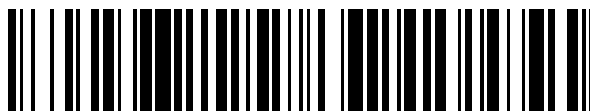


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 727 633**

51 Int. Cl.:

C07F 9/117

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.09.2012** **PCT/EP2012/004088**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.04.2013** **WO13045107**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.09.2012** **E 12772882 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.03.2019** **EP 2773648**

54 Título: **Compuestos farmacéuticos para uso en la terapia de la infección por Clostridium difficile**

30 Prioridad:

29.09.2011 EP 11007935

29.09.2011 EP 11007933

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

17.10.2019

73 Titular/es:

ETH ZÜRICH (100.0%)

Raemistrasse 101

8092 Zürich , CH

72 Inventor/es:

CASTAGNER, BASTIEN;

LEROUX, JEAN-CHRISTOPHE;

IVARSSON, MATTIAS;

SCHNEIDER, GIBERT y

PRATSINIS, ANNA

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 727 633 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).

5 La presente invención se refiere a activadores entéricos de la toxina de *Clostridium difficile*, en particular derivados de polifosfato, derivados de polisulfato o derivados mixtos de polifosfato/sulfato de polioles cíclicos de seis miembros.

10 capaz de colonizar el colon de pacientes con flora bacteriana reducida. La aparición de cepas resistentes a antibióticos de *C. difficile* produce una morbilidad y una mortalidad cada vez más grave.

15 propia bacteria, recientemente se han realizado esfuerzos para apuntar a estas toxinas (p. ej., usando aglutinantes poliméricos), pero hasta ahora han fallado en los ensayos clínicos.

20 participa en la unión de la toxina a las células; un segundo facilita la translocación al citosol; un tercer dominio causa la escisión del dominio tóxico mediante autoproteólisis y, por último, el propio dominio tóxico o “cabeza explosiva”, que produce los efectos fisiológicos de la toxina en la célula afectada.

25 de autoprocesamiento de TcdA/TcdB en el citosol celular. Egerer *et al.* (*PLoS Pathog.* **2010**, 6, e1000942) y Shen *et al.* [*Nat. Struct. Mol. Biol.* **2011**, 18, 364] sugirieron apuntar al mecanismo de autoprocesamiento inducido por IP6 como medio de intervención terapéutica contra la patogeneidad mediada por toxinas. Guttenberg *et al.* *Journal of Biological Chemistry* 286(17), 14779-24786 (2010) analiza la dependencia al pH de la autocatálisis mediada por IP6 de TcdA/TcdB. Florin *et al.* (*Biochimica et Biophysica Acta* 805(2), 131-136 (1984) divulga la influencia de IP6 e hexaquisulfato de inositol sobre el efecto citopático inducido por toxinas.

Por tanto, el objetivo de la presente invención es proporcionar mejores opciones de tratamiento para los pacientes que sufren ICD. Este objetivo se consigue mediante la materia sujeta de las reivindicaciones independientes.

La invención se basa en un diseño nuevo de análogos de molécula pequeña de IP6 que se proporcionan como terapia oral para desencadenar la escisión de la toxina en el lumen del colon, de modo que desprende la cabeza explosiva antes de alcanzar su destino y la convierte en inocua. Dado que el propio IP6 no se puede usar para este fin porque no es soluble a las elevadas concentraciones de calcio halladas en el lumen del colon, la presente invención proporciona nuevos análogos de IP6 con mejor solubilidad.

Un primer aspecto de la invención se refiere a un compuesto farmacéutico caracterizado por una fórmula general (2) o (4)



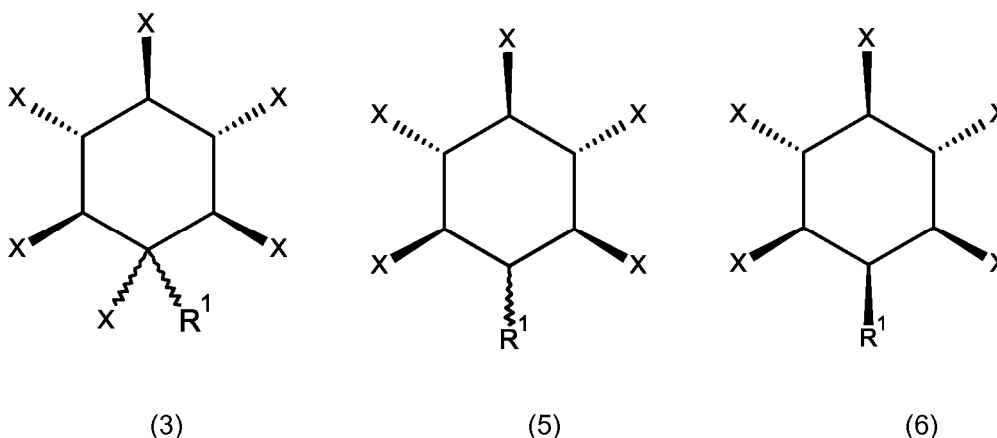
50 en donde

R^1 es una función de solubilidad seleccionada del grupo que incluye

- un polietilenglicol y
- un poliglicerol

y cada X se selecciona de manera independiente entre OPO_3^{2-} , $OPSO_2^{2-}$ u OSO_3^- .

En ciertas realizaciones, el compuesto de la invención se describe mediante una fórmula (3), (5) o (6),



en donde

R^1 es una función de solubilidad seleccionada entre

- un polietilenglicol ;
- un poliglicerol, por ejemplo un poliglicerol descrito por la fórmula $((R^3-O-(CH_2-CHOH-CH_2O)_n^-)$ siendo R^3 hidrógeno, metilo o etilo y teniendo n un valor de 3 a 200, o un poliglicerol ramificado o hiperramificado, tal como se puede describir con la fórmula $(R^3-O-(CH_2-CHOR^5-CH_2-O)_n^-)$, siendo R^5 hidrógeno o una cadena de glicerol y siendo R^3 hidrógeno, metilo o etilo
- y

cada X se selecciona de manera independiente entre OPO_3^{2-} , $OPSO_2^{2-}$ u OSO_3^- .

En algunas realizaciones, dicho polietilenglicol se describe mediante una fórmula $(R^3-(O-CH_2-CH_2)_n^-)$, siendo R^3 hidrógeno, metilo o etilo y teniendo n un valor de 3 a 200. En algunas realizaciones, n tiene un valor de 3 a 20. En algunas realizaciones, n tiene un valor de 10 a 30. En algunas realizaciones, n tiene un valor de 9 a 45. En algunas realizaciones, dicho polietilenglicol es un polietilenglicol ramificado.

En algunas realizaciones, R^1 es un poliglicerol descrito mediante una fórmula $O-(CH_2-CHOH-CH_2O)_n^-)$ siendo R^3 hidrógeno, metilo o etilo y teniendo n un valor de 3 a 200. En algunas alternativas de estas realizaciones, n tiene un valor de 3 a 20. En algunas alternativas de estas realizaciones, n tiene un valor de 10 a 30. En algunas alternativas de estas realizaciones, n tiene un valor de 9 a 45.

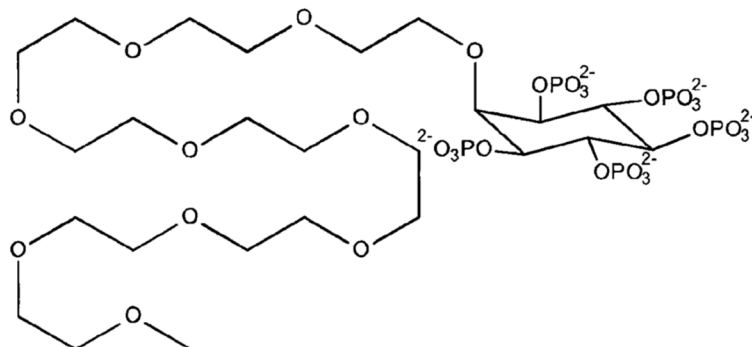
En algunas realizaciones, R^1 es un poliglicerol ramificado descrito por la fórmula $(R^3-O-(CH_2-CHOR^5-CH_2-O)_n^-)$, siendo R^5 hidrógeno o una cadena de glicerol lineal descrita por la fórmula $(R^3-O-(CH_2-CHOH-CH_2-O)_n^-)$ y siendo R^3 hidrógeno, metilo o etilo.

En algunas realizaciones, R^1 es un poliglicerol hiperramificado descrito por la fórmula $(R^3-O-(CH_2-CHOR^5-CH_2-O)_n^-)$, siendo R^5 hidrógeno o una cadena de glicerol lineal descrita por la fórmula $(R^3-O-(CH_2-CHOR^6-CH_2-O)_n^-)$, siendo R^6 hidrógeno o una cadena de glicerol descrita por la fórmula $(R^3-O-(CH_2-CHOR^7-CH_2-O)_n^-)$, siendo R^7 hidrógeno o una cadena de glicerol lineal descrita por la fórmula $(R^3-O-(CH_2-CHOH-CH_2-O)_n^-)$ y siendo R^3 hidrógeno, metilo o etilo.

El glicerol hiperramificado y los procedimientos para su síntesis se describen en Oudshorn *et al.*, Biomaterials (2006), 27, 5471 -5479; Wilms *et al.*, Acc. Chem. Res. (2010) 43, 129 - 41 y referencias citadas en los mismos.

La función de solubilidad proporciona la solubilidad de la molécula en solución acuosa en presencia de 10 mmol/l de Ca^{2+} . La molécula de acuerdo con la invención tiene una solubilidad más alta que IP6 en concentraciones de calcio superiores a 1 mmol/l; de acuerdo con una realización preferida, la solubilidad de la molécula de la invención es superior a 10 μ mol/l.

En una realización, (6) comprende un poli(etilenglicol) PEG₄₀₀ como función de la solubilidad, siendo R¹ CH₃(OCH₂-CH₂)₉-O-:

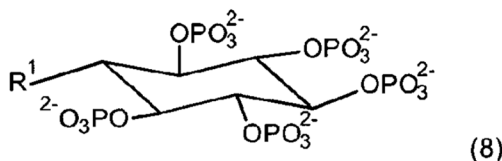


5

Se ha demostrado que *mio*-inositol-pentakisfosfato-2-PEG(400) (7) es el análogo PEG₄₀₀ de *mio*-inositol-hexakisfosfato (7) tiene una capacidad mejorada para escindir TcdB CPD en presencia de calcio.

10 Otra realización se refiere al análogo de PEG₂₀₀₀ de (7), es decir un PEG con aproximadamente 45 monómeros de etilenglicol.

Otra realización se refiere a un análogo de *escilo*-inositol hexakisfosfato como se describe mediante la fórmula (8)



15

en la que R¹ tiene el significado como se ha indicado anteriormente. En algunas realizaciones, el compuesto de la invención se puede describir mediante la fórmula (8) y R¹ es un resto poli(etilenglicol).

20 La función de solubilidad, una cadena de poli(etilenglicol) (PEG) mostrada en el presente documento como ejemplo no limitante está unida a la molécula para hacerla soluble en la luz del colon a las concentraciones de calcio presentes en la misma.

25 De acuerdo con otro aspecto de la invención, un compuesto de acuerdo con cualquiera de los aspectos anteriores de la invención, en la definición más amplia dada, o como se especifica en cualquiera de las realizaciones, se proporciona para uso como un medicamento.

30 De acuerdo con otro aspecto adicional de la invención, un compuesto de acuerdo con cualquiera de los aspectos anteriores de la invención, en la definición más amplia dada, o como se especifica en cualquiera de las realizaciones, se proporciona para uso en el tratamiento o prevención de la infección por *C. difficile*.

35 Un compuesto de acuerdo con la invención se puede proporcionar a un paciente ya diagnosticado con ICD o a un paciente que se sospecha que sufre ICD. Como alternativa, el compuesto se puede usar como profiláctico para pacientes que están en riesgo de contraer la infección, tal como pacientes en tratamiento antibiótico en situaciones hospitalarias. Los compuestos de acuerdo con la invención son simples de sintetizar, resistentes a la degradación en el tracto gastrointestinal y es improbable que se absorban en la circulación sanguínea, de modo que se evitan los potenciales efectos secundarios. Los compuestos de acuerdo con la invención no necesitan atravesar las membranas de mamíferos o bacterianas para ser activos, lo que los convierte en más eficaces *in vivo*. Además, los compuestos de acuerdo con la invención es improbable que ejerzan presión selectiva sobre las bacterias y, por tanto, evitan los problemas relacionadas con la resistencia.

40 De acuerdo con otro aspecto adicional de la invención, se proporciona una composición farmacéutica para usar en un procedimiento para la prevención o tratamiento de la infección por *C. difficile*, que comprende un compuesto de acuerdo con cualquiera de los aspectos anteriores de la invención.

45 Composiciones farmacéuticas preferidas comprenden desde aproximadamente 1 % a aproximadamente 95 % del principio activo, preferentemente de aproximadamente 20 % a aproximadamente 90 % del principio activo.

Una composición farmacéutica de acuerdo con los aspectos anteriores de la invención se puede administrar sola o en combinación con uno o más de otros agentes terapéuticos. Una terapia de combinación puede tomar la forma de combinaciones fijas del compuesto de la invención y uno o más de otros agentes antibióticos. La administración puede ser escalonada; como alternativa, los fármacos se pueden administrar de forma independiente uno de otro o como una combinación fija.

De acuerdo con una realización preferida, una composición farmacéutica comprende un compuesto de la invención de acuerdo con cualquiera de los aspectos anteriores de la invención y, adicionalmente, metronidazol, vancomicina y/o fidaxomicina.

De acuerdo con otro aspecto más de la invención, se proporciona una forma de dosificación que comprende un compuesto de acuerdo con cualquiera de los aspectos anteriores de la invención. Se prefiere una formulación peroral, particularmente un comprimido, jarabe, solución, cápsula o polvo.

De acuerdo con una realización preferida, dicha forma de dosificación comprende adicionalmente un compuesto antibióticamente activo, tal como (a modo de ejemplo no limitante) metronidazol, vancomicina o fidaxomicina.

De acuerdo con otro aspecto más de la invención, se proporciona un régimen de tratamiento para la prevención y tratamiento de la ICD, que comprende la administración de un compuesto de acuerdo con la invención. La administración se puede efectuar por cualquiera de los medios descritos en el presente documento.

Siempre que las alternativas para características únicas se expongan como "realizaciones" en el presente documento, cabe entender que dichas alternativas se pueden combinar libremente para formar realizaciones pequeñas de la totalidad de la molécula proporcionada como tal o para usar en un procedimiento o indicación médica en el presente documento.

Breve descripción de las figuras:

La Fig. 1 muestra la dependencia de la concentración de la escisión del dominio cisteína proteasa TcdB en presencia del compuesto activador (7) (círculos vacíos) o IP6 *in vitro* (1A), y la correspondiente cinética (1B) en Ca^{2+} 10 mM.

La Fig. 2 muestra la dependencia de la concentración de la escisión del dominio cisteína proteasa TcdB en presencia del compuesto activador (7) (círculos vacíos), su análogo PEG2000 (triángulos vacíos) y su análogo de metilo (cuadrados negros).

La Fig. 3 muestra la síntesis del compuesto 7.

La Fig. 4 muestra la dependencia de la concentración de la escisión del dominio cisteína proteasa TcdB en presencia de Ca^{2+} 10 mM para el compuesto activador (11) mostrado como círculos vacíos; IP6 control como cuadrados negros.

La Fig. 5 muestra la síntesis del compuesto (16a-b).

La Fig. 6 muestra la dependencia de la concentración de la escisión del dominio cisteína proteasa TcdB en presencia de Ca^{2+} 10 mM para el compuesto activador (16a-b).

Ejemplos

1. Síntesis del compuesto (7)

La síntesis siguió la secuencia representada en la Fig. 3.

Compuesto **B**: A una suspensión de hidruro sódico (4,3 mmol, 103,7 mg) en 10 ml de dimetilformamida (DMF) se añadió una solución del compuesto **A** [Martin, S. F. *et al.*, J. Org. Chem. 1994, 59, 4805] (2,16 mmol, 1363 mg) en DMF (10 ml) gota a gota. Cuando la adición se completó, la mezcla se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente, seguido de la adición de MeO-PEG-OT (siendo OT toluenosulfonato) (3,2 mmol, 1,64 g en 10 ml de DMF). Se dejó agitar la reacción durante la noche, después se inactivó con agua (5 ml). La mezcla se extrajo con diclorometano (DCM). El disolvente se evaporó y el residuo se sometió a cromatografía en gel de sílice con seis porciones de 100 ml de 20:80; 30:70; 40:60; 60:40; 80:20; 100:0 de acetato de etilo:hexanos. La cromatografía tuvo como resultado el fraccionamiento del producto con diferentes tamaños de PEG, incluyendo el compuesto B con un promedio de 9 unidades PEG. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 7,29 - 7,13 (m, 25H), 4,83 (d, J = 10,8 Hz, 2H), 4,79 (s, 2H), 4,74 (d, J = 10,8 Hz, 2H), 4,63 (d, J = 11,7 Hz, 2H), 4,59 (d, J = 11,6 Hz, 2H), 3,97 - 3,88 (m, 5H), 3,64 - 3,42 (m, 31 H), 3,38 (t, J = 9,2 Hz, 1 H), 3,29 - 3,25 (m, 5H).

Compuesto **C**: Compuesto **B** se disolvió en una mezcla de tetrahidrofurano (THF, 4 ml), metanol (7 ml) y agua (3 ml),

seguido de la adición de un exceso de 10 % de paladio sobre carbono. La mezcla se introdujo en atmósfera de hidrógeno y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Después, la mezcla de reacción se purgó con nitrógeno, se filtró se evaporó el disolvente. La mezcla bruta se purificó en un cartucho de fase inversa (Sep-Pak, Waters, 1 g, C₁₈, N° de cat. WAT 036905) eluyendo con 10 ml de agua. Todas las fracciones (1,5 ml) se liofilizaron y se analizaron mediante análisis RMN de ¹H. RMN de ¹H (400 MHz, D₂O): δ 3,96 - 3,94 (m, 2H), 3,89 (t, J = 2,8 Hz, 1 H), 3,78 - 3,69 (m, 28H), 3,69 - 3,60 (m, 5H), 3,56 (dd, J = 10,0, 2,8 Hz, 2H), 3,40 (s, 3H), 3,25 (t, J = 9,2 Hz, 1 H).

Compuesto **D**: Compuesto **C** (0,2 mmol, 19 mg) se suspendió en tetrazol (3,630 mmol, 8,1 ml, 0,45 M en CH₃CN) y DCM (10 ml) después se añadió *N,N*-dietil-1,5-dihidro-2,4,3-benzodioxafosfepin-3- amina (1,8 mmol, 434 mg) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Después, la mezcla se enfrió hasta -10 °C y se añadió una solución de ácido meta-cloropetoxibenzoico (mCPBA, predesecado sobre Na₂SO₄, 4,8 mmol, 1189 mg) en DCM (2 ml). La mezcla se dejó agitar a -10 °C durante 10 minutos adicionales y después se llevó hasta la temperatura ambiente y se agitó durante 1 hora. La mezcla se lavó con sulfito sódico diluido y se extrajo con DCM. Las capas orgánicas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron. El residuo se sometió a cromatografía en gel de sílice con un gradiente de 1-5 % de metanol en DCM. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 7,41 - 7,27 (m, 18H), 7,21 (dd, J = 6,9, 1,7 Hz, 2H), 5,59 - 5,51 (m, 6H), 5,44 (t, J = 14,2 Hz, 2H), 5,37 - 5,29 (m, 6H), 5,25 - 4,95 (m, 10H), 4,74 (ddd, J = 9,9, 7,6, 2,1 Hz, 2H), 4,61 (t, J = 2,2 Hz, 1 H), 4,03 (t, J = 4,9 Hz, 2H), 3,68 - 3,50 (m, 22H), 3,48 (dd, J = 6,1, 4,0 Hz, 2H), 3,40 - 3,34 (m, 7H). RMN de ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ 135,78, 135,72, 135,4, 135,14, 134,99, 129,38, 129,27, 129,26, 129,22, 129,14, 129,11, 128,96, 128,95, 77,6, 76,05, 76,01, 73,8, 71,9, 70,67, 70,60, 70,57, 70,54, 70,53, 70,49, 70,38, 70,34, 70,29, 69,46, 69,39, 69,33, 69,24, 69,16, 69,01, 68,95, 59,0.

Compuesto (7): El Compuesto **D** se disolvió en una mezcla de THF (1 ml), metanol (1,5 ml) y agua (2 ml), seguido de la adición de un exceso de 10 % de paladio sobre carbono, la mezcla se introdujo en atmósfera de hidrógeno y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Después, la mezcla se purgó con nitrógeno, se filtró y se concentró. El compuesto se llevó a pH 7 mediante la adición de NaOH acuoso diluido (170 µl, 0,1 M). El residuo se purificó en una columna de sephadex (PD-10, GE Healthcare, Sephadex G-25 M, n.º de cat. 17 - 0851 -01) eluyendo con 10 ml de agua. Todas las fracciones (1,5 ml) se liofilizaron y se analizaron mediante análisis RMN de ¹H. Las fracciones que contienen el producto se purificaron además en un cartucho de fase inversa (Sep-Pak, Waters, 1 g, C₁₈, N° de cat. WAT 036905) eluyendo con 10 ml de agua. Todas las fracciones (1,5 ml) se liofilizaron y se analizaron mediante análisis RMN de ¹H. RMN de ¹H (400 MHz, D₂O): δ 4,44 (q, J = 9,4 Hz, 2H), 4,20 (s, 1 H), 4,16 - 4,10 (m, 3H), 4,06 (t, J = 4,7 Hz, 2H), 3,83 - 3,63 (m, 26H), 3,40 (s, 3H). RMN de ³¹P (162 MHz, D₂O): δ 1,5, 1,2, 0,8

2. Determinación de la CE₅₀ en presencia de Ca²⁺ 10 mM

El compuesto a analizar se añadió a un dominio de cisteína proteasa marcada con His recombinante de la toxina B de *C. difficile* de SEC ID N° 1 en presencia de Ca²⁺ 10 mM en Tris 100 mM a pH 7,4 y se incubó durante 2 horas a 37 °C. Los fragmentos de proteína escindidos se separaron mediante SDS-PAGE y se visualizaron mediante tinción de Coomassie. La extensión de la escisión cuantificada a partir de las intensidades de la banda de proteína usando el paquete de software ImageJ. Las señales se normalizaron para escindir los controles positivos y negativos.

Los resultados de este ensayo para IP6 y el compuesto (7) se muestran en la Fig. 1 A. Esto demuestra que el 50 % de la escisión del fragmento de toxina se consigue a concentraciones similares de IP6 y (7). La actividad de IP6 desaparece casi completamente a 100 µM, mientras que (7) conserva actividad residual. La cadena de PEG de (7) probablemente confiera a la molécula una ventana de solubilidad más amplia.

3. Comparación de la cinética de escisión

El compuesto a analizar se añadió al dominio de cisteína proteasa marcado con His de la toxina B de *C. difficile* (la misma secuencia que se ha proporcionado anteriormente) en presencia de Ca²⁺ 10 mM en Tris 100 mM a pH 7,4 y se incubó durante 24 horas a 37 °C, extrayéndose alícuotas a intervalos regulares. Los fragmentos de proteína escindidos se separaron, se visualizaron y se analizaron como se ha indicado anteriormente. Los resultados de este ensayo para IP6 y el compuesto (7) se muestran en la Fig. 1 B. Demuestran que la extensión de la escisión tras 4 horas es 5 veces mayor con (7) que con IP6.

4. Síntesis del compuesto (16a-b)

Compuesto **F**: Una solución de 2,4,6-tri-O-(4-metoxibencil)-*mio*-inositol (**E**) [D. Lampe, C. Liu, B. V. L. Potter, J. Med. Chem. **1994**, 37, 907] (0,541 g, 1 mmol, 1 eq.) en CH₂Cl₂ seco (20 ml, 0,05 m) en atmósfera de nitrógeno se trató con tetrazol en acetonitrilo 0,45 m (20,0 ml, 9,0 mmol, 9 eq.) y *o*-xilileno-*N,N*-dietilfosforamidita (6 mmol, 1,44 g, 6 eq.) La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 días. Una solución de mCPBA (12 mmol, 2,07 g, 12 eq.) secada sobre Na₂SO₄ se añadió a -10 °C y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 45 minutos adicionales. Después, la mezcla se diluyó en EtOAc, se lavó con una solución saturada de NaHCO₃ acuoso y con salmuera. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se evaporó al vacío. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH gradualmente desde 0 % a 4 %, tres veces) dio 2,4,6-tri-O-(4-metoxibencil)-1,3,5-tri- O-(*o*-xilileno-fosfo)-*mio*-inositol (**F**) como un sólido blanco (98 %). RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7,28 - 7,36 (12H, m), 7,19 - 7,22 (2H, m), 7,12 - 7,17 (4H, m), 6,86 (2H, d, J 8,5 Hz), 6,71 (4H, d, J 8,5 Hz),

5,25 (1 H, d, J 13,6 Hz), 5,21 (1 H, d, J 13,6 Hz), 5,15 (1 H, d, J 13,7 Hz), 5,11 (1 H, d, J 13,7 Hz), 4,91 -5,08 (8H, m), 4,83 - 4,89 (4H, m), 4,69 - 4,61 (3H, m), 4,57 (1 H, q, J 9,2 Hz), 4,38 (2H, ddd, J 2,4, 8,1, 9,5 Hz), 4,10 (2H, t, J 9,5 Hz), 3,78 (3H, s), 3,72 (6H, s); RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 159,3, 159,1, 135,4, 135,3, 135,2, 130,8, 130,3, 129,7, 129,6, 129,2, 129,13, 129,12, 129,0, 128,9, 128,6, 113,74, 113,57, 80,6 (d, JCP 6,0 Hz), 78,1 (dd, JCP 6,9, 3,2 Hz) 77,6, 77,1 (m), 76,0, 74,9, 68,8, 68,70, 68,68, 68,62, 68,34, 68,28, 55,4, 55,3; RMN de ^{31}P (160 MHz, ^1H -desacoplado, CDCl_3) δ (ppm) 1,10, -1,32.

Compuesto **G**: El compuesto **F** (97 mg, 0,089 mmol) se disolvió en 1 ml de diclorometano. Se añadieron 6 ml de una mezcla de 5:1 de ácido trifluoroacético-agua. Se agitó 25 minutos y después se diluyó con 10 ml de tolueno y se concentró al vacío. El residuo resultante se trituró con hexano y diclorometano y después se secó en alto vacío. Se proporcionaron 68 mg de compuesto **G** bruto, que se usó directamente en la siguiente etapa.

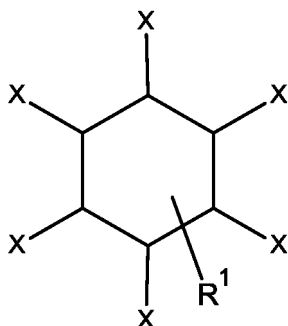
Compuesto **H**: El compuesto **G** (39 mg, 0,054 mmol) se disolvió en 3 ml de DMF y se añadió $\text{SO}_3 \text{Et}_3\text{N}$ (195 mg, 1,07 mmol). La solución se agitó durante la noche a 50 °C y se concentró en un evaporador rotatorio. El residuo se disolvió en 6 ml de agua, se filtró y se cargó en tres cartuchos de 6cc 1g tC_{18} Sep-Pak (Waters). Las columnas se eluyeron con un gradiente de 0 - 40 % de $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$. Rendimiento 32 mg de **H**. RMN de ^1H -(CD_3 , MeOD): δ 7,45 - 7,40 (m, 4H), 7,39 - 7,33 (m, 4H), 7,28 - 7,24 (m, 2H), 7,21 - 7,19 (m, 2H), 5,69 - 5,60 (m, 4H), 5,47 (dd, J = 13,2, 10,4 Hz, 2H), 5,41 (t, J = 2,9 Hz, 2H), 5,40 - 5,35 (m, 2H), 5,20 - 5,16 (m, 1 H), 5,11 - 4,97 (m, 5H), 4,90 - 4,81 (m, 2H), 3,24 (q, J = 7,3 Hz, 17H), 1,32 (t, J = 7,3 Hz, 25H). RMN de ^{13}C (101 MHz, $\text{MeOD}/\text{CDCl}_3$): δ 131,6, 131,2, 125,26, 125,21, 125,09, 124,93, 124,87, 124,78, 70,25, 70,22, 70,19, 69,95, 69,90, 65,18, 65,11, 65,07, 65,00, 64,85, 64,78, 42,4, 4,2; RMN de ^{31}P (162 MHz; $\text{MeOD}/\text{CDCl}_3$): δ -7,8, -8,9

Compuesto **PSPSPS ((16a)b)**: El compuesto **H** (32 mg) se disolvió en 3 ml de H_2O . Se añadió una pequeña cucharada de Pd sobre carbón activado (10 %), la mezcla se introdujo en una atmósfera de H_2 y se agitó durante 4 horas. Después, la mezcla se purgó con N_2 y se añadió una gota de NH_4OH . La mezcla se filtró a través de Celite™ y se evaporó en un evaporador rotatorio. El residuo se disolvió en 1 ml de agua, se cargó en un cartucho Vac 6cc 1g tC_{18} Sep-Pak (Waters) y se eluyó con agua. Las fracciones eluidas se liofilizaron y se analizaron mediante análisis RMN de ^1H . Se proporcionaron 16 mg de **PSPSPS-2Et₃NH⁺-xNH⁺**. RMN de ^1H (400 MHz, D_2O): δ 4,93 - 4,78 (m, 3H), 4,55 - 4,39 (m, 3H), 3,13 (q, J = 7,3 Hz, 14H), 1,21 (t, J = 7,3 Hz, 21 H). RMN de ^{31}P (162 MHz, D_2O): δ -0,3, -0,7.

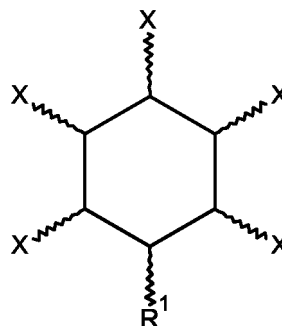
La escisión inducida por el compuesto **PSPSPS ((16a-b))** se determinó en presencia de calcio como se describe en el ejemplo 2 y el resultado se muestra en la Fig. 7. La escisión inducida por este derivado fue del 50 % a una concentración de 20 μM , que es más eficiente que IP6 (601 μM). Este resultado muestra que la presencia de algunos grupos sulfatos potencia la actividad del compuesto en presencia de calcio.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto descrito por una fórmula general (2) o (4),



(2)



(4)

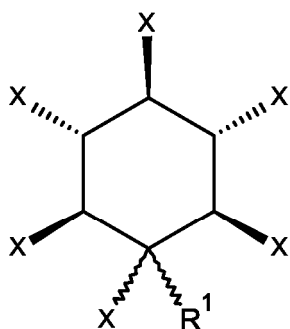
en las que

R^1 es una función de solubilidad seleccionada del grupo que incluye

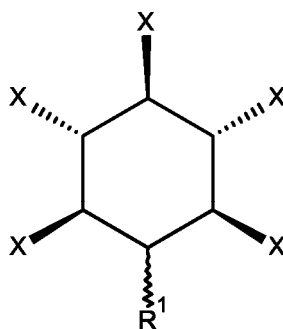
un polietilenglicol y
un poliglicerol

y cada X se selecciona independientemente de OPO_3^{2-} , $OPSO_2^{2-}$ u OSO_3^-

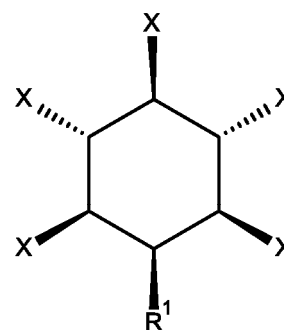
2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto se describe por una fórmula general seleccionada entre (3), (5) o (6)



(3)



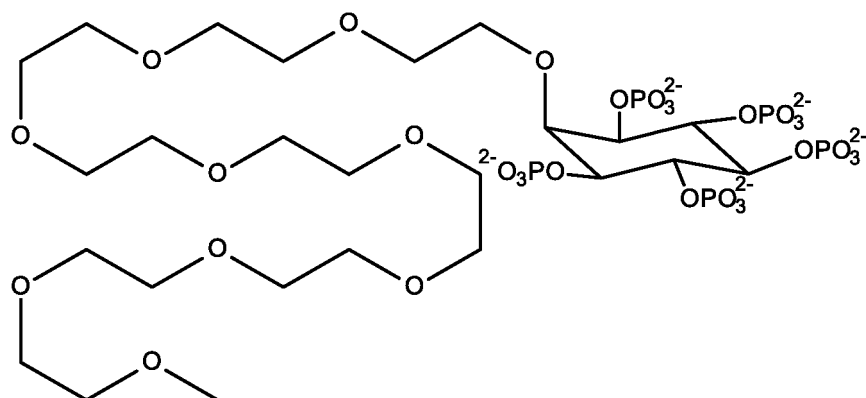
(5)



(6)

en las que X y R^1 tienen el significado indicado anteriormente.

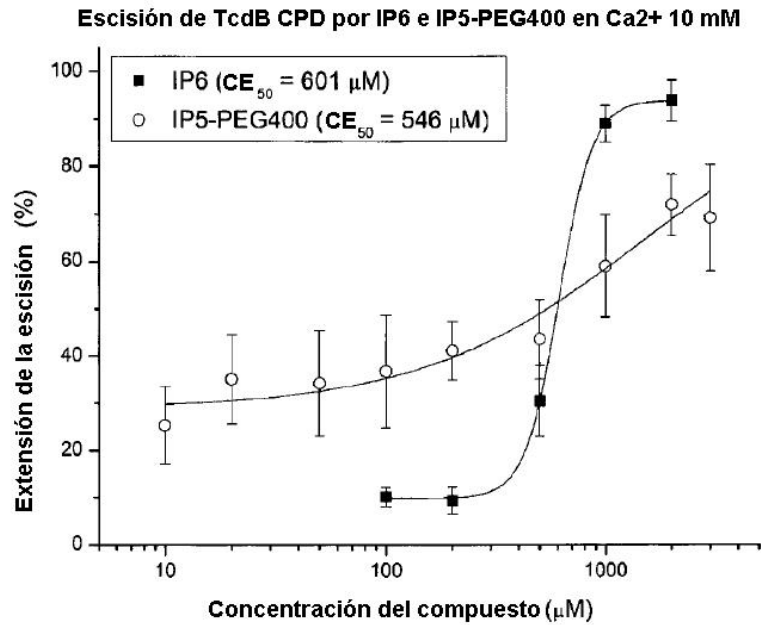
3. *mio*-inositol-pentakisfosfato-2-PEG(400) (7)



4. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores para su uso como medicamento.
- 5 5. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 para usar en la prevención o la terapia de la infección por *C. difficile*.
6. Una forma de dosificación, que comprende un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3.
- 10 7. Una forma de dosificación de acuerdo con la reivindicación 6, que además comprende un antibiótico.
8. Una forma de dosificación de acuerdo con la reivindicación 7, en la que el antibiótico es metronidazol, vancomicina o fidaxomicina.
- 15 9. Una forma de dosificación de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 6 a 8 como comprimido, cápsula, solución, polvo o jarabe.

Fig. 1

A



B

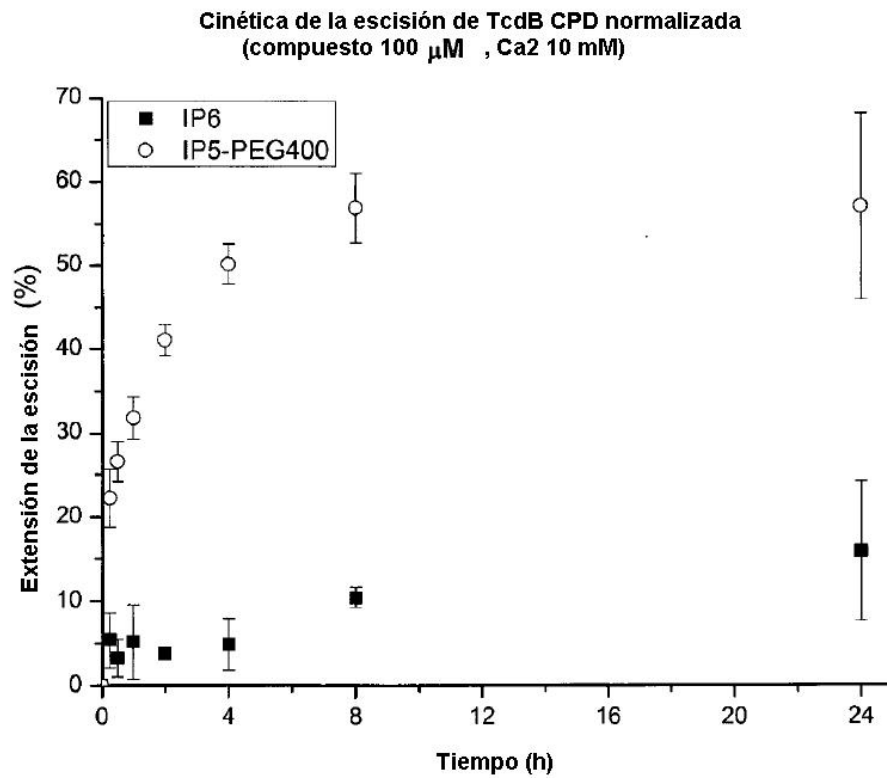


Fig. 2

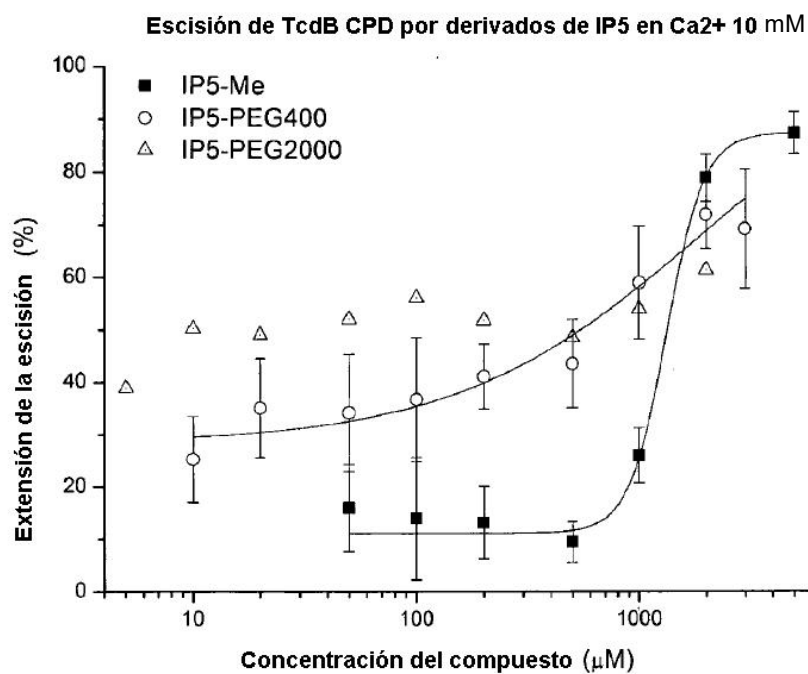


Fig. 4

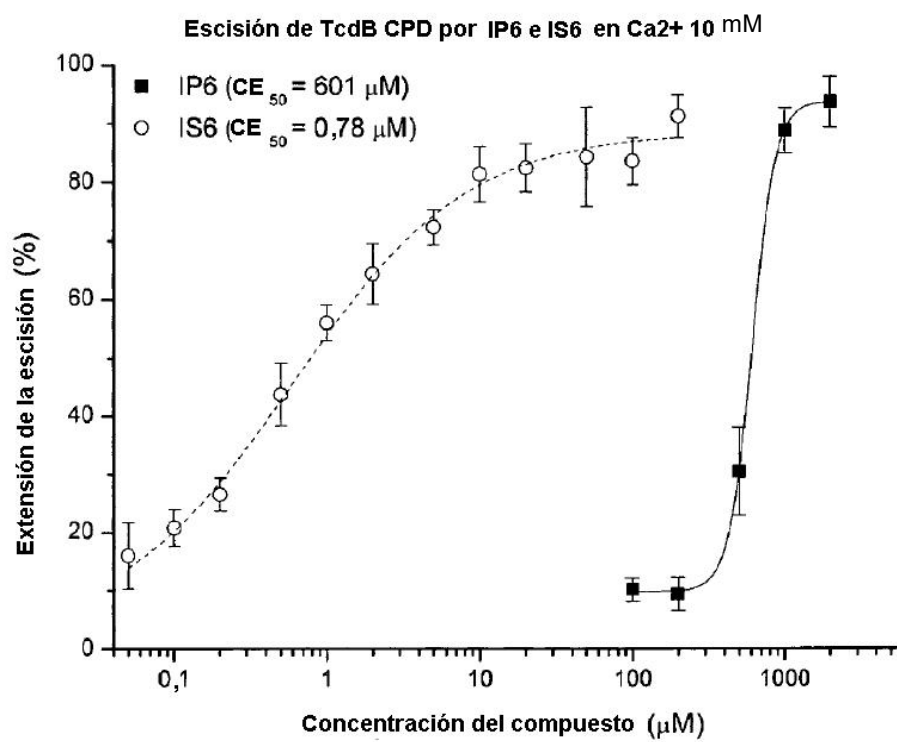


Fig. 5

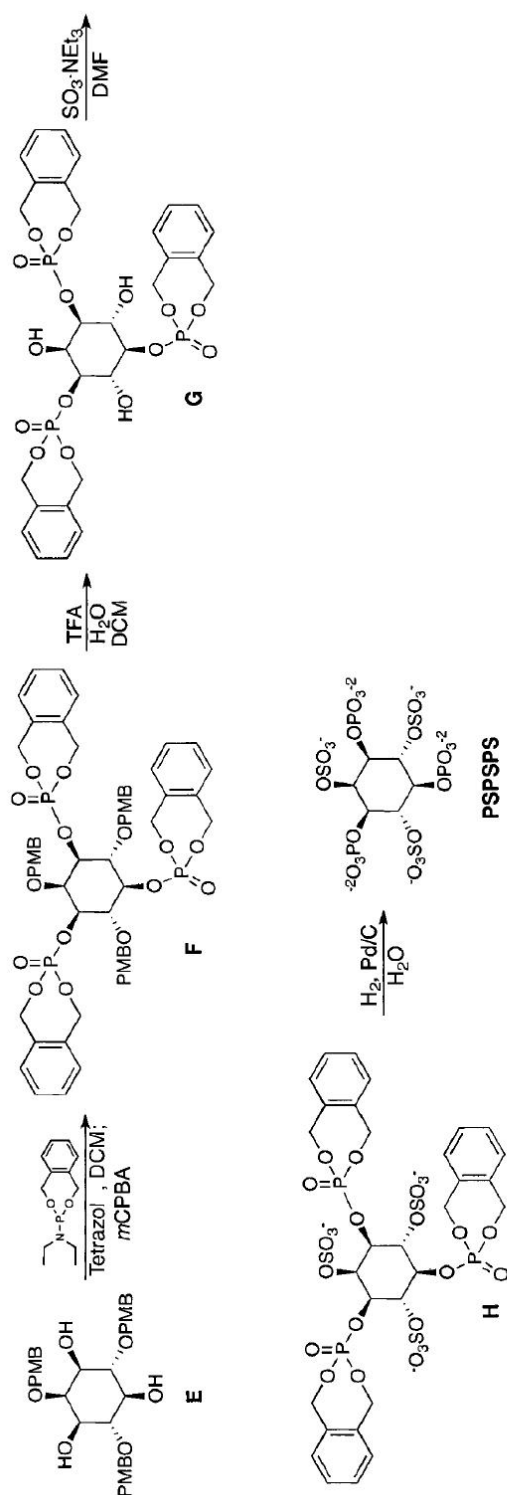


Fig. 6

