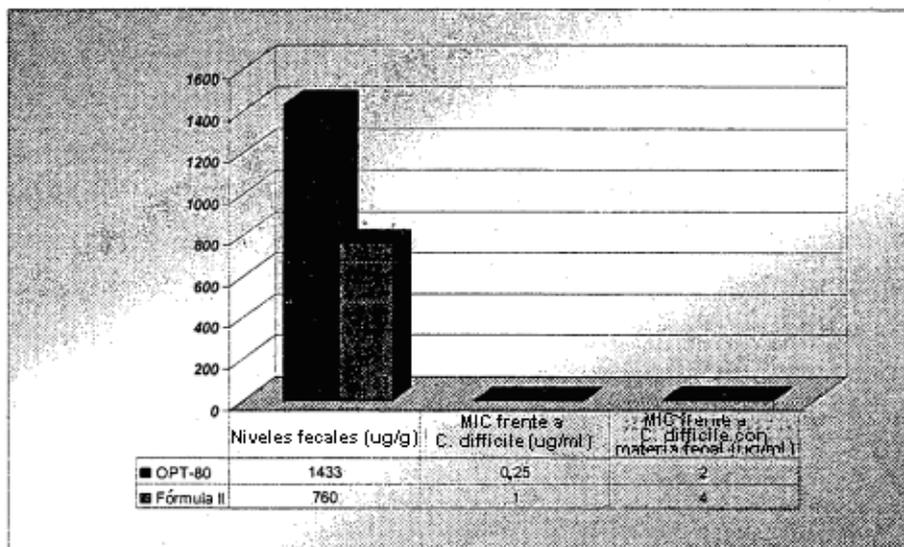


Figura 1. Comparación de los niveles fecales de OPT-80 y FÓRMULA II con valores de MIC en presencia y ausencia de materia fecal al 5 % con respecto a la ATCC 700058 de *C. difficile*