

DESCRIZIONE

Campo dell'invenzione

La presente invenzione si riferisce a composizioni farmaceutiche comprendenti il composto 2,2'-di(piridin-4-il)-1H,1'H-5,5'-
5 dibenzo[d]imidazolo, o un suo N-ossido, sale, idrato o solvato farmaceuticamente accettabili che sono usati nel trattamento di malattie e infezioni batteriche, a composizioni comprendenti un idrato del composto 2,2'-di(piridin-4-il)-1H,1'H-5,5'-dibenzo[d]imidazolo. In particolare, i composti della presente invenzione sono utili per il trattamento di infezioni e malattie provocate da *Clostridium difficile*.
10

Sfondo dell'invenzione

(a) Farmaci antibatterici e *Clostridium difficile*

Lo sviluppo di farmaci antibatterici rappresenta uno dei più importanti progressi nella medicina del XX secolo. Malattie precedentemente
15 non trattabili possono ora essere facilmente controllate ed è stato trovato che molte malattie dovrebbero essere debellate con questi nuovi farmaci miracolosi. Nonostante questi significativi progressi nel trattamento, le malattie infettive sono la terza causa principale della mortalità negli USA (Clin. Infect. Dis., 2004, 38, 1279-1286) e rimane uno dei problemi per la salute globale più significativi. Le percentuali di resistenza
20 in tutti i principali batteri patogeni stanno aumentando drasticamente e di particolare interesse è il numero crescente e la gravità delle infezioni nosocomiali (Infectious Disease Society of America, 2004, *Bad Bugs, No Drugs*). L'emergenza dei patogeni resistenti a più farmaci ha reso molti
25 dei farmaci di prima linea in corso completamente inefficaci nel control-

lo di molte malattie.

Un particolare sottoinsieme di patogeni batterici di interesse è quello classificato come batteri formanti spore. Le spore batteriche (endospore) sono latenti, strutture non riproduttive formate dai batteri in risposta alle sollecitazioni ambientali. Una volta che le condizioni ambientali diventano favorevoli, le spore germinano e i batteri proliferano. Nel caso di batteri patogeni, la germinazione in un ospite umano può portare a una malattia.

Le spore batteriche sono estremamente tolleranti a molti agenti e condizioni ambientali comprendenti le radiazioni, la disidratazione, la temperatura, l'inedia e gli agenti chimici. Questa naturale tolleranza agli agenti chimici consente alle spore di persistere per molti mesi in ambienti chiave come ospedali, altri centri sanitari e impianti di produzione alimentare, dove agenti di pulitura standard, germicidi e procedimenti di sterilizzazione non sradicano i batteri. Nel caso della produzione alimentare, la presenza di spore può avere conseguenze significative varianti da un semplice deterioramento degli alimenti attraverso la diffusione di patogeni di origine alimentare e sostanze che avvelenano gli alimenti. Più recentemente, l'attenzione è stata attirata dai rischi associati con le spore di *Bacillus anthracis*, l'agente causativo dell'antrace. Le spore possono essere facilmente preparate come polvere anidra che può essere disseminata con numerosi metodi e usata come agente bioterroristico. L'antrace è considerato l'agente bioterroristico singolo più preoccupante (CDC Emerg. Infect. Dis., 2004, 5(4), 552-555). Ciò può essere evidenziato dagli attacchi dell'antrace per via postale negli Stati

Uniti nel 2001. Sono state confermate 22 infezioni che portarono a 5 decessi con il costo di pulizia e decontaminazione successiva agli attacchi che è stato stimato in 1 miliardo di dollari.

Importanti batteri formanti spore sono i batteri formanti endospore
5 Gram-positivi del genere *Bacillus* e *Clostridium*. Esempi del genere *Bacillus* della salute si riferiscono ai soggetti umani, ma non sono limitati a, *B. anthracis* e *B. cereus*. *Bacillus anthracis* è di particolare interesse come agente causativo dell'antrace. L'infezione da antrace può avvenire attraverso ingestione, inalazione o contatto cutaneo con le spore di *Ba-*
10 *cillus anthracis* che portano a tre distinte forme cliniche. Le infezioni cutanee ammontano a circa il 95% di tutte le infezioni e generalmente sono ben controllate con l'uso di appropriati antibiotici. Circa il 20% dei casi non trattati di antrace cutaneo porta al decesso. L'infezione intestinale è caratterizzata da un'inflammatione acuta del tratto intestinale
15 che porta a nausea, perdita di appetito, vomito, febbre, dolore addominale, vomito di sangue e grave diarrea. L'antrace intestinale porta al decesso nel 25%-60% dei casi. La forma più severa della malattia è l'antrace polmonare che è spesso fatale, anche con la somministrazione aggressiva e tempestiva di antibiotici. La capacità di disperdere facilmente
20 le spore di antrace attraverso l'aria e in un'area estesa per indurre l'antrace polmonare rende l'antrace l'agente bioterroristico principale.

I membri del genere *Clostridium* sono anaerobi obbligati, formanti spore, Gram-negativi. Tipiche specie che provocano la malattia nei soggetti umani comprendono, ma non sono limitati a, *C. perfringens*, *C. tet-*
25 *rani*, *C. botulinium*, *C. sordellii* e *C. difficile*. I Clostridi sono associati

con diverse malattie umane comprendenti tetano, cancrena gassosa, botulismo e colite pseudomembranosa e possono essere un agente causativo nell'avvelenamento alimentare.

Di particolare interesse è la malattia provocata da *Clostridium difficile*. *Clostridium difficile* provoca malattie associate a *Clostridium difficile* (CDAD) e c'è stato un aumento di dieci volte nel numero di casi negli ultimi 10 anni, con ceppi iper-virulenti e resistenti ai farmaci che ora sono divenuti endemici. Recenti figure HPA mostrano che c'erano 55.681 casi di infezione da *C. difficile* in pazienti dell'età di 65 anni e oltre in Inghilterra nel 2006 (oltre l'8% rispetto all'anno precedente). Forse la massima preoccupazione è rappresentata dai casi di CDAD senza uso di antibiotico sottostante ora descritto.

Clostridium difficile è un batterio enterico commensale, i cui livelli sono mantenuti sotto controllo dalla normale flora intestinale. Comunque, il batterio è l'agente causativo di malattia associata a *C. difficile* (CDAD) ed è stato identificato come la causa primaria delle manifestazioni più serie di CDAD, la colite pseudomembranosa. CDAD è associata con un ampio numero di sintomi varianti da una blanda diarrea alla colite pseudomembranosa, megacolon tossico e decesso. Il fattore di rischio principale per lo sviluppo di CDAD è l'uso di antibiotici che disgregano la normale flora batterica enterica provocando una crescita eccessiva di *Clostridium difficile*. Sebbene la clindamicina sia il principale antibiotico associato con CDAD, la malattia è ora associata con quasi tutti gli antibiotici comprendenti membri di fluorochinolone, cefalosporina, macrolide, β -lattame e molte altre classi.

CDAD è principalmente preoccupante negli ambienti ospedalieri ed è particolarmente preoccupante fra i pazienti anziani, dove le percentuali di mortalità sono particolarmente elevate. Le percentuali descritte di CDAD sono aumentate drasticamente negli anni recenti, con oltre 5 55.000 casi riportati in UK nel 2006 (Health Protection Agency Surveillance of Healthcare Associated Infections Report 2007).

Le percentuali di mortalità negli USA sono aumentate da 5,7 per milione di popolazione nel 1999 a 23,7 per milione nel 2004. Le percentuali di colonizzazione di *C. difficile* nella popolazione generale sono salite 10 te al 3% sebbene il ricovero ospedaliero aumenti drasticamente la percentuale di colonizzazione fino al 25%. Di particolare preoccupazione è l'emergenza di nuovi ceppi endemici. Un esempio particolarmente pertinente è il ceppo iper-virulento BI/NAP1 (anche noto come ribotipo 027) che mostra un'aumentata produzione di tossine A e B, come pure la 15 produzione di addizionali nuove tossine binarie.

Un fattore critico associato con clostridio è la percentuale elevata di spore batteriche presenti negli ambienti ospedalieri. E' stato recentemente evidenziato che molti degli agenti di pulitura standard negli ospedali in uso sono inefficaci nel sradicare le spore di clostridio negli 20 ambienti portando a un controllo inefficace della malattia (Infect Cont. Hosp. Epidemiol., 2007, 28, 920-5). Le caratteristiche di iper-sporulazione dei ceppi come BI/NAP1 contribuiscono in modo significativo al problema.

Sebbene i principali fattori di rischio associati con CDAD siano l'uso 25 sottostante di antibiotici e l'età (CMAJ, 2008, 179(8), 767-772; J. An-

timicrob. Chem., 2003, 51, 1339-1350) ci sono numerosi altri fattori associati comprendenti, per esempio, l'uso di inibitori della pompa protonica, l'uso di antagonisti del recettore H2, l'uso di diuretici, la lunghezza della degenza ospedaliera, l'uso di tubi per l'alimentazione, la ventilazione meccanica e la sottostante co-morbilità.

L'acidità gastrica è parte del meccanismo di difesa naturale contro i patogeni ingeriti e una qualsiasi riduzione nell'acidità dello stomaco può portare alla colonizzazione del tratto gastrointestinale superiore normalmente sterile, il che può portare a disturbi della normale microflora enterica. Pertanto, l'uso di agenti che sopprimono l'acidità gastrica, come gli inibitori della pompa protonica (PPIs) e gli antagonisti del recettore H2 dell'istamina (H2RAs), è associato con un rischio aumentato di colonizzazione di *C. difficile* e successivo sviluppo di CDAD. L'uso di PPIs e H2RAs è stato precedentemente associato con altre infezioni enteriche come la diarrea del viaggiatore, la salmonellosi e il colera. Dial et al. hanno descritto che il rischio di CDAD aumenta con l'uso di agenti che sopprimono l'acidità gastrica sia nelle comunità (JAMA, 2005, 294(23), 2989-2995) sia negli ambienti ospedalieri (CMAJ, 2004, 171(1), 33-38).

PPIs comprendono, ma non sono limitati a, omeprazolo (Losec, Prilosec, Zegerid), lansoprazolo (Prevacid, Zoton, Inhibitol), esomeprazolo (Nexium), pantoprazolo (Protonix, Somac, Pantoloc, Pantozol, Zurcal, Pan) e rabeprazolo (Rabecid, Aciphex, Pariet, Rabeloc).

H2RAs comprendono, ma non sono limitati a, cimetidina (Tagamet), ranitidina (Zinetac, Zantac), famotidina, (Pepcidine, Pepcid), roxa-

tidina (Roxit) e nizatidina (Tazac, Axid).

La tripla terapia con PPIs o H2RAs assieme con una combinazione di due antibiotici è un trattamento riconosciuto per lo sradicamento delle infezioni da *Helicobacter pylori* (Aliment. Pharmacol. Ther., 2001, 15(5), 613-624; Helicobacter., 2005, 10(3), 157-171). Comunque, ci sono alcune pubblicazioni che questo regime di tripla terapia può portare a effetti collaterali di CDAD (Am. J. Gastroenterol., 1998, 93(7), 1175-1176; J. Int. Med., 1998, 243(3), 251-253; Aliment. Pharm. Ther., 2001, 15(9), 1445-1452; Med. Sci. Monit., 2001, 7(4), 751-754). Tipici antibatterici usati per trattare le infezioni da *Helicobacter pylori* sono una combinazione di agenti scelti da, ma non limitati a, metronidazolo, amoxicilina, levofloxacina e claritromicina - molti dei quali sono fortemente associati con lo sviluppo di CDAD. Le attuali terapie sono estremamente limitate; particolarmente in considerazione del fatto che quasi tutte le classi di antibiotici sono associate con la causa della malattia. L'unico farmaco approvato da FDA per il trattamento per CDAD è la vancomicina, sebbene sia anche estensivamente usato il metronidazolo. L'uso assai diffuso della vancomicina per il trattamento di CDAD è preoccupante a causa della sua azione batteriostatica contro i clostridi, del costo relativamente elevato e della possibile selezione di ceppi di *C. difficile* resistenti come pure di altri batteri (particolarmente *Enterococcus* spp.). Un problema fondamentale sia con il metronidazolo sia con la vancomicina è l'elevata percentuale di ricaduta con almeno il 20% di pazienti che sperimentano almeno un episodio ricorrente. La ricaduta si verifica a causa dell'incapacità di sradicare le spore di *Clostridium* durante la te-

rapia, portando al successivo effetto di uno stato patogenico. Questa incapacità di controllare la formazione delle spore consente la contaminazione continua dell'ambiente ospedaliero. Pertanto, agenti capaci di sradicare le cellule vegetative e controllare le endospore dovrebbero essere
5 significativamente vantaggiosi.

L'opzione terapeutica principale per il trattamento di CDAD è l'interruzione di un qualsiasi corrente trattamento antimicrobico seguito dall'uso appropriato o di vancomicina o di metronidazolo. Entrambi gli agenti sono generalmente somministrati per via orale anche se il metronidazolo può anche essere somministrato per via intravenosa e nei casi
10 gravi, la vancomicina può anche essere somministrata attraverso numerose altre vie, comprendenti la intracolonica, attraverso sondino gastrico nasale o come enema di ritenzione della vancomicina. Addizionali agenti antibiotici che sono stati descritti per essere usati nel trattamento di
15 CDAD comprendono acido fusidico, rifamicina e i suoi analoghi, teicoplanina e bacitracina, sebbene nessuno mostri una particolare efficacia rispetto alla vancomicina o al metronidazolo. Oltre a bloccare qualsiasi trattamento antibatterico offensivo, l'uso di agenti antiperistaltici, opiacei o loperamide dovrebbe essere evitato poiché può ridurre la clearance delle tossine di *C. difficile* ed aggravare i danni delle colonie mediate dalla tossine. Tali agenti possono anche precipitare l'ileo e provocare una dilatazione tossica del colon (J. Med. Microbiol., 2005, 54,
20 101-111; JAMA, 1993, 269, 71-5; Postgrad. Med. J., 1990, 66(777), 582).

25 Terapie alternative, usate come agenti standard da soli o assieme

con antibatterici, sono rivolti o a provare il ristabilimento della popolazione nativa dei microorganismi dell'intestino, riducendo i livelli delle tossine di *C. difficile* o stimolando il sistema immunitario (per una rassegna, vedi Antibiotic Treatment for Clostridium difficile-Associated Diarrhea in Adults, Cochrane Database of Systematic Reviews 2007, Issue 3. Art. No.: CD004610.; Clin. Inf. Dis., 2008, 46(S1), S32-S42; Clin. Inf. Dis., 2007, 45(S2), S122-S128; J. Med. Microbiol., 2005, 54, 101-111 e i riferimenti ivi contenuti). Pertanto, alternative terapie CDAD comprendono la somministrazione di *Saccharomyces boulardii* o *Lactobacillus acidophilus* assieme con antibiotici, il trapianto fecale e, nei casi gravi dove tutte le altre opzioni terapeutiche hanno fallito, la chirurgia. Sebbene le percentuali di colectomia sia bassa (fino al 3% dei casi) è associata con elevate percentuali di mortalità (fino al 60%).

Pertanto, c'è una pressante necessità di nuovi ed efficaci agenti per il trattamento di malattie associate con i batteri formanti spore, in particolare quelli provocati dai membri dei generi *Clostridium* e *Bacillus* e, in particolari malattie, associati con le infezioni da *Clostridium difficile*. Questa necessità è particolarmente acuta alla luce della natura refrattaria di *Clostridium difficile* a molti antibiotici ad ampio spettro (comprendenti gli antibiotici β -lattamici e di chinolone) e della frequenza con cui si presenta la resistenza (Antimicrob. Agents Chemother., 1985, 28(6): 842-844).

(b) Tecnica precedente

WO2007056330, WO2003105846 e WO2002060879 descrivono vari 2-amminobenzimidazoli come agenti antibatterici.

WO2007148093 descrive vari 2-amminobenzotiazoli come agenti antibatterici.

WO2006076009, WO2004041209 e Bowser et al. (Bioorg. Med. Chem. Lett., 2007, 17, 5652-5655) descrivono vari composti di benzimidazolo-sostituiti utili come anti-infettivi che diminuiscono la resistenza, la virulenza o la crescita dei microbi. Si dice che i composti non mostrano attività antimicrobica intrinseca *in vitro*.

US 5.824.698 descrive vari dibenzimidazoli come antibiotici ad ampio spettro, descrivendo l'attività contro i batteri sia Gram-negativi sia Gram-positivi, comprendenti *Staphylococcus* spp. e *Enterococcus* spp. Comunque, questo documento non descrive l'attività contro i batteri formanti spore anaerobiche e, in particolare, non descrive l'attività contro un qualsiasi *Clostridium* spp. (comprendente *C. difficile*).

US 2007/0112048 A1 descrive varie bi- e triarilimidazolidine e bi- e triarilammidine come antibiotici ad ampio spettro, descrivendo l'attività contro i batteri sia Gram-negativi sia Gram-positivi, comprendenti *Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp. e *Clostridium* spp. Comunque, questo documento non descrive composti di formula generale (I) come qui descritto.

Chaudhuri et al. (J. Org. Chem., 2007, 72, 1912-1923) descrivono vari bis-2-(piridil)-1H-benzimidazoli (compresi i composti di formula I come qui descritto) come agenti leganti il DNA. Questo documento non parla della potenziale attività antibatterica.

Sommario dell'invenzione

Pertanto, in un primo aspetto della presente invenzione, è fornita una composizione farmaceutica comprendente il composto 2,2'-di(piridin-4-il)-1H,1'H-5,5'-dibenzo[d]imidazolo, o un suo N-ossido, sale, idrato o solvato farmaceuticamente accettabili, e un eccipiente farmaceuticamente accettabile.

In un altro aspetto, è fornita una composizione comprendente un idrato del composto 2,2'-di(piridin-4-il)-1H,1'H-5,5'-dibenzo[d]imidazolo.

Altri aspetti dell'invenzione sono definiti nelle rivendicazioni descritte di seguito.

10 **Descrizione dettagliata dell'invenzione**

I. Definizioni e preferenze generali

Dove qui usati e se non specificatamente indicato in modo diverso, i seguenti termini hanno la finalità di avere i seguenti significati in aggiunta a uno qualsiasi dei significati più ampi (o ristretti) dei termini che può adattarsi nella tecnica:

Se non richiesto diversamente dal contesto, l'uso presente del singolare dev'essere letto per comprendere il plurale e viceversa. Il termine "un" o "uno" usati in relazione a un'entità devono essere letti come riferito a una o più di tale entità. Pertanto, i termini "un" (o "uno"), "uno o più" e "almeno uno" sono qui usati in modo interscambiabile.

Come qui usato, il termine "comprendono", o sue variazioni come "comprende" o "comprendente", devono essere letti per indicare l'inclusione di una qualsiasi entità completa (ad esempio una insufficienza, elemento, caratteristica, proprietà, metodo/stadio di procedimento o limitazione) oppure un gruppo di entità complete (ad esempio caratteri-

stiche, elementi, caratteristiche, proprietà, metodo/stadi di procedimento o limitazioni), ma non l'esclusione di una qualsiasi altra entità completa o gruppo di entità complete. Pertanto, come qui usato, il termine "comprendente" è inclusivo o di tipo aperto e non esclude addizionali entità complete non descritte o metodo/stadi di procedimento.

La frase "consistente essenzialmente di" è qui usata per richiedere l'entità(le entità) completa o gli stadi specificati come pure quelli che non influiscono materialmente sul carattere o la funzione della rivendicazione dell'invenzione rivendicata.

Come qui usato, il termine "consistente" è usato per indicare la presenza di un'entità completa (ad esempio aspetto, elemento, caratteristica, proprietà, metodo/stadio di procedimento o limitazione) o un gruppo di entità complete (ad esempio aspetto, elemento, caratteristica, proprietà, metodo/stadi di procedimento o limitazioni) da solo.

Come qui usato, il termine "malattia" è usato per definire una qualsiasi condizione anormale che danneggia la funzione fisiologica ed è associata con sintomi specifici. Il termine è ampiamente usato per comprendere qualsiasi disturbo, malattia, anormalità, patologia, influenza, condizione o sindrome in cui la funzione fisiologica è danneggiata indipendentemente dalla natura dell'eziologia (o in realtà se la base eziologica della malattia è stabilita). Pertanto comprende condizioni che derivano da traumi, danni, chirurgia, asportazione radiologica, avvelenamento o carenze nutrizionali.

Come qui usato, il termine "malattia batterica" si riferisce a una qualsiasi malattia che implica (ad esempio è provocata da, aggravata da,

associata con o caratterizzata dalla presenza di) un batterio che risiede e/o si replica nel corpo e/o nelle cellule di un soggetto. Il termine comprende pertanto malattie provocate o aggravate da tossine batteriche (che possono inoltre essere qui descritte come "intossicazione batterica").

Come qui usato, il termine "malattia associata a *Clostridium difficile* (CDAD) è usato per definire una qualsiasi malattia che implica (ad esempio è provocata da, aggravata da, associata con o caratterizzata dalla presenza di) *Clostridium difficile* che risiede e/o si replica nel corpo di un soggetto. Pertanto, il termine copre una qualsiasi malattia, disturbo, patologia, sintomo, condizione clinica o sindrome in cui i batteri della specie *Clostridium difficile* agiscono come agenti eziologici o in cui l'infezione con uno o più ceppi di *Clostridium difficile* è implicata, determinata o aggravata. Il termine pertanto comprende le varie forme di colite, colite pseudomembranosa, diarrea e malattia associata ad antibiotici.

Come qui usato, il termine "infezione batterica" è usato per definire una condizione in cui un soggetto è infettato con un batterio. L'infezione può essere sintomatica o asintomatica. In quest'ultimo caso, il soggetto può essere identificato come infettato sulla base di vari test, comprendenti, per esempio, test biochimici, test sierologici, colture microbiologiche e/o microscopia.

I termini *batteriostatico* e *battericida* sono termini della tecnica usati per definire la capacità di prevenire (o ridurre la velocità) della crescita batterica e di mediare (direttamente o indirettamente) la distruzione cellulare delle cellule batteriche, rispettivamente. I termini non sono re-

ciprocamente esclusivi, e molti agenti esercitano effetti sia batteriostatici sia battericidi (in alcuni casi in modo dose-specifico o bersaglio-specifico). In generale, gli agenti battericidi forniscono risultati terapeutici migliori e sono preferiti.

5 Come qui usato, il termine "antibiotico ad ampio spettro" definisce un agente che è battericida e/o batteriostatico per un intervallo di batteri comprendenti batteri sia Gram-positivi sia Gram-negativi.

10 Il termine "resistente a più farmaci" (MDR), come qui applicato a un batterio, definisce un batterio che è resistente a due o più classi di antibiotici comprendenti, ma non limitati a, antibiotici scelti da penicillina, meticillina, chinolone, macrolidi e/o vancomicina.

15 Come qui usato, il termine "trattamento" o "trattare" si riferisce a un intervento (ad esempio la somministrazione di un agente a un soggetto) che cura, migliora o riduce i sintomi di una malattia o rimuove (o riduce l'impatto) della sua causa(e) (per esempio, il batterio causativo). In questo caso, il termine è usato come sinonimo del termine "terapia". Pertanto, il trattamento dell'infezione secondo l'invenzione può essere caratterizzato dall'azione batteriostatica e/o battericida (diretta o indiretta) dei composti dell'invenzione.

20 Addizionalmente, i termini "trattamento" o "trattare" si riferiscono a un intervento (ad esempio la somministrazione di un agente a un soggetto) che previene o ritarda l'attacco o la progressione di una malattia o riduce (o sradica) la sua incidenza in una popolazione trattata. In questo caso, il termine trattamento è usato come sinonimo del termine
25 "profilassi".

Il termine "soggetto" (che dev'essere letto per comprendere un "individuo", "animale", "paziente" o "mammifero" dove il contesto lo permette) definisce un qualsiasi soggetto, particolarmente un soggetto mammifero, per cui il trattamento è indicato. Soggetti mammiferi comprendono
5 soggetti umani, animali domestici, animali da fattoria, animali di zoo, animali per sport, animali da compagnia come cani, gatti, cavie, conigli, tratti, topi, cavalli, bestiame, mucche; primati come api, scimmie, oranghi e scimpanzé; canidi come cani e volpi; felidi come gatti, leoni e tigri; equidi come cavalli, muli e zebre; animali da produzione alimentare come mucche, maiali e pecore; ungulati come cervi e giraffe; roditori come
10 topi, ratti, criceti e cavie; e così via. In realizzazioni preferite, il soggetto è un umano, per esempio un neonato.

Il termine *batterio Gram-positivo* è un termine della tecnica che definisce una particolare classe di batteri che sono raggruppati assieme
15 sulla base di alcune caratteristiche di macchiatura delle pareti cellulari.

Il termine *batterio Gram-positivo a basso G+C* è un termine che definisce una particolare sottoclasse della
classe di batteri evolutivamente correlati con i Gram-positivi sulla base della composizione delle basi nel DNA. La sottoclasse comprende
20 *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Listeria* spp., *Bacillus* spp., *Clostridium* spp., *Enterococcus* spp. e *Lactobacillus* spp.

Il termine "concentrazione inibente minima" o "MIC" definisce la concentrazione più bassa di un composto di test che è necessaria per inibire la crescita di un isolato batterico *in vitro*. Un metodo comune per
25 determinare la MIC di un antibiotico è preparare diverse provette conte-

5 nenti diluizioni in serie del composto di test che devono essere inoculate con l'isolato batterico di interesse. Successivamente all'incubazione a atmosfera e temperatura appropriate, la MIC di un antibiotico può essere determinata dalla provetta con la concentrazione più bassa che non mostra torbidità.

Il termine *sale farmaceuticamente accettabile* come applicato ai composti dell'invenzione definisce un qualsiasi sale non tossico di addizione con acidi organici o inorganici del composto della base libera che è appropriato per l'uso in contatto con tessuti di mammiferi senza un'in-

10 debita tossicità, irritazione, risposta allergica e che sono commisurati con un ragionevole rapporto beneficio/rischio. Appropriati sali farmaceuticamente accettabili sono ben noti nella tecnica. Esempi sono i sali con acidi inorganici (per esempio gli acidi cloridrico, bromidrico, solforico e fosforico), acidi carbossilici organici (per esempio gli acidi acetico,

15 propionico, glicolico, lattico, piruvico, malonico, succinico, fumarico, malico, tartarico, citrico, ascorbico, maleico, idrossimaleico, diidrossimaleico, benzoico, fenilacetico, 4-amminobenzoico e mandelico) e acidi solfonici organici (per esempio acido metansolfonico e acido p-

20 toluensolfonico). I composti dell'invenzione possono inoltre essere trasformati in sali mediante reazione con un alogenuro di un metallo alcalino, per esempio cloruro di sodio, ioduro di sodio o ioduro di litio. Preferibilmente, i composti dell'invenzione sono trasformati nei loro sali mediante reazione con una quantità stechiometrica di cloruro di sodio in presenza di un solvente come acetone.

25 Questi sali e i composti delle basi libere possono esistere o in forma

idrata o in forma sostanzialmente anidra. Sono inoltre contemplate le forme cristalline dei composti dell'invenzione e, in generale, i sali di ad-
dizione con acidi dei composti dell'invenzione sono materiali cristallini
che sono solubili in acqua e vari solventi organici idrofili e che, in con-
5 fronte alle loro forme di base libera, dimostrano punti di fusione più e-
levati e solubilità aumentata.

Il termine *solvato farmaceuticamente accettabile*, come si applica ai
composti dell'invenzione definisce una qualsiasi forma di solvato farma-
ceuticamente accettabile di uno specifico composto che conserva l'effi-
10 cacia biologica di tale composto. Esempi di solvati comprendono i com-
posti dell'invenzione in combinazione con acqua (idrati), isopropanolo,
etanolo, metanolo, dimetilsolfossido, etile acetato, acido acetico, etano-
lammina o acetone. Sono inoltre comprese le formulazioni miscibili di
miscele di solvati come un composto dell'invenzione in combinazione
15 con una miscela di acetone ed etanolo. In una realizzazione preferita, il
solvato comprende un composto dell'invenzione in combinazione con
circa il 20% di etanolo e circa l'80% di acetone. Pertanto, le formule
strutturali comprendono composti aventi la struttura indicata, com-
prendenti gli idrati come pure le forme non idrate.

20 Nel suo aspetto più ampio, la presente invenzione contempla tutti
gli isomeri ottici, le forme racemiche e i diastereoisomeri dei composti
qui descritti. Gli esperti nella tecnica comprenderanno che, a causa de-
gli atomi di carbonio asimmetricamente sostituiti presenti nei composti
dell'invenzione, i composti possono essere prodotti in forme otticamente
25 attive e racemiche. Se un centro chirale o un'altra forma di centro iso-

merico è presente in un composto della presente invenzione, tutte le forme di tale isomero o isomeri, comprendenti gli enantiomeri e i diastereoisomeri, sono destinate ad essere qui coperte. I composti dell'invenzione contenenti un centro chirale (o centri chirali multipli) possono essere usati come miscela racemica, miscela enantiomericamente arricchita, oppure la miscela racemica può essere separata usando tecniche ben note e un singolo enantiomero può essere usato da solo. Pertanto, i riferimenti ai composti della presente invenzione comprendono i prodotti come miscela di diastereoisomeri, come diastereoisomeri singoli, come miscela di enantiomeri come pure sotto forma di singoli enantiomeri.

Pertanto, la presente invenzione contempla tutti gli isomeri ottici e le loro forme racemiche del composto dell'invenzione e, se non indicato in modo diverso (ad esempio mediante l'uso di formule strutturali "dash-wedge"), i composti qui mostrati hanno lo scopo di comprendere tutti i possibili isomeri ottici dei composti così rappresentati. Nei casi in cui la forma stereochimica del composto è importante per utilità farmaceutica, l'invenzione contempla l'uso di un eutomero isolato.

II. Applicazioni mediche

L'invenzione trova applicazione nei metodi di trattamento di infezioni con *Clostridium difficile* e di trattamento di malattie associate a *Clostridium difficile* (CDAD). CDAD può essere scelto da: diarrea provocata da *Clostridium difficile*, gonfiore addominale provocato da *Clostridium difficile*, sintomi simil-influenzali provocati da *Clostridium difficile*, febbre provocata da *Clostridium difficile*, perdita di appetito provocata da *Clostridium difficile*, dolore addominale provocato da *Clostridium difficile*,

nausea provocata da *Clostridium difficile*, disidratazione provocata da *Clostridium difficile*, colite provocata da *Clostridium difficile* e colite pseudomembranosa provocata da *Clostridium difficile*.

(III) Posologia

5 I composti della presente invenzione possono essere somministrati per via orale o parenterale, inclusa la somministrazione intravenosa, intramuscolare, intraperitoneale, sottocutanea, transdermica, per via respiratoria (aerosol), rettale, vaginale e topica (comprendente boccale e sublinguale).

10 La quantità di composto somministrato può variare ampiamente secondo la particolare unità di dosaggio impiegata, il periodo di trattamento, l'età e il sesso del paziente trattato, la natura e la misura del disturbo trattato, e il particolare composto selezionato.

In generale, la quantità efficace del composto somministrato varierà generalmente da circa 0,01 mg/kg a 10000 mg/kg al giorno. Un dosaggio unitario può contenere da 0,05 a 500 mg di composto e può essere assunto una o più volte al giorno. Il composto può essere somministrato con un veicolo farmaceutico usando convenzionali forme unitarie di dosaggio o per via orale, parenterale o topica, come descritto sotto.

20 La via di somministrazione preferita è la somministrazione orale. In generale una dose appropriata sarà nell'intervallo da 0,01 a 500 mg per chilogrammo di peso corporeo del ricevente al giorno, preferibilmente nell'intervallo da 0,1 a 1000 mg per chilogrammo di peso corporeo al giorno e il più preferibilmente nell'intervallo da 1 a 5 mg per chilogrammo di peso corporeo al giorno.

25

La dose desiderata è preferibilmente presentata come dose singola per la somministrazione giornaliera. Comunque, possono anche essere impiegate due, tre, quattro, cinque o sei o più sottodosi somministrate ad intervalli appropriati durante il giorno. Queste sottodosi possono essere somministrate in forme di dosaggio unitario, per esempio contenenti da 0,01 a 100 mg, preferibilmente da 0,01 a 10 mg e il più preferibilmente da 0,5 a 1,0 mg di componente attivo per forma di dosaggio unitario.

Nella determinazione di una quantità o di una dose efficace, molti fattori sono considerati dal medico curante, comprendenti, ma non limitati a, l'attività e la durata di azione dei composti usati, la natura e la gravità della malattia da trattare, come pure il sesso, l'età, il peso, la salute generale e la risposta individuale del paziente da trattare, e altre circostanze rilevanti. Gli esperti nella tecnica comprenderanno che i dosaggi possono anche essere determinati con la guida da Goodman & Goldman's *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, nona edizione (1996), Appendice II, pp. 1707-1711.

La quantità del composto che può essere combinata con i materiali di supporto per produrre una singola forma di dosaggio varia a seconda del soggetto da trattare e della particolare modalità di somministrazione. Per esempio, una formulazione destinata alla somministrazione orale per un soggetto umano può contenere da circa 0,5 mg a circa 7 g di agente attivo miscelato facoltativamente con una quantità appropriata e conveniente di materiale di supporto che può variare da circa il 5 a circa il 95 per cento della composizione totale. Le forme unitarie di dosaggio

per i composti dell'invenzione generalmente convengono da circa 1 mg a circa 500 mg del componente attivo, per esempio 5 mg, 10 mg, 20 mg, 25 mg, 50 mg, 100 mg, 200 mg, 300 mg, 400 mg, 500 mg, 600 mg, 800 mg o 1000 mg.

- 5 L'efficacia di un particolare dosaggio del composto dell'invenzione può essere determinata monitorando l'effetto di un dato dosaggio sulla progressione della malattia o la sua prevenzione.

(IV) Formulazione

10 Il composto dell'invenzione può assumere una qualsiasi forma. Può essere di sintesi, purificato o isolato da fonti naturali usando tecniche descritte nella tecnica.

15 Sali farmaceuticamente accettabili illustrativi sono preparati dagli acidi formico, acetico, propionico, succinico, glicolico, gluconico, lattico, malico, tartarico, citrico, ascorbico, glucuronico, maleico, fumarico, piruvico, aspartico, glutammico, benzoico, antranilico, mesilico, stearico, salicilico, p-idrossibenzoico, fenilacetico, mandelico, embonico (pamoi-
co), metansolfonico, etansolfonico, benzensolfonico, pantotenico, toluensolfonico, 2-idrossietansolfonico, solfanilico, cicloesilamminosolfonico, algenico, b-idrossibutirrico, galattarico e galatturonico.

20 Appropriati sali di addizione con basi farmaceuticamente accettabili comprendono sali di ioni metallici e sali di ioni organici. I sali di ioni metallici comprendono, ma non sono limitati a, appropriati sali di metalli alcalini (gruppo Ia), sali di metalli alcalino-terrosi (gruppo IIa) e altri ioni di metalli fisiologicamente accettabili. Tali sali possono essere
25 preparati da ioni di alluminio, calcio, litio, magnesio, potassio, sodio e zin-

co. I sali organici possono essere preparati da ammine terziarie e sali d'ammonio quaternario, comprendenti, in parte, trimetilammina, dietilammina, N,N'-dibenziletildiammina, cloroprocaina, colina, dietanolammina, etilendiammina, meglumina (N-metilglucamina) e procaina.

5 Tutti summenzionati sali possono essere preparati dagli esperti nella tecnica mediante sistemi convenzionali dal corrispondente composto.

Le composizioni farmaceutiche possono comprendere stabilizzanti, antiossidanti, coloranti e diluenti. I veicoli e gli additivi farmaceuticamente accettabili sono scelti in modo tale da rendere minimi gli effetti collaterali del composto farmaceutico e da non compromettere le prestazioni del composto in misura tale che il trattamento sia inefficace.

Le composizioni farmaceutiche possono essere somministrate per via enterica e/o parenterale. L'orale (intra-gastrica) è una tipica via di somministrazione. I veicoli farmaceuticamente accettabili possono essere in forme di dosaggio slide, comprendenti compresse, capsule, pillole e granuli, che possono essere preparati con rivestimenti e involucri, come rivestimenti enterici e altri ben noti nella tecnica. Le forme di dosaggio liquide per somministrazione orale comprendono emulsioni, soluzioni, sospensioni, sciroppi ed elisir farmaceuticamente accettabili.

20 La somministrazione parenterale comprende la via sottocutanea, intramuscolare, intradermica, intravenosa e altre vie note nella tecnica. La somministrazione enterale comprende soluzioni, compresse, capsule a rilascio prolungato, capsule enteriche rivestite e sciroppi.

Quando somministrata, la composizione farmaceutica può essere
25 alla o in prossimità della temperatura corporea.

Le composizioni destinate all'uso orale possono essere preparate secondo un qualsiasi metodo noto nella tecnica per la produzione di composizioni farmaceutiche e tali composizioni possono contenere uno o più agenti scelti nel gruppo costituito da agenti dolcificanti, agenti aromatizzanti, agenti coloranti e agenti conservanti in modo da fornire preparazioni farmaceuticamente eleganti e gradevoli. Le compresse contengono il componente attivo in miscela con eccipienti farmaceuticamente accettabili non tossici, che sono appropriati per la produzione di compresse. Questi eccipienti possono essere, per esempio, diluenti inerti come calcio carbonato, sodio carbonato, lattosio, calcio fosfato o sodio fosfato, agenti granulanti e disintegranti, per esempio amido di mais o acido alginico, agenti leganti, per esempio amido, gelatina o acacia, e agenti lubrificanti, per esempio magnesio stearato, acido stearico o talco. Le compresse possono essere non rivestite o possono essere rivestite con tecniche note, per esempio per ritardare la disintegrazione e l'assorbimento nel tratto gastrointestinale e fornire così un'azione prolungata in un periodo più lungo. Per esempio, può essere impiegato un materiale ad azione ritardata come glicerile monostearato o glicerile distearato.

Le formulazioni per uso orale possono anche essere presentate come capsule di gelatina dura dove i componenti attivi sono miscelati con un diluente solido inerte, per esempio calcio carbonato, calcio fosfato o caolino, o come capsule di gelatina morbida dove i componenti attivi sono presenti come tali, o miscelati con acqua o un mezzo oleoso, per esempio olio di arachide, paraffina liquida o olio d'oliva.

Possono essere prodotte sospensioni acquose che contengono i materiali attivi in miscela con eccipienti appropriati per la produzione di sospensioni acquose. Tali eccipienti comprendono agenti sospendenti, per esempio, sodio carbossimetilcellulosa, metilcellulosa, idrossipropilmetilcellulosa, sodio alginato, polivinilpirrolidone, gomma adragante e gomma acacia; agenti disperdenti o umidificanti possono essere fosfatidi presenti in natura, per esempio lecitina, o prodotti di condensazione di un ossido di alchilene con acidi grassi, per esempio poliossietilene stearato, o prodotti di condensazione di ossido di etilene con alcoli alifatici a lunga catena, per esempio eptadecaetilenossicetanololo, o prodotti di condensazione di ossido di etilene con esteri parziali derivati da acidi grassi e un esitolo come poliossietilensorbitolo monooleato, o prodotti di condensazione di ossido di etilene con esteri parziali derivati da acidi grassi e anidridi di esitolo, per esempio poliossietilensorbitano monooleato.

Le sospensioni acquose possono inoltre contenere uno o più conservanti, per esempio etile o n-propile p-idrossibenzoato, uno o più agenti coloranti, uno o più agenti aromatizzanti, o uno o più agenti dolcificanti, come saccarosio o saccarina.

Le sospensioni oleose possono essere formulate sospendendo i componenti attivi in un acido grasso omega-3, un olio vegetale, per esempio olio di arachide, olio d'oliva, olio di sesamo o olio di cocco, o in un olio minerale come paraffina liquida. Le sospensioni oleose possono contenere un agente addensante, per esempio cera d'api, paraffina solida o alcol cetilico.

Per fornire una preparazione orale gradevole, possono essere aggiunti agenti dolcificanti, come quelli descritti sopra, e agenti aromatizzanti. Queste composizioni possono essere conservate mediante addizione di un antiossidante come acido ascorbico.

5 Le polveri disperdibili e i granuli appropriati per la preparazione di una sospensione acquosa mediante addizione di acqua forniscono il componente attivo in miscela con un agente disperdente o umidificante, un agente sospendente e uno o più conservanti. Appropriati agenti disperdenti o umidificanti e agenti sospendenti sono esemplificati da quelli già menzionati sopra. Possono pure essere presenti addizionali eccipienti, per esempio agenti dolcificanti, aromatizzanti e coloranti.

10 Gli sciroppi e gli elisir contenenti il composto dell'invenzione possono essere formulati con agenti dolcificanti, per esempio glicerolo, sorbitolo o saccarosio. Tali formulazioni possono inoltre contenere un emolliente, un conservante e agenti aromatizzanti e coloranti.

Il composto dell'invenzione può essere somministrato per via parenterale, per esempio sottocutanea, intravenosa o intramuscolare, o mediante tecniche di infusione, sotto forma di sospensioni acquosa o oleaginose iniettabili sterili. Tali sospensioni possono essere formulate secondo una tecnica nota usando appropriati agenti disperdenti o umidificanti e agenti sospendenti come quelli menzionati sopra o altri agenti accettabili. Una preparazione iniettabile sterile può essere una soluzione o una sospensione iniettabile sterile in un diluente o un solvente parenteralmente accettabile non tossico, per esempio una soluzione in 1,3-butandiolo. Fra i veicoli e i solventi accettabili che possono essere

20
25

impiegati ci sono acqua, soluzione di Ringer e soluzione isotonica di sodio cloruro. In aggiunta, oli fissi sterili possono essere impiegati come mezzo solvente o sospendente. Per questo scopo, può essere impiegato un qualsiasi olio fisso blando, comprendente mono- o digliceridi di sintesi. In aggiunta, gli acidi grassi omega-3 poliinsaturi possono trovare impiego nella preparazione degli iniettabili.

La somministrazione può inoltre avvenire mediante inalazione, sotto forma di aerosol o di soluzioni per nebulizzatori, o per via rettale, sotto forma di supposte preparate miscelando il farmaco con un appropriato eccipiente non irritante che è solido a temperatura ordinaria, ma liquido a temperatura rettale, e pertanto fonderà nel retto per rilasciare il farmaco. Tali materiali sono burro di cacao e polietilenglicoli.

La presente invenzione comprende inoltre le somministrazioni boccale e sub-linguale, comprendenti la somministrazione sotto forma di pasticche, pastiglie o gomma masticabile comprendenti i composti qui descritti. I composti possono essere depositati in una base aromatizzata, generalmente saccarosio, e acacia o gomma adragante.

Altri metodi di somministrazione dei composti dell'invenzione comprendono cerotti dermici che rilasciano i medicinali direttamente in e/o attraverso la pelle del soggetto.

Sistemi di rilascio topico sono inoltre compresi dalla presente invenzione e comprendono unguenti, polveri, spray, creme, gelatine, colliri, soluzioni o sospensioni.

Le composizioni della presente invenzione possono facoltativamente essere arricchite con agenti addizionali come, per esempio, sostanze

che aumentano la viscosità, conservanti, tensioattivi e sostanze che aumentano la penetrazione. Agenti attivatori della viscosità comprendono, per esempio, alcol polivinilico, polivinilpirrolidone, metilcellulosa, idrossipropilmetilcellulosa, idrossietilcellulosa, carbossimetilcellulosa, idrossipropilcellulosa e altri agenti noti agli esperti nella tecnica. Tali agenti sono tipicamente impiegati in una percentuale da circa lo 0,01% a circa il 2% in peso di una composizione farmaceutica.

I conservanti sono facoltativamente impiegati per prevenire la crescita microbica prima di o durante l'uso. Appropriati conservanti comprendono poliquaternio-1, benzalconio cloruro, thimerosal, clorobutanol, metilparaben, propilparaben, alcol feniletilico, edetato di disodio, acido sorbico o altri agenti noti agli esperti nella tecnica. Tipicamente, tali conservanti sono impiegati in una percentuale da circa lo 0,001% a circa l'1,0% in peso di una composizione farmaceutica.

La solubilità dei componenti delle presenti composizioni può essere aumentata mediante un tensioattivo o un altro appropriato cosolvente nella composizione. Tali cosolventi comprendono polisorbati 20, 60 e 80, tensioattivi di polioossietilene/polioossipropilene (ad esempio, Pluronic F-68, F-84 e P-103), ciclodestrina, o altri agenti noti agli esperti nella tecnica. Tipicamente, tali cosolventi sono impiegati in una percentuale da circa lo 0,01% a circa il 2% in peso di una composizione farmaceutica.

Gli eccipienti e i veicoli farmaceuticamente accettabili comprendono tutti i summenzionati e simili. Le considerazioni sopra concernenti le formulazioni efficaci e i procedimenti di somministrazione sono ben noti

nella tecnica e sono descritti nei libri di testo standard. Vedi per esempio Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20a edizione (Lippincott, Williams e Wilkins), 2000; Lieberman et al., ed. , Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Decker, New York, N.Y. (1980) e
5 Kibbe et al., ed., Handbook of Pharmaceutical Excipients (3a edizione), American Pharmaceutical Association, Washington (1999).

Pertanto, nelle realizzazioni dove il composto dell'invenzione è formulato assieme a un eccipiente farmaceuticamente accettabile, può essere usato un qualsiasi appropriato eccipiente, comprendente, per e-
10 sempio, diluenti inerti, agenti disintegranti, agenti leganti, agenti lubrificanti, agenti dolcificanti, agenti aromatizzanti, agenti coloranti e conservanti. Appropriati diluenti inerti comprendono sodio e calcio carbonato, sodio e calcio fosfato, e lattosio, mentre l'amido di mais e l'acido alginico sono appropriati agenti disintegranti. Gli agenti leganti possono
15 comprendere amido e gelatina, mentre l'agente lubrificante, se presente, generalmente sarà magnesio stearato, acido stearico o talco. Le composizioni farmaceutiche possono assumere una qualsiasi forma appropriata e comprendono, per esempio, compresse, elisir, capsule, soluzioni, sospensioni, polveri, granuli, lacche per unghie, smalti per unghie e
20 vernici superficiali, cerotti per la pelle e aerosol.

La composizione farmaceutica può assumere la forma di un kit di parti, il quale kit può comprendere la composizione dell'invenzione assieme con istruzioni per l'uso e/o una pluralità di differenti componenti in una forma di dosaggio unitario.

25 Per la somministrazione orale, il composto dell'invenzione può es-

sere formulato in preparazioni solide o liquide come capsule, pillole, compresse, pastiglie, pasticche, composti fusi, polveri, granuli, soluzioni, sospensioni, dispersioni o emulsioni (le quali soluzioni, sospensioni, dispersioni o emulsioni possono essere acquose o non acquose). Le forme di dosaggio unitario solide possono essere capsule che possono essere di gelatina comune con rivestimento duro o morbido contenenti, per esempio, tensioattivi, lubrificanti e cariche inerti come lattosio, saccarosio, calcio fosfato e amido di mais. Le compresse per uso orale possono comprendere il composto dell'invenzione, o da solo o assieme con eccipienti farmaceuticamente accettabili, come diluenti inerti, agenti disintegranti, agenti leganti, agenti lubrificanti, agenti dolcificanti, agenti aromatizzanti, agenti coloranti e conservanti. Appropriati diluenti inerti comprendono sodio e calcio carbonato, sodio e calcio fosfato, e lattosio, mentre l'amido di masi e l'acido alginico sono agenti disintegranti appropriati. Gli agenti leganti possono comprendere amido e gelatina, mentre l'agente lubrificante, se presente, sarà generalmente magnesio stearato, acido stearico o talco. Se si desidera, le compresse possono essere rivestite con un materiale come glicerile monostearato o glicerile distearato, per ritardare l'assorbimento nel tratto gastrointestinale. Le capsule per uso orale comprendono capsule di gelatina dura in cui il composto dell'invenzione è miscelato con un diluente solido, e capsule di gelatina morbida dove il componente attivo è miscelato con acqua o un olio come olio di arachide, paraffina liquida o olio d'oliva.

Le formulazioni per la somministrazione rettale possono essere presentate come supposte con una base appropriata comprendente, per

esempio, burro di cacao o un salicilato. Le formulazioni appropriate per la somministrazione vaginale possono essere presentate come pessari, tamponi, creme, gel, paste, schiume o formulazioni spray contenenti, oltre al componente attivo, tali veicoli come sono noti nella tecnica per essere appropriati.

Per uso intramuscolare, intraperitoneale, sottocutaneo e intravenoso, i composti dell'invenzione saranno generalmente forniti in soluzioni o sospensioni acquose sterili, tamponate a un appropriato pH e isotonicità.

Appropriati veicoli acquosi comprendono soluzione di Ringer e sodio cloruro isotonico. Le sospensioni acquose secondo l'invenzione possono comprendere agenti sospendenti come derivati di cellulosa, alginato di sodio, polivinilpirrolidone e gomma adragante, e un agente umidificante come lecitina. Appropriati conservanti per sospensioni acquose comprendono etile e n-propile p-idrossibenzoato.

I composti dell'invenzione possono anche essere presentati come formulazioni di liposomi.

In un'altra realizzazione, i composti dell'invenzione sono compressi con basi per pastiglie convenzionali come lattosio, saccarosio e amido di mais in combinazione con leganti come acacia, amido di mais o gelatina, agenti disintegranti con la finalità di assistere la rottura e la dissoluzione della compressa successivamente alla somministrazione come amido di patata, acido alginico, amido di mais e gomma guar, lubrificanti con la finalità di migliorare il flusso della granulazione della compressa e di prevenire l'adesione del materiale della compressa alle su-

perfici dello stampo e dei punzoni per compresse, per esempio, talco, acido stearico o magnesio, calcio o zinco stearato, coloranti, agenti coloranti e agenti aromatizzanti con la finalità di aumentare le qualità estetiche delle compresse e di renderle più accettabili al paziente.

5 Appropriati eccipienti per l'uso in forme di dosaggio liquide orali comprendono diluenti come acqua e alcoli, per esempio, etanolo, alcol benzilico, e alcoli polietilenici, sia con sia senza l'addizione di un tensioattivo, agente sospendente o agente emulsionante farmaceuticamente accettabili.

10 I composti dell'invenzione possono anche essere somministrati per via parenterale, cioè, sottocutanea, intravenosa, intramuscolare o intraperitoneale. In tali realizzazioni, il composto è fornito come dosi iniettabili in un diluente fisiologicamente accettabile assieme con un veicolo farmaceutico (che può essere un liquido sterile o una miscela di liquidi).

15 Appropriati liquidi comprendono acqua, soluzione salina, destrosio acquoso e soluzioni di composti correlati, un alcol (come etanolo, isopropanolo o alcol esadecilico), glicoli (come propilenglicole o polietilenglicole), chetali di glicerolo (come 2,2-dimetil-1,3-diossolan-4-metanolo), eteri (come poli(etilenglicole) 400), un olio, un acido grasso, un estere di un

20 acido grasso o un gliceride, o un gliceride di un acido grasso acetilato con o senza l'addizione di un tensioattivo farmaceuticamente accettabile (come un sapone o un detergente), un agente sospendente (come pectina, carbomer, metilcellulosa, idrossipropilmetilcellulosa o carbossimetilcellulosa), o un agente emulsionante e altri coadiuvanti farmaceutici.

25 Oli appropriati che possono essere usati nelle formulazioni parenterali

di questa invenzione sono quelli originati da petrolio, di origine animale, vegetale o di sintesi, per esempio olio di arachide, olio di soia, olio di sesamo, olio di semi di cotone, olio di mais, olio di oliva, vaselina e olio minerale.

5 Appropriati acidi grassi comprendono acido oleico, acido stearico e acido isostearico. Appropriati esteri di acidi grassi sono, per esempio, etile oleato e isopropile miristato. Appropriati saponi comprendono sali grassi di metalli alcalini, d'ammonio e di trietanolammina e appropriati
10 detergenti comprendono detergenti cationici, per esempio, dimetildialchilammonio alogenuri, alchilpiridinio alogenuri e alchilammine acetati; detergenti anionici, per esempio, alchil, aril e olefin-solfonati, solfati di alchile, olefine, eteri e monogliceridi, e solfosuccinati; detergenti non ionici, per esempio, ossidi di ammine grasse, alcanolammidi di acidi grassi e copolimeri di poliossietilene polipropilene; e detergenti anfoteri, per
15 esempio alchil-beta-amminopropionati, e sali d'ammonio quaternari di 2-alchilimidazolina, come pure le miscele.

 Le composizioni parenterali di questa invenzione tipicamente conteranno da circa lo 0,5 a circa il 25% in peso del composto dell'invenzione in soluzione. Possono inoltre essere usati conservanti e tamponi.
20 Per minimizzare o eliminare l'irritazione al sito di iniezione, tali composizioni possono contenere un tensioattivo non ionico avente un equilibrio idrofilo-lipofilo (HLB) da circa 12 a circa 17. La quantità di tensioattivo in tali formulazioni varia da circa il 5 a circa il 15% in peso. Il tensioattivo può essere un singolo componente avente il summenzionato
25 HLB o può essere una miscela di due o più componenti aventi il deside-

rato HLB. Tipici tensioattivi usati nelle formulazioni parenterali sono la classe di esteri di acidi grassi del polietilensorbitano, per esempio sorbitano monooleato e addotti a elevato peso molecolare di ossido di etilene con una base idrofoba, formati mediante condensazione dell'ossido di propilene con propilenglicole.

I composti dell'invenzione possono inoltre essere somministrati per via topica, e quando ciò viene eseguito, il veicolo può appropriatamente comprendere una soluzione, un unguento o una base di gel. La base, per esempio, può comprendere uno o più dei seguenti: vaselina, lanolina, polietilenglicoli, cera d'api, olio minerale, diluenti come acqua e alcol, e emulsionanti e stabilizzanti. Le formulazioni topiche possono contenere una concentrazione del composto da circa lo 0,1 a circa il 10% p/v (peso per unità di volume).

Quando usati assieme, i composti dell'invenzione possono essere formulati per uso con uno o più altri farmaco(i). In particolare, i composti dell'invenzione possono essere usati in combinazione con analgesici, anti-infiammatori (ad esempio steroidi), agenti immunomodulanti e anti-spasmodici.

Pertanto, l'uso aggiuntivo può tradursi in uno specifico dosaggio unitario designato per essere compatibile (o sinergizzare) con l'altro farmaco(i), o in formulazioni in cui il composto è miscela con uno o più anti-infiammatori, citochine o agenti immunosoppressivi (o anche fisicamente associato con l'altro farmaco()) in una singola dose unitaria). Gli usi aggiuntivi possono inoltre tradursi nella composizione dei kit farmaceutici dell'invenzione, in cui il composto dell'invenzione è co-

confezionato (ad esempio come parte di un insieme di dosi unitarie) con gli anti antimicrobici e/o gli anti-infiammatori. L'uso aggiuntivo può inoltre tradursi in informazioni e/o istruzioni correlate alla somministrazione del composto con agenti antimicrobici e/o anti-
5 infiammatori.

(V) Esemplificazioni

(i) Parte sperimentale generale

HPLC-UV-MS fu eseguito su un HPLC Gilson 321 con una determinazione eseguita mediante un Gilson 170 DAD e uno spettrometro di
10 massa Finnigan AQA operante in modalità di ionizzazione elettrospray. La colonna HPLC usata è una Phenomenex Gemini C18 150x4,6 mm o una Phenomenex Gemini C18 50x4,6 mm 3 μ . La HPLC preparativa fu eseguita su un Gilson 321 con determinazione eseguita mediante un Gilson 170 DAD. Le frazioni furono raccolte usando un collettore di fra-
15 zioni Gilson 215. La colonna HPLC preparativa usata è un Phenomenex Gemini C18 150x10 mm e la fase mobile è acetonitrile/acqua.

Gli spettri ^1H NMR furono registrati su uno strumento Bruker operante a 300 MHz. Gli spettri NMR furono ottenuti come soluzioni in CDCl_3 o $\text{DMSO}-d_6$ (riportati in ppm), usando cloroformio come standard
20 di riferimento (7,26 ppm) o $\text{DMSO}-d_6$ (2,50 ppm). Quando sono riportate le molteplicità dei picchi, sono usate le seguenti abbreviazioni s (singoletto), d (doppietto), t (tripletto), m (multipletto), br (allargato), dd (doppietto di doppietti), dt (doppietto di tripletti), td (tripletto di doppietti), obsc. (oscurato), app. (apparente). Le costanti di accoppiamento, quan-
25 do fornite, sono riportate in Hertz (Hz).

La cromatografia in colonna fu eseguita o mediante flash cromatografia (40-65 μm di gel di silice) o usando un sistema di purificazione automatizzato (SP1™ Purification System dalla Biotage® o CombiFlash Companion dalla ISCO). Le reazioni in microonde furono eseguite in un
5 Initiator 8™ (Biotage) o in un Explorer 48 (CEM).

Le abbreviazioni usate sono DMSO (dimetilsolfossido), DMF (dimetilformammide), IMS (spiriti metilati industriali), TLC (cromatografia su strato sottile), Boc (*tert*-butilossicarbonile), RT (tempo di ritenzione), DCM (diclorometano), TFA (acido trifluoroacetico), LCMS (cromatografia
10 liquida-spettrometria di massa), NMR (risonanza magnetica nucleare), DME (1,2-dimetossietano).

I dati MIC furono determinati mediante microdiluizione del brodo secondo i protocolli CLSI descritti in Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria; Approved Standard-settima edizione [M11-A7, Vol. 27, No2, Jan 2007] and Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard-settima edizione [M7-A7, Vol. 26, No2, Jan 2006].
15

**terz-Butile 4,4'-(1-metil-1H,1'H-5,5'-bibenzo[d]imidazolo-2,2'-
diil)bis(4,1-fenilene)dicarbammato (Intermedio 8)**

20 *N*⁴-Metilbifenil-3,3',4,4'-tetraammina (150 mg, 0,66 mmoli) fu disciolta in DMF (10 ml). Fu aggiunto Oxone® (810 mg, ,32 mmoli), seguito da una soluzione di *N*-Boc-4-amminobenzaldeide (preparata secondo J. Med. Chem., 1992, 35, 4150 e J. Med. Chem., 2004, 47, 2411) 320 mg, 1,45 mmoli) in DMF (5 ml). La miscela fu agitata a temperatura
25 ambiente per 5 ore. Fu aggiunto K₂CO₃ acquoso, e il precipitato risul-

tante fu filtrato e lavato con acqua (3x100 ml). Questo materiale grezzo fu essiccato con aspirazione e purificato mediante cromatografia in colonna (75:25 EtOAc-petrolio a 100% EtOAc). Il materiale fu ulteriormente purificato mediante ricristallizzazione da MeOH per fornire il prodotto
5 come solido bianco (83 mg, 20%).

¹H NMR (DMSO): 12,81 (1 H, br s), 9,67 (2 H, d, J 6,1), 8,15-8,05 (2 H, m), 7,96-7,89 (1.5 H, m), 7,86-7,77 (2,5 H, m), 7,73-7,49 (8 H, m), 3,91 (3 H, s) e 1,51 (18 H, s).

2,2'-Di(piridin-4-il)-1H,1'H-5,5'-bibenzo[d]imidazolo fu preparato in
10 modo simile, purificando mediante cristallizzazione o cromatografia in colonna dove necessario: **LCMS RT** = 1,46 min, MH⁺ 389,1; **¹H NMR (DMSO+D₂O):** 8,79-8,74 (4 H, m), 8,12-8,08 (4 H, m), 8,00-7,89 (2 H, br m), 7,81-7,73 (2 H, m) e 7,70-7,63 (2 H, br m).

Attività del composto dell'invenzione contro *C. difficile*

15 La concentrazione inibente minima (MIC) contro *Clostridium difficile* ATCC700057 e un isolato clinico (CI) di *Clostridium difficile* è compendata nella Tabella 2 (sotto):

Tabella 2

Composto	MIC (ATCC700057)	MIC (CI)
2,2'-Di(piridin-4-il)-1H,1'H-5,5'- bibenzo[d]imidazolo	+++	+++

20 Nella tabella sopra, i simboli usati per indicare i valori MIC sono:

+++ = <1 µg/ml

++ = 1-16 µg/ml

+ = 17-64 µg/ml

- = >64 µg/ml

Attività del composto dell'invenzione contro *C. perfringens*

- 5 La concentrazione inibente minima (MIC) contro *Clostridium perfringens* ATCC13124 e un isolato clinico (CI) di *Clostridium perfringens* è compendiata nella Tabella 3 (sotto). I simboli usati per indicare i valori MIC sono come per la Tabella 2 (sopra).

Tabella 3

Composto	MIC (ATCC13124)	MIC (CI)
2,2'-Di(piridin-4-il)-1H,1'H-5,5'- bibenzo[d]imidazolo	-	-

10 **Attività del composto dell'invenzione contro *S. pneumoniae***

La concentrazione inibente minima (MIC) contro *Streptococcus pneumoniae* ATCC49619 e un ceppo MDR *Streptococcus pneumoniae* (MDR) è compendiata nella Tabella 4 (sotto). I simboli usati per indicare i valori MIC sono come per la Tabella 2 (sopra).

15 Tabella 4

Numero del composto	MIC (ATCC49619)	MIC (MDR)
2,2'-Di(piridin-4-il)-1H,1'H-5,5'- bibenzo[d]imidazolo	+++	+++

Attività del composto dell'invenzione contro *S. aureus*

La concentrazione inibente minima (MIC) contro *Staphylococcus*

aureus ATCC29213 e un ceppo MDR *Staphylococcus aureus* (MDR) è compendiata nella Tabella 5 (sotto). I simboli usati per indicare i valori MIC sono come per la Tabella 2 (sopra).

Tabella 5

Composto	MIC (ATCC29213)	MIC (MDR)
2,2'-Di(piridin-4-il)-1H,1'H-5,5'- bibenzo[d]imidazolo	-	-

5 **Attività del composto dell'invenzione contro *E. faecium***

La concentrazione inibente minima (MIC) contro *Enterococcus faecium* e un ceppo MDR *Enterococcus faecium* strain (MDR) è compendiata nella Tabella 6 (sotto). I simboli usati per indicare i valori MIC sono come per la Tabella 2 (sopra).

10

Tabella 6

Composto	MIC	MIC (MDR)
2,2'-Di(piridin-4-il)-1H,1'H-5,5'- bibenzo[d]imidazolo	-	-

Attività del composto dell'invenzione contro *E. faecalis*

La concentrazione inibente minima (MIC) contro un ceppo resistente alla vancomicina di *Enterococcus faecalis* ATCC51299 (VR) è compendiata nella Tabella 7 (sotto). I simboli usati per indicare i valori MIC sono come per la Tabella 2 (sopra).

15

Tabella 7

Composto	MIC
2,2'-Di(piridin-4-il)-1H,1'H-5,5'- bibenzo[d]imidazolo	-

Specificità del composto dell'invenzione

Il composto non mostrava alcuna attività significativa (MIC >64 µg/ml) contro il batterio anaerobico facoltativamente Gram-negativo di *Escherichia coli* (ATCC25922). 2,2'-Di(piridin-4-il)-1H,1'H-5,5'-bibenzo[d]imidazolo è altamente selettivo per *Clostridium difficile* rispetto a *C. perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium* e *Enterococcus faecalis*. Questo composto inoltre non mostrava alcuna attività antibatterica significativa contro *Bacillus subtilis* o *Bacteroides fragilis*.

Pertanto, i dati mostrano che il composto dell'invenzione trova utilità nel trattamento di CDAD senza provocare disturbi patologici della flora intestinale normale.

RIVENDICAZIONI

1. Composizione farmaceutica comprendente il composto 2,2'-di(piridin-4-il)-1H,1'H-5,5'-dibenzo[d]imidazolo, o un suo N-ossido, sale, idrato o solvato farmaceuticamente accettabile, e un eccipiente farmaceuticamente accettabile.
5
2. Composizione farmaceutica della Rivendicazione 1, comprendente un idrato del composto 2,2'-di(piridin-4-il)-1H,1'H-5,5'-dibenzo[d]imidazolo, e un eccipiente farmaceuticamente accettabile.
- 10 3. Composizione comprendente un idrato del composto 2,2'-di(piridin-4-il)-1H,1'H-5,5'-dibenzo[d]imidazolo.
4. Composizione di una qualsiasi delle precedenti rivendicazioni per l'uso in un metodo di trattamento di infezioni da *Clostridium difficile*.
- 15 5. Composizione di una qualsiasi delle Rivendicazioni 1-3 per l'uso in un metodo di trattamento di una malattia associata a *Clostridium difficile*.
- 20 6. Composizione della Rivendicazione 5, dove detto CDAD è scelto da: diarrea provocata da *Clostridium difficile*, gonfiore addominale provocato da *Clostridium difficile*, sintomi simil-influenzali provocati da *Clostridium difficile*, febbre provocata da *Clostridium difficile*, perdita di appetito provocata da *Clostridium difficile*, dolore addominale provocato da *Clostridium difficile*, nausea provocata da *Clostridium difficile*, disidratazione provocata da *Clostridium difficile*, colite provocata da *Clostridium difficile* e colite pseudomembranosa provoca-
25

ta da *Clostridium difficile*.