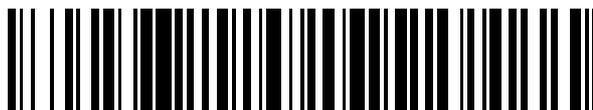


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 483 120**

51 Int. Cl.:

C07D 241/08 (2006.01)

A61P 31/04 (2006.01)

A61K 31/496 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.10.2010 E 10768235 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.04.2014 EP 2491021**

54 Título: **Nuevas acil-piperazinonas y su uso como productos farmacéuticos**

30 Prioridad:

20.10.2009 US 253354 P

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

05.08.2014

73 Titular/es:

**FAB PHARMA SAS (100.0%)
11, avenue Myron Herrick
75008 Paris , FR**

72 Inventor/es:

**GERUSZ, VINCENT;
ESCAICH, SONIA;
OXOBY, MAYALEN y
MOREAU, FRANCOIS**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 483 120 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

Nuevas acil-piperazinonas y su uso como productos farmacéuticos

La invención se refiere a nuevos compuestos de acil-piperazinona, a la preparación de los compuestos y a intermedios usados en la misma, al uso de los compuestos como medicamentos antibacterianos y a composiciones farmacéuticas que contienen los compuestos.

Antecedentes de la invención

La invención se refiere, en particular, a nuevos compuestos capaces de inhibir la biosíntesis de ácidos grasos de bacterias y/o parásitos y a su uso como agentes antibacterianos y/o antiparasitarios.

La aparición de patógenos resistentes a los antibióticos se ha convertido en un importante problema sanitario en todo el mundo. De hecho, en la actualidad algunas infecciones están causadas por microorganismos multiresistentes que ya no responden a los tratamientos disponibles. Existe, por lo tanto, la necesidad urgente de nuevos agentes antibacterianos/antiparasitarios con un mecanismo de acción nuevo.

La biosíntesis de ácidos grasos bacterianos (sistema FASII) ha despertado recientemente gran interés para el desarrollo de novedosos agentes antibacterianos/antiparasitarios (Rock et al., *J. Biol. Chem.* 2006, 281, 17541; Wright y Reynolds, *Curr. Opin. Microbiol.* 2007, 10, 447). La organización de componentes en la vía de la biosíntesis de ácidos grasos bacterianos, basada en enzimas discretas, es fundamentalmente diferente del sistema FASI multifuncional presente en mamíferos, abriendo de esta forma buenas perspectivas para la inhibición selectiva. En general, el alto grado de conservación de muchas enzimas del sistema FASII bacteriano debería permitir, asimismo, el desarrollo de agentes antibacterianos/antiparasitarios de más amplio espectro.

Entre todas las enzimas multifuncionales del sistema FASII bacteriano, FabI representa la enoil-ACP reductasa responsable de la última etapa del ciclo de elongación en la biosíntesis de ácidos grasos. Utilizando el cofactor NAD(P)H como fuente de hidruros, FabI reduce el doble enlace en el intermedio *trans*-2-enoil-ACP hasta el correspondiente producto acil-ACP. Se ha demostrado que esta enzima constituye una diana esencial en patógenos importantes tales como *E. coli* (Heath et al., *J. Biol. Chem.* 1995, 270, 26538; Bergler et al., *Eur. J. Biochem.* 1996, 242, 689) y *S. aureus* (Heath et al., *J. Biol. Chem.* 2000, 275, 4654). Sin embargo, se han aislado otras isoformas tales como FabK a partir de *S. pneumoniae* (Heath et al., *Nature* 2000, 406, 145) y FabL a partir de *B. subtilis* (Heath et al., *J. Biol. Chem.* 2000, 275, 40128). Aunque FabK carece de relación estructural y mecánica con FabI (Marrakchi et al., *Biochem J.* 2003, 370, 1055), la similitud de FabI con FabL (*B. subtilis*), InhA (*M. tuberculosis*) y PfENR (*P. falciparum*) ofrece aún oportunidades de obtener interesantes espectros de actividad (Heath et al., *Prog. Lipid Res.* 2001, 40, 467).

En la bibliografía se ha informado ya acerca de varios inhibidores de FabI (Tonge et al., *Acc. Chem. Res.* 2008, 41, 11). Algunos de ellos, tales como las diazaborinas (Baldock et al., *Science* 1996, 274, 2107) e isoniácida en su forma activada (Tonge et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2003, 100, 13881) actúan modificando de forma covalente el cofactor NAD⁺. Sin embargo, existen algunos inconvenientes asociados con estos productos. Las diazaborinas se utilizan solo experimentalmente debido a su toxicidad inherente (Baldock et al., *Biochem. Pharmacol.* 1998, 55, 1541), en tanto que isoniácida es un profármaco limitado al tratamiento de la tuberculosis susceptible. El hecho de que la isoniácida tenga que ser activada por enzimas inducibles por peróxido de hidrógeno (Schultz et al., *J. Am. Chem. Soc.* 1995, 117, 5009) refuerza las posibilidades de resistencia debida a la falta de activación o aumento de la detoxificación (Rosper et al., *Antimicrob. Agents Chemother.* 1993, 37, 2251 y la misma publicación, 1994, 38, 1829).

Otros inhibidores actúan a través de una interacción no covalente con el complejo de enzima-cofactor. Por ejemplo, se ha descubierto que Triclosan, un conservante extensamente usado en productos de consumo con un amplio espectro de actividad antimicrobiana, es un inhibidor reversible de FabI de *E. coli* a la cual se une fuertemente (Ward et al., *Biochemistry* 1999, 38, 12514). Estudios de toxicología por vía intravenosa de este compuesto han indicado una DL₅₀ en la rata de 29 mg/kg, lo que excluye claramente la inyección intravenosa (Lyman et al., *Ind. Med. Surg.* 1969, 38, 42). Se ha informado acerca de derivados basados en el núcleo de éter 2-hidroxidifenílico de Triclosan (Tonge et al., *J. Med. Chem.* 2004, 47, 509, *ACS Chem. Biol.* 2006, 1, 43, y *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2008, 18, 3029; Suroliá et al., *Bioorg. Med. Chem.* 2006, 14, 8086 y la misma publicación, 2008, 16, 5536; Freundlich et al., *J. Biol. Chem.* 2007, 282, 25436; Tipparaju et al., *ChemMedChem*, 2008, 3, 1250-1268), así como otros inhibidores basados en diversas clases de moldes derivados del cribado de alto rendimiento (Seefeld et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2001, 11, 2241 y *J. Med. Chem.* 2003, 43, 1627; Heerding et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2001, 11, 2061; Miller et al., *J. Med. Chem.* 2002, 45, 3246; Payne et al., *Antimicrob. Agents Chemother.* 2002, 46, 3118; Sacchetti et al., *J. Biol. Chem.* 2003, 278, 20851; Moir et al., *Antimicrob. Agents Chemother.* 2004, 48, 1541; Montellano et al., *J. Med. Chem.* 2006, 49, 6308; Kwak et al., *Int. J. Antimicro. Ag.* 2007, 30, 446; Lee et al., *Antimicrob. Agents Chemother.* 2007, 51, 2591; Kitagawa et al., *J. Med. Chem.* 2007, 50, 4710, *Bioorg. Med. Chem.* 2007, 15, 1106, y *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2007, 17, 5982; Takahata et al., *J. Antibiot.* 2007, 60, 123; Kozikowski et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2008, 18, 3565), sin embargo, ninguno de estos inhibidores ha tenido éxito hasta la fecha como medicamento. Es interesante destacar que algunas clases de estos inhibidores muestran actividad tanto sobre FabI

como sobre FabK: predominantemente, sobre FabK en el caso de compuestos dobles basados en derivados de fenilimidazol de 4-piridonas (Kitagawa et al., *J. Med. Chem.* 2007, 50, 4710), predominantemente, sobre FabI para los derivados de indol (Payne et al., *Antimicrob. Agents Chemother.* 2002, 46, 3118; Seefeld et al., *J. Med. Chem.* 2003, 46, 1627). No obstante, la moderada actividad sobre la segunda enzima podría convertirse en un inconveniente para tales compuestos, ya que puede dar lugar a un aumento del mecanismo de resistencia debido a la presión de selección añadida (Tonge et al., *Acc. Chem. Res.* 2008, 41, 11).

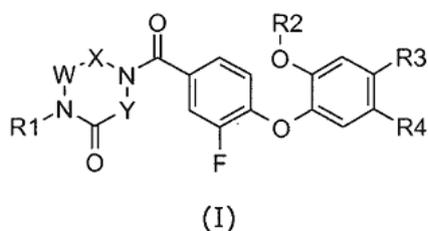
A pesar del atractivo de FabI como diana antibacteriana/antiparasitaria, de momento no se ha aprovechado porque no hay medicamentos en el mercado ni en fases clínicas avanzadas.

El documento WO 2007/135562 (Mutabilis S.A.) describe una serie de derivados de hidroxifenilo que exhiben un espectro de actividad selectivo sobre especies que contienen FabI y dianas relacionadas, en contraste con Triclosan.

Uno de los propósitos de la invención es proporcionar compuestos novedosos que sean activos sobre FabI y dianas relacionadas, con propiedades farmacológicas mejoradas con respecto a los compuestos existentes.

Compendio de la invención

Según un primer aspecto de la invención, se proporciona un compuesto de fórmula (I):



en la que:

- W, X e Y significan independientemente CH₂ o C=O, en donde dicho grupo CH₂ opcionalmente puede estar sustituido independientemente con un flúor o un grupo alquilo-(C₁-C₆), en donde dicho grupo alquilo-(C₁-C₆) puede estar sustituido adicionalmente con uno o dos grupos R₅;
- R₁ significa H, alquilo-(C₁-C₆) sustituido opcionalmente con un grupo CONR_aR_b, alqueno-(C₂-C₆), alquino-(C₂-C₆), fenilo o un grupo -Z-Het, de modo que Z significa una unión o un enlazador seleccionado de CO, alqueno-(C₁-C₆) o -CO-alqueno-(C₁-C₆), y Het significa un heterociclo monocíclico de 4 a 6 miembros, saturado o insaturado, que contiene 1 a 3 heteroátomos seleccionados de N, O y S, en donde dicho fenilo o grupo heterocíclico de R₁ puede estar sustituido opcionalmente con uno o múltiples (por ejemplo, 1, 2 o 3) grupos R₅;
- R₂ significa H, CO₂R_a, COR_a, CONR_aR_b, CH₂OR_c, CH₂NR_aR_b, SO₂NR_aR_b o P(O)OR_aOR_b;
- R₃ significa halógeno, alquilo-(C₁-C₆), alqueno-(C₂-C₆) o alquino-(C₂-C₆);
- R₄ significa H, halógeno, CN o CH₃;
- R_a, R_b y R_c significan, independientemente, H, alquilo-(C₁-C₆), alqueno-(C₂-C₆), alquino-(C₂-C₆), o un grupo NR_aR_b puede formar opcionalmente un heterociclo saturado, de 3 a 7 miembros, que contiene nitrógeno, y que opcionalmente contiene 1 a 3 heteroátomos adicionales seleccionados de N, O o S, en donde dicho heterociclo puede estar sustituido opcionalmente con uno o múltiples grupos alquilo-(C₁-C₆);
- R₅ significa halógeno, CN, alquilo-(C₁-C₆), alqueno-(C₂-C₆), alquino-(C₂-C₆), CO₂R_a, COR_a, CONR_aR_b, OCOR_a, OR_a, NR_aR_b, ON=CR_aR_b, NR_cCOR_a, NR_cCOOR_a, OCONR_aR_b, NR_cCONR_aR_b, NR_cSO₂R_a, S(O)_nR_a, o SO₂NR_aR_b;
- n significa un número entero seleccionado de 0 a 2;

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptables del mismo.

Breve descripción de los dibujos

Figura 1 se refiere a la supervivencia de ratones infectados después de un único tratamiento subcutáneo con el compuesto del Ejemplo 1; y

Figura 2 se refiere a la supervivencia de ratones infectados después de un único tratamiento oral con el compuesto del Ejemplo 1.

Descripción detallada de la invención

5 Los compuestos de la invención tienen buena actividad *in vitro* y/o *in vivo* y, sorprendentemente, exhiben una menor unión al suero que los derivados de hidroxifenilo descritos anteriormente, tal como lo confirman los datos que se presentan en este documento. En especial, los compuestos de la invención tienen la capacidad de interactuar en menor grado con el suero, así como la capacidad de ser activos por administración oral.

10 En el presente contexto, la expresión “sal farmacéuticamente aceptable” pretende indicar sales que no son perjudiciales para el paciente. Estas sales incluyen sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables, sales metálicas farmacéuticamente aceptables y sales de adición alcalina farmacéuticamente aceptables. Las sales de adición de ácido incluyen sales de ácidos inorgánicos, así como de ácidos orgánicos.

Ejemplos representativos de ácidos inorgánicos adecuados incluyen los ácidos clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, fosfórico, sulfúrico, nítrico, y similares.

15 Ejemplos representativos de ácidos orgánicos adecuados incluyen los ácidos fórmico, acético, tricloroacético, trifluoroacético, propiónico, benzoico, cinámico, cítrico, fumárico, glicólico, láctico, maleico, málico, malónico, mandélico, oxálico, pícrico, pirúvico, salicílico, succínico, metanosulfónico, etanosulfónico, tartárico, ascórbico, pamoico, bismetilensalicílico, etanodisulfónico, glucónico, citracónico, aspártico, esteárico, palmítico, EDTA, glicólico, p-aminobenzoico, glutámico, bencenosulfónico, p-toluenosulfónico, y similares. Otros ejemplos de sales de adición de ácidos inorgánicos u orgánicos farmacéuticamente aceptables incluyen las sales farmacéuticamente aceptables enumeradas en *J. Pharm. Sci.* 1977, 66, 2. Ejemplos de sales metálicas incluyen sales de litio, sodio, potasio, magnesio, y similares. Ejemplos de sales de amonio y alquilamonio incluyen sales de amonio, metilamonio, dimetilamonio, trimetilamonio, etilamonio, hidroxietilamonio, dietilamonio, butilamonio, tetrametilamonio, y similares.

25 Ejemplos representativos de sales alcalinas incluyen, por ejemplo, sales de sodio, potasio, litio, calcio, magnesio o amonio, o bases orgánicas tales como, por ejemplo, metilamina, etilamina, propilamina, trimetilamina, dietilamina, trietilamina, N,N-dimetiletanolamina, tris(hidroximetil)aminometano, etanolamina, piridina, piperidina, piperazina, picolina, dicitclohexilamina, morfolina, bencilamina, procaína, lisina, arginina, histidina, N-metilglucamina.

30 Según la invención, los compuestos de fórmula (I) pueden estar en formas racémicas, así como en forma de enantiómeros puros o una mezcla no racémica (escalémica) de enantiómeros, que incluyen los casos en que los compuestos de fórmula (I) tienen más de un centro estereogénico. En caso de que los compuestos de fórmula (I) tengan dobles enlaces insaturados de carbono-carbono, pertenecen a la invención tanto los isómeros *cis* (Z) como *trans* (E) y sus mezclas.

Las referencias que se hacen en este documento a “halógeno” significan un átomo de flúor, cloro, bromo o yodo.

35 Las referencias en este documento a “alquilo-(C₁-C₆)” significan cualquier grupo hidrocarburo lineal, ramificado, con 1 a 6 átomos de carbono, o grupos hidrocarburo cíclicos con 3 a 6 átomos de carbono. Ejemplos representativos de estos grupos alquilo incluyen metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo y t-butilo, n-pentilo, isopentilo, neopentilo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo. Las referencias a “halo-alquilo-(C₁-C₆)” significan un grupo alquilo-(C₁-C₆) sustituido con uno o múltiples átomos de halógeno tal como se ha definido en este documento.

40 Las referencias en este documento a “alqueno-(C₂-C₆)” significan cualquier grupo hidrocarburo lineal, ramificado, con 2 a 6 átomos de carbono, o grupos hidrocarburo cíclicos con 3 a 6 átomos de carbono, que tiene al menos un enlace doble. Ejemplos representativos de estos grupos alqueno incluyen etenilo, propenilo, butenilo, y ciclohexenilo. Las referencias a “halo-alqueno-(C₂-C₆)” significan un grupo alqueno-(C₂-C₆) sustituido con uno o múltiples átomos de halógeno tal como se ha definido en este documento.

45 Las referencias en este documento a “alquino-(C₂-C₆)” significan cualquier grupo hidrocarburo lineal, ramificado, con 2 a 6 átomos de carbono, que tiene al menos un enlace triple. Ejemplos representativos de estos grupos alquino incluyen etinilo, propargilo y butinilo. Las referencias a “halo-alquino-(C₂-C₆)” significan un grupo alquino-(C₂-C₆) sustituido con uno o múltiples átomos de halógeno tal como se ha definido en este documento.

50 Ejemplos ilustrativos de “Het” en la definición de R₁ incluyen los seleccionados del grupo que comprende furilo, tetrahydrofurilo, tienilo, tetrahydrotienilo, pirrolilo, pirrolidinilo, oxazolilo, oxazolinilo, oxazolidinilo, isoxazolilo, tiazolilo, tiazolinilo, tiazolidinilo, isotiazolilo, imidazolilo, pirazolilo, indazolilo, tetrahydroindazolilo, triazolilo, oxadiazolilo, tiadiazolilo, tetrazolilo, piranilo, tetrahydropiranilo, dioxanilo, dioxolanilo, piridinilo, piridonilo, piperidinilo, tetrahydropiridinilo, quinolinilo, isoquinolinilo, tetra- y perhidro-quinolinilo e isoquinolinilo, pirimidinilo, quinazolinilo, pirazinilo, pirazidinilo, piperazinilo, quinoxalinilo, piridazinilo, triazinilo, oxetanilo, azetidino y morfolinilo.

Ejemplos ilustrativos de heterociclos saturados que contienen nitrógeno en la definición de NR_aR_b incluyen los seleccionados del grupo que comprende pirrolidinilo, oxazolidinilo, tiazolidinilo, piperidinilo, piperazinilo y morfolinilo.

En una realización, W, X e Y representan CH₂ sustituido opcionalmente de forma independiente con un grupo alquilo-(C₁-C₆), en donde dicho grupo alquilo-(C₁-C₆) puede estar sustituido adicionalmente con uno o dos grupos R5.

5 Cuando W, X o Y representan CH₂ sustituido con un grupo alquilo-(C₁-C₆), en donde dicho grupo alquilo-(C₁-C₆) está sustituido opcionalmente con uno o dos grupos R5, ejemplos representativos de tales grupos W, X o Y incluyen -CH-CH₃, -CH-CH₂-OH, -CH-CH₂-CONH₂, -CH-CH₂-CONMe₂ y -CH-CH₂-CO-(4-metilpiperazin-1-ilo). En una realización, W, X e Y significan, cada uno, CH₂ opcionalmente sustituido de forma independiente con un grupo alquilo-(C₁-C₆) no sustituido. En una realización adicional, W y X significan CH₂ e Y significa -CH-CH₃. En una realización adicional, W, X e Y significan CH₂.

En una realización alternativa, W significa C=O y X e Y significan CH₂.

10 Cuando R1 significa un grupo -Z-Het, ejemplos representativos de este grupo -Z-Het incluyen -CO-CH₂-morfolinilo, -CH₂-morfolinilo y -(CH₂)₂-morfolinilo. En una realización, R1 significa -CH₂-morfolinilo.

Cuando R1 significa alquilo-(C₁-C₆) sustituido opcionalmente con un grupo CONR_aR_b, un ejemplo representativo de este grupo R1 es -CH₂-CONH₂.

15 En una realización, R1 significa H, alquilo-(C₁-C₆) (es decir, metilo), alquilo-(C₁-C₆) sustituido opcionalmente con un grupo CONR_aR_b (es decir, -CH₂-CONH₂), o un grupo -Z-Het (es decir, -CH₂-morfolinilo).

20 En una realización adicional, R1 significa H, alquilo-(C₁-C₆), alqueno-(C₂-C₆), alquino-(C₂-C₆), fenilo o un heterociclo monocíclico de 4 a 6 miembros, saturado o insaturado, que contiene 1 a 3 heteroátomos seleccionados de N, O y S, en donde dicho grupo fenilo o heterociclo de R1 puede estar opcionalmente sustituido con uno o múltiples (por ejemplo, 1, 2 o 3) grupos R5. En una realización adicional, R1 significa H, alquilo-(C₁-C₆), alqueno-(C₂-C₆) o alquino-(C₂-C₆). En todavía otra realización, R1 significa H o alquilo-(C₁-C₆). En todavía otra realización, R1 significa H, o alquilo-(C₁-C₆) (por ejemplo, metilo). En todavía otra realización, R1 significa H. En todavía otra realización, R1 significa un grupo -Z-Het tal como -CO-CH₂-morfolinilo, -CH₂-morfolinilo o -(CH₂)₂-morfolinilo, de manera particular R1 significa -CH₂-morfolinilo.

25 En una realización, R2 significa H, CO₂R_a, COR_a, CONR_aR_b, CH₂OR_c o CH₂NR_aR_b. En una realización adicional, R2 significa H, CO₂R_a, COR_a o CONR_aR_b. En todavía otra realización, R2 significa H, CO₂R_a o COR_a. En todavía otra realización, R2 significa H o CO₂R_a. En todavía otra realización, R2 significa H o -CO₂-etilo. En todavía otra realización, R2 significa H.

En una realización, R3 significa halógeno o alquilo-(C₁-C₆). En una realización adicional, R3 significa halógeno tal como Br o Cl, o alquilo-(C₁-C₆) tal como metilo, etilo o propilo. En todavía otra realización, R3 significa etilo.

30 En una realización, R4 significa H, halógeno tal como F o Cl, o CH₃. En una realización adicional, R4 significa H o halógeno tal como F o Cl. En todavía otra realización, R4 significa H o F. En todavía otra realización, R4 significa F. En una realización alternativa, R4 significa H.

En una realización, R5 significa independientemente halógeno (por ejemplo, F), alquilo-(C₁-C₆), alqueno-(C₂-C₆), alquino-(C₂-C₆), COR_a, CONR_aR_b, OR_a, NR_aR_b, NR_cCOR_a, S(O)_nR_a o SO₂NR_aR_b.

35 En una realización, R_a y R_b significan independientemente H, alquilo-(C₁-C₆), alqueno-(C₂-C₆) o alquino-(C₂-C₆). En una realización adicional, R_a y R_b significan independientemente H o alquilo-(C₁-C₆). En todavía otra realización, R_a y R_b significan alquilo-(C₁-C₆) tal como metilo, etilo o propilo. En todavía otra realización, R_a significa etilo.

40 En una realización alternativa, NR_aR_b forma un heterociclo de 3 a 7 miembros que contiene nitrógeno, que opcionalmente contiene 1 a 3 heteroátomos adicionales seleccionados de N, O o S tal como piperazinilo o morfolinilo, en donde dicho heterociclo está sustituido opcionalmente con uno o múltiples grupos alquilo-(C₁-C₆). En una realización adicional, NR_aR_b forma un anillo de piperazina sustituido opcionalmente con uno o múltiples grupos alquilo-(C₁-C₆) (tales como 4-metilpiperazin-1-ilo).

En una realización, R_c significa H o alquilo-(C₁-C₆). En una realización adicional, R_c significa H o metilo. En todavía otra realización, R_c significa H.

45 En una realización, n significa 1 o 2. En una realización adicional, n significa 2.

En una realización, el compuesto de fórmula (I) se selecciona de:

4-[4-(4-etil-5-fluoro-2-hidroxifenoxi)-3-fluorobenzoil]-piperazin-2-ona (E1);

4-[4-(4-etil-2-hidroxifenoxi)-3-fluorobenzoil]-piperazin-2-ona (E2), y

Carbonato de 4-fluoro-2-[2-fluoro-4-[(3-oxopiperazin-1-il)-carbonilo]-fenoxi]-5-etilfenil etilo (E3);

50 o una sal o solvato farmacéuticamente aceptables de los mismos.

En todavía otra realización, el compuesto de fórmula (I) se selecciona de:

4-[4-(4-etil-5-fluoro-2-hidroxifenoxi)-3-fluorobenzoil]-piperazina-2,6-diona (E4);

4-[4-(4-etil-5-fluoro-2-hidroxifenoxi)-3-fluorobenzoil]-1-metilpiperazin-2-ona (E5);

2-[4-(4-(4-etil-5-fluoro-2-hidroxifenoxi)-3-fluorobenzoil)-2-oxopiperazin-1-il]-acetamida (E6);

5 4-[4-(4-etil-5-fluoro-2-hidroxifenoxi)-3-fluorobenzoil]-1-(morfolinometil)-piperazin-2-ona (E7);

4-[4-(4-etil-5-fluoro-2-hidroxifenoxi)-3-fluorobenzoil]-3-metilpiperazin-2-ona (E8);

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptables de los mismos.

En todavía otra realización, el compuesto de fórmula (I) es

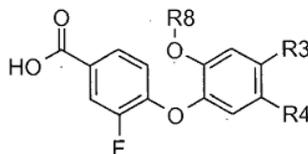
10 4-[4-(4-etil-5-fluoro-2-hidroxifenoxi)-3-fluorobenzoil]-piperazin-2-ona (E1), o una sal o solvato farmacéuticamente aceptables del mismo.

En aún una realización adicional más, el compuesto de fórmula (I) es 4-[4-(4-etil-5-fluoro-2-hidroxifenoxi)-3-fluorobenzoil]-1-(morfolinometil)-piperazin-2-ona (E7).

15 Los compuestos de fórmula (I) y sus sales se pueden preparar mediante procedimientos conocidos por el experto en química por ser aplicables para preparar compuestos químicamente relacionados. Estos procedimientos utilizan materiales de partida o intermedios conocidos, que se pueden obtener por procedimientos convencionales de química orgánica. Los procedimientos siguientes proporcionan una variedad de vías no limitantes para la producción de los compuestos de fórmula (I) y sus intermedios usados en la misma. Estos procedimientos constituyen aspectos adicionales de la invención.

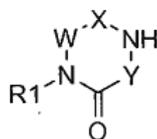
20 Asimismo, se describe un procedimiento para preparar un compuesto de fórmula (I) tal como se ha definido anteriormente, que comprende:

a) hacer reaccionar un derivado de ácido carboxílico de fórmula (II):



(II)

en la que R3 y R4 son como se han definido anteriormente para los compuestos de fórmula (I), y R8 significa un grupo protector adecuado tal como un grupo alquilo-(C₁-C₆), con un compuesto de fórmula (III):



(III)

25

en la que W, X, Y y R1 son como se han definido anteriormente para los compuestos de fórmula (I), seguido por:

b) desproteger un derivado protegido del compuesto (I); y, opcionalmente, seguido a continuación por:

c) interconversión de un compuesto de fórmula (I) en otro compuesto de fórmula (I).

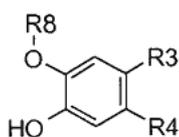
30 El procedimiento (a) comprende típicamente el uso de condiciones adecuadas de acoplamiento, conocidas por el experto en la técnica; un ejemplo no limitante comprende el uso de EDAC o (COCl)₂, una base tal como TEA o DIPEA o DMAP, el uso opcional de HOBt, y un disolvente tal como DMF o DCM, para dar los derivados protegidos de fórmula (I).

35 El procedimiento (b) comprende típicamente cualquier ácido de Lewis apropiado, por ejemplo BBr₃ o BCl₃, bajo condiciones apropiadas para la obtención de los compuestos de fórmula (I) deseados, en los que R2 significa un átomo de hidrógeno.

- 5 El procedimiento (c) comprende típicamente procedimientos de interconversión conocidos por el experto en la técnica. Por ejemplo, los compuestos de fórmula (I) en los que R2 significa hidrógeno, se pueden convertir por métodos conocidos por el experto en la técnica en compuestos de fórmula (I) en los que R2 significa CO₂R_a, COR_a, CONR_aR_b, CH₂OR_c, CH₂NR_aR_b, SO₂NR_aR_b, P(O)OR_aOR_b, en donde R_a, R_b y R_c son como se han definido anteriormente para los compuestos de fórmula (I). Además, se pueden convertir compuestos de fórmula (I) en los que R1 significa hidrógeno en compuestos de fórmula (I) en los que R1 significa -Z-Het (en particular, en donde Z significa -CH₂-), haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (I) en donde R1 significa hidrógeno con Het y formaldehído en presencia de un disolvente adecuado tal como metanol.

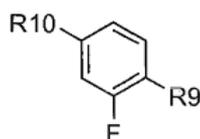
Los compuestos de fórmula (II) se pueden preparar según el procedimiento siguiente:

- 10 i) hacer reaccionar un derivado de fenol de fórmula (IV)



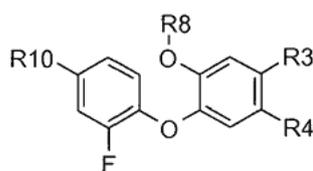
(IV)

en la que R3, R4 y R8 son como se han definido anteriormente para los compuestos de fórmula (II), con un compuesto de fórmula (V):



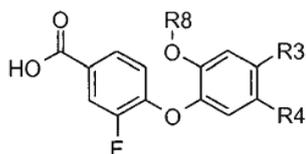
(V)

- 15 en la que R10 es un sustituyente de nitrilo, de éster o amida y R9 es un grupo saliente adecuado tal como un átomo de halógeno o un grupo nitro, capaz de reaccionar con el grupo OH de los compuestos de fórmula (IV) bajo condiciones básicas conocidas por el experto en la técnica, para dar un compuesto de fórmula (VI):



(VI)

- 20 ii) hidrolizar el resto R10 de un compuesto de fórmula (VI) bajo condiciones ácidas o básicas acuosas adecuadas, por ejemplo HCl 1N o NaOH 6N, respectivamente, para dar el compuesto de fórmula (II) deseado:



(II)

- 25 Si es apropiado, las reacciones descritas previamente en los procedimientos (a), (b), (c), (i) o (ii) están seguidas o precedidas por una o múltiples reacciones, que conoce el experto en la técnica, y se llevan a cabo en un orden adecuado para conseguir las sustituciones requeridas en W, X, Y, R1, R2, R3 y R4 anteriormente definidas para dar otros compuestos de fórmula (I). Ejemplos no limitantes de tales reacciones, cuyas condiciones se pueden encontrar en la bibliografía, incluyen:

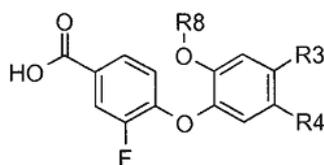
protección de funciones reactivas,

desprotección de funciones reactivas,

- halogenación,
 deshalogenación,
 desalquilación,
 alquilación de amina, anilina, alcohol y fenol,
- 5 reacción de Mitsunobu sobre grupos hidroxilo,
 reacciones de cicloadición sobre grupos apropiados,
 reducción de nitro, ésteres, ciano, aldehídos,
 reacciones de acoplamiento catalizadas por metales de transición,
 acilación,
- 10 sulfonilación/introducción de grupos sulfonilo,
 saponificación/hidrólisis de grupos éster,
 amidificación o transesterificación de grupos éster,
 esterificación o amidificación de grupos carboxílicos,
 intercambio de halógenos,
- 15 sustitución nucleofílica con amina, tiol o alcohol,
 aminación reductora,
 formación de oximas en grupos carbonilo e hidroxilamina,
 S-oxidación,
 N-oxidación,
- 20 salificación.

Los compuestos de fórmula (III), (IV) y (V) son conocidos o se pueden preparar según procedimientos conocidos tales como los que se describen en este documento.

- Se verá que ciertos intermedios usados en la síntesis del compuesto de fórmula (I) pueden representar aspectos adicionales de la invención. Por ejemplo, según un aspecto adicional de la invención, se ofrece un compuesto de fórmula (II):
- 25



(II)

en la que R3 y R4 son como se han definido anteriormente y R8 significa un grupo protector;
 o una sal o solvato del mismo.

- Tal como se ilustra con los ejemplos que se proporcionan más adelante, los compuestos de fórmula (I) descritos anteriormente en este documento tienen valiosas propiedades biológicas. Son particularmente útiles como agentes antibacterianos, con un espectro selectivo de actividad *in vitro* e *in vivo* contra cepas bacterianas, basado en FabI y dianas relacionadas. Estas cepas comprenden *Staphylococcus aureus*, incluidas las cepas multirresistentes (tales como las cepas de *Staphylococcus aureus* susceptible a meticilina (MSSA), *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA), *Staphylococcus aureus* con resistencia intermedia a vancomicina (VISA) y *Staphylococcus aureus* resistente a vancomicina (VRSA)), *Acinetobacter baumannii*, *Bacillus anthracis*, *Chlamydomphila pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Helicobacter pylori*, *Klebsiella pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, y también bacterias tales como *Mycobacterium tuberculosis* portadora de enzimas FabI homólogas tales como InhA, u otros microorganismos tales como *Plasmodium falciparum*. En una realización, el compuesto de la invención se usa
- 30
- 35

en el tratamiento de infecciones bacterianas causadas por *Staphylococcus aureus*, incluidas cepas multirresistentes tales como cepas de *Staphylococcus aureus* susceptible a meticilina (MSSA), *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA), *Staphylococcus aureus* con resistencia intermedia a vancomicina (VISA) y *Staphylococcus aureus* resistente a vancomicina (VRSA).

- 5 Por lo tanto, los compuestos de fórmula (I) son especialmente adecuados como principios activos de un medicamento.

Según un aspecto adicional de la invención, se ofrece un compuesto de fórmula (I) como el que se ha definido anteriormente en este documento para uso en terapia.

- 10 Según un aspecto adicional de la invención, se ofrece una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) tal como el que se ha definido anteriormente en este documento, en asociación con un excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptables.

Dichas composiciones farmacéuticas están convenientemente formuladas para ser administradas por vía oral, tópica, parenteral, incluidas las vías inyectables tales como administración intravenosa, con dosis individuales apropiadas para el paciente que se debe tratar.

- 15 Las composiciones según la invención pueden ser sólidas, líquidas o estar en forma de gel/crema, y pueden estar en las formas farmacéuticas habitualmente usadas en medicina humana tales como, por ejemplo, comprimidos simples o recubiertos con azúcar, cápsulas de gelatina, gránulos, supositorios, preparaciones inyectables, ungüentos, cremas, geles; se preparan según métodos convencionales. El o los ingredientes activos se pueden incorporar usando excipientes que se utilizan normalmente en estas composiciones farmacéuticas tales como talco, goma arábica, lactosa, almidón, estearato de magnesio, vehículos acuosos o no acuosos, sustancias grasas de origen animal o vegetal, derivados de la parafina, glicoles, diversos agentes humectantes, dispersantes o emulgentes, conservantes. Estas composiciones también pueden estar presentes en forma de polvo destinado a su disolución extemporánea en un vehículo apropiado, por ejemplo, agua estéril libre de pirógenos.
- 20

- 25 La dosis administrada varía en función de la enfermedad tratada, del paciente en cuestión, de la vía de administración y del producto previsto. Puede estar comprendida, por ejemplo, entre 0,01 g y 10 g al día, por vía oral o por vía intramuscular o intravenosa en el ser humano.

- 30 Dichas composiciones son particularmente útiles para tratar infecciones humanas o animales causadas por patógenos microbianos tales como *Staphylococcus aureus*, incluidas las cepas multirresistentes, *Acinetobacter baumannii*, *Bacillus anthracis*, *Chlamydomphila pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Helicobacter pylori*, *Klebsiella pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *S. intermedius*, *P. multocida*, *B. bronchiseptica*, *M. haemolytica* y *A. pleuropneumoniae*, así como también bacterias tales como *Mycobacterium tuberculosis* u otros microorganismos tales como *Plasmodium falciparum*.

- 35 Estas composiciones también pueden ser útiles en multiterapia, en combinación con otros medicamentos, por ejemplo, con antibióticos. Se verá que dicha multiterapia puede comprender típicamente una composición que incluye el compuesto de fórmula (I), comprendiendo adicionalmente uno o múltiples medicamentos más tales como antibióticos, o la co-administración (es decir, administración secuencial o simultánea).

La invención se refiere también a un compuesto de fórmula (I) tal como se ha definido anteriormente en este documento para usar en el tratamiento de infecciones microbianas.

- 40 Asimismo, se describe el uso de un compuesto de fórmula (I) tal como se ha definido anteriormente en este documento en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de infecciones bacterianas.

La invención se refiere también a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) tal como se ha definido anteriormente en este documento para usar en el tratamiento de infecciones microbianas.

Ejemplos

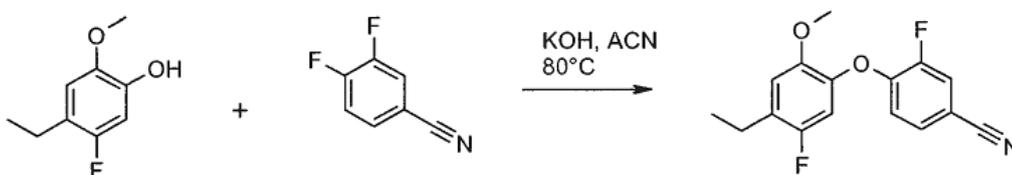
- 45 Los espectros de resonancia magnética nuclear de protón (RMN ¹H) se registraron en un instrumento Brüker a 400 MHz y los desplazamientos químicos se expresan en partes por millón corriente abajo con respecto al estándar interno de tetrametilsilano (TMS). Las abreviaturas de los datos de RMN son las siguientes: s = singlete, d = doblete, t = triplete, q = cuatriplete, m = multiplete, dd = doblete de dobletes, dt = doblete de tripletes, br = ancho. J indica la constante de acoplamiento de RMN medida en hertzios. CDCl₃ es deuterio-cloroformo, DMSO-d₆ es hexadeuterio-dimetilsulfóxido y CD₃OD es tetradeuterio-metanol. Los espectros de masa se obtuvieron usando técnicas de ionización por electrospray (ESI) en un LCMS Serie 1100 de Agilent. Se usaron placas en capa fina Analtech Silica Gel GF y E. Merck Silica Gel 60 F-254 para cromatografía en capa fina. La cromatografía instantánea se llevó a cabo en un cartucho Flashsmart Pack de sílice irregular de 40-60 μm o sílice esférica 20-40 μm. La cromatografía en capa fina preparativa se llevó a cabo en Gel de Sílice Analtech GF 1000 μm 20x20 cm.
- 50

En este documento se indica el significado de algunas abreviaturas. ESI hace referencia a ionización por electrospray, HPLC se refiere a cromatografía líquida de alta presión, LCMS se refiere a cromatografía líquida acoplada con espectrómetro de masas, M, en el contexto de la espectrometría de masa, hace referencia al pico molecular, MS se refiere a espectrómetro de masa, RMN se refiere a resonancia magnética nuclear, pH se refiere al potencial de hidrógeno, TEA significa trietilamina, DIPEA se refiere a *N,N*-diisopropiletilamina, HOBT se refiere a 1-hidroxibenzotriazol, DCM significa diclorometano, EtOAc se refiere a acetato etílico, DMF hace referencia a *N,N*-dimetilformamida, EDAC se refiere a hidrocloreuro de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N'*-etilcarbodiimida, DMAP o 4-DMAP se refiere a 4-(dimetilamino)piridina, TLC significa cromatografía en capa fina.

A menos que se indique lo contrario, los materiales de partida están disponibles en el comercio.

10 Intermedio 1

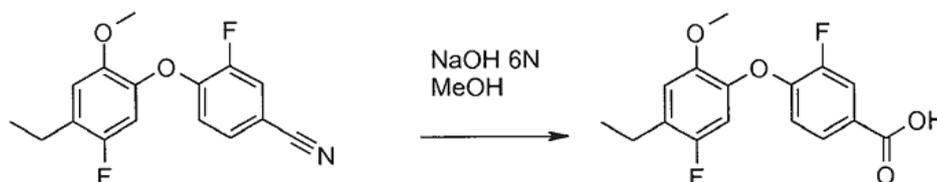
4-(4-etil-5-fluoro-2-metoxifenoxi)-3-fluorobenzonitrilo (D1)



Durante la noche, se agitó a 80°C una suspensión de 4-etil-5-fluoro-2-metoxifenol (1 g, 5,87 mmol), 3,4-difluorobenzonitrilo (899 mg, 6,46 mmol) e hidróxido de potasio (395 mg, 7,04 mmol) en acetonitrilo anhidro (35 ml), bajo argón. La mezcla de reacción se concentró al vacío y se diluyó con acetato etílico y una solución acuosa saturada de cloruro de amonio. Se separó la capa acuosa y se extrajo dos veces con acetato etílico. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron al vacío para dar un aceite marrón (1,6 g). El producto crudo se purificó por cromatografía instantánea sobre gel de sílice, usando ciclohexano/acetato etílico (9:1) como eluyente. Se obtuvo el producto del título en forma de aceite incoloro que cristalizó lentamente (1,42 g, 84%).

Intermedio 2

Ácido 4-(4-etil-5-fluoro-2-metoxifenoxi)-3-fluorobenzoico (D2)

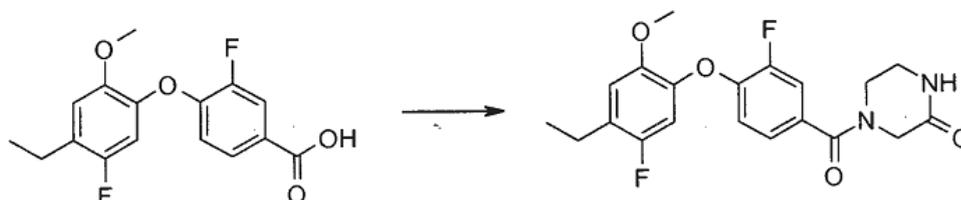


A una solución de 4-(4-etil-5-fluoro-2-metoxifenoxi)-3-fluorobenzonitrilo (420 mg, 1,45 mmol; que se puede preparar de la forma descrita en D1) en metanol (15 ml) se agregó una solución acuosa de NaOH 6N (7,3 ml, 43,5 mmol). La mezcla de reacción se calentó a reflujo (70°C) y se agitó durante la noche. Después de enfriar con un baño de hielo, se agregó lentamente HCl concentrado (3,7 ml). La mezcla se diluyó con acetato etílico y agua. La capa acuosa se separó y se extrajo dos veces con acetato etílico. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron al vacío para dar el producto del título en forma de un sólido de color beis (447 mg, cuantitativo).

LCMS (ESI-) m/z 307 (M-H)⁻.

Intermedio 3

4-[4-(4-etil-5-fluoro-2-metoxifenoxi)-3-fluorobenzoil]-piperazin-2-ona (D3)

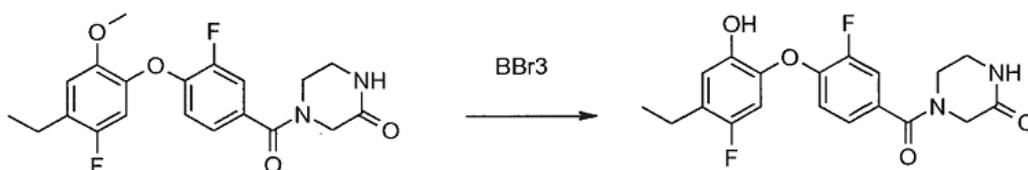


A una solución de ácido 4-(4-etil-5-fluoro-2-metoxifenoxi)-3-fluorobenzoico (55 mg, 0,18 mmol; que se puede preparar según se ha descrito en D2) en diclorometano (1,8 ml) bajo argón, enfriada a 0°C, se agregaron cloruro de oxalilo (2 M en diclorometano, 135 μ l, 0,27 mmol) y una gota de *N,N*-dimetilformamida. La mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente durante 2 horas y se agregaron entonces piperazin-2-ona (20 mg, 0,20 mmol) seguida de diisopropiletilamina (93 μ l, 0,53 mmol). La mezcla de reacción se enfrió a 0°C y se agregó una solución de HCl 1N. Después de agitar durante unos pocos minutos, se agregó diclorometano y la capa acuosa (pH 7) se extrajo dos veces con diclorometano. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía preparativa en capa fina sobre gel de sílice, usando diclorometano/ metanol (95:5) como eluyente. El producto del título se obtuvo como un aceite amarillo (38 mg, 55%).

10 LCMS (ESI+) m/z 391 (M+H)⁺, 413 (M+Na)⁺.

Ejemplo 1

4-[4-(4-etil-5-fluoro-2-hidroxifenoxi)-3-fluorobenzoil]-piperazin-2-ona (E1)



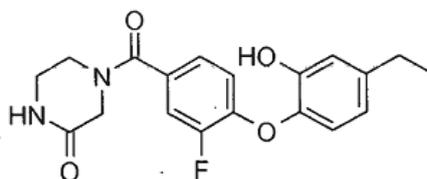
15 A una solución de 4-[4-(4-etil-5-fluoro-2-metoxifenoxi)-3-fluorobenzoil]-piperazin-2-ona (38 mg, 0,10 mmol); que se puede preparar según se ha descrito en D3) en diclorometano (300 μ l) bajo argón y enfriada a -30°C, se agregó gota a gota tribromuro bórico (1 M en diclorometano, 273 μ l, 0,27 mmol). La mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente y después de agitar durante 20 h, se diluyó con diclorometano. La mezcla se extinguió cuidadosamente a 0°C con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio y, a continuación, se diluyó con acetato etílico. La capa acuosa se extrajo dos veces con acetato etílico y las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía preparativa en capa fina sobre gel de sílice, usando diclorometano/metanol (95:5) como eluyente. El producto del título se obtuvo como un sólido blanco (32 mg, 86%).

20 LCMS (ESI-) m/z 355 (M-HF-H)⁻, 375 (M-H)⁻.

25 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm): 9,60 (s, 1H), 8,12 (s, 1H), 7,46 (dd, J = 2,0, 11,2 Hz, 1H), 7,20 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 6,97 (d, J = 10,2 Hz, 1H), 6,87 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 6,79 (t, J = 8,4 Hz, 1H), 4,01 (s ancho, 2H), 3,58 (s ancho, 2H), 3,23 (s, 2H), 2,56 (q, J = 7,2 Hz, 2H), 1,16 (t, J = 7,5 Hz, 3H).

Ejemplo 2

4-[4-(4-etil-2-hidroxifenoxi)-3-fluorobenzoil]-piperazin-2-ona (E2)



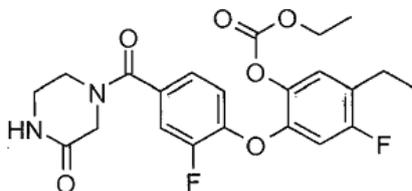
30 El compuesto del Ejemplo 2 (E2) se preparó de manera análoga a la descrita en el Ejemplo 1 (E1) para obtener el compuesto del título en forma de sólido blanco, con un rendimiento global de 50%.

LCMS (ESI+) m/z 359 (M+H)⁺.

35 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm): 9,61 (s, 1H), 8,12 (s, 1H), 7,44 (dd, J = 1,9, 11,3 Hz, 1H), 7,18 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,96 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,83 (d, J = 1,9 Hz, 1H), 6,70 (m, 2H), 4,04-3,96 (m, 2H), 3,70-3,50 (m, 2H), 3,26-3,20 (m, 2H), 2,54 (q, J = 7,6 Hz, 2H), 1,17 (t, J = 7,6 Hz, 3H).

Ejemplo 3

Carbonato de 4-fluoro-2-{2-fluoro-4-[(3-oxopiperazin-1-il)-carbonil]-fenoxi}-5-etilfenil-etilo (E3).



- 5 A una solución de 4-[4-(4-etil-5-fluoro-2-hidroxifenoxi)-3-fluorobenzoil]-piperazin-2-ona (20 mg, 0,053 mmol; que se puede preparar según se ha descrito en D3) en acetonitrilo (550 μ l) se agregó KOH (3 mg, 0,053 mmol), seguido de etilclorocarbonato (6 μ l, 0,058 mmol). Después de 1 hora a temperatura ambiente, la mezcla se extinguió con agua. La capa acuosa se extrajo dos veces con acetato etílico. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía preparativa en capa fina sobre gel de sílice, usando diclorometano/metanol (95:5) como eluyente. El producto del título se obtuvo como un sólido blanco (11 mg, 46%).

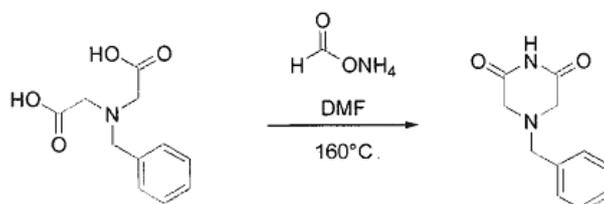
- 10 LCMS (ESI+) m/z 449 (M+H)⁺.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm): 8,13 (m, 1H), 7,52 (dd, J = 1,9, 11,0 Hz, 1H), 7,40 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 7,26 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,15-7,04 (m, 2H), 4,19 (q, J = 7,1 Hz, 2H), 4,08-3,95 (m, 2H), 3,91-3,46 (m, 2H), 3,26-3,21 (m, 2H), 2,50 (q, J = 7,3 Hz, 2H), 1,20 (m, 6H).

Ejemplo 4

- 15 4-[4-(4-etil-5-fluoro-2-hidroxifenoxi)-3-fluorobenzoil]-piperazina-2,6-diona (E4)

Etapa 1: 4-bencilpiperazina-2,6-diona

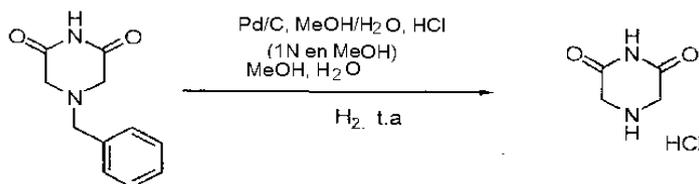


- 20 Una suspensión de ácido 2,2'-(bencilazanodiiil)-diacético (5,0 g, 22,4 mmol) y formiato de amonio (4,2 g, 67,2 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (75 ml) se agitó a reflujo (160°C) durante 2 días. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó mediante la adición sucesiva de acetato etílico (150 ml) y una solución saturada de hidrógeno carbonato sódico (150 ml). La capa acuosa se extrajo con acetato etílico (2 x 150 ml) y las fases orgánicas combinadas se lavaron con una solución saturada de cloruro sódico (3 x 100 ml), se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron al vacío para dar el compuesto del título como un líquido amarillo (3,96 g, 87%).

- 25 LCMS (ESI-APCI) m/z 205 (M+H)⁺.

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm): 8,49 (s ancho, NH), 7,37-7,27 (m, 5H), 3,67 (s, 2H), 3,37 (s, 4H).

Etapa 2: Hidrocloruro de piperazina-2,6-diona



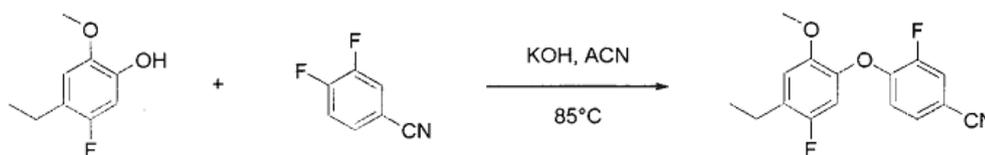
- 30 A una solución de 4-bencilpiperazina-2,6-diona (que se puede preparar según la parte experimental descrita en el Ejemplo 1, etapa 1; 2,0 g, 9,8 mmol) en una mezcla de metanol/H₂O (65 ml / 28 ml) se agregaron una solución de HCl 1N en metanol (23,8 ml) y Pd/C (10% húmedo, 0,2% en peso, 400 mg). La mezcla de reacción se desgasificó 3 veces con hidrógeno/vacío antes de agitarla durante la noche bajo hidrógeno (P = 1 atm.). A continuación, la mezcla

de reacción se filtró sobre Clarcel® y se lavó con metanol. Por último, el filtrado se concentró hasta sequedad y el residuo precipitó en una mezcla de metanol y éter. El producto del título se obtuvo en forma de sólido beis (418 mg, 28%).

LCMS (ESI-APCI) m/z 115 (M+H)⁺.

- 5 RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz): δ (ppm): 11,80 (s, 1H), 10,56 (s ancho, 2H), 3,94 (s, 4H).

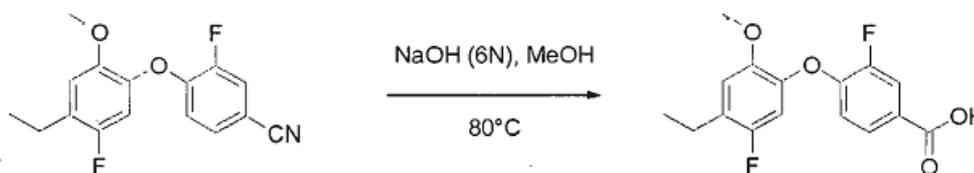
Etapa 3: 4-(4-etil-5-fluoro-2-metoxifenoxi)-3-fluorobenzonitrilo



- 10 A una solución de 4-etil-5-fluoro-2-metoxifenol (6,1 g, 35,94 mmol) y 3,4-difluorobenzonitrilo (5,0 g, 35,94 mmol) en acetonitrilo anhidro (80 ml) se agregó hidróxido de potasio (2,4 g, 43,13 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 85°C durante la noche y, entonces, se concentró al vacío. El residuo se solubilizó en acetato etílico (300 ml) y se diluyó con la adición de una solución saturada de cloruro de amonio (200 ml). Se separó la capa acuosa y se extrajo con acetato etílico (2 x 200 ml). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron hasta sequedad para dar un sólido de color marrón. Después de triturar en pentano, se obtuvo el producto del título como un sólido marrón (8,10 g, 77%).

- 15 RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm): 7,45 (dd, J = 2,0, 10,4 Hz, 1H), 7,32 (td, J = 1,6, 3,2, 8,8 Hz, 1H), 6,85-6,77 (m, 3H), 3,77 (s, 3H), 2,69 (q, J = 7,6 Hz, 2H), 1,27 (t, J = 7,6 Hz, 3H).

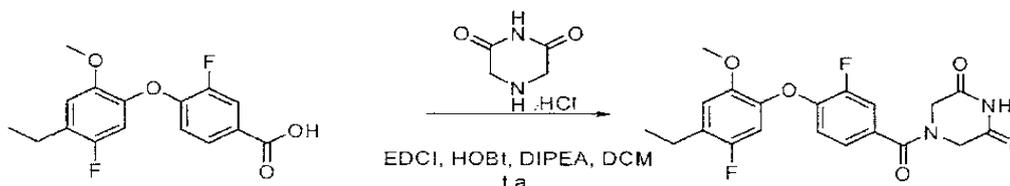
Etapa 4: Ácido 4-(4-etil-5-fluoro-2-metoxifenoxi)-3-fluorobenzoico



- 20 A una solución de 4-(4-etil-5-fluoro-2-metoxifenoxi)-3-fluorobenzonitrilo (que se puede preparar según la parte experimental descrita en el Ejemplo 4, etapa 3; 4,0 g, 13,82 mmol) en metanol (140 ml) se agregó una solución acuosa de NaOH 6N (70 ml, 420 mmol). A continuación, la mezcla de reacción se agitó a reflujo (80°C) durante la noche. Después de enfriar a 0°C, la mezcla de reacción se acidificó mediante la adición lenta de HCl concentrado (25 ml) hasta pH = 2. Entonces, se diluyó la mezcla con la adición de acetato etílico (300 ml) y se separó la capa acuosa, que se extrajo con acetato etílico (2 x 200 ml). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron al vacío para dar el producto del título como un sólido beis (4,20 g, cuantitativo).

- 25 RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz): δ (ppm): 13,1 (s ancho, OH), 7,77 (d, J = 11,6 Hz, 1H), 7,70 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,14 (m, 2H), 6,79 (m, 1H), 3,72 (s, 3H), 2,63 (q, J = 7,6 Hz, 2H), 1,27 (t, J = 7,6 Hz, 3H).

Etapa 5: 4-[4-(4-etil-5-fluoro-2-metoxifenoxi)-3-fluorobenzoi]piperazina-2,6 diona



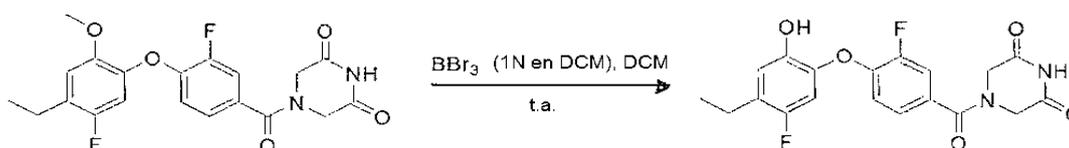
- 30 A una solución de ácido 4-(4-etil-5-fluoro-2-metoxifenoxi)-3-fluorobenzoico (que se puede preparar según la parte experimental descrita en el Ejemplo 4, etapa 4; 150 mg, 0,48 mmol) en diclorometano (1,6 ml) se agregaron de manera sucesiva *N,N*-diisopropiletilamina (0,29 ml, 1,7 mmol), hidrocloreto de piperazina-2,6-diona (88 mg, 0,58 mmol), EDCI (112 mg, 0,58 mmol) y HOBT (79 mg, 0,58 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche y entonces se diluyó agregando diclorometano (20 ml) y una solución saturada de cloruro de amonio (20 ml). Después de la separación, la capa acuosa se extrajo con diclorometano (2 x 20 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con una solución saturada de hidrógeno carbonato sódico (20 ml), se secaron

35

sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice, usando diclorometano/metanol (95:5 a 90:10) como eluyente. El producto del título se obtuvo en forma de sólido beis (130 mg, 66%).

5 RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm): 8,21 (s ancho, NH), 7,30 (dd, J = 1,6, 10,4 Hz, 1H), 7,12 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,85-6,78 (m, 3H), 4,50 (s, 4H), 3,80 (s, 3H), 2,68 (q, J = 7,6 Hz, 2H), 1,27 (t, J = 7,6 Hz, 3H).

Etapa 6: 4-[4-(4-etil-5-fluoro-2-hidroxifenoxi)-3-fluorobenzoi]-piperazina-2,6-diona



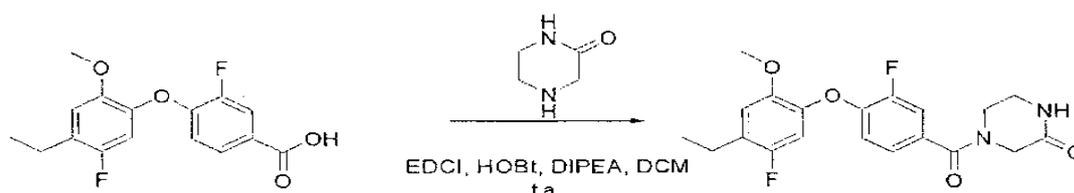
10 A una solución de 4-[4-(4-etil-5-fluoro-2-metoxifenoxi)-3-fluorobenzoi]-piperazina-2,6-diona (que se puede preparar según la parte experimental descrita en el Ejemplo 4, etapa 5; 60 mg, 0,15 mmol) en diclorometano (0,5 ml) dispuesta bajo argón a -30°C, se agregó una solución de tribromuro bórico (1N en DCM, 0,4 ml, 0,4 mmol) disponible en el comercio. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche y, a continuación, se diluyó con la adición de diclorometano (10 ml) y una solución saturada de cloruro de amonio (10 ml). Después de la separación, la capa acuosa se extrajo con diclorometano (2 x 10 ml). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice, usando diclorometano/metanol (98:2) como eluyente. Se obtuvo el producto del título como un sólido blanco (35 mg, 60%).

15 RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz): δ (ppm): 11,43 (s ancho, OH), 9,61 (s ancho, NH), 7,49 (d, J = 11,2 Hz, 1H), 7,21 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,00 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 6,87 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 6,80 (dd, J = 7,6, 8,4 Hz, 1H), 4,32 (s, 4H), 2,55 (q, 2H), 1,16 (t, J = 7,6 Hz, 3H). El cuatriplete CH₂ está parcialmente oculto por la señal de DMSO.

20 Ejemplo 5

4-[4-(4-etil-5-fluoro-2-hidroxifenoxi)-3-fluorobenzoi]-1-metilpiperazin-2-ona (E5)

Etapa 1: 4-[4-(4-etil-5-fluoro-2-metoxifenoxi)-3-fluorobenzoi]-piperazin-2-ona

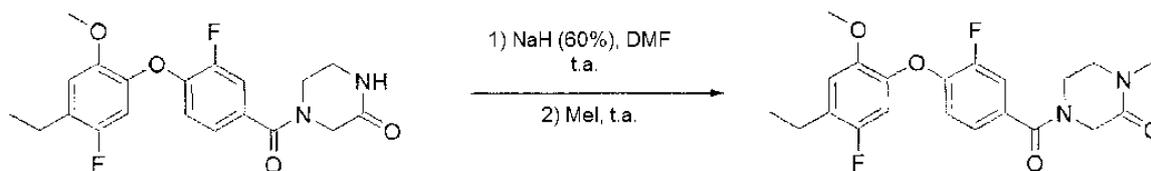


25 A una solución de ácido 4-(4-etil-5-fluoro-2-metoxifenoxi)-3-fluorobenzoico (que se puede preparar según la parte experimental descrita en el Ejemplo 4, etapa 4; 2,0 g, 6,5 mmol) en diclorometano (22 ml) se agregaron sucesivamente *N,N*-diisopropiletilamina (2,8 ml, 16 mmol), piperazin-2-ona (780 mg, 7,8 mmol), EDCI (1,5 g, 7,8 mmol) y HOBT (1,05 g, 7,8 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche y, a continuación, se diluyó con la adición de diclorometano (50 ml) y una solución saturada de hidrógeno carbonato sódico (50 ml). Después de la separación, la capa acuosa se extrajo con diclorometano (2 x 50 ml). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice, usando diclorometano/éter de petróleo (80/20) a diclorometano (100%) a diclorometano/metanol (98:2 a 95:5) como eluyente. El producto del título se obtuvo como un sólido amarillo (2,0 g, 80%).

LCMS (ESI-APCI) m/z 391 (M+H)⁺

35 RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm): 7,30 (d, J = 10,8 Hz, 1H), 7,13 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 6,84 (m, 2H), 6,74 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 6,40 (s ancho, NH), 4,27 (s ancho, 2H), 3,86 (s ancho, 2H), 3,81 (s, 3H), 3,48 (s ancho, 2H), 2,67 (q, J = 7,6 Hz, 2H), 1,26 (t, J = 7,6 Hz, 3H).

Etapa 2: 4-[4-(4-etil-5-fluoro-2-metoxifenoxi)-3-fluorobenzoil]-1-metilpiperazin-2-ona

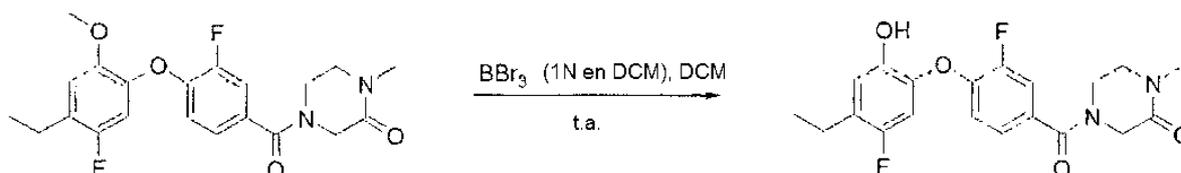


5 A una solución de 4-[4-(4-etil-5-fluoro-2-metoxifenoxi)-3-fluorobenzoil]-piperazin-2-ona (que se puede preparar según la parte experimental descrita en el Ejemplo 5, etapa 1; 200 mg, 0,5 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (5 ml) se agregó hidruro sódico (al 60% en aceite, 25 mg, 0,6 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 15 min, antes de la adición de yodometano (0,48 ml, 0,77 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 hora, la mezcla de reacción se diluyó con la adición de acetato etílico (30 ml) y agua (30 ml). Se separaron las dos fases y la capa acuosa se extrajo con acetato etílico (2 x 30 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron finalmente con una solución saturada de cloruro sódico (5 x 20 ml), se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron al vacío para dar el producto del título como un aceite amarillo (200 mg, 97%).

10 LCMS (ESI-APCI) m/z 405 (M+H)⁺

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm): 7,30 (dd, J = 1,6, 10,4 Hz, 1H), 7,13 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,83 (m, 2H), 6,74 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 4,25 (s ancho, 2H), 3,92 (s ancho, 2H), 3,81 (s, 3H), 3,44 (s ancho, 2H), 3,00 (s, 3H), 2,67 (q, J = 7,6 Hz, 2H), 1,27 (t, J = 7,6 Hz, 3H).

15 Etapa 3: 4-[4-(4-etil-5-fluoro-2-hidroxifenoxi)-3-fluorobenzoil]-1-metilpiperazin-2-ona



20 A una solución de 4-[4-(4-etil-5-fluoro-2-metoxifenoxi)-3-fluorobenzoil]-1-metilpiperazin-2-ona (que se puede preparar según la parte experimental descrita en el Ejemplo 5, etapa 2; 200 mg, 0,49 mmol) en diclorometano (1,6 ml), dispuesta bajo argón a -30°C, se agregó una solución de tribromuro bórico (1N en DCM, 1,33 ml, 1,32 mmol) disponible en el comercio. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche y se diluyó con la adición de diclorometano (30 ml) y una solución saturada de cloruro de amonio (30 ml). Después de la separación, la capa acuosa se extrajo con diclorometano (2 x 30 ml). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice, usando diclorometano/metanol (95:5) como eluyente. El producto del título se obtuvo como un sólido amarillo (135 mg, 70%).

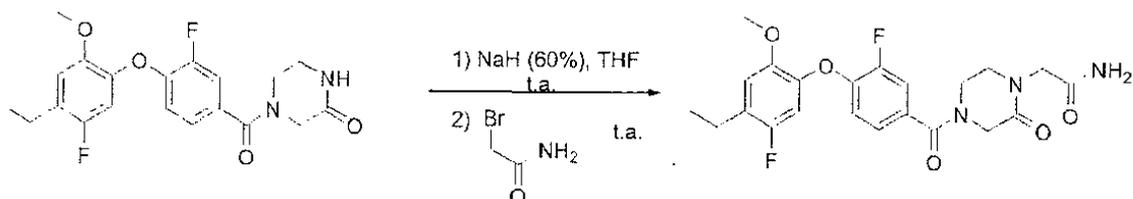
25 LCMS (ESI-APCI) m/z 391 (M+H)⁺

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm): 7,33 (dd, J = 1,2, 10,4 Hz, 1H), 7,20 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,05 (t, J = 8,4 Hz, 1H), 6,90 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 6,58 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 5,4 (s ancho, OH), 4,24 (s ancho, 2H), 3,94 (s ancho, 2H), 3,46 (s ancho, 2H), 3,03 (s, 3H), 2,62 (q, J = 7,6 Hz, 2H), 1,23 (t, J = 7,6 Hz, 3H).

Ejemplo 6

2-[4-(4-(4-etil-5-fluoro-2-hidroxifenoxi)-3-fluorobenzoil)-2-oxopiperazin-1-il]-acetamida (E6)

Etapa 1: 2-[4-(4-(4-etil-5-fluoro-2-metoxifenoxi)-3-fluorobenzoil)-2-oxopiperazin-1-il]-acetamida

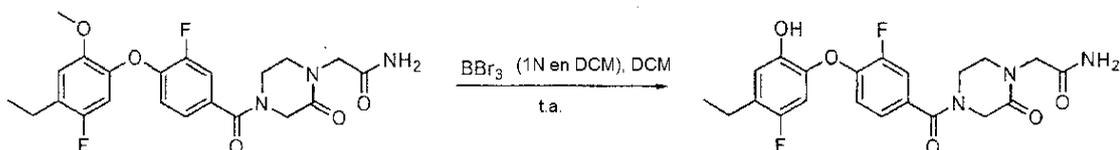


- 5 A una solución de 4-[4-(etil-5-fluoro-2-metoxifenoxi)-3-fluorobenzoil]-piperazin-2-ona (que se puede preparar según la parte experimental descrita en el Ejemplo 5, etapa 1; 400 mg, 1 mmol) en tetrahidrofurano (10 ml) se agregó hidruro sódico (al 60% en aceite, 49 mg, 1,2 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 15 min, antes de la adición de 2-bromoacetamida (212 mg, 1,5 mmol). Después de agitar durante 2 días a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con la adición de acetato etílico (20 ml) y agua (20 ml).
- 10 Después de la separación, la capa acuosa se extrajo con acetato etílico (2 x 20 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con una solución saturada de cloruro sódico (2 x 20 ml), se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice, usando diclorometano/metanol (98:2 a 95:5) como eluyente. El producto del título se obtuvo como un sólido blanco (300 mg, 65%).

LCMS (ESI-APCI) m/z 448 (M+H)⁺

- 15 RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm): 7,31 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 7,14 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 6,84 (m, 2H), 6,74 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 6,10 y 5,53 (s ancho, NH₂), 4,33 (s ancho, 2H), 4,06 (s ancho, 2H), 3,93 (s ancho, 2H), 3,80 (s, 3H), 3,59 (s ancho, 2H), 2,67 (q, J = 7,6 Hz, 2H), 1,26 (t, J = 7,6 Hz, 3H).

Etapa 2: 2-[4-(4-(4-etil-5-fluoro-2-hidroxifenoxi)-3-fluorobenzoil)-2-oxopiperazin-1-il]-acetamida



- 20 A una solución de 2-[4-(4-(4-etil-5-fluoro-2-metoxifenoxi)-3-fluorobenzoil)-2-oxopiperazin-1-il]-acetamida (que se puede preparar según la parte experimental descrita en el Ejemplo 6, etapa 1; 140 mg, 0,31 mmol) en diclorometano (1 ml), dispuesta bajo argón a -30°C, se agregó una solución de tribromuro bórico (1N en DCM, 0,84 ml, 0,84 mmol) disponible en el comercio. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche y se diluyó con la adición de diclorometano (20 ml) y una solución saturada de cloruro de amonio (20 ml). Después de la separación,
- 25 la capa acuosa se extrajo con diclorometano (2 x 20 ml). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice, usando diclorometano/ metanol (95:5 a 90:10) como eluyente. El producto del título se obtuvo como un sólido blanco (30 mg, 22%).

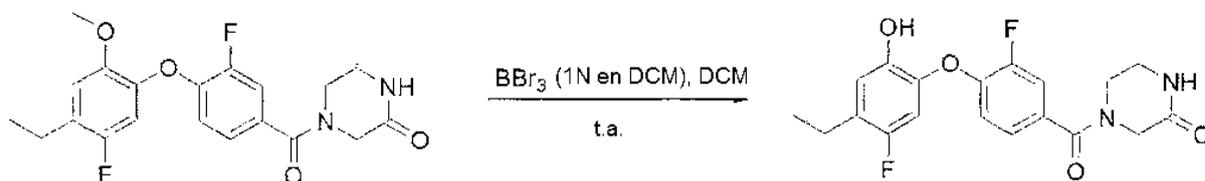
LCMS (ESI+) m/z 434 (M+H)⁺

- 30 RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz): δ (ppm): 9,65 (s ancho, OH), 7,45 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,44 y 7,12 (s ancho, NH₂), 7,22 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,97 (d, J = 10 Hz, 1H), 6,87 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 6,81 (dd, J = 8, 8,4 Hz, 1H), 4,12 (s ancho, 2H), 3,92 (s, 2H), 3,72 (s ancho, 2H), 3,40 (s ancho, 2H), 2,56 (q, J = 7,6 Hz, 2H), 1,17 (t, J = 7,6 Hz, 3H). El cuatriplete CH₂ está parcialmente oculto por la señal de DMSO.

Ejemplo 7

4-[4-(4-etil-5-fluoro-2-hidroxifenoxi)-3-fluorobenzoil]-1-(morfolinometil)-piperazin-2-ona (E7)

Etapa 1: 4-[4-(4-etil-5-fluoro-2-hidroxifenoxi)-3-fluorobenzoil]-piperazin-2-ona

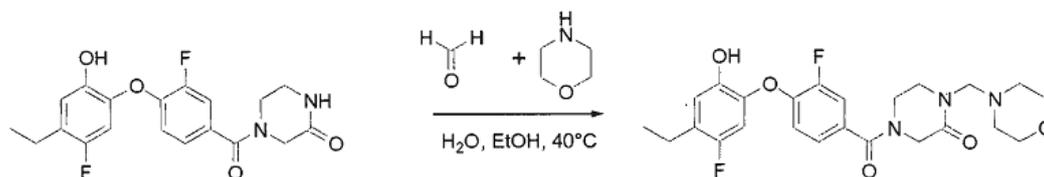


- 5 A una solución de 4-[4-(4-etil-5-fluoro-2-metoxifenoxi)-3-fluorobenzoil]-piperazin-2-ona (que se puede preparar según la parte experimental descrita en el Ejemplo 5, etapa 1; 500 mg, 1,28 mmol) en diclorometano (4,3 ml), dispuesta bajo argón a -30°C , se agregó una solución de tribromuro bórico (1N en DCM, 3,5 ml, 3,46 mmol) disponible en el comercio. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 36 horas y, a continuación, se diluyó con la adición de diclorometano (20 ml) y agua (20 ml). Después de la separación, la capa acuosa se extrajo con diclorometano (2 x 20 ml). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice, usando diclorometano/acetona (80:20) como eluyente. El producto del título se obtuvo como un sólido beis (440 mg, 92%).
- 10

LCMS (ESI-APCI) m/z 377 (M+H)⁺

- 15 RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm): 7,32 (d, J = 10 Hz, 1H), 7,19 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,04 (t, 8,4 Hz, 1H), 6,90 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 6,60 (d, J = 10 Hz, 1H), 6,30 (s ancho, NH), 4,26 (s ancho, 2H), 3,87 (s ancho, 2H), 3,48 (s ancho, 2H), 2,62 (q, J = 7,6 Hz, 2H), 1,25 (t, J = 7,6 Hz, 3H).

Etapa 2: 4-[4-(4-etil-5-fluoro-2-hidroxifenoxi)-3-fluorobenzoil]-1-(morfolinometil)-piperazin-2-ona



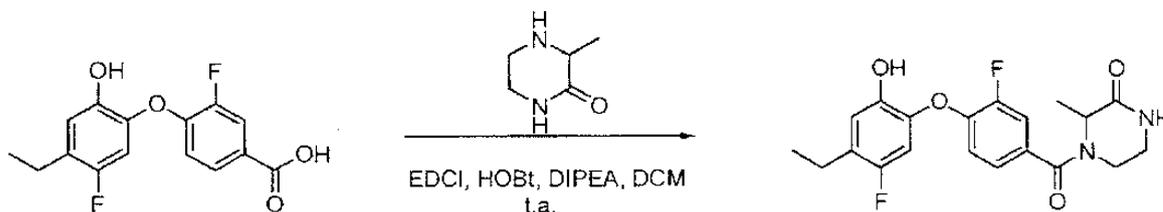
- 20 De forma sucesiva, se agregaron formaldehído (al 37% en agua, 30 μl , 0,32 mmol) y morfolina (28 μl , 0,32 mmol) a una solución de 4-[4-(4-etil-5-fluoro-2-hidroxifenoxi)-3-fluorobenzoil]-piperazin-2-ona (que se puede preparar según la parte experimental descrita en el Ejemplo 7, etapa 1; 100 mg, 0,26 mmol) en una mezcla de metanol/H₂O (0,8 ml / 0,8 ml). La mezcla se agitó a 40°C durante 2 horas, antes de la adición de más formaldehído (al 37% en agua, 30 μl , 0,4 mmol) y más morfolina (32 μl , 0,4 mmol). A continuación, la mezcla de reacción se agitó a 40°C durante dos días. La mezcla de reacción se diluyó con la adición de acetato etílico (20 ml) y agua (20 ml). Después de la separación,
- 25 la capa acuosa se extrajo con acetato etílico (2 x 20 ml). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice, usando diclorometano/metanol (98:2 a 96:4) como eluyente. El producto del título se obtuvo como un sólido blanco (55 mg, 44%).

LCMS (ESI-APCI) m/z 476 (M+H)⁺

- 30 RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz): δ (ppm): 9,59 (s, OH), 7,47 (dd, J = 1,6, 11,6 Hz, 1H), 7,20 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,96 (d, J = 10 Hz, 1H), 6,87 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 6,80 (t, J = 8,4 Hz, 1H), 4,10 (s ancho, 2H), 4,03 (s, 2H), 3,67 (s ancho, 2H), 3,54 (m, 4H), 3,44 (m, 2H), 2,55 (q, J = 7,6 Hz, 2H), 2,42 (m, 2H), 1,16 (t, J = 7,6 Hz, 3H). El cuatriplete CH₂ está parcialmente oculto por la señal de DMSO.

Ejemplo 8

4-[4-(4-etil-5-fluoro-2-hidroxifenoxi)-3-fluorobenzoi]l-3-metilpiperazin-2-ona (E8)



De forma sucesiva, se agregaron *N,N*-diisopropiletilamina (74 μ l, 0,42 mmol), 3-metilpiperazin-2-ona (23,3 mg, 0,20 mmol), EDCI (39,1 mg, 0,20 mmol) y HOBT (27,6 g, 0,20 mmol) a una suspensión de ácido 4-(4-etil-5-fluoro-2-metoxifenoxi)-3-fluorobenzoico (que se puede preparar según la parte experimental descrita en el Ejemplo 4, etapa 4; 50 mg, 0,17 mmol) en diclorometano (0,55 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche y, a continuación, se diluyó con la adición de diclorometano (10 ml) y agua (10 ml). Después de la separación, la capa orgánica se lavó con agua (10 ml). La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice, usando diclorometano/metanol (98:2 a 95:5) como eluyente. El producto del título se obtuvo como un sólido blanco (24 mg, 36%).

LCMS (ESI-APCI) m/z 391 (M+H)⁺

RMN ¹H (acetona-d₆, 400 MHz): δ (ppm): 8,47 (s ancho, OH), 7,39 (dd, J = 1,6, 11,2 Hz, 1H), 7,24 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,11 (s ancho, NH), 6,93 (m, 2H), 6,83 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 4,67 y 4,01 (s ancho, 2H), 3,50 (m, 2H), 3,30 (m, 1H), 2,61 (q, J = 7,6 Hz, 2H), 1,44 (d, J = 7,2 Hz, 3H), 1,20 (t, J = 7,6 Hz, 3H).

Datos de ensayo

1. Inhibición de FabI

Los compuestos de la invención son inhibidores útiles de la enzima FabI bacteriana.

La actividad inhibitoria de la enzima FabI del compuesto se mide *in vitro* mediante la determinación de la CI_{50} , usando un ensayo basado en fluorescencia.

La proteína FabI de *S. aureus* se prepara y purifica usando métodos convencionales para la expresión de proteínas recombinantes después de la clonación del gen en un vector de expresión procariota.

La actividad bioquímica de la enzima FabI se evalúa empleando el método siguiente.

El tampón de ensayo "AB" contuvo ADA 50 mM (sal monosódica del ácido N-(2-acetamido)-iminodiacético) pH 6,5, ditiotreitil 0,1 mM, 0,006% de Triton-X 100 y NaCl 50 mM. En una placa Costar (Ref. 3912) de poliestireno blanco se agregan los siguientes componentes hasta un volumen final de 55,5 μ l: 1,5 μ l de DMSO o inhibidor disuelto en DMSO, y 54 μ l de una mezcla de FabI/NADPH/NADP⁺ en AB. Después de 60 min de preincubación a temperatura ambiente, se inicia la reacción con la adición de 5 μ l de tioéster de trans-2-octenoi N-acetilcisteamina (t-o-NAC) hasta un volumen final de 60,5 μ l. Entonces, esta mezcla de reacción está compuesta por FabI 2 nM, NADPH 40 μ M (Sigma, N7505), NADP⁺ 10 μ M (Sigma, N5755), t-o-NAC 100 μ M y el compuesto a una concentración definida. La intensidad de fluorescencia de NADPH (λ_{ex} = 360 nm, λ_{em} = 520 nm) se mide inmediatamente después de la adición de t-o-NAC (T0) y, aproximadamente, 50 min después (T50) con un dispositivo Fluostar Optima (BMG), con el fin de obtener una conversión de NADPH de \pm 30%. La actividad enzimática se calcula restando, en primer lugar, la señal de T0 de T50 y, seguidamente, sustrayendo la señal de fondo (FabI = 0). Los porcentajes de inhibición se calculan con respecto a muestras no tratadas (Inhibidor = 0) y las CI_{50} se ajustan a un modelo de equilibrio clásico de Langmuir usando XLFIT (IDBS).

Tabla 1: Inhibición *in vitro* de la enzima FabI recombinante de *S. aureus* por compuestos seleccionados.

Ejemplo	Inhibición de FabI CI_{50} (μ M)
1	0,016
2	0,029
3	5

2. Actividad antibacteriana

Los compuestos de la invención son agentes antibacterianos útiles, que tienen un espectro selectivo de actividad *in vitro* sobre cepas bacterianas que utilizan FabI y dianas relacionadas. De manera especial, los compuestos de la invención exhiben actividad contra *Staphylococcus aureus*, incluidas las cepas multirresistentes. La actividad se presenta como Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) expresada en µg/ml y se determinó empleando métodos de microdilución en caldo o de dilución en agar.

Cepas

La actividad antibacteriana se determinó sobre MSSA CIP 54.146 proporcionada por el Centro de Recursos Biológicos (*Centre de Ressources Biologiques*) del Instituto Pasteur. Igualmente, la actividad antibacteriana se determinó en MRSA (IHMA nº 510059) y en MSSA (IHMA nº 555189).

Determinación de CIM usando el método de microdilución en caldo

Este protocolo es conforme con la metodología del *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI) según se describe en el documento M7-A7 del CLSI. El compuesto que se debe analizar se diluye según una serie geométrica de razón 2 en DMSO puro. Las diluciones se transfieren a microplacas de poliestireno estériles, tras lo que se agregan las bacterias en fase logarítmica media en caldo de Mueller-Hinton ajustado con cationes (ca-MHB, Fluka, Referencia 90922), con un inóculo final de 5×10^5 ufc/ml. Las microplacas se incuban durante la noche a 35°C. CIM se define como la menor concentración de agente antimicrobiano que impide completamente el crecimiento visible de bacterias. Todas las operaciones, excepto el manejo del compuesto (en DMSO puro), se llevan a cabo bajo condiciones de esterilidad. La concentración final de DMSO en las placas es de 2%.

Con el objeto de evaluar la unión al suero de los compuestos de ensayo, las CIMs se midieron también en ca-MHB suplementado con suero humano al 80% (HS, Sigma, Referencia H4522).

Tabla 2: Ejemplos representativos de CIM (µg/ml) (microdilución en caldo) mediante compuestos de fórmula (I) seleccionados:

Ejemplo	<i>S. aureus</i> CIP 54.146	<i>S. aureus</i> CIP 54.146 en presencia de suero humano al 80%
1	0,25	0,5
2	1	1

25 Determinación de CIM usando el método de susceptibilidad

Las concentraciones inhibitorias mínimas (CIMs) se determinaron por microdilución en caldo según las directrices del CLSI (CLSI, M100-20¹, M7-A8², M27-A3³). Los compuestos se estudiaron en el intervalo de 012 a 128 µg/ml. Las colonias se recogieron directamente de una placa de cultivo de segundo pasaje y se prepararon en una suspensión equivalente al estándar 0,5 de McFarland, usando solución salina normal. La inoculación de las placas CIM se llevó a cabo dentro de los 15 min siguientes al ajuste de la turbidez de la suspensión del inóculo. Los paneles se incubaron a 35°C durante 16 a 20 horas antes de registrar las variables de CIM. Los compuestos de los Ejemplos 4 a 8 se disolvieron en DMSO para preparar las soluciones iniciales de 5120 µg/ml. Estas soluciones se diluyeron 1:10 en agua estéril hasta una solución madre de 512 µg/ml. Las soluciones madre se diluyeron adicionalmente en el medio de caldo apropiado para las diluciones secuenciales usadas en los paneles de microdilución en caldo. *S. pneumoniae* se estudió en caldo Mueller Hinton (MH) con 3% de sangre lisada de caballo, y *C. albicans* se estudió en medio RPMI-1640. Todos los restantes microorganismos se ensayaron en caldo MH.

Tabla 3: Ejemplos representativos de CIM (µg/ml) (microdilución en caldo) de los compuestos de los Ejemplos 4 a 8

Ejemplo	MRSA (IHMA nº 510059)	MSSA (IHMA nº 555189)	<i>E. coli</i> (ATCC 25922)	<i>E. faecalis</i> (ATCC 29212)	<i>S. pneumoniae</i> (ATCC 49619)	<i>C. albicans</i> (ATCC 90028)
4	32	4	-	-	-	-
5	1	0,015	-	-	-	-
6	4	0,25	-	-	-	-
7	0,06	0,06	4	64	>128	>128
8	1	0,06	-	-	-	-

El compuesto del Ejemplo 7 demostró ser el más activo, con CIMs de 0,06 µg/ml contra cepas tanto MRSA como MSSA.

3. Actividad antibacteriana *in vivo* del Ejemplo 1 (E1) por vía tanto parenteral como oral

5 Para evaluar la actividad antibacteriana de los inhibidores de FabI se utilizó un modelo experimental de infección por *S. aureus*.

En resumen, se llevaron a cabo estudios *in vivo* usando grupos de ratón Suizo neutropénico hembra de 5 semanas de edad (5 animales por grupo para cada alteración).

10 Se cultivó la cepa virulenta de *Staphylococcus aureus* susceptible a meticilina ATCC 29213 hasta la fase exponencial en caldo de cultivo tripticasa-soja (TS). El cultivo bacteriano se diluyó para obtener una suspensión bacteriana de 1 a 3 10⁹ ufc/ml, se lavó con suero fisiológico y se resuspendió en suero fisiológico de la solución mucina al 10%. A continuación, la suspensión bacteriana se inoculó a los ratones (200 µl por animal) por inyección intraperitoneal. El recuento de inóculos se verificó sembrando en placas diluciones con un factor de dilución 10 de la suspensión en placas de TS agar inmediatamente después de la inoculación.

15 Para comprobar la hipótesis de una protección del compuesto de E1 después de la administración parenteral, el compuesto de ensayo se disolvió y diluyó en una formulación que contuvo 20% de hidroxipropil beta ciclodextrina (HPCD) y glucosa al 1% y, por vía subcutánea, se administró a cada ratón un volumen adecuado de la solución (correspondiente a niveles de dosis de 6,25 y 12,5 mg/kg de peso corporal), inmediatamente después de la infección bacteriana. El grupo de control negativo recibió solamente la solución de HPCD al 20% y, como control positivo, se usó vancomicina a 6,25 mg/kg.

25 Para evaluar la protección tras la administración oral, el compuesto de E1 se disolvió y diluyó en una formulación que contuvo 1% de dimetilsulfóxido (DMSO) y 10% de Cremophor EL, y se administró por vía oral un volumen adecuado de la solución (correspondiente a niveles de dosis de 100 y 200 mg/kg de peso corporal) a cada ratón, inmediatamente después de la infección bacteriana. El grupo de control negativo recibió solamente la solución de DMSO al 1% y Cremophor EL al 10%.

Durante 48 horas se registraron el estado de salud y los signos clínicos de los ratones y los resultados se comunicaron como índice de supervivencia.

30 Todos los experimentos con animales se llevaron a cabo de acuerdo con las directrices institucionales. La actividad del compuesto se mide sobre la base de su efecto a una dosis determinada para reducir la carga bacteriana en la parte superior de la pata de los ratones infectados.

Como se muestra en las Figuras 1 y 2, los resultados del ensayo de protección *in vivo* indican que el compuesto de E1 (compuesto 1) es capaz de proteger al ratón contra la diseminación bacteriana tras la administración tanto parenteral como oral a niveles de dosis de 6,25 y 12,5 mg/kg (administración subcutánea) y niveles de dosis de 100 y 200 mg/kg (administración oral).

35 4. Análisis de la unión a HSA del Ejemplo 7 (E7) usando una columna quiral de HSA (Albúmina de Suero Humano)

Sistema experimental

El sistema experimental usado en este análisis fue una columna quiral de HSA.

Reactivos y Productos Químicos

40 El fosfato de potasio monobásico KH₂PO₄ y el fosfato de potasio dibásico trihidrato K₂HPO₄ · 3H₂O se adquirieron en Calbiochem. En Sigma-Aldrich se adquirieron acetonitrilo, DMSO y azida sódica. Fluka suministró 2-propanol. El agua fue de categoría MilliQ, adquirida en Millipore system Milli-Q Plus (Waters).

Preparación de reactivos

K₂HPO₄ 20 mM: 4,564 g en 1 litro de agua;

KH₂PO₄ 20 mM: 2,722 g en 1 litro de agua;

45 Tampón fosfato 20 mM, pH 7,0: 58,7% de K₂HPO₄ 20 mM + 41,3% de KH₂PO₄ 20 mM (si es necesario, se ajusta el pH).

Preparación de soluciones madre, calibración y muestras para control de calidad

Se preparó una solución madre 10 mM del Ejemplo 7 (peso molecular de 475,49 y pureza HPLC de 86,3%) disolviendo 1,8 mg de un compuesto del Ejemplo 7 en 0,327 ml de DMSO. Se preparó el compuesto del Ejemplo 7 a

una concentración de 100 µM diluyendo la solución madre a 10 mM en DMSO con tampón de fosfato de potasio, pH 7,0.

Equipo

Sistema de HPLC Alliance 2690 (Waters);

5 Detector UV PDA 996 (Waters);

Columna quiral de HSA 50 x 3,0 mm, 5 µm (Chromtec);

Balanza AT261 (Mettler-Toledo);

pH-metro easy seven (Mettler-Toledo);

Pipetman (Eppendorf);

10 Vortex (Fischer-Bioblock);

Baño de ultrasonido;

Viales de vidrio de 4 ml (Dutscher);

Viales de vidrio de 2 ml para cromatografía (Interchim).

Parámetros de cromatografía líquida

15 Se utilizó cromatografía líquida según los parámetros que se muestran en la Tabla 4:

Tabla 4: Parámetros cromatográficos

Sistema HPLC	Alliance 2690 (Waters)
Columna	Quiral HSA, 50 x 3,0 mm, 5 µm (Chromtec)
Caudal	0,5 ml/min
Temperatura de columna	37°C
Temperatura del automuestreador	10°C
Fase móvil	94% tampón de fosfato de potasio 20 mM, pH 7,0 6% 2-propanol
Detección	Detector de Absorbancia de doble λ (espectro UV) Desde 200 a 400 nm, con extracción de λ _{max}
Volumen inyectado	10 µl
Softwares de monitorización y procesamiento de datos	Empower

Cálculo de la unión porcentual

20 La relación entre el tiempo de retención (Tr) y el porcentaje de unión a proteínas (PB%) dependió del tiempo muerto (T0) y del factor de capacidad (k')

$$PB\% = [k' / (k' + 1)] * 100$$

$$\text{en donde } k' = (Tr - T_0) / T_0$$

Resultados

El compuesto del Ejemplo 7 mostró una unión moderada a HSA, tal como se puede ver en los resultados de la Tabla 5:

Tabla 5: Datos de la unión a HSA para el Ejemplo 7

Ensayo número	λ max (nm)	T0 (min)	Tr (min)	k'	k' (promedio)	C (promedio)	Unión a HSA (%)
1	318	0,770	3,070	2,987	2,987	0,75	74,9
2		0,772	3,073	2,981			
3		0,769	3,071	2,993			

5 Referencias de las directrices de CLSI

1. M100-S20

Clinical and Laboratory Standards Institute, 2010. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twentieth Informational Supplement*. Documento M100-S20 del CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), Wayne, Pa 19087-1898 EE.UU.

10 2. M7-A8

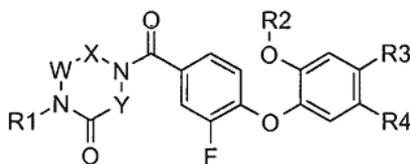
Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2009. *Methods for Dilution Antimicrobial Test for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard - Octava Edición*. Documento M07-A8 del CLSI [ISBN 1-56238-689-1]. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pensilvania 19087, EE.UU.

3. M27-A3

15 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2009. *Reference method for broth dilution antifungal broth susceptibility testing of yeasts - Approved Standard - Tercera Edición*. Documento M27-A3 del CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), Wayne, PA 19087-1898, EE.UU.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I):



(I)

en la que:

- 5
- W, X e Y significan, independientemente, CH₂ o C=O, en donde dicho grupo CH₂ puede estar opcionalmente sustituido de manera independiente con un flúor o un grupo alquilo-(C₁-C₆), en donde dicho grupo alquilo-(C₁-C₆) puede estar sustituido adicionalmente con uno o dos grupos R₅;
 - R₁ significa H, alquilo-(C₁-C₆) sustituido opcionalmente con un grupo CONR_aR_b, alquenoilo-(C₂-C₆), alquinoilo-(C₂-C₆), fenilo o un grupo -Z-Het, de modo que Z significa una unión o un enlazador seleccionado de CO, alquilenilo-(C₁-C₆) o -CO-alquilenilo-(C₁-C₆), y Het significa un heterociclo monocíclico de 4 a 6 miembros, saturado o insaturado, que contiene 1 a 3 heteroátomos seleccionados de N, O y S, en donde dicho grupo fenilo o heterociclo de R₁ puede estar sustituido opcionalmente con uno o múltiples grupo R₅;
 - R₂ significa H, CO₂R_a, COR_a, CONR_aR_b, CH₂OR_c, CH₂NR_aR_b, SO₂NR_aR_b, o P(O)OR_aOR_b;
 - R₃ significa halógeno, alquilo-(C₁-C₆), alquenoilo-(C₂-C₆) o alquinoilo-(C₂-C₆);
 - 15
 - R₄ significa H, halógeno, CN o CH₃;
 - R_a, R_b y R_c significan independientemente H, alquilo-(C₁-C₆), alquenoilo-(C₂-C₆), alquinoilo-(C₂-C₆), o un grupo NR_aR_b puede formar opcionalmente un heterociclo saturado de 3 a 7 miembros que contiene nitrógeno, que opcionalmente contiene 1 a 3 heteroátomos seleccionados de N, O o S, en donde dicho heterociclo puede estar sustituido opcionalmente con uno o múltiples grupos alquilo-(C₁-C₆);
 - 20
 - R₅ significa halógeno, CN, alquilo-(C₁-C₆), alquenoilo-(C₂-C₆), alquinoilo-(C₂-C₆), CO₂R_a, COR_a, CONR_aR_b, OCOR_a, OR_a, NR_aR_b, ON=CR_aR_b, NR_cCOR_a, NR_cCOOR_a, OCONR_aR_b, NR_cCONR_aR_b, NR_cSO₂R_a, S(O)_nR_a, o SO₂NR_aR_b;
 - n significa un número entero seleccionado de 0 a 2;

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptables del mismo.

25 2. Un compuesto según se ha definido en la reivindicación 1, en el que W, X e Y significan, cada uno, CH₂, opcionalmente sustituido de manera independiente con un grupo alquilo-(C₁-C₆) no sustituido; o

W significa C=O y X e Y significan ambos CH₂; o

W, X e Y significan, cada uno, CH₂.

30 3. Un compuesto según se ha definido en las reivindicaciones 1 o 2, en el que R₁ significa H, alquilo-(C₁-C₆), alquenoilo-(C₂-C₆) o alquinoilo-(C₂-C₆); o

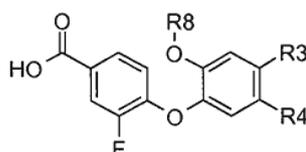
R₁ significa H, alquilo-(C₁-C₆), alquilo-(C₁-C₆) sustituido opcionalmente con un grupo CONR_aR_b o un grupo -Z-Het.

4. Un compuesto según se ha definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que R₂ significa H, CO₂R_a, COR_a, CONR_aR_b, CH₂OR_c, o CH₂NR_aR_b.

35 5. Un compuesto según se ha definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que R₃ significa halógeno o alquilo-(C₁-C₆).

6. Un compuesto según se ha definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que R₄ significa H, F, Cl o CH₃.

7. Un compuesto según se ha definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que R5 significa independientemente F, alquilo-(C₁-C₆), alquenilo-(C₂-C₆), alquinilo-(C₂-C₆), COR_a, CONR_aR_b, OR_a, NR_aR_b, NR_aCOR_b, S(O)_nR_a, o SO₂NR_aR_b.
8. Un compuesto según se ha definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que R_a y R_b significan, independientemente, H, alquilo-(C₁-C₆), alquenilo-(C₂-C₆) o alquinilo-(C₂-C₆).
9. Un compuesto según se ha definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que R_c significa H o alquilo-(C₁-C₆).
10. Un compuesto de fórmula (I) según se ha definido en la reivindicación 1, que es:
- 4-[4-(4-etil-5-fluoro-2-hidroxifenoxi)-3-fluorobenzoil]-piperazin-2-ona (E1);
- 4-[4-(4-etil-2-hidroxifenoxi)-3-fluorobenzoil]-piperazin-2-ona (E2); y
- Carbonato de 4-fluoro-2-{2-fluoro-4-[(3-oxopiperazin-1-il)-carbonil]-fenoxi}-5-etilfenil-etilo (E3);
- 4-[4-(4-etil-5-fluoro-2-hidroxifenoxi)-3-fluorobenzoil]-piperazina-2,6-diona (E4);
- 4-[4-(4-etil-5-fluoro-2-hidroxifenoxi)-3-fluorobenzoil]-1-metilpiperazin-2-ona (E5);
- 2-[4-(4-(4-etil-5-fluoro-2-hidroxifenoxi)-3-fluorobenzoil)-2-oxopiperazin-1-il]-acetamida (E6);
- 4-[4-(4-etil-5-fluoro-2-hidroxifenoxi)-3-fluorobenzoil]-1-(morfolinometil)-piperazin-2-ona (E7);
- 4-[4-(4-etil-5-fluoro-2-hidroxifenoxi)-3-fluorobenzoil]-3-metil-piperazin-2-ona (E8);
- o una sal o solvato farmacéuticamente aceptables de los mismos.
11. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) según se ha definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en asociación con un excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptables.
12. Un compuesto de fórmula (I) según se ha definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 para usar en terapia.
13. Un compuesto de fórmula (I) según se ha definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, para usar en el tratamiento de infecciones microbianas.
14. Un compuesto para usar del modo definido en la reivindicación 13, en donde dicha infección microbiana es una infección humana o animal causada por patógenos microbianos tales como *Staphylococcus aureus*, incluidas las cepas multirresistentes tales como *Staphylococcus aureus* susceptible a meticilina (MSSA), *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA), *Staphylococcus aureus* con resistencia intermedia a vancomicina (VISA) y *Staphylococcus aureus* resistente a vancomicina (VRSA), *Acinetobacter baumannii*, *Bacillus anthracis*, *Chlamydomphila pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Helicobacter pylori*, *Klebsiella pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *S. intermedius*, *P. multocida*, *B. bronchiseptica*, *M. haemolytica* y *A. pleuropneumoniae*, así como también bacterias tales como *Mycobacterium tuberculosis* u otros microorganismos tales como *Plasmodium falciparum*.
15. Un compuesto de fórmula (II):



(II)

- en la que R3 y R4 son como se han definido en una cualquiera de las reivindicaciones 1, 5 y 6, y R8 significa alquilo-(C₁-C₆);
- o una sal o solvato del mismo.

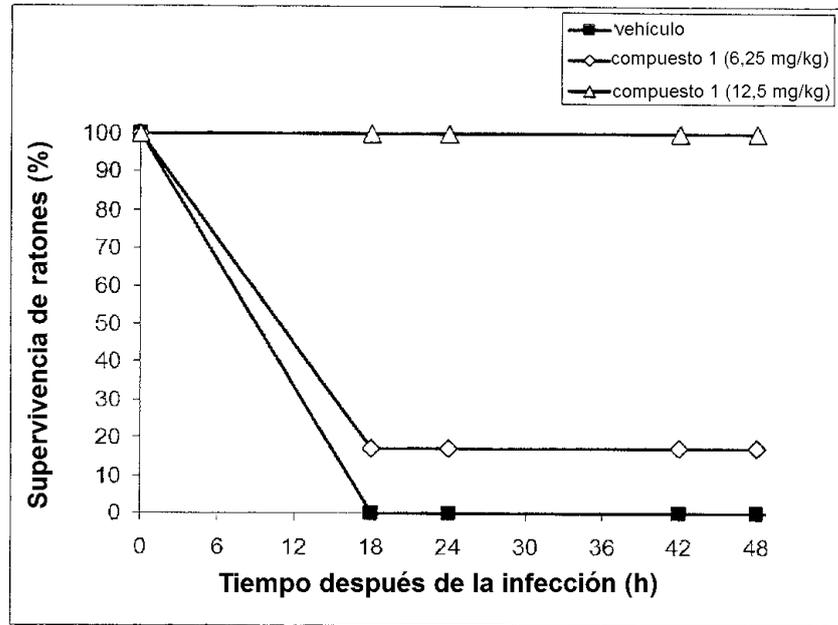


FIGURA 1

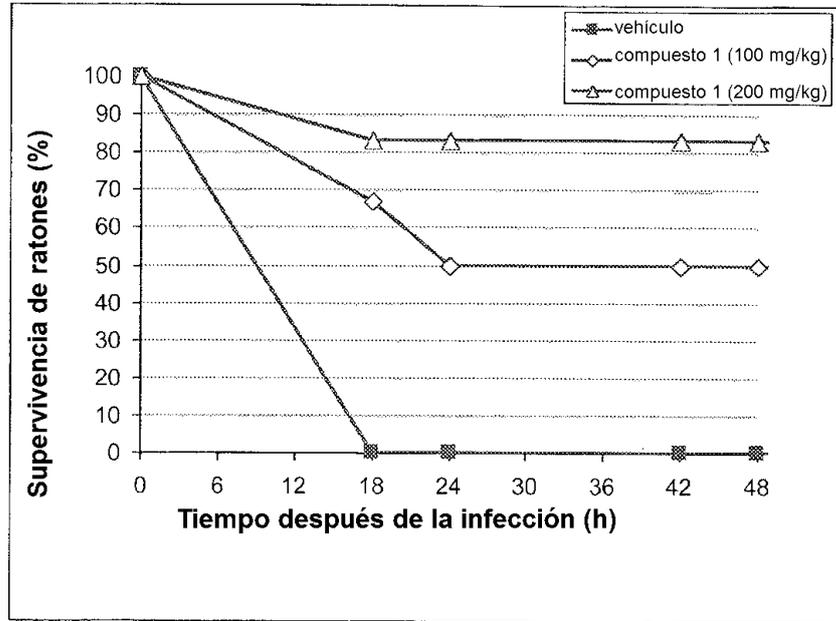


FIGURA 2