



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 354 686**

51 Int. Cl.:  
**A61K 38/12** (2006.01)  
**A61K 38/14** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **02739179 .6**  
96 Fecha de presentación : **25.04.2002**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1399176**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **24.03.2004**

54 Título: **Antibióticos glicopeptídicos substancialmente puros AC-98-1, AC-98-2, AC-98-3, AC-98-4 y AC-98-5.**

30 Prioridad: **25.04.2001 US 286249 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**17.03.2011**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**17.03.2011**

73 Titular/es: **WYETH HOLDINGS CORPORATION**  
**Five Giralda Farms**  
**Madison, New Jersey 07940-0874, US**

72 Inventor/es: **Carter, Guy, Thomas y**  
**He, Haiyin**

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

**ES 2 354 686 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**ANTECEDENTES DE LA INVENCION1. Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a nuevos antibióticos glicopeptídicos substancialmente puros, designados como AC-98-3, AC-98-4 y AC-98-5, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, a procedimientos para la preparación y aislamiento de tales antibióticos, a procedimientos de utilización de tales antibióticos para tratar infecciones bacterianas y a composiciones farmacéuticas que contienen tales antibióticos.

2. Descripción de la técnica anterior

10 La patente de Estados Unidos nº 3.495.004 divulga un organismo productor *Streptomyces hygrosopicus* NRRL 3085, y las condiciones de producción para preparar una mezcla compleja de antibióticos AC-98. No se divulgan detalles de las estructuras de los antibióticos individuales. Como se describe en la patente de los Estados Unidos 3.495.004, la mezcla de antibióticos AC-98 no podría ser separada en los componentes individuales mediante intercambio iónico (IRC-50), filtración en gel (CM-sephadex), o cromatografía de fase normal (gel de sílice desactivado).

15 BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La figura 1 muestra el espectro de absorción infrarroja del AC-98-1.

La figura 2 muestra el espectro de absorción infrarroja del AC-98-2.

La figura 3 muestra el espectro de absorción infrarroja del AC-98-3.

La figura 4 muestra el espectro de absorción infrarroja del AC-98-4.

20 La figura 5 muestra el espectro de absorción infrarroja del AC-98-5.

La figura 6 muestra el espectro de resonancia magnética nuclear de protones del AC-98-1.

La figura 7 muestra el espectro de resonancia magnética nuclear de protones del AC-98-2.

La figura 8 muestra el espectro de resonancia magnética nuclear de protones del AC-98-3.

La figura 9 muestra el espectro de resonancia magnética nuclear de protones del AC-98-4.

25 La figura 10 muestra el espectro de resonancia magnética nuclear de protones del AC-98-5.

La figura 11 muestra el espectro de resonancia magnética nuclear de carbono 13 del AC-98-1.

La figura 12 muestra el espectro de resonancia magnética nuclear de carbono 13 del AC-98-2.

La figura 13 muestra el espectro de resonancia magnética nuclear de carbono 13 del AC-98-3.

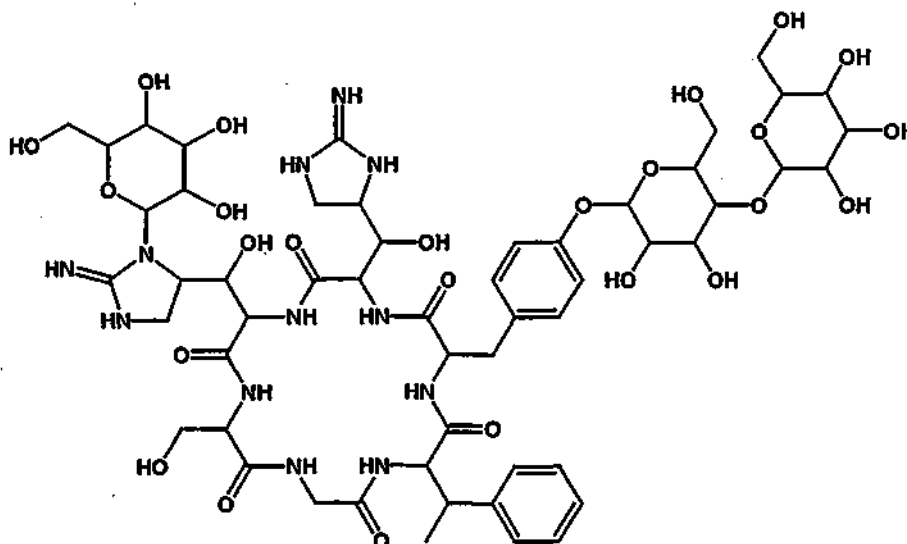
La figura 14 muestra el espectro de resonancia magnética nuclear de carbono 13 del AC-98-4.

30 La figura 15 muestra el espectro de resonancia magnética nuclear de carbono 13 del AC-98-5.

SUMARIO DE LA INVENCION

Ahora se han descubierto nuevos antibióticos glicopeptídicos substancialmente puros, designados como AC-98-1, AC-98-2, AC-98-3, AC-98-4 y AC-98-5, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

La estructura del AC-98-1 es:

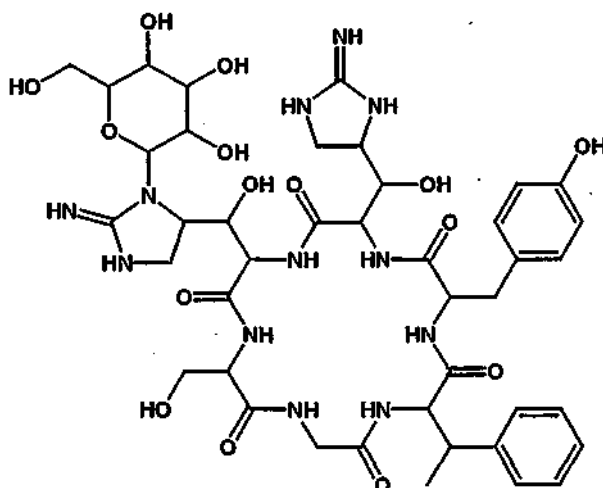


AC-98-1

Las características fisicoquímicas del AC-98-1 son como sigue:

- a) Fórmula molecular aparente:  $C_{54}H_{78}N_{12}O_{25}$
- 5 b) Peso molecular: ES (IEP)  $[M+2H]^{2+} = M/Z$  648 (p. m. = 1292) EMBARAR (Espectro de Masas Bombardeo por Átomos Rápidos de Alta Resolución) calculado para  $C_{54}H_{78}N_{12}O_{25}Na = M/Z$  1317.5099 EMBARAR observado =  $M/Z$  1317,5164  $\Delta mmu = 6,5$
- c) Espectro de Absorción Ultravioleta:  $\lambda_{max}$  nm MeOH = 280, 273, 201;
- d) Espectro de Absorción Infrarrojo: como se muestra en la FIG. 1 (disco de KBr): 3374, 3277, 1681, 1634, 1554, 1510  $cm^{-1}$ ;
- 10 e) Espectro de Resonancia Magnética de Protón: como se muestra en la FIG. 6 (300 MHz,  $CD_3OD/D_2O$  1:1)
- f) Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13: como se muestra en la FIG. 11 (75 MHz,  $CD_3OD/D_2O$  1:1), los picos significativos se listan a continuación ( $\delta$  en TMS);
- 15 174,4, 173,9, 173,5, 173,5, 173,2, 173,0, 161,9, 161,7, 157,8, 144,8, 133,1, 133,0, 131,3, 130,5, 129,8, 119,4, 104,3, 100,8, 83,5, 82,7, 76,6, 76,4, 74,9, 74,1, 73,7, 73,5, 73,5, 73,3, 72,2, 72,0, 71,3, 69,5, 67,6, 63,8, 63,8, 63,8, 63,5, 62,7, 61,8, 58,3, 58,3, 57,8, 56,8, 56,1, 45,0, 44,8, 44,6, 44,1, 38,7, 19,9.

La estructura de AC-98-2 es:

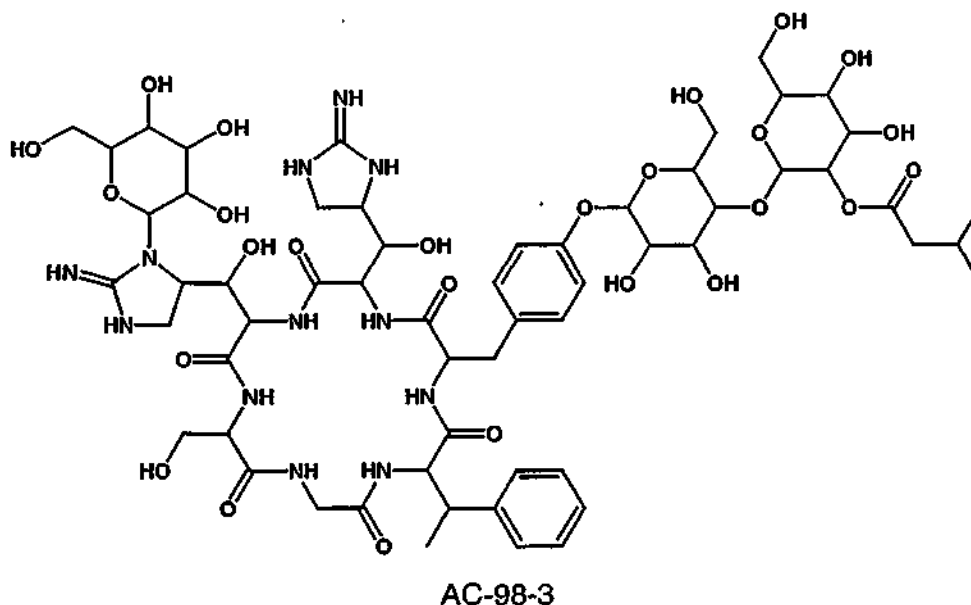


AC-98-2

Las características fisicoquímicas del AC-98-2 son como sigue:

- a) Fórmula molecular aparente:  $C_{42}H_{58}N_{12}O_{15}$
- b) Peso molecular: ES (IEP)  $[M+2H]^{2+} = M/Z$  486 (p. m. = 970) EMBARAR calculado para  $C_{42}H_{58}N_{12}O_{15}Na = M/Z$  992,4077 EMBARAR observado =  $M/Z$  993,4042  $\Delta m_{mu} = 3,5$
- c) Espectro de Absorción Ultravioleta:  $\lambda_{max}$  nm MeOH = 280, 273, 201;
- d) Espectro de Absorción Infrarrojo: como se muestra en la FIG. 2 (disco de KBr): 3374, 3277, 1681, 1634, 1554, 1510  $cm^{-1}$ ;
- e) Espectro de Resonancia Magnética de Protón: como se muestra en la FIG. 7 (300 MHz,  $CD_3OD/D_2O$  1:1)
- f) Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13: como se muestra en la FIG.12 (75 MHz,  $CD_3OD/D_2O$  1:1), los picos significativos se listan a continuación ( $\delta$  en TMS);
- 174,3, 173,9, 173,5, 173,6, 173,2, 173,0, 162,0, 161,7, 158,2, 144,7, 133,1, 130,0, 131,3, 130,5, 129,8, 117,8, 83,5, 82,8, 73,7, 72,2, 71,9, 71,3, 67,6, 63,8, 63,8, 62,8, 61,8, 58,3, 58,3, 57,8, 56,8, 56,1, 45,1, 44,8, 44,5, 44,2, 38,7, 19,7.

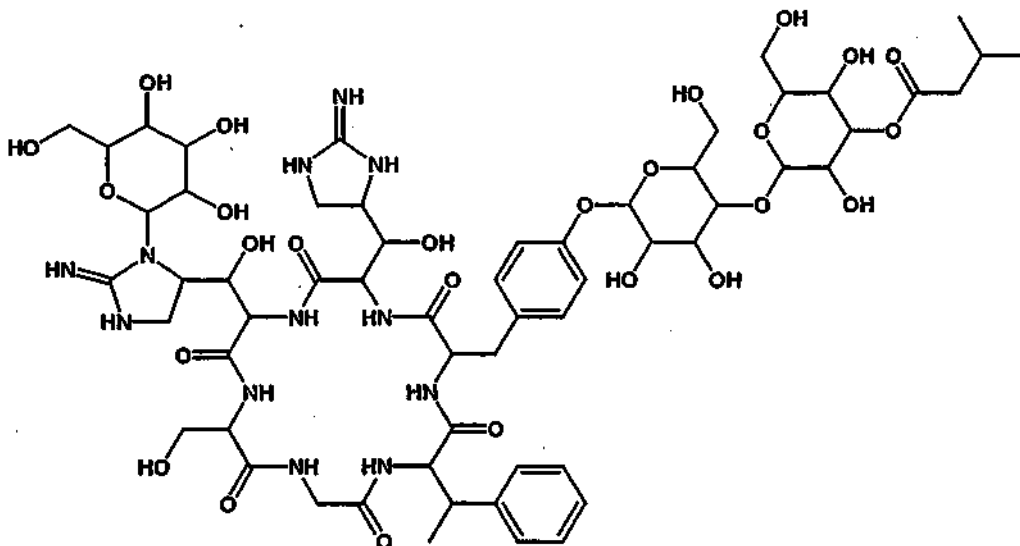
15 La estructura de AC-98-3 es:



Las características fisicoquímicas del AC-98-3 son como sigue:

- a) Fórmula molecular aparente:  $C_{58}H_{96}N_{12}O_{26}$
- b) Peso molecular: ES (IEP)  $[M+2H]^{2+} = M/Z$  690 (p. m. = 1378) EMBARAR calculado para  $C_{59}H_{87}N_{12}O_{26} = M/Z$  1379,5854 EMBARAR observado =  $M/Z$  1379,5861  $\Delta m m u = 0,5$
- c) Espectro de Absorción Ultravioleta:  $\lambda_{max}$  nm MeOH = 280, 273, 201;
- d) Espectro de Absorción Infrarrojo: como se muestra en la FIG. 3 (disco de KBr): 3374, 3277, 1681, 1634., 1554, 1510  $cm^{-1}$ ;
- e) Espectro de Resonancia Magnética de Protón: como se muestra en la FIG. 8 (300 MHz,  $CD_3OD/D_2O$  1:1)
- f) Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13: como se muestra en la FIG.13 (75 MHz,  $CD_3OD/D_2O$  1:1), los picos significativos se listan a continuación ( $\delta$  en TMS);
- 177,3, 174,4, 173,9, 173,5, 173,5, 173,2, 173,0, 161,9, 161,7, 157,8, 144,8, 133,2, 133,1, 131,2, 130,5, 129,8, 119,4, 101,2, 100,8, 83,5, 82,8, 76,7, 75,2, 74,8, 73,9, 73,7, 73,6, 71,7, 76,4, 72,2, 72,0, 71,3, 69,9, 67,6, 63,9,63,8, 63,8, 63,5, 62,7, 61,8, 58,4,58,3, 57,8, 56,8, 56,1, 45,0, 44,8, 44,6, 44,1, 38,7, 19,7, 45,6, 28,2, 24,27, 24,24.

La estructura de AC-98-4 es:

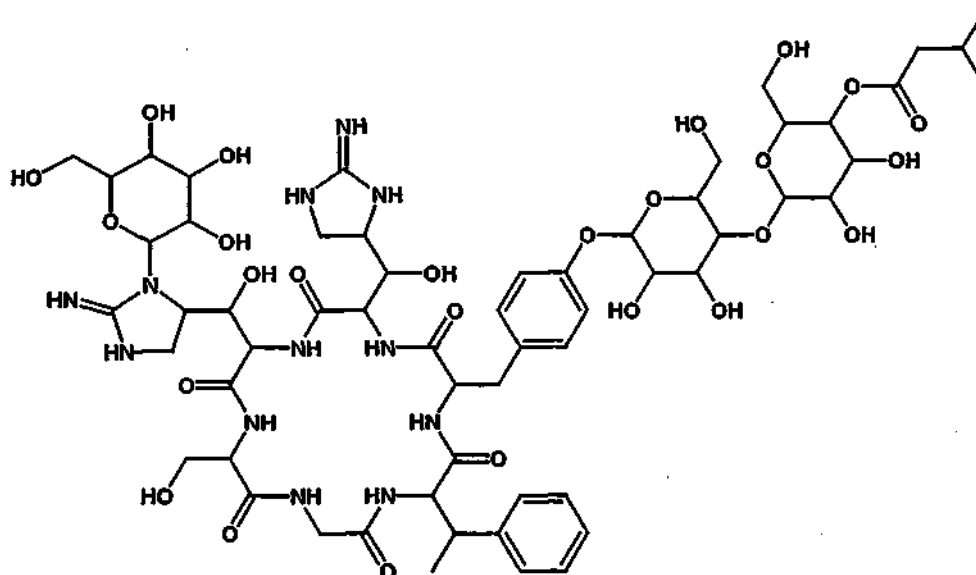


AC-98-4

Las características fisicoquímicas del AC-98-4 son como sigue:

- a) Fórmula molecular aparente:  $C_{59}H_{86}N_{12}O_{26}$
- b) Peso molecular: ES (IEP)  $[M+2H]^{2+} = M/Z$  690 (p. m. = 1378) EMBARAR calculado para  $C_{59}H_{87}N_{12}O_{26} = M/Z$  1379,5854 EMBARAR observado =  $M/Z$  1379,5879  $\Delta m m u = 2,5$
- c) Espectro de Absorción Ultravioleta:  $\lambda_{max}$  nm MeOH = 280, 273, 201;
- d) Espectro de Absorción Infrarrojo: como se muestra en la FIG. 4 (disco de KBr): 3374, 3277, 1681, 1634, 1554, 511  $cm^{-1}$ ;
- e) Espectro de Resonancia Magnética de Protón: como se muestra en la FIG. 9 (300 MHz,  $CD_3OD/D_2O$  1:1)
- f) Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13: como se muestra en la FIG.14 (75 MHz,  $CD_3OD/D_2O$  1:1), los picos significativos se listan a continuación ( $\delta$  en TMS);
- 174,4, 173,9, 173,5, 173,6, 173,2, 173,0, 161,8, 161,8, 158,0, 144,9, 133,2, 133,1, 131,2, 130,5, 129,8, 119,5, 104,1, 101,1, 83,7, 82,8, 76,6, 76,9, 75,0, 74,2, 73,8, 73,6, 76,4, 71,4, 72,1, 72,1, 71,4, 67,0, 67,6, 63,8, 63,8, 63,9, 63,7, 62,7, 61,8, 58,4, 58,4, 57,9, 56,9, 56,3, 45,1, 44,9, 44,7, 44,1, 38,8, 19,6, 177,6, 45,8, 28,3, 24,3.

La estructura de AC-98-5 es:



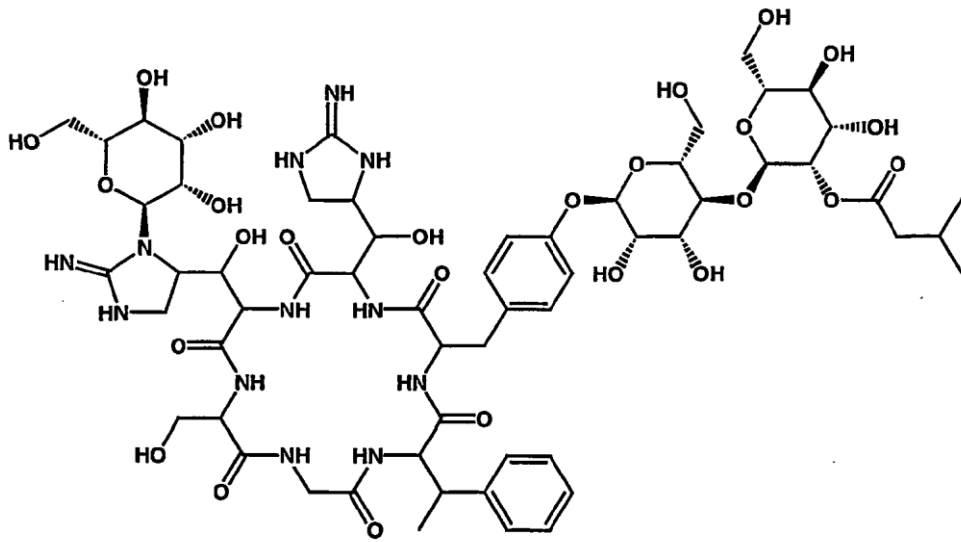
AC-98-5

Las características fisicoquímicas del AC-98-5 son como sigue:

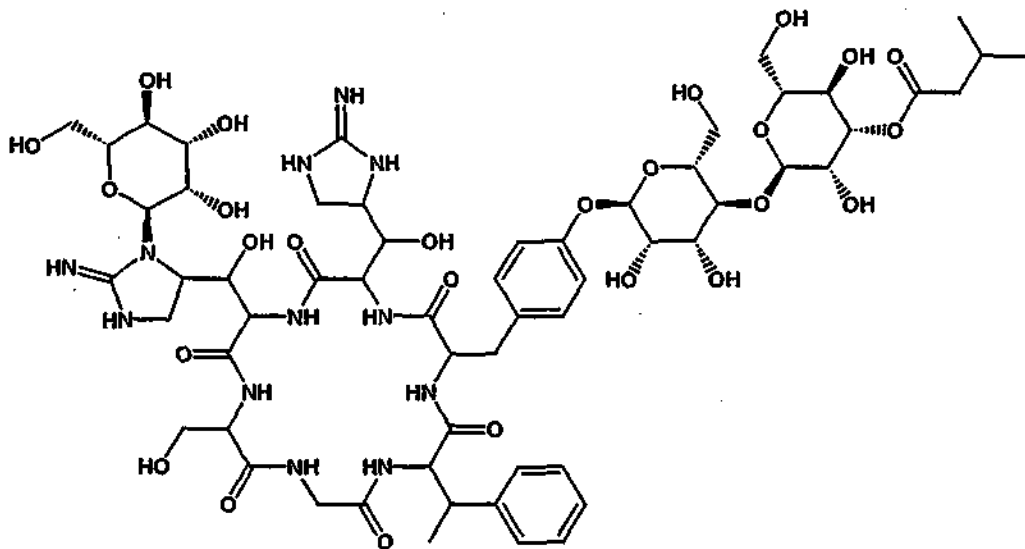
- a) Fórmula molecular aparente:  $C_{59}H_{86}N_{12}O_{26}$
- b) Peso molecular: ES (IEP)  $[M+2H]^{2+} = M/Z$  690 (p. m. = 1378) EMBARAR calculado para  $C_{59}H_{86}N_{12}O_{26}Na = M/Z$  1401,5674 EMBARAR observado =  $M/Z$  1401,5693  $\Delta m m u = 1,9$
- c) Espectro de Absorción Ultravioleta:  $\lambda_{max}$  nm MeOH = 280, 273, 201;
- d) Espectro de Absorción Infrarrojo: como se muestra en la FIG. 5 (disco de KBr): 3374, 3277, 1681, 1634, 1554, 1510  $cm^{-1}$ ;
- e) Espectro de Resonancia Magnética de Protón: como se muestra en la FIG. 10 (300 MHz,  $CD_3OD/D_2O$  1:1)
- f) Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13: como se muestra en la FIG.15 (75 MHz,  $CD_3OD/D_2O$  1:1), los picos significativos se listan a continuación ( $\delta$  en TMS);
- 177,1 174,7, 173,9, 173,6, 173,7, 173,3, 173,1, 162,1, 161,9, 157,9, 144,9, 133,1, 133,1, 130,5, 129,7, 119,4, 104,3, 101,0, 83,9, 82,9, 76,7, 74,7, 75,0, 74,2, 73,9, 73,6, 71,8, 73,7, 72,3, 72,1, 71,6, 72,0, 67,7, 63,8, 63,8, 63,9, 64,3, 62,6, 61,9, 58,5, 58,6, 58,0, 57,0, 56,5, 45,1, 45,0, 44,8, 44,0, 38,8, 19,5, 45,9, 28,3, 24,36, 24,33.

En particular, las estructuras de AC-98-1, AC-98-2, AC-98-3, AC-98-4 y AC-98-5 sustancialmente puros son:

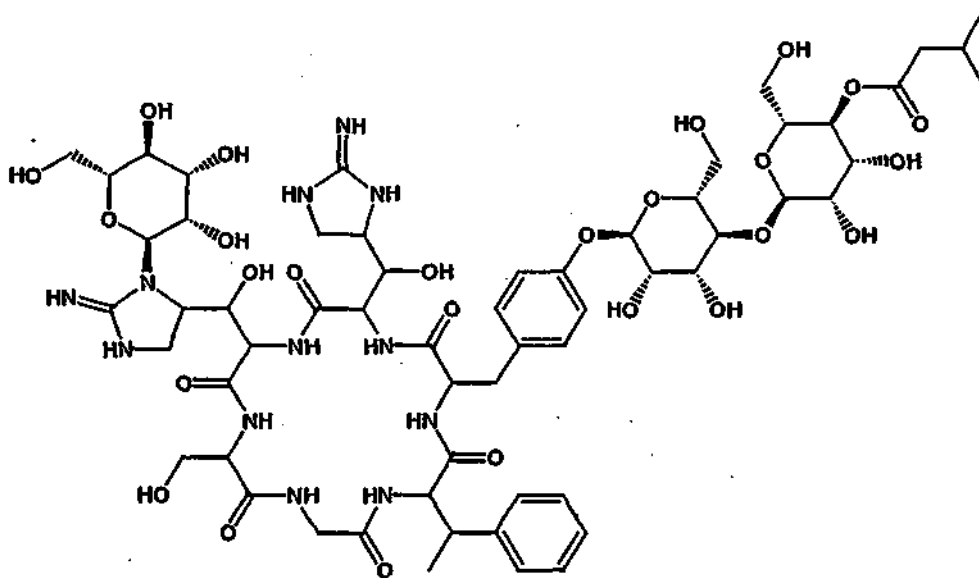




AC-98-3



AC-98-4



AC-98-5

Esta invención proporciona un procedimiento de preparación, separación y aislamiento de antibióticos glicopeptídicos AC-98-3, AC-98-4 y AC-98-5, sustancialmente puros, a partir de una mezcla compleja recuperada.

5 Se divulga un procedimiento para preparar antibiótico glicopeptídico AC-98-1, sustancialmente puro, que comprende las etapas de:

a. cultivar una cepa productora adecuada de *Streptomyces hygroscopicus* en un medio de cultivo adecuado bajo condiciones aeróbicas, para producir una mezcla de antibióticos AC-98 que contiene AC-98-1;

b. recuperar dicha mezcla de antibióticos AC-98 que contiene el AC-98-1; y

10 c. separar y aislar el AC-98-1 sustancialmente puro, como la sal del ácido trifluoracético, mediante cromatografía de líquidos de alta presión de fase inversa, con un gradiente de la fase móvil desde aproximadamente 11% hasta aproximadamente 25% de acetonitrilo en agua que contiene aproximadamente 0,02% de ácido trifluoracético.

También se prefiere un gradiente de la fase móvil desde aproximadamente 40% hasta aproximadamente 60% de metanol en agua, que contiene aproximadamente 0,02% de ácido trifluoracético.

15 Se divulga además un procedimiento para preparar antibiótico glicopeptídico AC-98-2, sustancialmente puro, que comprende las etapas de:

a. cultivar una cepa productora adecuada de *Streptomyces hygroscopicus* en un medio de cultivo adecuado bajo condiciones aeróbicas, para producir una mezcla de antibióticos AC-98 que contiene AC-98-2;

b. recuperar dicha mezcla de antibióticos AC-98 que contiene el AC-98-2; y

20 c. separar y aislar el AC-98-2 sustancialmente puro, como la sal del ácido trifluoracético, mediante cromatografía de líquidos de alta presión de fase inversa, con un gradiente de la fase móvil desde aproximadamente 11% hasta aproximadamente 25% de acetonitrilo en agua que contiene aproximadamente 0,02% de ácido trifluoracético.

25 También se prefiere un gradiente de la fase móvil desde aproximadamente 40% hasta aproximadamente 60% de metanol en agua, que contiene aproximadamente 0,02% de ácido trifluoracético.

Esta invención proporciona además un procedimiento para preparar antibiótico glicopeptídico AC-98-3, sustancialmente puro, que comprende las etapas de:

a. cultivar una cepa productora adecuada de *Streptomyces hygrosopicus* en un medio de cultivo adecuado bajo condiciones aeróbicas, para producir una mezcla de antibióticos AC-98 que contiene AC-98-3;

b. recuperar dicha mezcla de antibióticos AC-98 que contiene el AC-98-3; y

5 c. separar y aislar el AC-98-3 substancialmente puro, como la sal del ácido trifluoracético, mediante cromatografía de líquidos de alta presión de fase inversa, con un gradiente de la fase móvil desde aproximadamente 11% hasta aproximadamente 25% de acetonitrilo en agua que contiene aproximadamente 0,02% de ácido trifluoracético.

También se prefiere un gradiente de la fase móvil desde aproximadamente 40% hasta aproximadamente 60% de metanol en agua, que contiene aproximadamente 0,02% de ácido trifluoracético.

10 Esta invención proporciona además un procedimiento para preparar antibiótico glicopeptídico AC-98-4, substancialmente puro, que comprende las etapas de:

a. cultivar una cepa productora adecuada de *Streptomyces hygrosopicus* en un medio de cultivo adecuado bajo condiciones aeróbicas, para producir una mezcla de antibióticos AC-98 que contiene AC-98-4;

b. recuperar dicha mezcla de antibióticos AC-98 que contiene el AC-98-4; y

15 c. separar y aislar el AC-98-4 substancialmente puro, como la sal del ácido trifluoracético, mediante cromatografía de líquidos de alta presión de fase inversa, con un gradiente de la fase móvil desde aproximadamente 11% hasta aproximadamente 25% de acetonitrilo en agua que contiene aproximadamente 0,02% de ácido trifluoracético.

20 También se prefiere un gradiente de la fase móvil desde aproximadamente 40% hasta aproximadamente 60% de metanol en agua, que contiene aproximadamente 0,02% de ácido trifluoracético.

Esta invención proporciona además un procedimiento para preparar antibiótico glicopeptídico AC-98-5, substancialmente puro, que comprende las etapas de:

a. cultivar una cepa productora adecuada de *Streptomyces hygrosopicus* en un medio de cultivo adecuado bajo condiciones aeróbicas, para producir una mezcla de antibióticos AC-98 que contiene AC-98-5;

25 b. recuperar dicha mezcla de antibióticos AC-98 que contiene el AC-98-5; y

c. separar y aislar el AC-98-5 substancialmente puro, como la sal del ácido trifluoracético, mediante cromatografía de líquidos de alta presión de fase inversa, con un gradiente de la fase móvil desde aproximadamente 11% hasta aproximadamente 25% de acetonitrilo en agua que contiene aproximadamente 0,02% de ácido trifluoracético.

30 También se prefiere un gradiente de la fase móvil desde aproximadamente 40% hasta aproximadamente 60% de metanol en agua, que contiene aproximadamente 0,02% de ácido trifluoracético.

Se comprende que esta invención abarca todas las formas cristalinas de antibióticos glicopeptídicos AC-98-3, AC-98-4 y AC-98-5, substancialmente puros. Además, los antibióticos AC-98-3, AC-98-4 y AC-98-5, substancialmente puros, pueden obtenerse como sales farmacéuticamente aceptables, que son aquellas derivadas de ácidos orgánicos e inorgánicos tales como: acético, trifluoracético, láctico, cítrico, tartárico, fórmico, succínico, maleico, malónico, glucónico, clorhídrico, bromhídrico, fosfórico, nítrico, sulfúrico, metanosulfónico y ácidos aceptables similarmente conocidos. Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la invención se preparan usando procedimientos convencionales.

40 Los compuestos, substancialmente puros, de la invención, tienen centros de asimetría. Los compuestos sustancialmente puros pueden existir entonces en al menos dos y a menudo en más formas estereoisoméricas. La presente invención abarca todos los estereoisómeros de los compuestos sustancialmente puros, ya sean libres de otros estereoisómeros o mezclados con otros estereoisómeros en cualquier proporción y, por lo tanto incluyen, por ejemplo, mezclas racémicas de enantiómeros, así como las mezclas diastereoméricas de isómeros. La configuración absoluta de cualquier compuesto substancialmente puro puede ser determinada mediante cualquier procedimiento apropiado, incluyendo la cristalografía con rayos X convencional.

45 Por consiguiente, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un antibiótico glicopeptídico AC-98-3, AC-98-4 o AC-98-5, substancialmente puro, o una mezcla de los mismos, en combinación o asociación con un vehículo farmacéuticamente aceptable. En particular, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de AC-98-3, AC-98-4 o AC-98-5, substancialmente

puro, o una mezcla de los mismos, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La presente invención proporciona también medicamentos para su uso en el tratamiento de infecciones bacterianas en animales de sangre caliente, que comprenden administrar a dichos animales una cantidad eficaz desde el punto de vista antibacteriano, de AC-98-3, AC-98-4 o AC-98-5, substancialmente puro, o una mezcla de los mismos. Los animales de sangre caliente incluyen los seres humanos.

#### DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Nuevos antibióticos glicopeptídicos AC-98-1, AC-98-2, AC-98-3, AC-98-4 y AC-98-5, substancialmente puros, se obtienen a partir de una mezcla compleja de antibióticos AC-98 que se produce por la fermentación aeróbica del cultivo (*Streptomyces hygroscopicus*) NRRL 3085 usando las condiciones descritas en la patente de Estados Unidos nº 3.495.004. Este cultivo se mantiene en la colección de cultivos de Wyeth-Ayerst Research, Pearl River, NY, como número de cultivo AC-98. Un cultivo viable de este microorganismo ha sido depositado en la Colección de Cultivos ARS, del Laboratorio de Fermentaciones del Centro de Investigación Regional del Norte del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de Norteamérica, 1815 North University Street, Peoria, IL 61604 y ha sido añadido a su colección permanente y se le ha asignado la designación de cepa NRRL 3085. Otra cepa productora, apropiada, del *Streptomyces hygroscopicus*, es la NRRL 4600 (NRRL30439).

El cultivo del (*Streptomyces hygroscopicus*) NRRL 3 085 y la recuperación de mezclas de antibióticos AC-98 seguida de la cromatografía con gel de sílice y resina de intercambio catiónico débilmente ácida, se describe en la patente de Estados Unidos 3.495.004, incorporada en el presente documento por referencia. Las mezclas de antibióticos AC-98 de once cultivos similares, se combinan, disuelven en agua y butanol y se evaporan hasta un residuo que se calienta adicionalmente en metanol, se centrifuga y recolectan como una mezcla de antibióticos AC-98 seguido del lavado con metanol y acetona. La separación de la mezcla de antibióticos AC-98 en AC-98-1, AC-98-2, AC-98-3, AC-98-4 o AC-98-5, substancialmente puro, se describe en la presente solicitud.

Esfuerzos experimentales demostraron que la mezcla de AC-98 no podía separarse efectivamente en AC-98-1, AC-98-2, AC-98-3, AC-98-4 y AC-98-5, substancialmente puros, usando HPLC de fase inversa en columnas C-18 que incluían columnas Dynamax y Phenomenex C-18 (tamaño de poro de 60 Å, tamaño de partícula de 5 u 8 µm) usando acetonitrilo/agua o metanol/agua (ambos con valores de pH ajustados) como los disolventes. Sin embargo, sorprendentemente la resolución de la separación se logró usando columnas YMC ODS-A (tamaño de poro de 120Å, tamaño de partícula de 5 ó 10 µm). Como se determinó experimentalmente, la HPLC se lleva a cabo con columnas C18 de fase inversa (YMC ODS-A, tamaño de poro de 120Å) usando mezclas de acetonitrilo o metanol en agua que contenía pequeñas cantidades de ácido trifluoroacético para controlar la acidez en el intervalo de pH 3,5 y 5,5. La purificación de los antibióticos AC-98-1, AC-98-2, AC-98-3, AC-98-4 y AC-98-5, substancialmente puros, a partir de la mezcla de antibióticos AC-98 se consigue finalmente disolviendo la mezcla de AC-98 en agua o en una mezcla de agua/metanol y sometiendo la solución resultante a HPLC de fase inversa.

La separación de cada uno de los AC-98-1, AC-98-2, AC-98-3, AC-98-4 o AC-98-5, substancialmente puro, de los otros, se consigue usando HPLC de fase inversa en una columna C18 (YMC ODS-A, tamaño de partícula de 8 µm, 20 X 250 mm) usando una fase móvil que consistía en un gradiente desde aproximadamente 11% hasta aproximadamente 25% en volumen de acetonitrilo en agua, que contenía aproximadamente 0,02% de ácido trifluoroacético. El caudal de la fase móvil se mantiene constante a razón de 9 ml/minuto y el efluente se controló mediante absorbancia UV a 226 nm. El AC-98-5, substancialmente puro, se separa adicionalmente usando HPLC de fase inversa y un gradiente de la fase móvil desde aproximadamente 40% hasta aproximadamente 60% de metanol en agua que contenía aproximadamente 0,02% de ácido trifluoroacético.

Los antibióticos glicopeptídicos AC-98-3, AC-98-4 y AC-98-5, substancialmente puros, de esta invención se definen por tener una pureza de al menos 85%, cuando se separan unos de otros, determinada mediante cromatografía de líquidos de alta presión (HPLC). Preferentemente, el AC-98-1 substancialmente puro se obtiene con una pureza de al menos 92%, el AC-98-2 substancialmente puro se obtiene con una pureza de al menos 94%, el AC-98-3 substancialmente puro se obtiene con una pureza de al menos 89%, el AC-98-4 substancialmente puro se obtiene con una pureza de al menos 91% y el AC-98-5 substancialmente puro se obtiene con una pureza de al menos 89%.

Los antibióticos glicopeptídicos AC-98-1, AC-98-2, AC-98-3, AC-98-4 y AC-98-5, substancialmente puros, se aíslan, purifican y caracterizan a partir de la mezcla de antibióticos AC-98, disolviendo la mezcla en agua o en una mezcla de agua/metanol y sometiendo la solución resultante a cromatografía de fase inversa. Típicamente la cromatografía se lleva a cabo con medios para fase inversa C18 usando mezclas de acetonitrilo o metanol en agua que contienen pequeñas cantidades de ácidos orgánicos, tal como ácido trifluoroacético, para controlar la acidez en el intervalo de pH 3,5 y 5,5.

El cultivo de cepas productoras, apropiadas, de *Streptomyces hygroscopicus*, puede llevarse a cabo en una amplia

5 variedad de medios de cultivo líquidos adecuados. Los medios que son útiles para la producción de antibióticos glicopeptídicos AC-98 incluyen una fuente de carbono asimilable, tal como dextrina, dextrosa, sacarosa, melazas, almidón, glicerol y similares; una fuente de nitrógeno asimilable tal como proteína, hidrolizado de proteína, polipéptidos, aminoácidos, licor de maíz y similares; y aniones y cationes inorgánicos tales como potasio, sodio, amonio, calcio, sulfato, carbonato, fosfato, cloruro y similares. Los oligoelementos tales como zinc, cobalto, hierro, boro, molibdeno, cobre y similares, son suministrados como impurezas de otros constituyentes de los medios. Las condiciones aeróbicas incluyen la aireación en depósitos y botellas alimentadas por aire estéril forzado, a través de la superficie del medio de fermentación o sobre el mismo. La agitación adicional en depósitos se proporciona mediante un agitador mecánico. Se puede añadir un agente antiespumante, tal como polipropilenglicol, según sea necesario. En general, el cultivo de una cepa productora adecuada, de *Streptomyces hygroscopicus*, en un medio de cultivo adecuado, se continúa durante un tiempo de aproximadamente 24 a aproximadamente 240 horas, para producir una mezcla de antibióticos AC-98 que contiene AC-98-1, AC-98-2, AC-98-3, AC-98-4 y AC-98-5. En particular, medios de cultivo líquidos, apropiados, se listan en la Tabla A.

Conservación de los cultivos.

15 Los cultivos se pueden conservar como células enteras congeladas (micelios vegetativos congelados, FVM) a -70 °C. Se puede añadir glicerol a células del cultivo durante 24-48 horas en TSBG (caldo de soya tréptico [Difco] complementado con 20 g/l de glucosa) hasta una concentración final del 20%. La suspensión se puede dividir en partes alícuotas en crioviales y congelarse.

Desarrollo del inóculo y crecimiento de organismos para la preparación de cultivos concentrados congelados

20 Las fermentaciones pueden inocularse a partir de células de estadio de "semillas" cultivadas en medio TSBG. Las células para inóculo pueden cultivarse en varias configuraciones, dependiendo de la escala de fermentación, tal como, en tubos de ensayo que contienen 10 ml del medio, matraces agitados que contienen 25, 50, 250 ó 500 ml del medio o en un fermentador de 10 litros. Las siembras primarias (tubo, matraces) pueden inocularse a partir de FVM a razón de 0,2-5,0% e incubarse en un agitador giratorio a 30 °C durante un tiempo de 24 a 48 horas. Las siembras primarias pueden usarse para la inoculación de un matraz agitado y de fermentadores de diez litros. Se puede usar un segundo estadio, un fermentador de siembra TSBG de 10 litros, para la inoculación de fermentaciones de 300 litros. Los fermentadores de siembra pueden operarse a 30 °C, 500 rpm con 1 wm de aire durante un tiempo de 24-48 horas.

Tabla A

Composición de los medios de fermentación						
Componente	BPM17	BPM17stat	BPM17st atgal	BPM17st atman	BPM27	BPM27 -man
Pharmamedia (Traders)	10 g/l	20 g/l	20 g/l	20 g/l	20 g/l	20 g/l
Glucosa	40 g/l	60 g/l	60 g/l	60 g/l	60 g/l	60 g/l
Galactosa	-	-	20 g/l	-	-	-
Manosa	-	-	-	2 g/l	2 g/l	-
CaCO <sub>3</sub> (cal de Mississippi)	5 g/l	5 g/l	5 g/l	5 g/l	-	-
CaCO <sub>3</sub> (Gamaco)	-	-	-	-	15 g/l	15 g/l

30 Las fermentaciones en matraz agitado pueden llevarse a cabo a 30 °C en un agitador giratorio que funciona a 250 rpm (carrera de 5,08 cm (2 pulgadas)) durante un tiempo de 3 a 5 días. Las fermentaciones de diez litros pueden llevarse a cabo a 30 °C durante un tiempo de 3 a 5 días a 30 °C, a 400-800 rpm con un caudal de aire de 1 wm. La fermentación a 300 litros puede llevarse a cabo similarmente con agitación a 170-200 rpm. Al medio del fermentador puede añadirse un agente antiespumante de polipropilenglicol, tal como el Macol P2000, a razón de 0,2 a 2,0%. Las fermentaciones de 300 litros con el medio BPM17 statgal, emplean galactosa a, razón de 8 g/l en lugar de la concentración para menor escala de 20 g/l.

Análisis de antibióticos glicopeptídicos mediante CL/EM

Los pesos moleculares de antibióticos glicopeptídicos AC-98 substancialmente puros, pueden determinarse usando

un sistema de CL/EM con electropulverización API de Hewlett-Packard, con un espectrómetro de masas HP 5989B, electropulverización API 59987A de HP, CLAP serie II HP 1090 y un sistema para tratamiento de datos ChemStation de HP con el software para CL/EM HPG1047A y detección UV a 226 nm. El electropulverización para EM puede llevarse a cabo en el modo positivo con un intervalo de rastreo de 400 a aproximadamente 1700 m/z.

#### 5 Procedimiento opcional para el aislamiento de una mezcla de antibióticos glicopeptídicos AC-98

10 Opcionalmente, los antibióticos glicopeptídicos del complejo AC-98 pueden aislarse de las fermentaciones, haciendo pasar el sobrenadante a través de una columna que contiene resina de metacrilato XAD-7. La mezcla de antibióticos glicopeptídicos del complejo AC-98, retenida sobre la columna puede eluirse después mediante un disolvente mixto de acetonitrilo en agua, que contiene una pequeña cantidad de ácido. Después de que el disolvente se evapora bajo presión reducida, los componentes individuales pueden purificarse mediante cromatografía de fase inversa. Típicamente la cromatografía se lleva a cabo con medios para fase inversa C18, usando mezclas de acetonitrilo o metanol en agua con una pequeña cantidad de ácido para el control del pH, y el ácido preferido es el ácido trifluoroacético.

15 Los antibióticos glicopeptídicos AC-98-1, AC-98-2, AC-98-3, AC-98-4 y AC-98-5, substancialmente puros, derivan su utilidad de su actividad antibacteriana. En particular, los antibióticos AC-98-1, AC-98-2, AC-98-3, AC-98-4 y AC-98-5, substancialmente puros, son activos contra cepas de estafilococos susceptibles a la meticilina y resistentes a la meticilina, contra estreptococos susceptibles a la penicilina y resistentes a la penicilina, y contra enterococos susceptibles a la vancomicina y resistentes a la vancomicina. Además, por ejemplo, estos compuestos se pueden usar en la supresión de infecciones bacterianas, como un agente antibacteriano tópico y como un desinfectante general para los laboratorios.

20 En el uso terapéutico, los antibióticos glicopeptídicos AC-98-3, AC-98-4 y AC-98-5, substancialmente puros, de esta invención, pueden administrarse en la forma de composiciones farmacéuticas convencionales, apropiadas para el uso pretendido. Esas composiciones pueden formularse a fin de que sean apropiadas para la administración oral, parenteral o tópica. Los antibióticos glicopeptídicos AC-98-3, AC-98-4 y AC-98-5, substancialmente puros, pueden combinarse mezclados con un vehículo farmacéutico no tóxico, vehículo que puede tomar cierta variedad de formas, dependiendo de la forma de preparación deseada para la administración, es decir oral, parenteral o tópica.

25 Cuando los antibióticos glicopeptídicos AC-98-3, AC-98-4 y AC-98-5, substancialmente puros, se emplean para la utilidad anterior, pueden combinarse con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, disolventes, diluyentes y similares, y pueden ser administrados oralmente en formas tales como comprimidos, cápsulas, polvos, gránulos o suspensiones dispersables que contienen, por ejemplo, desde aproximadamente 0,05 hasta 5% de agentes de suspensión, jarabes que contienen, por ejemplo, desde aproximadamente 10 hasta 50% de azúcar, y elixires que contienen, por ejemplo, desde aproximadamente 20 hasta 50% de etanol, y similares, o parenteralmente en la forma de soluciones o suspensiones inyectables estériles, que contengan desde aproximadamente 0,05 hasta 5% de agente de suspensión, en un medio isotónico. Estas preparaciones farmacéuticas pueden contener, por ejemplo, desde aproximadamente 0,05 hasta aproximadamente 90% de los antibióticos glicopeptídicos AC-98-3, AC-98-4 y AC-98-5, substancialmente puros, en combinación con el vehículo, más usualmente entre aproximadamente 5% y 60% en peso.

30 Una cantidad efectiva desde el punto de vista antibacteriano, de antibióticos glicopeptídicos AC-98-3, AC-98-4 o AC-98-5, substancialmente puros, desde aproximadamente 0,5 mg/kg del peso corporal hasta aproximadamente 200,0 mg/kg del peso corporal, deberá administrarse de una a cinco veces por día, a través de cualesquiera rutas de administración tópicas, incluyendo, aunque sin quedar limitadas a, oral, parenteral (incluyendo subcutánea, intravenosa, intramuscular, inyección intraesternal o técnicas de infusión), mediante atomización para inhalación, o rectalmente, en formulaciones unitarias de dosificación que contienen excipientes, adyuvantes y vehículos, no tóxicos, farmacéuticamente aceptables, convencionales. Sin embargo, se comprenderá que el nivel de dosis específico y la frecuencia de la dosificación de algún paciente en particular, pueden variarse y dependerán de una diversidad de factores que incluyen la actividad del compuesto específico empleado, la estabilidad metabólica y la duración de la acción de ese compuesto, la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo, la dieta, el modo y tiempo de administración, la velocidad de excreción, la combinación de fármacos, la severidad del estado patológico particular, y el huésped que se somete a la terapia.

35 Adicionalmente, la cantidad efectiva desde el punto de vista antibacteriano de los antibióticos glicopeptídicos AC-98-3, AC-98-4 o AC-98-5, substancialmente puros, puede ser administrada con una dosificación y frecuencia sin inducir efectos secundarios experimentados comúnmente con la terapia que usa antibióticos convencionales, que podrían incluir la hipersensibilidad, bloqueo neuromuscular, vértigo, fotosensibilidad, decoloración de los dientes, cambios hematológicos, perturbaciones gastrointestinales, ototoxicidad, y deterioro renal, hepático o cardíaco. Además la frecuencia y duración de la dosificación pueden ser controladas para limitar substancialmente los efectos dañinos a los tejidos normales, causados por la administración con la cantidad eficaz desde el punto de vista antibacteriano, o

con una cantidad superior a la misma, de los antibióticos glicopeptídicos AC-98-3, AC-98-4 o AC-98-5, substancialmente puros.

5 Estos compuestos activos pueden administrarse oralmente así como mediante las vías intravenosa, intramuscular o subcutánea. Los vehículos sólidos incluyen el almidón, la lactosa, el fosfato dicálcico, las celulosa microcristalina, la sacarosa y el caolín, mientras que los vehículos líquidos incluyen el agua estéril, los polietilenglicoles, agentes tensioactivos no iónicos y aceites comestibles tales como el aceite de maíz, cacahuete y sésamo, según sean apropiados para la naturaleza del ingrediente activo y la forma particular de la administración deseada. Los adyuvantes empleados comúnmente en la preparación de composiciones farmacéuticas pueden ser incluidos ventajosamente, tales como agentes aromatizantes, agentes colorantes, agentes conservadores y antioxidantes, por ejemplo la vitamina E, el ácido ascórbico, BHT y BHA.

10 Las composiciones farmacéuticas, desde el punto de vista de la facilidad de la preparación y administración son las composiciones sólidas, particularmente comprimidos y cápsulas rellenas de material sólido o de material líquido. Se prefiere la administración oral del compuesto.

15 Estos antibióticos glicopeptídicos AC-98-3, AC-98-4 y AC-98-5, substancialmente puros, también se pueden administrar parenteral o intraperitonealmente. Soluciones o suspensiones de estos compuestos activos, como una base libre o sal farmacológicamente aceptable pueden prepararse en agua, mezclada apropiadamente con un agente tensioactivo tal como hidroxipropil celulosa. Las dispersiones pueden prepararse también en glicerol, polietilenglicoles líquidos y mezclas de los mismos en aceite. Bajo las condiciones de almacenamiento y uso ordinarias, estas preparaciones contienen un conservador para prevenir el crecimiento de microorganismos.

20 Las formas farmacéuticas apropiadas para el uso en inyectables incluyen las soluciones o dispersiones acuosas estériles, y los polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones inyectables estériles. En todos los casos, la forma debe ser estéril y debe fluir hasta un grado tal que pueda administrarse fácilmente mediante jeringa. Debe ser estable bajo las condiciones de fabricación y almacenamiento y debe ser conservada contra la acción contaminante de microorganismos tales como bacterias y hongos. El vehículo puede ser un disolvente o medio de dispersión que contiene, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido), mezclas apropiadas de los mismos y aceite vegetal.

25 La invención se describirá adicionalmente junto con los siguientes ejemplos no limitativos.

#### EJEMPLO 1

##### Preparación de una mezcla de antibióticos AC-98.

30 Una mezcla de antibióticos AC-98 se prepara siguiendo la descripción de fermentación del Ejemplo 3 de la patente de los Estados Unidos nº 3.495.004, en la que el eluato que contiene el antibiótico, se concentra y purifica adicionalmente pasando a través de una columna de gel de sílice desactivado, seguido de resina de intercambio catiónico débilmente ácida, IRC-50. La elución de la resina mediante solución acuosa ácida, seguida de la evaporación in vacuo, proporciona una mezcla de antibióticos glicopeptídicos AC-98. La mezcla de antibióticos de once lotes de fermentación aislados individualmente, se combina para proporcionar 23,626 gramos de una mezcla de antibióticos AC-98 que se disuelve en 500 ml de agua que contiene un volumen mínimo de alcohol butílico y se filtra. El filtrado se evapora a vacío con la incorporación adicional de alcohol butílico y la evaporación continua, al mismo tiempo que se elimina el agua en exceso para proporcionar un residuo. Al residuo se añaden 100 ml de alcohol metílico seguido de calentamiento hasta el punto de ebullición y centrifugación hasta obtener un sólido. El sólido se lava con alcohol metílico y luego con acetona, seguido de la centrifugación para proporcionar 19,841 g de una mezcla de antibióticos AC-98 como un sólido, después de volver a lavar con acetona y secar.

45 La mezcla de antibióticos AC-98 se analiza mediante HPLC demostrándose que contiene principalmente 5 componentes, designados como AC-98-1 (17%), AC-98-2 (19%), AC-98-3 (15%), AC-98-4 (29%) y AC-98-5 (4%). La cantidad relativa de cada antibiótico se calcula en base al área de integración a 226 nm. Haciendo referencia al 16% restante de la mezcla de antibióticos AC-98, aproximadamente el 15% pertenece a componentes que tienen un espectro de UV diferente y menos del 1% adicional son componentes secundarios de antibióticos AC-98. El análisis se lleva a cabo mediante HPLC en una columna C18 (YMC ODS-A, tamaño de partícula de 5 µm, 4,6 x 150 mm). La fase móvil controlada mediante un detector UV a 226 nm, es un gradiente de acetonitrilo (de 10% a 50% ) en agua que contiene 0,01% de ácido trifluoroacético, durante 22 minutos, con un caudal de 1 ml por minuto. La cantidad relativa de cada antibiótico glicopeptídico se calcula en base al área de integración a 226 nm.

#### EJEMPLO 2

##### Antibióticos glicopeptídicos AC-98-1, AC-98-2, AC-98-3 y AC-98-4, substancialmente puros, de una mezcla de antibióticos AC-98

5 Se disuelve una mezcla de antibióticos AC-98 (180 mg) del Ejemplo 1, en agua (1 ml) y se somete a HPLC de fase inversa en una columna C18 (YMC ODS-A, tamaño de partícula de 8 µm, 20 x 25,0 mm). La fase móvil consiste en un gradiente desde 11% hasta 25% en volumen de acetonitrilo en agua que contiene 0,02% de ácido trifluoroacético, durante 45 minutos. El caudal de la fase móvil se mantiene constante a razón de 9 ml/minuto y el efluente se controla por absorbancia UV a 226 nm. Las fracciones recogidas individualmente, que tienen los mismos tiempos de retención de HPLC, se agrupan y una vez evaporadas se registran los espectros infrarrojos, de resonancia magnética nuclear de protones y de resonancia magnética de carbono 13. Los antibióticos glicopeptídicos AC-98-1, AC-98-2, AC-98-3 y AC-98-4, substancialmente puros, y una mezcla como sales trifluoroacetato, se aíslan y listan en la Tabla 1.

10

Tabla -1

COMPONENTE	TIEMPO DE RETENCIÓN	PESO RECOGIDO*
AC-98-1 Sustancialmente puro	20 MINUTOS	35 mg
AC-98-2 Sustancialmente puro	28 MINUTOS	29 mg
AC-98-3 Sustancialmente puro	32 MINUTOS	25 mg
AC-98-1 Sustancialmente puro	37 MINUTOS	64 mg
Mezcla	43 MINUTOS	13 mg

\*sal trifluoroacetato

**EJEMPLO 3**Aislamiento del trifluoroacetato del antibiótico glicopeptídico AC-98-5 substancialmente puro

15 La mezcla de la Tabla 1 (13 mg) que eluyó a los 43 minutos, se disuelve en agua (200 µl) y se somete a HPLC de fase inversa en una columna C18 (YMC ODS-A, tamaño de partícula de 8 µm de 20 x 250 mm). La fase móvil es un gradiente de metanol (de 40% a 60%) en agua que contiene 0,02% de ácido trifluoroacético, durante 40 minutos, con un caudal de 9 ml/minuto. El pico principal se centra en los 29 minutos, tal como se controló por un detector UV a 226 nm, y tras la evaporación se registran los espectros infrarrojo, de resonancia magnética nuclear de protones y de resonancia magnética de carbono 13. El AC-98-5 substancialmente puro (5 mg) se aísla como una sal trifluoroacetato.

20

Las purezas de los 5 antibióticos glicopeptídicos substancialmente puros, separados mediante los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-3, se determinan mediante análisis de HPLC (226 nm) con valores e:

AC98-1 ----- 92%

AC98-2-----94%

25 AC98-3-----89%

AC98-4-----91%

AC98-5-----89%

Los antibióticos glicopeptídicos AC-98-1, AC-98-2, AC-98-3, AC-98-4 y AC-98-5, substancialmente puros, se someten a ensayos en los siguientes procedimientos de ensayo farmacológico estándar.

30 **ACTIVIDAD BIOLÓGICA**

35 La actividad antibacteriana *in vitro*, de los antibióticos glicopeptídicos AC-98-1, AC-98-2, AC-98-3, AC-98-4 y AC-98-5, substancialmente puros, de los Ejemplos 2 y 3, se determina contra un espectro de bacterias, mediante un procedimiento convencional de dilución en agar. Agar de Mueller-Hinton que contiene 5% de sangre de ovino y concentraciones decrecientes a la mitad de antibióticos glicopeptídicos AC-98-1, AC-98-2, AC-98-3, AC-98-4 y AC-98-5, substancialmente puros, de los Ejemplos 2 y 3, se vierte en placas Petri. Las superficies con agar se inoculan con una cantidad de 1 a 5 x 10<sup>4</sup> unidades formadoras de colonias de bacterias, mediante un dispositivo de replicación de Steers. La concentración más baja del antibiótico, que inhibe el crecimiento de una cepa bacteriana después de 18 horas de incubación se registra como la concentración inhibidora mínima para esa cepa. Los

resultados se proporcionan en la Tabla II.

**Tabla II. Actividad antibacteriana *in vitro* de antibióticos AC-98-1, AC-98-2, AC-98-3, AC-98-4 y AC-98-5, substancialmente puros, de los Ejemplos 2 y 3**

Organismo	CIM (mg/ml)				
	AC-98-1	AC-98-2	AC-98-3	AC-98-4	AC-98-5
<i>Staphylococcus aureus</i> (NEMC-89-4)	>128	64	8	8	4
<i>Staphylococcus aureus</i> (ID-2371)	>128	128	8	8	4
<i>Staphylococcus aureus</i> (ID-2727)	>128	64	8	8	4
<i>Staphylococcus aureus</i> (SMITH)	128	64	8	8	4
<i>Staphylococcus aureus</i> (ID-3105)	128	64	8	8	4
<i>Staphylococcus aureus</i> (ID-4379)	128	64	8	4	4
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 29213)	128	64	8	8	4
<i>Staphylococcus hemolyticus</i> (ID-4061)	128	32	8	4	4
<i>Staph</i> Coagulase Neg (ID-3135)	128	32	8	4	2
<i>Staph</i> Coagulase Neg (ID-3276)	128	64	4	4	2
<i>Staph</i> Coagulase Neg (ID-3120)	128	64	8	8	2
<i>Staph</i> Coagulase Neg (ID-3941)	64	32	4	2	2
<i>Staph</i> Coagulase Neg (4615)	>128	128	8	8	4
<i>Enterococcus faecalis</i> (ID-4168)	>128	>128	64	64	16
<i>Enterococcus faecalis</i> (ID-1829)	>128	128	64	64	32
<i>Enterococcus faecalis</i> (ID-2131)	>128	>128	128	64	32
<i>Enterococcus faecalis</i> (12201)	>128	>128	64	32	16
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212)	>128	>128	64	64	16
<i>Enterococcus faecium</i> (12202)	>128	128	64	64	32
<i>Enterococcus faecium</i> (ID-3301)	>128	>128	64	64	16
<i>Enterococcus faecium</i> (ID-4133)	128	32	16	8	4
<i>Enterococcus faecium</i> (ID-3953)	>128	128	64	64	32
<i>Streptococcus pyogenes</i> (ID-3187)	>32	64	8	8	2
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (ID- 4444)	>32	>64	8	4	2
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (GC1889)			4	4	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)	>128	>128	>128	>128	>128

Pag 23 y 24	CIM (mg/ml)				
	AC-98-1	AC-98-2	AC-98-3	AC-98-4	AC-98-5
<i>Morganella morganii</i> (VGH 84-11)	>128	>128	>128	>128	>128
<i>Escherichia coli</i> (J2175)	>128	64	>128	128	64
<i>Escherichia coli</i> (J2445)	64	32	4	4	1
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	>128	64	>128	>128	128
<i>Bacillus subtilis</i> (Bacto)	>128	>128	16	16	8
<i>Micrococcus luteus</i> (ATCC 9341)	64	16	2	2	1

5

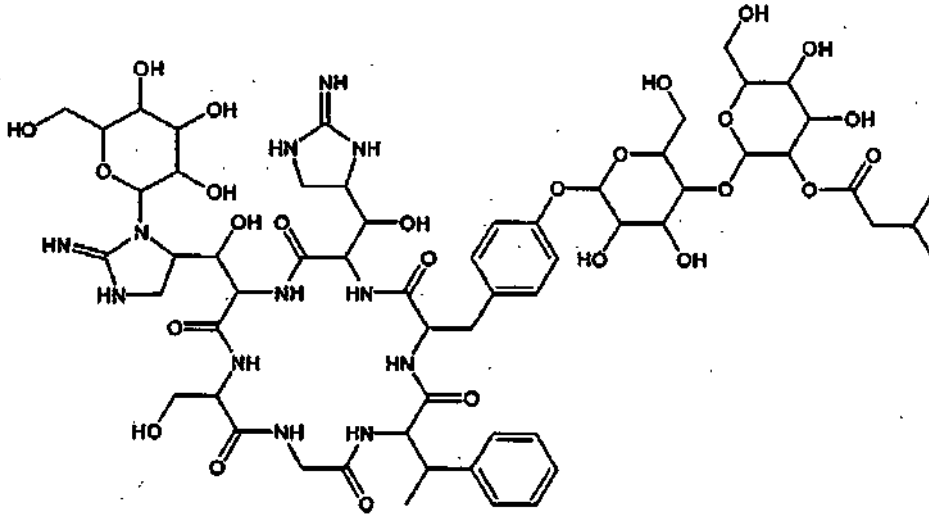
La actividad antibacteriana *in vivo* de los antibióticos glicopeptídicos, AC-98-1, AC-98-2, AC-98-3, AC-98-4 y AC-98-5 substancialmente puros, se establece infectando ratones CD-1 hembras de Charles River Laboratories, con un peso de 20 +/- 2g cada uno, intraperitonealmente, con  $6,5 \times 10^5$  UFC/0,5 ml de caldo de *Staphylococcus aureus* Smith. Los ratones se tratan por vía intravenosa, 30 minutos antes de la infección con la dosis indicada del compuesto de ensayo en 0,2 ml de agua. Los resultados de este ensayo se proporcionan en la Tabla III.

**Tabla III. Actividad antibacteriana *in vitro* de antibióticos glicopeptídicos AC-98-1, AC-98-2, AC-98-3, AC-98-4 y AC-98-5, substancialmente puros, de los Ejemplos 2 y 3**

Compuesto	DE <sub>50</sub> (iv, mg/kg)	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	
AC-98-1	20	
AC-98-2	> 32	
AC-98-3	3,8	

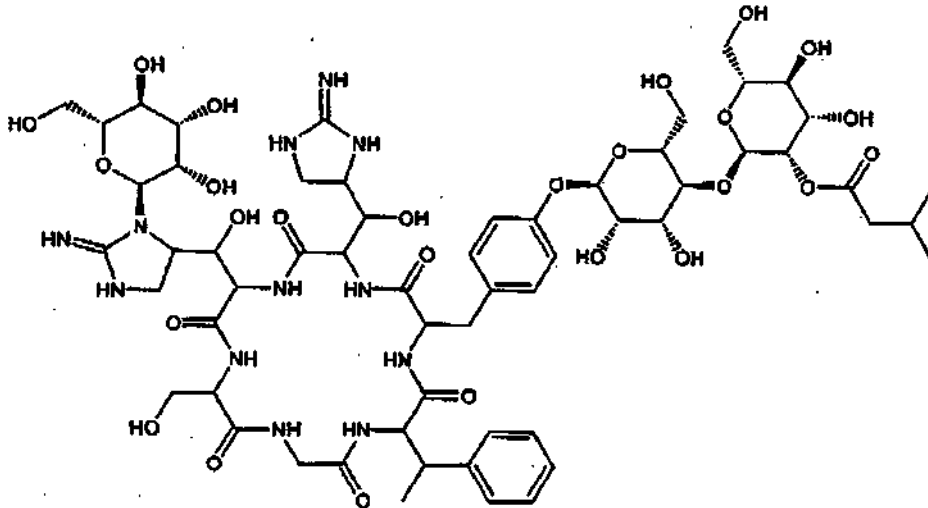
REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto sustancialmente puro que tiene la estructura

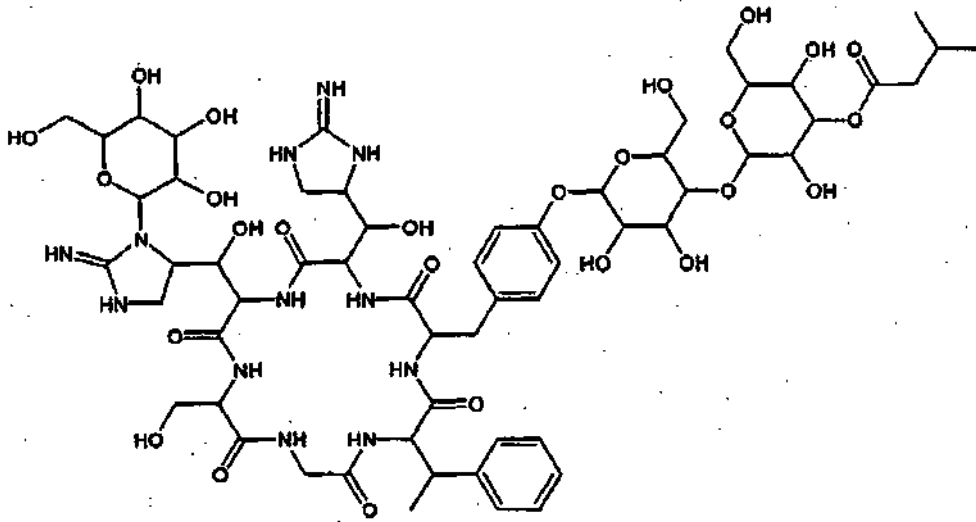


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

- 5 2. Una composición farmacéutica según la reivindicación 1 en la que el compuesto sustancialmente puro tiene la estructura

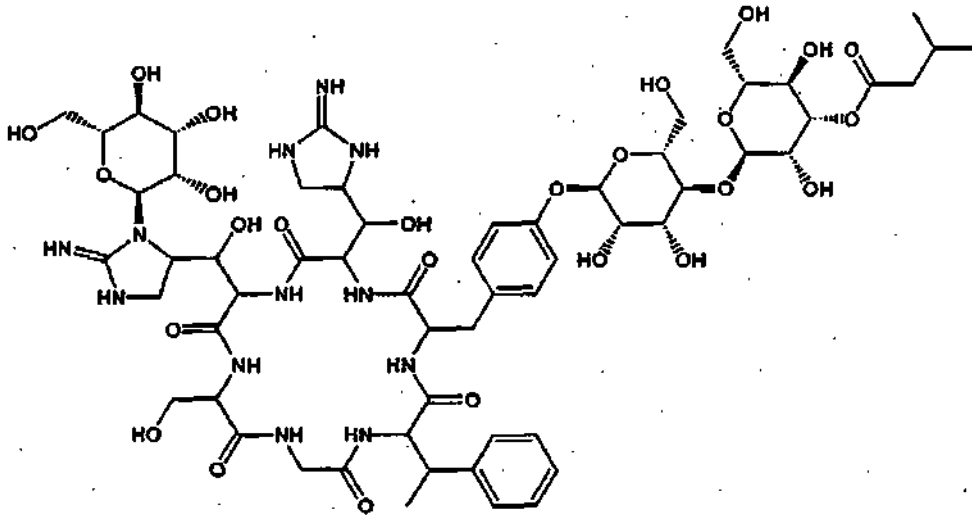


3. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto sustancialmente puro que tiene la estructura



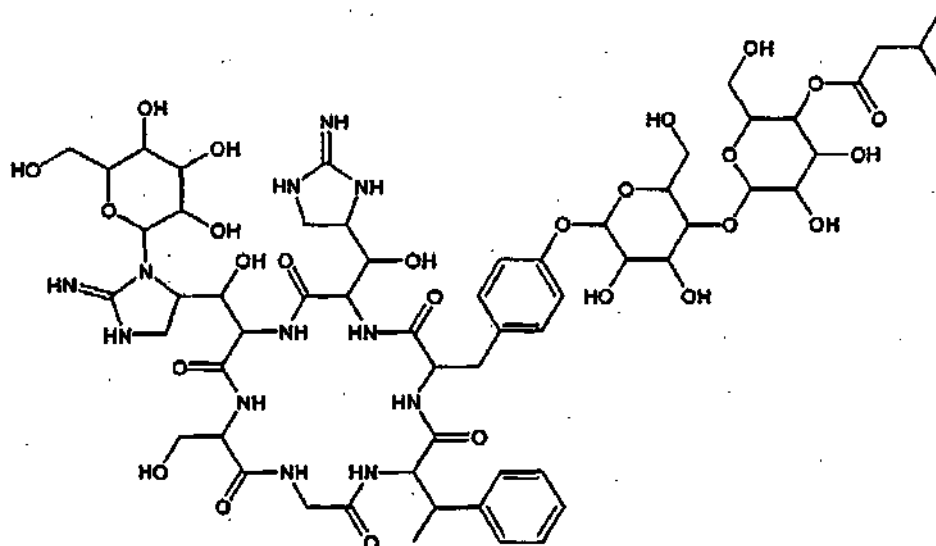
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

4. Una composición farmacéutica según la reivindicación 3 en la que el compuesto sustancialmente puro tiene la estructura



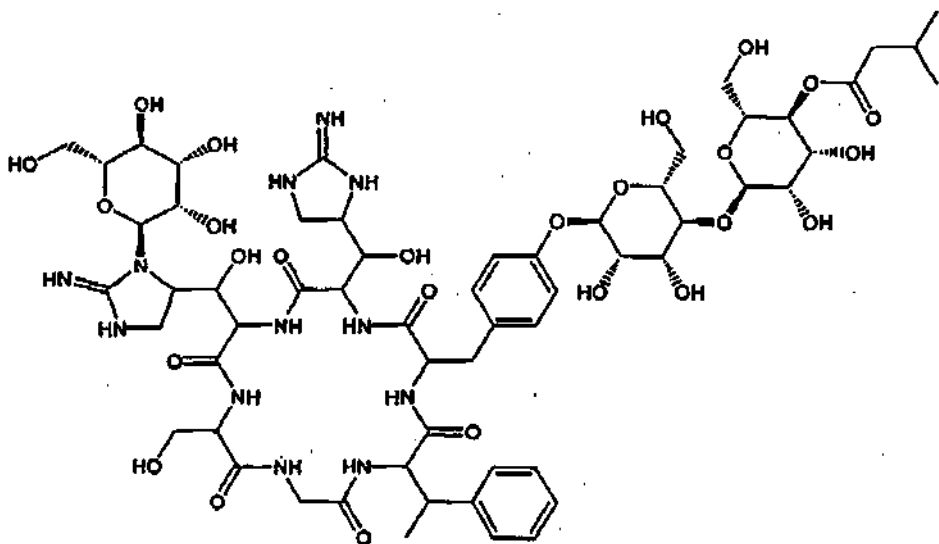
5

5. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto sustancialmente puro que tiene la estructura



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

6. Una composición farmacéutica según la reivindicación 5 en la que el compuesto sustancialmente puro tiene la estructura



5

7. Uso de un compuesto sustancialmente puro como se describe en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una composición como se describe en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la preparación de un medicamento para el tratamiento de infecciones bacterianas en un animal de sangre caliente.

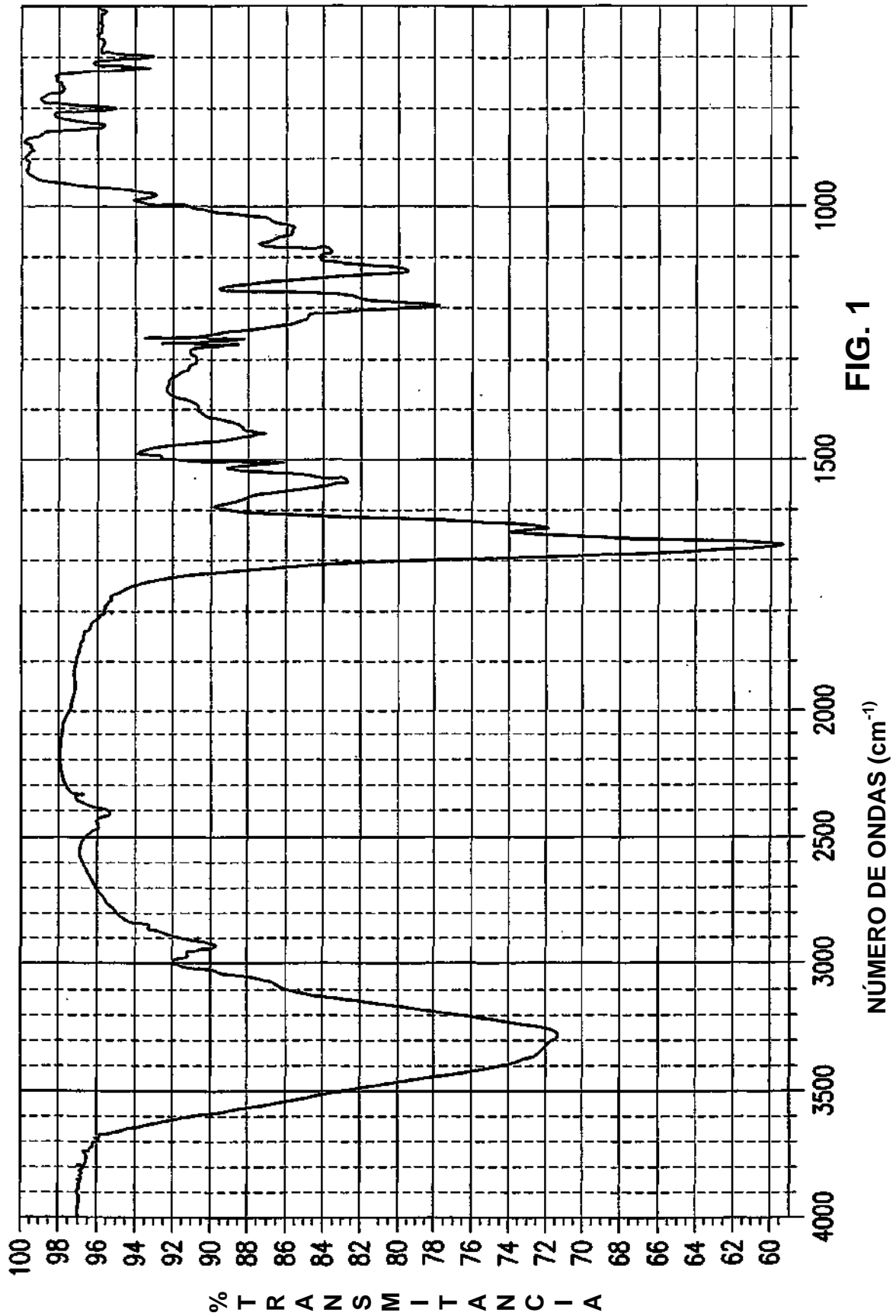


FIG. 1

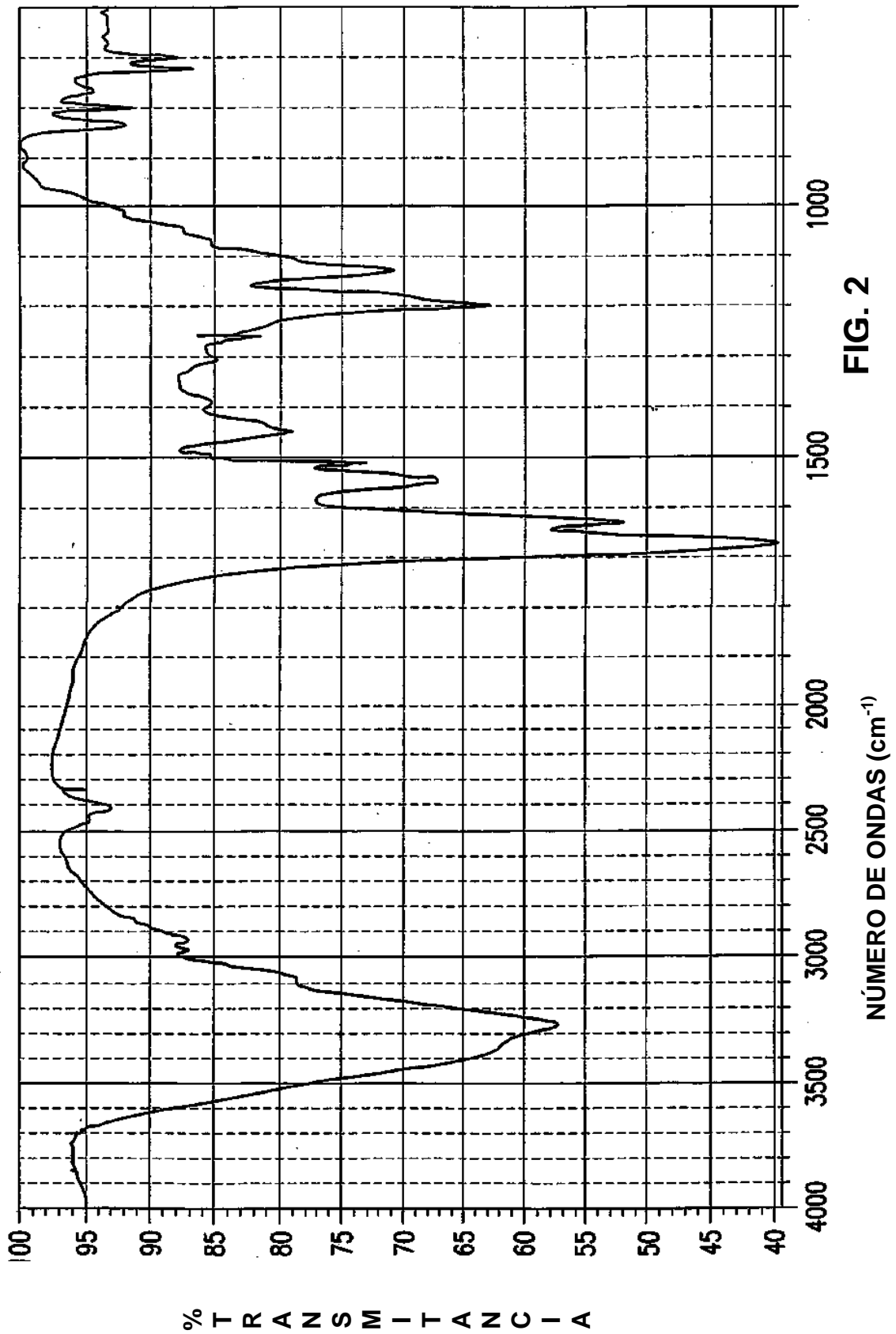


FIG. 2

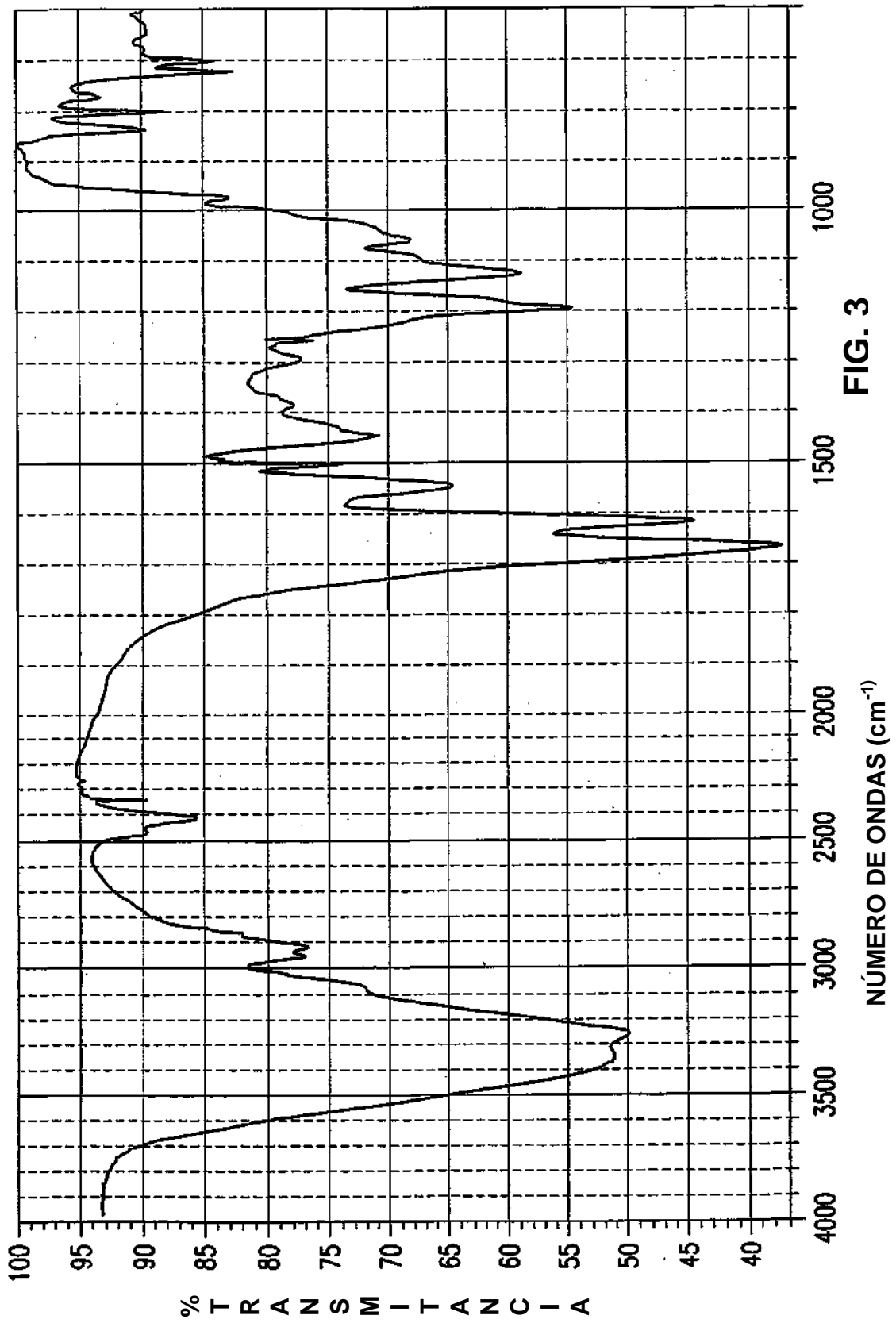


FIG. 3

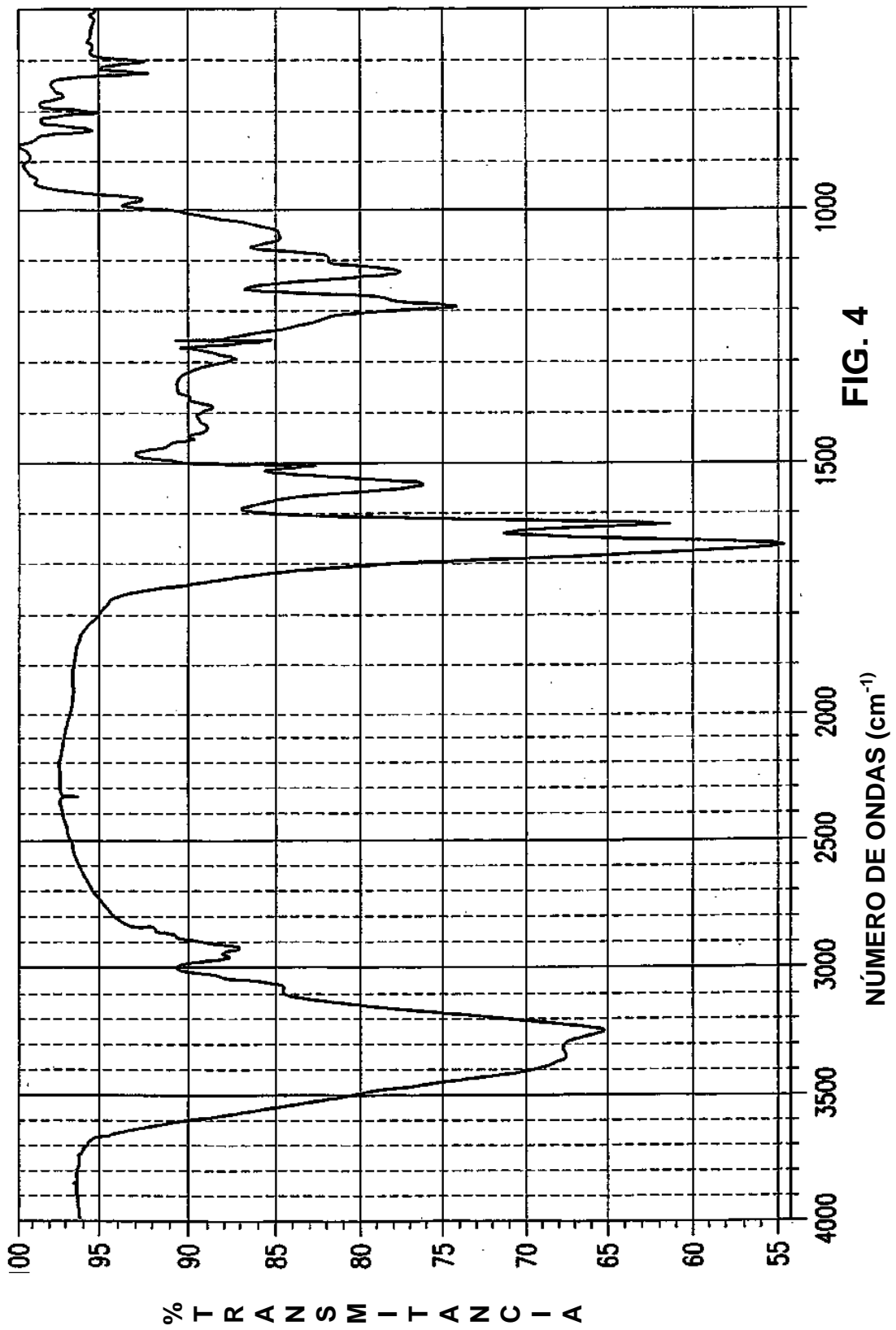


FIG. 4

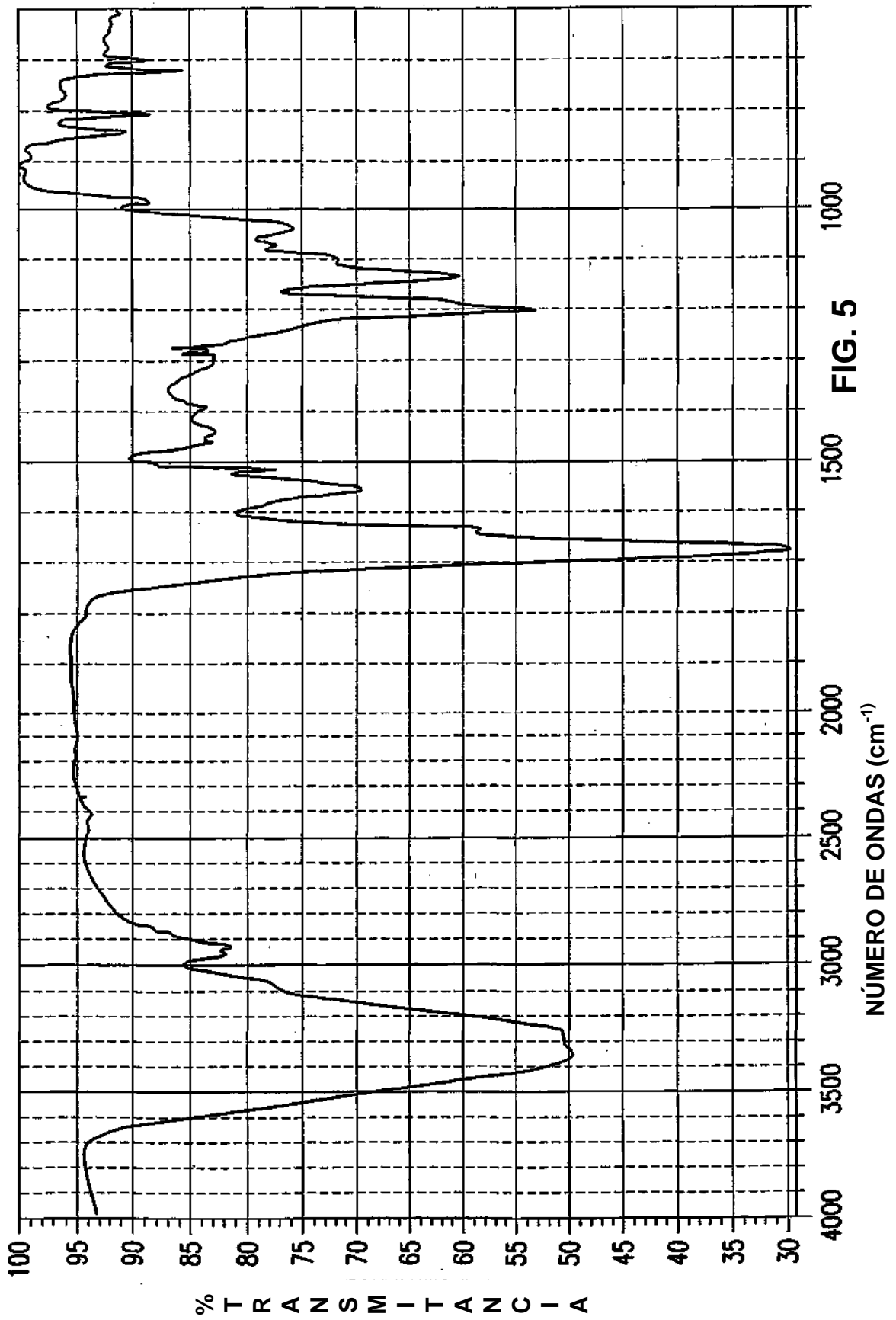


FIG. 5

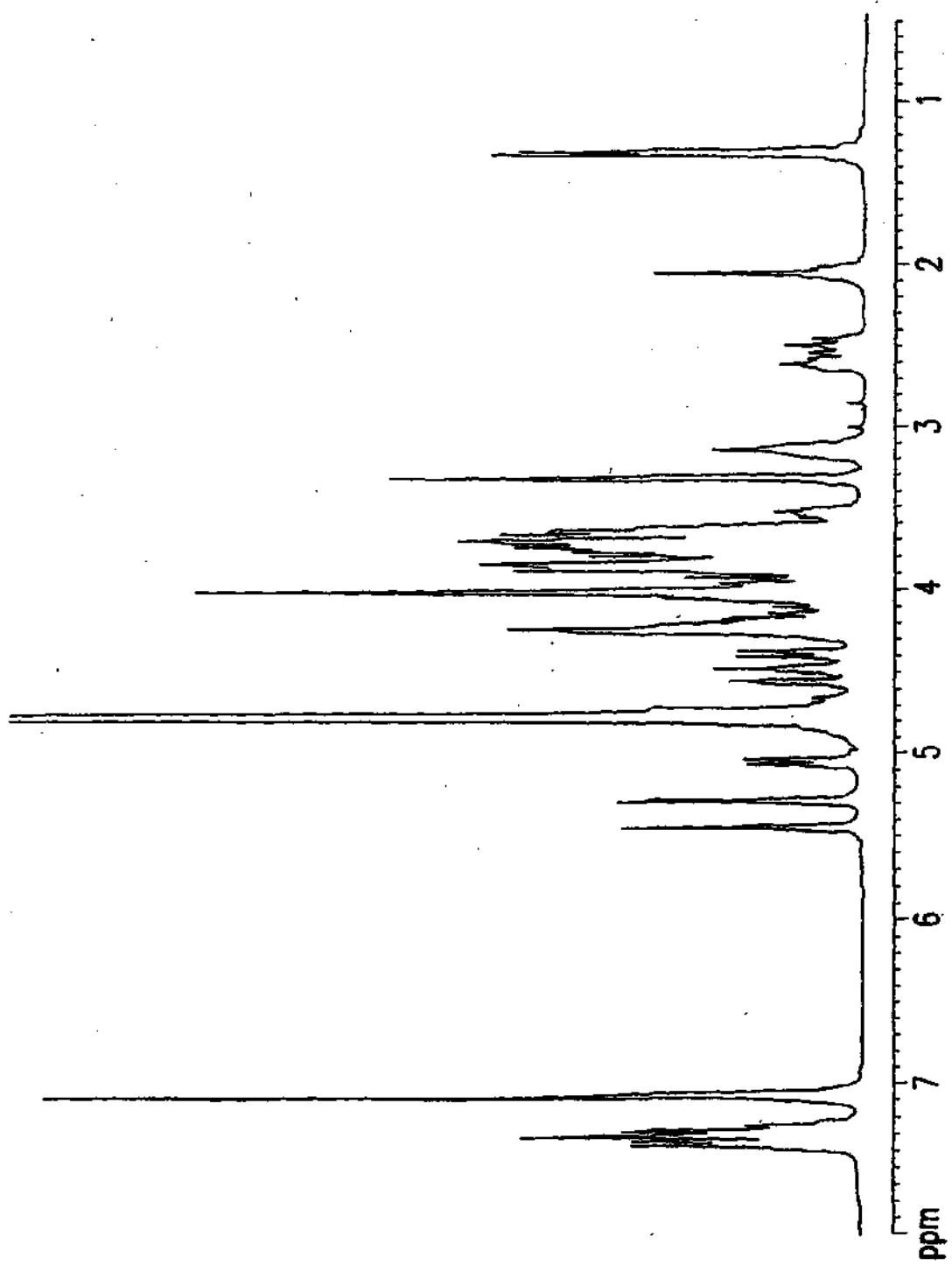


FIG. 6

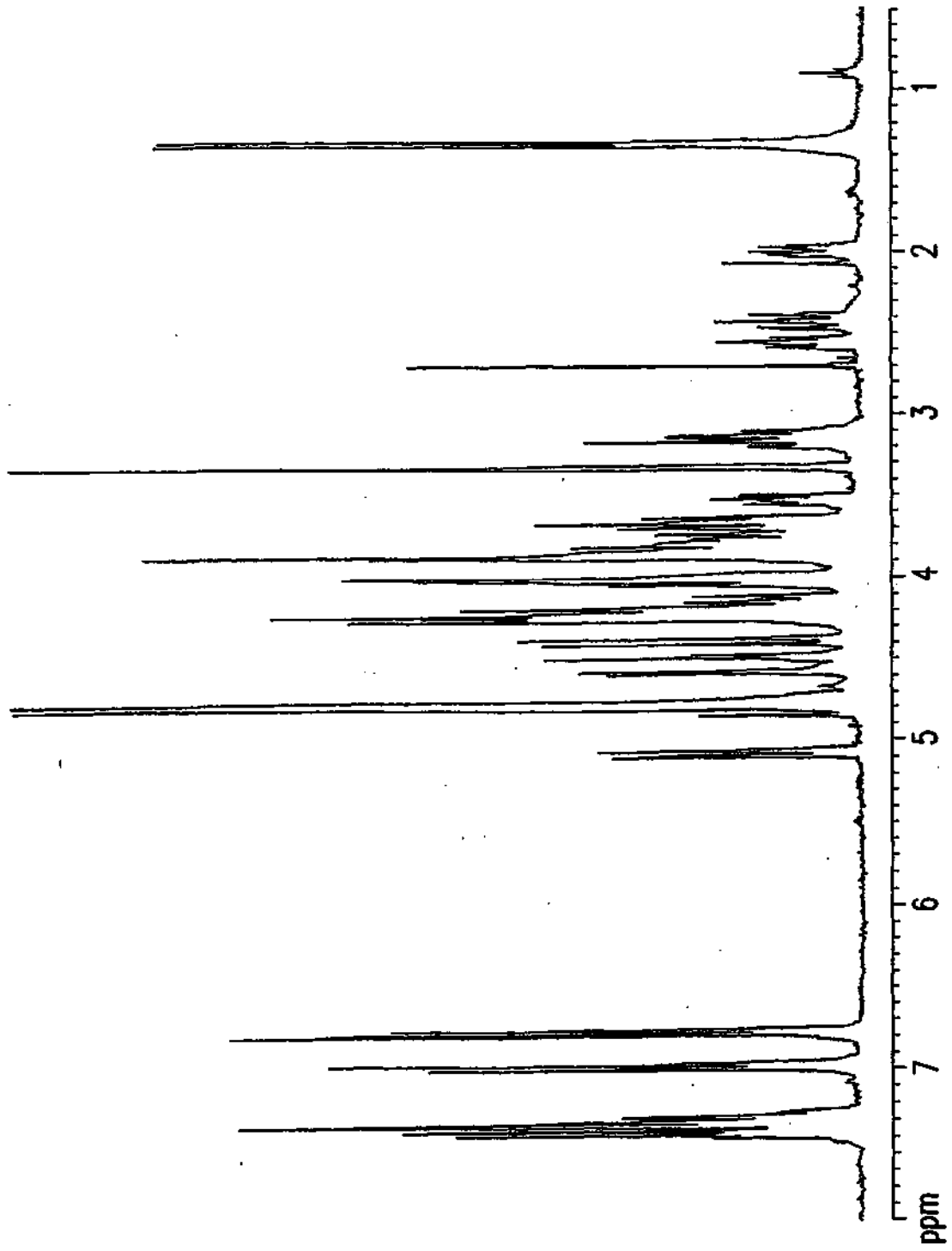


FIG. 7

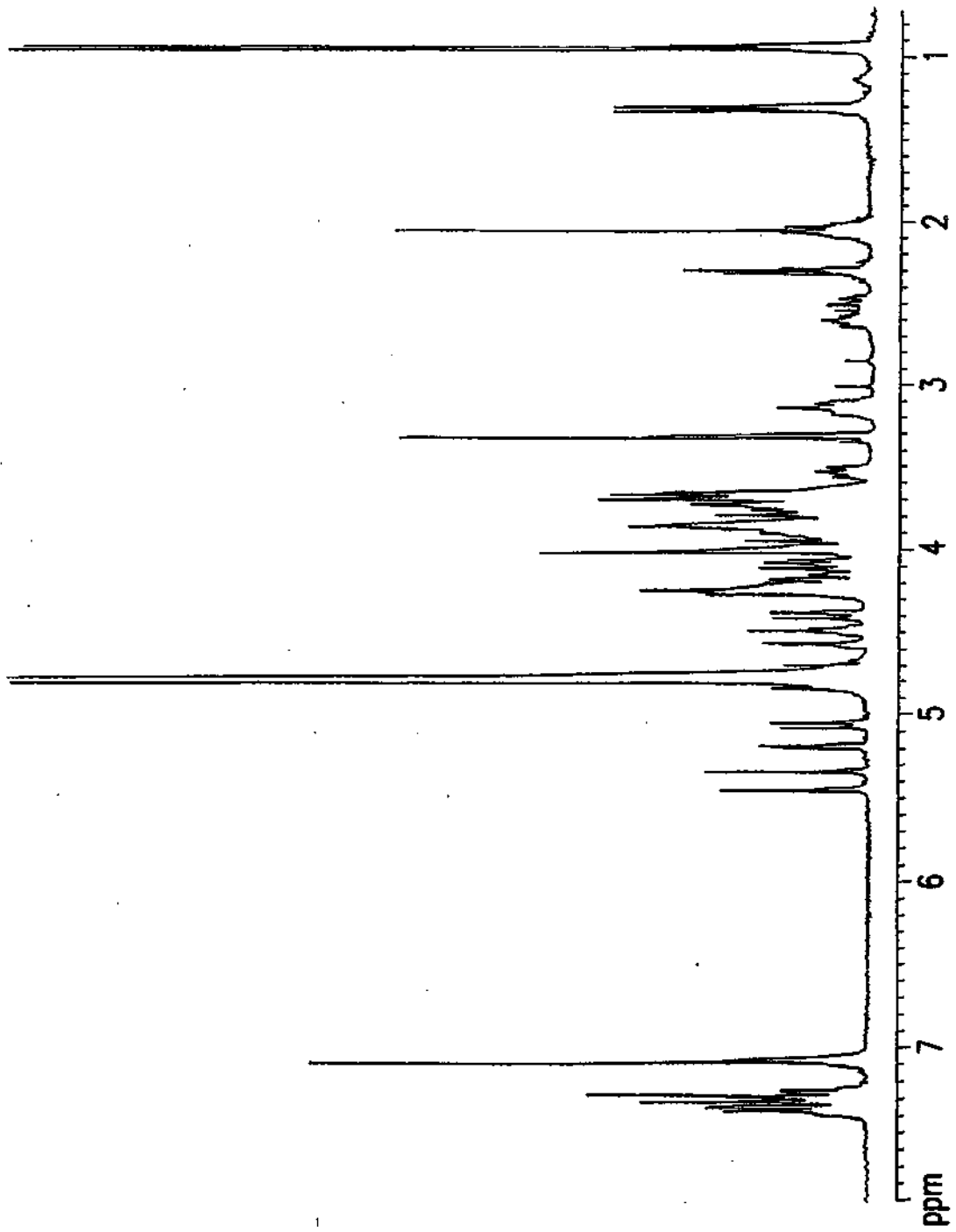


FIG. 8

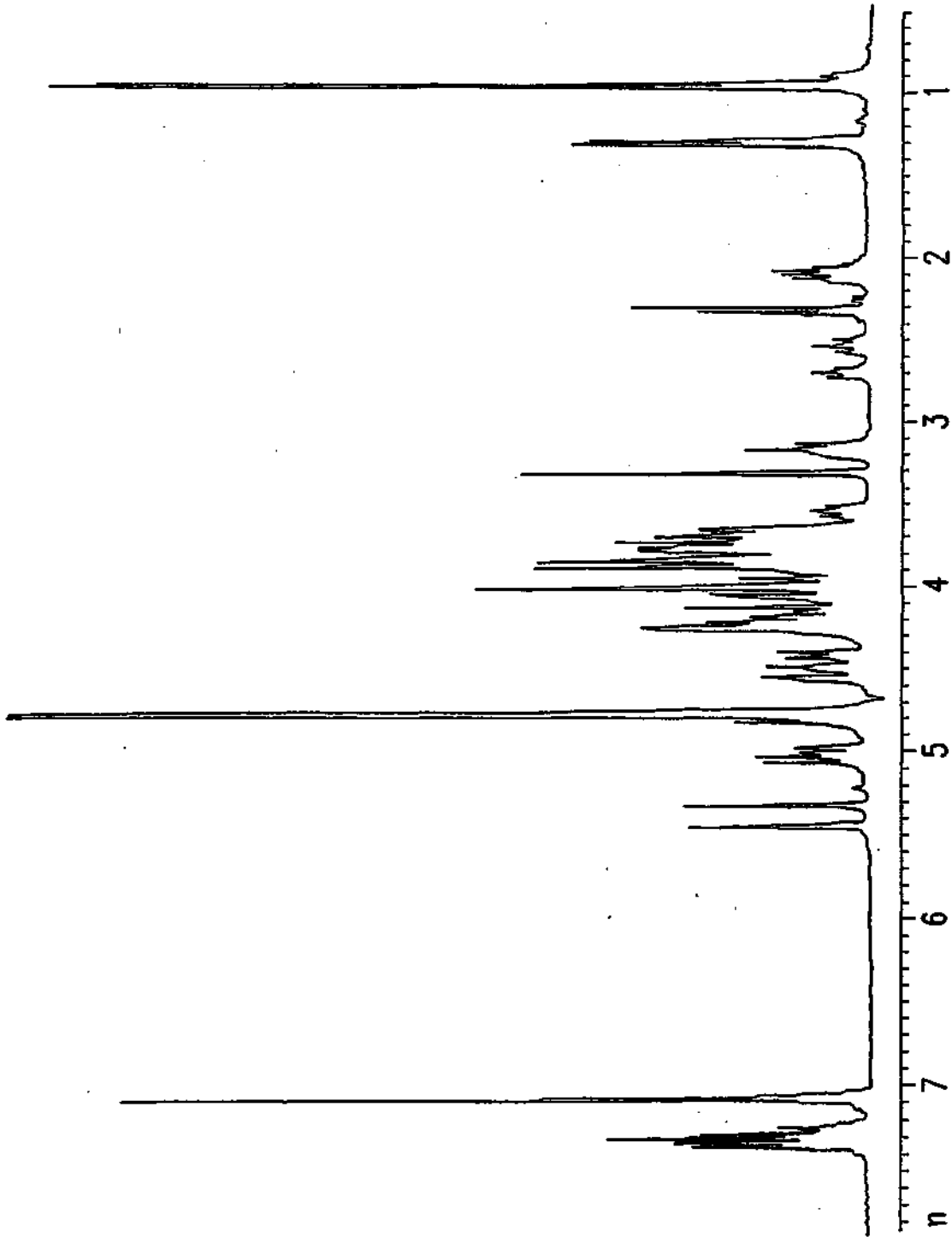


FIG. 9

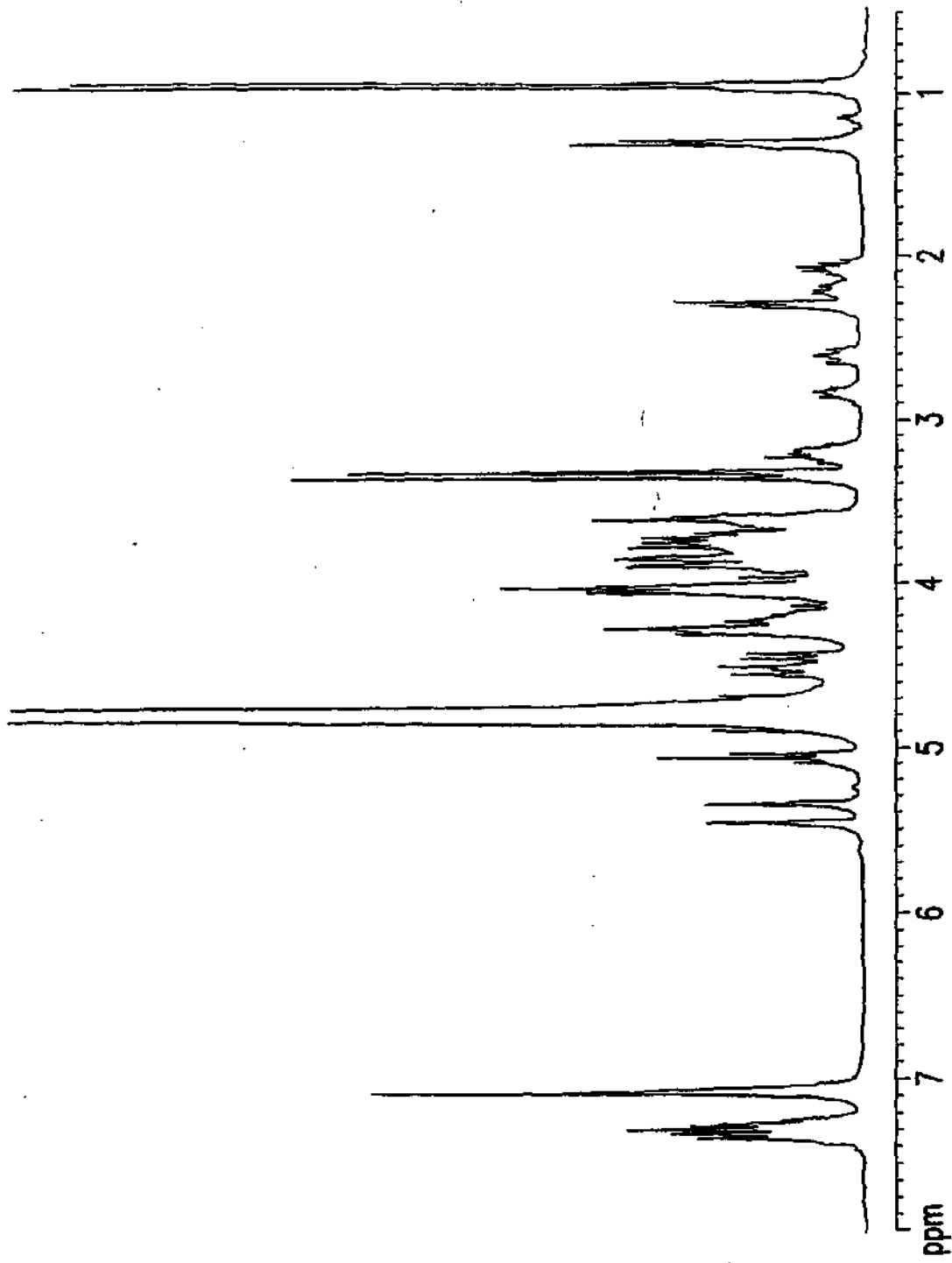


FIG. 10

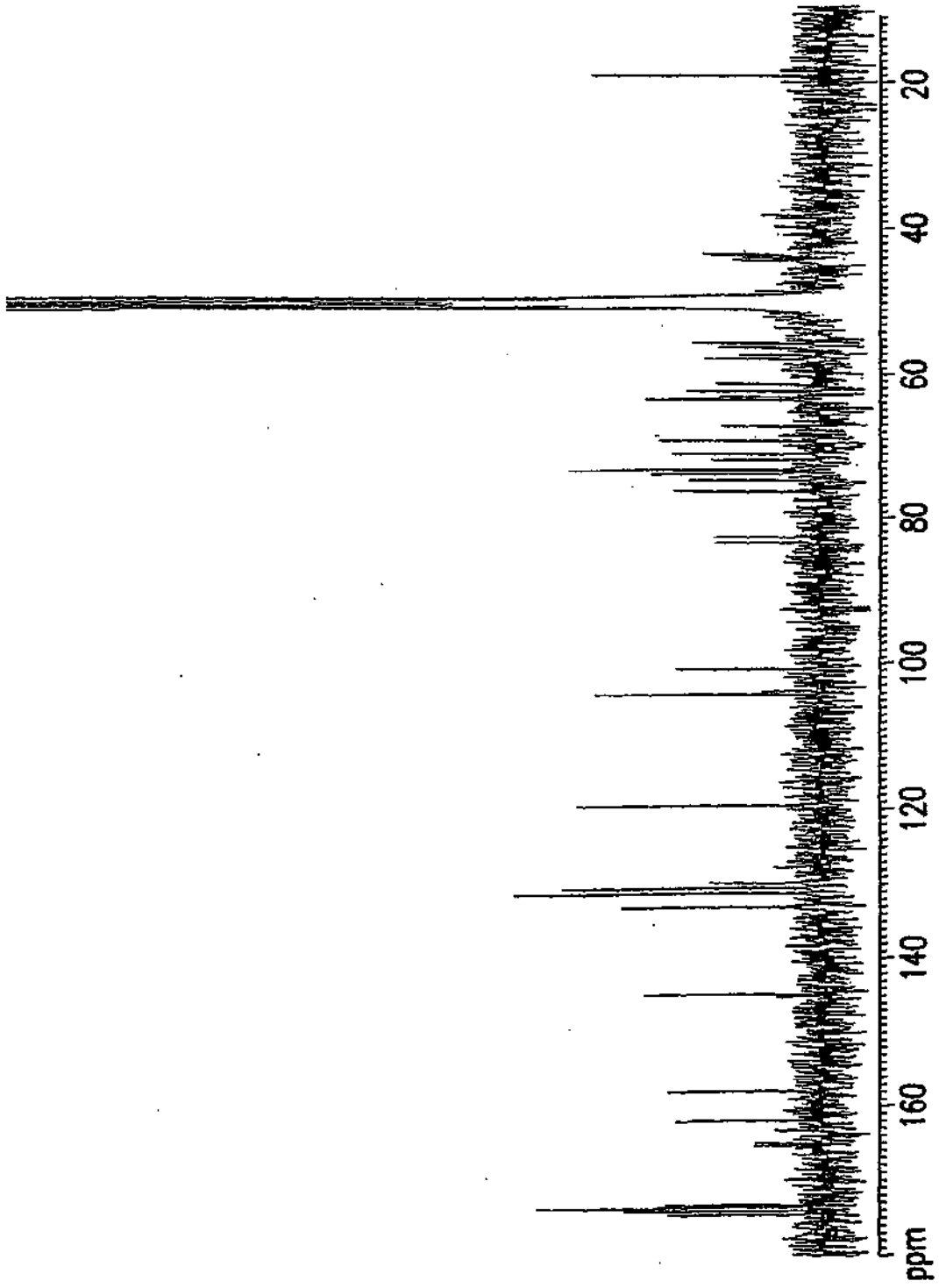


FIG. 11

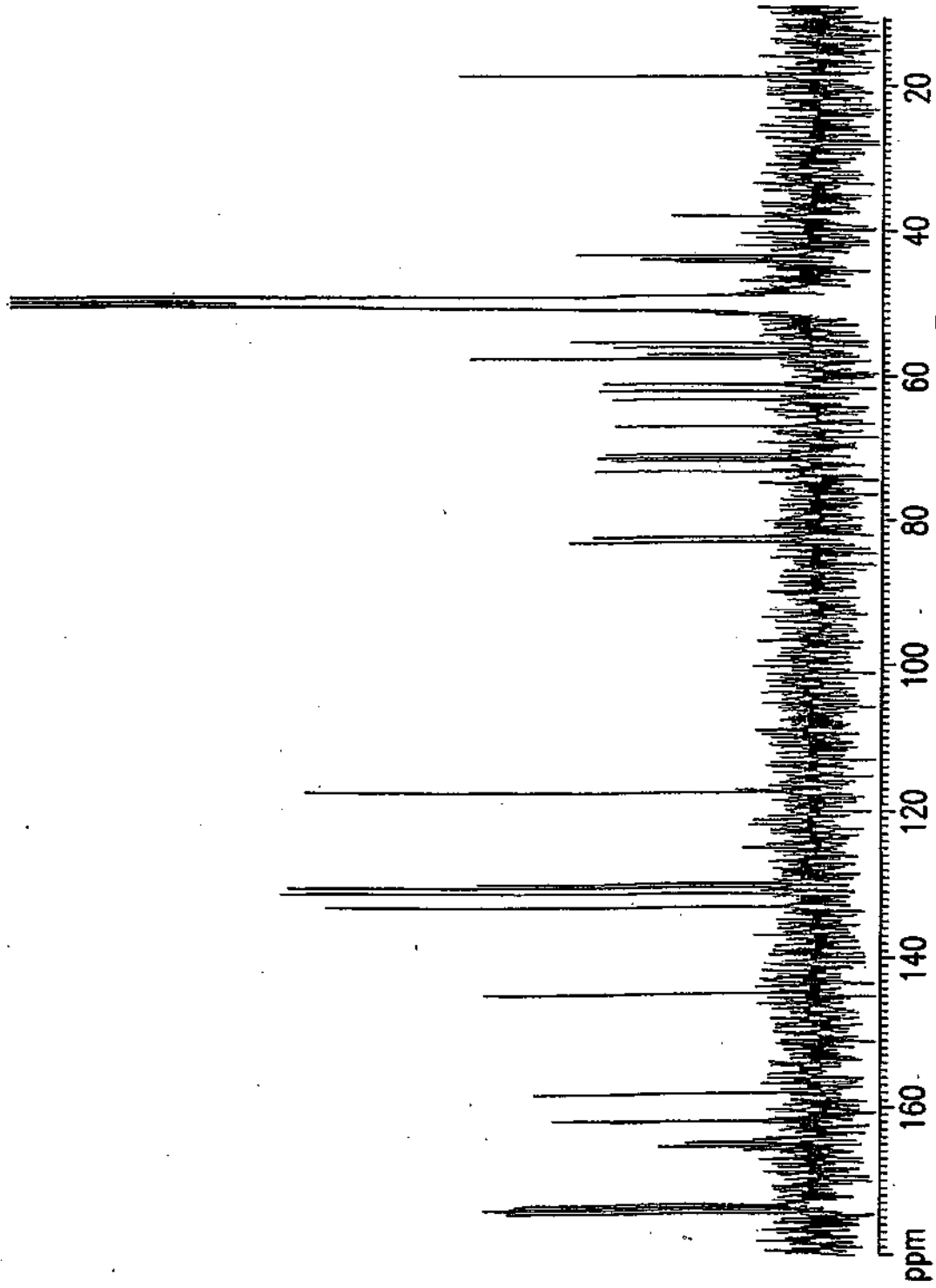


FIG. 12

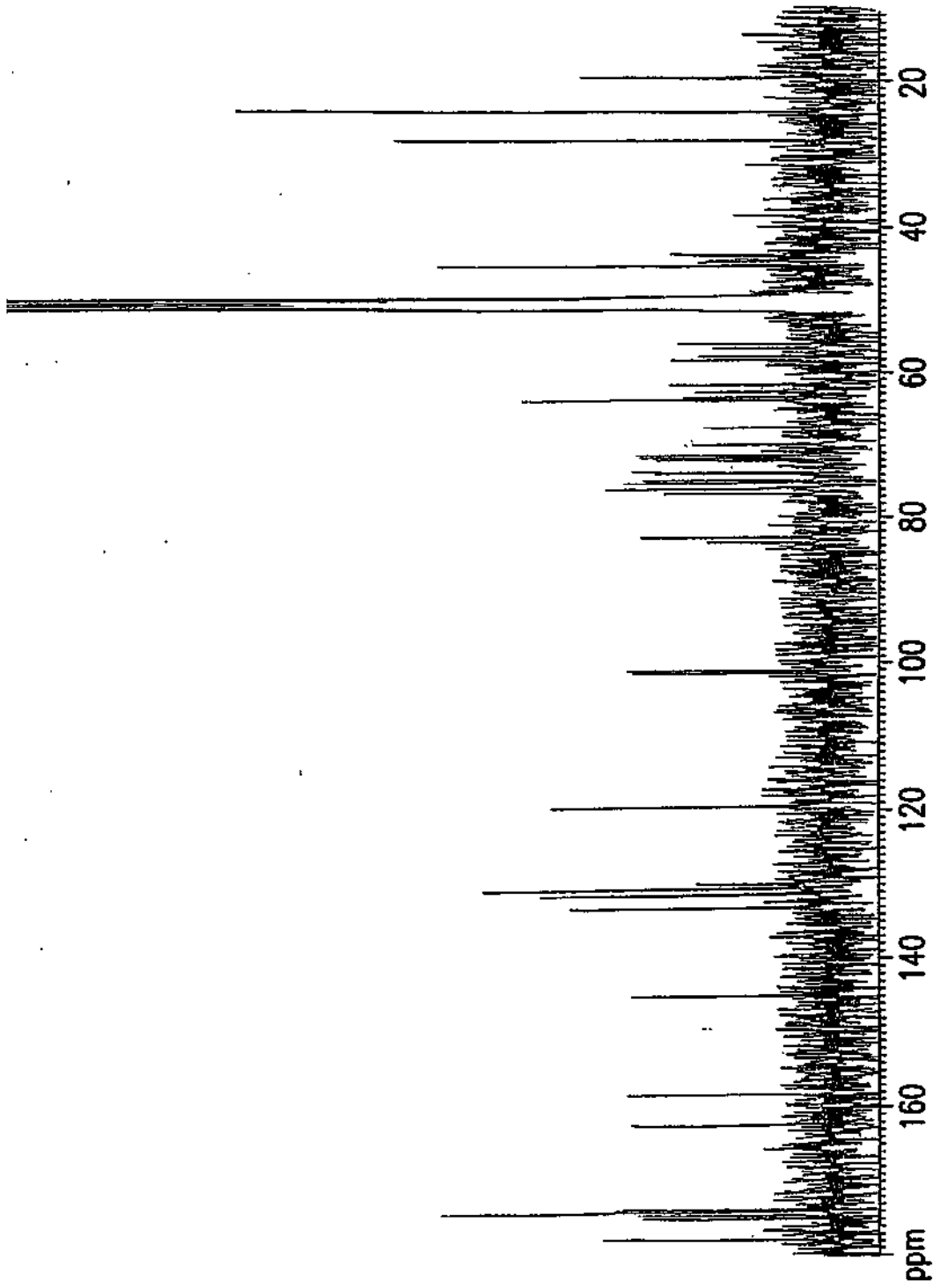


FIG. 13

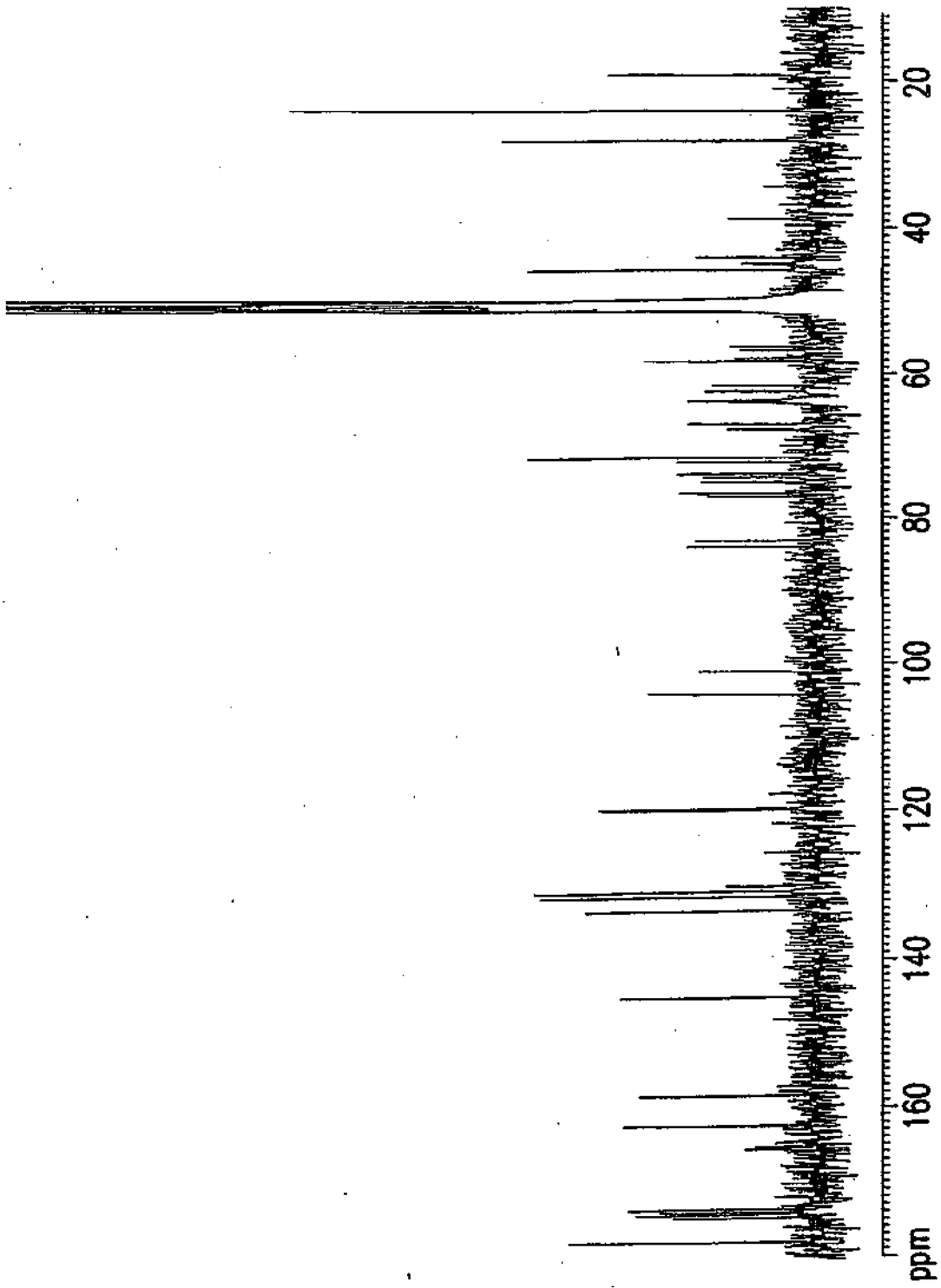


FIG. 14

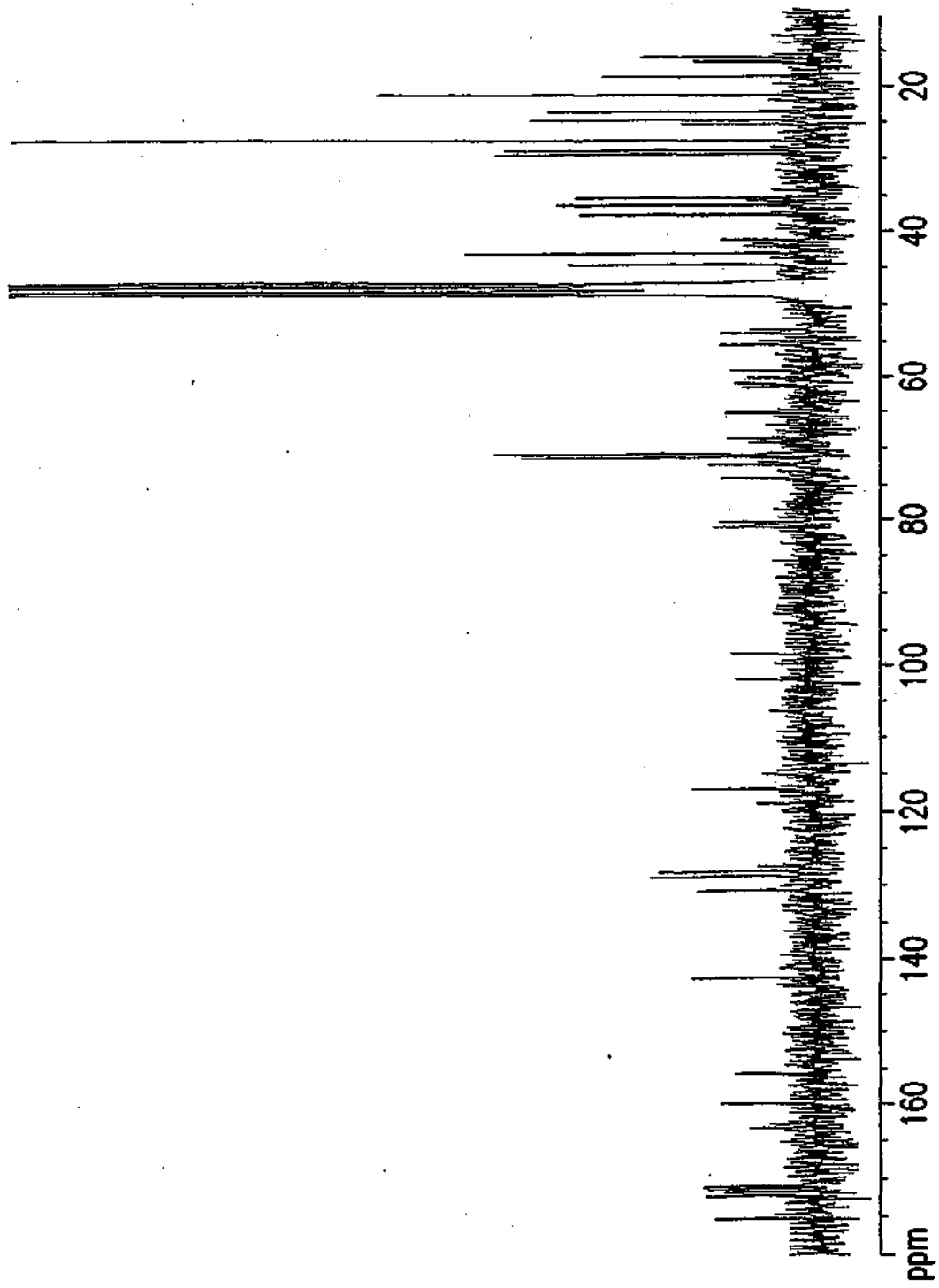


FIG. 15