

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 641 017**

51 Int. Cl.:

**C07K 7/62** (2006.01)

**A61K 38/04** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.01.2014 PCT/EP2014/050320**

87 Fecha y número de publicación internacional: **17.07.2014 WO14108469**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.01.2014 E 14704292 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.08.2017 EP 2943503**

54 Título: **Polimixinas, composiciones, métodos de fabricación y métodos de uso**

30 Prioridad:

**11.01.2013 US 201361751341 P**  
**15.11.2013 US 201361904793 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**07.11.2017**

73 Titular/es:

**XELLIA PHARMACEUTICALS APS (100.0%)**  
**Dalslandsgade 11**  
**2300 Copenhagen S, DK**

72 Inventor/es:

**GUNNES, SØLVI;**  
**BJØRNSTAD, VIDAR;**  
**KOCH, TORBEN;**  
**MELANDER, CLAES y**  
**MÅNSSON, MARTIN**

74 Agente/Representante:

**SÁEZ MAESO, Ana**

**Observaciones:**

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 641 017 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**

Polimixinas, composiciones, métodos de fabricación y métodos de uso

Campo de la invención

5 Se describe en este documento una composición que comprende al menos una polimixina o una sal de la misma representada por la fórmula (I).

Antecedentes

10 Las polimixinas se descubrieron en 1947 como antibióticos producidos por *Bacillus polymyxa*. Las polimixinas son deca péptidos antibióticos que contienen un anillo heptapeptídico y un ácido graso acoplado a amida N-terminal. Hoy, dos mezclas comerciales de polimixina están en uso clínico; polimixina B y polimixina E (colistina). Ambas mezclas comprenden una variedad de componentes como se describe por Goevaerts et al 2002 and Van den Bossche et al 2011. De acuerdo con la farmacopea EP, la colistina debería comprender más del 77% de la polimixina E1, E2, E3, E1-i y E1-7MOA, pero menos del 10% de cada uno de los componentes menores polimixina E3, E1-i y E1-MOA.

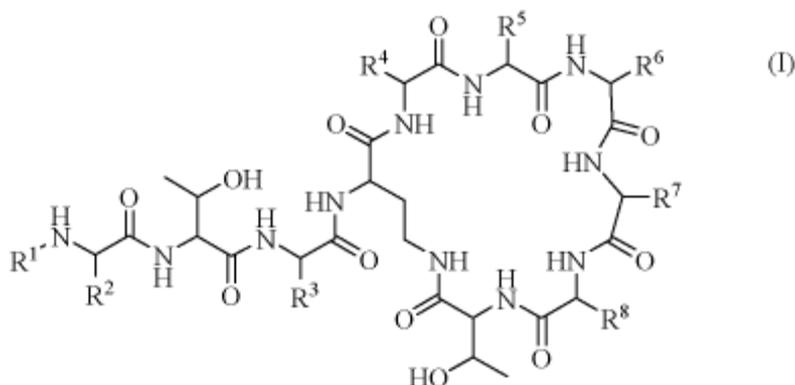
15 Debido a la toxicidad asociada con la colistina, la mezcla se mejoró por sulfometilación en los años cincuenta. La colistina sulfometilada se llama colistimetato de sodio (CMS), que se considera un profármaco de colistina. El CMS está todavía en uso clínico como una opción de tratamiento de última línea para organismos resistentes a multifármacos como *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumonia* y otros patógenos Gramnegativos. Durante muchos años, las soluciones de CMS también se han administrado por nebulización en los pulmones de pacientes con fibrosis quística (FC) para controlar la colonización o las infecciones causadas por *P. aeruginosa*.

20 El hecho de que los productos CMS comerciales contengan una mezcla compleja de derivados de diferentes polimixinas tiene varias consecuencias. El primero de ellos se refiere al valor terapéutico de cualquier producto comercializado. Puesto que la CMS se puede considerar un depósito de colistina una vez inyectado o inhalado en el cuerpo, es importante que una cantidad apropiada de CMS se transforme en colistina antes de que se excrete. Si no, el nivel sérico de colistina puede no alcanzar un nivel suficientemente alto para matar o prevenir el crecimiento de la bacteria patógena a la que se dirige. De este modo, al ser capaces de fabricar un CMS con una cantidad controlada de sustituyentes, ya sea en mezcla o como mono componente, aumentan el potencial terapéutico mediante la prevención de la baja o la sobre dosificación. También puede aumentar las características de profármaco de la molécula afectando la velocidad de hidrólisis del CMS (la tasa de conversión in vivo de CMS a colistina).

30 CA 56: 37780 describe metasulfonato de colistina, FR-A-1586834 (Alphachimie) describe polimixinas metasulfonadas, pero no se derivan en su totalidad,

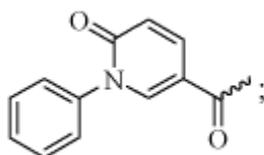
Resumen

Una composición que comprende al menos una polimixina o una sal de la misma representada por la fórmula (I)



35 en la que

R<sup>1</sup> es un grupo acilo C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub> lineal o ramificado alifático, o



R<sup>5</sup> es -CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, o -CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>;

R<sup>6</sup> es -CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, o -CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>;

cada uno de R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> es (CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>M)<sub>2</sub>;

5 en la que x es 0 o 1;

en la que M es un catión monovalente; y

en la que R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> son -(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>M)<sub>2</sub>.

Descripción detallada

Breve descripción de las figuras

10 Figura 1. Estructura de PE1-(SM)<sub>10</sub><sup>1,3,5,8,9</sup>.

Figura 2. Estructura de PE1-(SM)<sub>8</sub><sup>1,5,8,9</sup>.

Figura 3. Estructura de PE1-(SM)<sub>6</sub><sup>1,5,9</sup>.

Figura 4. Una estructura química general de algunas polimixinas sulfometiladas como se describe en este documento (véase la tabla 1).

15 Figura 5. Estructura de una polimixina decasulfometilada que contiene un residuo DAP en la posición 3.

Figura 6. Cromatogramas UHPLC de PE1-(SM)<sub>10</sub><sup>1,3,5,8,9</sup> (Figura 1, parte superior) y patrón de trabajo de CMS (parte inferior).

Figura 7. Estructura de PE2-(SM)<sub>10</sub><sup>1,3,5,8,9</sup>.

Figura 8. Estructura de PE1-*i*-(SM)<sub>10</sub><sup>1,3,5,8,9</sup>.

20 Figura 9. Estructura de los componentes de polimixina en la composición de PE-(MS)<sub>10</sub><sup>1,3,5,8,9</sup> descrita en el ejemplo 4.

Figura 10. Estructura de los componentes de polimixina en la composición de PB-(MS)<sub>10</sub><sup>1,3,5,8,9</sup> descrita en el ejemplo 5.

Figura 11. Porcentaje de citólisis de células HK-2 en presencia de colistina (Sigma, C4461)

25 Figura 12. Porcentaje de citólisis de células HK-2 en presencia de penta (N<sup>γ</sup>-bis-sulfometil) DAB<sup>1,3,5,8,9</sup> polimixina E1

Figura 13. Porcentaje de citólisis de células HK-2 en presencia de penta (N<sup>γ</sup>-bis-sulfometil) DAB<sup>1,3,5,8,9</sup> polimixina E2

Figura 14. Porcentaje de citólisis de células HK-2 en presencia de penta (N<sup>γ</sup>-bis-sulfometil)DAB<sup>1,3,5,8,9</sup> polimixina E1-i

Figura 15. Porcentaje de citólisis de células HK-2 en presencia de penta (N<sup>γ</sup>-bis-sulfometil)DAB<sup>1,3,5,8,9</sup> polimixina B

Definiciones

30 La frase "un" o "una" entidad como se usa en este documento se refiere a una o más de esa entidad; por ejemplo, un compuesto se refiere a uno o más compuestos o al menos un compuesto.

Como tal, los términos "un" (o "una"), "uno o más", y "al menos uno" se pueden usar indistintamente en este documento.

35 Los términos "opcional" o "opcionalmente" como se usa en este documento significan que un suceso o circunstancia descrito posteriormente puede, pero no necesita ocurrir, y que la descripción incluya casos en los que ocurre el suceso o circunstancia y casos en los que no ocurre. Por ejemplo, "enlace opcional" significa que el enlace puede o no estar presente, y que la descripción incluye enlaces simples, dobles o triples.

El término "estereoisómero" tiene su significado sencillo y ordinario.

La polimixina o sal de la misma representada por la fórmula (I) contiene una serie de estereocentros basados en carbono que pueden tener designaciones estereoquímicas de residuos de aminoácidos naturales (L-) y no naturales (D-). Se entenderá que las unidades estructurales  $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$  y  $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$  contienen estereocentros basados en carbono que tienen la misma estereoquímica que los radicales encontrados en L-isoleucina y L-treonina.

La expresión "un grupo acilo  $\text{C}_6\text{-C}_{10}$  lineal o ramificado alifático", como se describe en este documento, se refiere a un sustituyente que contiene una unidad estructural carbonilo y una unidad estructural no carbonilo e incluye los grupos acilo encontrados en compuestos de polimixina conocidos, los cuales incluyen, pero no se limitan a heptanoílo, metilheptanoílo (incluyendo (S)-6-metilheptanoílo), octanoílo, metiloctanoílo (incluyendo (S)-6-metiloctanoílo, (S)-7-metiloctanoílo), nonanoílo, metilnonanoílo (incluyendo (S)-6-metilnonanoílo, (S)-7-metilnonanoílo, y (S)-8-metilnonanoílo) y decanoílo.

El término "sales" o "sal del mismo" como se describe en este documento, se refiere a un compuesto que comprende un catión y un anión, que se puede preparar mediante cualquier procedimiento conocido para un experto en el arte, por ejemplo, por la protonación de una unidad estructural de aceptación de protones y/o desprotonación de una unidad estructural de donación de protones. Alternativamente, la sal se puede preparar mediante ya sea una metátesis de catión/anión o una reacción de intercambio catión/anión.

El término "M es un catión monovalente" como se describe en este documento, se refiere a una especie catiónica que contiene una única carga positiva, ejemplos de los cuales incluyen, pero no se limitan a  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{H}_m\text{N}(\text{alquilo } \text{C}_{1-4})_n^+$ , donde m es 0-4 y n es 0-4 con la condición de que  $m+n=4$ .

El término "alquilo  $\text{C}_{1-4}$ " como se describe en este documento, se refiere a un grupo alquilo de cadena lineal o ramificada que contiene de 1 a 4 átomos de carbono. Ejemplos de grupos alquilo  $\text{C}_{1-4}$  incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo, propilo, i-propilo y n-butilo.

El término "DAB" como se describe en este documento, se refiere al radical derivado del ácido 2,4-diaminobutanoico, en el que el átomo de carbono adyacente al carbono carbonilo (esto es, el  $\alpha$ -carbono) tiene una estereoquímica designada como la configuración L. L-DAB se denomina alternativamente en la bibliografía como L-DBU.

El término "residuo de DAB" como se describe en este documento, se refiere a un compuesto de 2,4-diaminobutirato acoplado con amida a al menos un aminoácido. Las polimixinas de origen natural comprenden habitualmente 6 residuos DAB de los cuales 5 tienen un grupo  $\gamma$ -amino libre.

El término "sulfometilo" como se describe en este documento se refiere a la unidad estructural  $-\text{CH}_2\text{SO}_3\text{M}$ , en la que M es como se definió anteriormente. La unidad estructural sulfonato ( $-\text{SO}_3$ ) puede estar en forma ácida, pero en un entorno fisiológico (in vivo) tendrá una carga negativa y tendrá un catión asociado, tal como M.

El término "DAP" como se describe en este documento se refiere al compuesto 2,3-diaminopropionato.

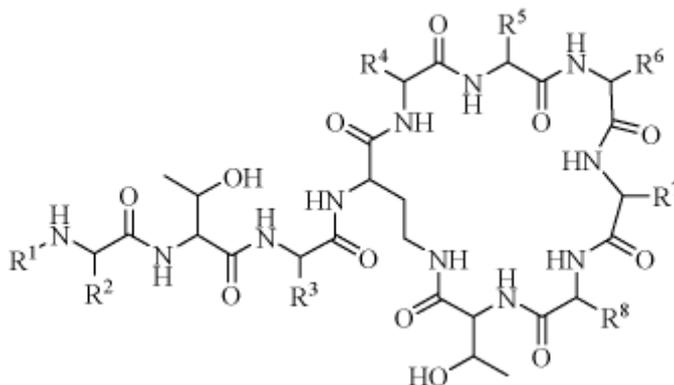
El término "residuo de DAP" como se describe en este documento se refiere a un compuesto de 2,3-diaminopropionato acoplado a amida a al menos un aminoácido.

El término "FA" como se describe en este documento es una abreviatura de la expresión "acilo graso", y está cubierto por la expresión "un grupo acilo  $\text{C}_6\text{-C}_{10}$  lineal o ramificado alifático", en relación con al menos una polimixina o sal de la misma representada por la fórmula (I).

El término "en una cantidad de al menos X% por UHPLC" como se describe en este documento se debe entender como el área integrada relativa del o de los picos correspondientes en el cromatograma resultante de un método UHPLC como se describe en la parte de materiales y métodos de esta solicitud.

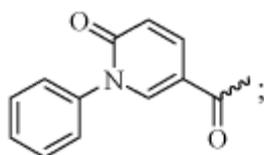
El término "pureza de más de Y% basado en el cromatograma de UHPLC" se debe entender como el área integrada relativa de(los) pico(s) correspondiente(s) en el cromatograma resultante de un método de UHPLC como se describe en la parte de materiales y métodos de esta solicitud.

Una primera realización se dirige a una composición que comprende al menos una polimixina o una sal de la misma representada por la fórmula (I)



en la que

R<sup>1</sup> es un grupo acilo C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub> lineal o ramificado alifático, o



5 R<sup>5</sup> es -CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, o -CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>;

R<sup>6</sup> es -CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, o -CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>;

cada uno de R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> es

(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>M)<sub>2</sub>;

en la que x es 0 o 1;

10 en la que M es un catión monovalente; y

en la que al menos tres de R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> son -(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>M)<sub>2</sub>.

Todos los aspectos técnicos siguientes no cubiertos por las reivindicaciones deben ser entendidos como sólo ilustrativos.

15 En un primer aspecto de la primera realización, R<sup>1</sup> es heptanoílo, metilheptanoílo, octanoílo, metiloctanoílo, nonanoílo, metilnonanoílo o decilo.

En un segundo aspecto de la primera realización, R<sup>1</sup> es heptanoílo, (S)-6-metilheptanoílo, octanoílo, (S)-6-metiloctanoílo, (S)-7-metiloctanoílo, nonanoílo, (S)-6-metilnonanoílo, (S)-7-metilnonanoílo, (S)-8-metilnonanoílo o decanoílo.

20 En un tercer aspecto de la primera realización, las composiciones descritas anteriormente se caracterizan porque M se selecciona del grupo que consiste en Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, H<sub>m</sub>N(alquilo C<sub>1-4</sub>)<sub>n</sub><sup>+</sup>, o combinaciones de los mismos, donde m es 0-4 y n es 0-4 con la condición de que m+n=4.

En un cuarto aspecto de la primera realización, x es 1 y M es H<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup> o K<sup>+</sup>.

En un quinto aspecto de la primera realización, x es 1 y M es H<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup> o K<sup>+</sup> y tres de R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> son -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>M)<sub>2</sub>.

25 En un sexto aspecto de la primera realización, x es 1 y M es H<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup> o K<sup>+</sup> y cada uno de R<sup>2</sup>, R<sup>4</sup> y R<sup>8</sup> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>M)<sub>2</sub>.

En un séptimo aspecto de la primera realización, x es 1 y M es H<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup> o K<sup>+</sup> y cuatro de R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> son -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>M)<sub>2</sub>.

30 En un octavo aspecto de la primera realización, x es 1 y M es H<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup> o K<sup>+</sup> y cada uno de R<sup>2</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>M)<sub>2</sub>.

- En un noveno aspecto de la primera realización, x es 1 y M es H<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup> o K<sup>+</sup> y cada uno de R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>M)<sub>2</sub>;
- 5 En un décimo aspecto de la primera realización, las composiciones descritas por uno cualquiera de los 2º a 9º aspectos de la primera realización se caracterizan porque la al menos una polimixina o sal de la misma está presente en una cantidad de al menos 10% por UHPLC, al menos 20% por UHPLC, al menos 30% por UHPLC, al menos 40% por UHPLC, al menos 50% por UHPLC, al menos 60% por UHPLC, al menos 70% por UHPLC, al menos 80% por UHPLC, al menos 90% por UHPLC, al menos 95% por UHPLC, al menos 97% por UHPLC, al menos 98% por UHPLC, o al menos 99% por UHPLC.
- 10 En un 11º aspecto de la primera realización, la al menos una polimixina o una sal de la misma representada por la fórmula (I) comprende más de 5 grupos sulfometilo.
- En un 12º aspecto de la primera realización, la al menos una polimixina o una sal de la misma representada por la fórmula (I) comprende 6-10 grupos sulfometilo unidos a grupos γ-amino de los residuos de DAB.
- En un 13º aspecto de la primera realización, la al menos una polimixina o una sal de la misma representada por la fórmula (I) comprende 6, 8 o 10 grupos sulfometilo unidos a grupos γ-amino en los residuos de DAB.
- 15 En un 14º aspecto de la primera realización, la al menos una polimixina o una sal de la misma representada por la fórmula (I) comprende 10 grupos sulfometilo unidos a grupos γ-amino en los residuos de DAB.
- En un 15º aspecto de la primera realización, la al menos una polimixina o una sal de la misma representada por la fórmula (I) comprende 8 grupos sulfometilo unidos a grupos γ-amino en los residuos de DAB.
- 20 En un 16º aspecto de la primera realización, la al menos una polimixina o una sal de la misma representada por la fórmula (I) comprende 6 grupos sulfometilo unidos a grupos γ-amino en los residuos de DAB.
- En un 17º aspecto de la primera realización, la al menos una polimixina o una sal de la misma representada por la fórmula (I) comprende 2 grupos sulfometilo unidos a cada uno de los cinco grupos γ-amino en los residuos de DAB en la polimixina. Tales polimixinas son decasulfometiladas.
- 25 En un 18º aspecto de la primera realización, la al menos una polimixina o una sal de la misma representada por la fórmula (I) comprende 2 grupos sulfometilo unidos a cuatro de los grupos γ-amino en los residuos de DAB en polimixina. Tales polimixinas son octasulfometiladas.
- En un 19º aspecto de la primera realización, la al menos una polimixina o una sal de la misma representada por la fórmula (I) comprende 2 grupos sulfometilo unidos a tres de los grupos γ-amino en los residuos de DAB en polimixina. Tales polimixinas son hexasulfometiladas.
- 30 En un 20º aspecto de la primera realización, la al menos una polimixina o una sal de la misma representada por la fórmula (I) comprende 2 grupos sulfometilo unidos a los grupos γ-amino en los residuos de DAB 1, 3, 5, 8 y 9, usando el sistema de numeración de polimixina convencional (Figura 4.). Dicho compuesto de polimixina se designa en este documento como penta (N<sup>γ</sup>-bis-sulfometil) DAB<sup>1,3,5,8,9</sup> polimixina. La estructura para polimixina E1 decasulfometilada se muestra en la figura 1 y se da el nombre abreviado PE1-(SM)<sub>10</sub><sup>1,3,5,8,9</sup>.
- 35 En un 21º aspecto de la primera realización, la al menos una polimixina o una sal de la misma representada por la fórmula (I) comprende 2 grupos sulfometilo unidos a los grupos γ-amino en los residuos de DAB 1, 5, 8 y 9, usando el sistema de numeración de polimixina convencional (Figura 4). Un ejemplo de dicho compuesto de polimixina se designa en este documento como tetra (N<sup>γ</sup>-bissulfometil) DAB<sup>1,5,8,9</sup> polimixina E1. Un ejemplo de dicho compuesto se muestra en la figura 2. El nombre abreviado para este compuesto es PE1-(SM)<sub>8</sub><sup>1,5,8,9</sup>.
- 40 Otros ejemplos de polimixinas octasulfometiladas son tetra (N<sup>γ</sup>-bis-sulfometil) DAB<sup>1,3,5,8</sup> polimixina E1, tetra (N<sup>γ</sup>-bis-sulfometil) DAB<sup>1,3,8,9</sup> polimixina E1, tetra (N<sup>γ</sup>-bis-sulfometil) DAB<sup>1,3,5,9</sup> polimixina E1, tetra (N<sup>γ</sup>-bissulfometil) DAB<sup>3,5,8,9</sup> polimixina E1.
- 45 En un 22º aspecto de la primera realización, la al menos una polimixina o una sal de la misma representada por la fórmula (I) comprende 2 grupos sulfometilo unidos a los grupos γ-amino en los residuos de DAB 1, 5, y 9. Un ejemplo de dicha polimixina se designa en este documento como tri (N<sup>γ</sup>-bis-sulfometil) DAB<sup>1,5,9</sup> polimixina E1, cuya estructura se muestra en la figura 3. Un nombre abreviado para este compuesto es PE1-(SM)<sub>6</sub><sup>1,5,9</sup>. Otros ejemplos de polimixinas hexasulfometiladas se muestran en la tabla 1.

Tabla 1: Ejemplos de polimixinas que son penta, treta y tri N<sup>γ</sup>-bis-sulfometiladas

		Posición DAB				
		1	3	5	8	9
(N <sup>o</sup> -bis-sulfometil)	<i>Penta</i>	X	X	X	X	X
	<i>Tetra</i> (5 Diferentes)	X	X	X	X	
		X	X	X		X
		X	X		X	X
		X		X	X	X
			X	X	X	X
	<i>Tri</i> (10 Diferentes)	X	X	X		
		X	X			X
		X			X	X
				X	X	X
			X	X	X	
			X		X	X
		X		X		X
		X	X		X	
			X	X		X
		X		X	X	

Cada x representa una  $\gamma$ -amina de DAB bis-sulfometilada.

5 En un 23º aspecto de la primera realización, la al menos una polimixina o una sal de la misma representada por la fórmula (I) comprende grupos sulfometilo unidos a los grupos  $\gamma$ -amino en los residuos de DAB 1, 3, 5, 8 y 9 en polimixina E.

En un 24º aspecto de la primera realización, la al menos una polimixina o una sal de la misma representada por la fórmula (I) comprende 2 grupos sulfometilo unidos a los grupos  $\gamma$ -amino en los residuos de DAB 1, 5, 8 y 9 en polimixina E.

10 En un 25º aspecto de la primera realización, la al menos una polimixina o una sal de la misma representada por la fórmula (I) comprende 2 grupos sulfometilo unidos a los grupos  $\gamma$ -amino en los residuos de DAB 1, 5, y 9 en polimixina E.

En un 26º aspecto de la primera realización, la al menos una polimixina o una sal de la misma representada por la fórmula (I) es polimixina E o una sal de la misma.

15 En un 27º aspecto de la primera realización, la al menos una polimixina o una sal de la misma representada por la fórmula (I) es polimixina B o una sal de la misma.

En un 28º aspecto de la primera realización, la al menos una polimixina o una sal de la misma representada por la fórmula (I) tiene una pureza de más de 10% en base al cromatograma de UHPLC.

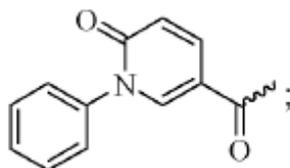
En un 29º aspecto de la primera realización, la al menos una polimixina o una sal de la misma representada por la fórmula (I) tiene una pureza de más de 20% en base al cromatograma de UHPLC.

- En un 30° aspecto de la primera realización, la al menos una polimixina o una sal de la misma representada por la fórmula (I) tiene una pureza de más de 30% en base al cromatograma de UHPLC.
- En un 31° aspecto de la primera realización, la al menos una polimixina o una sal de la misma representada por la fórmula (I) tiene una pureza de más de 40% en base al cromatograma de UHPLC.
- 5 En un 32° aspecto de la primera realización, la al menos una polimixina o una sal de la misma representada por la fórmula (I) tiene una pureza de más de 50% en base al cromatograma de UHPLC.
- En un 33° aspecto de aspecto de la primera realización, la al menos una polimixina o una sal de la misma representada por la fórmula (I) tiene una pureza de más de 60% en base al cromatograma de UHPLC.
- 10 En un 34° aspecto de la primera realización, la al menos una polimixina o una sal de la misma representada por la fórmula (I) tiene una pureza de más de 70% en base al cromatograma de UHPLC.
- En un 35° aspecto de la primera realización, la al menos una polimixina o una sal de la misma representada por la fórmula (I) tiene una pureza de más de 80% en base al cromatograma de UHPLC.
- En un 36° aspecto de la primera realización, la al menos una polimixina o una sal de la misma representada por la fórmula (I) tiene una pureza de más de 90% en base al cromatograma de UHPLC.
- 15 En un 37° aspecto de la primera realización, la al menos una polimixina o una sal de la misma representada por la fórmula (I) tiene una pureza de más de 95% en base al cromatograma de UHPLC.
- En un 38° aspecto de la primera realización, la al menos una polimixina o una sal de la misma representada por la fórmula (I) comprende al menos 10% p/p de al menos una polimixina o sal de la misma que comprende 6-10 grupos sulfometilo.
- 20 En un 39° aspecto de la primera realización, la al menos una polimixina o una sal de la misma representada por la fórmula (I) comprende al menos 20% p/p de la al menos una polimixina o sal de la misma que comprende 6-10 grupos sulfometilo.
- En un 40° aspecto de la primera realización, la al menos una polimixina o una sal de la misma representada por la fórmula (I) comprende al menos 30% p/p de la al menos una polimixina o una sal de la misma que comprende 6-10 grupos sulfometilo.
- 25 En un 41° aspecto de la primera realización, la al menos una polimixina o una sal de la misma representada por la fórmula (I) comprende al menos 40% p/p de la al menos una polimixina o sal de la misma que comprende 6-10 grupos sulfometilo.
- En un 42° aspecto de la primera realización, la al menos una polimixina o una sal de la misma representada por la fórmula (I) comprende al menos 50% p/p de la al menos una polimixina o sal de la misma que comprende 6-10 grupos sulfometilo.
- 30 En un 43° aspecto de la primera realización, la al menos una polimixina o una sal de la misma representada por la fórmula (I) comprende al menos 60% p/p de la al menos una polimixina o sal de la misma que comprende 6-10 grupos sulfometilo.
- 35 En un 44° aspecto de la primera realización, la al menos una polimixina o una sal de la misma representada por la fórmula (I) comprende al menos 70% p/p de la al menos una polimixina o sal de la misma que comprende 6-10 grupos sulfometilo.
- En un 45° aspecto de la primera realización, la al menos una polimixina o una sal de la misma representada por la fórmula (I) comprende al menos 80% p/p de la al menos una polimixina o sal de la misma que comprende 6-10 grupos sulfometilo.
- 40 En un 46° aspecto de la primera realización, la al menos una polimixina o una sal de la misma representada por la fórmula (I) comprende al menos 90% p/p de la al menos una polimixina o sal de la misma que comprende 6-10 grupos sulfometilo.
- En un 47° aspecto de la primera realización, la al menos una polimixina o una sal de la misma representada por la fórmula (I) comprende al menos 95% p/p de la al menos una polimixina o sal de la misma que comprende 6-10 grupos sulfometilo.
- 45 En un 48° aspecto de la primera realización la al menos una polimixina o sal de la misma representada por la fórmula (I) comprende una cualquiera de (A) a (J), en la que
- 50 (A) R<sup>1</sup> es 6-metiloctanoílo; cada uno de R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup>, y R<sup>8</sup> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>M)<sub>2</sub>; y cada uno de R<sup>5</sup> y R<sup>6</sup> es -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>;

(B) R<sup>1</sup> es 6-metiloctanoílo; cada uno de R<sup>2</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup>, y R<sup>8</sup> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>M)<sub>2</sub>; R<sup>3</sup> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>; y cada uno de R<sup>5</sup> y R<sup>6</sup> es -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>;

(C) R<sup>1</sup> es 6-metiloctanoílo; cada uno de R<sup>2</sup>, R<sup>4</sup>, y R<sup>8</sup> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>M)<sub>2</sub>; cada uno de R<sup>3</sup> y R<sup>7</sup> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>; y cada uno de R<sup>5</sup> y R<sup>6</sup> es -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>;

5 (D) R<sup>1</sup> es



cada uno de R<sup>2</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup>, y R<sup>8</sup> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>M)<sub>2</sub>; R<sup>3</sup> es -CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>M)<sub>2</sub>; R<sup>5</sup> es -CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>; y R<sup>6</sup> es -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>;

10 (E) R<sup>1</sup> es 6-metilheptanoílo; cada uno de R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup>, y R<sup>8</sup> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>M)<sub>2</sub>; y cada uno de R<sup>5</sup> y R<sup>6</sup> es -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>;

(F) R<sup>1</sup> es 6-metiloctanoílo; cada uno de R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup>, y R<sup>8</sup> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>M)<sub>2</sub>; R<sup>5</sup> es -CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>; y R<sup>6</sup> es -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>;

(G)

15 (1) R<sup>1</sup> es 6-metiloctanoílo; cada uno de R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup>, y R<sup>8</sup> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>M)<sub>2</sub>; cada uno de R<sup>5</sup> y R<sup>6</sup> es -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>;

(2) R<sup>1</sup> es 6-metilheptanoílo; cada uno de R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup>, y R<sup>8</sup> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>M)<sub>2</sub>; y cada uno de R<sup>5</sup> y R<sup>6</sup> es -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>;

(3) R<sup>1</sup> es octanoílo; cada uno de R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup>, y R<sup>8</sup> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>M)<sub>2</sub>; y cada uno de R<sup>5</sup> y R<sup>6</sup> es -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>;

20 (4) R<sup>1</sup> es 6-metiloctanoílo; cada uno de R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup>, y R<sup>8</sup> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>M)<sub>2</sub>; R<sup>5</sup> es -CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>; y R<sup>6</sup> es -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>; y

(5) R<sup>1</sup> es 7-metiloctanoílo; cada uno de R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup>, y R<sup>8</sup> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>M)<sub>2</sub>; y cada uno de R<sup>5</sup> y R<sup>6</sup> es -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>;

(H)

25 (1) R<sup>1</sup> es 6-metiloctanoílo; cada uno de R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup>, y R<sup>8</sup> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>M)<sub>2</sub>; R<sup>5</sup> es -CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>; y R<sup>6</sup> es -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>;

(2) R<sup>1</sup> es 6-metilheptanoílo; cada uno de R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup>, y R<sup>8</sup> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>M)<sub>2</sub>; R<sup>5</sup> es -CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>; y R<sup>6</sup> es -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>;

30 (I) R<sup>1</sup> es 6-metiloctanoílo; cada uno de R<sup>2</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup>, y R<sup>8</sup> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>M)<sub>2</sub>; R<sup>3</sup> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>; y cada uno de R<sup>5</sup> y R<sup>6</sup> es -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>; y

(J) R<sup>1</sup> es 6-metiloctanoílo; cada uno de R<sup>2</sup>, R<sup>4</sup>, y R<sup>8</sup> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>M)<sub>2</sub>; cada uno de R<sup>3</sup> y R<sup>7</sup> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>; y cada uno de R<sup>5</sup> y R<sup>6</sup> es -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.

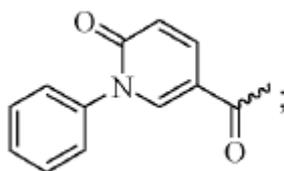
En un 49º aspecto de la primera realización, la al menos una polimixina o sal de la misma representada por la fórmula (I) comprende una cualquiera de (A) a (J), en la que

35 (A) R<sup>1</sup> es 6-metiloctanoílo; cada uno de R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup>, y R<sup>8</sup> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>Na)<sub>2</sub>; y cada uno de R<sup>5</sup> y R<sup>6</sup> es -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>;

(B) R<sup>1</sup> es 6-metiloctanoílo; cada uno de R<sup>2</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup>, y R<sup>8</sup> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>Na)<sub>2</sub>; R<sup>3</sup> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>; y cada uno de R<sup>5</sup> y R<sup>6</sup> es -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>;

40 (C) R<sup>1</sup> es 6-metiloctanoílo; cada uno de R<sup>2</sup>, R<sup>4</sup>, y R<sup>8</sup> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>Na)<sub>2</sub>; cada uno de R<sup>3</sup> y R<sup>7</sup> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>; y cada uno de R<sup>5</sup> y R<sup>6</sup> es -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>;

(D) R<sup>1</sup> es



cada uno de  $R^2$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , y  $R^8$  es  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{SO}_3\text{Na})_2$ ;

$R^3$  es  $-\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{SO}_3\text{Na})_2$ ;  $R^5$  es  $-\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ; y  $R^6$  es  $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ;

5 (E)  $R^1$  es 6-metilheptanoilo; cada uno de  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , y  $R^8$  es  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{SO}_3\text{Na})_2$ ; y cada uno de  $R^5$  y  $R^6$  es  $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ;

(F)  $R^1$  es 6-metiloctanoilo; cada uno de  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , y  $R^8$  es  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{SO}_3\text{Na})_2$ ;

$R^5$  es  $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$ ; y  $R^6$  es  $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ;

(G)

10 (1)  $R^1$  es 6-metiloctanoilo; cada uno de  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , y  $R^8$  es  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{SO}_3\text{Na})_2$ ; cada uno de  $R^5$  y  $R^6$  es  $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ;

(2)  $R^1$  es 6-metilheptanoilo; cada uno de  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , y  $R^8$  es  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{SO}_3\text{Na})_2$ ; y cada uno de  $R^5$  y  $R^6$  es  $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ;

(3)  $R^1$  es octanoilo; cada uno de  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , y  $R^8$  es  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{SO}_3\text{Na})_2$ ; y cada uno de  $R^5$  y  $R^6$  es  $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ;

15 (4)  $R^1$  es 6-metiloctanoilo; cada uno de  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , y  $R^8$  es  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{SO}_3\text{Na})_2$ ;  $R^5$  es  $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$ ; y  $R^6$  es  $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ; y

(5)  $R^1$  es 7-metiloctanoilo; cada uno de  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , y  $R^8$  es  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{SO}_3\text{Na})_2$ ; y cada uno de  $R^5$  y  $R^6$  es  $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ;

(H)

20 (1)  $R^1$  es 6-metiloctanoilo; cada uno de  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , y  $R^8$  es  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{SO}_3\text{Na})_2$ ;  $R^5$  es  $-\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ; y  $R^6$  es  $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ;

(2)  $R^1$  es 6-metilheptanoilo; cada uno de  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , y  $R^8$  es  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{SO}_3\text{Na})_2$ ;  $R^5$  es  $-\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ; y  $R^6$  es  $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ;

(I)  $R^1$  es 6-metiloctanoilo; cada uno de  $R^2$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ , y  $R^8$  es  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{SO}_3\text{Na})_2$ ;

25  $R^3$  es  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ; y cada uno de  $R^5$  y  $R^6$  es  $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ; y

(J)  $R^1$  es 6-metiloctanoilo; cada uno de  $R^2$ ,  $R^4$ , y  $R^8$  es  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{SO}_3\text{Na})_2$ ; cada uno de  $R^3$

y  $R^7$  es  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ; y cada uno de  $R^5$  y  $R^6$  es  $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ .

En un 50° aspecto de la primera realización la al menos una polimixina está representada por la estructura como se muestran en la figura 1, figura 2, figura 3, figura 5, figura 7 o figura 8.

30 En un 51° aspecto de la primera realización, la composición comprende polimixinas representadas por las estructuras como se muestran en la figura 9 o figura 10.

35 Las polimixinas son decapeptidos antibióticos que contienen un anillo heptapeptídico y un ácido graso acoplado a amida N-terminal. Varias polimixinas son producidas naturalmente por *Bacillus polymyxa*. La estructura y la historia de las polimixinas son conocidas y se describen, por ejemplo, por Velkov et al. J. Med. Chem. (2010) 53(5): 1898-1916.

40 Las polimixinas como se describen en este documento abarcan muchas especies moleculares con respecto al número de sustituyentes y sus posiciones. Por ejemplo, en soluciones acuosas, la carga dependerá del pH. Los compuestos de polimixinas, como se describen en este documento, cubren todas las sales farmacéuticamente aceptables e iones de los mismos. Entre tales polimixinas se encuentran por supuesto las sales de hexa-, octa- y deca-sodio. Otras sales farmacéuticamente aceptables también se incluyen, por ejemplo, sales de potasio, litio y amonio (tales como  $\text{H}_m\text{N}(\text{alquilo } \text{C}_{1-4})_n^+$  donde m es 0-4 y n es 0-4 con la condición de que  $m+n=4$ ), o combinaciones de los mismos.

Las polimixinas, como se describen en este documento, comprenden cualquier compuesto de polimixina que tenga 6-10 grupos sulfometilo unidos a grupos  $\gamma$ -amino en los residuos de DAB.

- 5 La numeración de residuos en polimixinas está de acuerdo con Velkov et al, véase, por ejemplo, la figura 4. En las polimixinas de origen natural, el ácido graso se une al residuo 1 de aminoácido N-terminal y el residuo de aminoácido (10) forma una estructura de variables con residuos de aminoácidos (4). En otras palabras, el grupo acilo graso (tal como el 6-metil-heptanoico o el ácido 6-metil-octanoico) está acoplado con amida al residuo de L-DAB (1) y el residuo treonina (10) está acoplado con amida al residuo L-DAB (4) en algunas polimixinas de origen natural.
- 10 La única diferencia en la estructura entre la polimixina B y la polimixina E (colistina) radica en los componentes aminoácidos. Las polimixinas contienen principalmente L-aminoácidos dispuestos como un anillo de heptapéptido cíclico con una cadena lateral de tripéptido, con la cadena lateral unida covalentemente a un ácido graso. (Véase, por ejemplo, la figura 4). La diferencia entre la polimixina B y la polimixina E está en el residuo 6. En la polimixina B, el residuo (6) es la D-fenilalanina y en la polimixina E, el residuo (6) es la D-leucina, conteniendo ambos L-leucina en el residuo (7).
- 15 Se apreciará que las designaciones estereoquímicas identificadas en la figura 4 no pretenden limitar las posibles designaciones estereoquímicas de los estereocentros basados en carbono que están presentes en la al menos una polimixina o una sal de la misma representada por la fórmula (I).

Tabla 2: Ejemplos de polimixinas sulfometiladas

Polimixinas sulfometiladas	Abr.	FA	Dab 1 (N $\gamma$ )	Dab 3 (N $\gamma$ )	Dab 5 (N $\gamma$ )	X 6	Y 7	Dab 8 (N $\gamma$ )	Dab 9 (N $\gamma$ )
penta (N $\gamma$ -bis-sulfometil) DAB <sup>1,3,5,8,9</sup> polimixina E1	PE1-(SM) <sub>10</sub> <sup>1,3,5,8,9</sup>	6-MOA	2SM	2SM	2SM	Leu	Leu	2SM	2SM
penta (N $\gamma$ -bis-sulfometil) DAB <sup>1,3,5,8,9</sup> polimixina E2	PE2-(SM) <sub>10</sub> <sup>1,3,5,8,9</sup>	6-MHA	2SM	2SM	2SM	Leu	Leu	2SM	2SM
penta (N $\gamma$ -bis-sulfometil) DAB <sup>1,3,5,8,9</sup> polimixina E1-i	PE1-i-(SM) <sub>10</sub> <sup>1,3,5,8,9</sup>	6-MOA	2SM	2SM	2SM	Leu	Ile	2SM	2SM
penta (N $\gamma$ -bis-sulfometil) DAB <sup>1,3,5,8,9</sup> colistina	PE-(SM) <sub>10</sub> <sup>1,3,5,8,9</sup>	6-MOA/ 6-MHA/ 6-OCT	2SM	2SM	2SM	Leu	Leu/Ile	2SM	2SM
penta (N $\gamma$ -bis-sulfometil) DAB <sup>1,3,5,8,9</sup> polimixina B	PB-(SM) <sub>10</sub> <sup>1,3,5,8,9</sup>	6-MOA/ 6-MHA/ 6-OCT	2SM	2SM	2SM	Phe	Leu	2SM	2SM
tetra (N $\gamma$ -bis-sulfometil) DAB <sup>1,5,8,9</sup> polimixina E1	PE1-(SM) <sub>8</sub> <sup>1,5,8,9</sup>	6-MOA	2SM	2H	2SM	Leu	Leu	2SM	2SM
tri (N $\gamma$ -bis-sulfometil) DAB <sup>1,5,9</sup> polimixina E1	PE1-(SM) <sub>6</sub> <sup>1,5,9</sup>	6-MOA	2SM	2H	2SM	Leu	Leu	2H	2SM

(FA = acilo graso, 6-MOA = 6-metiloctanoílo, 6-MHA = 6-metilheptanoílo, 6-OCT = octanoílo, 2SM = bis-sulfometilo, Leu = residuo leucina, Ile = residuo isoleucina, Phe = residuo fenilalanina, DAB1 = residuo DAB número 1, etc.)

- 20 Muchas de las polimixinas de origen natural comprenden 6-metil-heptanoico o el ácido 6-metil-octanoico acoplado al péptido por un enlace amida. Numerosas polimixinas con ácidos grasos naturales intercambiados con ácidos grasos sintéticos se han producido en la técnica anterior. Las polimixinas de la presente invención están también diseñadas para abarcar tales polimixinas semisintéticas si de otro modo cumplen las características de las reivindicaciones. Por
- 25 ejemplo, muchas polimixinas semisintéticas se describen en la bibliografía, véase, por ejemplo, Magee et al. J. Med. Chem. (2013) 56: 5079-5093.

El término "CMS" como se describe en el presente documento se refiere a una composición que comprende polimixina E1 sulfometilada y polimixina E2 sulfometilada. Los resúmenes químicos han asignado a dicha composición el número 8068-28-8 para CMS.

5 El término "colistina" como se describe en este documento se refiere a una composición que comprende polimixina E1 y polimixina E2. Los resúmenes químicos han asignado el número 1066-17-7 para la colistina. De acuerdo con la farmacopea EP, la colistina debe comprender más del 77% de polimixina E1, E2, E3, E1-i y E1-7MOA, pero menos del 10% de cada uno de los componentes menores polimixina E3, E1-i y E1-MOA.

El término "polimixina E" como se describe en este documento se usa indistintamente con "colistina".

10 El término "polimixina E1" como se describe en este documento se refiere al compuesto que tiene el CAS no 7722-44-3. La polimixina E1 se usa indistintamente con la colistina A.

El término "polimixina E2" como se describe en este documento se refiere al compuesto que tiene el CAS no 7239-48-7. La polimixina E2 se usa indistintamente con la colistina B.

La expresión "polimixina sulfometilada" como se describe en este documento se refiere a una polimixina que comprende al menos un grupo sulfometilo unido a un grupo  $\gamma$ -amino en un residuo de L-DAB.

15 Ciertos derivados de polimixina abarcados por la al menos una polimixina o una sal de la misma representada por la fórmula (I) incluyen la al menos una polimixina o una sal de la misma que comprende 6-10 grupos sulfometilo unidos a grupos  $\gamma$ -amino en residuos de L-DAB o los grupos  $\gamma$ -amino en residuos de L-DAP, como se describe en el documento WO 2012/168820, que corresponde al documento US 2012/0316105. En este caso, los compuestos no contienen 6-10 grupos sulfometilo. Un ejemplo de la al menos una polimixina o una sal de la misma representada por la fórmula (I) incluye el compuesto que tiene la siguiente estructura:

20

Una segunda realización está dirigida a una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de cualquiera de las composiciones descritas en los numerosos aspectos de la primera realización.

25 En un primer aspecto de la segunda realización, la composición farmacéutica comprende además un excipiente farmacéuticamente aceptable. El excipiente farmacéuticamente aceptable puede incluir un conservante, una solución reguladora, un antioxidante o un diluyente. Los diluyentes apropiados incluyen, pero no se limitan a diluyentes: agua para inyección, NaCl al 0.9%, dextrosa al 5% en NaCl al 0.9%, dextrosa al 5% en agua, dextrosa al 5% en NaCl al 0.45%, dextrosa al 5% en NaCl al 0.225%, y solución de Ringer con lactato.

30 La composición farmacéutica puede ser un producto liofilizado capaz de ser reconstituido usando un diluyente apropiado para administración por una vía inyectable (por ejemplo, administración ya sea parenteral o intravenosa) o por inhalación usando, por ejemplo, un nebulizador u otro dispositivo de inhalación de este tipo.

35 El término "cantidad eficaz" como se usa en este documento significa una cantidad requerida para reducir los síntomas de una infección bacteriana, tal como una infección bacteriana gramnegativa, tal como, por ejemplo, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, etc. en un sujeto. La dosis se ajustará a las necesidades individuales en cada caso particular. Dicha dosificación puede variar dentro de amplios límites dependiendo de numerosos factores tales como la gravedad de la enfermedad que se va a tratar, la edad y estado general de salud del paciente, otros medicamentos con los que el paciente está siendo tratado, la ruta y forma de administración y la preferencia y experiencia del médico involucrado.

40 Una tercera realización está dirigida a un uso de una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de cualquiera de las composiciones descritas en los numerosos aspectos de la primera realización en el tratamiento de una infección bacteriana gramnegativa.

En un primer aspecto de la tercera realización, el uso es el mismo para productos farmacéuticos de polimixina comercialmente disponibles, tales como, por ejemplo, Colistimetato para inyección, USP.

45 En un segundo aspecto de la tercera realización, el uso es para el tratamiento de infecciones causadas o mediadas por *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, o una combinación de las mismas.

Una cuarta realización está dirigida a un método de tratamiento de una infección bacteriana gramnegativa en un paciente infectado, que comprende administrar al paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de cualquiera de las composiciones descritas en los numerosos aspectos de la primera realización.

50 En un primer aspecto de la cuarta realización, el método de tratamiento es sustancialmente el mismo que el uso indicado para productos farmacéuticos de polimixina comercialmente disponibles, tales como, por ejemplo, Colistimetato para inyección, USP.

En un segundo aspecto de la cuarta realización, la infección bacteriana gramnegativa es causada o mediada por *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, o una combinación de las mismas.

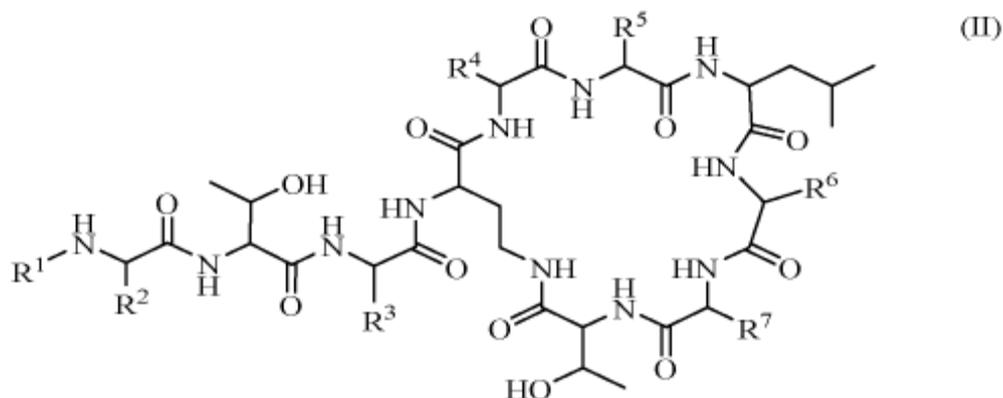
- 5 Una quinta realización se refiere a un método para tratar una infección bacteriana gramnegativa en un paciente infectado, que comprende administrar al paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de una cualquiera de las composiciones descritas en los numerosos aspectos de la primera realización en combinación con otro agente antibacteriano.

En un primer aspecto de la quinta realización, la administración de la composición farmacéutica y otro agente antibacteriano se lleva a cabo concurrentemente o alternativamente sin orden particular de administración temporal.

- 10 En un segundo aspecto de la quinta realización, la infección bacteriana gramnegativa es causada o mediada por *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, o una combinación de las mismas.

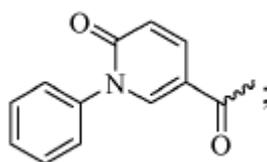
Una sexta realización se refiere a un procedimiento de preparación de una cualquiera de las composiciones descritas en los numerosos aspectos de la primera realización, que comprende:

- 15 hacer reaccionar un compuesto o una sal del mismo para la fórmula II con un reactivo de metilsulfonación



en la que

R<sup>1</sup> es un grupo acilo C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub> lineal o ramificado alifático, o



- 20 R<sup>5</sup> es -CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, o -CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>;

R<sup>6</sup> es -CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, o -CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>;

cada uno de R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> es -(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>; y

en la que x es 0 o 1.

- 25 Una séptima realización está dirigida a un producto obtenido por un procedimiento como se describe en la quinta realización.

Materiales y métodos

Cromatografía líquida de ultra alta resolución (UHPLC):

- 30 El método UHPLC utilizado fue un sistema Waters Acquity equipado con un sistema de bomba cuaternaria con un detector UV. La columna utilizada fue una Waters Acquity UPLC CSH C18, 1.7 μm, 150 x 2.1 mm, mantenida a 30°C. Todos los cromatogramas se registraron usando Empower 2. La velocidad de flujo fue de 0.30 mL/min y el volumen de inyección fue de 2 μL. Las fases móviles consistieron en; A) solución reguladora de fosfato 0.05 M pH

6.5 y acetonitrilo (MeCN) en una proporción 95:5 v/v B) solución reguladora de fosfato 0.05 M pH 6.5 y MeCN en una proporción de 50:50 v/v. Todos los solventes y productos químicos eran de calidad analítica y se filtraron a través de un filtro de 0.2 µm antes de su uso. El gradiente utilizado fue; Inicial, 20% de B; 0-10 min, lineal a 32% de B; 10-35 min, lineal a 47% de B; 35-36 min, lineal hasta 20% de B; 36 min-44 min, 20% de B. Todos los cromatogramas se registraron a 210 nm. Todos los solventes y productos químicos se adquirieron de Merck, Alemania, eran de calidad analítica o proanálisis (PA).

#### Preparación de la solución de muestra de ensayo para UHPLC y MS

Las muestras se prepararon disolviendo el patrón de trabajo de CMS en agua, seguido directamente por dilución con metanol (MeOH) de manera que la concentración final de las muestras fuese de 2 mg/mL y el contenido de agua fuera de 5%. Esto aumenta la estabilidad de la muestra disminuyendo la hidrólisis de los compuestos sulfometilados. La identificación de los componentes individuales se realizó disolviendo el componente aislado en metanol puro a una concentración de aproximadamente 1 mg/mL. Todas las muestras se almacenaron en la nevera o en un muestreador automático a 2-8°C antes de su uso.

#### Espectrometría de masas (MS)

Todas las muestras se analizaron mediante un espectrómetro de masas de tiempo de vuelo de infusión por electroaspersión (ESI-TOF MS) (Bruker microTOF) en modo negativo. Las muestras se disolvieron en metanol hasta una concentración de 0.5 mg/mL y se pusieron en un baño de ultrasonidos durante 30 min. Las muestras se infundieron a una velocidad de flujo de 250 µL/hora durante aproximadamente 30 segundos. Las configuraciones de MS fueron; Desplazamiento de la placa final-500 V, Capilar 3500 V, Nebulizador 3,0 Bar, Gas seco, 4.0 mL/min a 250°C, Salida capilar variada de -80 V a 120 V con un valor general de -100.0 V, Skimmer 1-33.3 V, Hexapole 1 - 23.5 V, Hexapole RF 300.0 Vpp, Skimmer 2 -223.5 V. La salida capilar afecta significativamente la fragmentación de los componentes. Por lo tanto, era necesaria la optimización de este parámetro para los componentes individuales. Todavía se observó alguna fragmentación para algunos de los compuestos. Debido a la presencia de sales misc., en la descomposición de la fuente, y otros componentes, los espectros MS no son puros y pueden contener señales adicionales. Sin embargo, dado que cada componente se aisló como monocomponente (verificado por UHPLC) se esperaba que la masa más alta posible fuera la molécula intacta y todas las demás masas con masa más baja fueran fragmentos. Esto también se verificó variando la energía de salida capilar.

RMN: Los experimentos se obtuvieron usando un espectrómetro Bruker de 600 MHz bajo secuencias de pulso estándar para experimentos de RMN 1D y 2D. Los datos se registraron en CD<sub>3</sub>OH a 298 K. Los cambios químicos se reportaron en ppm respecto a CHD<sub>2</sub>OH (δ<sub>H</sub> 3.30 ppm) y CD<sub>3</sub>OH (δ<sub>C</sub> 49.0 ppm). Se adquirieron los siguientes experimentos de RMN: <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, DEPT, COSY, HMBC, HSQC, TOCSY y NOESY. Los desplazamientos químicos <sup>15</sup>N se referenciaron usando relaciones de frecuencia como se describe por Wishart et al. J. Biomol. NMR (1995) 6: 135-140).

#### Ejemplos

A no ser limitados a modo de ejemplo, los siguientes ejemplos sirven para facilitar una mejor comprensión del objeto descrito en este documento.

#### Ejemplo 1

Preparación de penta (N<sup>7</sup>-bis-sulfometil) DAB<sup>1,3,5,8,9</sup> polimixina E1 (PE1-(SM)<sub>10</sub><sup>1,3,5,8,9</sup> (figura 1))

Se mezclaron sulfato de polimixina E1 aislado (3.5 g) y una solución acuosa al 45% p/p de aducto de formaldehído-bisulfito de sodio (11.3 g) y se calentó a 60°C con agitación. El pH se mantuvo entonces a 7.0-7.5 mediante varias adiciones de NaOH 2 M. Después de 18 h la mezcla se enfrió a temperatura ambiente y el producto en bruto se proporcionó como un sólido de color blanco por precipitación en 200 mL de metanol/acetonitrilo 1/1 v/v.

El producto fue desalado y se refinó mediante el siguiente procedimiento: Una columna C18 de 6 µ, por ejemplo, Phenomenex X Bridge Prep Shield 10 x 250 mm o similar fue lavada y equilibrada con MeCN al 5% (sin sal). La columna se montó en un sistema de HPLC Waters Delta Prep, flujo máximo de 150 mL/min. El detector era un Waters 2487 ajustado a 280 nm. Una mezcla de 9 mL de solución de MeCN al 5% de 230 mg de PE1-(SM)<sub>10</sub><sup>1,3,5,8,9</sup> y 1 mL de NaCl 2M se cargó en la columna y el flujo fue de 6-8 mL/min.

Eluir y desalar con MeCN al 5% con 6-8 mL/min y recoger la fracción de PE1-(SM)<sub>10</sub><sup>1,3,5,8,9</sup>. Se produjo cierta degradación en la columna durante el procedimiento, pero cortando la cabeza y la cola, se mantendrá la alta pureza. La fracción de cabeza, aprox. 35 mL, se recogió directamente en 450 mL de MeCN al 100% y se adicionaron 550 mL más de MeCN al 100% antes de la evaporación al vacío de la solución MeCN:H<sub>2</sub>O 97:3 en un matraz de evaporación en forma de pera de 2 L. El procedimiento de destilación se realizó con un rotavapor Büchi. El azeotropo 94:6 se destila fabricando un residuo de PE1-(SM)<sub>10</sub><sup>1,3,5,8,9</sup> libre de agua en el matraz de destilación al vacío de 2 L. El residuo se retiró con 3 x 8 mL de MeOH al 100% (seco) y se vertió en un matraz de evaporación al vacío de 50 mL y se evaporó a vacío a 1-2 mL de suspensión de MeOH-PE1-(SM)<sub>10</sub><sup>1,3,5,8,9</sup>. Se adicionaron 15 mL de

MeCN al 100% y la solución/suspensión se evaporó a vacío adicionalmente a sequedad con una temperatura del baño de agua de 35°C. La presión disminuyó de 70-60 Torr a 20-15 Torr durante el procedimiento. Se realizó un secado al vacío adicional durante 30 minutos con rotación lenta en el baño de agua a 35°C con vacío sostenido. El rendimiento fue de 150 mg de sustancia del PE1-(SM)<sub>10</sub><sup>1,3,5,8,9</sup>. Se realizaron varias ejecuciones para dar 990 mg de lote con una pureza cromatográfica relativa superior al 90%.

La UHPLC con gradiente en fase reversa (CSH C18, 1.7 µm, 150 x 2.1 mm) mostró un único pico, con PE1-(SM)<sub>10</sub><sup>1,3,5,8,9</sup>, C<sub>63</sub>H<sub>110</sub>N<sub>16</sub>Na<sub>10</sub>O<sub>43</sub>S<sub>10</sub>. La pureza fue de 93% cuando se controló el eluyente de la columna a 210 nm, véase la figura 6. El análisis se realizó también mediante infusión directa de componente aislado usando ESI-TOF MS (modo negativo): calc. m/z para C<sub>63</sub>H<sub>110</sub>N<sub>16</sub>Na<sub>10</sub>O<sub>43</sub>S<sub>10</sub> [M] = 2328.3. Encontrado [M+8 Na]<sup>2-</sup>: m/z 1141.2 y [M+7Na]<sup>3-</sup> m/z 753.1. El producto se determinó por espectroscopía RMN <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C, y <sup>15</sup>N (datos no mostrados).

#### Ejemplo 2

Preparación de penta (N<sup>γ</sup>-bis-sulfometil) DAB<sup>1,3,5,8,9</sup> polimixina E2 (PE2-(SM)<sub>10</sub><sup>1,3,5,8,9</sup> (figura 7))

Se mezclaron sulfato de polimixina E2 (3.5 g) y una solución acuosa al 45% p/p de aducto de formaldehído-bisulfato de sodio (11.3 g) y se calentó a 60°C con agitación. El pH se mantuvo a continuación entre 7.0-7.5 mediante varias adiciones de NaOH 2M. Después de 18 h la mezcla se enfrió a temperatura ambiente y el producto en bruto se proporcionó como un sólido de color blanco por precipitación en 200 mL de metanol/acetonitrilo 1/1 v/v. El producto se desaló adicionalmente y se refinó como se describe en el ejemplo 1.

La UHPLC con gradiente en fase reversa (CSH C18, 1.7 µm, 150 x 2.1 mm) mostró un único pico, con PE2-(SM)<sub>10</sub><sup>1,3,5,8,9</sup>, C<sub>62</sub>H<sub>108</sub>N<sub>16</sub>Na<sub>10</sub>O<sub>43</sub>S<sub>10</sub>. La pureza fue del 81 % cuando se controló el eluyente de la columna a 210 nm. El análisis también se realizó mediante infusión directa de componente aislado usando ESI-TOF MS (modo negativo): calc. m/z para C<sub>62</sub>H<sub>108</sub>N<sub>16</sub>Na<sub>10</sub>O<sub>43</sub>S<sub>10</sub> [M] = 2314.5. Encontrado [M+8 Na]<sup>2-</sup>: m/z 1135.2 y [M+7Na]<sup>3-</sup>: m/z 748.5. El producto se determinó por espectroscopía de RMN.

#### Ejemplo 3

Preparación de penta (N<sup>γ</sup>-bis-sulfometil) DAB<sup>1,3,5,8,9</sup> polimixina E1-i (PE1-i-(SM)<sub>10</sub><sup>1,3,5,8,9</sup> (figura 8))

Se mezclaron sulfato de polimixina E1-i (3.5 g) y una solución acuosa al 45% p/p de aducto de formaldehído-bisulfato de sodio (11.3 g) y se calentó a 60°C con agitación. El pH se mantuvo a continuación entre 7.0-7.5 mediante varias adiciones de NaOH 2M. Después de 18 h la mezcla se enfrió a temperatura ambiente y el producto en bruto se proporcionó como un sólido de color blanco por precipitación en 200 mL de metanol/acetonitrilo 1/1 v/v. El producto se desaló adicionalmente y se refinó como se describe en el ejemplo 1.

La UHPLC con gradiente en fase reversa (CSH C18, 1.7 µm, 150 x 2.1 mm) mostró un único pico, con PE1-i-(SM)<sub>10</sub>, C<sub>63</sub>H<sub>110</sub>N<sub>16</sub>Na<sub>10</sub>O<sub>43</sub>S<sub>10</sub>. La pureza fue del 95% cuando se controló el eluyente de la columna a 210 nm. El análisis también se realizó por infusión directa del componente aislado usando ESI-TOF MS (modo negativo): Encontrado [M+8 Na]<sup>2-</sup>: m/z 1141.2 y [M+7Na]<sup>3-</sup>: m/z 753.1.

#### Ejemplo 4

Preparación de penta (N<sup>γ</sup>-bis-sulfometil) DAB<sup>1,3,5,8,9</sup> polimixina E (PE-(SM)<sub>10</sub><sup>1,3,5,8,9</sup> (figura 9))

La mezcla de sulfato de colistina (3.5 g) y una solución acuosa al 45% p/p de aducto de formaldehído-bisulfato de sodio (11.3 g) y se calentaron a 60°C con agitación. El pH se mantuvo a continuación entre 7.0-7.5 mediante varias adiciones de NaOH 2M. Después de 18 h la mezcla se enfrió a temperatura ambiente y el producto en bruto se proporcionó como un sólido de color blanco por precipitación en 200 mL de metanol/acetonitrilo 1/1 v/v. Los productos; El PE-(SM)<sub>10</sub><sup>1,3,5,8,9</sup> (figura 9) se desaló adicionalmente y se refinó como se describe en el ejemplo 1.

La UHPLC con gradiente en fase reversa (CSH C18, 1.7 µm, 150 x 2.1 mm) mostró un único pico para cada componente principal de polimixinas, abreviado PE-(SM)<sub>10</sub><sup>1,3,5,8,9</sup>. La pureza relativa total de los 5 principales picos de polimixina fue del 83% cuando se controló el eluyente de la columna a 210 nm. El análisis también se realizó por infusión directa de la mezcla de PE-(SM)<sub>10</sub><sup>1,3,5,8,9</sup> usando ESI-TOF MS en modo negativo calculado para los componentes principales calc. m/z para E1: C<sub>63</sub>H<sub>110</sub>N<sub>16</sub>Na<sub>10</sub>O<sub>43</sub>S<sub>10</sub> [M] = 2328.3 y m/z para E2: C<sub>62</sub>H<sub>108</sub>N<sub>16</sub>Na<sub>10</sub>O<sub>43</sub>S<sub>10</sub> [M] = 2314.5. Encontrado [M+8 Na]<sup>2-</sup>: m/z 1141.2 + 1135.1 y [M+7Na]<sup>3-</sup>: m/z 748.5 y 753.1, respectivamente.

#### Ejemplo 5

Preparación de penta (N<sup>γ</sup>-bis-sulfometil) DAB<sup>1,3,5,8,9</sup> polimixina B (P<sub>B</sub>-(SM)<sub>10</sub><sup>1,3,5,8,9</sup> (figura 10))

Se mezclaron sulfato de polimixina B (3.5 g) y una solución acuosa al 45% p/p de aducto de formaldehído-bisulfato de sodio (11.3 g) y se calentó a 60°C con agitación. A continuación, el pH se mantuvo entre 7.0-7.5 mediante varias adiciones de NaOH 2M. Después de 18 h la mezcla se enfrió a temperatura ambiente y el producto en bruto se proporcionó como un sólido de color blanco por precipitación en 200 mL de metanol/acetonitrilo 1/1 v/v. Los

productos; PB-(SM)<sub>10</sub><sup>1,3,5,8,9</sup> (figura 10.) se desalaron adicionalmente y se refinaron como se describe en el ejemplo 1.

5 La UHPLC con gradiente en fase reversa (CSH C18, 1.7 μm, 150 x 2.1 mm) mostró el PB-(SM)<sub>10</sub><sup>1,3,5,8,9</sup>. El análisis también se realizó por infusión directa de la mezcla PMB-(SM)<sub>10</sub><sup>1,3,5,8,9</sup> usando ESI-TOF MS (modo negativo) calculado para los componentes principales calc. m/z para B1: C<sub>66</sub>H<sub>108</sub>N<sub>16</sub>Na<sub>10</sub>O<sub>43</sub>S<sub>10</sub> [M] = 2362.3 y m/z para B2: C<sub>65</sub>H<sub>106</sub>N<sub>16</sub>Na<sub>10</sub>O<sub>43</sub>S<sub>10</sub> [M] = 2348.3. Encontrado M-2: m/z 1158.2 + 1151.2, y M<sup>3</sup> m/z 764.4 y 759.8 como componentes principales (mezcla de componentes de polimixina B para cada masa encontrada).

Ejemplo 6

10 Actividad antibacteriana de polimixinas decasulfometiladas contra *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*.

15 Las polimixinas decasulfometiladas se ensayaron para determinar la actividad antibacteriana determinando la concentración inhibitoria mínima (MIC) mediante el uso del método de dilución en caldo según EUCAST. 4 se utilizaron, 4 organismos indicadores bacterianos, por ejemplo, *Acinetobacter baumannii* colistina-sensitiva, *Klebsiella pneumonia* #3010, *Pseudomonas aeruginosa*, ATCC27853, *Escherichia coli* ATCC25922 y *Escherichia coli* DSA443. Las pruebas se realizaron en, Statens Serum Institut, Copenhagen, Denmark department for Microbiology and Infection Control.

20 El intervalo de concentración utilizado fue 0.125-128 μg/mL. La gentamicina se incluyó como un control de calidad positivo. Preparación de gentamicina: Solución madre 1000 μg/mL: 0.125 mL de una solución de 40 mg/mL de Hexamicina + 4.875 mL de agua estéril. 128 μg/mL: 0,640 mL de "solución madre 1000 μg/mL" + 4.36 mL de caldo Müeller - Hinton (MHB).

Preparación de los compuestos descritos en este documento: solución madre de 5 mg/mL: a un vial de 5 mg se le adicionó 1.0 mL de agua estéril. Solución de 512 μg/mL: 0.205 mL de "solución madre de 5 mg/mL" + 1.795 mL de MHB

25 Preparación del inóculo: Se suspendieron colonias frescas durante la noche a partir de placas de agar de sangre de caballo al 5% a una turbidez de 0.5 McFarland y se diluyó adicionalmente en caldo Müeller-Hinton a 1x10<sup>6</sup> CFU/mL. Se adicionó un total de 50 μL de suspensión bacteriana diluida (caldo Müeller Hinton BBL II, SSI) a pozos que contenían 50 μL de compuestos de dos veces descritos en este documento o diluciones de gentamicina. Todos los compuestos se ensayaron por triplicado. Las placas se incubaron a 35°C, 16-20 h.

30 Los resultados se muestran en la tabla 3. La MIC para la gentamicina de control positivo estaba dentro del límite para *P. aeruginosa* ATCC27853 (0.5-2 μg/mL) y *E. coli* ATCC 25922 (0.25-1 μg/mL) que indica un procedimiento correcto.

35 Para todas las cepas, la sustancia de control CMS tenía valores de MIC más bajos que las polimixinas decasulfometiladas, excepto para la cepa *A. baumannii* colistina sensitiva donde 3 de 5 polimixinas decasulfometiladas mostraron actividad comparable al control CMS. Los datos de MIC muestran actividad antimicrobiana para todas las sustancias de polimixinas decasulfometiladas, pero en general con menor actividad en comparación con el control de CMS.

Tabla 3. Resultados de MIC (μg/mL) para polimixinas decasulfometiladas

Cepa bacteriana	<i>E. coli</i>		<i>P. aeruginosa</i>	<i>A. baumannii</i>	<i>K. pneumonia</i>
	ATCC 25922	DSA 443	ATCC 27853	ColistinS	#3010
1 (PE1-(SM) <sub>10</sub> <sup>1,3,5,8,9</sup> )	8	16	8	4	16
2 (PE2-(SM) <sub>10</sub> <sup>1,3,5,8,9</sup> )	8	16	8	4	16
3 (PE1- <i>i</i> -(SM) <sub>10</sub> <sup>1,3,5,8,9</sup> )	8	16	8	4	16
4 (PE-(SM) <sub>10</sub> <sup>1,3,5,8,9</sup> )	8	16	8	8	16
5 (PB-(SM) <sub>10</sub> <sup>1,3,5,8,9</sup> )	16	16	8	8	16
CMS	2	4	4	4	4
Gentamicina	1	>32	1	>32	0.125

Ejemplo 7

Preparación de tetra (N<sup>γ</sup>-bis-sulfometil) DAB<sup>1,5,8,9</sup> polimixina E1 (PE1-(SM)<sub>8</sub><sup>1,5,8,9</sup> (figura 2))

Se disolvió el aducto de bisulfito de sodio-formaldehído (9.80 g, 68.5 mmol) en agua (100 mL) y se adicionó HCl al 37% (1.75 g, 17.7 mmol). A continuación, se adicionó lentamente polimixina E1 (11.7 g, 10.0 mmol) a la solución agitada. La dispersión resultante se calentó luego a 40°C, durante 10 h y posteriormente se liofilizó en un sólido de color blanco.

Se disolvieron 400 mg de la polimixina E1 sulfometilada en 20 mL de metanol al 50% y se cargó una Waters Nova Pak C18 de 6 μm, 60 Å, 40 x 310 mm montada en una Waters Prep LC Universal Base a un flujo de 20 mL/min. La columna se equilibró con el eluyente A antes de la aplicación de la solución de la sustancia.

El eluyente A fue CH<sub>3</sub>CN: Solución reguladora Trietilamina 10 mM NaCl 40 mM, 1:9

El eluyente B fue CH<sub>3</sub>CN: Solución reguladora Trietilamina 10 mM NaCl 40 mM, 4:6

El sistema de elución fue isocrático 0-5 min, 100% de eluyente A y durante 20 min 100% de A a 50% de A como gradiente lineal.

Se recogieron y analizaron los primeros 5 picos principales. El primer pico principal a la RT 12 min fue PE1-(SM)<sub>8</sub><sup>1,5,8,9</sup>. Las fracciones se almacenaron en un congelador a -80°C antes de continuar el tratamiento. Las fracciones de 50-100 mL de fusión rápida, aun frías, con PE1-(SM)<sub>8</sub><sup>1,5,8,9</sup> (figura 11) se diluyeron con CH<sub>3</sub>CN al 100% para dar aprox. 4% de agua en CH<sub>3</sub>CN. Las fracciones diluidas que contenían 15-30 mg de PE1-(SM)<sub>8</sub> con 75-85% de pureza, se evaporaron al vacío hasta sequedad y se volvieron a disolver en metanol al 100% y se recogieron en el congelador a -20°C para dar 150-300 mg de sustancia.

Las sustancias fueron procesadas nuevamente por HPLC preparativa de la misma manera que se ha descrito anteriormente y finalmente fueron desaladas y refinadas como en el ejemplo 1. El producto se determinó mediante espectroscopia de RMN de <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C y <sup>15</sup>N

La UHPLC con gradiente en fase reversa (CSH C18, 1.7 μm, 150 x 2.1 mm) del PE1-(SM)<sub>8</sub><sup>1,5,8,9</sup> purificado mostró un único pico, con polimixinas octasulfometiladas. La pureza del PE1-(SM)<sub>8</sub><sup>1,5,8,9</sup> fue de 94% cuando se controló el eluyente de la columna a 210 nm. El análisis también se realizó por infusión directa de la mezcla de colistina hexa y octasulfonada usando ESI-TOF MS (modo negativo): calc. m/z para C<sub>61</sub>H<sub>108</sub>N<sub>16</sub>Na<sub>8</sub>O<sub>37</sub>S<sub>8</sub> [M] = 2096.4 Encontrado para el PE1-(SM)<sub>8</sub><sup>1,5,8,9</sup> [M+8Na]<sup>2+</sup> m/z 1025.2, y [M+7Na]<sup>3+</sup> m/z 675.8.

Tabla 4. Resultados de MIC (μg/ml) para polimixina E1 octa sulfometiladas

<b>Cepa Bacteriana</b>	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC27853	<i>A. baumannii</i>	<i>K. pneumonia</i>
<b>PE1-(SM)<sub>8</sub><sup>1,5,8,9</sup></b>	8	8	4	16

Ejemplo 8

Preparación de tri (N<sup>γ</sup>-bis-sulfometil) DAB<sup>1,5,9</sup> polimixina E1 (Abreviado: PE1-(SM)<sub>6</sub><sup>1,5,9</sup> (figura 3))

Se disolvió el aducto de bisulfito de sodio-formaldehído (9.80 g, 68.5 milimol) en agua (100 mL) y se adicionó HCl al 37% (1.75 g, 17.7 mmol). A continuación, se adicionó lentamente polimixina E1 (11.7 g, 10.0 mmol) a la solución agitada. La dispersión resultante se calentó después a 40°C, durante 10 h y posteriormente se liofilizó en un sólido de color blanco.

Se disolvieron 400 mg de la polimixina E1 sulfometilada en 20 mL de metanol al 50% y se cargó una Waters Nova Pak C18 de 6 μm, 60 Å, 40 x 310 mm montada en una Base Universal Waters Prep LC a un flujo de 20 mL/min. La columna se equilibró con el eluyente A antes de la aplicación de la solución de la sustancia.

El eluyente A fue CH<sub>3</sub>CN: Solución reguladora Trietilamina 10 mM NaCl 40 mM, 1:9

El eluyente B fue CH<sub>3</sub>CN: Solución reguladora Trietilamina 10 mM NaCl 40 mM, 4:6

El sistema de elución fue isocrático 0-5 min 100% de eluyente A y durante 20 min 100% de A a 50% de A como gradiente lineal.

5 Se recogieron y analizaron los primeros 5 picos principales. El último pico principal a 22 min fueron PE1-(SM)<sub>6</sub><sup>1,5,9</sup> (figura 3). Las fracciones se almacenaron en un congelador a -80°C, antes de continuar el tratamiento. Las fracciones de 50-100 mL, aun frías, de fusión rápida, con PE1-(SM)<sub>6</sub><sup>1,5,9</sup> se diluyeron con CH<sub>3</sub>CN al 100% para dar aprox. 4% de agua en CH<sub>3</sub>CN. Las fracciones diluidas que contenían 15-30 mg de PE1-(SM)<sub>6</sub><sup>1,5,9</sup> con 75-85% de pureza, se evaporaron con vacío a sequedad y se volvieron a disolver en metanol al 100% y se recogieron en el congelador a -20°C para dar 150-300 mg de sustancia.

Las sustancias fueron procesadas nuevamente por HPLC preparativa de la misma manera que antes y finalmente desaladas y refinadas como en el ejemplo 1. El producto se determinó por espectroscopia de RMN.

10 La UHPLC con gradiente en fase reversa (CSH C18, 1.7 µm, 150 x 2.1 mm) mostró un único pico, con PE1-(SM)<sub>6</sub><sup>1,5,9</sup>. La pureza del PE1-(SM)<sub>6</sub><sup>1,5,9</sup> fue de 87% cuando se controló el eluyente de la columna a 210 nm. El análisis también se realizó por infusión directa de la polimixina E1 octa y hexasulfometilada usando ESI-TOF MS (modo negativo): calc. m/z para C<sub>59</sub>H<sub>106</sub>N<sub>16</sub>Na<sub>6</sub>O<sub>31</sub>S<sub>6</sub> [M] = 1864.5 Encontrado para PE1-(SM)<sub>6</sub><sup>1,5,9</sup> [M+8 Na]<sup>-2</sup> m/z 909.3 y [M+7Na]<sup>-3</sup> m/z 598.5

Tabla 5 Resultados de MIC (µg/mL) para polimixina E1 hexasulfometilada

<i>Cepa bacteriana</i>	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC27853
PE1-(SM) <sub>6</sub> <sup>1,5,9</sup>	8	8

15

#### Ejemplo 9

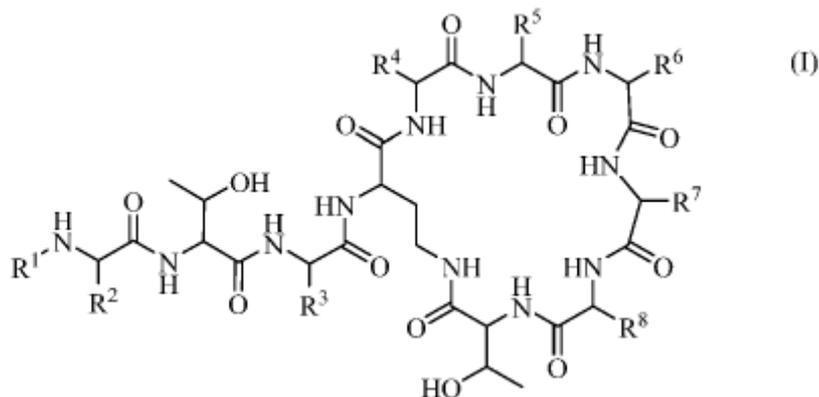
##### Estudios de toxicidad in vitro

20 Se sembraron células HK-2 (16 líneas celulares transformadas de virus del papiloma humano del tubo proximal de nefrón renal) en placas de 96 pozos y se cultivaron en medio libre de suero de queratinocitos con 0.05 mg/mL de extracto pituitario bovino y 5 ng/mL de EGF, durante 24 horas. Las células se trataron con los compuestos especificados en presencia de Sytox Green que penetra sólo en las membranas de las células dañadas.

25 La formación de imágenes en intervalos de tiempo se realizó con 1 imagen cada 2 horas mostrando el porcentaje de células citolizadas. Los resultados se visualizan en las figuras 11-15 e indican una diferencia entre la colistina y las polimixinas decasulfometiladas con respecto a la capacidad de lisar células HK-2 in vitro. La diferencia es evidente para cualquier concentración por encima de 100 µg/mL, y más prominente durante las primeras 24 horas del tratamiento.

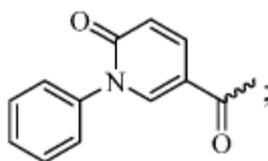
## REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende una polimixina o una sal de la misma representada por la fórmula (I)



en la que

5  $R^1$  es un grupo acilo  $C_6$ - $C_{10}$  lineal o ramificado alifático, o



$R^5$  es  $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ,  $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$ , o  $-\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ;

$R^6$  es  $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ , o  $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$ ;

$R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$  y  $R^8$  es  $(\text{CH}_2)_x\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{SO}_3\text{M})_2$ ;

10 en la que x es 0 o 1; y

en la que M es un catión monovalente.

2. La composición de la reivindicación 1, en la que

$R^1$  es heptanoílo, metilheptanoílo, octanoílo, metiloctanoílo, nonanoílo, metilnonanoílo o decilo.

3. La composición de la reivindicación 2, en la que

15  $R^1$  es heptanoílo, (S)-6-metilheptanoílo, (S)-7-metilheptanoílo, octanoílo, (S)-6-metiloctanoílo, nonanoílo, (S)-6-metilnonanoílo, (S)-7-metilnonanoílo, (S)-8-metilnonanoílo, o decanoílo.

4. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en la que M se selecciona del grupo que consiste en  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{H}_m\text{N}(\text{alquilo } C_{1-4})_{n+}$ , o combinaciones de los mismos, donde m es 0-4 y n es 0-4 con la condición de que  $m+n=4$ .

20 5. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en la que la polimixina o sal de la misma está presente en una cantidad de al menos 10% por UHPLC, al menos 20% por UHPLC, al menos 30% por UHPLC, al menos 40% por UHPLC, al menos 50% por UHPLC, al menos 60% por UHPLC, al menos 70% por UHPLC, al menos 80% por UHPLC, al menos 90% por UHPLC, al menos 95% por UHPLC, al menos 97% por UHPLC, al menos 98% por UHPLC, o al menos 99% por UHPLC.

25 6. La composición de la reivindicación 1, en la que x es 1 y M es  $\text{H}^+$ ,  $\text{Na}^+$  o  $\text{K}^+$ .

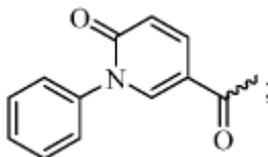
7. La composición de la reivindicación 6, en la que la polimixina o sal de la misma está presente en una cantidad de al menos 10% por UHPLC, al menos 20% por UHPLC, al menos 30% por UHPLC, al menos 40% por UHPLC, al menos 50% por UHPLC, al menos 60% por UHPLC, al menos 70% por UHPLC, al menos 80% por UHPLC, al menos 90% por UHPLC, al menos 95% por UHPLC, al menos 97% por UHPLC, al menos 98% por UHPLC, o al menos 99% por UHPLC.

30

8. La composición de la reivindicación 1, en la que la polimixina o sal de la misma representada por la fórmula (I) se selecciona de uno cualquiera de (A) a (H), en la que

(A) R<sup>1</sup> es 6-metiloctanoílo; cada uno de R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup>, y R<sup>8</sup> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>M)<sub>2</sub>; y cada uno de R<sup>5</sup> y R<sup>6</sup> es -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>;

5 (B) R<sup>1</sup> es



cada uno de R<sup>2</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup>, y R<sup>8</sup> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>M)<sub>2</sub>;

R<sup>3</sup> es

-CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>M)<sub>2</sub>; R<sup>5</sup> es -CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>; y R<sup>6</sup> es -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>;

10 (C) R<sup>1</sup> es 6-metilheptanoílo; cada uno de R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup>, y R<sup>8</sup> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>M)<sub>2</sub>; y cada uno de R<sup>5</sup> y R<sup>6</sup> es -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>;

(D) R<sup>1</sup> es 6-metiloctanoílo; cada uno de R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup>, y R<sup>8</sup> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>M)<sub>2</sub>;

R<sup>5</sup> es -CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>; y R<sup>6</sup> es -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>;

15 (E) R<sup>1</sup> es octanoílo; cada uno de R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup>, y R<sup>8</sup> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>M)<sub>2</sub>; y cada uno de R<sup>5</sup> y R<sup>6</sup> es -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>;

(F) R<sup>1</sup> es 7-metiloctanoílo; cada uno de R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup>, y R<sup>8</sup> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>M)<sub>2</sub>; y cada uno de R<sup>5</sup> y R<sup>6</sup> es -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>;

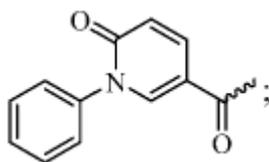
(G) R<sup>1</sup> es 6-metiloctanoílo; cada uno de R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup>, y R<sup>8</sup> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>M)<sub>2</sub>; R<sup>5</sup> es -CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>; y R<sup>6</sup> es -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>;

20 (H) R<sup>1</sup> es 6-metilheptanoílo; cada uno de R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup>, y R<sup>8</sup> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>M)<sub>2</sub>; R<sup>5</sup> es -CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>; y R<sup>6</sup> es -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>;

9. La composición de la reivindicación 1, en la que la polimixina o sal de la misma representada por la fórmula (I) se selecciona de uno cualquiera de (A) a (H), en la que

25 (A) R<sup>1</sup> es 6-metiloctanoílo; cada uno de R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup>, y R<sup>8</sup> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>Na)<sub>2</sub>; y cada uno de R<sup>5</sup> y R<sup>6</sup> es -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>;

(B) R<sup>1</sup> es



cada uno de R<sup>2</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup>, y R<sup>8</sup> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>Na)<sub>2</sub>;

R<sup>3</sup> es -CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>Na)<sub>2</sub>; R<sup>5</sup> es -CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>; y R<sup>6</sup> es -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>;

30 (C) R<sup>1</sup> es 6-metilheptanoílo; cada uno de R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup>, y R<sup>8</sup> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>Na)<sub>2</sub>; y cada uno de R<sup>5</sup> y R<sup>6</sup> es -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>;

(D) R<sup>1</sup> es 6-metiloctanoílo; cada uno de R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup>, y R<sup>8</sup> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>Na)<sub>2</sub>;

R<sup>5</sup> es -CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>; y R<sup>6</sup> es -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>;

(E) R<sup>1</sup> es octanoílo; cada uno de R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup>, y R<sup>8</sup> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>Na)<sub>2</sub>; y

cada uno de R<sup>5</sup> y R<sup>6</sup> es -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>;

(F) R<sup>1</sup> es 7-metiloctanoílo; cada uno de R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup>, y R<sup>8</sup> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>Na)<sub>2</sub>; y cada uno de R<sup>5</sup> y R<sup>6</sup> es -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>;

5 (G) R<sup>1</sup> es 6-metiloctanoílo; cada uno de R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup>, y R<sup>8</sup> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>Na)<sub>2</sub>; R<sup>5</sup> es -CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>; y R<sup>6</sup> es -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>;

(H) R<sup>1</sup> es 6-metilheptanoílo; cada uno de R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup>, y R<sup>8</sup> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>Na)<sub>2</sub>; R<sup>5</sup> es -CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>; y R<sup>6</sup> es -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>;

10. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de una cualquiera de las composiciones de las reivindicaciones 1- 9 y opcionalmente un excipiente farmacéuticamente aceptable.

10 11. La composición farmacéutica de la reivindicación 10 para uso en el tratamiento de una infección bacteriana gramnegativa.

12. La composición farmacéutica de la reivindicación 11, en la que la infección es causada por *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, o una combinación de las mismas.



Fig. 2

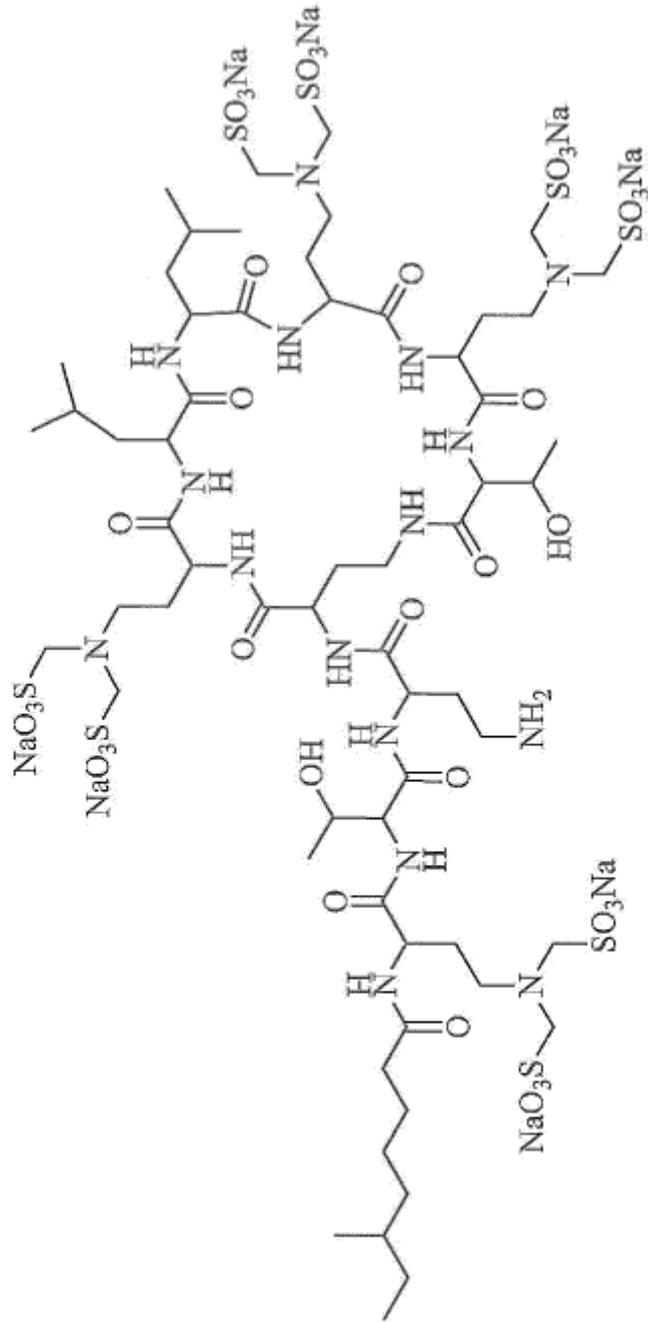




Fig. 4

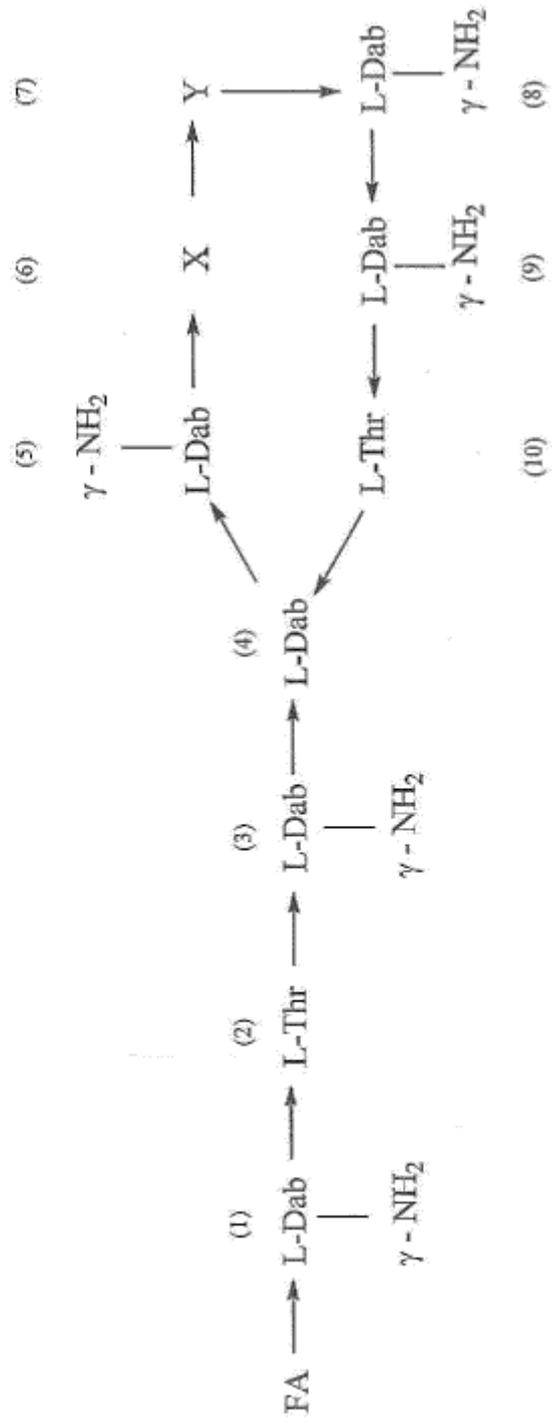




Fig. 6

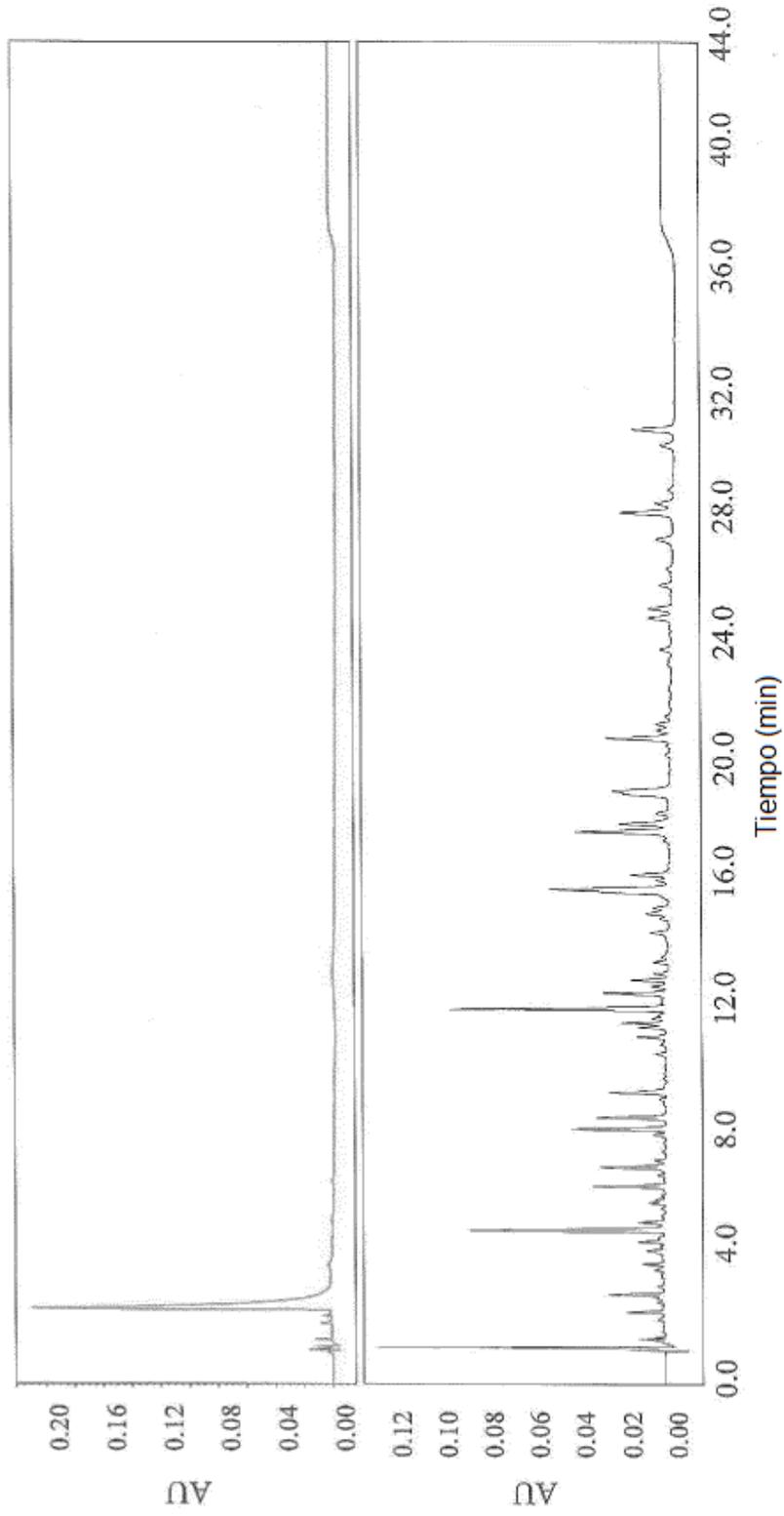
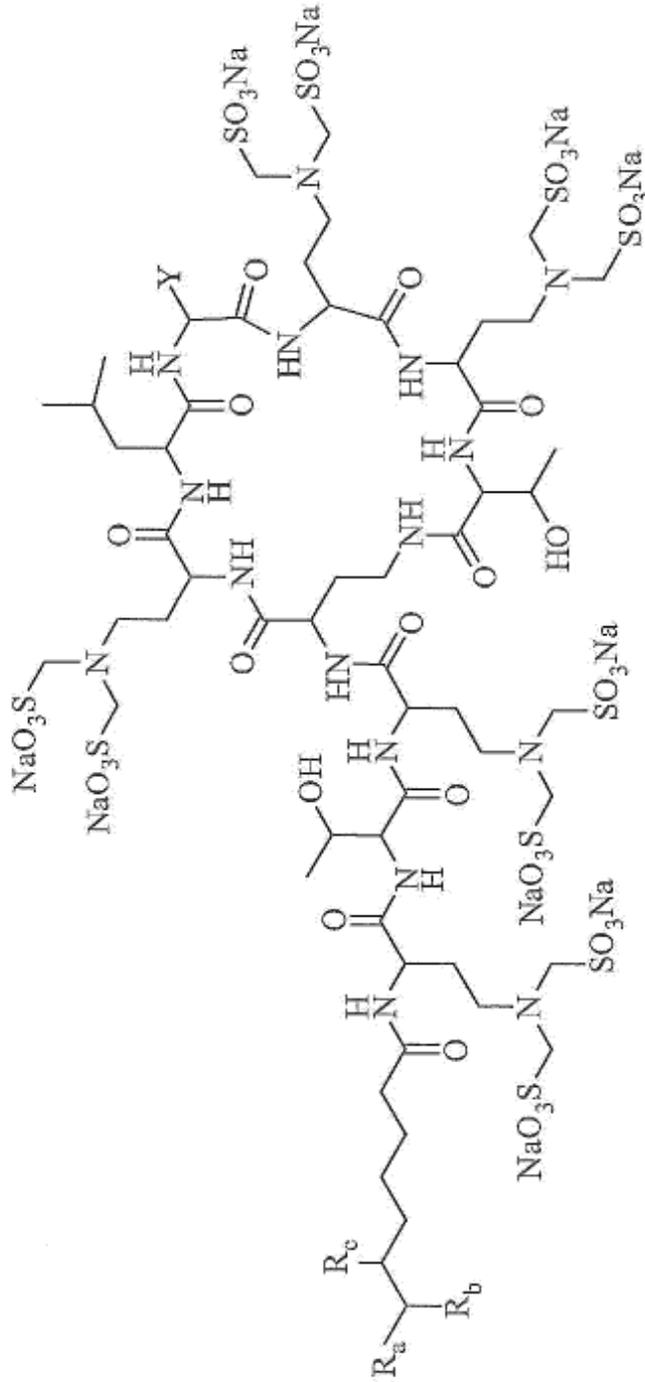




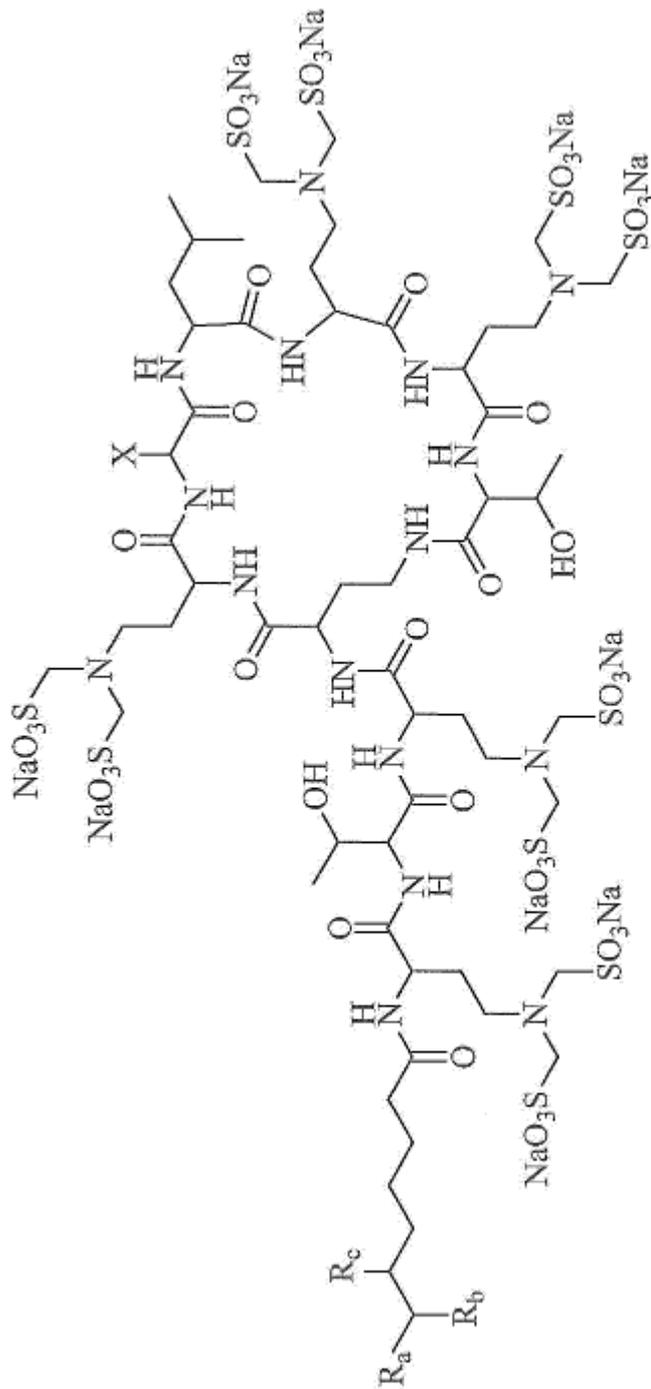


Fig. 9



Polimixina	Y	$R_a$	$R_b$	$R_c$	MW
E1	$-CH_2CH(CH_3)_2$	$CH_3$	H	$CH_3$	2328.3
E2	$-CH_2CH(CH_3)_2$	H	H	$CH_3$	2314.3
E3	$-CH_2CH(CH_3)_2$	$CH_3$	H	H	2314.3
E1-i	$-CH(CH_3)CH_2CH_3$	$CH_3$	H	$CH_3$	2328.3
E1-7MOA	$-CH_2CH(CH_3)_2$	$CH_3$	$CH_3$	H	2328.3

Fig. 10



Polimixina	X	R <sub>a</sub>	R <sub>b</sub>	R <sub>c</sub>	MW
B1	-CH <sub>2</sub> Ph	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>	2362.3
B2	-CH <sub>2</sub> Ph	H	H	CH <sub>3</sub>	2348.3

Fig. 11

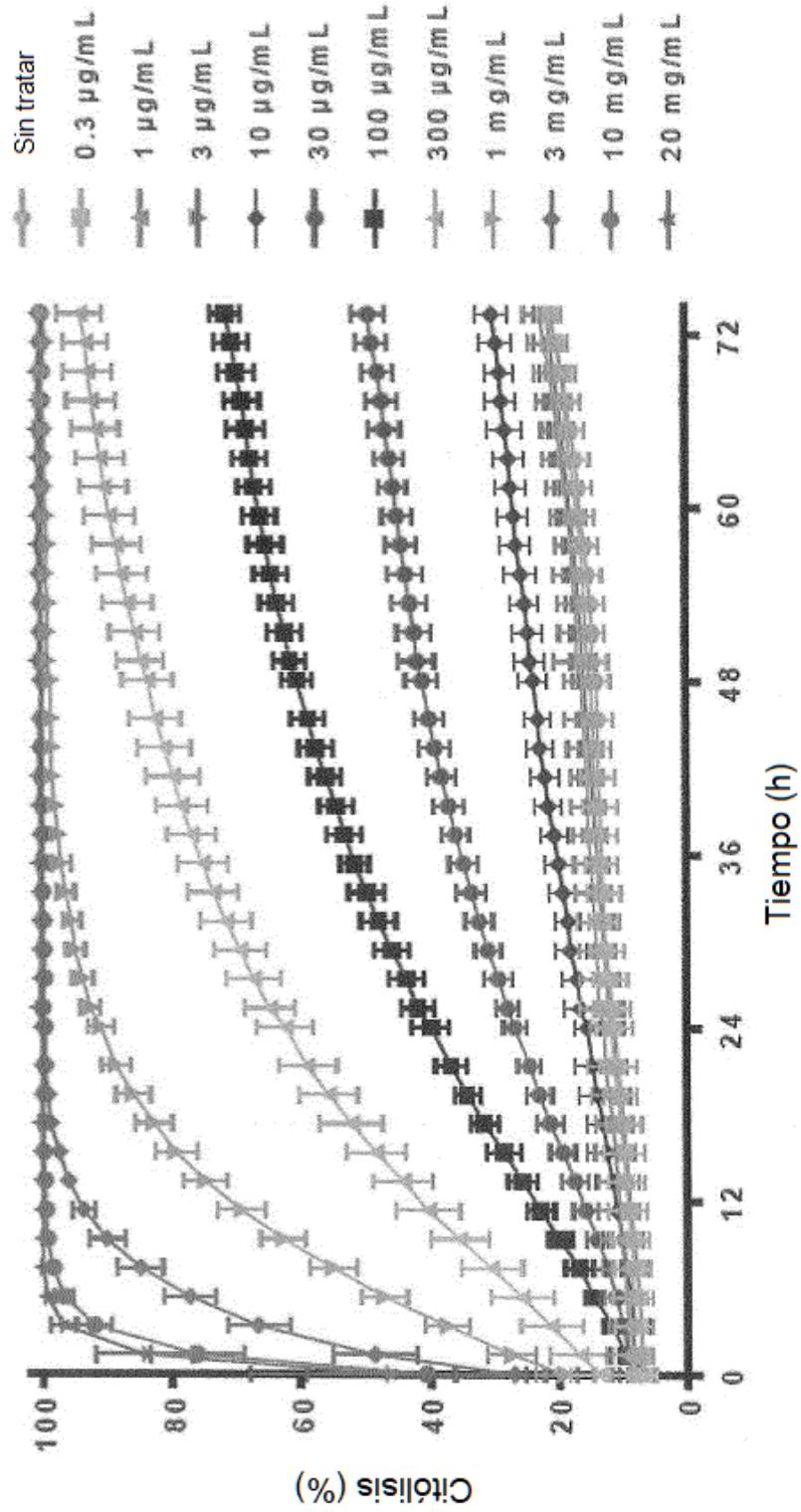


Fig. 12

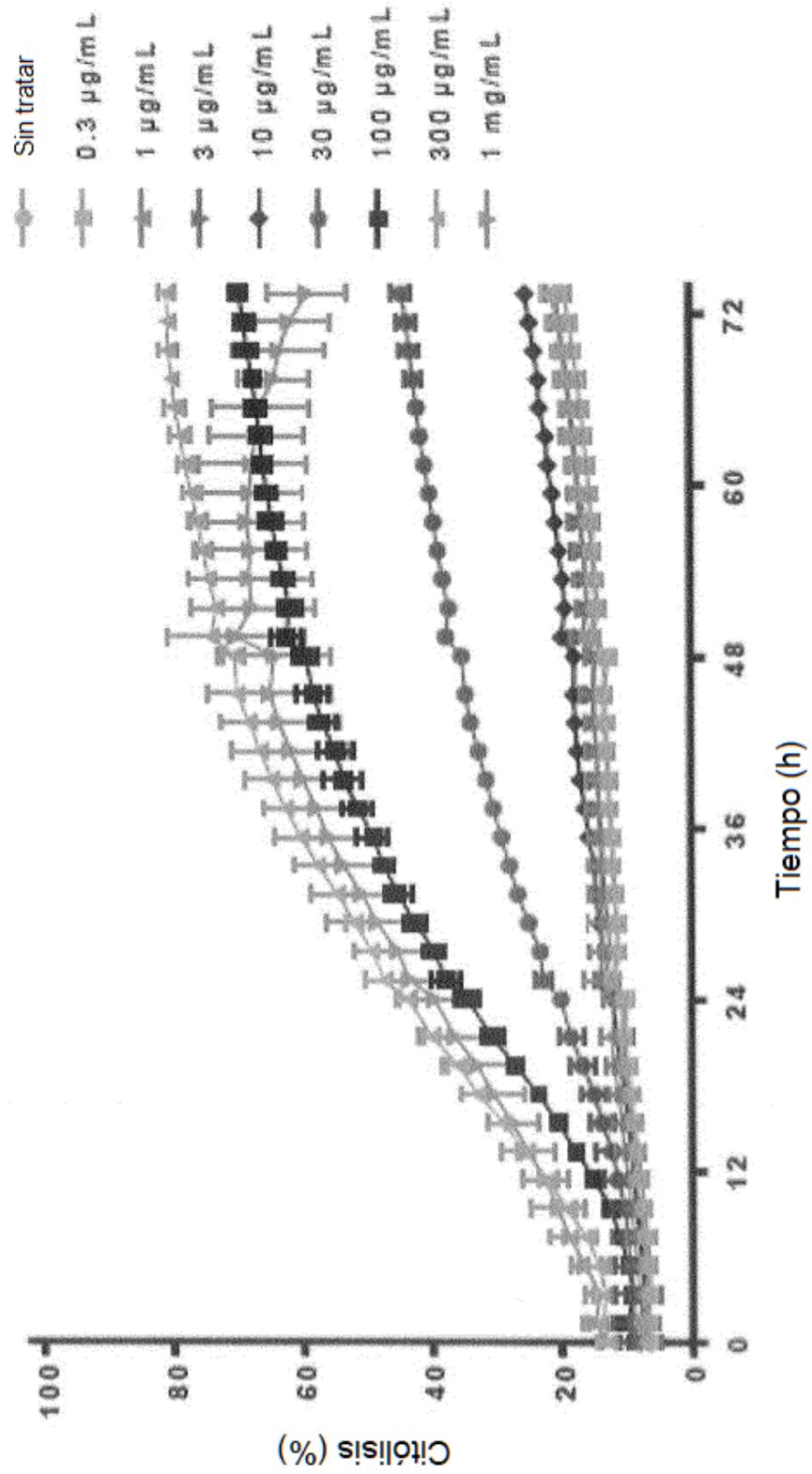


Fig. 13

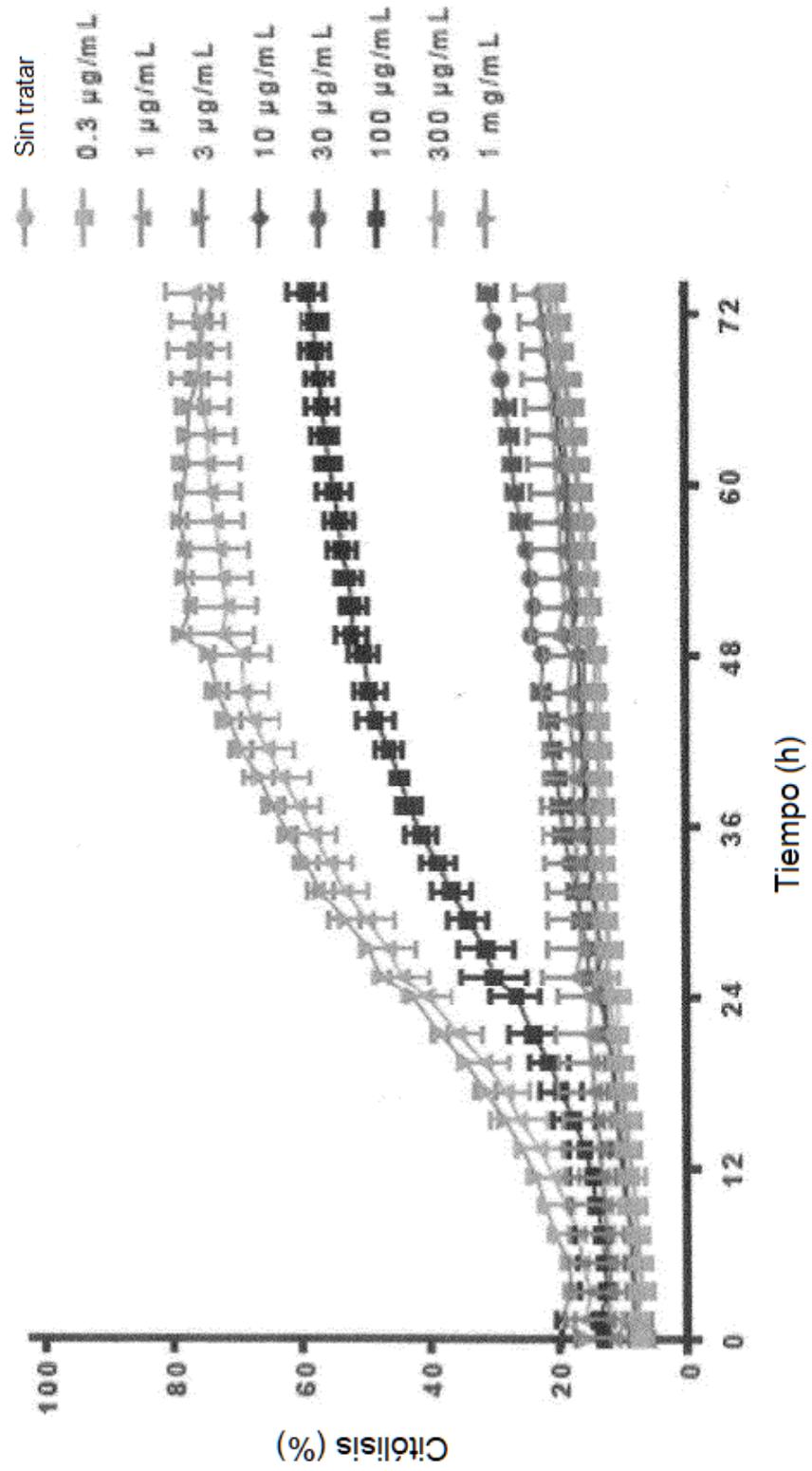


Fig. 14

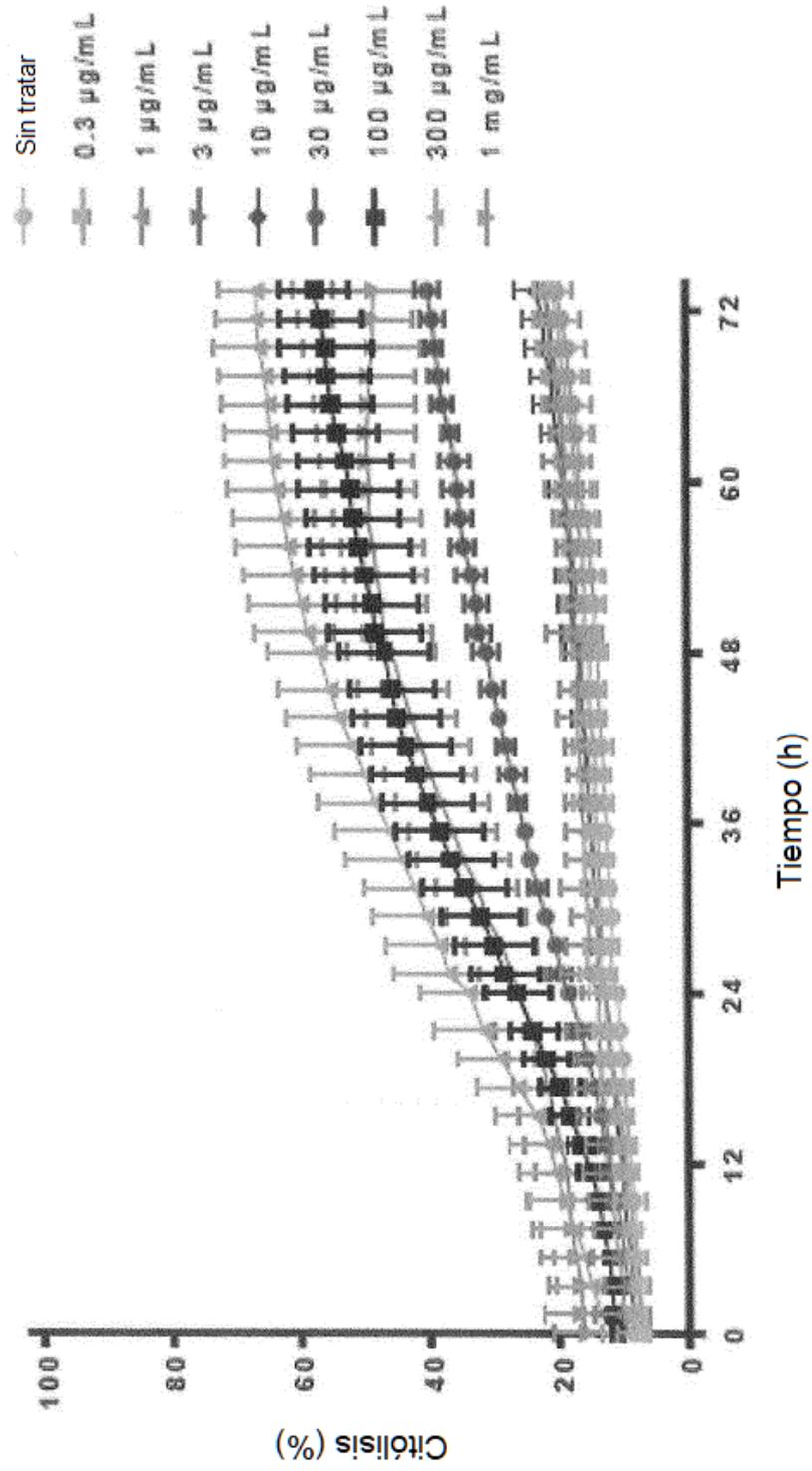


Fig. 15

