

(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO

| | | |
|--------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|-----------|
| (22) Data de pedido: 2010.01.12 | (73) Titular(es): NOVACTA BIOSYSTEMS LIMITED | |
| (30) Prioridade(s): 2009.01.14 US 144490 P | BIOPARK HERTFORDSHIRE BROADWATER | |
| (43) Data de publicação do pedido: 2011.11.23 | ROAD WELWYN GARDEN CITY | |
| (45) Data e BPI da concessão: 2014.08.13 209/2014 | HERTFORDSHIRE AL7 3AX | GB |
| | (72) Inventor(es): SJOERD NICOLAAS WADMAN | GB |
| | (74) Mandatário: JOÃO LUÍS PEREIRA GARCIA | |
| | RUA CASTILHO, 167 2º 1070-050 LISBOA | PT |

(54) Epígrafe: **DERIVATIVOS DA DESOXIACTAGARDINA**

(57) Resumo:

A PRESENTE INVENÇÃO DIZ RESPEITO GERALMENTE A DETERMINADOS COMPOSTOS DA DESOXIACTAGARDINA DE TIPO A E B. TAIS COMPOSTOS SÃO ADEQUADOS PARA UTILIZAÇÃO NO TRATAMENTO DE INFEÇÕES MICROBIANAS, POR EXEMPLO INFEÇÃO POR CLOSTRIDIUM, TAL COMO C. PERFRINGENS, C. DIFFICILE, C. TETANI, E/OU C. BOTULINUM, EM PARTICULAR C. DIFFICILE, ESPECIALMENTE INFEÇÃO DO CÓLON E/OU INTESTINO GROSSO E DIARREIA ASSOCIADA COM A INFEÇÃO MICROBIANA.

RESUMO

DERIVATIVOS DA DESOXIACTAGARDINA

A presente invenção diz respeito geralmente a determinados compostos da desoxiactagardina de tipo A e B. Tais compostos são adequados para utilização no tratamento de infecções microbianas, por exemplo infecção por *Clostridium*, tal como *C. perfringens*, *C. difficile*, *C. tetani*, e/ou *C. botulinum*, em particular *C. difficile*, especialmente infecção do cólon e/ou intestino grosso e diarreia associada com a infecção microbiana.

DESCRIÇÃO

"DERIVATIVOS DA DESOXIACTAGARDINA"

A presente invenção relaciona-se com determinados novos compostos, composições farmacêuticas compreendendo os mesmos e utilização dos compostos e composições para o tratamento de infecções microbianas particularmente infecção por *C. difficile*, especialmente no cólon e/ou intestino grosso.

Muitos compostos de antibiótico foram identificados de origens naturais incluindo microrganismos. Frequentemente os compostos de antibiótico têm uma estrutura química complicada e em particular uma estrutura estereoquímica complicada.

Recentemente uma nova série química de antibióticos foi identificada, no documento WO 2007/083112, baseada em desoxiactagardina B. A desoxiactagardina B é sintetizada por uma bactéria *Actinoplanes liguriae* e ela e um número dos seus derivados demonstram propriedades antibacterianas promissoras.

Novos compostos da desoxiactargardina tipo A e B foram agora identificados com propriedades otimizadas, tornando-os particularmente adequados para a utilização no tratamento de infecções microbianas, por exemplo infecção por *Clostridium*, tal como *C. perfringens*, *C. difficile*, *C. tetani* e/ou *C. botulinum*, em particular *C. difficile*, especialmente infecção do cólon e/ou intestino grosso e diarreia associada com a infecção microbiana.

Num aspeto é proporcionada Desoxiactargardina B (monocarboxamida de 7-amino-1-heptilamida), e sais, solvatos ou hidratos farmaceuticamente aceitáveis da mesma.

Os compostos da divulgação são vantajosos porque possuem uma atividade antibacteriana muito elevada contra uma ou mais estirpes de *C. difficile*, por exemplo quando a

atividade é medida por um teste padrão tal como concentrações inibitórias mínimas (CIMs), geralmente os compostos da divulgação têm uma CIM de 2 µg/ml ou menor contra uma ou mais estirpes de *C. difficile*. Além disso, os compostos da divulgação têm uma atividade muito alta contra um número de estirpes comuns de *C. difficile*.

Adicionalmente, os compostos da presente divulgação são particularmente adequados para administração a humanos e animais porque possuem uma atividade antibacteriana baixa contra a flora intestinal saudável encontrada no corpo que ocorre naturalmente. No caso do tratamento de diarreia induzida por uma infecção bacteriana tal como por *C. difficile* espera-se que uma reduzida recorrência de sintomas será observada depois de tratamento com os presentes compostos em comparação com tratamento com conhecidos antibióticos devido à habilidade da flora natural para sobreviver ao tratamento com os presentes compostos. Em particular os compostos da divulgação demonstram atividade muito baixa contra *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus rhamnosus*, e atividade moderadamente baixa contra *Peptostreptococcus anaerobius* e *Bifidobacterium adolescentis*.

Além disso, quando distribuídos oralmente os compostos da divulgação não são absorvidos sistemicamente, o que permite uma concentração relativamente alta do ativo a ser distribuído ao alvo no cólon/intestinos. Assim, uma vez que não existe distribuição sistêmica dos compostos quando administrados oralmente, tal pode então minimizar para os pacientes qualquer exposição potencial a efeitos secundários.

A infecção por *C. difficile* e/ou sobrecrecimento é um problema comum para pacientes durante a hospitalização. Representa um verdadeiro encargo para o sistema de saúde e pode ser fatal para pacientes vulneráveis tais como

pacientes idosos.

Atualmente, a vancomicina é o tratamento padrão para casos graves de infecção por *C. difficile*. Assim sendo, enquanto compostos alternativos para utilização no tratamento de *C. difficile* seriam úteis, requer-se que tais compostos tenham uma atividade aproximadamente igual ou melhor que a da vancomicina.

Determinados compostos estão sob investigação para o tratamento de *C. difficile* e/ou enterococos resistentes à vancomicina mas frequentemente o ingrediente ativo é degradado pelo ácido e/ou enzimas no estômago ou intestinos. Tais compostos requerem distribuição parentérica ou formulações especiais tais como revestimento entérico ou formulações de cápsula para assegurar que o ingrediente ativo é distribuído ao cólon numa forma não degradada. Surpreendentemente, os presentes compostos, embora compreendam compostos peptídicos, não são degradados em nenhuma extensão significativa pelo ácido ou enzimas do estômago. Assim, os compostos da divulgação são particularmente adequados para distribuição oral. Tal pode ser vantajoso porque permite a flexibilidade de formular os compostos numa formulação simples e eficaz permitindo distribuição de um ativo não degradado localmente ao cólon.

O composto da presente divulgação pode ser preparado sintetizando desoxiactagardina B como um intermediário em *A. Liguriae*. O rendimento da desoxiactagardina B é o dobro ou mais do rendimento dos intermediários da actagardina tipo A preparados por *Actinoplanes garbadinensis*. Tal pode ser importante desde uma perspectiva comercial/de processamento.

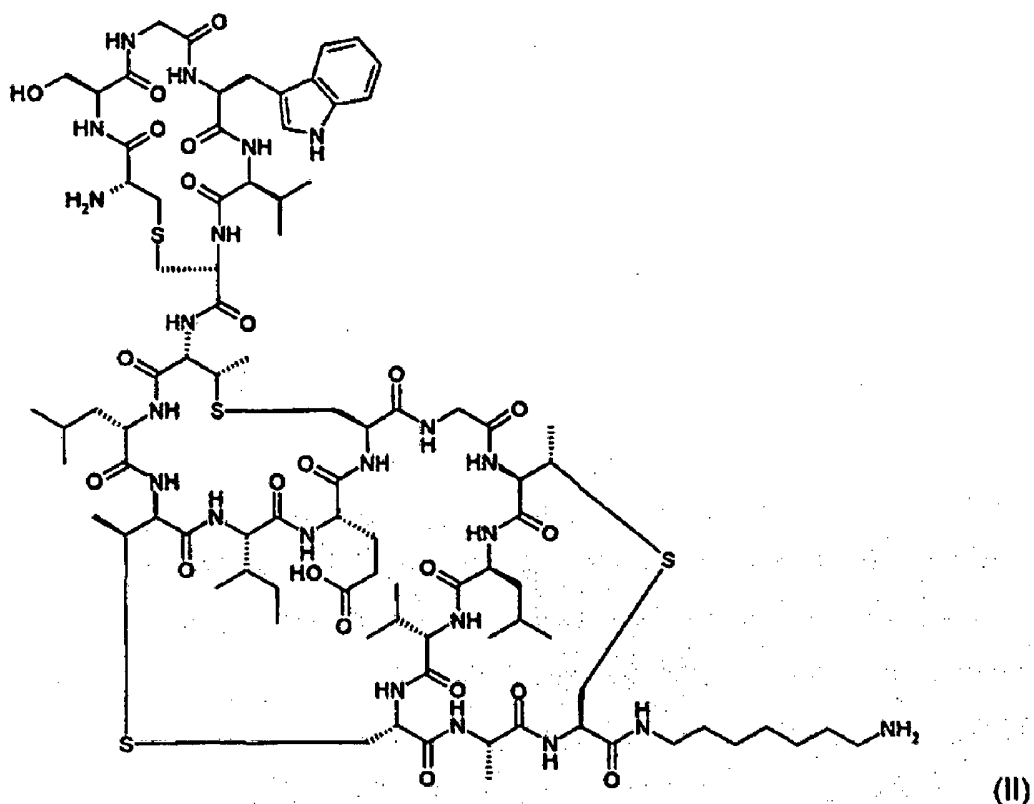
As propriedades físicas dos compostos da divulgação tais como solubilidade, estabilidade e semelhantes são adequados para a utilização terapêutica pretendida.

Breve Descrição dos Desenhos

- A Figura 1 mostra a suscetibilidade à digestão enzimática da nisina e de um derivativo da desoxiactagardina B.
- A Figura 2 mostra os resultados de um modelo *in vivo* para *C. difficile*.
- A Figura 3 mostra a quantidade de compostos recuperados depois de administração oral.
- A Figura 4 mostra uma análise por HPLC dos materiais de iniciação para o Exemplo 1.
- A Figura 5 mostra uma análise por HPLC depois que a reação para o Exemplo 1 foi concluída.
- A Figura 6 mostra uma análise por HPLC depois de concentração em Bond Elut C18 do composto do Exemplo 1.
- A Figura 7 mostra uma análise por HPLC do composto do Exemplo 1 depois de cromatografia rápida.

Descrição Detalhada

A presente invenção proporciona Desoxiactagardina B (monocarboxamida de 7-amino-1-heptilamida), a qual pode ser representada pela fórmula (II):



ou um sal, hidrato ou solvato farmaceuticamente aceitável da mesma.

O composto da divulgação tem uma CIM contra pelo menos uma estirpe de *C. difficile* de 1 µg/ml ou menos e geralmente uma atividade contra outras estirpes comuns de *C. difficile* de 2 µg/ml ou menos. O composto da invenção tem uma atividade de 1 µg/ml ou menos contra muitas estirpes comuns de *C. difficile*.

Métodos de preparação de compostos semelhantes aos compostos da presente divulgação são descritos no documento WO 2007/083112.

Os compostos da presente divulgação podem estar sob a forma de e/ou podem ser administrados como um sal farmaceuticamente aceitável. Para uma revisão sobre sais adequados veja-se Berge et al., J. Pharm. Sci, 1977, 66, 1-19.

Tipicamente, um sal farmaceuticamente aceitável pode

ser prontamente preparado utilizando um ácido ou base desejável conforme apropriado. O sal pode ser precipitado desde solução e ser recolhido por filtração ou pode ser recuperado por evaporação do solvente, por exemplo, o composto da invenção pode ser dissolvido num solvente adequado, por exemplo um álcool tal como metanol, e o ácido pode ser adicionado no mesmo solvente ou noutro solvente adequado. O sal resultante da adição de ácido pode então ser precipitado diretamente, ou por adição de um solvente menos polar tal como éter de diisopropilo ou hexano, e isolado por filtração.

O perito apreciará que onde o composto da invenção contém mais do que um grupo básico, sais bis ou sais tris podem também ser formados e são sais de acordo com a presente divulgação.

Sais de adição adequados são formados a partir de ácidos inorgânicos ou orgânicos os quais formam sais não tóxicos e exemplos são: lactobionato, mandelato (incluindo (S)-(+)-mandelato, (R)-(-)-mandelato e (R,S)-mandelato), cloridrato, bromidrato, iodato, sulfato, bissulfato, nitrato, fosfato, fosfato de hidrogénio, glutamato, acetato, trifluoroacetato, maleato, malato, fumarato, lactato, tartrato, citrato, formato, gluconato, succinato, succinato de etilo (4-etoxi-4-oxo-butanoato), piruvato, oxalato, oxaloacetato, sacarato, benzoato, glucolato, glucorinato, sulfonatos de alquilo ou arilo (por exemplo, metanossulfonato, etanossulfonato, benzenossulfonato ou p-toluenossulfonato) e isetionato. Um exemplo adicional ou alternativo é mesilato.

Sais básicos farmacêuticamente aceitáveis incluem sais de amónia, sais de metais alcalinos tais como aqueles de sódio e potássio, sais de metais alcalinoterrosos tais como aqueles de cálcio e magnésio e sais com bases orgânicas, incluindo sais de aminas primárias, secundárias e terciárias, tais como isopropilamina, dietilamina,

etanolamina, trimetilamina, diciclohexilamina e N-metil-D-glucamina.

Os peritos na técnica de química orgânica apreciarão que muitos compostos orgânicos podem formar complexos com solventes nos quais reagem ou dos quais são precipitados ou cristalizados. Estes complexos são conhecidos como "solvatos". Por exemplo, um complexo com água é conhecido como um "hidrato". Solvatos do composto da invenção estão dentro do âmbito da divulgação. Os sais do composto da invenção podem formar solvatos (por exemplo, hidratos) e a divulgação também inclui todos tais solvatos.

O termo "profármaco" como utilizado no presente documento significa um composto o qual é convertido no corpo, por exemplo por hidrólise no sangue, na sua forma ativa que tem efeitos médicos. Profármacos farmaceuticamente aceitáveis são descritos em T. Higuchi e V. Stella, "Prodrugs as Novel Delivery Systems", Vol. 14 do A.C.S. Symposium Series; Edward B. Roche, ed., "Bioreversible Carriers in Drug Design", American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987; e em D. Fleisher, S. Ramon e H. Barbra "Improved oral drug delivery: solubility limitations overcome by the use of prodrugs", Advanced Drug Delivery Reviews (1996) 19(2) 115-130, cada um dos quais é incorporado no presente documento por referência.

Os profármacos são quaisquer transportadores ligados de forma covalente que libertam um composto da invenção *in vivo* quando dito profármaco é administrado a um paciente. Os profármacos são geralmente preparados por modificação de grupos funcionais de tal forma que a modificação é clivada, seja por manipulação de rotina ou *in vivo*, produzindo o composto mãe. Os profármacos incluem, por exemplo, compostos desta divulgação em que grupos hidroxilo, amina ou sulfidrilos estão ligados a qualquer grupo que, quando administrado a um paciente, cliva para formar os grupos

hidroxilo, amina ou sulfidril. Assim, exemplos representativos de profármacos incluem (mas não estão limitados a) derivativos de acetato, formato e benzoato de álcool, grupos funcionais sulfidril e amina do composto. Além disso, no caso do ácido carboxílico ($-\text{COOH}$), ésteres podem ser empregados, tais como ésteres de metilo, ésteres de etilo e semelhantes. Os ésteres podem ser ativos em seu próprio direito e/ou ser hidrolisáveis sob condições *in vivo* no corpo humano. Grupos éster adequados hidrolisáveis *in vivo* farmacologicamente aceitáveis incluem aqueles que se decompõem prontamente no corpo humano para deixar o ácido mãe ou seu sal.

Referências doravante a um composto de acordo com a divulgação incluem sais farmacologicamente aceitáveis e derivativos.

Em relação a estereoisômeros, os compostos de fórmula (II) têm mais do que um átomo de carbono assimétrico. Na fórmula (II) como desenhado, a ligação sólida em forma de cunha indica que a ligação está acima do plano do papel. A ligação tracejada indica que a ligação está abaixo do plano do papel.

Será apreciado que os substituintes em compostos de fórmula (II) podem também ter um ou mais átomos de carbono assimétricos.

Os compostos de estrutura (II) podem ocorrer como enantiômeros individuais ou diastereômeros. Formas isoméricas as quais, todas estão incluídas dentro da presente invenção, incluindo misturas das mesmas.

A separação de diastereoisômeros ou isômeros *cis* e *trans* pode ser conseguida através de técnicas convencionais, por exemplo, por cristalização fracionária, cromatografia ou HPLC. Uma mistura estereoisomérica do agente pode também ser preparada a partir de um intermediário opticamente puro correspondente ou por resolução, tal como por HPLC, da mistura correspondente

utilizando um suporte quiral adequado ou por cristalização fracionária dos sais diastereoisoméricos formados por reação da mistura correspondente com um ácido ou base ativos opticamente adequados, conforme apropriado. Compostos como descritos no presente documento também se estendem a formas tautoméricas dos mesmos, por exemplo, tautômeros ceto/enol.

O composto da invenção pode estar sob a forma cristalina ou amorfa. Além disso, algumas das formas cristalinas do composto da invenção podem existir como polimorfos, formas as quais, todas estão incluídas na presente divulgação.

Noutro aspeto, a invenção proporciona uma composição farmacêutica compreendendo, como ingrediente ativo, um composto da invenção ou um derivativo farmacêuticamente aceitável do mesmo em associação com um excipiente, diluente e/ou transportador farmacêuticamente aceitável para utilização em terapêutica, e em particular, no tratamento de indivíduos humanos ou animais sofrendo de uma condição suscetível a melhoria através de um composto antibiótico.

Noutro aspeto, a invenção proporciona uma composição farmacêutica compreendendo uma quantidade terapêuticamente eficaz dos compostos da presente divulgação e um excipiente, diluente e/ou transportador farmacêuticamente aceitável (incluindo combinações dos mesmos).

É ainda proporcionado pela presente divulgação um processo de preparação de uma composição farmacêutica, processo o qual compreende misturar o composto da invenção ou um derivativo farmacêuticamente aceitável do mesmo, juntamente com um excipiente, diluente e/ou transportador farmacêuticamente aceitável.

Os compostos da invenção podem ser formulados para administração em qualquer forma conveniente para utilização em medicina humana ou veterinária e a divulgação inclui

portanto, dentro do seu âmbito composições farmacêuticas compreendendo o composto da invenção adaptado para utilização em medicina humana ou veterinária. Tais composições podem ser apresentadas para utilização de uma forma convencional com a ajuda de um ou mais excipientes, diluentes e/ou transportadores adequados. Excipientes, diluentes e transportadores aceitáveis para utilização terapêutica são bem conhecidos na técnica farmacêutica, e são descritos, por exemplo, em Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (A. R. Gennaro edit. 1985). A escolha de excipiente, diluente e/ou transportador farmacêutico pode ser selecionada em relação à via de administração pretendida e à prática farmacêutica padrão. As composições farmacêuticas podem compreender como, ou em adição ao, excipiente, diluente e/ou transportador qualquer/quaisquer ligante(s), lubrificante(s), agente(s) de suspensão, agente(s) de revestimento, agente(s) solubilizantes.

Preservativos, estabilizadores, corantes e mesmo agentes aromatizantes podem ser proporcionados na composição farmacêutica. Exemplos de preservativos incluem benzoato de sódio, ácido sórbico e ésteres de ácido p-hidrobenzóico. Antioxidantes e agentes de suspensão podem também ser utilizados.

Para algumas formas de realização, os agentes da presente divulgação podem também ser utilizados em combinação com uma ciclodextrina. As ciclodextrinas são conhecidas por formar complexos de inclusão e não inclusão com moléculas de fármacos. A formação de um complexo fármaco-ciclodextrina pode modificar a solubilidade, taxa de dissolução, biodisponibilidade e/ou propriedade de estabilidade de uma molécula de fármaco. Complexos fármaco-ciclodextrina são geralmente úteis para a maioria das formas farmacêuticas e vias de administração. Como uma alternativa à formação direta de complexos com o fármaco, a

ciclodextrina pode ser utilizada como um aditivo auxiliar, por exemplo como um transportador, diluente ou solubilizante. Ciclodextrinas alfa, beta e gama são utilizadas mais comumente e exemplos adequados são descritos nos documentos WO 91/11172, WO 94/02518 e WO 98/55148.

Os compostos da divulgação podem ser moídos utilizando procedimentos de moagem conhecidos tais como moagem húmida para obter um tamanho de partícula apropriado para a formação de comprimidos e outros tipos de formulações. Preparações finamente divididas (nanoparticuladas) dos compostos da invenção podem ser preparadas por processos conhecidos na técnica, por exemplo veja-se Pedido de Patente Internacional N°. WO 02/00196 (SmithKline Beecham).

As vias de administração (distribuição) incluídas, mas não limitadas a, uma ou mais de: oral (por exemplo como um pó seco/formulação particulada de fluxo livre, comprimido, cápsula, ou como uma solução ou suspensão ingerível), rectal, bucal e sublingual. Os compostos da divulgação são particularmente úteis para distribuição oral.

Em alguns casos pode ser possível distribuir os compostos da divulgação por uma via tópica, mucosa (por exemplo como uma pulverização nasal ou aerossol para inalação), nasal, parentérica (por exemplo por uma forma injetável), gastrointestinal, intraespinal, intraperitoneal, intramuscular, intravenosa, intrauterina, intraocular, intradérmica, intracranial, intratraqueal, intravaginal, intracerebroventricular, intracerebral, subcutânea, oftálmica (incluindo intravítrea ou intracameral), ou transdérmica.

Pode existir diferentes requisitos de composição/formulação dependendo dos diferentes sistemas de distribuição. Como forma de exemplo, a composição farmacêutica da presente divulgação pode ser formulada para ser distribuída utilizando uma mini bomba ou por uma via

mucosa, por exemplo, como uma pulverização nasal ou aerossol para inalação ou solução ingerível, ou via parentérica na qual a composição é formulada por uma forma injetável, para distribuição, por exemplo, por uma via intravenosa, intramuscular ou subcutânea. Alternativamente, a formulação pode ser desenhada para ser distribuída por ambas vias.

Onde apropriado, as composições farmacêuticas podem ser administradas por inalação, sob a forma de um supositório ou pessário, topicamente sob a forma de uma loção, solução, creme, pomada ou pó para polvilhar, pela utilização de um adesivo para a pele, oralmente sob a forma de comprimidos contendo excipientes tais como amido ou lactose, ou em cápsulas ou óvulos tanto isolados ou em mistura com excipientes, ou sob a forma de elixires, soluções ou suspensões contendo agentes aromatizantes ou corantes, ou podem ser injetadas parentericamente, por exemplo por via intravenosa, intramuscular ou subcutânea. Para administração parentérica, as composições podem ser melhor utilizadas sob a forma de solução aquosa estéril a qual pode conter outras substâncias, por exemplo sais ou monossacarídeos suficientes para tornar a solução isotônica com o sangue. Para administração bucal ou sublingual as composições podem ser administradas sob a forma de comprimidos ou pastilhas para chupar os quais podem ser formulados de uma forma convencional.

Deve ser compreendido que nem todos os compostos necessitam ser administrados pela mesma via. Igualmente, se a composição compreende mais do que um componente ativo, então esses componentes podem ser administrados por diferentes vias.

As composições da divulgação incluem aquelas sob uma forma especialmente formulada para utilização parentérica, oral, bucal, rectal, tópica, implante, oftálmica, nasal ou genito-urinária. Num aspeto da invenção, os agentes são

distribuídos oralmente, por isso, o agente está sob uma forma que é adequada para distribuição oral.

Se um composto da presente divulgação é administrado parentericamente, então exemplos de tal administração incluem uma ou mais de: via intravenosa, intraarterial, intraperitoneal, intratecal, intraventricular, intrauretral, intraesternal, intracranial, intramuscular ou subcutânea de administrar o agente, e/ou pela utilização de técnicas de infusão.

Os compostos da invenção podem ser administrados (por exemplo oralmente ou topicamente) sob a forma de comprimidos, cápsulas, óvulos, elixires, soluções ou suspensões, as quais podem conter agentes aromatizantes ou corantes, para aplicações de libertação imediata, retardada, modificada, prolongada, pulsada ou controlada.

Os compostos da invenção podem também ser apresentados para utilização humana ou veterinária numa forma adequada para administração oral ou bucal, por exemplo sob a forma de soluções, géis, xaropes, colutórios ou suspensões, ou um pó seco para constituição com água ou outro veículo adequado antes da utilização, opcionalmente com agentes aromatizantes ou corantes. Composições sólidas tais como comprimidos, cápsulas, pastilhas para chupar, pastilhas, pílulas, bolus, pó, pastas, grânulos, balas ou preparações reconstituídas podem também ser utilizadas. Composições sólidas e líquidas para utilização oral podem ser preparadas de acordo com métodos bem conhecidos na técnica. Tais composições podem também conter um ou mais transportadores farmacêuticos aceitáveis e excipientes os quais podem estar sob a forma sólida ou líquida.

Os comprimidos podem conter excipientes tais como celulose microcristalina, lactose, citrato de sódio, carbonato de cálcio, sulfato de cálcio, fosfato de cálcio dibásico e glicina; manitol, amido pré-gelatinizado, amido de milho, amido de batata, desintegrantes tais como

glicolato de amido de sódio, croscarmelose de sódio e determinados silicatos complexos, e ligantes de granulação tais como polivinilpirrolidona, hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), hidroxipropilcelulose (HPC), sacarose, gelatina e acácia.

Adicionalmente, agentes lubrificantes tais como estereato de magnésio, ácido esteárico, beenato de glicerilo e talco podem ser incluídos.

Composições sólidas de um tipo semelhante podem também ser empregues como excipientes em cápsulas de gelatina ou HPMC (hidroxipropilmetilcelulose). Excipientes preferidos neste contexto incluem celulose microcristalina, lactose, carbonato de cálcio, sulfato de cálcio, fosfato de cálcio dibásico e manitol, amido pré-gelatinizado, amido de milho, amido de batata ou polietilenoglicóis de elevada massa molecular. Para suspensões aquosas e/ou elixires, o agente pode ser combinado com vários agentes edulcorantes ou aromatizantes, matéria corante ou corantes com agentes emulsificantes e/ou de suspensão e com diluentes tais como água, etanol, propilenoglicol e glicerina, e combinações dos mesmos.

Cápsulas, podem ser preenchidas com um pó (de medicamento apenas ou como mistura de excipiente(s) selecionado(s)) ou alternativamente um líquido, cada um compreendendo o composto da invenção e um transportador. Onde a cápsula é preenchida com um pó, o composto da invenção e/ou o transportador podem ser moídos ou micronizados para proporcionar material com o tamanho de partícula apropriado.

O composto da presente invenção pode ser revestido, por exemplo com um revestimento entérico quando administrado oralmente como um comprimido ou cápsula. O comprimido ou cápsula, conforme apropriado, pode, por exemplo ser revestido por uma fina película tal como uma película EUDRAGIT® disponível de Rohm Pharma Polymers, a

qual permite dissolução controlada no trato gastrointestinal. As películas estão disponíveis como polímeros catiónicos tais como EUDRAGIT® E 100 (copolímeros de metacrilato de aminoalquilo) ou como polímeros acrílicos aniônicos tais como EUDRAGIT® L (copolímeros ácidos metacrílicos) e EUDRAGIT® S.

Polímeros acrílicos permeáveis tais como EUDRAGIT® RL (copolímero de amino metacrilato) e EUDRAGIT® RS estão também disponíveis.

Estas formulações de revestimento podem ser preparadas como dispersão aquosa incluindo ingredientes opcionais tais como talco, emulsão anti-espuma de silicone, polietilenoglicol. Alternativamente a formulação de revestimento pode ser preparada como uma solução de polímeros orgânicos.

Alternativamente, comprimidos podem ser revestidos utilizando sistemas de revestimento OPADRY® (Surelease®), disponíveis de Colorcon. Os sistemas aquosos compreendem geralmente até 15% p/p de OPADRY®. Sistemas de solventes orgânicos geralmente compreendem até 5% p/p de OPADRY®. Os revestimentos podem ser preparados por conhecidas técnicas, por exemplo:

1. pesando a quantidade necessária de sistema de revestimento de película OPADRY®,
2. pesando a quantidade necessária de água ou outro(s) solvente(s) para dentro de um frasco de mistura,
3. com uma hélice misturadora no centro do frasco e o mais próxima possível ao fundo do frasco, agitando os solventes para formar um vórtice sem fazer chamada de ar para dentro do líquido,
4. consistentemente e rapidamente adicionando o pó de OPADRY® ao vórtice, evitando flutuação do pó na superfície do líquido,
5. aumentando a velocidade do agitador de forma a manter o vórtice, se necessário, e

6. depois de que todos os ingredientes em pó tenham sido adicionados, reduzindo a velocidade do misturador e continuando a misturar por aproximadamente 45 minutos.

Revestimentos podem ser aplicados por técnicas conhecidas, utilizando máquinas de revestimento de comprimidos.

A espessura do revestimento aplicado encontra-se geralmente no intervalo de 5 a 35 micras tal como de 10 a 30 micras, mais especificamente 10 ou 20 micras dependendo do efeito necessário. Alternativamente, o comprimido ou uma cápsula, conforme apropriado, podem ser introduzidos noutra cápsula (preferivelmente uma cápsula de HPMC tal como Capsugel®) para proporcionar tanto uma configuração de comprimido em cápsula ou cápsula em cápsula, as quais quando administradas a um paciente produzem dissolução controlada no trato gastrointestinal, proporcionando assim um efeito semelhante ao de um revestimento entérico. Assim, num aspeto a divulgação proporciona uma formulação farmacêutica sólida do composto da invenção por exemplo onde a formulação tem um revestimento entérico.

Noutro aspeto a divulgação proporciona uma formulação farmacêutica sólida compreendendo uma cápsula protetora como camada externa, por exemplo como um comprimido numa cápsula ou uma cápsula numa cápsula. O revestimento entérico pode proporcionar um perfil de estabilidade melhorado em relação às formulações não revestidas. Os compostos da divulgação podem também ser administrados oralmente em medicina veterinária sob a forma de um líquido para sondagem de animais tal como uma solução, suspensão ou dispersão do ingrediente ativo, juntamente com um transportador ou excipiente farmacêuticamente aceitável.

Os compostos da invenção podem também, por exemplo, ser formulados como supositórios por exemplo contendo bases de supositório convencionais para utilização em medicina humana ou veterinária ou como pessários por exemplo,

contendo bases de pessário convencionais.

Os compostos da invenção podem também ser utilizados em combinação com outros agentes terapêuticos. A divulgação proporciona assim, num outro aspeto, uma combinação compreendendo um composto da invenção ou derivativo farmacêuticamente aceitável do mesmo juntamente com um outro agente terapêutico. A combinação pode, por exemplo ser uma combinação de um composto da invenção e um antibiótico, tal como a vancomicina. A combinação pode ser proporcionada como uma co-formulação ou simplesmente embalada juntamente como formulações separadas, para distribuição simultânea ou sequencial.

Quando um composto da divulgação ou um derivativo farmacêuticamente aceitável do mesmo é utilizado em combinação com um segundo agente terapêutico ativo contra o mesmo estado de doença a dose de cada composto pode diferir daquela quando o composto é utilizado isoladamente. Doses apropriadas serão prontamente apreciadas pelos peritos na técnica. Será apreciado que a quantidade de um composto da divulgação necessária para utilização no tratamento irá variar com a natureza da condição a ser tratada e da idade e da condição do paciente e estará, em última instância, ao critério do médico assistente ou veterinário. Os compostos da presente divulgação podem por exemplo ser utilizados para administração com outros ingredientes ativos tais como corticosteroides, conforme apropriado.

As combinações acima referidas podem ser apresentadas convenientemente para utilização sob a forma de uma formulação farmacêutica e assim formulações farmacêuticas compreendendo uma combinação como acima definida juntamente com um transportador ou excipiente farmacêuticamente aceitável compreendem um outro aspeto da divulgação. Os componentes individuais de tais combinações podem ser administrados seja sequencialmente ou simultaneamente em formulações farmacêuticas separadas ou combinadas por

qualquer via conveniente.

Quando a administração é sequencial, tanto o composto da divulgação ou o segundo agente terapêutico podem ser administrados primeiro. Quando a administração é simultânea, a combinação pode ser administrada tanto na mesma ou numa composição farmacêutica diferente.

Quando combinadas na mesma formulação será apreciado que os dois compostos devem ser estáveis e compatíveis um com o outro e com os outros componentes da formulação. Quando formulados separadamente podem ser proporcionados em qualquer formulação conveniente, convenientemente de tal maneira, como conhecido na técnica, para esses compostos.

As composições podem conter desde 0,01-99% do material ativo. Para administração tópica, por exemplo, a composição irá geralmente conter desde 0,01-10%, mais preferivelmente 0,01-1% do material ativo.

Tipicamente, um médico determinará a dose atual, que será a mais adequada para um sujeito individual. O nível de dose específico e frequência de dosagem para qualquer indivíduo particular podem ser variados e irão depender de uma variedade de fatores incluindo a atividade do composto específico empregado, a estabilidade metabólica e duração de ação desse composto, a idade, peso corporal, estado geral de saúde, sexo, dieta, modo e altura de administração, taxa de excreção, combinação de fármaco, a severidade da condição em particular, e o indivíduo submetendo-se a terapia.

Para administração oral e parentérica a humanos, o nível de dosagem diário do agente pode ser em doses únicas ou divididas. Para administração sistêmica a dose diária, conforme empregada para tratamento de humanos adultos irá variar de 2-100 mg/kg de peso corporal, preferivelmente 5-60 mg/kg de peso corporal, a qual poderá ser administrada em 1 a 4 doses diárias, por exemplo, dependendo da via de administração e da condição do paciente. Quando a

composição compreende unidades de dosagem, cada unidade preferivelmente conterá 100 mg para 1 g de ingrediente ativo. A duração do tratamento será ditada pela taxa de resposta em vez de por números arbitrários de dias. Numa forma de realização o regime de tratamento é continuado por 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 ou mais dias.

Num aspeto, a divulgação proporciona utilização de um composto de fórmula (I) ou (II) em terapêutica, por exemplo, para tratamento de infeções microbianas tal como infeção por *C. difficile*, em particular diarreia com ela associada, ou de uma ou mais infeções microbianas descritas no presente documento, particularmente por distribuição oral de um composto.

Num aspeto é proporcionada utilização de um composto para o tratamento de tiflite (num sujeito animal).

Num aspeto o composto da invenção é empregado para controlo de síndrome de sobrecrecimento bacteriano. A síndrome de sobrecrecimento (BOS) ocorre quando a colonização bacteriana normalmente baixa no trato gastrointestinal superior e/ou intestino grosso aumenta significativamente.

Num aspeto é proporcionada utilização de um composto da invenção para a profilaxia, tratamento e manutenção de IBS (síndrome do intestino irritável). Para um exemplo da utilização de antibióticos no tratamento de IBS, veja-se Rifaximin Treatment for Symptoms of Irritable Bowel Syndrome. Andrea L. Fumi and Katherine Trexler, The Annals of Pharmacotherapy, 2008, 4, 408.

Numa forma de realização um composto da invenção é útil no tratamento de colite ulcerativa incluindo tratamento profilático para prevenir a recorrência da mesma. Os compostos podem ser particularmente adequados para o tratamento de colite ulcerativa refratária a esteroides. Veja-se por exemplo Steroid-refractory

ulcerative colitis treated with corticoesteroids, metronidazole and vancomycin: a case report J. Miner, M. M Gillian, P. Alex, M. Centola, BMC Gastroenterology 2005, 5:3.

Os compostos da presente divulgação podem ser particularmente úteis para tratamento a longo prazo.

Conforme descrito acima, os compostos da presente divulgação podem ser empregues no tratamento de humanos e/ou animais.

Num aspeto é proporcionado um composto da invenção para o fabrico de um medicamento para o tratamento de infeções microbianas tal como infeção por *C. difficile*, em particular diarreia com ela associada.

Num aspeto é proporcionado um método para tratamento compreendendo a etapa de administrar uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto da invenção ou uma composição farmacêutica contendo o mesmo, a um paciente (humano ou animal) em necessidade do mesmo, por exemplo para o tratamento de uma infeção/enfermidade ou doença como descrito no presente documento.

No contexto desta especificação "compreendendo" deve ser interpretado como "incluindo".

Aspetos da invenção compreendendo determinados elementos tencionam também estender-se a formas de realização alternativas "consistindo" ou "consistindo essencialmente" nos elementos relevantes.

EXEMPLOS

Exemplo 1

Desoxiactagardina B (monocarboxamida de 7-amino-1-heptilamida)

Desoxiactagardina B (2,5 g), 1,7-diaminoheptano (0,52 g) e diisopropiletilamina (0,44 ml) foram dissolvidos em dimetilformamida (10 ml) seca. Uma solução de

hexafluorofosfato de benzotriazol-1-il-oxi-tris-pirrolidino-fosfônio (PyBOP) (1,04 g) em dimetilformamida (5 ml) seca foi adicionada em porções, ao longo de 2 h. A reação foi seguida de HPLC analítica (Ver Tabela 1) e PyBOP foi adicionado até que o material de iniciação tivesse sido consumido (Figuras 4 e 5).

Tabela 1: Condições de HPLC analítica para a separação de lantibiótico (por exemplo, actagardina, actagardina B ou desoxiactagardina B) e produtos derivatizados de diaminoalcano.

| | | | | | | |
|--------------------|--------------------------------------------------------------|---|------|---|----|---|
| Coluna: | Zorbax 5µ C18(2) 150 x 4,6 mm | | | | | |
| Fase Móvel A: | 30% Acetronilo em 20 mM de tampão fosfato de potássio pH 7,0 | | | | | |
| Fase Móvel B: | 65% Acetronilo em 20 mM de tampão fosfato de potássio pH 7,0 | | | | | |
| Taxa de fluxo: | 1 ml/min | | | | | |
| Gradiente: | Tempo | 0 | 100% | A | 0% | B |
| | min | | | | | |
| Tempo 10 min | 0% | A | 100% | B | | |
| Tempo 11 min | 0% | A | 100% | B | | |
| Tempo 11,2 min | 100% | A | 0% | B | | |
| Tempo de ciclo | 15 min | | | | | |
| Volume de injeção: | 10 µL | | | | | |
| Deteção: | 210 nm | | | | | |

A mistura de reação em bruto foi vertida em metanol aquoso a 30% e a solução resultante foi carregada numa coluna Varian Bond Elut C18 (30 g). A coluna foi então lavada sequencialmente com metanol aquoso a 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, com a maioria do material desejado a ser eluído na fração a 70% (Figura 6). A cromatografia de coluna em gel de sílica (eluente diclorometano:etanol:amónia 10:8:1) deu material de >90% de pureza por U.V. a 210 nm (Figura

7). Rendimento 1,4 g. Massa calculada $(M+2H)^{+2}$ 993, encontrada 992,91.

O produto foi analisado por espectroscopia de RMN ^{13}C a 500 MHz (solvente D_3 acetonitrilo:água numa razão 7:3). Uma lista de picos é proporcionada na Tabela 2.

Tabela 2. Listagem de picos de Carbono 13 para o Exemplo 1.

| PICO | [ppm] | PICO | [ppm] |
|------|----------|------|---------|
| 1 | 181,3149 | 47 | 44,6775 |
| 2 | 175,3919 | 48 | 44,5744 |
| 3 | 174,8404 | 49 | 43,8023 |
| 4 | 174,6462 | 50 | 42,6752 |
| 5 | 174,3911 | 51 | 41,1394 |
| 6 | 174,2256 | 52 | 40,7135 |
| 7 | 174,0976 | 53 | 40,0986 |
| 8 | 173,8498 | 54 | 36,7443 |
| 9 | 173,4321 | 55 | 36,5221 |
| 10 | 173,3003 | 56 | 36,0111 |
| 11 | 173,1919 | 57 | 35,0293 |
| 12 | 172,8374 | 58 | 33,5143 |
| 13 | 172,5363 | 59 | 31,0095 |
| 14 | 172,5226 | 60 | 30,9257 |
| 15 | 171,6244 | 61 | 30,2204 |
| 16 | 171,403 | 62 | 29,4444 |
| 17 | 171,2443 | 63 | 28,9958 |
| 18 | 171,2186 | 64 | 28,1579 |
| 19 | 137,4317 | 65 | 27,8264 |
| 20 | 128,2591 | 66 | 27,3108 |
| 21 | 125,4133 | 67 | 26,8943 |
| 22 | 122,6186 | 68 | 26,6716 |
| 23 | 120,101 | 69 | 26,0067 |
| 24 | 119,489 | 70 | 25,6053 |
| 25 | 119,2236 | 71 | 25,5072 |
| 26 | 112,6147 | 72 | 23,0708 |

| | | | |
|----|----------|----|---------|
| 27 | 110,3448 | 73 | 22,7664 |
| 28 | 62,6628 | 74 | 22,7369 |
| 29 | 62,3103 | 75 | 21,9216 |
| 30 | 61,9417 | 76 | 20,7945 |
| 31 | 60,0459 | 77 | 20,7139 |
| 32 | 59,2589 | 78 | 20,5133 |
| 33 | 57,6883 | 79 | 19,7487 |
| 34 | 57,5602 | 80 | 19,6807 |
| 35 | 57,1782 | 81 | 19,3537 |
| 36 | 56,3394 | 82 | 18,6924 |
| 37 | 55,779 | 83 | 17,3511 |
| 38 | 55,1894 | 84 | 16,1335 |
| 39 | 54,8993 | 85 | 12,0709 |
| 40 | 54,8157 | 86 | 1,8865 |
| 41 | 54,4243 | 87 | 1,7212 |
| 42 | 53,0651 | 88 | 1,5557 |
| 43 | 52,6472 | 89 | 1,3899 |
| 44 | 51,5046 | 90 | 1,2242 |
| 45 | 47,0088 | 91 | 1,0588 |
| 46 | 44,8668 | 92 | 0,8934 |

Exemplo 2.**Preparação do sal de metanosulfonato do composto do Exemplo 1.**

Para o propósito de obtenção de soluções adequadas para administração de doses por via oral ou intravenosa, o sal de metanosulfonato do composto do Exemplo 1 foi encontrado como adequado.

O composto do Exemplo 1 foi suspenso em água e um excesso de ácido metanosulfônico foi adicionado para dar uma solução límpida. Excesso de ácido metanosulfônico foi removido carregando a solução para uma coluna Bond Elut C18 que tinha sido acondicionada de acordo com as instruções do fabricante e lavando a coluna completamente com água e

eluindo o sal de metanossulfonato com metanol. O solvente foi removido por evaporação deixando o sal de metanossulfonato como um pó branco.

O sal de metanossulfonato do composto do Exemplo 1 era solúvel a aproximadamente 20 mg/ml em água.

Exemplo 3 (Via alternativa para a preparação do composto do Exemplo 1)

Desoxiactagardina B [monocarboxamida de 7-(t-butoxicarbonilamido)-1-heptilamida]

Foi preparada empregando o processo descrito para o composto do Exemplo 1 desde Desoxiactagardina B e 7-(t-butoxicarbonilamido)-1-aminoheptano. 75% $(M+2H)^{+2}$ 1043, encontrada 1044,11. O t-butoxicarbonato foi hidrolisado por tratamento com ácido hidrocloreídrico aquoso a 4 N por 3 h a temperatura ambiente. A mistura foi neutralizada a pH 7 e a purificação foi realizada conforme descrito para o Exemplo 1 para proporcionar o composto do título. Rendimento 65%.

Os compostos abaixo foram preparados por métodos análogos àquele empregue para o Exemplo 1.

Exemplo 4 de Referência

Desoxiactagardina B (monocarboxamida de 2-amino-9-etilamida)

Foi preparada desde desoxiactagardina e 1,2-etilenodiamina empregando o processo acima descrito para o Exemplo 1.

Rendimento 96%. Massa calculada $(M+2H)^{+2}$ 958, encontrada 959,02

Exemplo 5 de Referência

Desoxiactagardina B (monocarboxamida de 3-amino-1-propilamida)

Foi preparada desde desoxiactagardina e 1,3-diaminopropano empregando o processo descrito acima para o Exemplo 1.

Rendimento 87%. Massa calculada $(M+2H)^{+2}$ 965, encontrada 965,04

Exemplo 6 de Referência

Desoxiactagardina B (monocarboxamida de 5-amino-1-pentilamida)

Foi preparada desde desoxiactagardina e 1,5-diaminopentano empregando o processo acima descrito para o Exemplo 1.

Rendimento 83%. Massa calculada $(M+2H)^{+2}$ 979, encontrada 980,06

Exemplo 7 de Referência

Desoxiactagardina B (monocarboxamida de 9-amino-1-nonilamida)

Foi preparada desde desoxiactagardina e 1,9-diaminononano empregando o processo acima descrito para o Exemplo 1.

Rendimento 84%. Massa calculada $(M+2H)^{+2}$ 1007, encontrada 1007,51

Exemplo 8 de Referência

Desoxiactagardina B (monocarboxamida de 12-amino-1-dodecilamida)

Foi preparada desde desoxiactagardina e 1,12-

diaminododecano empregando o processo acima descrito para o Exemplo 1.

Rendimento 74%. Massa calculada $(M+2H)+2$ 1028, encontrada 1027,51

Exemplo 9

Atividade antibacteriana de Lantibióticos tipo-B

O composto da invenção mostra atividade antibacteriana *in vitro* e *in vivo*, atividade contra *Clostridium difficile* e pode ter atividade melhorada em comparação com a desoxiactagardina B.

Testagem de suscetibilidade para estirpes de *Clostridium difficile* foi realizada por diluições seriadas duplas de antibiótico em agar de Anaeróbios Wilkins-Chalgren sob condições anaeróbias. Vancomicina foi incluída como um fármaco comparador. Culturas de *C. difficile* foram inoculadas em placas de agar Braziers (C.C.E.Y) pré-reduzido e cresceram a 37°C durante 48 horas sob condições anaeróbias. Duas a três colônias das culturas de 48 horas foram inoculadas em 5 ml de Caldo Schaedlers pré-reduzido e cresceram a 37°C durante 24 horas sob condições anaeróbias. Esta cultura foi diluída com NaCl 0,9% pré-reduzido para alcançar a turbidez do padrão de McFarland 0,5 e aplicada às placas contendo o fármaco num inóculo final de 105 ufc/ponto. Placas de controlo isentas de fármaco foram incluídas. As placas foram incubadas na câmara anaeróbica a 37°C durante 48 horas e examinadas quanto ao crescimento. A CIM foi a concentração mais baixa de fármaco que inibiu completamente o crescimento ou causou redução marcada do crescimento quando comparado com o crescimento nas placas isentas de fármaco.

Tabela 3: Dados de MIC ($\mu\text{g/ml}$) para desoxiactagardina B (DAB), e derivados da mesma. (Quanto mais baixo o valor do resultado, maior a atividade do composto de teste.)

| Estirpe C. diff | Composto do Exemplo(Ex) | | | | | | |
|--------------------|-------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| | DAB | Ex 3 de Referência (p=2) | Ex 5 de Referência (p=3) | Ex 6 de Referência (p=5) | Ex 1 (p=7) | Ex 7 de Referência (p=9) | Ex 8 de Referência (p=12) |
| 37779 | 4 | 2,2 2,2 2,1 | 1,1 1,1 1,1 2,2 | 2,2 | 1,0.5 1,1 1,1 1,1 | 2,1 | 1,2 1,1 |
| 19126 | 4 | 2,1 1,2 1,1 | 2,2 1,1 1,1 2,2 | 1,1 | 1,1 0.5,1 1,1 1,0.5 | 2,1 | 1,1 2,2 |
| B32 | 2 | 2,2 | 2,2 | 2,2 | 1,1 | 2,2 | 2,1 |
| E16 | 2 | 4,2 | 1,2 | 2,2 | 1,2 | 2,2 | 2,2 |
| P24 | 2 | 2,2 | 2,2 | 2,2 | 1,1 | 2,1 | 2,1 |
| 027SM | 2 | 2,2 | 2,2 | 2,2 | 1,1 | 2,2 | 2,2 |
| P62 | 2 | 2,2 | 2,2 | 2,2 | 2,1 | 2,2 | 2,2 |
| E101 | 2 | 2,2 | 2,2 | 2,2 | 1,1 | 2,2 | 2,2 |
| 027Can | 4 | 2,2 1,2 0.5 1 | 1,1 0.5,0.5 1,0.5 2,2 | 2,1 | 0.5,0.5 0.5,0.5 1,1 1,0.5 | 0.5 1,1 | 1,1 1,1 |
| E4 | 2 | | | | | | |
| P49 | 2 | | | | | | |
| P59 | 2 | | | | | | |
| 630 | 4 | 1,1 1,1 1,1 | 1,1 2,2 1,1 | 1,1 1,0.5 1,1 1,1 | 0.5,0.5 0.5,1 1,1 1,1 | | 0.5,0.5 1,1 |

Na tabela acima p refere-se ao número de átomos na cadeia de alquilo, assim para o composto da invenção, p é 7 (heptilo).

Exemplo 10 - Estabilidade dos Lantibióticos tipo-B no fluido intestinal

Os compostos baseados em lantibióticos proporcionados no presente documento podem ter estabilidade aumentada face à degradação enzimática quando comparados com lantibióticos

tipo-A, tal como a nisina. Particularmente, os compostos podem ter estabilidade melhorada face a sucos intestinais quando comparados com lantibióticos tipo-A.

A nisina e o composto do Exemplo 1 foram testados para a sua suscetibilidade face à digestão enzimática no intestino utilizando um fluido intestinal simulado (SIF). O SIF foi baseado nas soluções padrão USP para fluidos intestinais simulados e a sua atividade foi confirmada contra Albumina Sérica Bovina (Hilger *et al*, Clin. Exp. Immunol. 2001, 123, 387-94). Os compostos foram incubados em SIF a 37°C e as suas concentrações quantificadas por HPLC analítica (deteção por UV a 210 nm utilizando as condições delineadas na Tabela 1).

A Figura 1 mostra que a nisina foi rapidamente degradada no SIF com uma semi-vida de aproximadamente 15 a 20 minutos. A rápida degradação da nisina neste meio suporta a observação de que a utilidade clínica da nisina para o tratamento de infeções do cólon é muito limitada a não ser que o composto possa ser protegido de enzimas de degradação através de formulação cuidadosa.

A Figura 1 mostra ainda que o composto do Exemplo 1 é essencialmente estável em SIF e propenso a ter estabilidade adequada para tratar infeções do cólon por *C. difficile*.

Exemplo 11 - Eficácia *in vivo* de antibióticos tipo-B no modelo de hamster na tiflite associada a *C. difficile*

A eficácia *in vivo* dos compostos da invenção no tratamento de infeções por *C. difficile* foi avaliada no modelo animal padrão para CDAD, tiflite induzida por clindamicina no hamster. Os resultados estão sumarizados na Figura 2.

A grupos de 6 animais foram administradas doses com aproximadamente 10^7 células da estirpe 4013 de *C. difficile* e 24 horas mais tarde uma dose subcutânea de 10 mg/kg de

fosfato de clindamicina. Após mais 24 horas, os grupos foram então tratados ou com um veículo, vancomicina ou com o composto do Exemplo 1 três vezes por dia a 10 mg/kg/dia.

O procedimento conforme descrito induziu uma infecção por *C. difficile* nos animais de teste, dos quais todos os animais tratados apenas com o veículo morreram no espaço de 3 dias. Em contraste, todos os animais tratados com vancomicina ou o derivativo da DAB sobreviveram à duração de todo o período de administração de doses de 5 dias, demonstrando os efeitos protetores destes compostos.

Exemplo 12 - ADME no modelo de rato

O composto do Exemplo 1 foi administrado em doses orais a ratos durante 7 dias e recuperado das fezes por extração com metanol. A Figura 3 mostra a quantidade de material recuperado em relação à quantidade administrada ao rato. Enquanto a quantidade de material recuperado depende do número de extrações, os dados mostram que pelo menos 60 a 70% do composto do Exemplo 1 pode ser recuperado não modificado após a sua passagem através do trato gastrointestinal e que o composto do Exemplo 1 pode atingir altas concentrações no cólon.

Exemplo 13 - Toxicologia no modelo de rato

O composto do Exemplo 1 foi testado numa experiência de toxicidade de 7 dias num modelo de rato. Um estudo utilizou 50 mg/kg/dia de material administrado por via intravenosa durante 7 dias. O outro estudo utilizou 200 mg/kg/dia de material administrado por via oral durante 7 dias. Tanto a dose intravenosa como oral excedem significativamente o nível de dose clínica antecipado (cerca de 3-30 mg/kg/dia por administração de doses por via oral). nenhuns efeitos toxicológicos significantes foram

observados durante a experiência e a necropsia não revelou danos orgânicos.

O composto do Exemplo 1 foi tolerado sem sinais óbvios de toxicidade a 50 mg/kg/dia por via oral no hamster Sírio.

DOCUMENTOS REFERIDOS NA DESCRIÇÃO

Esta lista de documentos referidos pelo autor do presente pedido de patente foi elaborada apenas para informação do leitor. Não é parte integrante do documento de patente europeia. Não obstante o cuidado na sua elaboração, o IEP não assume qualquer responsabilidade por eventuais erros ou omissões.

Documentos de patente referidos na descrição

- WO 2007083112 A [0003] [0017]
- WO 9111172 A [0037]
- WO 9402518 A [0037]
- WO 9855148 A [0037]
- WO 0200196 A [0038]

Documentos de não patente citados na descrição

- **BERGE et al.** *J. Pharm. Sci*, 1977, vol. 66, 1-19 [0018]
- **T. HIGUCHI ; V. STELLA.** Prodrugs as Novel Delivery Systems. A.C.S. Symposium Series, vol. 14 [0024]
- Bioreversible Carriers in Drug Design. American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987 [0024]
- **D. FLEISHER ; S. RAMON ; H. BARBRA.** Improved oral drug delivery: solubility limitations overcome by the use of prodrugs. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 1996, vol. 19 (2), 115-130 [0024]
- Remington's Pharmaceutical Sciences. Mack Publishing Co, 1985 [0035]
- Rifaximin Treatment for Symptoms of Irritable Bowel Syndrome. **ANDREA L. FUMI ; KATHERINE TREXLER.** The Annals of Pharmacotherap. 2004, vol. 4, 408 [0070]
- **J. MINER; M. M GILLAN ; P. ALEX ; M CENTOLA.** Steroid-refractory ulcerative colitis treated with corticosteroids, metronidazole and vancomycin: a case

- report. *BMC Gastroenterology*, 2005, vol. 5, 3 [0071]
- **HILGER et al.** *Clin. Exp. Immunol.*, 2001, vol. 123, 387-94 [0095]

Lisboa, 23 de Outubro de 2014

REIVINDICAÇÕES

1. Desoxiactagardina B (monocarboxamida de 7-amino-1-heptilamida) e sais, hidratos e solvatos farmacêuticamente aceitáveis da mesma.
2. Uma composição farmacêutica compreendendo um composto de acordo com a reivindicação 1, e um excipiente farmacêuticamente aceitável.
3. A composição de acordo com a reivindicação 2, para administração oral ou administração parentérica.
4. Um composto de acordo com a reivindicação 1 ou uma composição de acordo com as reivindicações 2 ou 3 para utilização em tratamento.
5. Um composto de acordo com a reivindicação 1 ou uma composição de acordo com as reivindicações 2 ou 3 para utilização no tratamento de infecção microbiana.
6. O composto ou composição para utilização de acordo com a reivindicação 5, em que a infecção microbiana é infecção por *C. difficile*.
7. O composto ou composição para utilização de acordo com a reivindicação 6, em que a infecção por *C. difficile* é no cólon e/ou intestino grosso.
8. O composto ou composição para utilização de acordo com a reivindicação 5, em que a infecção microbiana é sobrecrecimento bacteriano do intestino delgado.
9. O composto de acordo com a reivindicação 1 ou uma composição de acordo com a reivindicação 2 ou 3 para

utilização no tratamento de colite ulcerativa ou síndrome do intestino irritável.

10. Um método para a preparação de Desoxiactagardina B (monocarboxamida de 7-amino-1-heptilamida) da reivindicação 1, o método compreendendo a etapa de reagir Desoxiactargardina B com 1,7-diaminoheptano na presença de diisopropiletilamina e hexafluorofosfato de benzotriazol-1-il-oxi-tris-pirrolidino-fosfónio (PyBOP) em DMF.

11. O método da reivindicação 10, em que Desoxiactagardina B é sintetizada em *A. Liguriae*.

Lisboa, 23 de Outubro de 2014

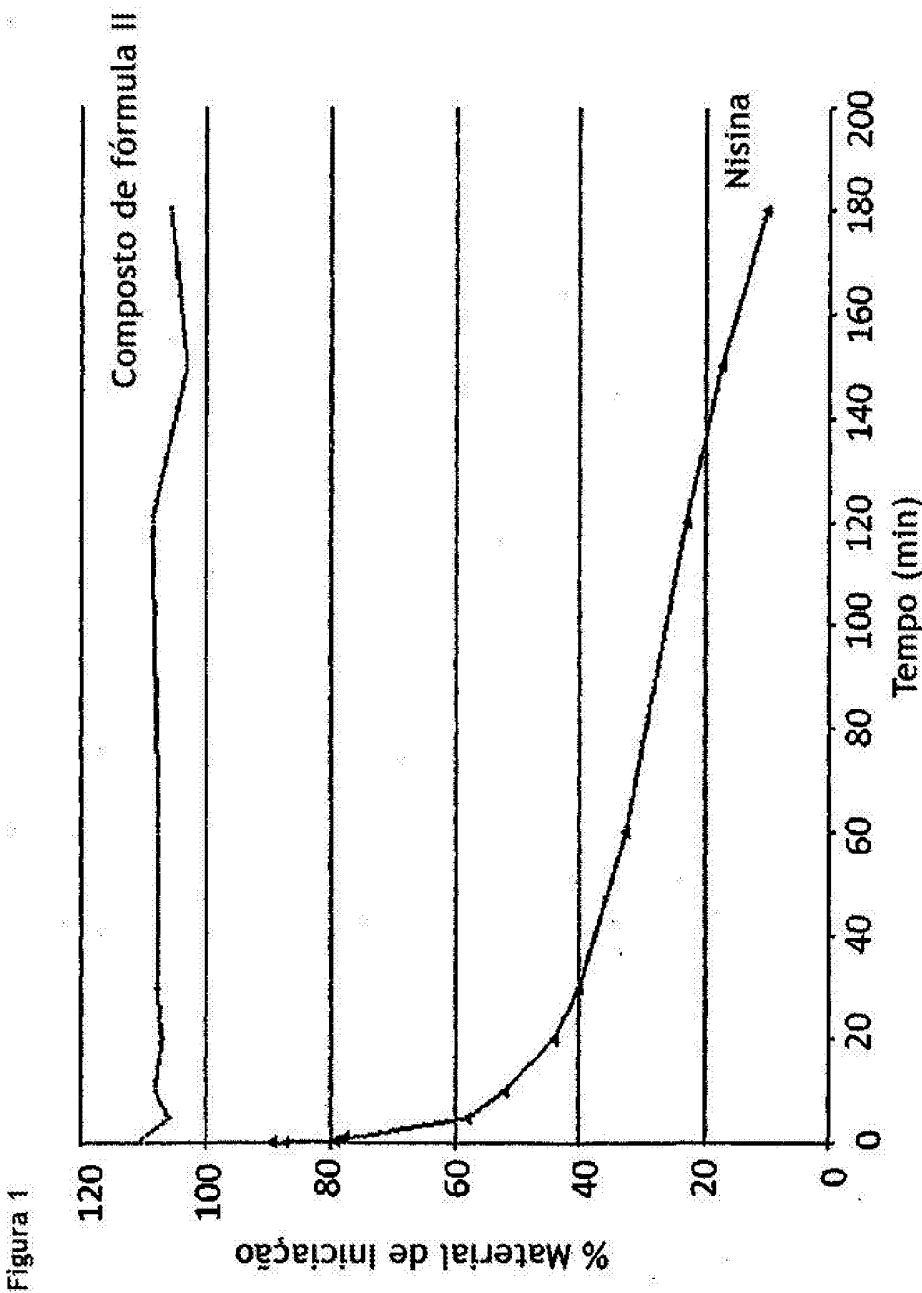


Figura 2

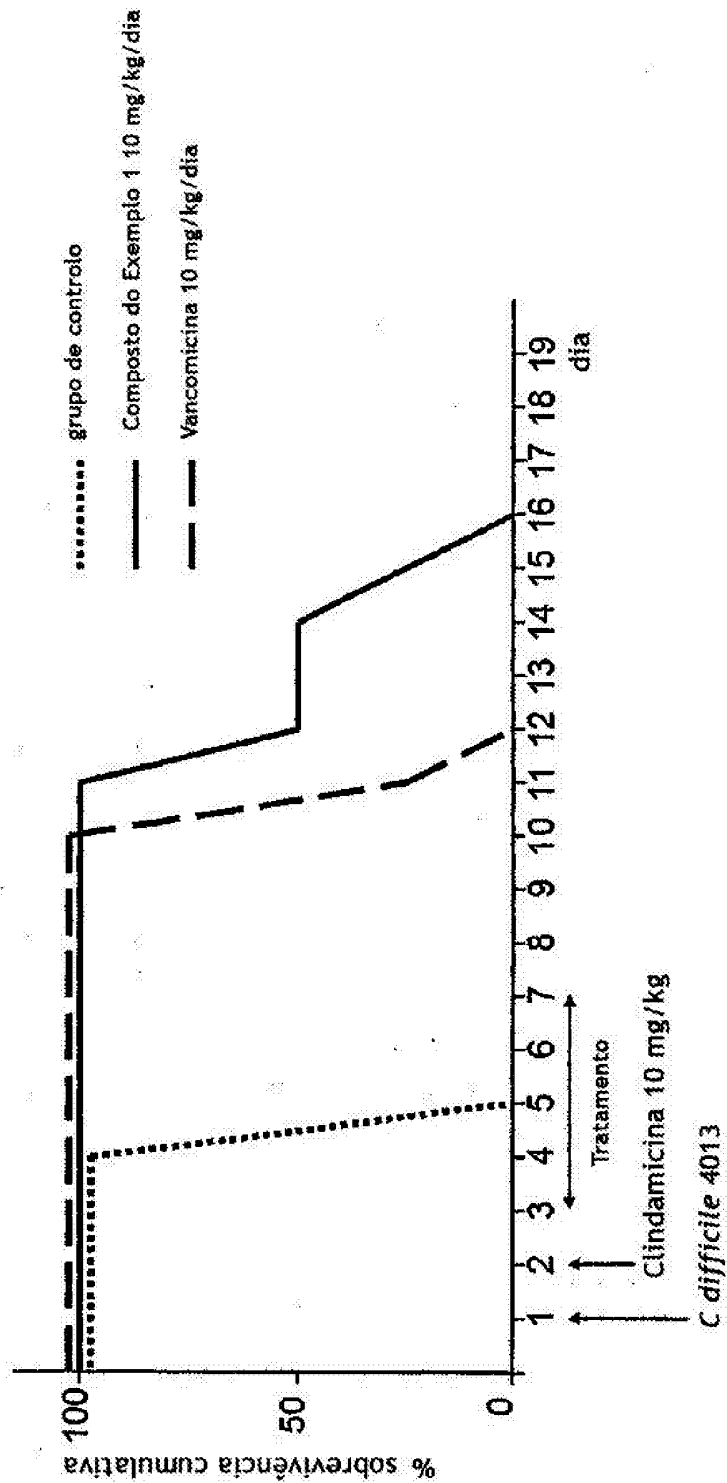


Figura 3

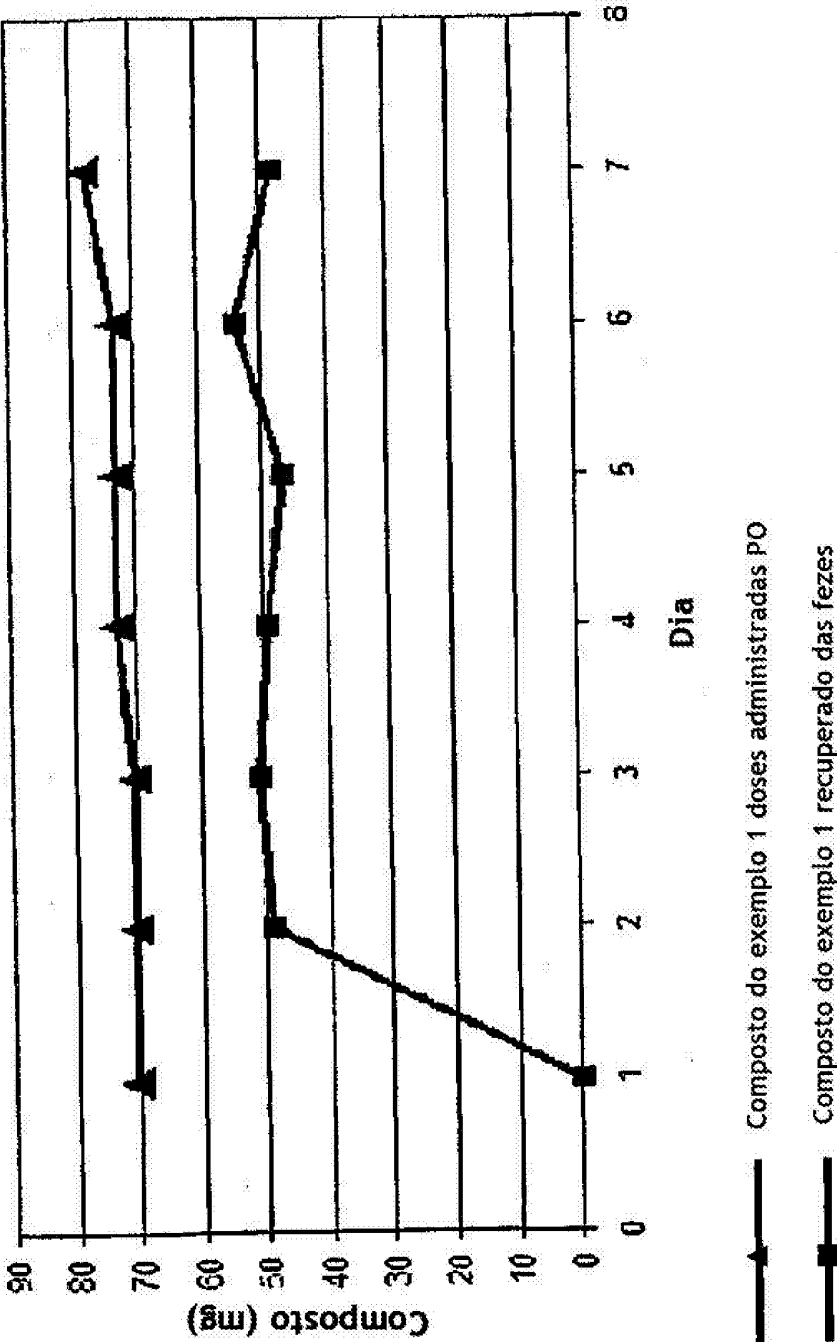


Figura 4 Cromatograma de HPLC da Desoxiactagardina B

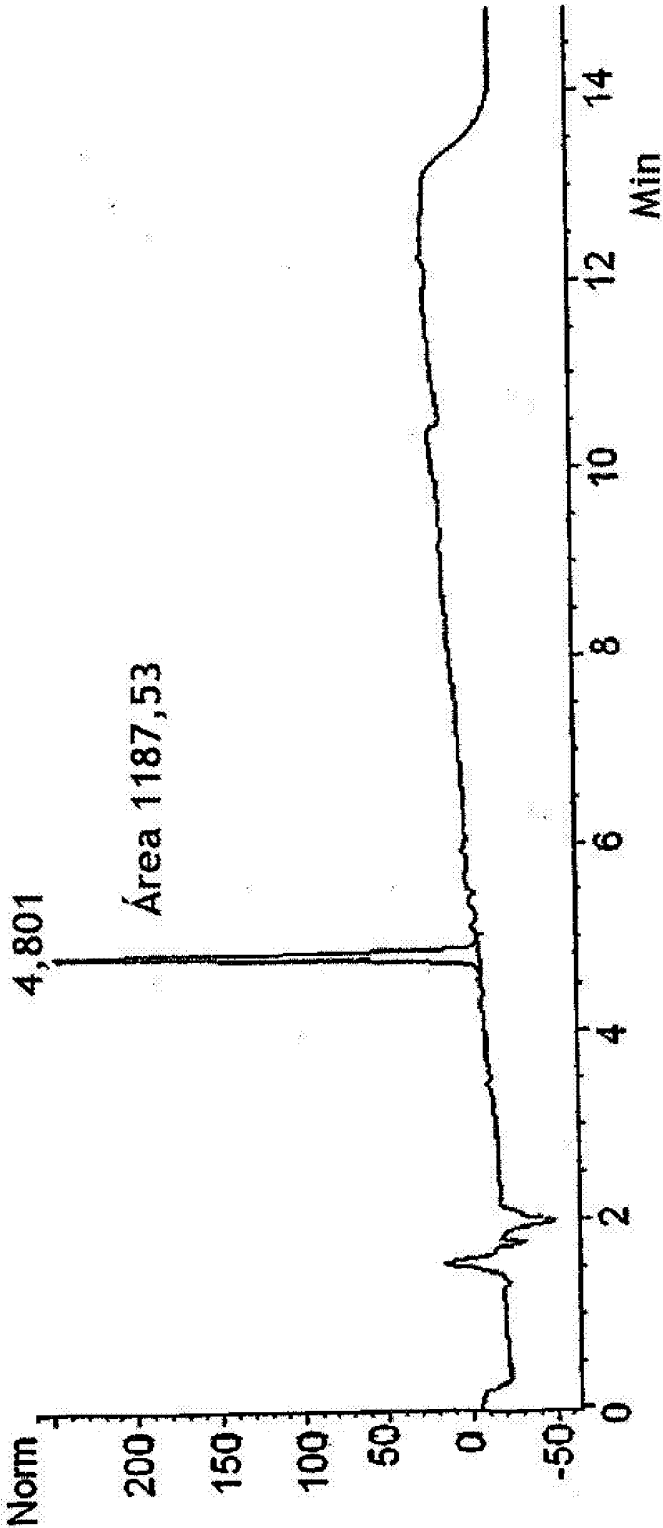


Figura 5 Cromatograma de HPLC da mistura de reação de reação do Exemplo 1

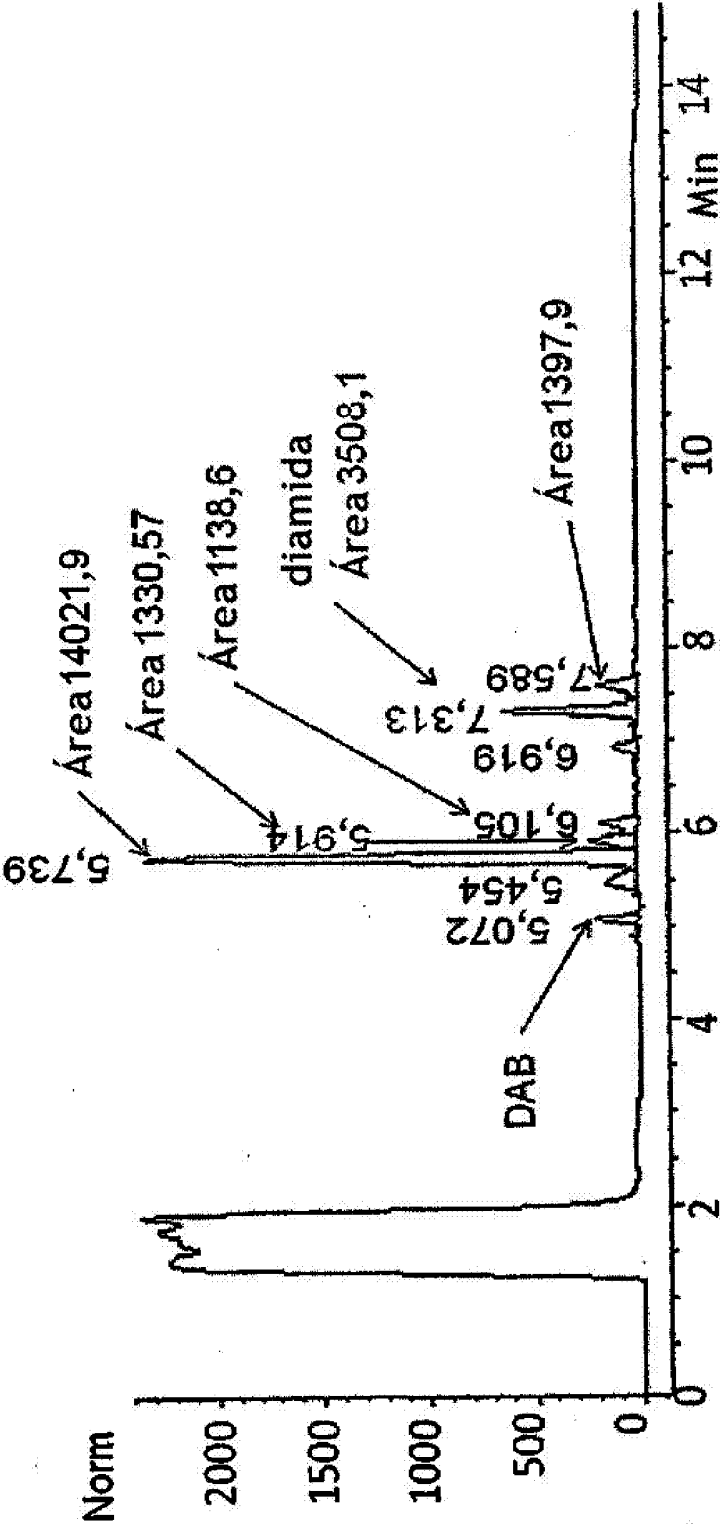


Figura 6 Cromatograma de HPLC do Exemplo 1 após Bond Elut C18

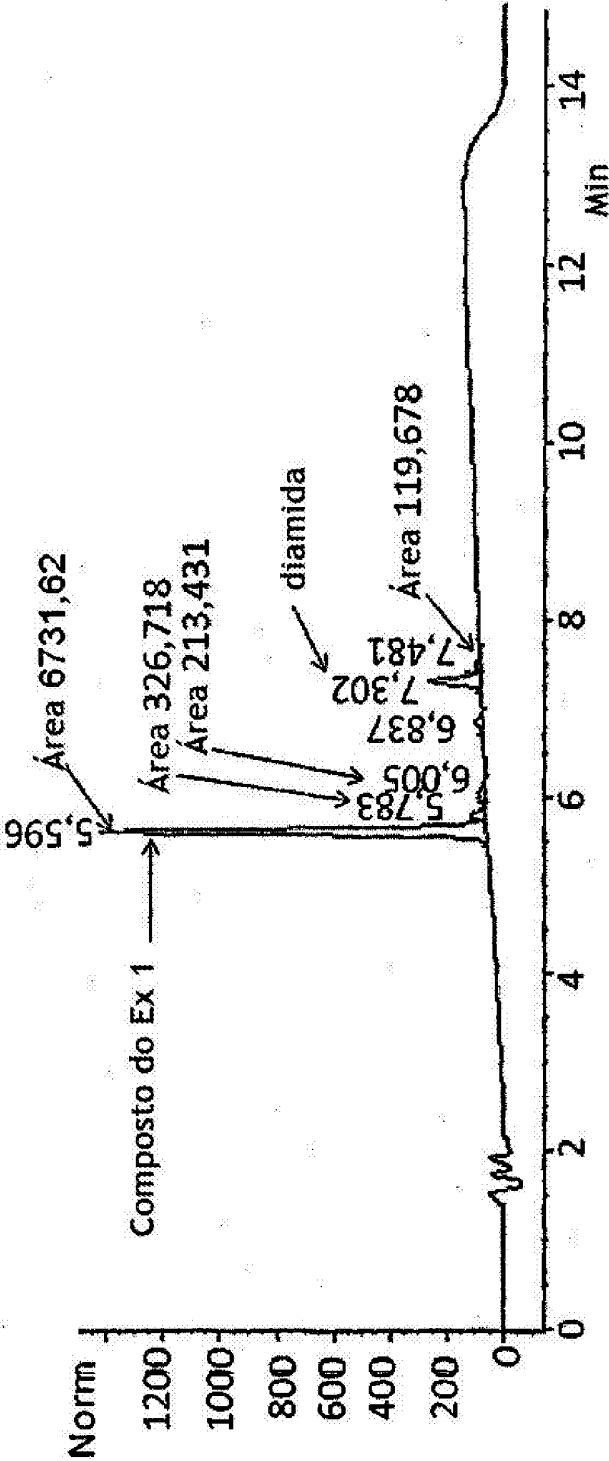


Figura 7 Cromatograma de HPLC do composto 1 purificado por cromatografia rápida

