



OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: 2 565 609

(51) Int. Cl.:

A61K 31/335 (2006.01) A61K 31/7048 (2006.01) A61K 31/365 (2006.01) A61P 1/12 (2006.01) A61K 45/06 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- (96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: 13.05.2005 E 09156339 (5) (97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: 17.02.2016 EP 2070530
- (54) Título: Tratamiento de enfermedades asociadas al uso de antibióticos
- (30) Prioridad:

14.05.2004 US 570697 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente: 05.04.2016

(73) Titular/es:

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

(72) Inventor/es:

SHUE, YOUE-KONG; BABAKHANI, FARAH KONDORI; OKUMU, FRANKLIN W.; **SEARS, PAMELA SUZANNE;** MILLER-SHANGLE, STARR LOUISE y WALSH, ROBERT BRIAN

(74) Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

DESCRIPCIÓN

Tratamiento de enfermedades asociadas al uso de antibióticos

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere al tratamiento de enfermedades debidas a C. difficile.

Antecedentes de la invención

10

Las enfermedades de diarrea asociada a antibióticos (DAA) son producidas por cepas productoras de toxinas de Clostridium difficile (C. difficile), Staphylococcus aureus (S. aureus) incluyendo SARM y Clostridium perfringens (C. perfringens). La DAA representa una gran carga económica para el sistema sanitario, que se estima de forma conservadora en 3000-6000 millones de dólares de costes hospitalarios en exceso solamente en EE.UU.

15

Los enterococos resistentes a la vancomicina, que dan como resultado más comúnmente la colonización intestinal, han surgido también como un patógeno hospitalario principal asociado a un aumento en los costes sanitarios y la mortalidad. El VRE puede aparecer como infección simultánea en pacientes infectados con *C. difficile*, o de forma más común produce infección en determinados pacientes de alto riesgo tales como pacientes de hematología y oncología, pacientes en unidades de cuidados intensivos y pacientes que reciben trasplantes de órganos sólidos.

20

25

Los estafilococos resistentes a meticilina, tales como los *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (SARM), están aumentando su incidencia en los hospitales y en los ámbitos comunitarios. Los estafilococos se encuentran en la piel y en los tractos digestivo y respiratorio, pero pueden infectar heridas abiertas y quemaduras y pueden progresar a una infección sistémica grave. La emergencia de estafilococos resistentes a multifármacos, especialmente, en los hospitales, donde es frecuente el uso de antibióticos y esta presión selectiva para los organismos resistentes a fármacos es alta, ha demostrado ser un desafío para el tratamiento de estos pacientes. La presencia de SARM en la piel de pacientes y trabajadores sanitarios promueve la transmisión de los organismos resistentes a multifármacos.

30

Enfermedades similares, incluyendo, pero no de forma limitativa enterocolitis producida por clostridios, diarrea neonatal, enterocolitis asociada a antibióticos, enterocolitis esporádica, y enterocolitis hospitalaria son también problemas significativos en algunas especies animales.

35

La DAA es un problema significativo en hospitales e instalaciones de cuidados prolongados. *C. difficile* es la causa que da lugar a la DAA en ámbitos hospitalarios, y representa aproximadamente un 20 % de los casos de DAA y la mayoría de casos de colitis asociada a antibióticos (CAA). El aumento en la incidencia de diarrea asociada a *Clostridium difficile* (DACD) se ha atribuido a la frecuente prescripción de antibióticos de amplio espectro a pacientes hospitalizados.

40

La forma más grave de la enfermedad es la colitis pseudomembranosa (CMP), que se manifiesta histológicamente por colitis con placas mucosales, y clínicamente por diarrea grave, calambres abdominales, y toxicidad sistémica. L tasa de mortalidad global de DACD es baja, pero es mucho mayor en pacientes que desarrollan colitis grave o toxicidad sistémica. Un reciente estudio ha mostrado que incluso cuando la muerte no es directamente atribuible a *C. difficile*, la tasa de mortalidad en pacientes con DACD en comparación con los controles correspondientes a los casos es mucho mayor.

45

50

La diarrea y la colitis se produjeron por la elaboración de una o más toxinas de *C. difficile*. El organismo prolifera en el colon de pacientes a los que se han administrado antibióticos de amplio espectro o, de forma menos frecuente, quimioterapia contra el cáncer. Se ha diagnosticado DACD en aproximadamente un 20 % de pacientes hospitalizados que han desarrollado diarrea tras el tratamiento con dichos agentes.

55

Existen actualmente dos tratamientos principales para la DACD: vancomicina y metronidazol. La vancomicina no se recomienda como tratamiento de primera línea de la DACD debido principalmente a que el antibiótico solamente es activo contra bacterias resistentes a multifármacos que constituyen una grave amenaza para la vida. Por tanto, en un esfuerzo para minimizar la emergencia de *Enterococcus* resistente a vancomicina (ERV) o de *Staphylococcus aureus* resistente a vancomicina (SARV), la comunidad médica disuade del uso de este fármaco excepto cuando es absolutamente necesario.

60

65

Se recomienda metronidazol como tratamiento inicial debido a la preocupación de acerca de la promoción y selección de flora intestinal resistente a vancomicina, especialmente enterococos. A pesar de informes que indican que la frecuencia de la resistencia de *C. difficile* puede ser >6 % en algunos países, metronidazol sigue siendo casi tan eficaz como vancomicina, es considerablemente menos caro, y se puede usar tanto por vía oral como intravenosa. Metronidazol se asocia a efectos adversos significativos incluyendo náuseas, neuropatías, leucopenia, convulsiones, y reacción tóxica a alcohol. Adicionalmente, no es seguro para su uso en niños o mujeres embarazadas. La recurrencia clínica se produce en hasta un 20 % de casos tras el tratamiento tanto con

vancomicina como metronidazol. Se ha notificado que el tratamiento con metronidazol es un importante factor de riesgo para la colonización e infección por ERV. Además, el régimen de tratamiento actual es más bien incómodo, requiriendo hasta 500 mg cuatro veces al día durante 10 a 14 días. De esta manera, existe necesidad de un tratamiento mejor para los casos de DACD así como para los casos de otras DAA y CAA.

5

10

15

El compuesto 1 contiene Tiacumicina B, que pertenece a un miembro de una familia de macrociclos de 18 miembros, las tiacumicinas. Las tiacumicinas se producen por bacterias, incluyendo Dactylosporangium aurantiacum subespecie hamdenensis, que puede obtenerse de la colección de microbios patentados del ARS del Northern Regional Research Center, United States Department of Agriculture, 1815 North University Street, Peoria, IL 61604, número de acceso NRRL 18085. Las características de la hebra AB 718C-41 se proporcionan en J. Antibiotics, 1987, 567-574 y patente de los Estados Unidos Nº 4.918.174.

Las tiacumicinas, específicamente la Tiacumicina B, muestra actividad frente a varios patógenos bacterianos y en particular frente a Clostridium difficile, una bacteria Gram positiva (Antimicrob, Agents Chemother, 1991, 1108-1111). Clostridium difficile es una bacteria anaerobia formadora de esporas que produce una infección del intestino. La diarrea es el síntoma más común, pero se puede producir dolor abdominal y fiebre. Clostridium difficile es el agente causante principal de la colitis (inflamación del colon) y de la diarrea que se puede producir tras la ingesta de antibióticos. Esta bacteria se adquiere principalmente en hospitales e instalaciones para cuidados crónicos. Como la Tiacumicina B muestra una prometedora actividad frente a C. difficile, se espera que sea útil en el tratamiento de infecciones bacterianas, especialmente en aquellas del tracto gastrointestinal, en mamíferos. Los ejemplos de dichos tratamientos incluyen, pero no de forma limitativa, el tratamiento de la colitis y el tratamiento del síndrome del colon irritable. Las tiacumicinas pueden encontrar también uso en el tratamiento de cánceres gastrointestinales.

Sumario de la invención

25

20

La invención se refiere al uso de acuerdo con la reivindicación 1. Se muestran realizaciones adicionales de la invención en las reivindicaciones 2 a 15.

El compuesto 1 se administra normalmente en una cantidad entre 10 mg y 1 g, aunque se pueden requerir dosis 30 mayores o menores. La administración puede ser diaria (por ejemplo, una a cuatro veces al día) o puede ser menos frecuente (por ejemplo, una vez cada dos días o una vez o dos veces a la semana). En una realización deseada, el compuesto 1 se administra en una cantidad entre 50 y 400 mg una vez o dos veces al día. Aunque la duración del tratamiento con el compuesto 1 se determina caso por caso, normalmente la administración es de tres a quince días. Se pueden garantizar duraciones de tratamiento más cortas que los tratamientos estándares con el compuesto 1. Se 35

prefiere la administración oral.

Se puede llevar a cabo la administración del compuesto 1 junto con otros tratamientos. Por ejemplo, el paciente puede recibir también una bioterapia (por ejemplo, (Saccharomyces boulardii), o yogur por vía oral (por ejemplo, preparaciones de Lactobacillus), o Lactobacillus GG, o una inmunoterapia (por ejemplo, inmunoglobulina humana, C. vacuna del toxoide de C. difficile), o un segundo antibiótico (por ejemplo, vancomicina, bacitracina, o metronidazol). El compuesto 1 puede formularse simultáneamente con cualquiera de los anteriores, o puede administrarse por separado.

El tratamiento de la presente invención permite el tratamiento eficaz de las enfermedades de diarrea asociadas a 45 cepas enterotoxigénicas de C. difficile sin comprometer antibióticos sistémicos y sin aumentar los enterococos resistentes a vancomicina (ERV) en el intestino. La presente invención reduce también la presencia de ERV en el intestino. Serán evidentes otras características y ventajas a partir de la descripción.

Breve descripción de los dibujos

50

La Figura 1 es un gráfico que muestra la eficacia comparativa del compuesto 1, vancomicina o metronidazol en clindamicina inducida por DACD en hámsteres Syrian. La Figura 2 es un diagrama ORTEP de la estructura del componente principal del compuesto 1.

55 Descripción detallada de la invención

Abreviaturas y definiciones

CAA = colitis asociada a antibiótico DAA = diarrea asociada a antibiótico 60 ATCC = American Type Culture Collection 13 C = carbono 13 DACD= diarrea asociada a Clostridium difficile CE = colecistitis enfisematosa DE₅₀ = dosis eficaz 50 HPLC = cromatografía líquida de alto rendimiento

ES 2 565 609 T3

IR = espectroscopía infrarroja

LIC = límite inferior de cuantificación

CIM = concentración inhibidora mínima

CIM₅₀ = concentración inhibidora mínima para inhibir el 50 % de cepas bacterianas sometidas a ensayo

CIM₉₀ = concentración inhibidora mínima para inhibir el 90 % de cepas bacterianas sometidas a ensayo

SARM = Staphylococcus aureus resistente a meticilina

NCCLS = National Committee for Clinical Laboratory Standards

RMN= resonancia magnética nuclear

ORTEP = Gráfico de elipsoides térmicos de Oak Ridge

CPM = colitis pseudomembranosa

UV-vis = ultravioleta/visual

ERV = enterococos resistentes a vancomicina

SARV = Staphylococcus aureus resistente a vancomicina

El término "dolencia asociada a antibiótico" se refiere a una dolencia resultante cuando el tratamiento con antibiótico 15 perturba el equilibrio de la flora microbiana del intestino, permitiendo a los organismos patógenos tales como las cepas productoras de enterotoxinas de *C. difficile, S. aureus* y *C. perfringens* crecer. Estos organismos pueden producir diarrea, colitis pseudomembranosa, y colitis, y se manifiestan por diarrea, urgencias, calambres abdominales, dolores rectales, y fiebre entre otros síntomas. La diarrea, cuando es grave, produce deshidratación y 20 las complicaciones médicas asociadas a la deshidratación.

El término "autismo" se refiere a un espectro de trastorno complejo del desarrollo en la infancia, caracterizado por un deterioro generalizado en la interacción social, déficits en la comunicación verbal y no verbal, y modelos de comportamiento repetitivos, que se desarrollan en los primeros 3 años de vida.

El término "compuesto I" se refiere a una preparación que contiene aproximadamente un 90 % (con respecto a la sustancia antibiótica completa, según ensayo mediante HPLC) de Tiacumicina B con un intervalo entre 80-100 %. Las porciones restantes consisten esencialmente en pequeñas cantidades de compuestos relacionados con la Tiacumicina B. Se describen en detalle preparaciones de este tipo en la solicitud PCT, PCT/US03/21977, que tiene el número de publicación internacional de WO 2004/014295 A2. Sin embargo, El compuesto I previsto exclusivamente para su uso en animales no humanos puede contener menos de un 80 % de Tiacumicina B (con respecto a la sustancia antibiótica completa, según ensayo mediante HPLC).

El término "revestimiento entérico" se refiere a un revestimiento que encapsula una composición farmacéutica, y evita que la liberación y la degradación se produzcan en el estómago, mientras que se disuelve fácilmente en el ambiente ligeramente ácido o neutro el intestino delgado. Otros revestimientos similares incluyen los revestimientos dependientes del tiempo, dependiente del pH, y la erosión enzimática de los revestimientos de matrices poliméricas.

El término "excipiente" se refiere a una sustancia inerte añadida a una composición farmacológica para facilitar 40 adicionalmente la administración de un compuesto. Los ejemplos de excipientes incluyen, pero no de forma limitativa, carbonato de calcio, fosfato de calcio, diversos azúcares y tipos de almidones, derivados de celulosa, gelatina, aceites vegetales y polietilenglicoles.

El término "halógeno" incluye F, Cl, Br e I.

El término "macrociclos" se refiere a moléculas orgánicas con grandes estructuras de anillos que contienen usualmente más de 10 átomos.

El término "macrociclos de 18 miembros" se refiere a moléculas orgánicas con estructuras de anillo que contienen 18 50 átomos.

El término "anillo de miembros" puede abarcar cualquier estructura cíclica, incluyendo carbociclos y heterociclos como se ha descrito anteriormente. Se entiende que el término "miembros" denota el número de átomos esqueléticos que constituyen el anillo. De esta manera, por ejemplo, piridina, pirano y tiopirano son anillos de 6 miembros y pirrol, furano, y tiofeno son anillos de 5 miembros.

El término "CIM" o "concentración inhibidora mínima" se refiere a la concentración más baja de un antibiótico que es necesaria para inhibir el crecimiento de un aislado bacteriano in vitro. Un método habitual para determinar la CIM de un antibiótico es preparar varios tubos que contengan diluciones en serie del antibiótico, que se inoculan a continuación con el aislado bacteriano de interés. La CIM de un antibiótico puede determinarse a partir del tubo con la concentración más baja que no muestra turbidez (sin crecimiento).

El término "CIM50" se refiere a la concentración más baja de antibiótico requerida para inhibir el crecimiento del 50 % de las cepas bacterianas sometidas a ensayo para una especie bacteriana dada.

El término "CIM90" se refiere a la concentración más baja de antibiótico requerida para inhibir el crecimiento del 90 %

4

45

25

35

55

60

65

de las cepas bacterianas sometidas a ensayo para una especie bacteriana dada.

El término "ORTEP" se refiere al programa informático Oak Ridge Thermal Ellipsoid Plot (*Gráfico de elipsoides térmicos de Oak Ridge*), escrito en Fortran, para dibujar ilustraciones de estructuras cristalinas. Se producen ilustraciones de tipo palos y bolas de una calidad adecuada para la publicación tanto con esferas como con elipsoides de probabilidad de movimientos térmicos, derivadas de parámetros anisótropos de factores de temperatura, en los sitios atómicos. El programa produce también parejas estereoscópicas de ilustraciones que ayudan en la visualización de disposiciones complejas de átomos y sus modelos de movimiento térmico correlacionados.

10

15

El término "paciente" se refiere a un ser humano o animal que necesita tratamiento médico. Para los fines de la presente invención, los pacientes humanos suelen estar internados en centros de atención médica primaria tales como un hospital o residencia de ancianos. Sin embargo, el tratamiento de una enfermedad asociada al uso de antibióticos o quimioterapias contra el cáncer o terapias antivíricas puede efectuarse de forma ambulatoria, en el momento del alta de un centro de atención primaria, o puede prescribirlo un médico como atención domiciliaria, sin estar asociados a un centro de atención médica primaria. Los animales que necesitan tratamiento médico están normalmente al cuidado de un veterinario.

20

El término "transportador farmacéuticamente aceptable" se refiere a un transportador o diluyente que es farmacéuticamente aceptable.

25

El término "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a aquellas derivadas de bases orgánicas e inorgánicas farmacéuticamente aceptables. Las sales derivadas de bases adecuadas incluyen sales de metales alcalinos (por ejemplo, sodio, potasio), alcalinotérreas + metálicas (por ejemplo, magnesio), sales amónicas y sales de N(alquil C₁-C₄)₄, y similares. Los ejemplos ilustrativos de algunas de estas incluyen hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, hidróxido de colina, carbonato de sodio, y similares.

30

El término "composición farmacéutica" se refiere a una mezcla de una o más de las Tiacumicinas descritas en el presente documento, o sus sales fisiológicamente aceptables, con otros componentes químicos, tales como transportadores y/o excipientes fisiológicamente aceptables. El objetivo de una composición farmacéutica es facilitar la administración de un compuesto a un organismo.

35

El término "transportador fisiológicamente aceptable" se refiere a un transportador o diluyente que no produce irritación significativa a un organismo y no elimina la actividad y las propiedades biológicas del compuesto administrado.

El término "colitis pseudomembranosa" o "enteritis" se refiere a la formación de material pseudomembranoso (es decir, material compuesto por fibrina, células del epitelio de la mucosa, células epiteliales necróticas y leucocitos) debido a la inflamación de la membrana mucosa del intestino grueso y delgado.

40

El término "azúcar" se refiere generalmente a monosacáridos, disacáridos u oligosacáridos. Un sacárido puede estar sustituido, por ejemplo, glucosamina, galactosamina, acetilglucosa, acetilgalactosa, N-acetilglucosamina, N-acetilgalactosamina, galactosil-N-acetilglucosamina, ácido N-acetilneuramínico (ácido siálico), etc., así como azúcares sulfatados y fosforilados. Para los fines de esta definición, los sacáridos están en su forma piranosa o furanosa.

45

El término "Tiacumicina" como se usa en el presente documento se refiere a una familia de compuestos, todos los cuales comprenden los macrociclos de 18 miembros que se muestran a continuación en la Fórmula I:

H₃C H₃C OH R1 CH₃ CH₃ CH₃ R²

50

Fórmula I El término "Tiacumicina B" como se usa en el presente documento se refiere a los macrociclos de 18 miembros que se muestran a continuación en la Fórmula II:

5 Fórmula II

La presente invención se refiere al descubrimiento inesperado de que las dolencias asociadas al uso de antibióticos de las quimioterapias contra el cáncer o las terapias antivíricas, tales como diarrea asociada a *C. difficile* pueden tratarse o prevenirse mediante la administración de una cantidad eficaz de compuesto 1 en los pacientes. Las dolencias sujeto asociadas a antibióticos incluyen, pero sin limitación, diarrea asociada a antibióticos, colitis pseudomembranosa, colitis, prevención de infecciones en el torrente sanguíneo. Este descubrimiento puede ser especialmente relevante en pacientes con riesgo de infecciones enterocócicas, incluyendo enterococos resistentes a vancomicina (ERV).

La presente invención incluye usos para el tratamiento y la prevención de enfermedades y dolencias similares, incluyendo la infección producida por *Clostridium* spp. y que puede asociarse o no al uso de antibióticos, en especies no humanas, incluyendo, pero sin limitación caballos y otros equinos, perros, y gatos.

La presente invención proporciona también tratamientos combinados para el tratamiento y la prevención de las dolencias de un sujeto asociadas a antibióticos. Mediante la adición de una cantidad eficaz de compuesto 1 a los tratamientos habituales con antibióticos de amplio espectro, los tratamientos de la presente invención evitan el crecimiento de *C. difficile* y otras bacterias conocidas que producen enfermedades diarreicas asociadas a antibióticos. Los antibióticos usados junto con el compuesto 1 en los tratamientos combinados de la presente invención incluyen, pero sin limitación, vancomicina, bacitracina, y metronidazol. El compuesto 1 puede formularse simultáneamente con cualquiera de los anteriores, o puede administrarse por separado.

La presente invención proporciona también tratamientos combinados para el tratamiento y la prevención de las dolencias de un sujeto asociadas a antibióticos mediante la adición de una cantidad eficaz de compuesto 1 con una bioterapia. Las bioterapias usadas junto con el compuesto 1 de la presente invención incluyen, pero no de forma limitativa, Saccharomyces boulardii y yogur por vía oral, preparaciones de Lactobacillus, o Lactobacillus GG. El compuesto 1 puede formularse simultáneamente con cualquiera de los anteriores, o puede administrarse por separado.

La presente invención proporciona también tratamientos combinados para el tratamiento y la prevención de las dolencias de un sujeto asociadas a antibióticos mediante la adición de una cantidad eficaz de compuesto 1 con una inmunoterapia. Las inmunoterapias usadas junto con el compuesto 1 de la presente invención incluyen, pero no de forma limitativa inmunoglobulina humana o vacuna del toxoide de *C. difficile*. El compuesto 1 puede formularse simultáneamente con cualquiera de los anteriores, o puede administrarse por separado.

40 La presente invención contempla también composiciones y métodos para el tratamiento de los síntomas asociados a las dolencias asociadas a antibióticos, que aparecen cuando el uso de antibióticos da lugar a que determinadas bacterias tales como cepas toxigénicas de *C. difficile* crezcan en el intestino. Se puede combinar una cantidad eficaz de compuesto 1 con preparaciones para tratar la deshidratación resultante de la diarrea crónica, que incluyen, pero sin limitación, fluidos intravenosos o bebidas sin recetas que contienen electrolitos.

La presente invención contempla también composiciones y métodos para prevenir infecciones en el torrente sanguíneo, que aparecen cuando el uso de antibióticos da lugar a que determinadas bacterias tales como cepas toxigénicas de *C. difficile* crezcan en el intestino.

50 Clostridium difficile

30

45

C. difficile es un bacilo anaerobio gram-positivo formador de esporas, y es el patógeno que produce la diarrea/colitis asociada a antibióticos, y casi todos los casos de colitis pseudomembranosa. Estas dolencias se desarrollan como

resultado del crecimiento en exceso de *C. difficile* toxigénico que produce una o más toxinas, la toxina A y la toxina B en el colon. La toxina A es una potente enterotoxina y se cree que produce la mayoría de los síntomas gastrointestinales. Asimismo, las evidencias indican que las toxinas A y B actúan sinérgicamente produciendo daño en los tejidos. Los efectos combinados de la toxina A y la toxina B inician una respuesta inflamatoria en la mucosa colónica, una vez que se ha establecido la infección por *C. difficile*.

De forma sintomática, el paciente experimenta calambres/dolores abdominales, dolores rectales, urgencias, diarrea (incluyendo diarrea con sangre) y fiebre entre otros síntomas. La progresión de la enfermedad da como resultado la destrucción completa de células de la mucosa y la aparición de pseudomembranas. El resultado puede ser dilatación del colon, perforaciones, peritonitis, septicemia, e incluso la muerte. Puede aparecer cuando se ha suprimido la flora bacteriana normal en el colon, por ejemplo, tras el tratamiento con agentes antibacterianos de amplio espectro. El uso excesivo de antibióticos, especialmente penicilina, ampicilina, clindamicina, y cefalosporinas altera la flora intestinal normal y aumenta el riesgo de desarrollar infecciones por *C. difficile*, endémico a menudo en escenarios hospitalarios y residencias de ancianos.

El uso de antibióticos es el factor de riesgo principal para la DACD. Asimismo, la edad parece ser un factor de riesgo, ya que la mayoría de los casos aparecen en pacientes con 65 años de edad o más. Otros pacientes en riesgo incluyen pacientes postoperatorios, pacientes sometidos a quimioterapia, pacientes con trasplantes de médula ósea, y pacientes con el sistema inmunitario comprometido. Estas dolencias inmunológicas pueden incluir, pero sin limitación, cáncer, desnutrición, infección con el virus de la inmunodeficiencia humana, y trastornos en el tejido conectivo (por ejemplo, lupus eritematoso, síndrome de Sjogren). Además, estos pacientes están también en riesgo de colonización e infección por ERV (Fry, Pharmanual: Emerging Pathogens and Implications for the Future (1999) pp. 50-75). De esta manera, estas poblaciones pueden beneficiarse también de los métodos de tratamiento y las composiciones descritos en el presente documento.

Compuesto 1

El compuesto 1 es una preparación que contiene aproximadamente un 90 % (con respecto a la sustancia antibiótica completa, según ensayo mediante HPLC) de Tiacumicina B con un intervalo entre 80-100 %. Las porciones restantes consisten esencialmente en pequeñas cantidades de compuestos relacionados con la Tiacumicina B. Las Tiacumicinas son una familia de compuestos relacionados (Tiacumicina A-F) que contienen los anillos macrocíclicos de 18 miembros que se muestran en la Tabla 1.

Las Tiacumicinas A-F se han caracterizado espectroscópicamente y mediante otros métodos físicos. Las estructuras químicas de las Tiacumicinas se basan en la espectroscopía: UV-vis, IR y RMN ¹H y RMN ¹³C. Se han determinado algunas características estereoquímicas utilizando experimentos de RMN 1D y 2D homonuclear y heteronuclear, véase por ejemplo J. Antibiotics, 1987, 575-588. En el caso de la Tiacumicina B, la estructura molecular se confirmó mediante difracción de rayos X (Figura 2). Se obtuvo la estructura cristalina de la Tiacumicina B mediante rayos X a partir de un cristal en forma de paralelepípedo incoloro (0,08 x 0,14 x 0,22 mm) que ha crecido en metanol.

Tabla 1. Tiacumicina A - F

R_2 R_3 R_1						
	Posición ^a :R ₁	R ₂	R ₃			
А	HO, OH	Н	H			
В	HO, OH	OCH3 OHOOH OH OH OH	OH			

40

35

10

15

20

25

30

С	HOO	OCH ₃ OH OH CI	ОН
D	HO. O. O.	OCH3 CI OH	ОН
E	HO - O	OCH, OH OH OH CI	ОН
F	HO OH	OCH ₃ OH OH CI	ОН

Dosificación

10

20

30

Se administró el compuesto 1 por vía oral en una cantidad y durante una duración suficiente para tratar la DACD, colitis pseudomembranosa, u otras enfermedades asociadas al uso de antibióticos o quimioterapias contra el cáncer. Aunque la dosificación exacta del compuesto 1 suficiente para tratar a un paciente concreto puede diferir, una persona experta en la materia puede determinar fácilmente la dosificación. Normalmente, la cantidad de compuesto 1 que se administra es una cantidad que mantiene la concentración en las heces al menos igual a la de la CIM para el organismo diana.

Preferentemente, la cantidad de compuesto 1 que se administra mantiene la concentración en las heces equivalente a dos, tres, cuatro, o más veces la CIM para el organismo diana. De esta manera, el régimen de tratamiento concreto puede variar entre cada paciente, dependiendo de las especies y del modelo de resistencia de la bacteria gram positiva identificada, y de factores biológicos únicos de cada paciente, incluyendo la comorbilidad, la etiología de la enfermedad, la edad del paciente (pediátrico, adulto, geriátrico), y el estado de nutrición y del sistema inmunitario.

La dosificación oral sugerida del compuesto 1 es al menos aproximadamente 25, 50, 100, 200, 300, 400, o 500 mg/día hasta un máximo de 600, 700, 800, 900, o 1000 mg/día durante tres a quince días. El compuesto 1 puede administrarse diariamente (por ejemplo, una vez, dos veces, tres veces, o cuatro veces al día) o puede ser menos frecuente (por ejemplo, una vez cada dos días, o una vez o dos veces a la semana). Una dosis especialmente adecuada es entre 50 y 400 mg BID (dos veces al día). El antibiótico puede estar contenido en cualquier cantidad apropiada en cualquier sustancia transportadora adecuada, y está generalmente presente en una cantidad de 1-99 % en peso del peso total de la composición. La composición se proporciona en una forma farmacéutica que es adecuada para la administración oral y suministra una cantidad terapéuticamente eficaz del antibiótico al intestino delgado y grueso, como se describe más adelante.

El compuesto 1 está disponible como gránulos para solución oral, proporcionado, por ejemplo, en envases que contienen 100 mg de compuesto 1, junto con excipientes farmacéuticamente aceptables (por ejemplo, manitol, hidroxipropil metilcelulosa, estearato de magnesio). El contenido del sobre se puede reconstituir con aproximadamente 15-30 ml de agua, y la solución resultante consumirse tanto directamente, como diluirse adicionalmente con agua, zumo de arándanos, zumo de manzana, o 7-Up antes de beber. Tras el consumo, el fármaco puede ir seguido de cantidades posteriores de estas bebidas o de alimento (por ejemplo, galletas, pan).

35 El compuesto 1 está también disponible en un comprimido que contiene 30 excipientes farmacéuticamente aceptables que se generalmente consideran seguros. El comprimido puede estar disponible en presentaciones de 25 mg, 50 mg, 100 mg, 200 mg o 400 mg.

Como alternativa, el compuesto 1 está también disponible en cápsulas que contienen excipientes farmacéuticamente aceptables que se generalmente consideran seguros. La formulación de cápsula puede estar disponible en presentaciones de 25 mg, 50 mg, 100 mg, 200 mg o 400 mg.

5 El régimen de dosificación requerido para tratar la DACD, colitis pseudomembranosa, u otras enfermedades asociadas al uso de antibióticos o quimioterapias contra el cáncer o terapias antivíricas puede alterarse durante el curso del tratamiento. Por ejemplo, el paciente se puede vigilar periódicamente o a intervalos regulares para medir la carga bacteriana del paciente y la dosis o frecuencia del tratamiento con antibióticos se puede ajustar de acuerdo con ello. Se puede dosificar el compuesto 1 con una duración más corta o similar a la de los tratamientos comúnmente utilizados.

Formulaciones farmacéuticas

20

45

50

55

60

Se pueden formular composiciones farmacéuticas del compuesto 1 de acuerdo con la invención para liberar un antibiótico sustancialmente de forma inmediata tras la administración o en cualquier momento predeterminado o periodo de tiempo tras la administración.

Los últimos tipos de composiciones se conocen generalmente como formulaciones de liberación modificada, que incluyen formulaciones que crean una concentración sustancialmente constante del fármaco en el tracto intestinal durante un periodo de tiempo prolongado, y formulaciones que tienen las características de liberación modificadas basándose en criterios temporales o ambientales, como se describe en Modified-Release Drug Delivery Technology, ed. M. J. Rathbone, J. Hodgraft y M. S. Roberts. Marcel Dekker, Inc. Nueva York.

Se puede emplear cualquier forma farmacéutica biológicamente aceptable, o sus combinaciones, en los métodos de 25 la presente invención. Los ejemplos de dichas formas farmacéuticas incluyen, sin limitación, comprimidos masticables, comprimidos de disolución rápida, comprimidos efervescentes, polvos reconstituibles, elixires, líquidos, supositorios, cremas, soluciones, suspensiones, emulsiones, comprimidos, comprimidos multicapa, comprimidos bicapa, cápsulas, cápsulas de gelatina blanda, cápsulas de gelatina dura, comprimidos osmóticos, cápsulas osmóticas, comprimidos ovalados, pastillas para chupar, pastillas masticables, perlas, polvos, gránulos, partículas, micropartículas, gránulos dispersables, ingeribles, infusiones, barritas saludables, productos de confitería, alimentos para animales, cereales, revestimientos de cereales, alimentos, alimentos nutritivos, alimentos funcionales y sus combinaciones. La preparación de cualquiera de las anteriores formas farmacéuticas es bien conocida por personas normalmente expertas en la materia. Adicionalmente, se pueden diseñar las formulaciones farmacéuticas para proporcionar la liberación tanto inmediata como controlada del antibiótico tras alcanzar el sitio diana. La selección de composiciones de liberación inmediata o controlada depende de varios factores que incluyen las especies y la 35 susceptibilidad a antibióticos de las bacterias gram-positivas que se están tratando y las características bacteriostáticas/bactericidas de las composiciones terapéuticas. Se encuentran métodos bien conocidos en la materia para preparar formulaciones, por ejemplo, en Remington: The Science and Practice of Pharmacy, (20ª edición), ed. A.R. Gennaro, 2000, Lippincott Williams & Wilkins, Filadelfia, o en la Encyclopedia of Pharmaceutical 40 Technology, eds. J. Swarbrick y J. C. Boylan, 1988-1999, Marcel Dekker, Nueva York.

Las formulaciones de liberación inmediata para el uso oral incluyen comprimidos que contienen el(los) principio(s) activo(s) en una mezcla con excipientes farmacéuticamente aceptables no tóxicos. Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes o cargas inertes (por ejemplo, sacarosa, sorbitol, azúcar, manitol, celulosa microcristalina, almidones que incluyen almidón de patata, carbonato de calcio, cloruro de sodio, lactosa, fosfato de calcio, sulfato de calcio, fosfato de sodio); agentes de granulación y desintegrantes (por ejemplo, derivados de celulosa que incluyen celulosa microcristalina, almidones que incluyen almidón de patata, croscarmelosa sódica, alginatos, o ácido algínico); agentes aglutinantes (por ejemplo, sacarosa, glucosa, manitol, sorbitol, acacia, ácido algínico, alginato sódico, gelatina, almidón, almidón pregelatinizado, celulosa microcristalina, silicato de aluminio y magnesio, carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroxipropil metilcelulosa, etilcelulosa, polivinilpirrolidona, o polietilenglicol); y agentes lubricantes, abrillantadores, y antiadherentes (por ejemplo, estearato de magnesio, estearato de cinc, ácido esteárico, sílices, aceites vegetales hidrogenados, o talco). Otros excipientes farmacéuticamente aceptables pueden ser colorantes, agentes aromatizantes, plastificantes, humectantes, agentes tamponantes, y similares, se encuentran, por ejemplo, en The Handbook of Pharmaceutical Excipients, tercera edición, editado por Arthur H. Kibbe, Americal Pharmaceutical Association Washington DC.

La liberación controlada mediante disolución o difusión se puede conseguir mediante el revestimiento adecuado de un comprimido, cápsula, aglomerado, o formulación granulada de compuestos, o incorporando el compuesto en una matriz adecuada. Un revestimiento de liberación controlada puede incluir una o más de las sustancias de revestimiento mencionadas anteriormente y/o, por ejemplo, shellac, cera de abeja, glycowax, cera de ricino, cera de carnauba, alcohol estearílico, monoestearato de glicerilo, diestearato de glicerilo, palmitoestearato de glicerol, etilcelulosa, resinas acrílicas, ácido dipoliláctico, acetato butirato de celulosa, poli(cloruro de vinilo), poli(acetato de vinilo), vinilpirrolidona, polietileno, polimetacrilato, metilmetacrilato, 2-hidroximetacrilato, hidrogeles de metacrilato, 1,3 butilenglicol, metacrilato de etilenglicol, y/o polietilenglicoles. En una formulación de matriz de liberación controlada, el material de la matriz puede incluir también, por ejemplo, metilcelulosa hidratada, cera de carnauba y alcohol estearílico, carbopol 934, silicona, triestearato de glicerilo, acrilato de metilo-metacrilato de metilo.

poli(cloruro de vinilo), polietileno, y/o fluorocarbono halogenado.

10

15

20

25

30

45

50

Una composición de liberación controlada puede estar también en la forma de un comprimido o cápsula flotante (es decir, un comprimido o cápsula que, tras la administración oral, flota en la parte superior del contenido gástrico durante un determinado periodo de tiempo). Una formulación para comprimido flotante del(de los) compuesto(s) se puede preparar granulando una mezcla del antibiótico con excipientes y un 20-75 % p/p de hidrocoloides, tales como hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, o hidroxipropilmetilcelulosa. A continuación se pueden comprimir los gránulos obtenidos en comprimidos. En contacto con el jugo gástrico, el comprimido forma una barrera de gel sustancialmente impermeable al agua alrededor de su superficie. Esta barrera de gel toma parte en mantener una densidad de menos de uno, permitiendo por tanto al comprimido seguir flotando en el jugo gástrico. Se conocen en la técnica otras composiciones de liberación controlada útiles (véase, por ejemplo, patentes de Estados Unidos con números 4.946.685 y 6.261.601).

Una composición de liberación modificada puede comprender un núcleo revestido por compresión cuya configuración geométrica controla el perfil de liberación del antibiótico encapsulado. Mediante la variación de la geometría del núcleo se puede ajustar el perfil de liberación del antibiótico para ajustarse a un orden cero, primer orden, o una combinación de estos órdenes. El sistema puede también diseñarse para administrar agentes más beneficiosos al mismo tiempo, teniendo cada uno un perfil de liberación diferente (véanse, por ejemplo, las patentes de Estados Unidos con números 4.111.202 y 3.279.995).

Se pueden preparar también formulaciones que liberen el compuesto I diana a regiones concretas del tracto intestinal. Se puede encapsular el compuesto I en un revestimiento entérico que evite la degradación de la liberación y que la liberación se produzca en el estómago, pero que se disuelva fácilmente en el ambiente a pH ligeramente ácido o neutro el intestino delgado. Se puede utilizar también una formulación dirigida para la liberación del antibiótico en el colon, utilizando tecnologías tales como la erosión dependiente del tiempo, dependiente del pH, o la erosión enzimática o la erosión enzimática de la matriz o revestimiento polimérico.

Como alternativa, se puede preparar una formulación multicapa que tenga diferentes características de liberación entre las capas. Estas formulaciones pueden dar como resultado que el antibiótico se libere en diferentes regiones del tracto intestinal.

Una formulación multicapa de este tipo puede ser particularmente útil para mantener una concentración de antibiótico más constante a lo largo de la longitud del tracto intestinal.

En un aspecto de esta realización, la capa protectora comprende uno o más componentes, que incluyen una capa de liberación inmediata y una capa modificante. La capa modificante está preferentemente comprendida por un polímero semipermeable en agua. Los solicitantes han descubierto de forma sorprendente que un revestimiento de polímero semipermeable utilizado junto con un revestimiento de una capa de liberación inmediata proporciona un perfil de administración de antibiótico de liberación pulsada retrasada cuando se distribuye en capas sobre el revestimiento entérico.

De esta manera, en esta realización, la capa protectora comprende un polímero semipermeable y una capa de revestimiento de liberación inmediata. En una realización preferida, la capa modificante comprende una primera capa de un polímero semipermeable adyacente a la capa de revestimiento entérico y una segunda capa de revestimiento sobre la capa de revestimiento del polímero semipermeable que comprende una capa de revestimiento del polímero de liberación inmediata.

En un aspecto de esta realización, un polímero semipermeable, que puede comprender un polímero insensible a pH de baja permeabilidad al agua, se distribuye en capas sobre la superficie externa de la capa entérica, a fin de obtener un tiempo de liberación retrasada prolongada. Este revestimiento polimérico semipermeable controla la erosión del polímero entérico sensible a pH en un ambiente de pH alcalino en el que un polímero sensible al pH se disolverá rápidamente. Se puede aplicar otra capa sensible a pH sobre la superficie de una capa de baja permeabilidad al agua para retrasar adicionalmente el tiempo de liberación.

En otro aspecto más de la invención, además de una capa protectora, la composición comprende un ácido que se incorpora en la capa farmacéutica activa o se reviste sobre la superficie activa para reducir el valor del pH del ambiente alrededor de la capa polimérica entérica. La capa ácida puede también aplicarse sobre la capa externa de la capa polimérica entérica sensible a pH, seguido por una capa de polímero de baja permeabilidad al agua. De esta manera se puede retrasar la liberación de la capa activa y se puede aumentar la disolución en un entorno alcalino.

En una realización adicional, se puede usar el revestimiento protector tanto sobre el antibiótico como sobre el revestimiento entérico.

Se pueden modificar por otros medios las propiedades de liberación dirigida del compuesto I que contiene la formulación. Por ejemplo, se puede complejar el antibiótico mediante inclusión, asociación iónica, enlaces de hidrógeno, enlaces hidrófobos, o enlaces covalentes. Además, se pueden usar también polímeros o complejos

susceptibles a lisis enzimática o microbiana como medio para liberar el fármaco.

La encapsulación de microesferas del compuesto 1 es otra formulación farmacéutica útil para la liberación dirigida del antibiótico. Las microesferas que contienen el antibiótico se pueden utilizar solas para la liberación del antibiótico, o como componente de una formulación de liberación en dos etapas. Las formulaciones de liberación por etapas adecuadas pueden consistir en microesferas estables en ácido, el compuesto 1 encapsulante se va a liberar posteriormente en el tracto intestinal inferior premezclado con una formulación de liberación inmediata para liberar el antibiótico al estómago y al duodeno superior.

Se pueden preparar las microesferas mediante cualquier método adecuado, o a partir de cualquier material farmacéuticamente aceptable. Especialmente útiles son las microesferas proteinoides (véanse, por ejemplo, las patentes de Estados Unidos con números 5.601.846, o 5.792.451) y las microesferas que contienen PLGA (véanse, por ejemplo, patentes de Estados Unidos con números 6.235.224 o 5.672.659). Otros polímeros habitualmente utilizados en la formación de microesferas incluyen, por ejemplo, poli-s-caprolactona, poli(e-caprolactona-ácido Co-DL-láctico), poli(ácido DL-láctico), poli(ácido DL-láctico-ácido Co-glicólico) y poli(s-caprolactona ácido Co-glicólico) (véase, por ejemplo, Pitt et al., J. Pharm. Sci., 68:1534, 1979). Se pueden preparar microesferas mediante procedimientos bien conocidos en la técnica incluyendo secado por pulverización, coacervación, y emulsión (véase por ejemplo Davis et al. Microsphere and Drug Therapy, 1984, Elsevier; Benoit et al. Biodegradable Microspheres: Advances in Production Technologies, Capítulo 3, ed. Benita, S, 1996, Dekker, Nueva York; Microencapsulation and Related Drug Processes, Ed. Deasy, 1984, Dekker, Nueva York; la patente de Estados Unidos Nº 6.365.187).

Polvos, polvos dispersables, o gránulos adecuados para la preparación de soluciones o suspensiones acuosas del compuesto 1 mediante la adición de agua, son formas farmacéuticas convenientes para la administración oral. La formulación como una suspensión proporciona el principio activo en una mezcla con un agente dispersante o humectante, agentes suspensores, y uno o más conservantes. Los agentes dispersantes o humectantes adecuados son, por ejemplo, fosfátidos que se producen naturalmente (por ejemplo, lecitina o productos de condensación de óxido de etileno con un ácido graso, un alcohol alifático de cadena larga, o un éster parcial derivado de ácidos grasos) y un hexitol o un anhídrido de hexitol (por ejemplo, estearato de polioxietileno, monooleato de sorbitol polioxietilenado, monooleato de sorbitán polioxietilenado, y similares). Los agentes suspensores adecuados son, por ejemplo, carboximetilcelulosa de sódico, metilcelulosa, alginato sódico, y similares.

Breve descripción de las tablas

25

30

35

40

55

Tabla 1. Tiacumicina A-F

Tabla 2. Es un resumen de la actividad del compuesto 1 frente a cepas de laboratorio de la American Type Culture Collection (ATCC)

Tabla 3. Es un resumen de la actividad del compuesto 1 frente a aislados clínicos de bacterias

Tabla 4. Es un resumen de la actividad del compuesto 1 y vancomicina frente a 207 aislados clínicos de C. difficile

Tabla 5. Es un resumen de la actividad del compuesto 1 y vancomicina frente a 102 aislados clínicos de especies de *Clostridium*

Tabla 6. Es un resumen de la actividad del compuesto 1 y vancomicina frente a 322 aislados clínicos procedentes del tracto gastrointestinal.

Tabla 7. Media geométrica, intervalos de CIM, valores de CIM₅₀ y CIM₉₀ del compuesto 1 frente a 110 aislados clínicos de *C. difficile*, vancomicina, y metronidazol, en μg/ml.

Tabla 8. datos en bruto de CIM para el compuesto 1, vancomicina (VAN), y metronidazol (MTZ) frente a 110 aislados clínicos de *C. difficile*, en μg/ml.

Ejemplos

La invención se ilustrará además por referencia a los siguientes Ejemplos no limitantes.

60 Ejemplo 1

Actividad in vitro del compuesto I frente a cepas de laboratorio y clínicas de bacterias.

Se sometió a ensayo la actividad del compuesto 1 frente a cepas de laboratorio de diferentes especies de bacterias utilizando las directrices del ensayo de susceptibilidad antimicrobiana de la NCCLS. El compuesto I demostró una actividad excelente frente a *Clostridium* sp, *Micrococcus* sp. y una actividad moderada frente a *Staphylococcus* sp.

incluyendo SARM y Enterococcus sp. incluyendo ERV (Tabla. 2).

Tabla 2. Actividad del compuesto 1 frente a cepas de laboratorio de la American Type Culture Collection (ATCC)

Bacterias gram negativas	n	Intervalo	Bacterias gram positivas	n	Intervalo
Acinetobacter sp.	2	1 - >32	Bacillus sp.	2	1
Bacteroides sp.	5	> 32	Clostridium sp.	4	≤ 0,015 - 0,0625
Campylobacter sp.	3	64 - >64	Enterococcus sp. (incl. ERV)	4	4
Citrobacter sp.	2	> 64	Lactobacillus sp.	3	1 - >32
Enterobacteriaceae.	10	> 32	Micrococcus sp.	4	≤0,125
Fusobacterium sp.	1	> 32	Cocos anaerobios Gram positivos	4	≤ 0,06 - 1
Helicobacter sp.	1	> 32	Staphylococcus sp. (incl. SARM)	6	1 - 16
Moraxella sp.	2	1 - 2	Streptococcus sp.	5	16 - 32
Neisseria sp.	3	8 - 64			

5

10

El compuesto I se sometió a ensayó adicionalmente frente a aislados clínicos anaerobios y frente a bacterias aerobias. Se mostró que un panel de 207 aislados clínicos de *C. difficile*, era muy sensibles al compuesto I. El compuesto fue también activo frente a cepas clínicas de *Staphylococcus* sp. y *Enterococcus* sp. Estos resultados demuestran el estrecho espectro antimicrobiano de este compuesto frente a determinados organismos patógenos gram positivos (Tabla 3 y 4).

Tabla 3. Actividad del compuesto 1 frente a aislados clínicos

Table 6: Activided del compuesto i fiente a dislados clínicos									
Bacterias	n	Intervalo	CIM ₅₀ (µg/ml)						
Clostridium difficile	207	≤0,0009 0,0625	0,0019						
Bacteroides fragilis	69	> 128	> 128						
Prevotella sp.	35	16 - ≥128	≥128						
Eubacterium sp.	26	8 - ≥1 - 28	32						
Lactobacillus sp.	8	8-32	No se lleva a cabo						
Propionibacterium sp.	16	≤0,031 - ≥ - 128	4						
Enterococcus sp.	8	1 - 8	4						
Staphylococcus sp.	10	1 - 8	2						
Streptococcus sp.	10	8 - >64	16						
Enterobacteriaceae	28	> 64	> 64						
Pseudomonas sp.	15	> 64	> 64						

Tabla 4. Actividad del compuesto 1 y vancomicina frente a 207 aislados clínicos de C. difficile

Fármaco	Intervalo	CIM ₅₀ (µg/ml)	CIM ₉₀ (µg/ml)
Compuesto I	≤ 0,0009 - 0,0625	0,002	0,008
Vancomicina	0,0156 - 0,5	0,5	0,5

15

En otro estudio, se sometieron a ensayo varios aislados clínicos de especies de *Clostridium* especies y se ensayaron aproximadamente 300 aislados clínicos de GI frente al compuesto I. El compuesto I era más activo frente a *C. difficile, C. perfringens y C. sordellii* con la CIM₉₀ entre 0,062 y 0,25 μg/ml (Tabla 5 y 6). El compuesto I fue también activo frente a *Staphylococcus* y *Enterococcus* con una CIM₉₀ a 1 y 8 μg/ml, respectivamente.

20

Tabla 5. Actividad del compuesto 1 y vancomicina frente a aislados clínicos de especies de Clostridium

Tabla 5. Actividad dei compuesto 1 y vancomicina mente a aisiados clínicos de especies de Ciostridium										
	Compuesto	Compuesto 1			Vancomicina					
Bacterias	n	Intervalo (µg/ml)	CIM ₅₀ (µg/ml)	CIM ₉₀ (µg/ml)	Intervalo (µg/ml)	CIM ₅₀ (µg/ml)	CIM ₉₀ (µg/ml)			
C. bolteae	6	1 - >1024	> 1024	> 1024	1 - 16	16	16			
C. clostridioforme	5	2 - >1024	4	> 1024	1 - 8	1	8			

C. difficile	23	0,062 - 2	0,12	0,25	0,5 - 4	1	2
C. glycolicum	9	0,062 - 1	0,062	1	0,5 - 1	1	1
C. innocuum	9	32 - >1024	> 1024	> 1024	8 - 16	16	16
C. paraputrificum	10	0,062 - 64	8	32	1 - 2	2	2
C. perfringens	14	0,062	0,062	0,062	0,5 - 1	1	1
C. ramosum	10	16 - >1024	> 1024	> 1024	4 - 8	4	8
C. sordellii	5	0,062	0,062	0,062	1	1	1
Otros <i>Clostridium</i> sp.	11	0,06 - >1024	32	1024	1 - 64	1	16

Tabla 6. Actividad del compuesto 1 y vancomicina frente a aislados clínicos gastrointestinales

		OPT - 80			Vancomicina		
Bacterias	n	Intervalo (µg/ml)	CIM 50 (µg/ml)	CIM ₉₀ (µg/ml)	Intervalo (µg/ml)	CIM 50 (µg/ml)	CIM ₉₀ (µg/ml)
grupo del <i>Bacteroides fragilis</i>	54	>128 - >1024	512	> 1024	16 - 256	64	128
Veillonella sp.	10	16 - 128	32	128	128 - >1024	512	512
Otros bacilos anaerobios Gram negativos	51	0,06 - >1024	1024	> 1024	0,5 - >1024	512	> 1024
Bacilos Gram positivos no formadores de esporas	64	0,06 - >1024	1	32	0,5 - >1024	128	> 1024
Cocos anaerobios Gram positivos	49	0,06 - 1024	0,5	2	0,5 - >1024	1	8
grupo del Streptococcus milleri	14	16 - 64	32	32	1	1	1
Streptococcus sp.	9	16 - 128	32	128	0,5 - 1	0,5	1
Escherichia coli	10	> 256	> 256	> 256	256 - >1024	512	> 1024
Enterobacter sp.	20	> 256	> 256	> 256	256 - >1024	> 1024	> 1024
Klebsiella sp.	10	> 256	> 256	> 256	> 1024	> 1024	> 1024
Proteus mirabilis	10	> 256	> 256	> 256	> 1024	> 1024	> 1024
Pseudomonas aeruginosa	10	64 - >256	> 256	> 256	1024 - >1024	> 1024	> 1024
Enterococcus sp.	22	0,5 - 16	8	8	0,5 - 4	1	4
Staphylococcus sp.	19	0,25 - 2	0,5	1	1-4	2	4

5 Ejemplo 2

Eficacia comparativa del compuesto 1, metronidazol, y vancomicina en el modelo 5 de hámster de diarrea asociada a Clostridium difficile.

Para evaluar la eficacia *in vivo* del compuesto 1 en el tratamiento de la colitis asociada a *Clostridium difficile*, se sometió a ensayo el compuesto 1 en un modelo de hámster de colitis inducida por clindamicina en comparación con vancomicina y metronidazol. Se trataron los animales con dos dosis orales de clindamicina a 100 mg/kg. Tres días después de la segunda dosis de clindamicina, se inocularon con esporas de *C. difficile* toxigénico. Ocho horas después de la infección, los animales recibieron el compuesto 1, vancomicina o metronidazol por vía oral, durante 7 días. Se observó a los animales diariamente para determinar la presencia o ausencia de diarrea. Se realizaron las necropsias en algunos animales que murieron durante el experimento, y se evaluó el contenido cecal para determinar la toxina A de *C. difficile*. Se vigiló a los hámsteres durante 20 días, y se registró la mortalidad acumulada durante este periodo (Fig. 1). Los tres antibióticos sometidos a ensayo protegieron a los animales de la infección, que -en ausencia de tratamiento- fue por otra parte uniformemente fatal entre los dos y los seis días después de la infección. La DE₅₀ del compuesto 1 estuvo por debajo de 0,3 mg/kg. El tratamiento con el compuesto 1 a concentraciones de 0,8 y 2,5 mg/kg fue tan eficaz como el tratamiento con vancomicina (5 mg/kg) o metronidazol (100 mg/kg).

Ejemplo 3

25

Administración oral del compuesto 1 a seres humanos.

Se investigó la tolerabilidad y la farmacocinética del compuesto 1 tras la administración de una única dosis en 16 sujetos voluntarios sanos. El ensayo clínico fue un estudio de aumento de dosis con una única dosis, doblemente enmascarado aleatorizado, controlado por placebo.

5 Se administró el compuesto 1 por vía oral tras un desayuno por la mañana a 10 sujetos sanos. Se determinaron las concentraciones del compuesto 1 en plasma, orina, y las fecales para la evaluación farmacocinética.

Tras la administración oral, se detectó poco compuesto 1 en sangre; las concentraciones estuvieron próximas al límite inferior de cuantificación (LIC = 5 ng/ml). Solo un sujeto en el grupo de dosis de 450 mg tuvo concentraciones en plasma que fueron detectables tan tarde como a las 8 horas. El nivel más alto en plasma observado fue de 37,8 ng/ml (en la dosis más alta, grupo de 450 mg).

La recuperación fecal del compuesto 1 sin cambiar como una dosis por ciento de compuesto administrado fue aproximadamente de 20 % en los grupos de dosificación con 200 y 300 mg y los valores promedio para la concentración de los máximos fecales correspondientes fueron 157 y 248 µg/g, respectivamente.

Ejemplo 4

15

25

Actividad in vitro del compuesto 1

20

Se evaluaron la eficacia *in vitro* del compuesto 1, metronidazol, y vancomicina frente a 110 aislados clínicos genéticamente distintos de *C. difficile* mediante dilución en agar. En las Tablas 7 y 8 se presentan los datos de la CIM.

Tabla 7. Media geométrica, intervalos de la CIM, valores de CIM₅₀, y CIM₉₀ para el compuesto 1 frente a 110 aislados clínicos de *C. difficile*, vancomicina, y metronidazol, en μg/ml.

	Intervalo	Media geométrica	CIM ₅₀	CIM ₉₀
Compuesto 1	0,015 - 0,25	0,08	0,125	0,125
Metronidazol	0,025 - 0,5	0,15	0,125	0,25
Vancomicina	0,06 - 4	0,8	1	1

Tabla 8. Datos en bruto de CIM para el compuesto I, vancomicina (VAN), y metronidazol (MTZ) frente a 110 aislados clínicos de *C. difficile*, en μg/ml.

ID ORG	Compuesto I	MTZ	VAN	ID ORG	Compuesto I	MTZ	VAN
A1 1535	0,125	0,25	1	C01 4652	0,25	0,125	1
81 832	0,06	0,125	1	CP1 5491	0,125	0,25	1
D1 1360	0,03	0,25	1	61 5930	0,03	0,25	1
E1 816	0,06	0,125	1	63 6029	0,25	0,25	0,06
F1 1015	0,125	0,125	1	64 5940	0,125	0,25	1
G1 1077	0,125	0,125	1	65 5967	0,06	0,25	0,5
l1 1389	0,125	0,125	1	66 6366	0,015	0,125	0,5
J1 5971	0,06	0,25	1	67 6367	0,125	0,25	1
J7 4224	0,03	0,125	1	68 6368	0,03	0,125	0,06
J9 4478	0,06	0,125	1	69 6370	0,25	0,25	0,5
K1 4305	0,125	0,25	0,5	70 6376	0,125	0,25	2
K14 5780	0,125	0,125	1	71 6379	0,125	0,25	1
L1 1423	0,125	0,125	0,5	72 6380	0,125	0,25	2
N1 471	0,125	0,125	0,5	73 6382	0,25	0,25	1
01 1861	0,06	0,125	1	75 6388	0,125	0,125	0,5
R1 397	0,125	0,125	1	76 6389	0,125	0,25	0,5
R6 6015	0,015	0,25	2	77 6390	0,06	0,125	1
V1 1521	0,125	0,125	0,5	78 6392	0,015	0,03	0,5
W1 3931	0,125	0,5	1	80 6327	0,125	0,125	0,5
X1 1890	0,125	0,125	1	81 6328	0,125	0,125	0,5
Y1 5639	0,06	0,125	0,5	82 6329	0,06	0,03	0,5
Y2 1459	0,06	0,125	1	83 6330	0,06	0,125	0,5

Z1 3036	0,03	0,125	1	84 6331	0,125	0,25	0,5
AA2 4380	0,015	0,125	1	85 6332	0,06	0,125	1
A82 1725	0,06	0,125	1	86 6333	0,03	0,125	0.5
AC1 1546	0,06	0,125	1	87 6334	0,125	0,125	0,5
AF1 1808	0,125	0,125	0,5	88 6335	0,125	0,25	0,5
AG1 3044	0,125	0,125	1	89 6336	0,25	0,5	1
AH1 3430	0,125	0,25	0,5	90 6338	0,125	0,125	1
AJ1 1557	0,06	0,125	1	91 6339	0,125	0,125	1
AL1 1753	0,06	0,125	0,5	93 6341	0,125	0,125	1
AN1 464	0,125	0,125	0,5	94 6343	0,015	0,06	0,5
A01 287	0,125	0,125	1	95 6347	0,125	0,125	1
AS1 4099	0,125	0,125	1	96 6348	0,06	0,125	0,5
AT1 1216	0,125	0,125	1	97 6349	0,25	0,125	1
AV1 941	0,25	0,125	0,5	98 6350	0,125	0,5	1
CJ1 893	0,125	0,025	1	101 6354	0,015	0,06	1
AW1 4501	0,125	0,125	1	102 6355	0,016	0,125	1
BE1 4307	0,125	0,25	1	103 6068	0,06	0,125	1
BH1 4506	0,06	0,06	0,5	104 6060	0,03	0,25	1
B11 1675	0,125	0,125	1	105 6071	0,03	0,125	0,5
BK1 4291	0,125	0,125	0,5	106 6078	0,03	0,25	0,5
BI1 716	0,125	0,125	1	107 6079	0,06	0,125	0,5
BM1 1453	0,06	0,125	1	109 6274	0,015	0,125	1
BN1 1322	0,125	0,25	1	111 6279	0,03	0,125	1
BR1 1321	0,06	0,125	1	112 6280	0,06	0,125	0,5
BT1 706	0,06	0,125	1	113 6304	0,06	0,125	1
BV1 1183	0,125	0,25	1	114 386	0,06	0,125	4
BW1 3130	0,125	0,125	1	115 5985	0,015	0,25	2
BX1 4271	0,125	0,25	1	116 5702	0,06	0,125	1
CN1 667	0,25	0,25	1	117 6026	0,06	0,125	2
CB1 1584	0,25	0,125	1	120 6057	0,03	0,25	1
CF1 5922	0,125	0,125	1	121 6072	0,06	0,25	0,5
CG1 1566	0,125	0,125	1	122 6111	0,25	0,25	0,5
CI1 3851	0,25	0,125	1	100 6353	0,125	0,25	1

Otras realizaciones

Todas las referencias descritas anteriormente en el presente documento se incorporan por referencia en su totalidad para todos los fines. Aunque la invención se ha mostrado y descrito especialmente con referencia a sus realizaciones preferidas, una persona experta en la materia entenderá que se pueden realizar varios cambios en la forma y los detalles sin separarse del espíritu y alcance de la invención como se define en las reivindicaciones adjuntas.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la fórmula:

10

25

5 para su uso en el tratamiento de una enfermedad en un paciente producida por la presencia de *Clostridium difficile*.

- 2. El compuesto de la reivindicación 1 para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el paciente es un mamífero.
- 3. El compuesto de la reivindicación 1 para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el individuo es un ser humano.
- 4. El compuesto de la reivindicación 1 para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la enfermedad está asociada al uso de antibióticos.
 - 5. El compuesto de la reivindicación 1 para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la enfermedad está asociada al uso de quimioterapia.
- 20 6. El compuesto de la reivindicación 1 para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la enfermedad está asociada al uso de terapia antivírica.
 - 7. El compuesto de la reivindicación 4 para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la enfermedad es una diarrea asociada a antibiótico.
 - 8. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la enfermedad es colitis.
- 9. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde 30 la enfermedad es colitis pseudomembranosa.
 - 10. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el compuesto es para administración en una cantidad de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 1 g.
- 11. El compuesto de la reivindicación 10 para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el compuesto es para la administración en una cantidad de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 400 mg una vez o dos veces al día.
- 12. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el compuesto es para administración de una a cuatro veces al día.
 - 13. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el compuesto es para la administración al paciente por vía oral.
- 45 14. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el compuesto es para administración de una a cuatro veces al día durante tres a guince días.
- 15. El compuesto de la reivindicación 1 para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el compuesto es para su uso en el tratamiento de la diarrea asociada a *Clostridium difficile* en un paciente mediante administración oral.

Figura 1

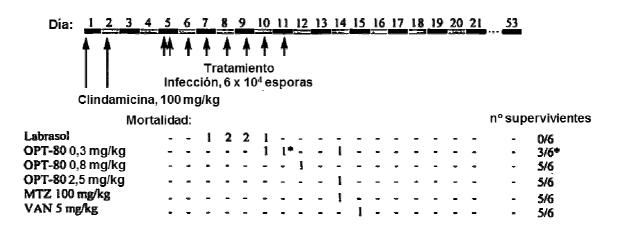


Figura 2

