

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 437 347**

51 Int. Cl.:

**C07D 231/12** (2006.01)

**A61K 31/415** (2006.01)

**A61P 31/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.05.2010** **E 10005407 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.09.2013** **EP 2246332**

54 Título: **Derivados de pirazol como agentes contra Francisella**

30 Prioridad:

**22.04.2009 US 428035**

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

**10.01.2014**

73 Titular/es:

**THE OHIO STATE UNIVERSITY RESEARCH  
FOUNDATION (100.0%)  
1524 North High Street  
Columbus, OH 43201, US**

72 Inventor/es:

**CHEN, CHING-SHIH;  
CHIU, HAO-CHIEH;  
KULP, SAMUEL;  
GUNN, JOHN SPENCER y  
SCHLESINGER, LARRY SETH**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

**ES 2 437 347 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Derivados de pirazol como agentes contra *Francisella*

5 **Financiación gubernamental****Antecedente**

10 *Francisella tularensis* es una bacteria gram negativa facultativa muy virulenta, que produce la enfermedad zoonótica tularemia. La infección puede producirse a través de diversas rutas, pero la tularemia neumónica es la forma clínica más grave, con una tasa de mortalidad de hasta en un 60 por ciento en ausencia de tratamiento. *F. tularensis* puede invadir una gama de células hospedadoras, pero su diana principal *in vivo* es el macrófago. Sjostedt, A, Curr. Opin. Microbiol. 6, p. 66-71 (2003). Tras ser fagocitado por los macrófagos, este patógeno intracelular puede bloquear la fusión de los fagosomas que contienen la *Francisella* con los lisosomas y escapar del fagosoma hasta el citosol  
15 donde se multiplica. Tras la proliferación en el interior de los macrófagos, *F. tularensis* induce la apoptosis o la piroptosis de la célula hospedadora conduciendo a la liberación de la bacteria y a la posterior infección de nuevas células.

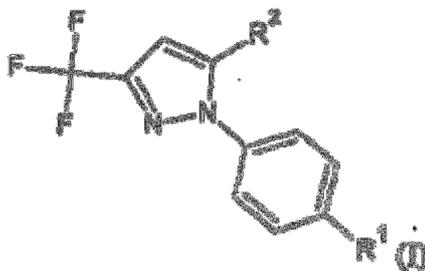
20 Debido a la facilidad con la que los organismos aerosolizados podrían diseminarse potencialmente de forma deliberada infringiendo una morbilidad y mortalidad sustanciales a gran cantidad de personas. *F. tularensis* se ha reconocido como un potencial agente de guerra biológica y, por consiguiente, se ha clasificado como un agente de bioterrorismo de Categoría A por los U.S. Centers for Disease Control and Prevention. Desafortunadamente, la vacuna atenuada viva actual derivada de una cepa de tipo B de *F. tularensis* tiene graves inconvenientes y es de limitada utilidad en el escenario de una amenaza bioterrorista. Oyston y col., Nat. Rev. Microbiol. 2, p. 967-78 (2004).  
25 Además, se cree que se crearon cepas resistentes de *F. tularensis* al principio de la década de los 90 como armas biológicas. Dennis y col., JAMA, 285, p. 2763-73 (2001). Por consiguiente, el desarrollo de novedosos agentes antibacterianos frente a *F. tularensis* se ha convertido en una importante prioridad.

30 En el documento WO 2008/130669 A1, Ojima y col, describen novedosos derivados de bencimidazol y sus sales farmacéuticamente aceptables. Se describen también en dicho documento métodos para tratar a un paciente infectado por *Mycobacterium tuberculosis* o *Francisella tularensis* administrando al paciente un derivado de bencimidazol o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

**Sumario de la invención**

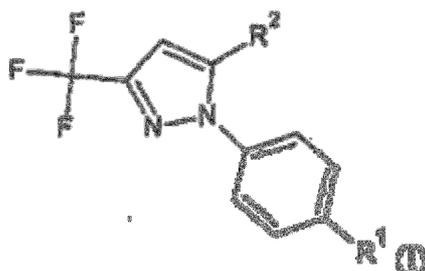
35 Se describen en el presente documento numerosos derivados de celecoxib que demuestran actividad antibacteriana frente a *F. tularensis*. De acuerdo con esto, se describe también en el presente documento un método para tratar o prevenir la infección por *Francisella tularensis* en un sujeto, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que incluye un derivado de celecoxib, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, como se define adicionalmente en el presente documento. La infección por  
40 *Francisella tularensis* se puede inhibir en las células de los macrófagos sin toxicidad significativa para las células de los macrófagos, y la *Francisella tularensis* puede ser resistente a los antibióticos. El sujeto puede ser un ser humano.

45 Se describen también en el presente documento compuestos de acuerdo con la fórmula I



50  $R^1$  de Fórmula I se puede seleccionar entre el grupo que consiste en restos de hidrógeno, amino, amido, metilsulfonilo y etilsulfonilo, y  $R^2$  puede ser un grupo arilo. El grupo  $R^2$  de la fórmula I puede sustituirse opcionalmente en posiciones sustituibles con uno o más restos seleccionados de forma independiente entre halo, alquilo inferior, haloalquilo inferior, hidroxialquilo inferior, hidroxilo, nitro, amino, carboxilo, y ciano. Se describen también en el presente documento sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula I.

55 Se describen también en el presente documento composiciones farmacéuticas que incluyen un compuesto de fórmula I:



R<sup>1</sup> se puede seleccionar entre el grupo que consiste en restos de hidrógeno, amino, amido, metilsulfínilo, y etilsulfínilo, y R<sup>2</sup> puede ser un grupo arilo. El grupo R<sup>2</sup> de la Fórmula I puede sustituirse opcionalmente en posiciones sustituibles con uno o más restos seleccionados de forma independiente entre halo, alquilo inferior, haloalquilo inferior, hidroxialquilo inferior, hidroxilo, nitro, amino, carboxilo, y ciano. El compuesto de fórmula I, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, puede ser un principio activo en la composición farmacéutica, y puede proporcionarse en combinación con un portador o portadores líquidos o sólidos aceptables.

### Breve descripción de las figuras

La FIG. 1 muestra la inhibición del crecimiento de *F. tularensis* debido a celecoxib en el caldo de cultivo, mostrando la sección (A) las estructuras de los inhibidores de celecoxib (izquierda) y rofecoxib (derecha) específicos de COX-2, y la sección (B) proporciona un gráfico de barras que muestra los resultados de un ensayo de viabilidad de bacterias. *F. novicida* y LVS se cultivaron en TBS modificado que contenía diferentes dosis de celecoxib o rofecoxib a 37 °C. *F. novicida* y LVS viables se midieron como UFC tras 24 o 48 h de incubación, respectivamente. Las columnas significan; barras  $\pm$  SD (n=3). La sección (C) proporciona una tabla que muestra los resultados del ensayo de la concentración inhibitoria mínima (MIC). Cada grupo de ensayo se trató por triplicado y los valores que se muestran son los resultados de uno de tres experimentos independientes.

La FIG. 2 proporciona una tabla que muestra las estructuras y características de celecoxib y los compuestos 1-21. La estructura general de estas moléculas se muestra en la parte superior. Cada grupo de ensayo se trató por triplicado y los valores que se muestran son los resultados de uno de tres experimentos independientes.

La FIG. 3 muestra el efecto de celecoxib y sus derivados sobre las células RAW264.7 de macrófagos de murino, proporcionando la sección (A) una gráfica que muestra los resultados de un ensayo de citotoxicidad de los agentes seleccionados, donde las células RAW264.7 se trataron con diferentes dosis de celecoxib y los compuestos (2, 11, 12, 16 y 20) en DMEM suplementado con FBS al 5 % durante 8 h. Se midió la viabilidad de las células tratadas con fármacos utilizando un ensayo de viabilidad de células MTT y se expresó como porcentaje de las células tratadas con el portador del control (DMSO). Los puntos indican el promedio; barras  $\pm$  SD (n = 3), y la sección (B) proporciona una tabla que muestra la comparación de la citotoxicidad y la eficacia antimicrobiana de los agentes seleccionados.

La FIG. 4 muestra la inhibición de *F. tularensis* intracelular debida al compuesto 20, proporcionando la sección A un gráfico de barras que muestra que el compuesto 20 disminuyó la supervivencia de *F. novicida* intracelular en células RAW264.7 y THP-1, y mostrando la sección (B) la disminución de la supervivencia intracelular de *F. tularensis* (tipo A, Schu S4) en células THP-1 debida al compuesto 20. Los datos se presentan como el % de supervivencia con respecto a las células tratadas con el portador del control (DMSO). Las columnas significan; barras  $\pm$  SD (n = 3). \*P < 0,05.

### Descripción detallada de la invención

Los inventores han demostrado que celecoxib (4- [5- (4-metilfenil)-3-(trifluorometil) pirazol-1-il] bencenosulfonamida) inhibidor específico de la ciclooxigenasa-2 (COX-2) presenta actividad antibacteriana frente a una cepa virulenta de tipo A de *F. tularensis* (Schu S4), la cepa de la vacuna viva (LVS) de *F. tularensis* (cepa de tipo B) y *F. tularensis* subespecie novicida (una subespecie avirulenta) directamente en medio de crecimiento. Este destructor bacteriano, sin embargo, no se señaló con otro inhibidor específico de COX-2, rofecoxib, a pesar de su mayor potencia con respecto a celecoxib en la inhibición de COX-2. Tacconelli y col., Curr. Med. Res. Opin. 18, p. 503- 11 (2002). Desde una perspectiva de descubrimiento del fármaco, la capacidad única de celecoxib para inhibir la proliferación de *F. tularensis* puede aprovecharse farmacológicamente como una plataforma molecular para desarrollar agentes novedosos dirigidos contra la *Francisella*.

### Definiciones

La terminología que se muestra en el presente documento es para la descripción solo de las realizaciones y no debe tomarse como limitante de la invención en su conjunto. A no ser que se especifique otra cosa "un", "uno", "el", y "al menos uno" se utilizan de forma indistinta. Además, tal como se usa en la descripción de la invención y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "uno", y "el" son inclusivas de sus formas plurales a no ser que

se contraindique por el contexto que las rodea.

Los términos “que comprende” y sus variaciones no tienen un significado limitante cuando estos términos aparecen en la descripción y en las reivindicaciones.

5 Tal como se usa en el presente documento, el término “grupo orgánico” se usa para el fin de esta invención para significar un grupo hidrocarburo que se clasifica como un grupo alifático, grupo cíclico, o una combinación de grupos alifáticos y cíclicos (por ejemplo, grupos alcarilo y aralquilo). En el contexto de la presente invención, los grupos orgánicos adecuados para los derivados de celecoxib son aquellos que no interfieren con la actividad anti-Francisella de los derivados de celecoxib. En el contexto de la presente invención, el término “grupo alifático”  
10 significa un grupo hidrocarburo saturado o no saturado, lineal o ramificado. Este término se utiliza para abarcar grupos alquilo, alqueno, y alquino, por ejemplo.

15 Tal como se usa en el presente documento, los términos “alquilo”, “alqueno”, y el prefijo “alq” son inclusivos de grupos de cadena lineal y grupos de cadena ramificada y grupos cíclicos, por ejemplo, cicloalquilo y cicloalqueno. A no ser que se especifique otra cosa, estos grupos contienen de 1 a 20 átomos de carbono, conteniendo grupos alqueno de 1 a 20 átomos de carbono. Estos grupos pueden tener un total de como máximo 10 átomos de carbono, como máximo 8 átomos de carbono, como máximo 6 átomos de carbono, o como máximo 4 átomos de carbono. Los grupos de alquilo inferior son aquellos que incluyen como máximo 6 átomos de carbono. Los ejemplos de grupos alquilo incluyen grupos haloalquilo y grupos hidroalquilo. Los grupos cíclicos pueden ser monocíclicos o policíclicos  
20 y tienen preferentemente de 3 a 10 átomos de carbono.

A no ser que se especifique otra cosa, “alqueno” y “alqueno” son las formas divalentes de los grupos “alquilo” y “alqueno” definidos anteriormente. Los términos “alqueno” y “alqueno” se usan cuando “alqueno” y “alqueno”, respectivamente, están sustituidos. Por ejemplo, un grupo arilalqueno comprende un resto alqueno al cual se une un grupo arilo.  
25

El término “haloalquilo” es inclusivo de grupos que están sustituidos por uno o más átomos de halógeno, incluyendo grupos perfluorados. Esto es también cierto para otros grupos que incluyen el prefijo “halo-”. Los ejemplos de grupos haloalquilo adecuados son clorometilo, trifluorometilo, y similares. Un resto halo puede ser cloro, bromo, flúor o yodo.  
30

El término “arilo” tal como se usa en el presente documento incluye anillos o sistemas de anillos aromáticos carbocíclicos. Los ejemplos de grupos arilo incluyen fenilo, naftilo, bifenilo, antraceno, fenantraceno, fluoreno e indenilo. Los grupos arilo pueden estar sustituidos o no sustituidos.  
35

A no ser que se indique otra cosa, el término “heteroátomo” se refiere a los átomos de O, S, o N.

El término “heteroarilo” incluye anillos o sistemas de anillos aromáticos que contienen al menos un heteroátomo del anillo (por ejemplo, O, S, N). El término “heteroarilo” puede incluir un anillo o sistema de anillo que contiene 2 a 12 átomos de carbono, 1 a 3 anillos, 1 a 4 heteroátomos, y O, S, y/o N como los heteroátomos. Los grupos heteroarilo adecuados pueden incluir furilo, tienilo, piridilo, quinolinilo, isoquinolinilo, indolilo, isoindolilo, triazolilo, pirrolilo, tetrazolilo, imidazolilo, pirazolilo, oxazolilo, tiazolilo, benzofuranilo, benzotiofenilo, carbazolilo, benzoxazolilo, pirimidinilo, bencimidazolilo, quinoxalinilo, benzotiazolilo, naftiridinilo, isoxazolilo, isotiazolilo, purinilo, quinazolinilo, pirazinilo, 1-oxidopiridilo, piridazinilo, triazinilo, tetrazinilo, oxadiazolilo, tiadiazolilo, y así sucesivamente.  
40 45

Los términos “arileno” y “heteroarileno” son las formas divalentes de los grupos “arilo” y “heteroarilo” definidos anteriormente. Los términos “arileno” y “heteroarileno” se usan cuando “arileno” y “heteroarileno”, respectivamente, están sustituidos. Por ejemplo, un grupo alquilarileno comprende un resto arileno al cual se une un grupo alquilo.

50 Cuando un grupo está presente más de una vez en cualquier fórmula o esquema descrito en el presente documento, cada grupo (o sustituyente) se selecciona de forma independiente, tanto si se indica de manera explícita como si no es así. Por ejemplo, para la fórmula  $-C(O)-NR_2$ , cada grupo R se selecciona de forma independiente.

Como un medio para simplificar la discusión y la enumeración de determinada terminología utilizada a lo largo de esta solicitud, los términos “grupo” y “resto” se utilizan para diferenciar entre especies químicas que permitan la sustitución o que pueden estar sustituidas y aquellas que no permitan la sustitución o que no puedan estar así sustituidas. Por tanto, cuando se utiliza el término “grupo” para describir un sustituyente químico, el material químico descrito incluye el grupo no sustituido y este grupo con átomos de O, N, S, Si, o F no peroxidicos, por ejemplo, tanto en la cadena como en forma de grupos carbonilo u otros sustituyentes convencionales. Cuando se utiliza el término “resto” para describir un compuesto o sustituyente químico, solo se pretende que se incluya un material químico no sustituido. Por ejemplo, se pretende que la frase “grupo alquilo” incluya no solo los sustituyentes alquilo del hidrocarburo saturado puro de cadena abierta, tales como metilo, etilo, propilo, *tert*-butilo, y similares, sino también los sustituyentes de alquilo que soportan los sustituyentes adicionales conocidos en la técnica, tales como hidroxilo, alcoxi, alquilsulfonilo, átomos de halógeno, ciano, nitro, amino, carbonilo, etc. De esta manera, “grupo alquilo”  
55 incluye grupos éter, haloalquilos, nitroalquilos, carboxialquilos, hidroalquilos, sulfoalquilos, etc. Por otra parte, la frase “resto alquilo” se limita a la inclusión únicamente de sustituyentes alquilo del hidrocarburo saturado puro de  
60 65

cadena abierta, tales como metilo, etilo, propilo, *terc*-butilo, y similares.

“Tratar”, “que trata”, y “tratamiento”, etc., tal como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier acción que proporciona un beneficio a un paciente en riesgo o que padece de una enfermedad, incluyendo la mejora en la dolencia mediante la disminución o la supresión de al menos un síntoma, retraso en la progresión de la enfermedad, prevención o retraso en el inicio de la enfermedad, etc.

Las células de macrófagos, tal como se usa en el presente documento, se refieren a células inmunes del sistema inmune innato, e incluyen macrófagos, células de tipo macrófago, y precursores de macrófagos tales como monocitos. Las células de tipo macrófago incluyen macrófagos de cuerpo tingible, células dendríticas, células espumosas, y células gigantes multinucleadas.

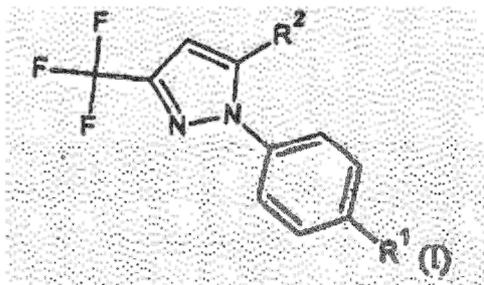
Antibióticos, tal como se define en el presente documento, son compuestos bactericidas o bacteriostáticos, compuestos ya conocidos en la técnica. Los ejemplos de antibióticos conocidos incluyen agentes que hacen diana en la pared celular bacteriana, tales como penicilinas, cefalosporinas, agentes que hacen diana en la membrana celular tales como polimixinas, agentes que interfieren con las enzimas bacterianas esenciales tales como quinolonas y sulfonamidas, y agentes que hacen diana en la síntesis de proteínas tales como aminoglicósidos, macrólidos y tetraciclinas. Los antibióticos conocidos adicionales incluyen lipopéptidos cíclicos, gliciliclinas, y oxazolidinonas.

“Farmacéuticamente aceptable” tal como se usa en el presente documento significa que el compuesto o la composición son adecuados para su administración a un sujeto para conseguir los tratamientos descritos en el presente documento, sin efectos secundarios excesivamente perjudiciales a la luz de la gravedad y de la necesidad del tratamiento.

“Inhibir”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a la eliminación completa o parcial de un efecto potencial, mientras que los inhibidores son compuestos que tienen la capacidad de inhibir.

#### *Derivados de celecoxib*

Los derivados de celecoxib, tal como se define en el presente documento, incluyen los compuestos de fórmula I:



La Fórmula 1 proporciona un núcleo de 3-trifluorometil pirazolil 1-fenilo al cual se une un grupo orgánico  $R^1$  en la posición 4' del grupo fenilo y un grupo orgánico  $R^2$  en la posición 5' del grupo pirazolilo. En los derivados de celecoxib, que tal como se han definido en el presente documento incluyen el propio celecoxib, el grupo orgánico  $R^1$  se puede seleccionar entre el grupo que consiste en restos de hidrógeno, amino, amido, metilsulfonilo, y etilsulfonilo, y el grupo orgánico  $R^2$  puede ser un grupo arilo. El grupo arilo  $R^2$  puede sustituirse opcionalmente en posiciones sustituibles con uno o más restos seleccionados de forma independiente entre halo, alquilo inferior, haloalquilo inferior, hidroxialquilo inferior, hidroxilo, nitro, amino, carboxilo, y ciano.

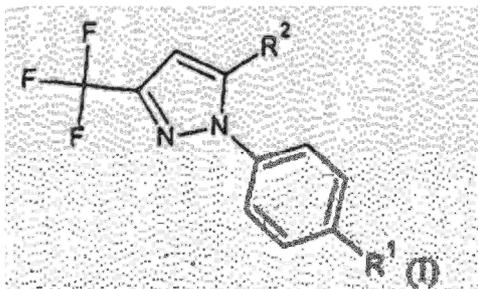
El grupo arilo  $R^2$  se puede seleccionar entre el grupo que consiste en grupos fenilo, naftilo, bifenilo, antraceno, y fenantraceno. Los restos sustituyentes opcionales para  $R^2$  se pueden seleccionar de forma independiente entre bromo, cloro, flúor, metoxi, trifluorometilo, metilo, etilo, propilo y butilo.

Ejemplos de derivados de celecoxib que se pueden usar para el tratamiento de la infección de *Francisella tularensis* incluyen celecoxib, así como los derivados no de celecoxib 4-[5-(bifenil-4-il)-3-trifluorometil-pirazol-1-il]-benzamida (Compuesto 1); 4-[5-(4'-cloro-bifenil-4-il)-3-trifluorometil-pirazol-1-il]-benzamida (Compuesto 2); 4-[5-(3', 5'-dicloro-bifenil-4-il)-3-trifluorometil-pirazol-1-il]-benzamida (Compuesto 3); 4-[5-(4'-metil-bifenil-4-il)-3-trifluorometil-pirazol-1-il]-benzamida (Compuesto 4); 4-[3-trifluorometil-5-(4'-trifluorometil-bifenil-4-il)-pirazol-1-il]-benzamida (Compuesto 5);

4-[5-(3',5'-dimetil-bifenil-4-il)-3-trifluorometil-pirazol-1-il]-benzamida (Compuesto 6); 4-[5-(4'-terc-butil-bifenil-4-il)-3-trifluorometil-pirazol-1-il]-benzamida (Compuesto 7); 4-[5-(4'-butil-bifenil-4-il)-3-trifluorometil-pirazol-1-il]-benzamida (Compuesto 8); 4-(5-antraceno-9-il-3-trifluorometil-pirazol-1-il)-benzamida (Compuesto 9); y 4-[5-(4-butyl-fenil)-3-trifluorometil-pirazol-1-il]-benzamida (Compuesto 10).

Los derivados de celecoxib incluyen además 4-[5-(4'-cloro-bifenil-4-il)-3-trifluorometil-pirazol-1-il]-

- bencenosulfonamida (Compuesto 11); 4-[5-(3',4',5'-tricloro-bifenil-4-il)-3-trifluorometil-pirazol-1-il]-bencenosulfonamida (Compuesto 12); 4-(5-naftalen-1-il)-3-trifluorometil-pirazol-1-il)-bencenosulfonamida (Compuesto 13); 5-(4-fluoro-fenil)-1-(4-etanosulfonil-fenil)-3-trifluorometil-1H-pirazol (Compuesto 14); 1-(4-metanosulfonilfenil)-5-(4'-metil-bifenil-4-il)-3-trifluorometil-1H-pirazol (Compuesto 15); 4-(5-bifenil-4-il-3-trifluorometil-pirazol-1-il)-fenilamina (Compuesto 16); 4-[5-(3',4',5'-tricloro-bifenil-4-il)-3-trifluorometil-pirazol-1-il]-fenilamina (Compuesto 17); 4-(5-naftalen-1-il-3-trifluorometil-pirazol-1-il)-fenilamina (Compuesto 18); 4-[5-(6-metoxi-naftalen-2-il)-3-trifluorometil-pirazol-1-il]-fenilamina (Compuesto 19); 4-[5-(4'-bromobifenil-4-il)-3-trifluorometil-pirazolil]-fenilamina (Compuesto 20); y 5-fenantren-3-il-1-fenil-3-trifluorometil-1H-pirazol (Compuesto 21).
- 10 Se pueden preferir los derivados de celecoxib que presentan mayor actividad (por ejemplo, presentan una concentración inhibitoria mínima más baja frente a *Francisella tularensis*). Por ejemplo, esto puede incluir los compuestos de celecoxib, 4-[5-(4'-cloro-bifenil-4-il)-3-trifluorometil-pirazol-1-il]-benzamida (Compuesto 2); 4-[5-(4'-cloro-bifenil-4-il)-3-trifluorometil-pirazol-1-il]-bencenosulfonamida (Compuesto 11); 4-[5-(3',4',5'-tricloro-bifenil-4-il)-3-trifluorometil-pirazol-1-il]-bencenosulfonamida (Compuesto 12); 4-(5-bifenil-4-il-3-trifluorometil-pirazol-1-il)-fenilamina (Compuesto 16); y 4-[5-(4'-bromo-bifenil-4-il)-3-trifluorometil-pirazolil]-fenilamina (Compuesto 20). Se puede preferir el Compuesto 4-[5-(4'-bromobifenil-4-il)-3-trifluorometil-pirazolil]-fenilamina (Compuesto 20). El uso de derivados de celecoxib para tratar la infección con *Francisella tularensis* puede también incluir las sales farmacéuticamente aceptables de estos compuestos.
- 20 Aunque el compuesto celecoxib es ya conocido para su uso como agente antiartrítico, y se han preparado numerosas pirazolil bencenosulfonamidas para tratar la inflamación, tal como se describe en la Patente de los Estados Unidos N° 5.466.826, otorgada a Talley y col., muchos de los derivados de celecoxib descritos en el presente documento no se habían preparado anteriormente. De acuerdo con esto se describen también en el presente documento derivados de celecoxib que no incluyen bencenosulfonamida, tal como se describe mediante la
- 25 Fórmula I:



- donde R<sup>1</sup> se puede seleccionar entre el grupo que consiste en restos de hidrógeno, amino, amido, metilsulfinilo, y etilsulfinilo, y R<sup>2</sup> puede ser un grupo arilo, y donde R<sup>2</sup> puede estar opcionalmente sustituido en la posición sustituible con uno o más restos seleccionados de forma independiente entre halo, alquilo inferior, haloalquilo inferior, hidroxialquilo inferior, hidroxilo, nitro, amino, carboxilo, y ciano.
- 30

- Se describen también en el presente documento compuestos donde el grupo arilo R<sup>2</sup> se puede seleccionar entre el grupo que consiste en grupos fenilo, naftilo, bifenilo, antraceno, y fenantraceno arilo, y donde además los restos sustituyentes opcionales para R<sup>2</sup> se pueden seleccionar de forma independiente entre bromo, cloro, flúor, metoxi, trifluorometilo, metilo, etilo, propilo, y butilo.
- 35

- Compuestos de celecoxib adicionales que no incluyen el grupo bencenosulfonamida son 4-(5-bifenil-4-il-3-trifluorometil-pirazol-1-il)-benzamida (Compuesto 1); 4-[5-(4'-clorobifenil-4-il)-3-trifluorometil-pirazol-1-il]-benzamida (Compuesto 2); 4-[5-(3',5'-dicloro-bifenil-4-il)-3-trifluorometil-pirazol-1-il]-benzamida (Compuesto 3); 4-[5-(4'-metilbifenil-4-il)-3-trifluorometil-pirazol-1-il]-benzamida (Compuesto 4); 4-[3-trifluorometil-S-(4'-trifluorometil-bifenil-4-il)-pirazol-1-il]-benzamida (Compuesto 5); 4-[5-(3',5'-dimetil-bifenil-4-il)-3-trifluorometil-pirazol-1-il]-benzamida (Compuesto 6); 4-[5-(4'-terc-butyl-bifenil-4-il)-3-trifluorometil-pirazol-1-il]-benzamida (Compuesto 7); 4-[5-(4'-butil-bifenil-4-il)-3-trifluorometil-pirazol-1-il]-benzamida (Compuesto 8); 4-(5-antraceno-9-il-3-trifluorometil-pirazol-1-il)-benzamida (Compuesto 9); y 4-[5-(4-butyl-fenil)-3-trifluorometil-pirazol-1-il]-benzamida (Compuesto 10); 5-(4-fluorofenil)-1-(4-etanosulfonil-fenil)-3-trifluorometil-1H-pirazol (Compuesto 14); 1-(4-metanosulfonilfenil)-5-(4'-metil-bifenil-4-il)-3-trifluorometil-1H-pirazol (Compuesto 15); 4-(5-bifenil-4-il-3-trifluorometil-pirazol-1-il)-fenilamina (Compuesto 16); 4-[5-(3',4',5'-tricloro-bifenil-4-il)-3-trifluorometil-pirazol-1-il]-fenilamina (Compuesto 17); 4-(5-naftalen-1-il-3-trifluorometil-pirazol-1-il)-fenilamina (Compuesto 18); 4-[5-(6-metoxi-naftalen-2-il)-3-trifluorometil-pirazol-1-il]-fenilamina (Compuesto 19); 4-[5-(4'-bromobifenil-4-il)-3-trifluorometil-pirazolil]-fenilamina (Compuesto 20); y 5-fenantren-3-il-1-fenil-3-trifluorometil-1H-pirazol (Compuesto 21), así como las sales farmacéuticamente aceptables de estos compuestos.
- 40
- 45
- 50

- Se describen también en el presente documento derivados de celecoxib que no incluyen bencenosulfonamida y que presentan una actividad relativamente elevada. Por ejemplo, los compuestos pueden ser 4-[5-(4'-cloro-bifenil-4-il)-3-trifluorometil-pirazol-1-il]-benzamida (Compuesto 2);
- 55

4-(5-bifenil-4-il 3-trifluorometil-pirazol-1-il)-fenilamina (Compuesto **16**); y 4-[5-(4'-bromo-bifenil-4-il)-3-trifluorometil-pirazolil]-fenilamina (Compuesto **20**); el compuesto puede ser específicamente 4-[5-(4'-bromo-bifenil-4-il)-3-trifluorometil-pirazolil]-fenilamina (Compuesto **20**).

5

Se describen también en el presente documento sales farmacéuticamente aceptables de estos compuestos

*Tratamiento de Francisella tularensis utilizando derivados de celecoxib*

10 Se describen también en el presente documento métodos para tratar o prevenir la infección por *Francisella tularensis* en un sujeto que utiliza derivados de celecoxib. *Francisella tularensis* es una especie patógena de bacterias gram negativas que es el agente causante de la tularemia; conocida también como fiebre del conejo. *Francisella tularensis* incluye las subespecies *tularensis* (tipo A), *paleartica* (tipo B), *novicida* y *mediasiatica*.

15 El tratamiento, tal como se usa en el presente documento, abarca el tratamiento tanto terapéutico como profiláctico. Los derivados de celecoxib que se describen en el presente documento pueden, por ejemplo, administrarse profilácticamente a un mamífero antes de una exposición a la infección por *Francisella tularensis*. La administración profiláctica, denominada también como prevención, es eficaz para disminuir la probabilidad de la posterior infección, en el mamífero, o de disminuir la gravedad de la infección de *Francisella* que se produce posteriormente. De forma alternativa, se describen en el presente documento derivados de celecoxib que pueden, por ejemplo, administrarse terapéuticamente a un sujeto que está ya infectado por *Francisella tularensis*. La administración terapéutica de los derivados de celecoxib puede ser eficaz para eliminar la infección; además, la administración de los derivados de celecoxib puede ser eficaz para disminuir la gravedad de la infección. El sujeto es preferentemente un mamífero, tal como un animal de granja domesticado (por ejemplo, vaca, caballo, cerdo) o mascota (por ejemplo, perro, gato). De forma más preferible, el sujeto es un ser humano.

30 La infección por *Francisella tularensis* puede inhibirse en células de macrófagos, que son la diana principal *in vivo* de *F. tularensis*. Tal como se muestra en los ejemplos proporcionados en el presente documento, los derivados de celecoxib son capaces de inhibir eficazmente *F. tularensis* en macrófagos. En algunos ejemplos, los derivados de celecoxib pueden ser capaces de inhibir *F. tularensis* en macrófagos sin toxicidad significativa para otras células, y las células de macrófagos en particular.

35 Los derivados de celecoxib se pueden administrar también a sujetos para tratar o prevenir la infección debida a cepas resistentes a antibióticos de *Francisella tularensis*. Celecoxib ha mostrado actividad inhibitoria frente a numerosas enzimas de mamíferos, incluyendo la quinasa-1 dependiente de fosfoinositido, la anhidrasa carbónica, ATPasa dependiente de calcio sarcoplásmico / RE, y COX-1, tal como se describe adicionalmente en el presente documento. La actividad antibiótica puede desarrollarse a través de diversos mecanismos, tales como la inactivación o modificación del fármaco, la alteración del sitio diana, o la alteración de una ruta metabólica que afecta al antibiótico. De acuerdo con esto, proporcionar tratamiento con compuestos que tienen una estructura diferente y diferentes sitios diana, tal como presentan los derivados de celecoxib descritos en el presente documento, puede esquivar la resistencia a antibióticos existentes en muchas situaciones.

40

*Administración y formulación de derivados de celecoxib*

45 Se describen también en el presente documento composiciones farmacéuticas que incluyen derivados de celecoxib de acuerdo con la fórmula I como un principio activo, y portador o portadores líquidos o sólidos, en combinación con el principio activo. Cualquiera de los compuestos descritos anteriormente como adecuados para el tratamiento de *Francisella tularensis* puede estar incluido en las composiciones farmacéuticas.

50 Los derivados de celecoxib se pueden administrar como sales farmacéuticamente aceptables. Las sales farmacéuticamente aceptables se refieren a sales de adición de ácido, inorgánicas y orgánicas, relativamente no tóxicas, de los derivados de celecoxib. Estas sales se pueden preparar *in situ* durante el aislamiento y la purificación finales del derivado de celecoxib, con un contraión adecuado, y aislando la sal formada de esta manera. Los contraiones representativos incluyen las sales de cloruro, bromuro, nitrato, amonio, sulfato, tosilato, fosfato, tartrato, etilendiamina, y maleato, y similares. Véase por ejemplo Haynes y col., J. Pharm. Sci., 94, p. 2111-2120 (2005).

55

60 Las composiciones farmacéuticas incluyen uno o más derivados de celecoxib junto con uno o más de una variedad de portadores fisiológicos aceptables para administrar a un paciente, incluyendo una variedad de diluyentes o excipientes conocidos por las personas normalmente expertas en la técnica. Por ejemplo, para la administración parenteral, se prefiere la solución salina isotónica. Para la administración tópica, se puede una crema, que incluya un portador tal como dimetilsulfóxido (DMSO), u otros agentes que se encuentran normalmente en las cremas tópicas que no bloquean o inhiben la actividad del péptido. Otros portadores adecuados incluyen, pero no se limitan a, alcohol, solución salina tamponada con fosfato, y otras soluciones salinas equilibradas.

65

Las formulaciones se pueden presentar convenientemente en forma de dosificación unitaria y se pueden preparar mediante cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica de farmacia. Preferentemente, dichos métodos incluyen la etapa de poner en contacto el agente activo en asociación con un portador que constituye uno o más ingredientes auxiliares. En general, las formulaciones se preparan poniendo en contacto de forma uniforme e íntima el agente activo en asociación con un portador líquido, un portador sólido finamente dividido, o ambos, y a continuación, si es necesario, conformar el producto en las formulaciones deseadas. Los métodos descritos en el presente documento incluyen administrar a un sujeto, preferentemente un mamífero, y de forma más preferible un ser humano, la composición en una cantidad eficaz para producir el efecto deseado. Los derivados de celecoxib se pueden administrar como una única dosis o en dosis múltiples. Las dosificaciones útiles de los agentes activos se pueden determinar separando su actividad *in vitro* y la actividad *in vivo* en modelos animales. Se conocen en la técnica los métodos para extrapolar las dosificaciones eficaces en ratones, y otros animales, a los seres humanos; por ejemplo, véase la Patente de los Estados Unidos N° 4.938.949.

Los agentes descritos en el presente documento se formulan preferentemente en composiciones farmacéuticas y a continuación, de acuerdo con los métodos descritos en el presente documento, se administran a un sujeto, tal como un paciente humano, en una variedad de formas adaptadas a la ruta escogida de administración. Las formulaciones incluyen, pero no se limitan a, las adecuadas para la administración por vía oral, rectal, vaginal, tópica, nasal, oftálmica, o parental (incluyendo la subcutánea, intramuscular, intraperitoneal, intratumoral, e intravenosa).

Las formulaciones adecuadas para la administración oral se pueden presentar como unidades discretas tales como comprimidos, comprimidos gruesos, cápsulas, comprimidos masticables, obleas, o sellos, conteniendo cada uno una cantidad predeterminada del agente activo como un polvo o gránulos, como liposomas que contienen los derivados de celecoxib, o como una disolución o suspensión en un licor acuoso o un líquido no acuoso tal como un jarabe, un elixir, una emulsión, o una dosis líquida. Dichas composiciones y preparaciones contienen normalmente al menos aproximadamente el 0,1 % en peso del agente activo. La cantidad de derivados de celecoxib (es decir, el agente activo) es tal que el nivel de dosificación producirá el resultado deseado en el sujeto.

Las formulaciones para pulverización nasal incluyen disoluciones acuosas purificadas del agente activo con agentes conservantes y agentes isotónicos. Dichas formulaciones se ajustan preferentemente a un pH y estado isotónico compatible con las membranas mucosas nasales. Las formulaciones para la administración rectal o vaginal pueden presentarse como supositorios con un portador adecuado tal como manteca de cacao, o grasas hidrogenadas o ácidos carboxílicos grasos hidrogenados. Las formulaciones oftálmicas se preparan mediante un método similar al de la pulverización nasal, excepto que el pH y los factores isotónicos se ajustan preferentemente para corresponderse al del ojo. Las formulaciones tópicas incluyen el agente activo disuelto o suspendido en uno o más medios tales como aceite mineral, petróleo, alcoholes polihidroxilados, u otras bases utilizadas para las formulaciones farmacéuticas tópicas.

Los comprimidos, comprimidos gruesos, píldoras, cápsulas, y similares pueden contener uno o más de los siguientes: un aglutinante tal como una goma tragacanto, acacia, almidón de maíz o gelatina; un excipiente tal como fosfato dicálcico, un agente desintegrante tal como almidón de maíz, almidón de patata, ácido alginico, y similares; un lubricante tal como estearato de magnesio; un agente edulcorante tal como sacarosa, fructosa, lactosa, o aspartame; y un agente aromatizante natural o artificial. Cuando la forma de dosificación unitaria es una cápsula, puede contener adicionalmente un portador líquido, tal como un aceite vegetal o un polietilenglicol. Pueden estar presentes varios otros materiales diversos como revestimientos o para modificar de otra manera la forma física de la forma de dosificación unitaria sólida. Por ejemplo, comprimidos, píldoras o cápsulas pueden revestirse con gelatina, cera, shellac, azúcar, y similares. Un jarabe o elixir puede contener uno o más de un agente edulcorante, un conservante tal como metil o propilparabeno, un agente para retardar la cristalización del azúcar, un agente para aumentar la solubilidad de cualquier otro ingrediente, tal como un alcohol polihídrico, por ejemplo, glicerol o sorbitol, un colorante, y un agente aromatizante. El material utilizado en la preparación de cualquier forma unitaria de dosificación es sustancialmente no tóxico en las cantidades empleadas. El agente activo puede incorporarse a preparaciones y dispositivos de liberación continua.

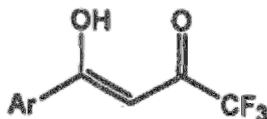
#### Preparación de los compuestos

Los compuestos descritos en el presente documento pueden sintetizarse mediante rutas sintéticas que incluyen procedimientos similares a aquellos bien conocidos en las técnicas químicas, particularmente a la luz de la descripción incluida en el presente documento. Los materiales de partida están generalmente disponibles de fuentes comerciales tales como Aldrich Chemicals (Milwaukee, Wisconsin, EE.UU.) o se preparan fácilmente utilizando métodos bien conocidos por los expertos en la técnica (por ejemplo, preparados mediante los métodos generalmente descritos en Louis F. Fieser y Mary Fieser, *Reagents for Organic Synthesis*, v. 1-19, Wiley, Nueva York, (1967-1999 ed.); Alan R. Katritzky, Otto Meth-Cohn, Charles W. Rees, *Comprehensive Organic Functional Group Transformations*, v 1-6, Pergamon Press, Oxford, England, (1995); Barry M. Trost e Ian Fleming, *Comprehensive Organic Synthesis*, v. 1-8, Pergamon Press, Oxford, Inglaterra, (1991); o Beilsteins Handbuch der organischen Chemie, 4, Aufl. Ed. Springer-Verlag, Berlín, Alemania, incluyendo los suplementos (disponibles también mediante la base de datos en línea de Beilstein)).

Los expertos en la materia apreciarán que se pueden usar otras rutas sintéticas para sintetizar los compuestos descritos en el presente documento. Aunque materiales de partida y reactivos específicos se representan gráficamente en los esquemas de reacción y se describen a continuación, otros materiales de partida y reactivos se pueden sustituir fácilmente para proporcionar una variedad de derivados y/o condiciones de reacción. Además, muchos de los compuestos preparados mediante los métodos descritos a continuación pueden modificarse adicionalmente a la luz de esta divulgación utilizando métodos convencionales bien conocidos por los expertos en la técnica.

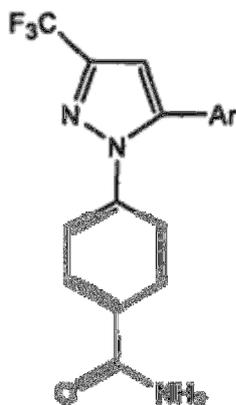
### Ejemplos

#### Ejemplo 1: Procedimientos generales para los intermedios de 1,1,1-trifluoro-4-aryl-but-3-en-2-ona



A una suspensión de hidruro de sodio (NaH; 0,13 g, 5,4 mmol) en 5 ml de tetrahidrofurano anhidro (THF) se añadió trifluoroacetato de etilo (CF<sub>3</sub>COOEt; 0,64 g, 4,5 mmol) con argón. Tras agitar a 25 °C durante 10 min, se añadió a la disolución fenilo 4-sustituido (4,5 mmol) en 5 ml de THF gota a gota. La mezcla se volvió transparente y de tono naranja en 30 min, y tras agitar durante 2 h más, se concentró a vacío. El residuo se suspendió en agua, y se extrajo con acetato de etilo (15 ml) dos veces. La fase orgánica se separó, se secó con sulfato de sodio, y se concentró hasta sequedad a vacío para dar el producto (sólido de color amarillo, 1,29 g, rendimiento del 90 %). El producto se usó directamente sin purificación.

- 1, 1, 1- Trifluoro- 4- hidroxil- 4- (4'- metil- bifenil-4- il)- but- 3- en- 2- ona;
- 4- (4'- Cloro- bifenil- 4- il)- 1, 1, 1- trifluoro-4- hidroxil- but- 3- en- 2- ona;
- 4- (3', 5'- Dicloro- bifenil- 4- il)- 1, 1, 1- trifluoro-4- hidroxil- but- 3- en- 2- ona;
- 4- (4'- Metil- bifenil- 4- il)- 1, 1, 1- trifluoro-4- hidroxil- but- 3- en- 2- ona;
- 4- (4'- Trifluorometil- bifenil- 4- il)- 1, 1, 1-trifluoro- 4- hidroxil- but- 3- en- 2- ona;
- 4- (3', 5'- Dimetil- bifenil- 4- il)- 1, 1, 1- trifluoro-4- hidroxil- but- 3- en- 2- ona;
- 4- (4'- t- Butil- bifenil- 4- il)- 1, 1, 1- trifluoro-4- hidroxil- but- 3- en- 2- ona;
- 4- (4'- n- Butil- bifenil- 4- il)- 1, 1, 1- trifluoro-4- hidroxil- but- 3- en- 2- ona;
- 4- Antracén- 9- il- 1, 1, 1- trifluoro- 4- hidroxilbut-3- en- 2- ona;
- 4- (4- Butil- fenil)- 1, 1, 1- trifluoro- 4- hidroxil-but- 3- en- 2- ona;
- 4- (2', 4', 5'- Tricloro- bifenil- 4- il)- 1, 1, 1-trifluoro- 4- hidroxil- but- 3- en- 2- ona;
- 1, 1, 1- Trifluoro- 4- hidroxil- 4- naftalen- 1-il- but- 3- en- 2- ona;
- 4- (4- Fluoro- fenil)- 1, 1, 1- trifluoro- 4- hidroxil-but- 3- en- 2- ona;
- 1, 1, 1- Trifluoro- 4- hidroxil- 4- (6- metoxinaftalen-2- il)- but- 3- en- 2- ona;
- 4- (4'- Bromo- bifenil- 4- il)- 1, 1, 1- trifluoro-4- hidroxil- but- 3- en- 2- ona;
- 1, 1, 1- Trifluoro- 4- hidroxil- 4- fenantren-3- il- but- 3- en- 2- ona.

Ejemplo 2: Procedimientos generales para los compuestos de 4-carboxamida

Se añadió clorhidrato de (4-carbamoilfenil)-hidrazina (0,92 g, 4,9 mmol) a una disolución agitada de precursores (I a X) (4,1 mmol) en 40 ml de etanol a 25 °C para preparar los compuestos **1-10** siguientes. La mezcla se mantuvo a reflujo durante 12 h, se enfrió a temperatura ambiente y se concentró hasta sequedad a vacío. El residuo se disolvió en acetato de etilo, y se lavó con agua. La capa orgánica se secó con sulfato de sodio, y se concentró a vacío. El producto bruto mediante cromatografía instantánea en gel de sílice (acetato de etilo- hexano, 1:1), dando como resultado **1 a 10** respectivamente con un buen rendimiento.

Compuesto **1**: 4- (5- Bifenil- 4- il- 3- trifluorometil-pirazol- 1- il)- benzamida;

Compuesto **2**: 4- [5- (4'- Cloro- bifenil- 4- il)-3- trifluorometil- pirazol- 1- il]- benzamida;

Compuesto **3**: 4- [5- (3', 5'- Dicloro- bifenil-4- il)- 3- trifluorometil- pirazol- 1- il]- benzamida;

Compuesto **4**: 4- [5- (4'- Metil- bifenil- 4- il)-3- trifluorometil- pirazol- 1- il]- benzamida;

Compuesto **5**: 4- [3- Trifluorometil- 5- (4'- trifluorometil-bifenil- 4- il)- pirazol- 1- il]- benzamida;

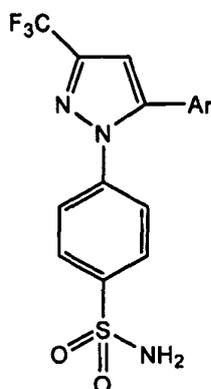
Compuesto **6**: 4- [5- (3', 5'- Dimetil- bifenil-4- il)- 3- trifluorometil- pirazol- 1- il]- benzamida;

Compuesto **7**: 4- [5- (4'- *t*- Butil- bifenil- 4-il)- 3- trifluorometil- pirazol- 1- il]- benzamida;

Compuesto **8**: 4- [5- (4'- *n*- Butil- bifenil- 4-il)- 3- trifluorometil- pirazol- 1- il]- benzamida;

Compuesto **9**: 4- (5- Antracen- 9- il- 3- trifluorometil-pirazol- 1- il)- benzamida;

Compuesto **10**: 4- [5- (4- Butil- fenil)- 3- trifluorometil-pirazol- 1- il]- benzamida.

Ejemplo 3. Procedimientos generales para los compuestos de 4-sulfonamida (11-13)

Se añadió clorhidrato de 4-hidrazinobenceno-1-sulfonamida (1,1 g, 4,9 mmol) a una disolución agitada de precursores (II, XI y XII) (4,1 mmol) en 40 ml de etanol. La mezcla se mantuvo a reflujo durante 12 h, se enfrió a temperatura ambiente, y se concentró hasta sequedad a vacío. El residuo se disolvió en acetato de etilo, y se lavó

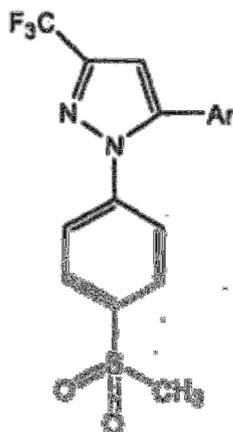
con agua. La capa orgánica se secó con sulfato de sodio, y se concentró a vacío. El producto bruto se purificó mediante cromatografía instantánea en gel de sílice para dar como resultado **11**, **12**, **13** respectivamente.

Compuesto **11**: 4- [5- (4'- Cloro- bifenil- 4-il)- 3- trifluorometil- pirazol- 1- il]- bencenosulfonamida;

Compuesto **12**: 4- [5- (2', 4', 5'- Tricloro- bifenil-4- il)- 3- trifluorometil- pirazol- 1- il]- bencenosulfonamida;

Compuesto **13**: 4- (5- Naftalen- 1- il- 3- trifluorometil-pirazol- 1- il)- bencenosulfonamida.

Ejemplo 4. Procedimientos generales para los compuestos de 4-metanosulfonylo

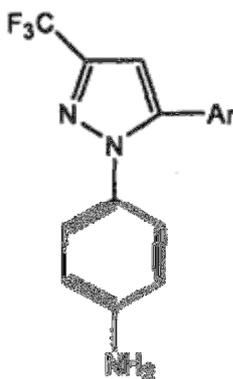


Se añadió clorhidrato de (4-metanosulfonyl-fenil-hidrazina (4,9 mmol) a una disolución agitada de precursores (XIII, IV) (4,1 mmol) en 40 ml de etanol. La mezcla se mantuvo a reflujo durante 12 h, se enfrió a temperatura ambiente, y se concentró hasta sequedad a vacío. El residuo se disolvió en acetato de etilo, y se lavó con agua. La capa orgánica se secó con sulfato de sodio y se concentró a vacío. El producto bruto se purificó mediante cromatografía instantánea en gel de sílice para dar como resultado **14** y **15** respectivamente.

Compuesto **14**: 5- (4- Fluoro- fenil)- 1- (4-metanosulfonyl- fenil)- 3- trifluorometil- 1H- pirazol;

Compuesto **15**: 1- (4- Metanosulfonyl- fenil)-5- (4'- metil- bifenil- 4- il)- 3- trifluorometil- 1H-pirazol

Ejemplo 5 Procedimientos generales para los compuestos de 4-amina



A una disolución de precursores I, XI, XII, XIV, y XV (4,1 mmol) en 40 ml de etanol se añadió clorhidrato de 4-nitrofenilhidrazina (4,9 mmol) respectivamente con agitación, se mantuvo a reflujo durante 1 h, se enfrió a temperatura ambiente, y se concentró hasta sequedad a vacío. El residuo se disolvió en acetato de etilo, y se lavó con agua. La fase orgánica se secó con sulfato de magnesio, y se concentró hasta sequedad a vacío. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar como resultado los nitrocompuestos XVII, XVIII, XIX, XX, y XXY respectivamente para dar un rendimiento de aceptable a bueno.

XVII. 5- Bifenil- 4- il- 1- (4- nitro- fenil)- 3-trifluorometil- 1H- pirazol

XVIII. 5- (2', 4', 5'- Tricloro- bifenil- 4- il)- 1-(4- nitro- fenil)- 3- trifluorometil- 1H- pirazol

XIX. 5- Naftalen- 1- il- 1- (4- nitro- fenil)-3- trifluorometil- 1H- pirazol

XX. 5- (6- metoxi- naftalen- 2- il)- 1- (4-nitro- fenil)- 3- trifluorometil- 1H- pirazol

XXI. 5- (4'- Bromo- bifenil- 4- il)- 1- (4- nitrofenil)-3- trifluorometil- 1H- pirazol

A una disolución de los nitrocompuestos XVII, XVIII, XIX, XX, y XXI (2 mmol) en 20 ml de etanol se añadió óxido de platino (27 mg, 0,12 mmol) respectivamente, se agitó en H<sub>2</sub> a 55 psi (379,2 kPa) durante 12 h, se filtró para eliminar el catalizador, y se concentró hasta sequedad a vacío. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en gel de sílice para dar los compuestos **16**, **17**, **18**, **19**, y **20** respectivamente con un buen rendimiento.

Compuesto **16**: 4- (5- Bifenil- 4- il- 3- trifluorometil-pirazol- 1- il)- fenilamina;

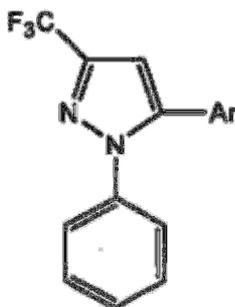
Compuesto **17**: 4- [5- (2', 4', 5'- Tricloro- bifenil-4- il) 3- trifluorometil- pirazol- 1- il]- fenilamina;

Compuesto **18**: 4- (5- Naftalen- 1- il- 3- trifluorometil-pirazol- 1- il)- fenilamina;

Compuesto **19**: 4- [5- (6- metoxi- naftalen-2- il)- 3- trifluorometil- pirazol- 1- il)- fenilamina;

Compuesto **20**: 4- [5- (4'- Bromo- bifenil- 4-il)- 3- trifluorometil- pirazol- 1- il]- fenilamina.

Ejemplo 6: 1-Fenil-5-fenantrenil-3-(trifluorometil)-1H-pirazol (21).



A una disolución de XVI (4,1 mmol) en 40 ml de etanol se añadió clorhidrato de fenilhidrazina (4,9 mmol) con agitación, se mantuvo a reflujo durante 1 h, se enfrió a temperatura ambiente, y se concentró hasta sequedad a vacío. El residuo se disolvió en acetato de etilo, y se lavó con agua. La fase orgánica se secó con sulfato de magnesio, y se concentró hasta sequedad a vacío. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar como resultado el compuesto **21** (5-fenantren-3- il- 1- fenil- 3- trifluorometil- 1H- pirazol) (0,88 g, rendimiento del 50 %).

Ejemplo 7. Efecto antibacteriano de celecoxib y derivados de celecoxib frente a *Francisella tularensis*

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Bacterias

Se utilizaron a lo largo de este estudio *F. novicida* cepa U112, la cepa de la vacuna viva (LVS, tipo B), y *F. tularensis* cepa Schu S4 (tipo A). Los experimentos que implicaban a Schu S4 se llevaron a cabo en un agente CDC seleccionado – homologado para el laboratorio BSL3 en la Ohio State University. Se hicieron crecer las bacterias a 37 °C en agar chocolate II (Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ) o en caldo triptico de soja (Becton, Dickinson and Company) suplementado con pirofosfato de hierro (III) al 0,025 % (p/v) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) y clorhidrato de cisteína al 0,1 % (p/v) (MP Biomedicals, Solon, OH).

Se hicieron crecer *Salmonella enterica* serovar Typhimurium (ATCC 14028) y *Escherichia coli* (ATCC 25922) en agar de Luria-Bertani (LB) (Becton, Dickinson and Company) o en caldo LB a 37 °C. Se llevaron a cabo los experimentos que implicaban a estas bacterias utilizando los procedimientos de laboratorio para un nivel de bioseguridad 2 (BSL-2).

### Reactivos

Celecoxib se extrajo y se purificó de cápsulas Celebres<sup>®</sup> (Amerisource Health, Malvern, PA) con acetato de etilo seguido por recristalización en una mezcla de acetato y hexano. Rofecoxib se sintetizó de acuerdo con el procedimiento de Prasit y col. Prasit y col., Bioorg. Med. Chem. Lett. 9, p. 1773-8 (1999). La biblioteca de compuestos basados en celecoxib consistió en los compuestos **1-21**, tal como se describe en los Ejemplos 2-6. La

identidad y la pureza ( $\geq 99\%$ ) de estos compuestos sintéticos se verificó mediante espectroscopía de resonancia magnética nuclear (300 MHz), espectroscopía de masas de alta resolución, y análisis elemental.

#### Macrófagos

5 La línea de células RAW264.7 de macrófagos de murino y la línea de células THP-1 de leucemia monocítica de murino se obtuvieron de la American Type Culture Collection (ATCC; Manassas, VA). La línea de células RAW264.7 se mantuvo en medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) (GIBCO-BRL, Invitrogen Corp., Carlsbad, CA) suplementado con FBS al 10 % (GIBCO-BRL). Las células THP-1 se mantuvieron en RPMI 1640 que contenía FBS al 10 %. Las células THP-1 se diferenciaron mediante tratamiento con 12-O-tetradecanoilforbol 13-acetato (TPA) 20 nM (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) durante 48 h. Todos los cultivos de células de murino y humanas se llevaron a cabo a 37 °C en una incubadora que contenía CO<sub>2</sub> al 5 %. Las células se sembraron en placas de cultivo de tejido de 96 o de 12 pocillos, y se incubaron durante 8-12 horas antes de la experimentación.

#### 15 Ensayos antibacterianos

Se determinó la concentración inhibidora mínima (MIC) de los agentes individuales mediante un método de microdilución del caldo tal como se describe a continuación. MIC se definió como la concentración más baja que inhibió de forma significativa el crecimiento bacteriano. Células de *F. tularensis* que crecieron durante la noche en una placa de agar de chocolate II se suspendieron en PBS a una D.O. de 1,0 a 600 nm, que era equivalente a 10<sup>10</sup> UFC/ml, y a continuación se diluyeron en TSB modificado hasta una concentración final de 10<sup>4</sup> UFC/ml. La suspensión bacteriana se expuso al agente de ensayo a dosis escaladas, que variaban de 1 – 64 µg/ml, en placas de 96 pocillos por triplicado, y se incubaron a 37 °C durante 24 h (*F. novicida* y Sch S4) o 48 h (LVS). El MIC se derivó a partir de la concentración que no presentó crecimiento visible de bacterias. Posteriormente, para analizar la viabilidad de *F. novicida* y LVS tras la exposición al fármaco, 100 µl de suspensión bacteriana procedente de cada pocillo se diluyeron en serie con PBS y se pulverizaron sobre placas de agar de chocolate II. Después de 24 h (*F. novicida*) o 48 h (LVS) de incubación a 37 °C, se contó el número de colonias bacterianas de cada placa y se expresó como UFC/ml. Se evaluaron los efectos de los agentes de ensayo sobre el crecimiento de dos bacterias Gram negativas adicionales, *S. enterica* serovar Typhimurium y *E. coli*, en caldo LB o TSB modificado tal como se ha descrito anteriormente para *Francisella* spp.

#### Ensayo de viabilidad de macrófagos

35 Se evaluó el efecto de los agentes individuales sobre la viabilidad de macrófagos utilizando el ensayo del 3-(4, 5-dimetiltiazol-2-il)-2, 5-difeniltetrazolio (MTT). Jeffrey, M. E., Methods in Cell Science, 11 (1), p. 3 (1988). Se sembraron células RAW264.7 en placas de 96 pocillos a 2,5 x 10<sup>4</sup> células/pocillo (mínimo de seis pocillos por grupo de ensayo) en medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) suplementado con suero bovino fetal al 10 % (FBS) y 10 µg/ml de gentamicina, y a continuación se incubaron durante la noche a 37 °C en una incubadora humidificada que contenía CO<sub>2</sub> al 5 %. Se retiró el medio procedente de cada pocillo y se sustituyó con DMEM suplementado con FBS al 5 % reciente que contenía diversas concentraciones de agentes de ensayo disueltos en DMSO (concentración final de 0,1 %). Los controles recibieron DMSO solo a una concentración igual a la de las células tratadas con fármaco. Después de 8 h de tratamiento, se retiró el medio, se sustituyó por 200 µl de 0,5 mg/ml de MTT en medio que contenía FBS al 10 %, y se incubaron las células en la incubadora con CO<sub>2</sub> a 37 °C durante 1 h. Se retiraron los sobrenadantes de los pocillos, y el colorante de MTT reducido se solubilizó en 200 µl/pocillo de 45 DMSO. Se determinaron las absorbancias a 570 nm en un lector de placas. Se calculó la viabilidad de las células tratadas con fármaco como un porcentaje de células del control tratadas con portador, y se determinó la CI<sub>50</sub> para la viabilidad celular utilizando el software CalcuSyn (Biosoft, Cambridge, Reino Unido)

#### Ensayo de supervivencia intracelular de Francisella en macrófagos

50 Células de *F. novicida* que crecieron durante la noche en una placa de agar chocolate II se suspendieron en PBS a una concentración de aproximadamente 10<sup>10</sup> UFC/ml (tal como se estimó mediante la D.O. de 1,0 a 600 nm). Macrófagos RAW264.7 de murino y células THP-1 diferenciadas mediante TPA se sembraron en placas de 12 pocillos a 5 x 10<sup>5</sup> células/pocillo, y se añadió *F. novicida* a una MOI de 50. Mohaptra y col., Infect. Immun. 76, p. 3690-9 (2008). Tras la centrifugación de las placas a 800 x g durante 15 min para facilitar la infección, los macrófagos se incubaron a 37 °C en una incubadora humidificada que contenía CO<sub>2</sub> al 5 % durante 2 h, se expusieron a 50 µg/ml de gentamicina durante 30 min, y se lavaron con PBS precalentado dos veces para eliminar las bacterias extracelulares muertas. Mariathasan y col., J. Exp. Med. 202, p. 1043-9 (2005). A continuación los macrófagos infectados se trataron por triplicado con diversas concentraciones de agentes de ensayo durante 8 h, tras las cuales el medio de cultivo se recogió de cada pocillo y se lisaron los macrófagos con 500 µl de desoxicolato de sodio al 0,1 % en PBS a 37 °C durante 5 min para liberar las bacterias intracelulares. Mohaptra y col., Infect. Immun., 75, p. 390-6 (2007). Las bacterias presentes en el medio de cultivo recogido, tanto como bacterias libres o en el interior de macrófagos en flotación, se cosecharon mediante centrifugación a 16.000 x g durante 5 min, seguido por la resuspensión del aglomerado en 500 µl de desoxicolato de sodio al 0,1 % en PBS. Los lisados combinados se diluyeron en serie con PBS, y se pulverizaron sobre placas de agar chocolate II. Se calcularon las UFC tras incubación durante 24 h a 37 °C. Se calculó la supervivencia de las bacterias intracelulares en los

macrófagos tratados con fármaco como un porcentaje de células del control (no tratadas).

#### Análisis estadístico

- 5 Los datos se expresaron como promedios  $\pm$  DS. Se compararon los promedios de grupo utilizando un test de la t bilateral de muestras independientes. Las diferencias se consideraron significativas a  $P < 0,05$ . Se llevaron a cabo los análisis estadísticos utilizando SPSS para Windows (Versión 16.0; SPSS, Inc. Chicago, IL).

#### RESULTADOS

- 10 Efecto diferencial de celecoxib y rofecoxib sobre la inhibición del crecimiento de *F. tularensis* en un caldo de cultivo.

Como parte del esfuerzo de los inventores para identificar los agentes principales con actividad antibacteriana frente a *F. tularensis*, se examinó el efecto de un panel de agentes farmacéuticos en uso clínico sobre el crecimiento de *F. novicida* y LVS en el caldo triptico de soja modificado (TBS). De los fármacos examinados, el celecoxib inhibidor de la ciclooxigenasa-2 (COX-2) presentó una capacidad significativa para inhibir el crecimiento bacteriano con valores MIC de 32  $\mu\text{g/ml}$  y 16  $\mu\text{g/ml}$  para *F. novicida* y LVS, respectivamente (FIG. 1). Tal como se muestra, el tratamiento de estas bacterias con celecoxib a las respectivas MIC condujo a una disminución  $\geq$  logarítmica en las UFC, y las bacterias se eliminaron completamente a 64  $\mu\text{g/ml}$  y 32  $\mu\text{g/ml}$ , respectivamente (FIG. 1B). De forma importante, celecoxib fue equivalente en la supresión del crecimiento de la cepa A de tipo virulento de *F. tularensis* Schu S4 con un MIC de 16  $\mu\text{g/ml}$  (FIG. 1C). Además, este efecto supresor fue muy específico frente a *Francisella* debido a que celecoxib era inactivo frente a las otras dos bacterias gram-negativas examinadas, concretamente *S. enterica* serovar Typhimurium y *E. coli*. En contraste, rofecoxib, un inhibidor de COX-2 estructuralmente distinto pero más potente no tuvo efecto apreciable sobre ninguna de las bacterias examinadas a 64  $\mu\text{g/ml}$  (FIG. 1B y C), indicando que el efecto antibacteriano de celecoxib era atribuible a un mecanismo “fuera de lo proyectado” independiente de la inhibición de una posible enzima “de tipo COX-2” en *Francisella*.

#### Explicación farmacológica de la actividad anti-*Francisella* de celecoxib

- 30 Se ha determinado que los hallazgos de una actividad “fuera de la proyectada” de celecoxib frente a *F. tularensis* podrían explicarse aprovechando celecoxib como plataforma molecular para desarrollar potentes agentes anti-*Francisella* adicionales para uso terapéutico. De acuerdo con esto, se ha establecido una biblioteca de compuestos focalizada consistente en veinte y uno derivados de celecoxib sustituyendo los fragmentos de metilfenilo ( $R_1$ ) y sulfonamida ( $R_2$ ) de celecoxib por diversas funcionalidades. Se midieron los MIC de estos compuestos para la inhibición del crecimiento bacteriano tras el crecimiento en TSB modificado después de 24 h (para *F. novicida*) o 48 h (para LVS) a 37 °C, tal como se muestra en la FIG. 2. De ellos, los compuestos **2**, **11**, **12**, **16**, y **20** presentaron MIC no mayores de 4  $\mu\text{g/ml}$  para ambas cepas. En particular, el compuesto **12** fue capaz de suprimir el crecimiento de *F. novicida* y LVS a 2 y 1  $\mu\text{g/ml}$ , respectivamente. Este aumento de muchas veces en la actividad antibacteriana mostró que celecoxib podría optimizarse estructuralmente para desarrollar potentes agentes anti-*Francisella*.

- 40 Citotoxicidad diferencial de agentes principales para macrófagos

Debido a que la principal diana *in vivo* de *F. tularensis* es el macrófago, se evaluó adicionalmente la citotoxicidad de celecoxib y de estos agentes principales en células RAW264.7 de macrófago de murino. La FIG. 3A representa gráficamente los efectos dosis-respuesta de los agentes individuales sobre la muerte de células RAW264.7 en medio DMEM que contiene FBS al 5 % tras 8 h de tratamiento, de las cuales, la potencia relativa es del orden de **12** > **11** > **2** > **16** > celecoxib > **20**. El suero fue una variable importante en este ensayo ya que los estudios previos habían mostrado que el suero puede suprimir la actividad de estos agentes.

- 50 Aunque el compuesto **12** a 2  $\mu\text{g/ml}$  fue muy eficaz para inhibir el crecimiento bacteriano, mostró también citotoxicidad para los macrófagos a la misma concentración, es decir, una relación  $CI_{50}/MIC$  de 1,2 (FIG. 3B). Por otra parte, el compuesto **20** presentó una relación  $CI_{50}/MIC$  más elevada de 11,5 indicando una selectividad deseable en la inhibición del crecimiento bacteriano inducido por fármaco con respecto a la citotoxicidad para las células hospedadoras. Además, al igual que celecoxib, la actividad inhibidora del compuesto **20** fue específica de *Francisella* ya que esta fue inactiva frente a las bacterias gram negativas *S. enterica* serotipo Typhimurium y *E. coli* (no se muestran los datos).

Se calculó el 50 % de la concentración inhibidora ( $CI_{50}$ ) de cada agente ensayado a partir de tres experimentos independientes utilizando el software CalcuSyn. Se calculó también la relación del MIC (inhibición del crecimiento de bacterias) a la  $CI_{50}$  (toxicidad celular) para cada agente que sirvió como un índice de selectividad de la actividad antimicrobiana con respecto a un efecto citotóxico (cuanto mayor sea el número, mayor será la selectividad).

- 65 El compuesto **20** inhibe el crecimiento de *F. tularensis* intracelular en macrófagos de murino y humanos. Basándose en estos resultados, se estudió adicionalmente el compuesto **20** para determinar su efecto sobre la inhibición de la supervivencia intracelular de *F. novicida* en macrófagos de RAW264.7 de murino y macrófagos de THP-1 humanos diferenciados con 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA). Tras la infección y la eliminación de las bacterias

extracelulares, los macrófagos infectados se trataron con 4, 8 y 16  $\mu\text{g/ml}$  de compuesto **20** en medio DMEM que contenía FBS al 5 % durante 8 h. A continuación se cosecharon las bacterias intracelulares y se calculó su número calculando las UFC tras el crecimiento en agar. Tal como se muestra en la Fig. 4A, el compuesto **20** inhibió eficazmente *F. novicida* intracelular a 16  $\mu\text{g/ml}$  ( $P < 0,05$ ). Posteriormente, se evaluó el efecto del compuesto **20** sobre *F. tularensis* intracelular (tipo A, Schu S4) en las células THP-1 tratadas con TPA. A 4  $\mu\text{g/ml}$ , el compuesto **20** mostró ya un significativo efecto inhibitorio sobre el Schu S4 intracelular ( $P < 0,01$ ), indicando una mayor susceptibilidad de Schu S4 al compuesto **20** que *F. novicida* (Fig. 4B).

## DISCUSIÓN

Se ha demostrado que algunos fármacos que originalmente no se habían desarrollado para el tratamiento de infecciones bacterianas poseen actividad antimicrobiana *in vitro*. Por ejemplo, un fármaco que disminuye el colesterol, la estatina, ha mostrado inhibir el crecimiento *in vitro* de *Staphylococcus aureus*. Jerwood y col., J. Antimicrob. Chemother. 61, p. 362-4 (2008). Los resultados proporcionados en el presente documento han demostrado que celecoxib, un agente antiinflamatorio de amplio uso presenta una actividad antibacteriana “no proyectada” frente a *F. tularensis in vitro*. Es especialmente importante que la actividad antibacteriana de celecoxib frente a *F. tularensis* sea más importante que frente a *F. novicida*. Este efecto diferencial se ha reflejado en la diferencia en los MIC de *F. novicida* en comparación con *F. tularensis* (tipo A Schu S4) y LVS. Además, la evaluación de la actividad *anti-Francisella* de los novedosos derivados de celecoxib desveló que *F. novicida* y LVS muestran una marcada diferencia en sus susceptibilidades a celecoxib y sus derivados, especialmente el compuesto **17**, que no tuvo un efecto inhibitorio que se pudiera medir sobre *F. novicida*, pero que fue un potente inhibidor del crecimiento de LVS en TSB modificado (FIG. 2). Este hallazgo indica que la interacción entre el fármaco y su posible proteína bacteriana diana difiere entre las *Francisella* spp. Una posibilidad es que el sitio de unión de celecoxib sobre su posible proteína diana difiera, conduciendo a una mayor afinidad de unión en las cepas de *F. tularensis*, y una inhibición del crecimiento *in vitro*.

Entre los derivados de celecoxib sintetizados y evaluados, se identificó el compuesto **20**, como el que tenía la mejor selectividad debido a sus efectos inhibidores del crecimiento bacteriano con respecto a su citotoxicidad para macrófagos. De igual importancia, podría inhibir la supervivencia de *Francisella* intracelular en macrófagos de murino y humanos aunque a una concentración mayor que el MIC para el crecimiento de bacterias en caldo de cultivo (16  $\mu\text{g/ml}$  frente a 4  $\mu\text{g/ml}$ ). Estas discrepancias reflejan muchos factores que limitan el acceso de agentes antibacterianos a patógenos intracelulares que incluyen la unión de las proteínas en suero y las barreras físicas impuestas por las membranas biológicas.

Debido a que *Francisella* se localiza principalmente en los macrófagos de los hospedadores infectados, en el desarrollo de la siguiente generación de agentes *anti-Francisella* deben tenerse en cuenta los métodos para dirigir la administración del fármaco a los macrófagos. Por ejemplo, las estrategias que acoplan el compuesto **20** a un portador que se puede fagocitar de forma activa por los macrófagos pueden probar ser un medio prometedor para conseguir mayores concentraciones de fármacos intracelulares y una especificidad de administración del fármaco. Una posible solución a este respecto es utilizar el receptor de manosa que se expresa de manera abundante en macrófagos, que se ha utilizado ampliamente para potenciar la administración específica de fármacos, oligonucleótidos y proteínas a los compartimentos intracelulares en los macrófagos Irache y col., Expert Opin. Drug Deliv., 5, p. 703-24 (2008).

Celecoxib y rofecoxib son potentes inhibidores de COX-2 que se ha mostrado que interactúan con el mismo bolsillo de unión de la enzima COX-2 con valores de la  $\text{CI}_{50}$  en el intervalo submicromolar. No obstante, los datos muestran que únicamente celecoxib tuvo actividad antimicrobiana frente a *Francisella*, y que el MIC de celecoxib, para la inhibición del crecimiento de *Francisella* (32  $\mu\text{g/ml}$ ) es mucho mayor que su  $\text{CI}_{50}$  notificada para la inhibición de COX-2 (0,21  $\mu\text{g/ml}$ ) Prasit y col., Bioorg. Med. Chem. Lett., 9, p. 1773-8 (1999). Estos hallazgos sugieren que la actividad antimicrobiana de celecoxib es independiente de sus características estructurales que dictan su unión a COX-2. De esta manera, parece probable que la posible diana bacteriana de celecoxib en *F. tularensis* sea estructuralmente distinta de la de la enzima COX-2. Además de COX-2, se ha notificado que celecoxib posee actividad inhibitoria frente a otras enzimas de mamíferos, incluyendo la quinasa-1 dependiente de fosfoinositido, la anhidrasa carbónica, la ATPasa dependiente de calcio sarcoplásmico/RE (SERCA), y COX-1. Schonthal, A.H., Br. J. Cancer, 97, p. 1465-8 (2007). Estas enzimas de mamíferos como guías para identificar proteínas bacterianas estructuralmente similares, de las cuales una podría ser la posible diana antibacteriana de celecoxib en *F. tularensis*.

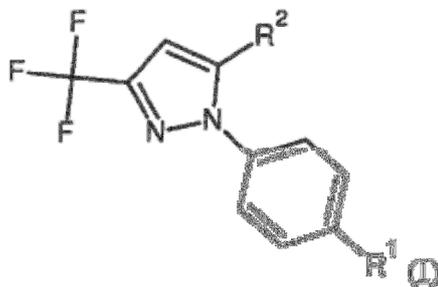
De acuerdo con esto, las secuencias de proteínas de estas enzimas dirigidas a celecoxib se utilizaron para investigar secuencias de proteínas homólogas en el proteoma publicado de *F. tularensis* (Schu S4), *F. novicida* y LVS en el National Center of Biotechnology Information (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Los resultados identificaron algunas proteínas de *F. novicida* y LVS que comparten homología con la anhidrasa carbónica, SERCA y COX-1, que incluyen la superóxido dismutasa, la FGAM sintasa y una ATPasa de transporte de cationes (FTF1738c). Estos hallazgos sugieren que dicho enfoque para identificar dianas de fármacos bacterianos es factible, y facilitará el desarrollo de agentes *anti-Francisella* derivados de celecoxib, más potentes y específicos.

La anterior descripción y los ejemplos detallados se han proporcionado solo para la claridad de la comprensión. No deben derivarse de la anterior limitaciones innecesarias.

5 Todos los encabezados son a conveniencia del lector y no deben utilizarse para limitar el significado del texto que sigue al encabezado, a no ser que se especifique de esta manera.

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de Fórmula I



5 en la que:

R<sup>1</sup> se selecciona entre el grupo que consiste en restos de hidrógeno, amino, amido, sulfonamidilo, metilsulfinilo y etilsulfinilo,

10 y  
R<sup>2</sup> es un grupo arilo, y donde R<sup>2</sup> está opcionalmente sustituido en posiciones sustituibles con uno o más restos seleccionados de forma independiente entre halo, alquilo C<sub>1-4</sub>, haloalquilo C<sub>1-4</sub>, hidroxialquilo C<sub>1-4</sub>, hidroxilo, nitro, amino, carboxilo y ciano; o

15 una de sus sales farmacéuticamente aceptables;

para su uso en un método para tratar o prevenir infección por *Francisella tularensis* en un sujeto, donde dicho método comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que incluye un compuesto de Fórmula I.

20 2. Un compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 1, donde el grupo arilo de R<sup>2</sup> se selecciona entre el grupo que consiste en grupos fenilo, naftilo, bifenilo, antraceno y fenantraceno arilo.

25 3. Un compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2 donde los restos sustituyentes opcionales para R<sup>2</sup> se seleccionan de forma independiente entre bromo, cloro, flúor, metoxi, trifluorometilo, metilo, etilo, propilo, y butilo.

4. Un compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 1, donde el compuesto se selecciona entre el grupo que consiste en:

Celecoxib;

30 4- (5- bifenil- 4- il- 3- trifluorometil- pirazol-1- il)- benzamida;

4- [5- (4'- cloro- bifenil- 4- il)- 3- trifluorometil-pirazol- 1- il]- benzamida;

4- [5- (3', 5'- dicloro- bifenil- 4- il)- 3- trifluorometil-pirazol- 1- il]- benzamida;

4- [5- (4'- metil- bifenil- 4- il)- 3- trifluorometil-pirazol- 1- il]- benzamida;

35 4- [3- trifluorometil- 5- (4'- trifluorometil- bifenil-4- il)- pirazol- 1- il]- benzamida;

4- [5- (3', 5'- dimetil- bifenil- 4- il)- 3- trifluorometil-pirazol- 1- il]- benzamida;

4- [5- (4'- terc- butil- bifenil- 4- il)- 3- trifluorometil-pirazol- 1- il]- benzamida;

4- [5- (4'- butil- bifenil- 4- il)- 3- trifluorometil-pirazol- 1- il]- benzamida;

40 4- (5- antraceno- 9- il- 3- trifluorometil- pirazol-1- il)- benzamida;

4- [5- (4- butil- fenil)- 3- trifluorometil- pirazol-1- il]- benzamida;

4- [5- (4'- cloro- bifenil- 4- il)- 3- trifluorometil-pirazol- 1- il]- bencenosulfonamida;

4- [5- (3', 4', 5'- tricloro- bifenil- 4- il)- 3- trifluorometil-pirazol- 1- il]- bencenosulfonamida;

4- (5- naftalen- 1- il- 3- trifluorometil- pirazol-1- il)- bencenosulfonamida;

5- (4- fluoro- fenil)- 1- (4- etanosulfonil- fenil)-3- trifluorometil- 1H- pirazol;

45 1- (4- metanosulfonil- fenil)- 5- (4'- metilbifenil-4- il)- 3- trifluorometil- 1H- pirazol;

4- (5- bifenil- 4- il- 3- trifluorometil- pirazol-1- il)- fenilamina;

4- [5- (3', 4', 5'- tricloro- bifenil- 4- il)- 3- trifluorometil-pirazol- 1- il]- fenilamina;

4- (5- naftalen- 1- il- 3- trifluorometil- pirazol-1- il)- fenilamina;

4- [5- (6- metoxi- naftalen- 2- il)- 3- trifluorometil-pirazol- 1- il]- fenilamina;

4- [5- (4'- bromo- bifenil- 4- il)- 3- trifluorometil-pirazolil]- fenilamina; y

50 5- fenantren- 3- il- 1- fenil- 3- trifluorometil-1H- pirazol;

y sus sales farmacéuticamente aceptables.

55 5. Un compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 1, donde el compuesto se selecciona entre el grupo que consiste en:

Celecoxib;

4- [5- (4'- cloro- bifenil- 4- il)- 3- trifluorometil-pirazol- 1- il]- benzamida;

4- [5- (4'- cloro- bifenil- 4- il)- 3- trifluorometil-pirazol- 1- il]- bencenosulfonamida;

4- [5- (3', 4', 5'- tricloro- bifenil- 4- il)- 3- trifluorometil-pirazol- 1- il]- bencenosulfonamida;

5 4- (5- bifenil- 4- il- 3- trifluorometil- pirazol-1- il)- fenilamina; y

4- [5- (4'- bromo- bifenil- 4- il)- 3- trifluorometil-pirazolil]- fenilamina;

y sus sales farmacéuticamente aceptables.

10 6. Un compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 1, donde el compuesto es 4- [5- (4'- bromo- bifenil- 4- il)- 3- trifluorometil- pirazolil]- fenilamina o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

7. Un compuesto para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, donde la infección por *Francisella tularensis* se inhibe en células de macrófagos sin toxicidad significativa para las células de macrófagos.

15 8. Un compuesto para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, donde la *Francisella tularensis* es resistente a los antibióticos.

9. Un compuesto para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, donde el sujeto es un ser humano.

20 10. Un compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 1, donde  $R^1$  se selecciona entre el grupo que consiste en restos amino, amido y sulfonamidilo y el grupo arilo del  $R^2$  es un grupo bifenilo, donde los restos sustituyentes opcionales para  $R^2$  se seleccionan de forma independiente entre bromo, cloro, fluoro, metoxi, trifluorometilo, metilo, etilo, propilo y butilo.

25 11. Un compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 10, donde  $R^1$  es un resto amino o amido.

12. Un compuesto seleccionado entre el grupo que consiste en:

30 4- (5- bifenil- 4- il- 3- trifluorometil- pirazol-1- il)- fenilamina;

4- [5- (3', 4', 5'- tricloro- bifenil- 4- il)- 3- trifluorometil-pirazol- 1- il]- fenilamina;

4- (5- naftalen- 1- il- 3- trifluorometil- pirazol-1- il)- fenilamina;

4- [5- (6- metoxi- naftalen- 2- il)- 3- trifluorometil-pirazol- 1- il]- fenilamina;

35 4- [5- (4'- bromo- bifenil- 4- il)- 3- trifluorometil-pirazolil]- fenilamina; y

sus sales farmacéuticamente aceptables.

13. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 12, donde el compuesto se selecciona entre el grupo que consiste en:

40 4- (5- bifenil- 4- il- 3- trifluorometil- pirazol-1- il)- fenilamina; y

4- [5- (4'- bromo- bifenil- 4- il)- 3- trifluorometil-pirazolil]- fenilamina;

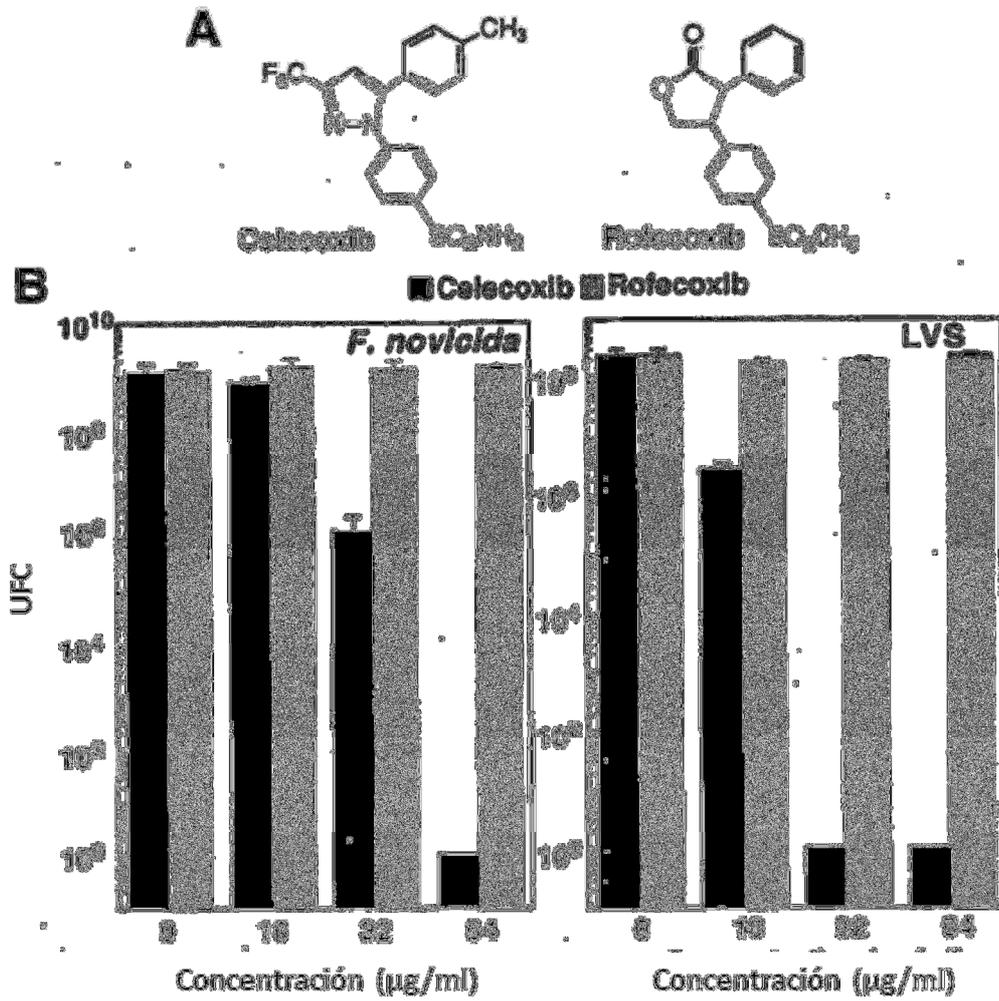
y sus sales farmacéuticamente aceptables.

45 14. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 13, donde el compuesto es 4- [5- (4'- bromo- bifenil- 4- il)- 3- trifluorometil-pirazolil]- fenilamina o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

50 15. Una composición farmacéutica para su uso en un método para tratar o prevenir infección por *Francisella tularensis* que comprende un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 como un principio activo, y un portador o portadores líquidos o sólidos farmacéuticamente aceptables, en combinación con el principio activo.

55 16. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 12 a 14 como un principio activo y un portador o portadores líquidos o sólidos farmacéuticamente aceptables, en combinación con el principio activo.

17. Uso de un compuesto tal como se ha definido en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de infección por *Francisella tularensis* en un sujeto.

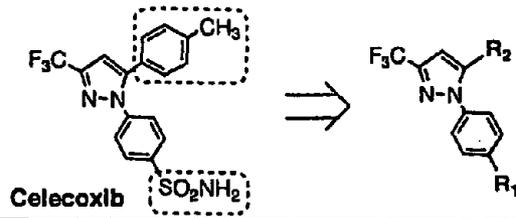


**C**

Bacterias Gram-negativas	Valores MIC en la inhibición del crecimiento bacteriano (µg/ml)	
	Celecoxib	Rofecoxib
<i>F. novicida</i>	32	NE
<i>F. tularensis</i> LVS	16	NE
<i>F. tularensis</i> Schu S4	16	NE
<i>Salmonella enterica</i> serovar Typhimurium	NE	NE
<i>Escherichia coli</i>	NE	NE

(NE, sin efecto a 64 µg/ml del agente de ensayo)

Figura 1

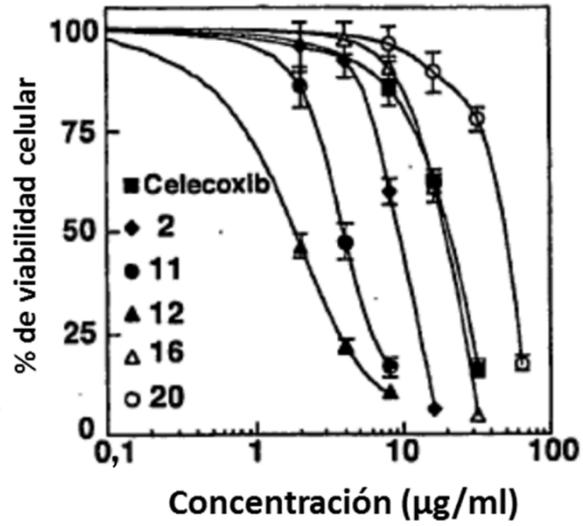


#	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	MIC (µg/ml)		#	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	MIC (µg/ml)	
			Fn*	LVS				Fn*	LVS
		Celecoxib	32	16	11			4	4
1	CONH <sub>2</sub>		16	8	12	SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>		2	1
2			4	2	13			16	8
3			8	2	14		SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>		>64
4			8	8	15			>64	>64
5			>64	>64	16	NH <sub>2</sub>		4	4
6			>64	>64	17			>64	4
7			>64	>64	18			8	8
8			>64	>64	19			8	8
9			8	8	20			4	4
10			16	8	21	H		>64	>64

(\* Fn, *F. novicida*, se obtuvieron los datos después de 24 h y 48 h para Fn y LVS, respectivamente)

Figura 2

**A**



**B**

Compuesto	MIC (µg/ml)	CI <sub>50</sub> (µg/ml)	CI <sub>50</sub> /MIC
	F. novicida	RAW264.7	
Celecoxib	32	17	0,5
2	4	9	2,3
11	4	4,8	1,2
12	2	2,4	1,2
16	4	15	3,6
20	4	46	11,5

Figura 3

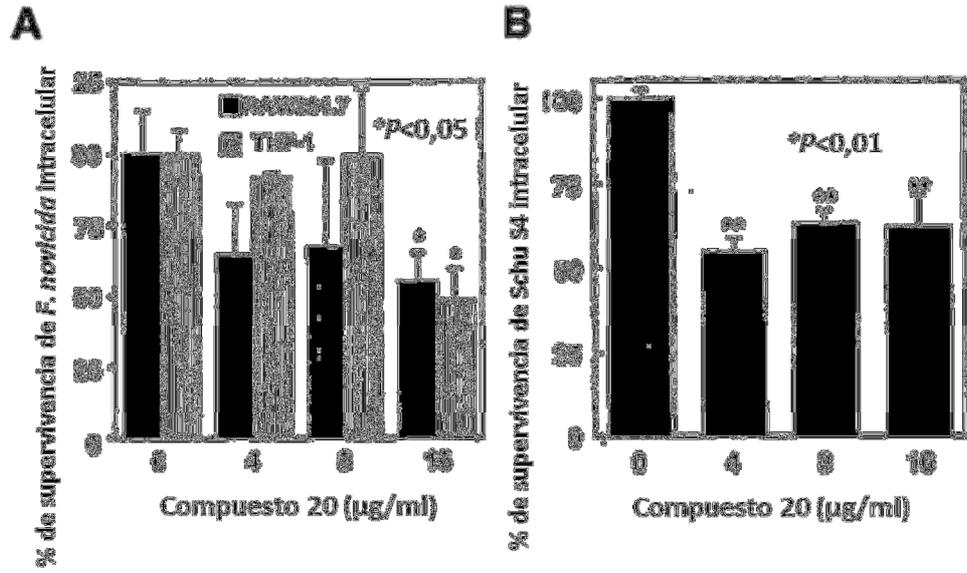


Figura 4