

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 515 101**

51 Int. Cl.:

**C07D 401/12** (2006.01) **A61P 31/04** (2006.01)

**C07D 405/12** (2006.01) **A61K 31/443** (2006.01)

**C07D 409/12** (2006.01)

**C07D 471/04** (2006.01)

**C07D 498/04** (2006.01)

**A61K 31/551** (2006.01)

**A61K 31/5365** (2006.01)

**A61K 31/4375** (2006.01)

**A61K 31/4436** (2006.01)

**A61K 31/4439** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.06.2005 E 05858503 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.08.2014 EP 1828167**

54 Título: **Derivados de acrilamida como agentes antibióticos**

30 Prioridad:

**04.06.2004 US 576945 P**

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

**29.10.2014**

73 Titular/es:

**DEBIOPHARM INTERNATIONAL SA (100.0%)  
Forum "après-demain", Chemin Messidor 5-7, CP  
5911  
1002 Lausanne, CH**

72 Inventor/es:

**SARGENT, BRUCE JEREMY;  
PAULS, HENRY;  
BERMAN, JUDD M.;  
RAMNAUTH, JAILALL;  
SAMPSON, PETER;  
TORO, ANDRAS;  
MARTIN, FERNANDO J. L.;  
SURMAN, MATTHEW DAVID;  
DECORNEZ, HELENE YVONNE y  
MANNING, DAVID DOUGLAS**

74 Agente/Representante:

**PONTI SALES, Adelaida**

**ES 2 515 101 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 acrilamida como agentes antibióticos

5 **Subvención gubernamental**

**[0001]** Esta invención se llevó a cabo con la subvención proporcionada por el National Institute of Health; por lo tanto, el gobierno tiene ciertos derechos sobre la invención.

10 **Introducción**

**[0002]** Las infecciones causadas o relacionadas con bacterias son una causa importante de enfermedades humanas en todo el mundo y la frecuencia de resistencias a los antibióticos habituales ha aumentado drásticamente en la última década. Por lo tanto, existe una necesidad y una demanda médica no satisfecha de nuevos agentes que actúen frente a objetivos bacterianos.

**[0003]** Algunos ejemplos de potenciales objetivos bacterianos son las enzimas implicadas en la biosíntesis de ácidos grasos. Aunque la ruta global de la biosíntesis de ácidos grasos saturados es similar en todos los organismos, el sistema de la sintasa de ácidos grasos (FAS) varía considerablemente con respecto a su organización estructural. Se cree que los vertebrados y las levaduras poseen una FAS en la que todas las actividades enzimáticas están codificadas en una o dos cadenas polipeptídicas, respectivamente y la proteína portadora de acilo (ACP) es una parte integral del complejo. Por el contrario, en la FAS bacteriana, se sabe que cada una de las reacciones está catalizada por una enzima monofuncional distinta, y la ACP es una proteína pequeña. Por lo tanto, puede ser posible conseguir la inhibición selectiva del sistema bacteriano mediante los agentes apropiados.

**[0004]** Uno de dichos potenciales objetivos bacterianos es la proteína Fab I. Se cree que la Fab I (previamente denominada EnvM) funciona como una reductasa de la enoil-ACP en la etapa final de las cuatro fracciones implicadas en cada ciclo de biosíntesis bacteriana de ácidos grasos. Se cree que en esta vía la primera etapa está catalizada por la sintasa de la  $\beta$ -cetoacil-ACP, que condensa la malonil-ACP con la acetil-CoA (Fab H, sintasa III). Se cree que en las rondas posteriores, la malonil-ACP es condensada con la cadena en crecimiento de la acil-ACP (Fab B y Fab F, sintasas I y II, respectivamente). Se cree que la segunda etapa del ciclo de elongación es la reducción del cetoéster por parte de la reductasa de la  $\beta$ -cetoacil-ACP dependiente de NADPH (Fab G). La posterior deshidratación por parte de la deshidratasa de la  $\beta$ -hidroxiacil-ACP (tanto Fab A como Fab Z) da lugar a la trans-2-enoil-ACP. Finalmente, en la etapa cuatro, la etapa de trans-2-enoil-ACP se convierte en acil-ACP mediante una reductasa de la enoil-ACP dependiente de NADH (o de NADPH) (Fab I). Las rondas adicionales de este ciclo, que añaden dos átomos de carbono por ciclo, conducirían finalmente a la palmitoil-ACP (16C), donde el ciclo se detiene debido principalmente a una inhibición por retroalimentación de la Fab I por parte de la palmitoil-ACP. Por lo tanto, se cree que la Fab I es una importante enzima biosintética y es un punto regulador clave en la ruta sintética global de la biosíntesis bacteriana de ácidos grasos.

**[0005]** En algunas bacterias, la etapa final de la biosíntesis de ácidos grasos está catalizada únicamente por la Fab I, en otras por la Fab K, una reductasa dependiente de NADH y de FMN, e incluso otras utilizan tanto la Fab I como la Fab K. La presente invención proporciona, en parte, compuestos y composiciones con propiedades inhibitoras de la Fab I.

**Resumen de la invención**

**[0006]** En parte, la presente invención está dirigida a compuestos con propiedades inhibitoras de la Fab I, así como de otras enzimas. Otros usos para los compuestos y composiciones en cuestión serán fácilmente discernibles por los expertos en la técnica.

**[0007]** En parte, la presente invención está dirigida a compuestos que afectarán a múltiples especies, los denominados antibacterianos de "amplio espectro". Alternativamente, pueden identificarse compuestos en cuestión que son selectivos para una o más especies bacterianas o de otros no mamíferos y no para una o más especies de mamíferos (especialmente el ser humano).

**[0008]** En parte, la presente invención está dirigida a composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto con propiedades inhibitoras de la Fab I.

**[0009]** Las composiciones en cuestión pueden administrarse mediante uno de una diversidad de medios conocidos por los expertos en la técnica. Los compuestos en cuestión pueden prepararse según se describe en este documento y como conocen los expertos en la técnica.

5

**[0010]** La actividad antimicrobiana de célula completa de las composiciones antibacterianas de la presente invención puede determinarse mediante una microdilución en caldo mediante el uso del procedimiento recomendado en los National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), Documento M7-A5, "Methods for Dilution Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically". Las composiciones de la presente invención pueden ensayarse, por ejemplo, en diluciones duplicadas sucesivas que varían entre 0,06 y 32 mcg/ml. En cada ensayo puede evaluarse un grupo de hasta 12 cepas bacterianas o más. Un grupo puede consistir, por ejemplo, en las siguientes cepas de laboratorio: *Enterococcus faecalis* 29212, *Staphylococcus aureus* 29213, *Staphylococcus aureus* 43300, *Moraxella catarrhalis* 49143, *Haemophilus influenzae* 49247, *Streptococcus pneumoniae* 49619, *Staphylococcus epidermidis* 1024939, *Staphylococcus epidermidis* 1024961, *Escherichia coli* AG100 (AcrAB<sup>+</sup>), *Escherichia coli* AG100A (AcrAB<sup>-</sup>), *Pseudomonas aeruginosa* K767 (MexAB<sup>+</sup>, OprM<sup>+</sup>), *Pseudomonas aeruginosa* K1119 (MexAB<sup>-</sup>, OprM<sup>-</sup>). Después puede determinarse la concentración inhibitoria mínima (MIC) como la menor concentración de la composición en cuestión que inhibió un crecimiento visible. Puede usarse un espectrofotómetro para ayudar a la determinación de punto final de la MIC.

**[0011]** Algunos ejemplos no limitantes de bacterias con las que pueden usarse los compuestos o las composiciones antibacterianas de la presente invención para destruir o inhibir su crecimiento incluyen un miembro del género *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Bordetella*, *Corynebacterium*, *Mycobacterium*, *Neisseria*, *Haemophilus*, *Actinomycetes*, *Streptomyces*, *Nocardia*, *Enterobacter*, *Yersinia*, *Francisella*, *Pasturella*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Erysipelothrix*, *Branhamella*, *Actinobacillus*, *Streptobacillus*, *Listeria*, *Calymmatobacterium*, *Brucella*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Treponema*, *Escherichia*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Vibrio*, *Proteus*, *Erwinia*, *Borrelia*, *Leptospira*, *Spirillum*, *Campylobacter*, *Shigella*, *Legionella*, *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Rickettsia*, *Chlamydia*, *Borrelia*, *Propionibacterium acnes* y *Mycoplasma* y que adicionalmente incluyen, pero no se limitan a, un miembro de la especie o del grupo, *Streptococcus* del Grupo A, *Streptococcus* del Grupo B, *Streptococcus* del Grupo C, *Streptococcus* del Grupo D, *Streptococcus* del Grupo G, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus faecium*, *Streptococcus durans*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *coagulase negative Staphylococci*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Gardnerella vaginalis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium ulcerans*, *Mycobacterium leprae*, *Actinomycetes israelii*, *Listeria monocytogenes*, *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis*, *Bordetella bronchiseptica*, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus aegyptius*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Haemophilus ducreyi*, *Bordetella*, *Salmonella typhi*, *Citrobacter freundii*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Yersinia pestis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Serratia liquefaciens*, *Vibrio cholera*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Francisella tularensis*, *Brucella abortus*, *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium tetani*, *Clostridium botulinum*, *Treponema pallidum*, *Rickettsia rickettsii*, *Helicobacter pylori* o *Chlamydia trachomatis*.

40

**[0012]** En otro aspecto, los compuestos o las composiciones en cuestión pueden usarse para el tratamiento de infecciones bacterianas.

**[0013]** En ciertas formas de realización, la presente invención proporciona las composiciones antibacterianas de la presente invención y métodos de uso de las mismas, para la reducción y el alivio de al menos uno de los trastornos o afecciones causadas por bacterias basándose en un régimen terapéutico. En ciertos aspectos, la presente invención contempla el seguimiento de dichos trastornos o afecciones como parte de cualquier régimen terapéutico, que puede ser administrado a corto plazo y/o a largo plazo. Estos aspectos de la invención pueden ser particularmente útiles en los regímenes de cuidados preventivos.

50

**[0014]** En otro aspecto de la presente invención, los compuestos o las composiciones antibacterianas de la presente invención pueden usarse en la preparación de un medicamento para el tratamiento de cualquiera de las anteriores afecciones o enfermedades relacionadas con bacterias. En ciertas formas de realización, la presente invención se refiere a un método para la formulación de los compuestos de la presente invención en un portador o un excipiente farmacéuticamente aceptable.

55

**[0015]** En parte, la presente invención también se refiere a inhibidores y a composiciones que comprenden inhibidores de las enzimas similares a la Fab I, tanto estructural como funcionalmente, tales como, por ejemplo, la Fab K, de la que también se cree que juega un papel en la síntesis bacteriana de ácidos grasos.

[0016] En otro aspecto de la presente invención, los compuestos antibacterianos de la presente invención pueden usarse para desinfectar una superficie inanimada mediante la administración del compuesto antibacteriano en la superficie inanimada.

5

[0017] Para su infusión intravenosa continua, por ejemplo, por goteo o por bombeo, el agente antibacteriano puede proporcionarse en una disolución o en una suspensión diluida estéril (conjuntamente en lo sucesivo "disolución inyectable i.v."). La disolución inyectable i.v. puede formularse de forma que la cantidad de agente antibacteriano (o de agentes antibacterianos) proporcionada en una disolución de 1 l proporcionaría una dosis si se administra durante 15 minutos o menos, de al menos la dosis eficaz media, o menos de 100 veces la  $DE_{50}$ , o menos de 10 ó 5 veces la  $DE_{50}$ . La disolución inyectable i.v. puede formularse de forma que la cantidad total de agente antibacteriano (o de agentes antibacterianos) proporcionada en una disolución de 1 l administrada durante 60, 90, 120 ó 240 minutos proporcionaría una dosis  $DE_{50}$  a un paciente, o menos de 100 veces la  $DE_{50}$ , o menos de 10 ó 5 veces la  $DE_{50}$ . En otras formas de realización, una única "bolsa" i.v. proporciona aproximadamente entre 0,25 mg y 5.000 mg de agente antibacteriano por litro de disolución por vía i.v., o entre 0,25 mg y 2.500 mg, o entre 0,25 mg y 1.250 mg.

[0018] En otra forma de realización de la invención será deseable incluir regímenes o kits de seguimiento o de diagnóstico con los compuestos o los métodos antibacterianos en cuestión basados en los inhibidores de la Fab I descritos en este documento, y las instrucciones de uso de estas composiciones o métodos.

20

[0019] En otro aspecto, la presente invención también proporciona kits que contienen al menos una dosis de una composición en cuestión y a menudo muchas dosis y otros materiales para un régimen de tratamiento. Por ejemplo, en una forma de realización, un kit de la presente invención contiene la composición en cuestión suficiente para entre cinco y treinta días y opcionalmente el equipo y los suministros necesarios para la medición de uno o más índices relevantes para el régimen de tratamiento. En otra forma de realización, los kits de la presente invención contienen todo los materiales y los suministros, incluyendo las composiciones en cuestión, para llevar a cabo cualquier método de la presente invención. En otra forma de realización más, los kits de la presente invención, como se ha descrito anteriormente, incluyen adicionalmente instrucciones para el uso y la administración de las composiciones en cuestión.

30

[0020] La dosis puede elegirse para que module el metabolismo de las bacterias de forma que inhiba o detenga el crecimiento de dichas bacterias o que destruya dichas bacterias. El artesano experto puede identificar esta cantidad como se proporciona en este documento, así como mediante el uso de otros métodos conocidos en la técnica.

35

[0021] Como se ha explicado con más detalle en este documento, la invención permitirá fácilmente el diseño y la implementación de ensayos en animales de sangre caliente, incluyendo seres humanos y mamíferos, necesarios para la fácil determinación o adaptación de la forma y la dosis para cualquier composición de la presente invención.

40

[0022] Estas formas de realización de la presente invención, otras formas de realización y sus rasgos y características, serán evidentes a partir de la descripción, los dibujos y las reivindicaciones que siguen.

### **Breve descripción de los dibujos**

45

[0023]

La **Figura 1** representa el ciclo de biosíntesis bacteriana de ácidos grasos a través de un sistema de Tipo II o de sintasa de ácidos grasos disociados.

50

La **Figura 2** representa una vista simplificada de un núcleo de ene-amida flanqueado por fracciones de LHS (lado izquierdo) y de RHS (lado derecho).

La **Figuras 3 a - e** representan algunos ejemplos no limitantes de los compuestos de la presente invención.

55

### **Descripción detallada de la invención**

#### Introducción

**[0024]** La presente invención está dirigida en parte hacia nuevas composiciones que inhiben enzimas bacterianas y a métodos de elaboración y de uso de las mismas. En ciertos aspectos, los inhibidores y otros compuestos de la invención pueden encontrarse mediante un trabajo de química medicinal guiado por estructura.

5 **[0025]** Se cree que la biosíntesis bacteriana de ácidos grasos se produce a través de un sistema de Tipo II o de sintasa de ácidos grasos disociados, al contrario que el sistema de Tipo I de los mamíferos. Se cree que el proceso global se produce en dos etapas - inicio y alargamiento cíclico. La reductasa de la enoil-ACP es parte del ciclo de alargamiento, en el que la malonil-ACP es condensada con una cadena de acilo mediante la sintasa de la β-cetoacil-ACP (Fab B, Fab F, Fab IT). El β-cetoéster es reducido por la reductasa de la β-cetoacil-ACP, que después  
10 es deshidratada a la acil-ACP trans-insaturada. Entonces la acil-ACP trans-insaturada es reducida por la reductasa de la enoil-ACP (véase la Figura 1).

**[0026]** Se cree que la etapa de la reductasa de la enoil-ACP es realizada por la Fab I en *E. coli* y en otros organismos gramnegativos y estafilococos. En ciertos organismos grampositivos existen parálogos de la Fab I. En  
15 *Streptococcus pneumoniae*, se cree que la etapa enzimática es realizada por la proteína Fab K, que tiene una homología limitada con la proteína Fab I de *S. aureus*. En *B. subtilis* y en *E. faecalis*, existen genes que codifican tanto para Fab I como para Fab K. En *Mycobacterium tuberculosis* existe un parálogo de la Fab I denominado InhA.

**[0027]** Se cree que la reductasa de la enoil-ACP es el objetivo enzimático del producto antimicrobiano  
20 triclosan.

**[0028]** En ciertas formas de realización, el diseño de nuevos análogos con propiedades inhibitoras de la Fab I se basa en considerar los análogos como consistentes en una acrilamida central flanqueada por dos grupos relativamente hidrófobos, denominados convenientemente lado izquierdo (LHS) y lado derecho (RHS) según se  
25 establece en la Solicitud de Patente Provisional de EE.UU. 60/431.406. Esto está representado esquemáticamente en la Figura 2, en la que una estructura de tipo mancuerna proporciona una forma de ver algunas de las composiciones en cuestión (las desconexiones del enlace central que se contemplan en sentido retrosintético se muestran con líneas discontinuas).

### 30 Definiciones

**[0029]** Por conveniencia, antes de una descripción adicional de la presente invención, se recogen aquí ciertos términos empleados en la memoria descriptiva, los ejemplos y las reivindicaciones anexas. Estas definiciones deben ser leídas a la luz del resto de la desvelación y ser comprendidas como por una persona experta en la técnica. Salvo  
35 que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en este documento tienen el mismo significado al comprendido habitualmente por una persona experta habitual en la técnica.

**[0030]** Los artículos "un" y "uno/a" se usan en este documento para referirse a uno o a más de uno (es decir, a al menos uno) del objeto gramático del artículo. A modo de ejemplo, "un elemento" significa un elemento o más de  
40 un elemento.

**[0031]** Los términos "comprende" y "que comprende" se usan en el sentido abierto e inclusivo, lo que significa que pueden incluirse elementos adicionales.

45 **[0032]** El término "incluyendo" se usa para que signifique "incluyendo, pero no se limita a". "Incluyendo " e "incluyendo, pero no se limita a" se usan de forma intercambiable.

**[0033]** El término "Fab I" está reconocido en la técnica y se refiere a la enzima bacteriana que supuestamente funciona como una reductasa de la proteína portadora de enoil-acilo (ACP) en la etapa final de las cuatro reacciones  
50 implicadas en cada ciclo de biosíntesis bacteriana de ácidos grasos. Se cree que esta enzima está ampliamente distribuida en bacterias y plantas.

**[0034]** El término "inhibidor enzimático" se refiere a cualquier compuesto que impida que una enzima lleve a cabo de forma eficaz su respectiva función bioquímica. Por lo tanto, "un inhibidor de la Fab I" es cualquier  
55 compuesto que inhibe la Fab I impidiendo que lleve a cabo su función bioquímica. La cantidad de inhibición de la enzima por parte de cualquier compuesto variará, y se describe en este documento y en otros sitios.

**[0035]** El término "agente antibiótico" debe significar cualquier fármaco que sea útil para el tratamiento, la prevención o cualquier otra reducción de la gravedad de cualquier trastorno bacteriano, o cualquier complicación del

mismo, incluyendo cualquiera de las afecciones, enfermedades o complicaciones que aparecen a partir del mismo y/o descritas en este documento. Algunos agentes antibióticos incluyen, por ejemplo, cefalosporinas, quinolonas y fluoroquinolonas, penicilinas, inhibidores de penicilinas y beta lactamasa, carbapenems, monobactams, macrólidos y lincosaminas, glucopéptidos, rifampina, oxazolidononas, tetraciclina, aminoglucósidos, estreptograminas, sulfonamidas y similares. Otras categorías generales de agentes antibióticos que pueden ser parte de una composición en cuestión incluyen aquellos agentes conocidos por los expertos en la técnica como antibióticos y que se califican como (estando los términos definidos entre comillas): "artículos farmacológicos" reconocidos en la Farmacopea Oficial de los Estados Unidos o en el Formulario Nacional oficial (o en cualquier suplemento de los mismos); "nuevo fármaco" y "nuevo fármaco animal" aprobado por la FDA de los Estados Unidos, así como aquellos términos que se usan en el Título 21 del Código de los Estados Unidos; cualquier fármaco que requiera la aprobación de una entidad gubernamental, en los Estados Unidos o en el extranjero ("fármaco aprobado"); cualquier fármaco para el cual sea necesaria la obtención de la aprobación sanitaria para que sea conforme con 21 U.S.C. §355(a) "fármaco aprobado por las autoridades sanitarias"; cualquier agente que sea o haya sido sujeto de aplicación farmacológica en seres humanos bajo el 21 U.S.C. §379(g) ("fármaco humano"). (Todas las referencias al código estatutario para esta definición se refieren a dicho código en su fecha de publicación original de esta solicitud provisional). En este documento se desvelan otros agentes antibióticos y son conocidos por los expertos en la técnica. En ciertas formas de realización, el término "agente antibiótico" no incluye un agente que es un inhibidor de la Fab I, por lo que las combinaciones de la presente invención incluirán en ciertos casos un agente que es un inhibidor de la Fab I y otro agente que no lo es.

20 **[0036]** El término "sinérgico" está reconocido en la técnica y se refiere a dos o más componentes que trabajan conjuntamente de forma que el efecto total es mayor que la suma de los efectos de los componentes.

**[0037]** El término "enfermedad", según se usa en el presente documento, se refiere a cualquier enfermedad causada o relacionada con una infección por un organismo.

**[0038]** El término "infección bacteriana", según se usa en el presente documento, se refiere a cualquier enfermedad causada o relacionada con una infección por bacterias.

30 **[0039]** El término "polinucleótido(s)" está reconocido en la técnica y se refiere a cualquier polirribonucleótido o polidesoxirribonucleótido, que puede ser ARN o ADN sin modificar o ARN o ADN modificado. Algunos "polinucleótido(s)" incluyen, sin limitación, ADN mono y bicatenario, ADN que es una mezcla de regiones mono y bicatenarias o de regiones mono, bi y tricatenarias, ARN mono y bicatenario y ARN que es una mezcla de regiones mono y bicatenarias, moléculas híbridas que comprenden ADN y ARN que pueden ser monocatenarios o, más típicamente, regiones bicatenarias o tricatenarias, o una mezcla de regiones mono y bicatenarias. Además, "polinucleótido", según se usa en el presente documento, se refiere a regiones tricatenarias que comprenden ARN o ADN o tanto ARN como ADN. Las hebras de dichas regiones pueden proceder de la misma molécula o de moléculas diferentes. Las regiones pueden incluir todas de una o más de las moléculas, pero más típicamente implican únicamente una región de algunas de las moléculas. Una de las moléculas de una región tricatenaria es a menudo un oligonucleótido. Según se usa en este documento, el término "polinucleótido(s)" también incluye ADNs o ARNs como se ha descrito anteriormente que comprenden una o más bases modificadas. Por lo tanto, los ADNs o los ARNs con los esqueletos modificados por razones de estabilidad o por otras razones son "polinucleótido(s)" como se entiende ese término en este documento. Además, los ADNs o los ARNs que comprenden bases no habituales tales como inosina, o bases modificadas tales como bases tritiladas, por nombrar sólo dos ejemplos, son polinucleótidos según se usa el término en este documento. Se apreciará que se han realizado una gran variedad de modificaciones al ADN y al ARN que sirven para muchos fines útiles conocidos por los expertos en la técnica. El término "polinucleótido(s)" según se emplea en este documento engloba formas modificadas químicamente, enzimáticamente o metabólicamente de polinucleótidos, así como las formas químicas de ADN y de ARN características de virus y células, incluyendo, por ejemplo, células simples y complejas. Los "polinucleótido(s)" también engloban los polinucleótidos cortos denominados a menudo oligonucleótido(s).

**[0040]** El término "polipéptido(s)" está reconocido en la técnica y se refiere a cualquier péptido o proteína que comprenda dos o más aminoácidos unidos entre sí por enlaces peptídicos o por enlaces peptídicos modificados. "Polipéptido(s)" se refiere tanto a cadenas cortas, denominadas habitualmente péptidos, oligopéptidos y oligómeros, como a cadenas más largas denominadas generalmente proteínas. Los polipéptidos pueden comprender aminoácidos distintos a los 20 aminoácidos codificados genéticamente. Los "polipéptido(s)" incluyen aquellos modificados tanto por procesos naturales, tales como el procesado y otras modificaciones postraduccionales, como también por técnicas de modificación química. Dichas modificaciones están bien descritas en los textos básicos y en monografías más detalladas, así como en la voluminosa bibliografía de investigación, y son bien conocidas por los

expertos en la técnica. Se apreciará que el mismo tipo de modificación puede estar presente en el mismo grado o en un grado variable en diversos sitios de un polipéptido dado. También, un polipéptido dado puede comprender muchos tipos de modificaciones. Las modificaciones pueden producirse en cualquier parte de un polipéptido, incluyendo el esqueleto peptídico, las cadenas laterales de aminoácidos y los terminales amino o carboxilo. Algunas modificaciones incluyen, por ejemplo, acetilación, acilación, ribosilación de ADP, amidación, unión covalente de flavina, unión covalente de una fracción hemo, unión covalente de un nucleótido o de un derivado nucleotídico, unión covalente de un lípido un derivado lipídico, unión covalente de fosfatidilinositol, reticulación, ciclación, formación de puentes de disulfuro, desmetilación, formación de reticulaciones covalentes, formación de cisteína, formación de piroglutamato, formilación, carboxilación gamma, formación de anclas de GPI, hidroxilación, yodación, metilación, miristoilación, oxidación, procesado proteolítico, fosforilación, prenilación, racemización, glucosilación, unión de lípidos, sulfación, carboxilación gamma de residuos de ácido glutámico, hidroxilación y ribosilación de ADP, selenilación, sulfación, adición mediada por ARN de transferencia de aminoácidos a proteínas, tales como arginilación y ubiquitinación. Véase, por ejemplo, PROTEINS - STRUCTURE AND MOLECULAR PROPERTIES. 2ª Ed., T. E. Creighton, W. H. Freeman y Company, Nueva York (1993) y Wold, F., Posttranslational Protein Modifications: Perspectives and Prospects, págs. 1 - 12 en POSTTRANSLATIONAL COVALENT MODIFICATION OF PROTEINS, B. C. Johnson, Ed., Academic Press, Nueva York (1983); Seifter y col., Meth. Enzymol. 182: 626 - 646 (1990) y Rattan y col., Protein Synthesis: Posttranslational Modifications and Aging, Ann. N.Y. Acad. Sci. 663: 48 - 62 (1992). Los polipéptidos pueden ser ramificados o cíclicos, con o sin ramificaciones. Los polipéptidos cíclicos, ramificados y circulares ramificados pueden ser el resultado de procesos postraduccionales naturales y pueden estar elaborados también mediante métodos completamente sintéticos.

**[0041]** El término "cis" está reconocido en la técnica y se refiere a la disposición de los átomos o grupos alrededor de un doble enlace tal que los átomos o los grupos están en el mismo lado del doble enlace. Las configuraciones cis se marcan a menudo como configuraciones (Z).

**[0042]** El término "trans" está reconocido en la técnica y se refiere a la disposición de los átomos o grupos alrededor de un doble enlace tal que los átomos o los grupos están en los lados opuestos de un doble enlace. Las configuraciones trans se marcan a menudo como configuraciones (E).

**[0043]** El término "enlace covalente" está reconocido en la técnica y se refiere a un enlace entre dos átomos en el que los electrones son atraídos electrostáticamente por ambos núcleos de los dos átomos y el efecto neto del aumento de la densidad electrónica entre los núcleos contrarresta la repulsión internuclear. El término enlace covalente incluye enlaces coordinados en los que el enlace es con un ión metálico.

**[0044]** El término "agente terapéutico" está reconocido en la técnica y se refiere a cualquier fracción química que es una sustancia biológicamente, fisiológicamente o farmacológicamente activa que actúa localmente o sistémicamente en un sujeto. Algunos ejemplos de agentes terapéuticos, también denominados "fármacos", se describen en referencias bibliográficas bien conocidas tales como el Índice Merck, el Physicians Desk Reference y el The Pharmacological Basis of Therapeutics, e incluyen, sin limitación, medicamentos; vitaminas; suplementos minerales; sustancias usadas para el tratamiento, la prevención, el diagnóstico, la curación o la mitigación de una enfermedad o de una patología; sustancias que afectan a la estructura o a la función del cuerpo; o profármacos, que se vuelven biológicamente activos o más activos después de que han sido expuestos a un entorno fisiológico. Los agentes antibióticos y los inhibidores de la Fab I / Fab K son ejemplos de agentes terapéuticos.

**[0045]** El término "efecto terapéutico" está reconocido en la técnica y se refiere a un efecto local o sistémico en animales, particularmente en mamíferos y más particularmente en seres humanos, causado por una sustancia farmacológicamente activa. El término significa por tanto cualquier sustancia destinada a su uso en el diagnóstico, la cura, la mitigación, el tratamiento o la prevención de una enfermedad, o en la mejora de un desarrollo físico o mental deseable y/o en afecciones en un animal o en un ser humano. La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" significa esa cantidad de dicha sustancia que produce algún efecto local o sistémico deseado con una proporción riesgo / beneficio razonable aplicable a cualquier tratamiento. La cantidad terapéuticamente eficaz de dicha sustancia variará dependiendo del sujeto y del estado patológico que se va a tratar, del peso y de la edad del sujeto, de la gravedad del estado patológico, de la forma de administración y similares, que pueden ser fácilmente determinadas por el experto habitual en la técnica. Por ejemplo, ciertas composiciones de la presente invención pueden ser administradas en una cantidad suficiente para producir dicho tratamiento o con una proporción riesgo / beneficio razonable.

**[0046]** Los términos "colección combinatoria" o "colección" están reconocidos en la técnica y se refieren a una pluralidad de compuestos, que pueden denominarse "miembros," sintetizados o preparados de otro modo a partir de

uno o más materiales de partida mediante el empleo de reactivos iguales o diferentes o de unas condiciones de reacción en cada reacción de la colección. Existen otros varios términos de relevancia relativos a las colecciones combinatorias (así como a otras tecnologías). El término "etiqueta identificadora" está reconocido en la técnica y se refiere a un medio para registrar una etapa en una serie de reacciones usadas en la síntesis de una colección química. El término "inmovilizado" está reconocido en la técnica y, cuando se usa con respecto a una especie, se refiere a una condición en la que la especie está unida a una superficie con una fuerza de atracción mayor que las fuerzas de atracción que están presentes en el entorno previsto de uso de la superficie y que actúan sobre la especie. El término "soporte sólido" está reconocido en la técnica y se refiere a un material que es una matriz insoluble y que puede tener (opcionalmente) una superficie rígida o semirrígida. El término "conector" está reconocido en la técnica y se refiere a una molécula o grupo de moléculas que conectan un soporte, incluyendo un soporte sólido o un soporte polimérico y un miembro de una colección combinatoria. El término "soporte polimérico" está reconocido en la técnica y se refiere a un polímero soluble o insoluble al que puede unirse covalentemente una fracción química mediante la reacción con un grupo funcional del soporte polimérico. El término "grupo funcional del soporte polimérico" está reconocido en la técnica y se refiere a una fracción química de un soporte polimérico que puede reaccionar con una fracción química para formar un éster amino soportado sobre el polímero.

**[0047]** El término "sintético" está reconocido en la técnica y se refiere a una producción mediante síntesis enzimática o química *in vitro*.

**[0048]** El término "compuesto meso" está reconocido en la técnica y se refiere a un compuesto químico que tiene al menos dos centros quirales pero que es aquiral debido a un plano o un punto de simetría.

**[0049]** El término "quiral" está reconocido en la técnica y se refiere a moléculas que tienen la propiedad de no ser superponibles sobre la imagen especular del compañero, mientras que el término "aquiral" se refiere a moléculas que son superponibles sobre la imagen especular de su compañero. Una "molécula proquiral" es una molécula que tiene el potencial de ser convertida en una molécula quiral en un proceso en particular.

**[0050]** El término "estereoisómeros" está reconocido en la técnica y se refiere a compuestos que tienen una constitución química idéntica pero difieren con respecto a la ordenación de los átomos o los grupos en el espacio. En particular, "enantiómeros" se refiere a dos estereoisómeros de un compuesto que son imágenes especulares no superponibles entre sí. Por otro lado, "diastereómeros" se refiere a estereoisómeros con dos o más centros de asimetría y cuyas moléculas no son imágenes especulares entre sí.

**[0051]** Adicionalmente, un "proceso estereoselectivo" es aquel que produce un estereoisómero en particular de un producto de reacción con preferencia sobre otros posibles estereoisómeros de ese producto. Un "proceso enantioselectivo" es aquel que favorece la producción de uno de los dos posibles enantiómeros de un producto de reacción.

**[0052]** El término "regioisómeros" está reconocido en la técnica y se refiere a compuestos que tienen la misma fórmula molecular pero difieren en la conectividad de los átomos. Consecuentemente, un "proceso regioselectivo" es aquel que favorece la producción de un regioisómero en particular con respecto a los demás, por ejemplo, la reacción produce un aumento estadísticamente significativo en el rendimiento de un cierto regioisómero.

**[0053]** El término "epímeros" está reconocido en la técnica y se refiere a moléculas con una constitución química idéntica y que contienen más de un estereocentro, pero que difieren en la configuración de únicamente uno de estos estereocentros.

**[0054]** El término "DE<sub>50</sub>" está reconocido en la técnica. En ciertas formas de realización, la DE<sub>50</sub> significa la dosis de un fármaco que produce el 50 % de su respuesta o efecto máximo, o como alternativa, la dosis que produce una respuesta predeterminada en el 50 % de los sujetos o preparaciones de prueba. El término "DL<sub>50</sub>" está reconocido en la técnica. En ciertas formas de realización, DL<sub>50</sub> significa la dosis de un fármaco que es letal en el 50 % de los sujetos de prueba. El término "índice terapéutico" es un término reconocido en la técnica que se refiere al índice terapéutico de un fármaco, definido como DL<sub>50</sub> / D<sub>50</sub>.

**[0055]** El término "K<sub>i</sub>" está reconocido en la técnica y se refiere a la constante de disociación del complejo enzima-inhibidor.

**[0056]** El término "antimicrobiano" está reconocido en la técnica y se refiere a la capacidad de los compuestos de la presente invención de prevenir, inhibir o destruir el crecimiento de microbios tales como bacterias, hongos,



protozoos y virus.

**[0057]** El término "antibacteriano" está reconocido en la técnica y se refiere a la capacidad de los compuestos de la presente invención de prevenir, inhibir o destruir el crecimiento de microbios de bacterias.

5

**[0058]** El término "microbio" está reconocido en la técnica y se refiere a un organismo microscópico. En ciertas formas de realización el término microbio se aplica a bacterias. En otras formas de realización el término se refiere a formas patógenas del organismo microscópico.

10 **[0059]** El término "profármaco" está reconocido en la técnica y pretende incluir compuestos que, en condiciones fisiológicas, se convierten en los agentes antibacterianos de la presente invención. Un método habitual para la elaboración de un profármaco es seleccionar fracciones que son hidrolizadas en condiciones fisiológicas para proporcionar el compuesto deseado. En otras formas de realización, el profármaco es convertido por una actividad enzimática del animal hospedador o de la bacteria objetivo.

15

**[0060]** El término "relación estructura-actividad" o "(SAR)" está reconocido en la técnica y se refiere a la forma en la que mediante la alteración de la estructura molecular de un fármaco o de otro compuesto, se altera su interacción con un receptor, una enzima, un ácido nucleico u otro objetivo, enzima y similares.

20 **[0061]** El término "alifático" está reconocido en la técnica y se refiere a un alcano, alqueno o alquino lineal, ramificado, cíclico. En ciertas formas de realización, los grupos alifático de la presente invención son lineales o ramificados y tienen desde 1 hasta aproximadamente 20 átomos de carbono.

**[0062]** El término "alquilo" está reconocido en la técnica, e incluye grupos alifáticos saturados, incluyendo  
25 grupos alquilo de cadena lineal, grupos alquilo de cadena ramificada, grupos cicloalquilo (alíclicos), grupos cicloalquilo sustituidos con alquilo y grupos alquilo sustituidos con cicloalquilo. En ciertas formas de realización, un alquilo de cadena lineal o de cadena ramificada tiene aproximadamente 30 o menos átomos de carbono en su esqueleto (por ejemplo, C<sub>1</sub>-C<sub>30</sub> para la cadena lineal, C<sub>3</sub>-C<sub>30</sub> para la cadena ramificada) y como alternativa, aproximadamente 20 o menos. Asimismo, los cicloalquilos tienen entre aproximadamente 3 y aproximadamente 10  
30 átomos de carbono en su estructura anular y como alternativa, aproximadamente 5, 6 ó 7 carbonos en la estructura anular. El término "alquilo" también se define para incluir alquilos halosustituidos.

**[0063]** Además, el término "alquilo" (o "alquilo inferior") incluye "alquilos sustituidos", que se refiere a  
35 fracciones de alquilo que tienen sustituyentes que sustituyen a un hidrógeno en uno o más carbonos del esqueleto hidrocarbonado. Dichos sustituyentes pueden incluir, por ejemplo, un hidroxilo, un carbonilo (tal como un carboxilo, un alcocarbonilo, un formilo o un acilo), un tiocarbonilo (tal como un tioéster, un tioacetato o un tioformiato), un alcóxilo, un fosforilo, un fosfonato, un fosfinato, un amino, un amido, una amidina, una imina, un ciano, un nitro, un azido, un sulfhidrilo, un alquiltio, un sulfato, un sulfonato, un sulfamoilo, un sulfonamido, un sulfonilo, un heterociclico, un aralquilo o una fracción aromática o heteroaromática. Los expertos en la técnica comprenderán que las  
40 fracciones sustituidas de la cadena hidrocarbonada pueden estar asimismo sustituidas, si fuera apropiado. Por ejemplo, los sustituyentes de un alquilo sustituido pueden incluir formas sustituidas y no sustituidas de grupos amino, azido, imino, amido, fosforilo (incluyendo fosfonato y fosfinato), sulfonilo (incluyendo sulfato, sulfonamido, sulfamoilo y sulfonato) y sililo, así como éteres, alquiltios, carbonilos (incluyendo cetonas, aldehídos, carboxilatos y ésteres), -CN y similares. Algunos ejemplos de alquilos sustituidos se describen a continuación. Los cicloalquilos pueden estar  
45 adicionalmente sustituidos con alquilos, alquenos, alcóxidos, alquiltios, aminoalquilos, alquilos sustituidos con carbonilo, -CN y similares.

**[0064]** El término "aralquilo" está reconocido en la técnica y se refiere a un grupo alquilo sustituido con un grupo arilo (por ejemplo, un grupo aromático o heteroaromático).

50

**[0065]** Los términos "alqueno" y "alquino" están reconocidos en la técnica y se refieren a grupos alifáticos insaturados análogos en la longitud y en la posible sustitución con los alquilos descritos anteriormente, pero que contienen al menos un enlace doble o triple, respectivamente.

55 **[0066]** Salvo que de otro modo se especifique el número de carbonos, "alquilo inferior" se refiere a un grupo alquilo, como se ha definido anteriormente, pero con entre uno y aproximadamente diez carbonos, como alternativa entre uno y aproximadamente seis átomos de carbono en su estructura del esqueleto. Asimismo, "alqueno inferior" y "alquino inferior" tienen unas longitudes de cadena similares.

**[0067]** El término "heteroátomo" está reconocido en la técnica y se refiere a un átomo de cualquier elemento distinto al carbono o al hidrógeno. Algunos heteroátomos ilustrativos incluyen boro, nitrógeno, oxígeno, fósforo, azufre y selenio.

5 **[0068]** El término "arilo" está reconocido en la técnica y se refiere grupos aromáticos con un único anillo de 5, 6 y 7 miembros que pueden incluir entre cero y cuatro heteroátomos, por ejemplo, benceno, pirrol, furano, tiofeno, imidazol, oxazol, tiazol, triazol, pirazol, piridina, piracina, piridacina y pirimidina y similares. Aquellos grupos arilo con heteroátomos en la estructura anular también pueden denominarse "heteroarilo" o "heteroaromáticos". El anillo aromático puede estar sustituido en una o más posiciones del anillo con sustituyentes tales como los descritos  
10 anteriormente, por ejemplo, halógeno, azida, alquilo, aralquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, hidroxilo, alcoxilo, amino, nitro, sulfhidrilo, imino, amido, fosfonato, fosfinato, carbonilo, carboxilo, sililo, éter, alquiltio, sulfonilo, sulfonamido, cetona, aldehído, éster, heterociclilo, fracciones aromáticas o heteroaromáticas, -CF<sub>3</sub>, -CN, o similares. El término "arilo" también incluye sistemas anulares policíclicos con dos o más anillos en los que dos o más  
15 carbonos son comunes para dos anillos adyacentes (los anillos son "anillos fusionados") en los que al menos uno de los anillos es aromático, por ejemplo, los otros anillos cíclicos pueden ser cicloalquilos, cicloalquenilos, cicloalquinilos, arilos y/o heterociclilos.

**[0069]** Los términos *orto*, *meta* y *para* están reconocidos en la técnica y se refieren a bencenos disustituídos en 1,2, 1,3 y 1,4, respectivamente. Por ejemplo, los nombres 1,2-dimetilbenceno y orto-dimetilbenceno son  
20 sinónimos.

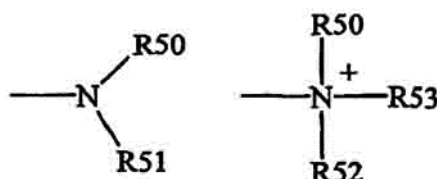
**[0070]** Los términos "heterociclilo" o "grupo heterocíclico" están reconocidos en la técnica y se refieren a estructuras anulares de ente 3 y aproximadamente 10 miembros, como alternativa, anillos con entre 3 y aproximadamente 7 miembros, cuyas estructuras anulares incluyen entre uno y cuatro heteroátomos. Los  
25 heterociclos también pueden ser policiclos. Algunos grupos heterociclilo incluyen, por ejemplo, tiofeno, tiantreno, furano, pirano, isobenzofurano, cromeno, xanteno, fenoxanteno, pirrol, imidazol, pirazol, isotiazol, isoxazol, piridina, piracina, pirimidina, piridacina, indolizina, isoindol, indol, indazol, purina, quinolizina, isoquinolina, quinolina, ftalacina, naftiridina, quinoxalina, quinazolina, cinolina, pteridina, carbazol, carbolina, fenantridina, acridina, pirimidina, fenantrolina, fenacina, fenarsacina, fenotiacina, furazano, fenoxacina, pirrolidina, oxolano, tiolano, oxazol, piperidina,  
30 piperacina, morfolina, lactonas, lactamas tales como azetidionas y pirrolidinonas, sultams, sultonas y similares. El anillo heterocíclico puede estar sustituido en una o más posiciones con sustituyentes tales como los descritos anteriormente, como por ejemplo, halógeno, alquilo, aralquilo alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, hidroxilo, amino, nitro, sulfhidrilo, imino, amido, fosfonato, fosfinato, carbonilo, carboxilo, sililo, éter, alquiltio, sulfonilo, cetona, aldehído, éster, un heterociclilo, una fracción aromática o heteroaromática, -CF<sub>3</sub>, -CN, o similares.

35 **[0071]** Los términos "policiclilo" o "grupo policíclico" están reconocidos en la técnica y se refieren a dos o más anillos (por ejemplo, cicloalquilos, cicloalquenilos, cicloalquinilos, arilos y/o heterociclilos) en los que dos o más carbonos son comunes para dos anillos adyacentes, por ejemplo, los anillos son "anillos fusionados". Los anillos que están unidos a través de átomos no adyacentes se denominan anillos "con puente". Cada uno de los anillos del  
40 policiclo puede estar sustituido con sustituyentes tales como los descritos anteriormente, como por ejemplo, halógeno, alquilo, aralquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, hidroxilo, amino, nitro, sulfhidrilo, imino, amido, fosfonato, fosfinato, carbonilo, carboxilo, sililo, éter, alquiltio, sulfonilo, cetona, aldehído, éster, un heterociclilo, una fracción aromática o heteroaromática, -CF<sub>3</sub>, -CN, o similares.

45 **[0072]** El término "carbociclo" está reconocido en la técnica y se refiere a un anillo aromático o no aromático en el que cada átomo del anillo es carbono.

**[0073]** El término "nitro" está reconocido en la técnica y se refiere a -NO<sub>2</sub>; el término "halógeno" está reconocido en la técnica y se refiere a F, Cl, Br o I; el término "sulfhidrilo" está reconocido en la técnica y se refiere a  
50 -SH; el término "hidroxilo" significa -OH; y el término "sulfonilo" está reconocido en la técnica y se refiere a -SO<sub>2</sub>-. "Haluro" designa el correspondiente anión de los halógenos y "pseudohaluro" tiene la definición establecida en 560 de "Advanced Inorganic Chemistry" de Cotton y Wilkinson.

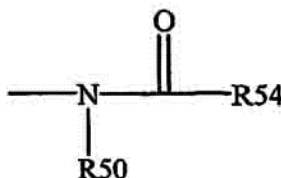
**[0074]** Los términos "amina" y "amino" están reconocidos en la técnica y se refieren a aminas tanto no  
55 sustituidas como sustituidas, por ejemplo, una fracción que puede estar representada por las fórmulas generales:



en las que R50, R51 y R52 representan cada uno independientemente un hidrógeno, un alquilo, un alquenilo,  $-(CH_2)_m-R61$ , o R50 y R51, tomados junto con el átomo de N al que están unidos, completan un heterociclo con entre 4 y 8 átomos en la estructura anular; R61 representa un arilo, un cicloalquilo, un cicloalquenilo, un heterociclo o un policiclo; y m es cero o un número entero en el intervalo de entre 1 y 8. En ciertas formas de realización, sólo uno de R50 o R51 puede ser un carbonilo, por ejemplo, R50, R51 y el nitrógeno no forman conjuntamente una imida. En otras formas de realización, R50 y R51 (y opcionalmente R52) representan cada uno independientemente un hidrógeno, un alquilo, un alquenilo o  $-(CH_2)_m-R61$ . Por lo tanto, el término "alquilamina" incluye un grupo amina, como se ha definido anteriormente, con un grupo alquilo sustituido o no sustituido unido a la misma, es decir, al menos uno de R50 y R51 es un grupo alquilo.

**[0075]** El término "acilamino" está reconocido en la técnica y se refiere a una fracción que puede estar representada por la fórmula general:

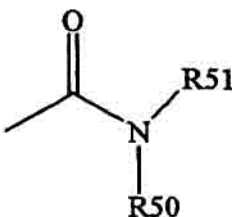
15



en la que R50 es como se ha definido anteriormente y R54 representa un hidrógeno, un alquilo, un alquenilo o  $-(CH_2)_m-R61$ , en la que m y R61 son como se han definido anteriormente.

20

**[0076]** El término "amido" está reconocido en la técnica como un carbonilo sustituido con amina e incluye una fracción que puede estar representada por la fórmula general:



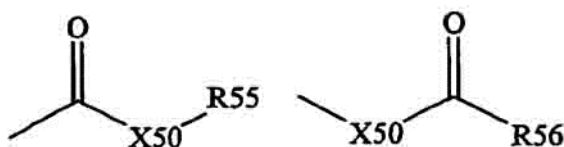
25

en la que R50 y R51 son como se han definido anteriormente. Ciertas formas de realización de la amida en la presente invención no incluirán imidas, que pueden ser inestables.

**[0077]** El término "alquiltio" se refiere a un grupo alquilo, como se ha definido anteriormente, con un radical de azufre unido al mismo. En ciertas formas de realización, la fracción "alquiltio" está representada por uno de -S-alquilo, -S-alquenilo, -S-alquinilo y  $-S-(CH_2)_m-R61$ , en la que m y R61 se han definido anteriormente. Algunos grupos alquiltio representativos incluyen metiltio, etiltio y similares.

**[0078]** El término "carbonilo" está reconocido en la técnica e incluye fracciones como las que pueden estar representadas por las fórmulas generales:

35



en las que X50 es un enlace o representa un oxígeno o un azufre y R55 y R56 representan un hidrógeno, un alquilo, un alquenilo,  $-(CH_2)_m-R61$  o una sal farmacéuticamente aceptable, R56 representa un hidrógeno, un alquilo, un alquenilo o  $-(CH_2)_m-R61$ , en la que m y R61 se han definido anteriormente. Cuando X50 es un oxígeno y R55 o R56 no son hidrógeno, la fórmula representa un "éster". Cuando X50 es un oxígeno y R55 es como se ha definido anteriormente, la fracción se denomina en este documento como un grupo carboxilo y particularmente cuando R55 es un hidrógeno, la fórmula representa un "ácido carboxílico". Cuando X50 es un oxígeno y R56 es hidrógeno, la fórmula representa un "formiato". En general, cuando el átomo de oxígeno de la fórmula anterior está sustituido por azufre, la fórmula representa un grupo "tiolcarbonilo". Cuando X50 es un azufre y R55 o R56 no son hidrógeno, la fórmula representa un "tioléster." Cuando X50 es un azufre y R55 es hidrógeno, la fórmula representa un "ácido tiolcarboxílico". Cuando X50 es un azufre y R56 es hidrógeno, la fórmula representa un "tiolformiato." Por otro lado, cuando X50 es un enlace y R55 no es hidrógeno, la fórmula anterior representa un grupo "cetona". Cuando X50 es un enlace y R55 es hidrógeno, la fórmula anterior representa un grupo "aldehído".

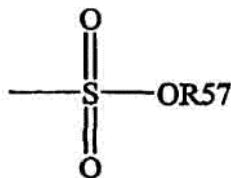
15

**[0079]** Los términos "alcoxilo" o "alcoxi" están reconocidos en la técnica y se refieren a un grupo alquilo, como se ha definido anteriormente, con un radical oxígeno unido al mismo. Algunos grupos alcoxilo representativos incluyen metoxi, etoxi, propiloxi, terc-butoxi y similares. Un "éter" es dos hidrocarburos unidos covalentemente por un oxígeno. Consecuentemente, el sustituyente de un alquilo hace que ese alquilo sea un éter o se parezca a un alcoxilo, tal y como puede estar representado por uno de  $-O$ -alquilo,  $-O$ -alquenilo,  $-O$ -alquinilo,  $-O-(CH_2)_m-R61$ , en la que m y R61 se han descrito anteriormente.

20

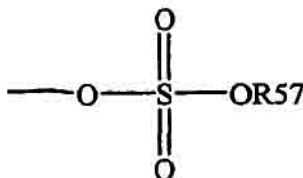
**[0080]** El término "sulfonato" está reconocido en la técnica y se refiere a una fracción que puede estar representada por la fórmula general:

25



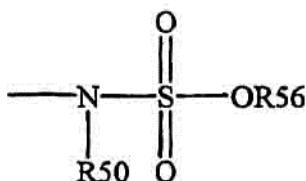
en la que R57 es un par de electrones, hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, o arilo.

30 **[0081]** El término "sulfato" está reconocido en la técnica e incluye una fracción que puede estar representada por la fórmula general:



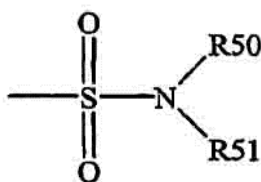
35 en la que R57 es como se ha definido anteriormente.

**[0082]** El término "sulfonamido" está reconocido en la técnica e incluye una fracción que puede estar representada por la fórmula general:



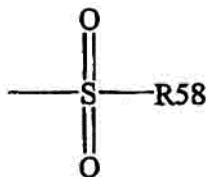
en la que R50 y R56 son como se han definido anteriormente.

- 5 **[0083]** El término "sulfamoilo" está reconocido en la técnica y se refiere a una fracción que puede estar representada por la fórmula general:



10 en la que R50 y R51 son como se han definido anteriormente.

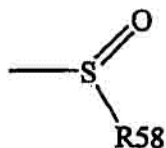
- [0084]** El término "sulfonilo" está reconocido en la técnica y se refiere a una fracción que puede estar representada por la fórmula general:



15

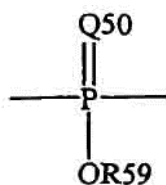
en la que R58 es uno de los siguientes: hidrógeno, alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, heterociclilo, arilo o heteroarilo.

- 20 **[0085]** El término "sulfóxido" está reconocido en la técnica y se refiere a una fracción que puede estar representada por la fórmula general:



25 en la que R58 se ha definido anteriormente.

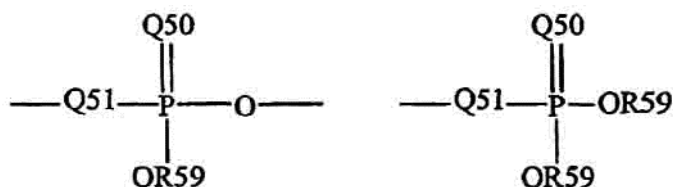
- [0086]** El término "fosforilo" está reconocido en la técnica y puede estar representada en general por la fórmula:



30

en la que Q50 representa S u O y R59 representa hidrógeno, un alquilo inferior o un arilo. Cuando se usa para

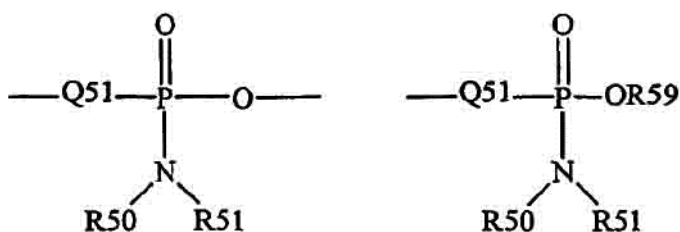
sustituir, por ejemplo, un alquilo, el grupo fosforilo del fosforilalquilo puede estar representado por las fórmulas generales:



5

en las que Q50 y R59, cada uno independientemente, se han definido anteriormente, y Q51 representa O, S o N. Cuando Q50 es S, la fracción de fosforilo es un "fosfortioato".

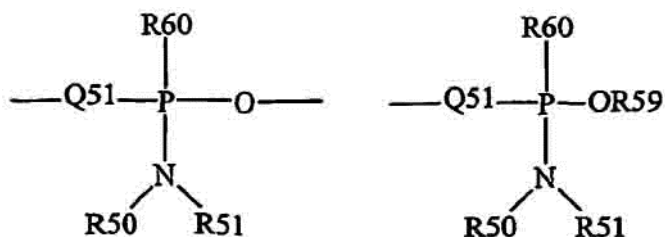
10 **[0087]** El término "fosforamidito" está reconocido en la técnica y puede estar representado en las fórmulas generales:



en las que Q51, R50, R51 y R59 son como se han definido anteriormente.

15

**[0088]** El término "fosfonamidito" está reconocido en la técnica y puede estar representado en las fórmulas generales:



20

en las que Q51, R50, R51 y R59 son como se han definido anteriormente y R60 representa un alquilo inferior o un arilo.

25 **[0089]** Pueden realizarse sustituciones análogas en grupos alquenilo y alquinilo para producir, por ejemplo, aminoalquenilos, aminoalquinilos, amidoalquenilos, amidoalquinilos, iminoalquenilos, iminoalquinilos, tioalquenilos, tioalquinilos, alquenilos o alquinilos sustituidos con carbonilo.

30 **[0090]** La definición de cada expresión, por ejemplo alquilo, m, n y similares, cuando parece más de una vez en cualquier estructura, pretende ser independiente de su definición en cualquier otra parte de la misma estructura.

35 **[0091]** El término "selenoalquilo" está reconocido en la técnica y se refiere a un grupo alquilo con un grupo seleno sustituido unido al mismo. Algunos ejemplos de "selenoéteres" que pueden estar sustituidos en el alquilo se eligen de entre uno de -Se-alquilo, -Se-alquenilo, -Se-alquinilo y -Se-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-R61, estando m y R61 definidos anteriormente.

**[0092]** Los términos triflilo, tosilo, mesilo y nonaflilo están reconocidos en la técnica y se refieren a grupos trifluorometansulfonilo, p-toluensulfonilo, metansulfonilo y nonafluorobutansulfonilo, respectivamente. Los términos triflato, tosilato, mesilato y nonaflato están reconocidos en la técnica y se refieren a grupos funcionales y moléculas de éster de trifluorometansulfonato, éster de p-toluensulfonato, éster de metansulfonato y éster de

nonafluorobutansulfonato que contienen dichos grupos, respectivamente.

**[0093]** Las abreviaturas Me, Et, Ph, Tf, Nf, Ts y Ms representan metilo, etilo, fenilo, trifluorometansulfonilo, nonafluorobutansulfonilo, p-toluensulfonilo y metansulfonilo, respectivamente. Una lista más detallada de las abreviaturas utilizadas por los químicos orgánicos expertos habituales en la técnica aparece en el primer tema de cada volumen del Journal of Organic Chemistry; esta lista está presentada típicamente en una tabla titulada Lista Estándar de Abreviaturas.

**[0094]** Ciertos compuestos contenidos en las composiciones de la presente invención pueden existir en formas geométricas estereoisómeras particulares. Además, los polímeros de la presente invención también pueden ser ópticamente activos. La presente invención contempla todos estos compuestos, incluyendo los isómeros cis y trans, los enantiómeros R y S, los diastereómeros, los isómeros (D), los isómeros (L), las mezclas racémicas de los mismos y otras mezclas de los mismos, como dentro del ámbito de la invención. Puede haber presentes átomos de carbono asimétricos adicionales en un sustituyente, tal como un grupo alquilo. Todos estos isómeros, así como las mezclas de los mismos, pretenden estar incluidos en esta invención.

**[0095]** Si, por ejemplo, se desea un enantiómero en particular del compuesto de la presente invención, puede prepararse mediante una síntesis asimétrica, o mediante derivación con un auxiliar quiral, en la que la mezcla diastereomérica resultante se separa y el grupo auxiliar se escinde para proporcionar los enantiómeros deseados puros. Alternativamente, cuando la molécula contiene un grupo funcional básico, tal como amino, o un grupo funcional ácido, tal como carboxilo, las sales diastereoméricas se forman con un ácido o una base apropiada ópticamente activa, seguido de la resolución de los diastereómeros así formados mediante una cristalización fraccionada o métodos cromatográficos conocidos en la técnica, y la posterior recuperación de los enantiómeros puros.

**[0096]** Se entenderá que "sustitución" o "sustituido con" incluye la condición implícita de que dicha sustitución esté de acuerdo con la valencia permitida del átomo sustituido y el sustituyente, y que la sustitución dé como resultado un compuesto estable, por ejemplo, que no experimente una transformación espontánea tal como un reordenamiento, una ciclación, una eliminación u otra reacción.

**[0097]** También se contempla que el término "sustituido" incluya todos los sustituyentes permisibles de compuestos orgánicos. En un aspecto amplio, los sustituyentes permisibles incluyen sustituyentes acíclicos y cíclicos, ramificados y no ramificados, carbocíclicos y heterocíclicos, aromáticos y no aromáticos de compuestos orgánicos. Algunos sustituyentes ilustrativos incluyen, por ejemplo, los descritos anteriormente en este documento. Los sustituyentes permisibles pueden ser uno o más y los mismos o diferentes para los compuestos orgánicos apropiados. Para los fines de esta invención, los heteroátomos tales como nitrógeno pueden tener sustituyentes de hidrógeno y/o cualquier sustituyente permisible de compuestos orgánicos descrito en este documento que satisfaga las valencias de los heteroátomos. Esta invención no pretende estar limitada en modo alguno por los sustituyentes permisibles de los compuestos orgánicos.

**[0098]** Para los fines de esta invención, los elementos químicos están identificados de acuerdo con la Tabla Periódica de los Elementos, versión CAS, Handbook of Chemistry and Physics, 67ª Ed., 1986 - 87, interior de la portada. También para los fines de esta invención, se contempla que el término "hidrocarburo" incluya todos los compuestos permisibles que tienen al menos un hidrógeno y un átomo de carbono. En un aspecto amplio, los hidrocarburos permisibles incluyen compuestos orgánicos acíclicos y cíclicos, ramificados y no ramificados, carbocíclicos y heterocíclicos, aromáticos y no aromáticos que pueden estar sustituidos o no sustituidos.

**[0099]** El término "grupo protector" está reconocido en la técnica y se refiere a sustituyentes temporales que protegen un grupo funcional potencialmente reactivo de transformaciones químicas indeseadas. Algunos ejemplos de dichos grupos protectores incluyen ésteres de ácidos carboxílicos, éteres de sililo de alcoholes y acetales y cetales de aldehídos y cetonas, respectivamente. El ámbito de la química de grupos protectores ha sido revisado por Greene y Wuts en Protective Groups in Organic Synthesis (2ª ed., Wiley: Nueva York, 1991).

**[0100]** El término "grupo protector de hidroxilo" está reconocido en la técnica y se refiere a aquellos grupos destinados a proteger un grupo hidroxilo frente a reacciones indeseables durante procedimientos sintéticos e incluye, por ejemplo, bencilo u otros grupos ésteres o éteres adecuados conocidos en la técnica.

**[0101]** El término "grupo protector de carboxilo" está reconocido en la técnica y se refiere a aquellos grupos destinados a proteger un grupo ácido carboxílico, tal como el C terminal de un aminoácido o de un péptido o de un

sustituyente ácido o hidroxilo de un anillo de azepina, frente a reacciones indeseables durante procedimientos sintéticos e incluye. Algunos ejemplos de grupos protectores para grupos carboxilo implican, por ejemplo, éster de bencilo, éster de ciclohexilo, éster de 4-nitrobencilo, éster de t-butilo, éster de 4-piridilmetilo y similares.

5 **[0102]** El término "grupo bloqueante de amino" está reconocido en la técnica y se refiere a un grupo que evitará que un grupo amino participe en una reacción llevada a cabo en algún otro grupo funcional, pero que puede ser eliminado de la amina cuando se desee. Dichos grupos se analizan en el capítulo 7 de Greene y Wuts, mencionado anteriormente y en Barton, *Protective Groups in Organic Chemistry*, capítulo 2 (McOmie, ed., Plenum Press, Nueva York, 1973). Algunos ejemplos de grupos adecuados incluyen grupos protectores de acilo tales como, para ilustrar, formilo, dansilo, acetilo, benzoílo, trifluoroacetilo, succinilo, metoxisuccinilo, bencilo y bencilo sustituido tal como 3,4-dimetoxibencilo, o-nitrobencilo y trifenilmetilo; aquellos de la fórmula -COOR en la que R incluye grupos tales como metilo, etilo, propilo, isopropilo, 2,2,2-tricloroetilo, 1-metil-1-feniletilo, isobutilo, t-butilo, t-amilo, vinilo, alilo, fenilo, bencilo, p-nitrobencilo, o-nitrobencilo y 2,4-diclorobencilo; grupos acilo y acilo sustituido tales como formilo, acetilo, cloroacetilo, dicloroacetilo, tricloroacetilo, trifluoroacetilo, benzoílo y p-metoxibenzoílo; y otros grupos tales como metansulfonilo, p-toluensulfonilo, p-bromobencensulfonilo, p-nitrofeniletilo y p-toluensulfonil-aminocarbonilo. Algunos grupos bloqueantes de amino preferidos son bencilo (-CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), acilo [C(O)R<sub>1</sub>] o SiR<sub>3</sub> en la que R<sub>1</sub> es alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, halometilo o (alcoxi C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>) 2-halo-sustituido, grupos protectores de uretano aromáticos como, por ejemplo, carbonilbenciloxi (Cbz); y grupos protectores de uretano alifáticos tales como t-butiloxicarbonilo (Boc) o 9-fluorenilmetoxicarbonilo (Fmoc).

20 **[0103]** La definición de cada expresión, por ejemplo alquilo inferior, m, n, p y similares, cuando aparece más de una vez en cualquier estructura, pretende ser independiente de su definición en cualquier otra parte de la misma estructura.

25 **[0104]** El término "grupo aceptor de electrones" está reconocido en la técnica y se refiere a la tendencia de un sustituyente a atraer electrones de valencia de átomos vecinos del anillo, es decir, el sustituyente es electronegativo con respecto a los átomos vecinos del anillo. Una cuantificación del nivel de capacidad de electroaceptación está proporcionada por la constante sigma ( $\sigma$ ) de Hammett. Ésta bien conocida constante se describe en muchas referencias, por ejemplo, March, *Advanced Organic Chemistry* 251 - 59 (McGraw Hill Book Company: Nueva York, 1977). Los valores de la constante de Hammett son generalmente negativos para los grupos donantes de electrones ( $\sigma$  (P) = - 0,66 para NH<sub>2</sub>) y positivos para los grupos aceptores de electrones ( $\sigma$  (P) = 0,78 para un grupo nitro), indicando  $\sigma$  (P) una sustitución para. Algunos ejemplos de grupos aceptores de electrones incluyen nitro, acilo, formilo, sulfonilo, trifluorometilo, ciano, cloruro y similares. Algunos ejemplos de grupos donantes de electrones incluyen amino, metoxi y similares.

35 **[0105]** El término "aminoácido" está reconocido en la técnica y se refiere a todos los compuestos, tanto naturales como sintéticos, que incluyen tanto una funcionalidad amino como una funcionalidad ácido, incluyendo los análogos y los derivados de aminoácidos. Los términos "residuo de aminoácido" y "residuo peptídico" están reconocidos en la técnica y se refieren a una molécula de un aminoácido o de un péptido sin el -OH de su grupo carboxilo. El término "residuo de aminoácido" incluye adicionalmente análogos, derivados y congéneres de cualquier aminoácido específico mencionado en este documento, así como derivados de aminoácido protegidos en el C terminal o en el N terminal (por ejemplo, modificados con un grupo protector N terminal o C terminal). Los nombres de los aminoácidos naturales están abreviados en este documento de acuerdo con las recomendaciones de la IUPAC-IUB.

45 **[0106]** Una secuencia peptídica "invertida" o "retro" según se desvela en este documento se refiere a esa parte de una secuencia global de residuos de aminoácidos unidos covalentemente (o de análogos o miméticos de los mismos) en la que la dirección normal de formación del enlace peptídico de carboxilo a amino en el esqueleto de aminoácidos se ha invertido, de forma que al leer en la dirección convencional de izquierda a derecha, la porción de amino del enlace peptídico precede (en lugar de seguir) a la porción de carbonilo. Véase, de forma general, Goodman y col. *Accounts of Chem. Res.* 12: 423 (1979).

**[0107]** Los péptidos con orientación invertida descritos en este documento incluyen (a) aquellos en los que uno o más residuos amino terminales se han convertido a una orientación invertida ("rev") (produciendo así un segundo "carboxilo terminal" en la porción final de la izquierda de la molécula) y (b) aquellos en los que uno o más residuos carboxilo terminales se han convertido a una orientación invertida ("rev") (produciendo un segundo "amino terminal" en la porción final de la derecha de la molécula). No puede formarse un enlace peptídico (amida) en la interfase entre un residuo de orientación normal y un residuo de orientación invertida.



**[0108]** Por lo tanto, ciertos compuestos peptídicos invertidos de la invención pueden formarse mediante la utilización de una fracción mimética de aminoácido apropiada para unir dos porciones adyacentes de las secuencias representadas anteriormente utilizando un enlace peptídico invertido (amida invertida).

5 **[0109]** La dirección invertida del enlace en dichos compuestos requerirá generalmente, además, la inversión de la configuración enantiomérica de los residuos de aminoácidos invertidos, con objeto de mantener una orientación espacial de las cadenas laterales que sea similar a la del péptido no invertido. La configuración de los aminoácidos en la porción invertida de los péptidos es habitualmente (D) y la configuración de la porción no invertida es habitualmente (L). Son aceptables configuraciones opuestas o mixtas cuando sea apropiado para optimizar una  
10 actividad de unión.

**[0110]** El término "ácido nucleico" está reconocido en la técnica y se refiere a polinucleótidos tales como el ácido desoxirribonucleico (ADN), y, donde sea apropiado, el ácido ribonucleico (ARN). Debe entenderse que el término también incluye, como equivalentes, análogos de cualquiera del ARN o del ADN elaborados a partir de  
15 análogos de nucleótidos, y, según sea aplicable, a la forma de realización que se está describiendo, polinucleótidos monocatenarios (tales como sentido o antisentido) y bicatenarios.

**[0111]** Los términos "gen" o "gen recombinante" están reconocidos en la técnica y se refieren a ácidos nucleicos que comprenden un marco abierto de lectura que codifica para un polipéptido, incluyendo secuencias tanto  
20 exónicas como (opcionalmente) intrónicas.

**[0112]** El término "constructo génico" está reconocido en la técnica y se refiere a un vector, un plásmido, un genoma vírico o similares que incluye una "secuencia codificante" para un polipéptido o que es de otro modo transcribible en un ARN biológicamente activo (por ejemplo, antisentido, señuelo, ribozima, etc), puede transfectar  
25 células, en ciertas formas de realización, células de mamífero, y puede causar la expresión de la secuencia codificante en las células transfectadas con el constructo.

**[0113]** El término "homología" está reconocido en la técnica y se refiere a la similitud de la secuencia entre dos péptidos o entre dos moléculas de ácido nucleico.  
30

**[0114]** El término "unido operativamente" está reconocido en la técnica y se refiere a la relación entre dos regiones de un ácido nucleico, lo que significa que están funcionalmente relacionadas entre sí.

**[0115]** El término "célula hospedadora" está reconocido en la técnica y se refiere a una célula transducida con un vector de transferencia específico. La célula se elige opcionalmente de entre células *in vitro* tales como las obtenidas a partir de un cultivo celular, células *ex vivo* tales como las obtenidas a partir de un organismo y células *in vivo* tales como las de un organismo. "Células hospedadoras recombinantes" se refiere a células que han sido transformadas o transfectadas con vectores construidos mediante el uso de técnicas de ADN recombinante.  
35

**[0116]** Los términos "proteína recombinante", "proteína heteróloga" y "proteína exógena" están reconocidos en la técnica y se usan de forma intercambiable para referirse a un polipéptido que es producido mediante técnicas de ADN recombinante, en las que generalmente se inserta el ADN que codifica para el polipéptido en un vector de expresión adecuado que a su vez se usa para transformar una célula hospedadora para producir la proteína heteróloga. Esto es, el polipéptido es expresado a partir de un ácido nucleico heterólogo.  
40

**[0117]** El término "elemento regulador" está reconocido en la técnica y se refiere a secuencias de nucleótidos (tales como secuencias de ADN) que inducen o controlan la transcripción de secuencias codificantes de proteínas con las que están unidas operativamente. Algunos ejemplos de elementos reguladores clasificados según su función incluyen señales de inicio, potenciadores, promotores y similares. Algunos ejemplos de elementos reguladores se describen en Goeddel; *Methods in Enzymology* 185 (1990). En ciertas formas de realización, la transcripción de un gen o de otro ADN está bajo el control de una secuencia promotora (o de otro elemento regulador) que controla la expresión de una secuencia codificante en un tipo de célula en la que está prevista la expresión. Se conoce una diversidad de promotores clasificados según su función. El término "promotor específico tisular" significa una secuencia de ADN que sirve como un promotor, es decir, que regula la expresión de una secuencia de ADN elegida  
45 unida operativamente al promotor y que efectúa la expresión de las secuencias de ADN elegidas en células específicas de un tejido, tales como las células de origen urogenital, por ejemplo, células renales, o células de origen neural, por ejemplo, células neuronales. El término también cubre los denominados promotores "leaky", que regulan la expresión de un ADN elegido principalmente en un tejido, pero que también causan la expresión en otros tejidos. El término promotor "inducible" se refiere a un promotor que está bajo una regulación medioambiental o de  
50

desarrollo. El término promotor "constitutivo" se refiere a un promotor que es activo en la mayoría de las condiciones medioambientales y de desarrollo.

5 **[0118]** El término "transfección" está reconocido en la técnica y se refiere a la introducción de un ácido nucleico, por ejemplo, de un vector de expresión, en una célula receptora, que en ciertas formas de realización puede ser mediante una transferencia génica mediada por un ácido nucleico. "Transformación," según se usa con respecto al ácido nucleico, es un término reconocido en la técnica y se refiere a un proceso en el que se modifica el genoma de una célula como resultado de la captación celular de un ácido nucleico exógeno.

10 **[0119]** El término "vector de transferencia" está reconocido en la técnica y se refiere a una primera molécula de un ácido nucleico a la que se ha unido un segundo ácido nucleico, e incluye, por ejemplo, plásmidos, cósmidos o fagos (como se analiza con más detalle a continuación). En ciertas formas de realización de la presente invención, el agente terapéutico es el segundo ácido nucleico. Un tipo de vector de transferencia es un episoma, es decir, un ácido nucleico capaz de una replicación extracromosómica.

15 **[0120]** En ciertas formas de realización, un vector de transferencia puede ser un "vector de expresión", que se refiere a un constructo de ADN replicable usado para expresar un ADN que codifica para la proteína deseada y que incluye una unidad transcripcional que comprende un conjunto de (i) elemento(s) genético(s) con un papel regulador en la expresión génica, por ejemplo, promotores, operadores o potenciadores, unidos operativamente a (ii) una secuencia de ADN que codifica para una proteína deseada, que es transcrita en ARNm y traducida en una proteína y (iii) las apropiadas secuencias de transcripción y de inicio y de terminación de la traducción. En ciertas formas de realización, el agente terapéutico es la secuencia de ADN. La elección del promotor y de los otros elementos reguladores varía generalmente de acuerdo con la célula hospedadora prevista. En general, los vectores de expresión de utilidad en las técnicas de ADN recombinante están a menudo en forma de "plásmidos", que se refiere a bucles de ADN circulares bicatenarios que, en su forma de vector, no están unidos al cromosoma. La invención pretende incluir dichas otras formas de vectores de expresión que realizan funciones equivalentes y que se hacen conocidos en la técnica subsiguientemente a este documento.

20 **[0121]** Ciertos vectores de transferencia pueden contener elementos reguladores para controlar la transcripción o la traducción, que pueden derivar generalmente de genes de mamífero, de microbios, de virus o de insecto. Adicionalmente puede incorporarse la capacidad para replicarse en un hospedador, habitualmente conferida por un origen de replicación y un gen de selección para facilitar el reconocimiento de los transformantes.

25 **[0122]** El diseño de cualquier vector de transferencia puede depender de factores tales como la elección de la célula hospedadora que se va a transformar y/o el tipo de proteína que se desea expresar. Además, también puede considerarse el número de copias del vector, la capacidad para controlar ese número de copias y la expresión de cualquier otra proteína codificada por el vector, tal como marcadores antibióticos (por ejemplo, ampicilina).

30 **[0123]** El término "animal transgénico" está reconocido en la técnica y se refiere a cualquier animal, a menudo un mamífero no humano, un ave o un anfibio, en el que una o más células del animal contienen un ácido nucleico introducido mediante la intervención humana, tal como mediante técnicas transgénicas bien conocidas en la técnica. Dicho ácido nucleico puede denominarse "transgen." El ácido nucleico es introducido en la célula directa o indirectamente mediante su introducción en un precursor de la célula, mediante una manipulación genética deliberada, tal como mediante una microinyección o mediante la infección con un virus recombinante. El término manipulación genética no incluye el cruzamiento clásico, o la fecundación *in vitro*, sino que más bien se refiere a la introducción de una molécula de ADN recombinante. Esta molécula puede estar integrada en un cromosoma, o puede ser un ADN de replicación extracromosómica. Un transgen puede ser parcial o totalmente heterólogo, es decir, foráneo, al animal o a la célula transgénica en la que se introduce, o ser homólogo de un gen endógeno del animal o de la célula transgénica en la que se introduce, pero que está diseñado para ser insertado, o se inserta, en el genoma del animal de una forma tal que altere el genoma de la célula en la que se inserta (por ejemplo, se inserta en una ubicación que difiere de la del gen natural, o su inserción da como resultado una desactivación génica). Un transgen también puede estar presente en una célula en forma de un episoma. Un transgen puede incluir uno o más elementos reguladores y cualquier otro ácido nucleico, tal como intrones, que pueda ser necesario para la expresión óptima de un ácido nucleico elegido. En ciertas formas de realización, un transgen comprende una secuencia de un ácido nucleico de interés y uno o más elementos reguladores para el control de la transcripción de la secuencia de nucleótidos codificada por dicha secuencia de ácido nucleico, por ejemplo, el elemento regulador está unido operativamente a un ácido nucleico.

55 **[0124]** En ciertas formas de realización, el transgen u otro agente terapéutico puede ser un "constructo de

terapia génica", que es un vector de expresión que puede alterar el fenotipo de una célula cuando es captado por la célula, o un constructo génico. En ciertas formas de realización, el constructo de terapia génica puede ser una "secuencia codificante recombinante" que codifica para un polipéptido, o es transcribible en un ácido nucleico antisentido, una ribozima o cualquier otro producto de ARN que altere el fenotipo de la célula en la que es producido.

5 "Gen recombinante" se refiere a un constructo genético que incluye una "secuencia codificante recombinante".

**[0125]** El término "anticuerpo" está reconocido en la técnica y se refiere a anticuerpos completos, por ejemplo, de cualquier isotipo (IgG, IgA, IgM, IgE, etc.), e incluye fragmentos de los mismos que también son específicamente reactivos con una proteína de un vertebrado, por ejemplo, de un mamífero. Los anticuerpos pueden fragmentarse mediante el uso de técnicas convencionales y los fragmentos pueden cribarse para comprobar su utilidad de la misma forma que la descrita anteriormente para anticuerpos completos. Por lo tanto, el término incluye segmentos de porciones escindidas proteolíticamente o preparadas recombinantemente de una molécula de un anticuerpo que son capaces de reaccionar selectivamente con una proteína en concreto. Algunos ejemplos no limitantes de dichos fragmentos proteolíticos y/o recombinantes incluyen Fab, F(ab')<sub>2</sub>, Fab', Fv y anticuerpos de cadena única (scFv) que contienen un dominio V[L] y/o V[H] unido por un conector peptídico. Los scFv pueden estar unidos covalentemente o no covalentemente para formar anticuerpos con dos o más sitios de unión. La presente invención incluye anticuerpos policlonales, monoclonales u otras preparaciones purificadas de anticuerpos y anticuerpos recombinantes.

20 **[0126]** El término "molécula pequeña" está reconocido en la técnica y se refiere a una composición que tiene un peso molecular de menos de aproximadamente 2.000 amu, o menos de aproximadamente 1.000 amu, e incluso de menos de aproximadamente 500 amu. Las moléculas pequeñas pueden ser, por ejemplo, ácidos nucleicos, péptidos, polipéptidos, ácidos nucleicos peptídicos, peptidomiméticos, carbohidratos, lípidos u otras moléculas orgánicas (que contienen carbono) o inorgánicas. Muchas compañías farmacéuticas tienen grandes colecciones de mezclas químicas y/o biológicas, a menudo extractos de hongos, de bacterias o de algas, que pueden ser cribadas con cualquiera de los ensayos de la invención. El término "molécula orgánica pequeña" se refiere a una molécula pequeña que a menudo se identifica como un compuesto orgánico o medicinal, y no incluye moléculas que son exclusivamente ácidos nucleicos, péptidos o polipéptidos.

30 **[0127]** Un "objetivo" debe significar un sitio al que se unen los constructos dirigidos. Un objetivo puede estar tanto *in vivo* como *in vitro*. En ciertas formas de realización, un objetivo puede ser tumor (por ejemplo, tumores de cerebro, de pulmón (microcítico y no microcítico), de ovario, de próstata, de mama y de colon, así como otros carcinomas y sarcomas). En otras formas de realización, un objetivo puede ser un sitio de infección (por ejemplo, por bacterias, virus (por ejemplo, VIH, herpes, hepatitis) y hongos patógenos (*Candida* sp.)). En otras formas de realización más, un objetivo puede referirse a una estructura molecular a la que se une una fracción marcadora, tal como un hapteno, un epítipo, un receptor, un fragmento de ADN bicatenario un carbohidrato o una enzima. Adicionalmente, un objetivo puede ser un tipo de tejido, por ejemplo, tejido neuronal, tejido intestinal, tejido pancreático etc.

40 **[0128]** El término "fracción marcadora" se refiere a cualquier estructura molecular que ayuda al constructo en la localización de un área objetivo en particular, a entrar en la(s) célula(s) objetivo y/o a unirse a un receptor objetivo. Por ejemplo, los lípidos (incluyendo lípidos catiónicos, neutros y esteroideos, virosomas y liposomas), los anticuerpos, las lecitinas, los ligandos, los azúcares, los esteroides, las hormonas, los nutrientes y las proteínas pueden servir como fracciones marcadoras.

45 **[0129]** El término "modulación" está reconocido en la técnica y se refiere a una regulación por aumento (es decir, una activación o una estimulación), a una regulación por disminución (es decir, una inhibición o una supresión) de una respuesta, o a las dos combinadas o por separado.

50 **[0130]** El término "tratar" está reconocido en la técnica y se refiere a la curación, así como la mejora, de al menos un síntoma de cualquier afección o enfermedad.

**[0131]** El término tratamiento "profiláctico" o "terapéutico" está reconocido en la técnica y se refiere a la administración al hospedador de una o más de las composiciones en cuestión. Si se administran antes de la manifestación clínica de la afección no deseada (por ejemplo, una enfermedad u otro estado no deseado del animal hospedador) entonces el tratamiento es profiláctico, es decir, protege al hospedador frente al desarrollo de la afección no deseada, mientras que si se administra después de la manifestación de la afección no deseada, el tratamiento es terapéutico (es decir, está destinado a disminuir, mejorar o mantener la afección existente no deseada o los efectos secundarios de la misma).

**[0132]** Un "paciente", un "sujeto" o un "hospedador" que se va a tratar mediante el método en cuestión puede significar tanto un ser humano como un animal no humano.

5 **[0133]** El término "mamífero" es conocido en la técnica y algunos ejemplos de mamíferos incluyen seres humanos, primates, bóvidos, porcinos, cánidos, félidos y roedores (por ejemplo, ratones y ratas).

**[0134]** El término "biodisponible" está reconocido en la técnica y se refiere a una forma de la invención en cuestión que permite que ésta, o una porción de la cantidad administrada, sea absorbida, incorporada o esté de otro modo fisiológicamente disponible en un sujeto o un paciente al que se le administra.

**[0135]** El término "sales farmacéuticamente aceptables" está reconocido en la técnica y se refiere a las sales de adición ácida relativamente no tóxicas de compuestos inorgánicos y orgánicos, incluyendo, por ejemplo, las contenidas en las composiciones de la presente invención.

15

**[0136]** El término "portador farmacéuticamente aceptable" está reconocido en la técnica y se refiere a un material, composición o vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como un agente de relleno líquido o sólido, un diluyente, un excipiente, un disolvente o un material de encapsulación, implicado en el transporte de cualquier composición en cuestión o componente de la misma desde un órgano, o una porción del cuerpo, a otro órgano, o a otra porción del cuerpo. Cada portador debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con la composición en cuestión y sus componentes y no perjudicial para el paciente. Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como portadores farmacéuticamente aceptables incluyen: (1) azúcares, tales como lactosa, glucosa y sacarosa; (2) almidones, tales como almidón de maíz y almidón de patata; (3) celulosa y sus derivados, tales como carboximetil celulosa sódica, etil celulosa y acetato de celulosa; (4) tragacanto en polvo; (5) malta; (6) gelatina; (7) talco; (8) excipientes, tales como manteca de cacao y cera para supositorios; (9) aceites, tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja; (10) glicoles, tales como propilenglicol; (11) polioles, tales como glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol; (12) ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo; (13) agar; (14) agentes tamponantes, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; (15) ácido algínico; (16) agua exenta de pirógenos; (17) disolución salina isotónica; (18) disolución de Ringer; (19) alcohol etílico; (20) disoluciones tamponadas de fosfato; y (21) otras sustancias no tóxicas compatibles empleadas en las formulaciones farmacéuticas.

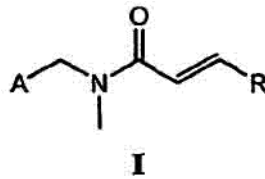
**[0137]** Los términos "administración sistémica", "administrado sistémicamente", "administración periférica" y "administrado periféricamente" están reconocidos en la técnica y se refieren a la administración de una composición en cuestión, material terapéutico u otro material de una forma distinta a directamente en el sistema nervioso central, de forma que entre en el sistema del paciente y por lo tanto, se someta al metabolismo y otros procesos similares, por ejemplo, la administración subcutánea.

**[0138]** Los términos "administración parenteral" y "administrado parenteralmente" están reconocidos en la técnica y se refieren a los modos de administración distintos a la administración enteral y tópica, habitualmente mediante inyección, e incluyen, sin limitación, inyección e infusión intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardiaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoidea, intraespinal e intraesternal.

**[0139]** Los equivalentes contemplados de las composiciones descritas en este documento incluyen composiciones que por lo demás se corresponden con las mismas y que tienen las mismas propiedades generales que las mismas (tales como otras composiciones que comprendan inhibidores de la Fab I / Fab K), en las que se realizan una o más variaciones simples de sustituyentes o de componentes que no afectan negativamente a las características de las composiciones de interés. En general, los componentes de las composiciones de la presente invención pueden prepararse mediante los métodos ilustrados en el esquema de reacción general como, por ejemplo, se describe a continuación, o mediante modificaciones de los mismos, mediante el uso de materiales de partida fácilmente disponibles, reactivos y procedimientos de síntesis convencionales. En estas reacciones también es posible hacer uso de variantes que son conocidas por sí mismas, pero que no se mencionan aquí.

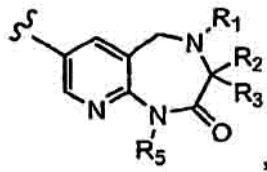
55 Inhibidores de la Fab I

**[0140]** Los compuestos inhibidores de la Fab I de la presente invención incluyen aquellos representados por la fórmula I:



en la que, independientemente en cada aparición,

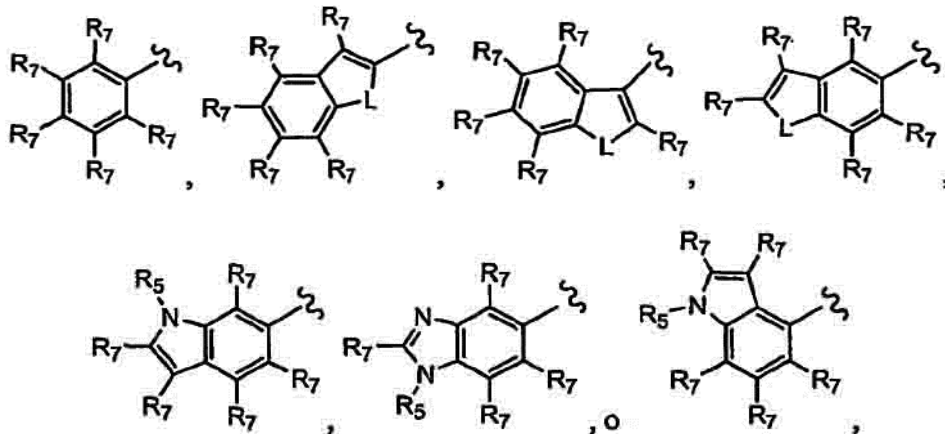
- 5 **[0141]** A es un anillo monocíclico de 4 - 7 átomos que contiene 0 - 2 heteroátomos, un anillo bicíclico de 8 - 12 átomos que contiene 0 - 4 heteroátomos o un anillo tricíclico de 8 - 12 átomos que contiene 0 - 6 heteroátomos en el que los anillos son independientemente de naturaleza alifática, aromática, heteroarilo o heterocíclica, los heteroátomos se eligen de entre N, S u O y los anillos están opcionalmente sustituidos con uno o más grupos elegidos de entre alquilo C<sub>1-4</sub>, OR<sup>n</sup>, CN, OCF<sub>3</sub>, F, Cl, Br, I; en la que R<sup>n</sup> es H, alquilo, aralquilo o heteroaralquilo;
- 10 R es



en la que, independientemente en cada aparición,

- 15 R<sub>1</sub> es H, alquilo o arilo;
- R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> tomados conjuntamente forman un anillo espirocíclico;
- 20 R<sub>5</sub> es H, alquilo o arilo;

**[0142]** En una forma de realización adicional, la presente invención incluye los compuestos de fórmula I y las correspondientes definiciones, en la que A se elige de entre los siguientes



en las que, independientemente en cada aparición,

- 30 R<sub>7</sub> es H, alquilo C<sub>1-4</sub>, haloalquilo C<sub>1-4</sub>, alqueno C<sub>1-4</sub>, OR<sup>n</sup>, CN, OCF<sub>3</sub>, F, Cl, Br, I; en la que R<sup>n</sup> es H, alquilo, aralquilo o heteroaralquilo;

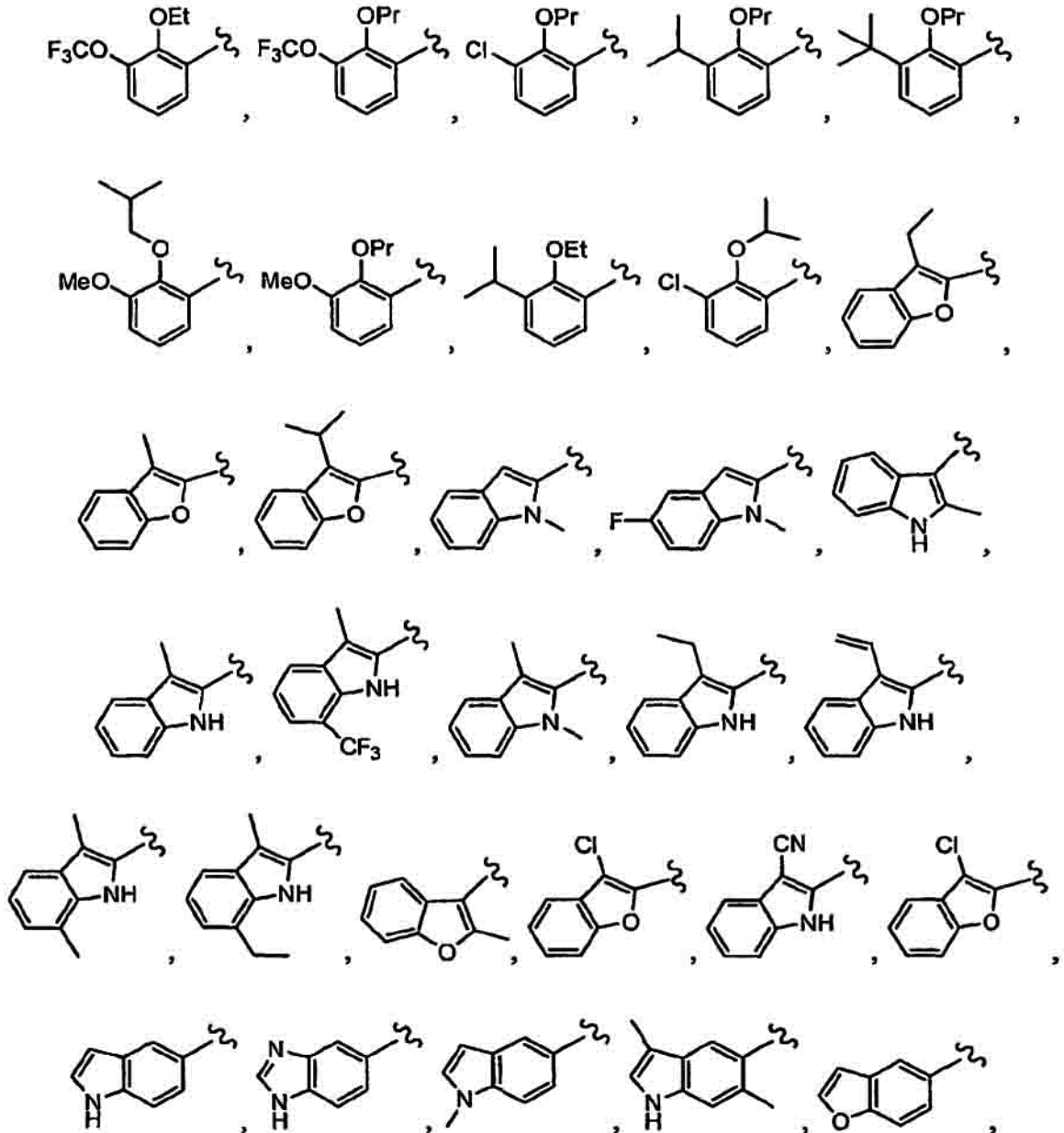
L es O, S o NR<sub>5</sub>; y

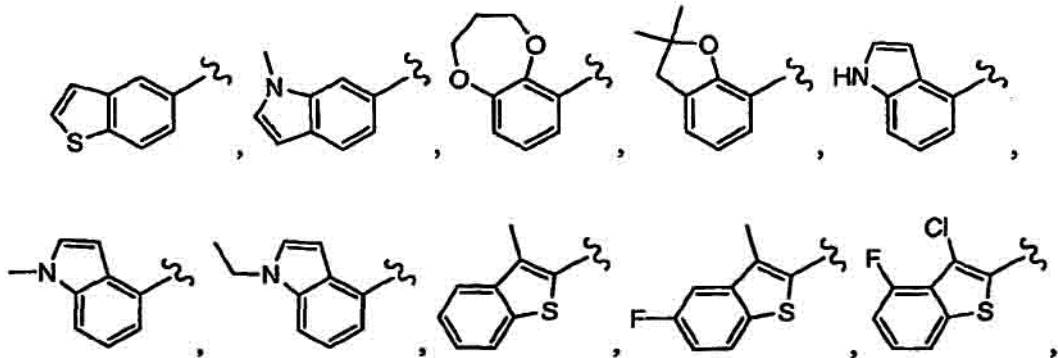
35

R<sub>5</sub> es como se ha definido previamente.

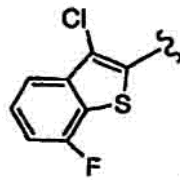
[0143] En una forma de realización adicional, la presente invención incluye compuestos de fórmula I y las correspondientes definiciones, en la que A se elige de entre los siguientes:

5



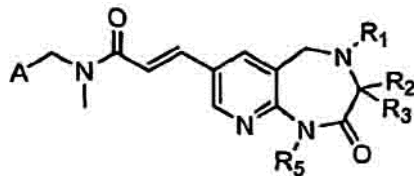


0



5

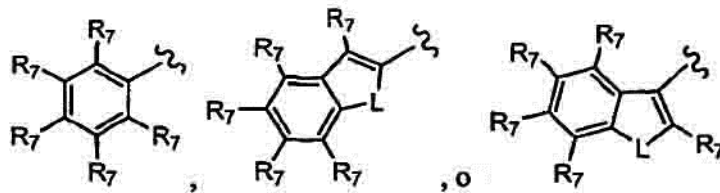
[0144] En una forma de realización adicional, la presente invención se refiere a compuestos de fórmula I, en la que el compuesto tiene la fórmula Ia;



Ia

10

en la que, independientemente en cada aparición, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> son según se han definido anteriormente; y A se elige de entre los siguientes:



15

en las que L y R<sub>7</sub> son según se han definido anteriormente.

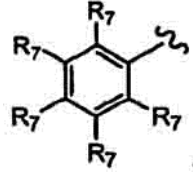
[0145] En otra forma de realización, la presente invención se refiere a compuestos de fórmula Ia y las correspondientes definiciones, en la que R<sub>1</sub> es H.

[0146] En otra forma de realización, la presente invención se refiere a compuestos de fórmula Ia y las correspondientes definiciones, en la que R<sub>1</sub> es fenilo.

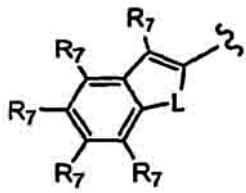
25 [0147] En otra forma de realización, la presente invención se refiere a compuestos de fórmula Ia y las correspondientes definiciones, en la que R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> tomados conjuntamente forman un anillo de cinco miembros.

[0148] En otra forma de realización, la presente invención se refiere a compuestos de fórmula Ia y las

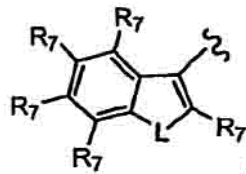
correspondientes definiciones, en la que A es



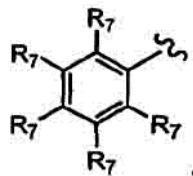
5 **[0149]** En otra forma de realización, la presente invención se refiere a compuestos de fórmula Ia y las correspondientes definiciones, en la que A es



10 **[0150]** En otra forma de realización, la presente invención se refiere a compuestos de fórmula Ia y las correspondientes definiciones, en la que A es

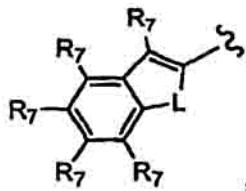


15 **[0151]** En otra forma de realización, la presente invención se refiere a compuestos de fórmula Ia y las correspondientes definiciones, en la que A es



20 y R<sub>7</sub> es independientemente alquilo u OR<sup>n</sup>.

**[0152]** En otra forma de realización, la presente invención se refiere a compuestos de fórmula Ia y las correspondientes definiciones, en la que A es



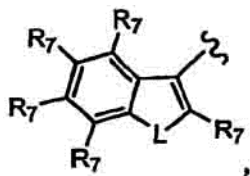
25

y L es O y R<sub>7</sub> es independientemente H, alquilo o Cl.

**[0153]** En otra forma de realización, la presente invención se refiere a compuestos de fórmula Ia y las correspondientes definiciones, en la que A es

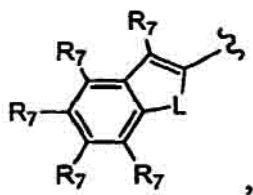
30





y L es NH.

5 **[0154]** En otra forma de realización, la presente invención se refiere a compuestos de fórmula Ia y las correspondientes definiciones, en la que A es



10 R<sub>1</sub> es fenilo y R<sub>5</sub> es H.

**[0155]** La presente invención se refiere a, pero no se limita a, los compuestos de fórmula I en la que el compuesto se elige de entre la siguiente lista representativa:

15 clorhidrato de (E)-espiro[2-oxo-2,3,4,5-tetrahidro-1H-pirido[2,3-e][1,4]diazepin-3,1'-ciclopentano]-7-il-N-(3-metil-benzofuran-2-ilmetil)-N-metilacrilamida;

clorhidrato de (E)-espiro[2-oxo-2,3,4,5-tetrahidro-1H-pirido[2,3-e][1,4]diazepin-3,1'-ciclopentano]-7-il-N-(3-metoxi-2-propoxi-bencil)-N-metilacrilamida;

20

**[0156]** También están incluidas en las composiciones antibacterianas de la presente invención sales de adición y complejos de los inhibidores de la Fab I farmacéuticamente aceptables. En los casos en los que los inhibidores puedan tener uno o más centros quirales, salvo que se especifique, la presente invención comprende cada compuesto racémico único, así como cada compuesto no racémico único.

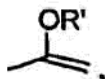
25

**[0157]** En los casos en los que los inhibidores tengan dobles enlaces carbono-carbono insaturados, tanto el isómero cis (Z) como el trans (E) están en el ámbito de esta invención. En los casos en los que los inhibidores puedan existir en formas tautoméricas, tales como los tautómeros ceto-enol, tales como

30



y



35

cada forma tautomérica se contempla como incluida en esta invención, tanto si existe en equilibrio como bloqueada en cualquier forma mediante una apropiada sustitución con R'. El significado de cualquier sustituyente en cualquier aparición es independiente de su significado, o del significado de cualquier otro sustituyente, en cualquier otra aparición.

40

**[0158]** También están incluidos en los compuestos antibióticos de la presente invención los profármacos de los inhibidores de la Fab I.

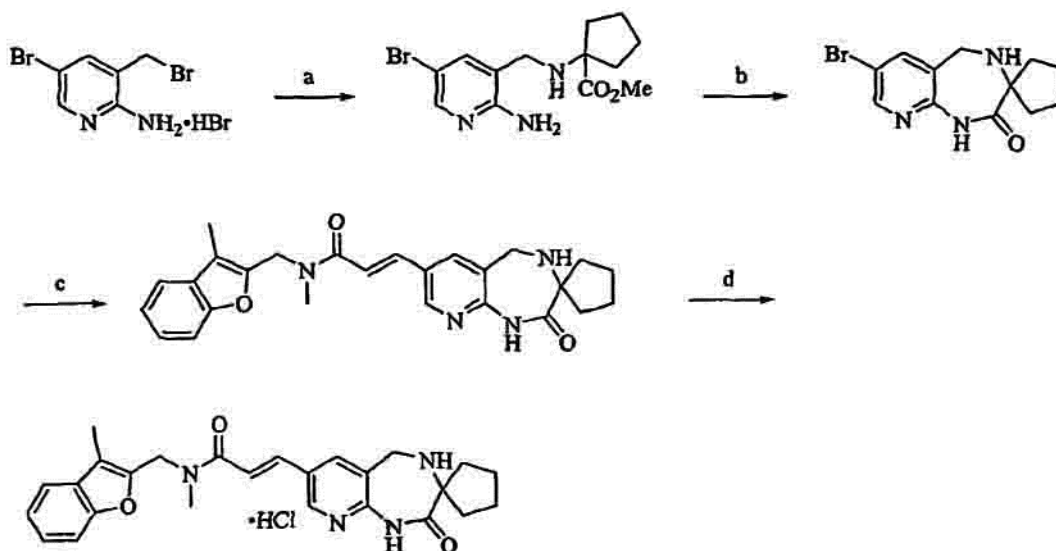
**[0159]** La persona experta habitual en la técnica puede elaborar una diversidad de los compuestos en

cuestión y los intermedios de los mismos mediante el uso de técnicas de reacción convencionales. Algunos ejemplos no limitantes de compuestos y métodos para elaborarlos se pueden encontrar en las Solicitudes de Patente de EE.UU. N<sup>os</sup> 08/790.043, 10/009.219, 10/089.019, 09/968.129, 09/968.123, 09/968.236, 09/959.172, 09/979.560, 09/980.369, 10/089.755, 10/089.739, 10/089.740, y en las solicitudes PCT N<sup>os</sup> PCT/CTS03/38706, WO 0027628 y 5 WO 0210332.

#### Rutas sintéticas hacia los Compuestos de Fórmula I

**[0160]** Una metodología química generalizada para la elaboración de los compuestos de fórmula I se basa en 10 visualizar los análogos como que consisten en una ene-amida central flanqueada por las fracciones del lado izquierdo (LHS) y del lado derecho (RHS). Esquemáticamente esto está representado en la Figura 2. Las líneas discontinuas muestran dos posibles desconexiones de enlaces contempladas en un sentido retrosintético. Los Esquemas 1 y 2 ilustran algunos de los métodos generales que pueden usarse en la síntesis de los compuestos de 15 fórmula I, en los que el enlace covalente final formado es a través de un acoplamiento de Heck entre un alqueno y una fracción del lado derecho adecuadamente halogenada. El experto en la técnica reconocerá que son posibles otras desconexiones que dan como resultado modos alternativos de elaboración de los compuestos de la invención.

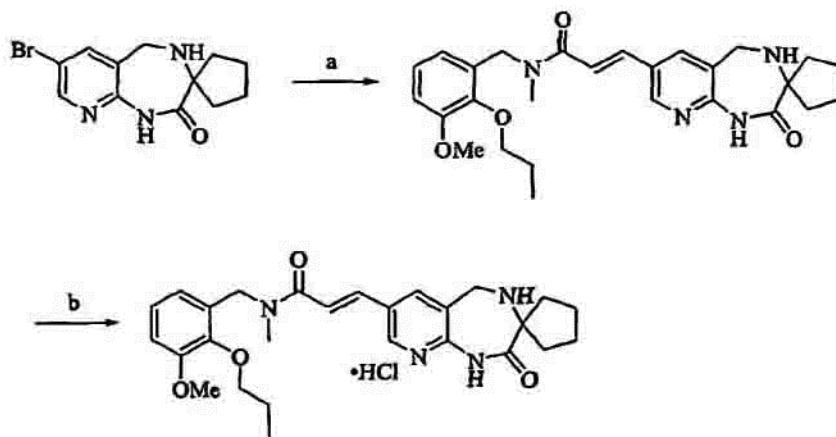
#### Esquema 1.



20

a) metil éster del ácido 1-amino-ciclopentanocarboxílico, Et<sub>3</sub>N, DMF; b) NaH, DMSO; c) *N*-metil-*N*-(3-metil-benzofuran-2-ilmetil) acrilamida, Pd(OAc)<sub>2</sub>, P(*o*-tol)<sub>3</sub>, (*i*-Pr)<sub>2</sub>EtN, EtCN, DMF; d) HCl, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.

#### 25 Esquema 2.



a) *N*-(3-metoxi-2-propoxibencil)-*N*-metilacrilamida, Pd(OAc)<sub>2</sub> P(*o*-tol)<sub>3</sub>, (*i*-Pr)<sub>2</sub>EtN, EtCN, DMF; b) HCl, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.

5 **[0161]** El experto en la técnica reconocerá que pueden emplearse otros métodos de síntesis de LHS y RHS en la preparación de dichos intermedios. Asimismo pueden usarse otros métodos de formación de enlaces amida y/o carbono-carbono para elaborar los compuestos de la invención. También es apreciable que pueden contemplarse unas combinaciones de LHS y RHS distintas a las descritas anteriormente para la preparación de los compuestos que entran en el ámbito de la invención, según está representado por la fórmula I. Estas posibilidades se detallan  
10 adicionalmente en la sección de preparaciones y ejemplos que sigue.

**[0162]** Las sales de adición ácida de los compuestos de fórmula I pueden prepararse de una forma estándar en un disolvente adecuado a partir del compuesto parental y con un exceso de un ácido, tal como clorhídrico, bromhídrico, fluorhídrico, sulfúrico, fosfórico, acético, trifluoroacético, maleico, succínico o metansulfónico. Esto está  
15 ilustrado mediante la preparación de sales de ácido clorhídrico como una etapa final en varios de los esquemas generales mostrados anteriormente. Algunos de los compuestos forman sales internas o iones bipolares que pueden ser aceptables. Las sales catiónicas pueden prepararse mediante el tratamiento del compuesto parental con un exceso de un reactivo alcalino, tal como un hidróxido, un carbonato o un alcóxido, que contiene el catión apropiado; o con una amina orgánica apropiada. Los cationes tales como Li<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>++</sup>, Mg<sup>++</sup> y NH<sup>4+</sup> son algunos ejemplos  
20 no limitantes de los cationes presentes en las sales farmacéuticamente aceptables.

#### Toxicología de los Compuestos

**[0163]** La toxicidad aguda puede evaluarse mediante el uso de dosis crecientes en ratones y en roedores.  
25 Puede llevarse a cabo una toxicidad aguda exploradora en ratones y/o en ratas después de una única dosis, para comenzar una estimación de la ventana terapéutica de los inhibidores y para identificar los potenciales órganos objetivo de la toxicidad. Según se acerca la elección del candidato, estos estudios pueden proporcionar una guía para la elección de las dosis adecuadas en estudios multidosis, así como establecer cualquier diferencia específica de la especie en la toxicidad. Estos estudios pueden combinarse con mediciones PK rutinarias para asegurar que se  
30 consiguen unas dosis apropiadas. Generalmente se elegirán 3 - 4 dosis que se estima que abarcan un intervalo desde sin ningún efecto hasta dosis mayores que provocan unos efectos tóxicos importantes pero no letales. Se observarán los efectos en el peso corporal, el comportamiento y el consumo de alimentos en los animales, y después del sacrificio, se realizará hematología, química de orina, análisis de orina, pesado de los órganos, anatomía patológica macroscópica e histopatología.

35

#### Frecuencias y mecanismos de resistencia de los Compuestos

**[0164]** Pueden estimarse las frecuencias de resistencia *in vitro* en las bacterias de interés para los compuestos de fórmula 1. Los experimentos pueden determinar si aparecen cepas clínicas resistentes cuando se  
40 exponen a un crecimiento en medio sólido a unas concentraciones 1X, 2X y 4X de la MIC. Por ejemplo, con respecto a *S. aureus* o *E. coli*, los experimentos pueden usar varias cepas clínicas recientes de *S. aureus* sensibles a la meticilina y resistentes a la meticilina y una cepa de laboratorio de *E. coli* con un defecto en la bomba de salida *acrA*. Además, los experimentos pueden usar varias cepas de *S. aureus* caracterizadas resistentes al triclosan. Entonces pueden determinarse las MIC de las cepas resistentes aisladas de esta forma. Experimentos posteriores pueden

determinar si aparecen cepas resistentes después de pases sucesivos de las cepas en concentraciones 0,5 X MIC de cada compuesto prototipo.

**[0165]** Los mecanismos de resistencia pueden determinarse en cepas de laboratorio de *S. aureus*, RN450 y en una cepa de laboratorio de *E. coli* portadora de una mutación en la bomba de salida *acrA*. Puede usarse tanto una exposición a elevadas dosis (4XMIC) como pases sucesivos sub-MIC para obtener cepas clínicas y resistentes que surjan espontáneamente. Si no se obtienen cepas clínicas con unas frecuencias razonables, pueden usarse métodos de mutaciones químicas y físicas para obtener cepas clínicas resistentes. El gen *fabI* del cromosoma de las cepas clínicas resistentes puede ser amplificado mediante PCR, y después secuenciado para determinar si los cambios en la proteína Fab I causaron la resistencia. Pueden realizarse amplificaciones mediante PCR y secuencias por triplicado para asegurar que los cambios observados en la secuencia son correctos y no surgieron de errores en la PCR durante la amplificación. Las cepas portadoras de mutaciones de resistencia fuera del gen de interés pueden ser documentadas y archivadas, caracterizadas por sus efectos sobre las susceptibilidades de otros antibióticos como prueba de los posibles mecanismos de resistencia mediados por la salida, y caracterizadas por su capacidad para alterar los compuestos, caracterizadas por sus efectos sobre la expresión del ARNm específico y de la proteína Fab I.

#### Ensayos

**[0166]** Pueden usarse muchos métodos de ensayo diferentes para determinar la actividad de los compuestos de la presente invención. Estos métodos de ensayo incluyen, por ejemplo, los siguientes, pero también incluyen otros métodos conocidos por el experto habitual en la técnica.

#### Ensayo de inhibición de la enzima Fab I de *S. aureus* (NADH)

**[0167]** Los ensayos se llevan a cabo en placas de microtitulación de área media de 96 pocillos. Los compuestos son evaluados en mezclas de ensayo de 50  $\mu$ l que contienen NaADA 100 mM, pH 6,5 (ADA = ácido N-[2-acetamido]-2-iminodiacético), 4 % de glicerol, crotonoil CoA 0,25 mM, NADH 1 mM y una dilución apropiada de la Fab I de *S. aureus*. Los inhibidores varían típicamente en el intervalo de 0,01 - 10  $\mu$ M. El consumo de NADH es monitorizado durante 20 minutos a 30 °C siguiendo el cambio en la absorbancia a 340 nm. Las velocidades iniciales se estiman a partir de un ajuste exponencial de las curvas de progresión no lineales representado por la pendiente de la tangente en  $t = 0$  min. Las  $CI_{50}$  se estiman a partir de un ajuste de las velocidades iniciales a un modelo estándar de 4 parámetros y típicamente se presentan como la media  $\pm$  D. T. de las determinaciones por duplicado. El triclosan, un agente antibacteriano comercial e inhibidor de la Fab I, puede incluirse en un ensayo como control positivo. Los compuestos de esta invención pueden tener unas  $CI_{50}$  de desde aproximadamente 5,0 micromolar hasta aproximadamente 0,05 micromolar.

#### Ensayo de inhibición de la enzima Fab I de *S. aureus* (NADPH) (modificado)

**[0168]** Los ensayos se llevan a cabo en placas de microtitulación de área media de 96 pocillos. Los compuestos son evaluados en mezclas de ensayo de 150  $\mu$ l que contienen NaADA 100 mM, pH 6,5 (ADA = ácido N-[2-acetamido]-2-iminodiacético), 4 % de glicerol, crotonoil CoA 0,25 mM, NADPH 50  $\mu$ M y una dilución apropiada de la Fab I de *S. aureus*. Los inhibidores varían típicamente en el intervalo de 0,01 - 10  $\mu$ M. El consumo de NADPH es monitorizado durante 20 minutos a 30 °C siguiendo el cambio en la absorbancia a 340 nm. Las velocidades iniciales se estiman a partir de un ajuste exponencial de las curvas de progresión no lineales representado por la pendiente de la tangente en  $t = 0$  min. Las  $CI_{50}$  se estiman a partir de un ajuste de las velocidades iniciales a un modelo estándar de 4 parámetros y típicamente se presentan como la media  $\pm$  D. T. de las determinaciones por duplicado. El triclosan, un agente antibacteriano comercial e inhibidor de la Fab I, se incluye actualmente en todos los ensayos como control positivo.

#### Ensayo de inhibición de la enzima Fab I de *H. influenzae*

**[0169]** Los ensayos se llevan a cabo en placas de microtitulación de área media de 96 pocillos. Los compuestos son evaluados en mezclas de ensayo de 150  $\mu$ l que contienen MES 100 mM, dietanolamina 51 mM, trietanolamina 51 mM, pH 6,5 (MES = ácido 2-(N-morfolino) etansulfónico), 4 % de glicerol, crotonoil-ACP 25  $\mu$ M, NADH 50  $\mu$ M y una dilución apropiada de la Fab I de *N. influenzae* (aproximadamente 20 nM). Los inhibidores varían típicamente en el intervalo de 0,01 - 10  $\mu$ M. El consumo de NADH es monitorizado durante 20 minutos a 30 °C siguiendo el cambio en la absorbancia a 340 nm. Las velocidades iniciales se estiman a partir de un ajuste

exponencial de las curvas de progresión no lineales. Las  $CI_{50}$  se estiman a partir de un ajuste de las velocidades iniciales a un modelo estándar de 4 parámetros y típicamente se presentan como la media  $\pm$  D. T. de las determinaciones por duplicado. La  $K_i$  aparente se calcula asumiendo que la inhibición es competitiva con crotonoil-ACP. Actualmente se incluye un compuesto prototipo patentado en todos los ensayos como control positivo.

5

#### Ensayo de inhibición de la enzima Fab I de *E. coli*

**[0170]** Los ensayos se llevan a cabo en placas de microtitulación de área media de 96 pocillos. Los compuestos son evaluados en mezclas de ensayo de 150  $\mu$ l que contienen NaADA 100 mM, pH 6,5 (ADA = ácido N-[2-acetamido]-2-iminodiacético), 4 % de glicerol, crotonoil CoA 0,25 mM, NADH 50  $\mu$ M y una dilución apropiada de la Fab I de *E. coli*. Los inhibidores varían típicamente en el intervalo de 0,01 - 10  $\mu$ M. El consumo de NADH es monitorizado durante 20 minutos a 30 °C siguiendo el cambio en la absorbancia a 340 nm. Las velocidades iniciales se estiman a partir de un ajuste exponencial de las curvas de progresión no lineales representado por la pendiente de la tangente en  $t = 0$  min. Las  $CI_{50}$  se estiman a partir de un ajuste de las velocidades iniciales a un modelo estándar de 4 parámetros y típicamente se presentan como la media  $\pm$  D. T. de las determinaciones por duplicado. El triclosan, un agente antibacteriano comercial e inhibidor de la Fab I, se incluye actualmente en todos los ensayos como control positivo. Los compuestos de esta invención tienen unas  $CI_{50}$  de desde aproximadamente 100,0 micromolar hasta aproximadamente 0,05 micromolar.

#### 20 Preparación y purificación de la crotonoil-ACP

**[0171]** Las reacciones contienen 5 mg/ml de la apo-ACP de *E. coli*, crotonoil-CoA 0,8 mM (Fluka),  $MgCl_2$  10 mM, y sintasa de ACP de *S. pneumoniae* 30  $\mu$ M en NaHEPES 50 mM, pH 7,5. La mezcla se mezcla suavemente en un agitador magnético a 23 °C durante 2 h y la reacción se termina mediante la adición de EDTA 15 mM y enfriando en hielo. La mezcla de reacción se filtra a través de un filtro de 0,2 micrómetros (Millipore) y se aplica a una columna MonoQ (Pharmacia) equilibrada con Tris-Cl 20 mM, pH 7,5. La columna se lava con tampón hasta que se elimina todo el material no adherente (según se observa mediante una detección por UV), y la crotonoil-ACP se eluye con un gradiente lineal de NaCl desde 0 hasta 400 mM.

#### 30 Ensayo de inhibición de la enzima Fab I de *S. aureus* mediante el uso de crotonoil-ACP

**[0172]** Los ensayos se llevan a cabo en placas de microtitulación de área media de 96 pocillos. Los compuestos son evaluados en mezclas de ensayo de 100  $\mu$ l que contienen 100 mM de NaADA, pH 6,5 (ADA = ácido N-(2-acetamido)-2-iminodiacético), 4 % de glicerol, crotonoil-ACP 25  $\mu$ M, NADPH 50  $\mu$ M y una dilución apropiada de la Fab I de *S. aureus* (aproximadamente 20 nM). Los inhibidores varían típicamente en el intervalo de 0,01 - 30  $\mu$ M. El consumo de NADPH es monitorizado durante 30 minutos a 30 °C siguiendo el cambio en la absorbancia a 340 nm. Las velocidades iniciales se estiman a partir de un ajuste lineal de las curvas de progresión. Las  $CI_{50}$  se estiman a partir de un ajuste de las velocidades iniciales a un modelo estándar de 4 parámetros (Ecuación 1) y típicamente se presentan como la media  $\pm$  D. T. de las determinaciones por duplicado. Los compuestos de esta invención en este ensayo tienen unas  $CI_{50}$  de desde aproximadamente 60,0 micromolar hasta aproximadamente 0,01 micromolar. La  $K_i$  aparente se calcula a partir de la Ecuación 2 asumiendo que la inhibición es competitiva con crotonoil-ACP. Más específicamente, los valores medidos de la  $CI_{50}$  para 24 compuestos de la presente invención variaron desde menos de aproximadamente 0,02  $\mu$ M hasta aproximadamente 25  $\mu$ M, teniendo 11 de éstos compuestos una  $CI_{50}$  de menos de 1.

45

#### Ensayo de inhibición de la enzima Fab I de *H. pylori* mediante el uso de crotonoil-ACP

**[0173]** Los ensayos se llevan a cabo en placas de microtitulación de área media de 96 pocillos. Los compuestos son evaluados en mezclas de ensayo de 100  $\mu$ l que contienen NaADA 100 mM, pH 6,5 (ADA = ácido N-(2-acetamido)-2-iminodiacético), 4 % de glicerol, crotonoil-ACP 10  $\mu$ M, NADH 50  $\mu$ M, acetato amónico 100 mM y una dilución apropiada de la Fab I de *H. pylori* (aproximadamente 15 nM). Los inhibidores varían típicamente en el intervalo de 0,025 - 30  $\mu$ M. El consumo de NADH es monitorizado durante 30 minutos a 25 °C siguiendo el cambio en la absorbancia a 340 nm. Las velocidades iniciales se estiman a partir de un ajuste lineal de las curvas de progresión. Las  $CI_{50}$  se estiman a partir de un ajuste de las velocidades iniciales a un modelo estándar de 4 parámetros (Ecuación 1) y típicamente se presentan como la media  $\pm$  D. T. de las determinaciones por duplicado. Los compuestos de esta invención en este ensayo tienen unas  $CI_{50}$  de desde aproximadamente 60,0 micromolar hasta aproximadamente 0,01 micromolar. La  $K_i$  aparente se calcula a partir de la Ecuación 2 asumiendo que la inhibición es competitiva con crotonoil-ACP.

55

Ecuación 1:  $v = \text{intervalo} / (1 + [I] / Cl_{50}) s + \text{fondo}$

Ecuación 2:  $K_i (\text{ap}) = Cl_{50} / (1 + [S] / K_s)$

5

Ensayo de inhibición de la enzima Fab K de *S. pneumoniae* mediante el uso de crotonoil-ACP

**[0174]** Los ensayos se llevan a cabo en placas de microtitulación de área media de 96 pocillos. Los compuestos son evaluados en mezclas de ensayo de 100  $\mu\text{l}$  que contienen MES 100 mM, dietanolamina 51 mM, trietanolamina 51 mM, pH 6,5 [MES = ácido 2-(N-morfolino) etansulfónico], 4 % de tampón de glicerol,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  100 mM, crotonoil-ACP 25  $\mu\text{M}$ , NADH 50  $\mu\text{M}$  y la Fab K de *S. pneumoniae* 15 nM. Los inhibidores varían típicamente en el intervalo de 0,025 - 30  $\mu\text{M}$ . El consumo de NADH es monitorizado durante 30 minutos a 30 °C siguiendo el cambio en la absorbancia a 340 nm. Las velocidades iniciales se estiman a partir de un ajuste lineal de las curvas de progresión. Las  $Cl_{50}$  se estiman a partir de un ajuste de las velocidades iniciales a un modelo estándar de 4 parámetros (Ecuación 1) y típicamente se presentan como la media  $\pm$  D. T. de las determinaciones por duplicado. Los compuestos de esta invención en este ensayo tienen unas  $Cl_{50}$  de desde aproximadamente 60,0 micromolar hasta aproximadamente 0,01 micromolar. La  $K_i$  aparente se calcula a partir de la Ecuación 2 asumiendo que la inhibición es competitiva con crotonoil-ACP.

20 Ensayo de actividad antimicrobiana

**[0175]** La actividad antimicrobiana en células completas se determina mediante una microdilución en caldo mediante el uso del procedimiento y recomendado en los National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), Documento M7-A5, "Methods for Dilution Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically". El compuesto se ensaya en diluciones sucesivas dobles que varían entre 0,06 y 64 mcg/ml. En el ensayo se evalúa un grupo de 12 cepas. Este grupo consiste en las siguientes cepas de laboratorio: *Enterococcus faecalis* 29212, *Staphylococcus aureus* 29213, *Staphylococcus aureus* 43300, *Moraxella catarrhalis* 49143, *Haemophilus influenzae* 49247, *Streptococcus pneumoniae* 49619, *Staphylococcus epidermidis* 1024939, *Staphylococcus epidermidis* 1024961, *Escherichia coli* AG 100 ( $\text{AcrAB}^+$ ), *Escherichia coli* AG100A ( $\text{AcrAB}^-$ )" *Pseudomonas aeruginosa* K767 ( $\text{MexAB}^+$ ,  $\text{OprM}^+$ ), *Pseudomonas aeruginosa* K1119 ( $\text{MexAB}^-$ ,  $\text{OprM}^-$ ). La concentración inhibidora mínima (MIC) se determina como la menor concentración de compuestos que inhibió un crecimiento visible. Se usa un espectrofotómetro para ayudar a la determinación del punto final de la MIC.

**[0176]** Los ensayos de la MIC pueden llevarse a cabo mediante el uso del método de la microdilución en un formato de 96 pocillos. Los ensayos pueden llevarse a cabo en placas de 96 pocillos con un volumen final de 100  $\mu\text{l}$  de caldo de Mueller Hinton ajustado en cationes que contiene diluciones sucesivas dobles de los compuestos que varían entre 32 y 0,06  $\mu\text{g/ml}$ . El crecimiento bacteriano puede medirse a 600 nm mediante el uso de un espectrofotómetro Molecular Devices SpectraMax 340PC. Entonces pueden determinarse las MIC mediante un algoritmo del umbral de absorbancia, y confirmarse en algunos casos mediante la inspección de las placas en una caja de luz.

**[0177]** La concentración bactericida mínima (MBC) puede determinarse colocando en placas alícuotas de las diluciones sucesivas de MIC que no mostraron crecimiento bacteriano, en placas de Petri que contienen el apropiado medio de crecimiento semisólido. La menor concentración de compuesto que dio como resultado una destrucción > 99 % de las células bacterianas (con respecto al inóculo bacteriano inicial del ensayo de la MIC) se define como la MBC.

**[0178]** Pueden usarse varios grupos de cepas en varios puntos del esquema de progresión del compuesto. El grupo primario puede incluir cepas prototipo individuales de patógenos tanto extrahospitalarios como intrahospitalarios para la determinación de las actividades iniciales y de los espectros de actividad. Las composiciones del grupo secundario dependerán de los resultados de los grupos primarios, e incluirán 10 - 20 cepas de la especie pertinente que incluirá cepas extrahospitalarias y cepas intrahospitalarias resistentes a antibióticos de *Staphylococcus aureus* y de estafilococos negativos para coagulasa, junto con otras cepas que sean sensibles a los nuevos compuestos, y cepas de control negativo. Los grupos secundarios se usarán durante la optimización de las series químicas prototipo. Los grupos terciarios incluirán 100 - 200 cepas clínicas de *S. aureus* y de estafilococos negativos para coagulasa, junto con otras cepas pertinentes, como para los grupos secundarios. Los grupos terciarios se utilizarán durante la fase de selección de los compuestos candidatos y en los estudios preclínicos para generar los parámetros de eficacia de la población bacteriana, tales como la  $MIC_{50}$  y la  $MIC_{90}$ .

**[0179]** Mediante el uso del ensayo descrito anteriormente, los valores medidos de la MIC frente a *Staphylococcus aureus* 29213 para 24 compuestos de la presente invención, variaron desde menos de aproximadamente 0,06 µg/ml hasta más de aproximadamente 30 µg/ml con 9 de estos compuestos, que tienen una MIC de menos de 1.

5

#### Estudios de eficacia *in vitro* en *Franciscella tularensis*

**[0180]** Los ensayos rutinarios de la MIC en *F. tularensis* pueden llevarse a cabo con compuestos que tengan una inhibición demostrada sobre la actividad enzimática frente a la proteína Fab I de *F. tularensis*. El ensayo de la MIC en *F. tularensis* pueden subcontratarse en una instalación con prestaciones BL3, y con experiencia en la manipulación de cultivos de *F. tularensis* en el laboratorio. Los estudios pueden llevarse a cabo con los métodos recomendados para los ensayos de susceptibilidad antimicrobiana en *F. tularensis*.

10

#### Estudios de eficacia *in vitro* en *Helicobacter pylori*

**[0181]** Los ensayos rutinarios de la MIC en *H. pylori* pueden llevarse a cabo con compuestos que tengan una inhibición demostrada sobre la actividad enzimática frente a la proteína *H. pylori*. Los estudios pueden llevarse a cabo con los métodos recomendados para los ensayos de susceptibilidad antimicrobiana en *H. pylori*.

#### 20 Ensayos de citotoxicidad

**[0182]** La citotoxicidad de los nuevos compuestos puede ser evaluada mediante el ensayo de Alamar Blue de acuerdo con las instrucciones de los fabricantes. Pueden exponerse líneas celulares humanas (por ejemplo, Jurkat) crecidas en placas de 96 pocillos, a diluciones sucesivas de los compuestos ensayados. Después de la adición del Alamar Blue, la viabilidad celular puede determinarse mediante la medición de la absorbancia de las formas reducidas y oxidadas del Alamar Blue a 570 nm y a 600 nm. La citotoxicidad puede indicarse como la DL<sub>50</sub>, la concentración que provoca una reducción del 50 % en la viabilidad celular.

#### Dosis

30

**[0183]** La dosis de cualquier composición de la presente invención variará dependiendo de los síntomas, de la edad y el peso corporal del paciente, de la naturaleza y la gravedad del trastorno que se va a tratar o prevenir, de la vía de administración y de la forma de la composición en cuestión. Cualquiera de las formulaciones en cuestión puede ser administrada en una única dosis o en dosis divididas. Las dosis de las composiciones de la presente invención pueden determinarse fácilmente mediante técnicas conocidas por los expertos en la técnica o como se enseña en este documento.

**[0184]** En ciertas formas de realización, la dosis de los compuestos en cuestión estará generalmente en el intervalo de desde aproximadamente 0,01 ng hasta aproximadamente 10 g por kg de peso corporal, específicamente en el intervalo de desde aproximadamente 1 ng hasta aproximadamente 0,1 g por kg, y más específicamente en el intervalo de desde aproximadamente 100 ng hasta aproximadamente 10 mg por kg.

**[0185]** Puede ser necesario identificar una dosis o cantidad eficaz, y cualquier posible repercusión sobre la cronología de administración de la formulación, para cualquier composición en particular de la presente invención. Esto puede llevarse a cabo mediante experimentos rutinarios según se describe en este documento, mediante el uso de uno o más grupos de animales (preferiblemente al menos 5 animales por grupo), o en ensayos con seres humanos si fuera apropiado. La eficacia de cualquier composición en cuestión y método de tratamiento o prevención puede evaluarse mediante la administración de la composición y la evaluación del efecto de la administración mediante la medición de uno o más índices aplicables, y la comparación de los valores posteriores al tratamiento de estos índices con los valores de los mismos índices antes del tratamiento.

**[0186]** El momento preciso de administración y la cantidad de cualquier composición en cuestión en particular que producirán el tratamiento más eficaz en un paciente dado dependerán de la actividad, la farmacocinética y la biodisponibilidad de una composición en cuestión, del estado fisiológico del paciente (incluyendo la edad, el sexo, el tipo y el estadio de la enfermedad, el grado de respuesta a una dosis y a un tipo de medicación dada), de la vía de administración, y similares. Las directrices presentadas en este documento pueden usarse para optimizar el tratamiento, por ejemplo, para determinar el tiempo y/o la cantidad de administración óptimos, que no requerirán más que una experimentación rutinaria que consiste en la monitorización del sujeto y el ajuste de la dosis y/o de la cronología.

55

**[0187]** Mientras el sujeto esté en tratamiento, la salud del paciente puede monitorizarse mediante la medición de uno o más de los índices pertinentes en momentos predeterminados durante el periodo de tratamiento. El tratamiento, incluyendo la composición, las cantidades, los tiempos de administración y la formulación, pueden optimizarse de acuerdo con los resultados de dicha monitorización. El paciente puede ser reevaluado periódicamente para determinar el grado de mejora mediante la medición de los mismos parámetros. Los ajustes de la(s) cantidad(es) de la composición en cuestión administrada(s), y posiblemente del tiempo de administración, pueden realizarse basándose en estas reevaluaciones.

10 **[0188]** El tratamiento puede iniciarse con dosis más pequeñas, que son inferiores a la dosis óptima del compuesto. A continuación, puede aumentarse la dosis en incrementos pequeños hasta que se alcance el efecto terapéutico óptimo.

15 **[0189]** El uso de las composiciones en cuestión puede reducir la dosis requerida para cualquier agente individual contenido en las composiciones (por ejemplo, el inhibidor de la Fab I) debido a que la aparición y la duración del efecto de los diferentes agentes pueden ser complementarios.

20 **[0190]** La toxicidad y la eficacia terapéutica de las composiciones en cuestión pueden determinarse mediante procedimientos farmacéuticos estándar en cultivos celulares o en animales experimentales, por ejemplo, para la determinación de la DL<sub>50</sub> y de la DE<sub>50</sub>.

25 **[0191]** Los datos obtenidos a partir de los ensayos con cultivos celulares y estudios animales pueden usarse en la formulación de un intervalo de dosis para su uso en seres humanos. La dosis de cualquier composición en cuestión está preferiblemente en un intervalo de concentraciones en circulación que incluyen la DE<sub>50</sub> con poca o ninguna toxicidad. La dosis puede variar en este intervalo dependiendo de la forma de dosificación empleada y de la vía de administración utilizada. Para las composiciones de la presente invención, la dosis terapéuticamente eficaz puede estimarse inicialmente a partir de los ensayos con cultivos celulares.

#### Formulación

30 **[0192]** Las composiciones antibacterianas de la presente invención pueden administrarse mediante varios medios, dependiendo de su uso previsto, como se sabe bien en la técnica. Por ejemplo, si las composiciones de la presente invención van a ser administradas por vía oral, pueden formularse como comprimidos, cápsulas, gránulos, polvos o jarabes. Alternativamente, las formulaciones de la presente invención pueden administrarse por vía parenteral como inyecciones (intravenosa, intramuscular o subcutánea), preparaciones para infusión por goteo o supositorios. Para su aplicación mediante la vía de la membrana mucosa oftálmica, las composiciones de la presente invención pueden formularse como gotas oculares o como ungüentos oculares. Estas formulaciones pueden prepararse mediante medios convencionales, y si se desea, las composiciones pueden mezclarse con cualquier aditivo convencional, tal como un excipiente, un aglutinante, un agente disgregante, un lubricante, un corrector, un agente solubilizante, un coadyuvante de suspensión, un agente emulsionante o un agente de recubrimiento.

45 **[0193]** En las formulaciones de la invención en cuestión puede haber presentes en los agentes formulados agentes humectantes, emulsionantes y lubricantes, tales como lauril sulfato de sodio y estearato de magnesio, así como agentes colorantes, agentes de liberación, agentes de recubrimiento, edulcorantes, saborizantes y agentes perfumantes, conservantes y antioxidantes.

50 **[0194]** Las composiciones en cuestión pueden ser adecuadas para su administración por vía oral, nasal, tópica (incluyendo bucal y sublingual), rectal, vaginal, en aerosol y/o parenteral. Las formulaciones pueden presentarse convenientemente en una forma de dosificación unitaria, y pueden prepararse mediante cualquier método bien conocido en la técnica de Farmacia. La cantidad de la composición que puede combinarse con un material portador para producir una dosis individual varía dependiendo del sujeto que se va a tratar y del modo de administración en particular.

55 **[0195]** Los métodos de preparación de estas formulaciones incluyen la etapa de llevar a una asociación las composiciones de la presente invención con el portador, y opcionalmente, uno o más ingredientes accesorios. En general, las formulaciones se preparan llevando uniforme e íntimamente a una asociación los agentes con portadores líquidos, o portadores sólidos finamente divididos, o ambos, y después, si fuera necesario, dar forma al producto.



- [0196]** Las formulaciones adecuadas para su administración oral pueden estar en forma de cápsulas, obleas, píldoras, comprimidos, tabletas (usando una base saborizada, habitualmente sacarosa y acacia o tragacanto), polvos, gránulos, o como una disolución o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso, o en forma de una emulsión líquida de aceite en agua o de agua en aceite, o como un elixir o un jarabe, o como pastillas (usando una base inerte, tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y acacia), que contiene cada una, una cantidad predeterminada de una composición en cuestión de la misma como principio activo. Las composiciones de la presente invención también pueden administrarse como un bolo, un electuario o una pasta.
- 10 **[0197]** En las formas de dosificación sólida para administración oral (cápsulas, comprimidos, píldoras, grageas, polvos, gránulos, y similares), la composición en cuestión se mezcla con uno o más portadores farmacéuticamente aceptables, tales como citrato de sodio o fosfato dicálcico, y/o cualquiera de los siguientes: (1) agentes de relleno o expansores, tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol, y/o ácido silícico; (2) aglutinantes, tales como, por ejemplo, carboximetil celulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y/o acacia; (3) humectantes, tales como glicerol; (4) agentes disgregantes, tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o de tapioca, ácido algínico, algunos silicatos y carbonato de sodio; (5) agentes retardantes de la disolución, tales como parafina; (6) aceleradores de la absorción, tales como compuestos de amonio cuaternario; (7) agente humectantes, tales como, por ejemplo, alcohol acetílico y monoestearato de glicerol; (8) absorbentes, tales como caolín y arcilla de bentonita; (9) lubricantes, tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, lauril sulfato de sodio, y mezclas de los mismos; y (10) agentes colorantes. En el caso de las cápsulas, los comprimidos y las píldoras, las composiciones también pueden comprender agentes tamponantes. También pueden emplearse composiciones sólidas de un tipo similar como agentes de relleno de cápsulas de gelatina blanda y dura mediante el uso de excipientes tales como lactosa o azúcares de la leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular, y similares.
- 15 20 25 **[0198]** Puede elaborarse un comprimido mediante compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Los comprimidos pueden prepararse mediante el uso de un aglutinante (por ejemplo, gelatina o hidroxipropilmetil celulosa), un lubricante, un diluyente inerte, un conservante, un disgregante (por ejemplo, glucolato sódico de almidón o carboximetil celulosa de sodio reticulada), un agente tensioactivo o un dispersante. Los comprimidos moldeados pueden elaborarse mediante el moldeo en una máquina adecuada de una mezcla de la composición en cuestión humedecida con un diluyente líquido inerte. Los comprimidos y otras formas de dosificación sólidas, tales como grageas, cápsulas, píldoras y gránulos, pueden estar opcionalmente ranurados o preparados con recubrimientos y cubiertas, tales como recubrimientos entéricos y otros recubrimientos bien conocidos en el arte de la formulación farmacéutica.
- 30 35 **[0199]** Las formas de dosificación líquida para administración oral incluyen emulsiones, microemulsiones, disoluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además de la composición en cuestión, las formas de dosificación líquidas pueden contener diluyentes inertes usados habitualmente en la técnica, tales como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes, tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, aceites (en particular, aceites de semilla de algodón, de cacahuete, de maíz, de germen, de oliva, de ricino y de sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurfílico, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitano, ciclodextrinas, y mezclas de los mismos.
- 40 45 **[0200]** Las suspensiones, además de la composición en cuestión, pueden contener agentes suspensores como, por ejemplo, alcoholes isoestearílicos etoxilados, polioxietileno sorbitol y ésteres de sorbitano, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y tragacanto, y mezclas de los mismos.
- 50 **[0201]** Las formulaciones para administración rectal o vaginal pueden presentarse como un supositorio, que puede prepararse mezclando una composición en cuestión con uno o más excipientes o portadores no irritantes adecuados que comprenden, por ejemplo, manteca de cacao, polietilenglicol, una cera para supositorio o un salicilato, y que es sólido a la temperatura ambiente, pero líquido a la temperatura corporal, y por lo tanto, se fundirá en la cavidad corporal y liberará el agente activo. Las formulaciones que son adecuadas para su administración vaginal también incluyen óvulos vaginales, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones en aerosol que contienen portadores tales que son conocidos en la técnica como apropiados.
- 55 **[0202]** Las formas de dosificación para administración transdérmica de una composición en cuestión incluyen polvos, aerosoles, ungüentos, pastas, cremas, lociones, geles, disoluciones, parches e inhaladores. El componente activo puede mezclarse en condiciones estériles con un portador farmacéuticamente aceptable, y con cualquier

conservante, tampón o propelente que pueda requerirse.

**[0203]** Los ungüentos, las pastas, las cremas y los geles pueden contener, además de una composición en cuestión, excipientes, tales como grasas animales y vegetales, aceites, ceras, parafinas, almidón, tragacanto, 5 derivados de celulosa, polietilenglicoles, silicones, bentonitas, ácido silícico, talco y óxido de cinc, o mezclas de los mismos.

**[0204]** Los polvos y los aerosoles pueden contener, además de una composición en cuestión, excipientes tales como lactosa, talco, ácido silícico, hidróxido de aluminio, silicato de calcio y polvo de poliamida, o mezclas de 10 estas sustancias. Los aerosoles pueden contener adicionalmente los propelentes habituales, tales como clorofluorohidrocarburos e hidrocarburos volátiles no sustituidos, tales como butano y propano.

**[0205]** Las composiciones y los compuestos de la presente invención pueden administrarse alternativamente mediante un nebulizador. Esto se lleva a cabo preparando un aerosol acuoso, una preparación liposómica o 15 partículas sólidas que contienen el compuesto. Podría usarse una suspensión no acuosa (por ejemplo, un propelente fluorocarbonado). Podrían usarse nebulizadores sónicos ya que minimizan la exposición del agente a la cizalladura, lo que puede dar como resultado una degradación de los compuestos contenidos en las composiciones en cuestión.

**[0206]** Habitualmente, un aerosol acuoso se elabora formulando una disolución o una suspensión acuosa de 20 una composición en cuestión junto con portadores y estabilizantes convencionales farmacéuticamente aceptables. Los portadores y los estabilizantes varían según los requisitos de la composición en cuestión en particular, pero típicamente incluyen tensioactivos no iónicos (Tweens, Pluronic o polietilenglicol), proteínas inocuas tales como albúmina sérica, ésteres de sorbitano, ácido oleico, lecitina, aminoácidos tales como glicina, tampones, sales, 25 azúcares o alcoholes de azúcar. Los aerosoles se preparan generalmente a partir de disoluciones isotónicas.

**[0207]** Las composiciones farmacéuticas de esta invención adecuadas para su administración parenteral comprenden una composición en cuestión junto con una o más disoluciones, dispersiones, suspensiones o 30 emulsiones estériles isotónicas acuosas, no acuosas farmacéuticamente aceptables, o polvos estériles que pueden ser reconstituídos en disoluciones o dispersiones inyectables estériles justo antes de su uso, que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos, solutos que hacen la formulación isotónica con respecto a la sangre del receptor previsto, o agentes suspensores o espesantes.

**[0208]** Algunos ejemplos de portadores acuosos y no acuosos adecuados que pueden emplearse en las 35 composiciones farmacéuticas de la invención incluyen agua, etanol, polioles (taled como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol y similares), y mezclas adecuadas de los mismos, aceites vegetales, tales como aceite de oliva, y ésteres orgánicos inyectables, tales como oleato de etilo y ciclodextrinas. La fluidez apropiada puede ser mantenida, por ejemplo, mediante el uso de materiales de recubrimiento, tales como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de las dispersiones, y mediante el uso de tensioactivos. 40

**[0209]** En ciertas formas de realización, los compuestos en cuestión pueden formularse como un comprimido, una píldora, una cápsula u otra formulación ingerible apropiada (denominadas conjuntamente en lo sucesivo "comprimido"), para proporcionar una dosis terapéutica en 10 comprimidos o menos. En otro ejemplo, se proporciona una dosis terapéutica en 50, 40, 30, 20, 15, 10, 5 ó 3 comprimidos. 45

**[0210]** En cierta forma de realización, el agente antibacteriano se formula para su administración oral como un comprimido o una disolución o suspensión acuosa. En otra forma de realización de la forma de comprimido del agente antibacteriano, los comprimidos se formulan de forma que la cantidad de agente antibacteriano (o de agentes antibacterianos) proporcionada en 20 comprimidos, si se toman conjuntamente, proporcionaría una dosis de al menos la dosis eficaz media ( $DE_{50}$ ), por ejemplo, la dosis en la que al menos el 50 % de los individuos mostró el efecto cuántico de inhibición del crecimiento o de inhibición de las células bacterianas (por ejemplo, una reducción estadísticamente significativa en la infección). En una forma de realización adicional, los comprimidos se formulan de forma que la cantidad total de agente antibacteriano (o de agentes antibacterianos) proporcionada en 10, 5, 2 ó 1 comprimidos proporcionaría al menos una dosis  $DE_{50}$  a un paciente (un ser humano o un mamífero no humano). En 50 otras formas de realización, la cantidad de agente antibacteriano (o de agentes antibacterianos) proporcionada en 20, 10, 5 ó 2 comprimidos tomada en un periodo de tiempo de 24 horas proporcionaría un régimen de dosificación que proporciona, de media, un nivel plasmático medio del (los) agente(s) antibacteriano(s) de al menos la concentración  $DE_{50}$  (la concentración para un 50 % de efecto máximo de, por ejemplo, inhibición del crecimiento de las células bacterianas). En otras formas de realización, se proporciona menos de 100 veces, de 10 veces o de 5 55

veces la DE<sub>50</sub>. En otras formas de realización, una única dosis de comprimidos (1 - 20 comprimidos) proporciona aproximadamente entre 0,25 mg y 1.250 mg de uno o varios agente(s) antibacteriano(s).

**[0211]** Asimismo, los agentes antibacterianos pueden formularse para una administración parenteral, como por ejemplo, para una inyección subcutánea, intramuscular o intravenosa, por ejemplo, el agente antibacteriano puede proporcionarse en una disolución o una suspensión estéril (denominadas conjuntamente en lo sucesivo "disolución inyectable"). La disolución inyectable se formula de forma que la cantidad de agente antibacteriano (o de agentes antibacterianos) proporcionada en una inyección en bolo de 200 cc proporcionaría una dosis de al menos la dosis eficaz media, o menos de 100 veces la DE<sub>50</sub>, o menos de 10 ó de 5 veces la DE<sub>50</sub>. La disolución inyectable puede formularse de forma que la cantidad total de agente antibacteriano (o de agentes antibacterianos) proporcionada en inyecciones de 100, de 50, de 25, de 10, de 5, de 2,5 ó de 1 cc proporcionaría una dosis DE<sub>50</sub> a un paciente, o menos de 100 veces la DE<sub>50</sub>, o menos de 10 ó de 5 veces la DE<sub>50</sub>. En otras formas de realización, la cantidad de agente antibacteriano (o de agentes antibacterianos) proporcionada en un volumen total de 100 cc, de 50, de 25, de 5 ó de 2 cc que se va a inyectar al menos dos veces en un periodo de tiempo de 24 horas proporcionaría un régimen de dosificación que proporciona, de media, un nivel plasmático medio del (los) agente(s) antibacteriano(s) de al menos la concentración DE<sub>50</sub>, o menos de 100 veces la DE<sub>50</sub>, o menos de 10 ó de 5 veces la DE<sub>50</sub>. En otras formas de realización, una única inyección de dosis proporciona aproximadamente entre 0,25 mg y 1.250 mg de agente antibacteriano.

## 20 Eficacia del tratamiento

**[0212]** La eficacia del tratamiento con las composiciones en cuestión puede determinarse de varias formas conocidas por los expertos en la técnica.

**[0213]** En un método ejemplar, la tasa de supervivencia media de las bacterias o el tiempo de supervivencia medio o la esperanza de vida para el tratamiento con una composición en cuestión puede compararse con otras formas de tratamiento con el inhibidor de la Fab I en particular, o con otros agentes antibióticos. La disminución en la tasa de supervivencia media de las bacterias o del tiempo o de la esperanza de vida para el tratamiento con una composición en cuestión en comparación con el tratamiento con otro método puede ser del 10, del 25, del 50, del 75, del 100, del 150, del 200, del 300, del 400 % incluso más. El periodo de tiempo de observación de cualquier disminución puede ser de aproximadamente 3, 5, 10, 15, 30, 60 ó 90 días o más. La comparación puede realizarse frente al tratamiento con el inhibidor de la Fab I en particular contenido en la composición en cuestión, o con otros agentes antibióticos, o la administración del mismo o de diferentes agentes mediante un método diferente, o la administración como parte de un dispositivo de administración de fármacos diferente al de la composición en cuestión. La comparación puede realizarse frente a la misma dosis eficaz o una diferente de varios agentes. Los regímenes diferentes comparados pueden usar mediciones de los niveles bacterianos para evaluar la eficacia.

**[0214]** Alternativamente, una comparación de los diferentes regímenes de tratamiento descritos anteriormente puede basarse en la eficacia del tratamiento, mediante el uso de índices estandarizados para infecciones bacterianas conocidos por los expertos en la técnica. Un método de tratamiento puede ser un 10 %, un 20 %, un 30 %, un 50 %, un 75 %, un 100 %, un 150 %, un 200 %, un 300 % más eficaz que otro método.

**[0215]** Alternativamente, los diferentes regímenes de tratamiento pueden analizarse comparando el índice terapéutico de cada uno de ellos, con el tratamiento con una composición en cuestión en comparación con otro régimen con un índice terapéutico dos, tres, cinco o siete veces mayor que, o incluso uno, dos, tres o más órdenes de magnitud mayor que, el tratamiento con otro método que usa el mismo de inhibidor de la Fab I o uno diferente.

**[0216]** Como ejemplo no limitante, para determinar si los compuestos son bactericidas o bacteriostáticos a las concentraciones pertinentes, y para examinar la cinética de la eliminación bacteriana, puede llevarse a cabo el siguiente experimento con *S. aureus*, *S. epidermidis* y las apropiadas cepas y antibióticos de control. A cultivos logarítmicos recientes con 10<sup>7</sup> células viables/ml, puede añadirse el compuesto hasta alcanzar unas concentraciones de X1, X2 o X4 la MIC. Los cultivos de control no recibirán el compuesto. A intervalos de 1 hora, se diluirán alícuotas y se colocarán en placas para la determinación de los recuentos viables. Las representaciones gráficas de las células viables frente al tiempo durante hasta 24 horas revelarán las propiedades bactericidas / bacteriostáticas de los compuestos, y también mostrarán las cinéticas de eliminación. Estos experimentos son importantes para determinar si estos inhibidores tienen unos efectos dependientes del tiempo o dependientes de la concentración, y se usarán para ayudar a establecer las dosis apropiadas *in vivo* junto con mediciones farmacocinéticas y farmacodinámicas.

**[0217]** En la práctica de los actuales métodos, las composiciones antibacterianas de la presente invención inhiben la Fab I bacteriana con una  $K_i$  de 5  $\mu\text{M}$  o menos, de 1  $\mu\text{M}$  o menos, de 100 nM o menos, de 10 nM o menos o incluso de 1 nM o menos. En el tratamiento de seres humanos o de otros animales, el método en cuestión puede emplear inhibidores de la Fab I que son selectivos para la enzima bacteriana con respecto a la hidratasa de la enoil CoA del animal hospedador, por ejemplo, la  $K_i$  para la inhibición de la enzima bacteriana es de al menos un orden, dos órdenes, tres órdenes o incluso cuatro o más órdenes de magnitud menor que la  $K_i$  para la inhibición de la hidratasa de la enoil CoA del ser humano (o de otro animal). Esto es, la práctica del método en cuestión *in vivo* en animales utiliza los inhibidores de la Fab I con unos índices terapéuticos de al menos 10, 100 ó 1.000.

10 **[0218]** De forma análoga, en la práctica del método actual, los compuestos antibacterianos de la presente invención inhiben la Fab I con una  $CI_{50}$  de 30  $\mu\text{M}$  o menos, de 10  $\mu\text{M}$  o menos, de 100 nM o menos, o incluso de 10 nM o menos. En el tratamiento o de seres humanos o de otros animales, el método en cuestión puede emplear inhibidores de la Fab I que son selectivos para la enzima bacteriana con respecto a la hidratasa de la enoil CoA del animal hospedador, por ejemplo, la  $CI_{50}$  para la inhibición de la enzima bacteriana es de al menos un orden, dos  
15 órdenes, tres órdenes o incluso cuatro órdenes de magnitud menor que la  $CI_{50}$  para la inhibición de la hidratasa de la enoil CoA del ser humano (o de otro animal). Esto es, en las formas de realización preferidas, la práctica del método en cuestión *in vivo* en animales utiliza los inhibidores de la Fab I con unos índices terapéuticos de al menos 10, 100 ó 1.000.

20 **[0219]** Alternativamente, la inhibición bacteriana por parte de un compuesto antibacteriano de la presente invención también puede caracterizarse en términos de la concentración inhibidora mínima (MIC), que es la mayor concentración de compuesto requerida para conseguir una inhibición completa del crecimiento de las células bacterianas. Dichos valores son bien conocidos por los expertos en la técnica como representativos de la eficacia de un agente antibacteriano en particular frente a un organismo o grupo de organismos en particular. En la práctica de  
25 los métodos actuales, las composiciones antibacterianas de la presente invención inhiben el crecimiento bacteriano con unos valores de la MIC de aproximadamente 32  $\mu\text{g/ml}$ , de menos de aproximadamente 16  $\mu\text{g/ml}$ , de menos de aproximadamente 8  $\mu\text{g/ml}$ , de menos de aproximadamente 4  $\mu\text{g/ml}$ , de menos de aproximadamente 2  $\mu\text{g/ml}$ , de menos de aproximadamente 1  $\mu\text{g/ml}$ , de menos de aproximadamente 0,5  $\mu\text{g/ml}$ , de menos de aproximadamente 0,25  $\mu\text{g/ml}$ , o incluso de menos de aproximadamente 0,125  $\mu\text{g/ml}$ . También puede usarse el valor de la MIC90, definido como la concentración de un compuesto requerida para inhibir el crecimiento del 90 % de las cepas  
30 bacterianas en una población de cepas bacterianas dada. En ciertas formas de realización, los compuestos de la presente invención se eligen para su uso basándose, *inter alia*, en que tengan unos valores de la MIC90 de menos de aproximadamente 32  $\mu\text{g/ml}$ , de menos de aproximadamente 16  $\mu\text{g/ml}$ , de menos de aproximadamente 8  $\mu\text{g/ml}$ , de menos de aproximadamente 4  $\mu\text{g/ml}$ , de menos de aproximadamente 2  $\mu\text{g/ml}$ , de menos de aproximadamente 1  
35  $\mu\text{g/ml}$ , de menos de aproximadamente 0,5  $\mu\text{g/ml}$ , de menos de aproximadamente 0,25  $\mu\text{g/ml}$ , o incluso de menos de aproximadamente 0,125  $\mu\text{g/ml}$ .

**[0220]** En otras formas de realización, los compuestos en cuestión se eligen para su uso en animales, o en cultivos de células / tejidos de animales basándose al menos en parte en que tengan unas  $DL_{50}$  de al menos un  
40 orden, o dos órdenes, o tres órdenes, o incluso cuatro órdenes o más de magnitud mayores que la  $DE_{50}$ . Esto es, en ciertas formas de realización en las que los compuestos en cuestión van a ser administrados a un animal, un índice terapéutico adecuado es preferiblemente mayor de 10, 100, 1.000 o incluso 10.000.

#### Kits

45 **[0221]** Esta invención también proporciona kits para implementar conveniente y eficazmente los métodos de esta invención. Dichos kits comprenden cualquier composición en cuestión y un medio para facilitar la conformidad con los métodos de esta invención. Dichos kits proporcionan un medio conveniente y eficaz para asegurar que el sujeto que se va a tratar toma el principio activo apropiado en la dosis correcta y de la forma correcta. El medio de conformidad de dichos kits incluye cualquier medio que facilite la administración de los principios activos de acuerdo  
50 con un método de esta invención. Dicho medio de conformidad incluye instrucciones, envasado y un medio de dispensación, y combinaciones de los mismos. Los componentes del kit pueden envasarse para una práctica manual o parcial o completamente automatizada de los métodos anteriores. En otras formas de realización relativas a los kits, esta invención contempla un kit que incluye las composiciones de la presente invención, y opcionalmente  
55 instrucciones para su uso.

**[0222]** Los ejemplos que siguen no pretenden limitar en modo alguno el ámbito de esta invención, sino que se proporcionan para ilustrar cómo se preparan y se usan los compuestos de la presente invención. Para los expertos

en la técnica serán evidentes otras muchas formas de realización de esta invención.

### Ejemplificación

#### 5 General

**[0223]** Se registraron los espectros de resonancia magnética nuclear de protón [(RMN-<sup>1</sup>H) a 300 o a 500 MHz, y los desplazamientos químicos se indican en partes por millón ( $\delta$ ) campo abajo a partir del patrón interno de tetrametilsilano (TMS) o de un disolvente deuterado. Las abreviaturas para los datos de la RMN son como sigue: s = singlete, d = doblete, t = triplete, q = cuartete, m = multiplete, dd = doblete de dobletes, dt = doblete de tripletes, app = aparente, br = ancho. *J* indica la constante de acoplamiento de la RMN medida en Hertz. CDCl<sub>3</sub> es cloroformo deuterado, DMSO-d<sub>6</sub> es dimetilsulfóxido hexadeuterado, CD<sub>3</sub>OD es metanol tetradeuterado y D<sub>2</sub>O es óxido de deuterio. Los espectros de masas se obtuvieron mediante el uso de técnicas de ionización por electronebulización (ESI). La cromatografía ultrarrápida se realizó en gel de sílice de E. Merck Kieselgel 60 (230 - 400 de malla). La HPLC analítica se realizó con un sistema cromatográfico Varian. Celite® es un medio filtrante formado por sílice de diatomeas lavada con ácido, y es una marca registrada de Manville Corp., Denver, Colorado. Las abreviaturas generales son como sigue: EDC = clorhidrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida, HOBT = 1-hidroxibenzotriazol hidratado, (i-Pr)<sub>2</sub>EtN = *N,N*-diisopropiletilamina, DMF = *N,N*-dimetilformamida, MeOH = metanol, EtOH = etanol, THF = tetrahidrofurano, DMSO = dimetilsulfóxido, Et<sub>2</sub>O = éter dietílico, Ar = argón, Pd(OAc)<sub>2</sub> = acetato de paladio (II), P(*o*-tol)<sub>3</sub> = tri-orto-tolilfosfina, EtOAc = acetato de etilo, ACE-Cl = cloroformato de 1-cloroetilo, satd = saturado, Et<sub>3</sub>N = trietilamina, TFA = ácido trifluoroacético, Na-BH(OAc)<sub>3</sub> = triacetoxiborhidruro sódico, HOAc = ácido acético, EtCN = propionitrilo, CBzCl = cloroformato de bencilo, MeCN = acetonitrilo.

#### Ejemplo 1

25 Preparación de clorhidrato de (E)-espiro[2-oxo-2,3,4,5-tetrahidro-1H-pirido[2,3-e][1,4]diazepin-3,1'-ciclopentano]-7-il-N-(3-metil-benzofuran-2-ilmetil)-N-metilacrilamida

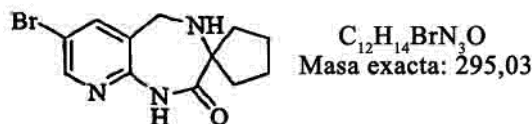
#### [0224]

30



a) metil éster del ácido 1-[(2-amino-5-bromo-piridin-3-ilnetil)amino]ciclopentanocarboxílico

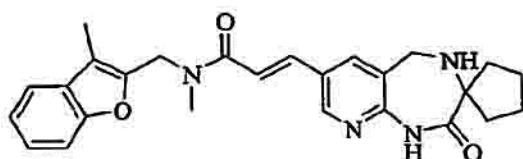
35 **[0225]** A una suspensión enfriada en hielo de bromhidrato de 5-bromo-3-bromometil-piridin-2-ilamina (8,64 g, 24,9 mmol) y metil éster del ácido 1-amino-ciclopentanocarboxílico (3,56 g, 24,9 mmol) en DMF (100 ml) se añadió lentamente Et<sub>3</sub>N (5,30 ml, 37,4 mmol). La mezcla se agitó durante 2 h y después se diluyó con H<sub>2</sub>O. El sólido se recogió mediante filtración para dar el compuesto del título (3,55 g, 43 %) en forma de un sólido de color amarillo: RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8,02 (d, *J* = 2,3 Hz, 1H), 7,37 (d, *J* = 2,3 Hz, 1H), 5,49 (s, 2H), 3,76 (s, 3H), 3,52 (s, 40 2H), 2,12 - 2,05 (m, 2H), 1,79 (s a, 7H).



b) espiro[7-bromo-2-oxo-2,3,4,5-tetrahidro-1H-pirido[2,3-e][1,4]diazepin-3,1'-ciclopentano]

45

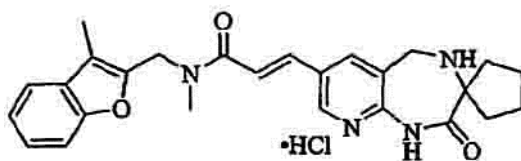
**[0226]** Una disolución de metil éster del ácido 1-[(2-amino-5-bromo-piridin-3-ilmetil)amino]ciclopentanocarboxílico (3,45 g, 10,5 mmol) en DMSO (100 ml) se trató con NaH (dispersión al 60 % en aceite mineral, 420 mg, 10,5 mmol) y se agitó a la temperatura ambiente durante 2 d. La mezcla se diluyó con H<sub>2</sub>O y el sólido se recogió mediante filtración. El sólido se trituró con CHCl<sub>3</sub> / MeOH para dar el compuesto del título (1,79 g, 58 %) en forma de un sólido de color blanquecino: RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8,23 (d, *J* = 2,3 Hz, 1H), 8,13 (s a, 50 1H), 7,51 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 3,92 (s, 2H), 2,31 - 2,22 (m, 2H), 1,86 - 1,73 (m, 7H).



$C_{26}H_{28}N_4O_3$   
Masa exacta: 444,22

c) (E)-espiro[2-oxo-2,3,4,5-tetrahydro-1H-pirido[2,3-e][1,4]diacepin-3,1'-ciclopentano]-7-il-N-(3-metil-benzofuran-2-ilmetil)-N-metilacrilamida

**[0227]** Una mezcla de espiro[7-bromo-2-oxo-2,3,4,5-tetrahydro-1H-pirido[2,3-e][1,4]diacepin-3,1'-ciclopentano] (456 mg, 1,54 mmol), N-metil-N-(3-metil-benzofuran-2-ilmetil) acrilamida (320 mg, 1,40 mmol), (*o*-tol)<sub>3</sub>P (137 mg, 0,45 mmol) y DIEA (0,35 ml, 2,10 mmol) en DMF (10 ml) se desoxigenó con argón durante 30 min, se añadió Pd(OAc)<sub>2</sub> (50 mg, 0,22 mmol), la mezcla se desoxigenó con argón de nuevo, y después se calentó a 100 °C durante una noche. La mezcla se enfrió hasta la temperatura ambiente y se particionó entre CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / H<sub>2</sub>O. La capa orgánica se lavó con H<sub>2</sub>O y NaCl satd, se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se concentró. La purificación mediante cromatografía en columna (gel de sílice, 95:5 de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / MeOH) dio un sólido de color amarillo claro. El sólido se suspendió en MeOH y a la mezcla se le aplicaron ultrasonidos. El sólido se recogió mediante filtración para dar el compuesto del título (354 mg, 57 %) en forma de un sólido de color blanquecino y como una mezcla de rotámeros de amida: RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,84 (m, 1H), 8,45 - 8,42 (m, 1H), 7,66 (d, *J* = 15,4 Hz, 1H), 7,55 - 7,48 (m, 2H), 7,41 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,28 - 7,21 (m, 2H), 7,15 - 6,84 (m, 1H), 4,83 - 4,72 (m, 2H), 3,96 (s, 2H), 3,23 - 3,09 (m, 3H), 2,33 - 2,25 (m, 5H), 1,84 - 1,74 (m, 7H).



$C_{26}H_{29}ClN_4O_3$   
Masa exacta: 480,19

20

d) clorhidrato de (E)-espiro[2-oxo-2,3,4,5-tetrahydro-1H-pirido[2,3-e][1,4]diacepin-3,1'-ciclopentano]-7-il-N-(3-metil-benzofuran-2-ilmetil)-N-metilacrilamida

**[0228]** Una suspensión de (E)-espiro[2-oxo-2,3,4,5-tetrahydro-1H-pirido[2,3-e][1,4]diacepin-3,1'-ciclopentano]-7-il-N-(3-metil-benzofuran-2-ilmetil)-N-metilacrilamida (354 mg, 0,80 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (15 ml) se trató con HCl anhidro (0,80 ml de una disolución 1,0 M en Et<sub>2</sub>O, 0,80 mmol) y la mezcla se agitó a la temperatura ambiente durante una noche. La mezcla se diluyó con Et<sub>2</sub>O y después el sólido se recogió mediante filtración para dar el compuesto del título (305 mg, 80 %) en forma de un sólido de color blanquecino y como una mezcla de rotámeros de amida: RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 11,02 (s, 1H), 10,6 (s, 2H), 8,73 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 8,38 (s, 1H), 7,66 - 7,22 (m, 6H), 5,02 - 4,81 (m, 2H), 4,29 (s, 2H), 3,21 - 2,93 (m, 3H), 2,27 (s, 3H), 2,20 - 2,16 (m, 2H), 1,90 - 1,76 (m, 4H), 1,62 - 1,60 (2H); EM (ESI) *m/e* 445 (M + H)<sup>+</sup>.

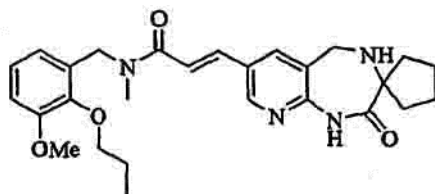
### Ejemplo 2

35

Preparación de clorhidrato de (E)-espiro[2-oxo-2,3,4,5-tetrahydro-1H-pirido[2,3-e][1,4]diacepin-3,1'-ciclopentano]-7-il-N-(3-metoxi-2-propoxibencil)-N-metilacrilamida

**[0229]**

40

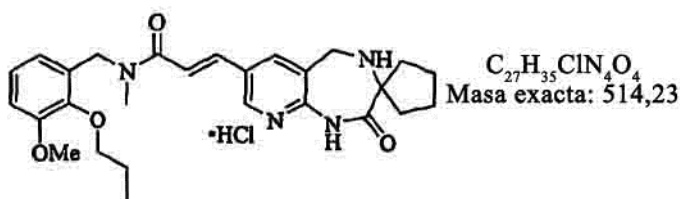


$C_{27}H_{34}N_4O_4$   
Masa exacta: 478,26

a) (E)-espiro[2-oxo-2,3,4,5-tetrahydro-1H-pirido[2,3-e][1,4]diacepin-3,1'-ciclopentano]-7-il-N-(3-metoxi-2-propoxi-

bencil)-N-metilacrilamida

- [0230]** Una mezcla de espiro[7-bromo-2-oxo-2,3,4,5-tetrahidro-1H-pirido[2,3-e][1,4]diazepin-3,1'-ciclopentano] (450 mg, 1,52 mmol), N-(3-metoxi-2-propoxibencil)-N-metilacrilamida (400 mg, 1,52 mmol), (o-tol)<sub>3</sub>P (131 mg, 0,43 mmol) y DIEA (0,30 ml, 1,82 mmol) en DMF (10 ml) se desoxigenó con argón durante 30 min, se añadió Pd(OAc)<sub>2</sub> (50 mg, 0,22 mmol), la mezcla se desoxigenó con argón y después calentó a 100 °C durante una noche. La mezcla se enfrió hasta la temperatura ambiente y se particionó entre CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / H<sub>2</sub>O. La capa orgánica se lavó con H<sub>2</sub>O y NaCl satd, se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se concentró. La purificación mediante cromatografía en columna (gel de sílice, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> hasta 96:4 de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / MeOH) dio un sólido de color amarillo claro. El sólido se suspendió en MeOH y a la mezcla se le aplicaron ultrasonidos. El sólido se recogió mediante filtración para dar el compuesto del título (333 mg, 46 %) en forma de un sólido de color blanquecino y como una mezcla de rotámeros de amida: RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,40 - 8,28 (m, 2H), 7,69 - 7,61 (m, 1H), 7,54 - 7,46 (m, 1H), 7,07 - 6,71 (m, 4H), 4,81 - 7,41 (m, 2H), 4,00 - 3,86 (m, 7H), 3,09 (s, 3H), 2,33 - 2,26 (m, 2H), 1,84 - 1,67 (m, 9H), 1,04 (t, J = 7,4 Hz, 3H).



15

b) clorhidrato de (E)-espiro[2-oxo-2,3,4,5-tetrahidro-1H-pirido[2,3-e][1,4]diazepin-3,1'-ciclopentano]-7-il-N-(3-metoxi-2-propoxi-bencil)-N-metilacrilamida

- [0231]** Una suspensión de clorhidrato de (E)-espiro[2-oxo-2,3,4,5-tetrahidro-1H-pirido[2,3-e][1,4]diazepin-3,1'-ciclopentano]-7-il-N-(3-metoxi-2-propoxibencil)-N-metilacrilamida (333 mg, 0,70 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 ml) se trató con HCl anhidro (0,70 ml de una disolución 1,0 M en Et<sub>2</sub>O, 0,70 mmol) y la mezcla se agitó a la temperatura ambiente durante una noche. La mezcla se diluyó con Et<sub>2</sub>O. El sólido resultante se recogió mediante filtración y se secó a vacío a 50 °C durante una noche para dar el compuesto del título (293 mg, 81 %) en forma de un sólido de color blanquecino y como una mezcla de rotámeros de amida: RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 11,00 (s, 1H), 10,58 (s, 2H), 8,71 (d, J=12,0 Hz, 1H), 8,38 - 8,31 (m, 1H), 7,08 - 7,54 (m, 1H), 7,41 - 7,35 (m, 1H), 7,08 - 6,95 (m, 2H), 6,69 - 6,63 (m, 1H), 4,81 - 4,65 (m, 2H), 4,29 - 4,26 (m, 2H), 3,92 - 3,85 (m, 2H), 3,80 (s, 3H), 3,12 - 2,87 (m, 3H), 2,21 - 2,10 (m, 2H), 1,90 - 1,58 (m, 8H), 1,01 - 0,94 (m, 3H); EM (ESI) *m/e* 479 (M + H)<sup>+</sup>.
- [0232]** Se añadió ácido trifluoroacético (1 ml) y la reacción se agitó a la temperatura ambiente durante 1 h. La disolución se concentró y se purificó mediante el uso de una HPLC preparativa para producir un sólido de color amarillo (88 mg, 57 %) en forma de la sal del TFA: RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO - d<sub>6</sub>) δ 8,29 - 8,01 (m, 2H), 7,57 (s, 1H), 7,55 - 7,42 (m, 3H), 7,30 - 7,22 (m, 2H), 4,96 - 4,90 (m, 3H), 4,78 (s, 1H), 3,98 (m, 1H), 3,16 (s, 2H), 2,90 (s, 1H), 2,26 (s, 3H), 1,26 (d, J = 6,4 Hz, 3H), EM (ESI) *m/e* 405 (C<sub>23</sub>H<sub>24</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub> + H)<sup>+</sup>.

35

#### Referencias

- [0233]** Heath y col., Nature 406: 145 2000; Bergler y col., 1994, J. Biol. Chem. 269, 5493 - 5496; Heath y col., 1996, J. Biol. Chem. 271, 1833 - 1836; Grassberger y col., 1984 J. Med Chem 27 947 - 953; Turnowsky y col., 1989, J. Bacteriol., 171, 6555 - 6565; McMurry y col., 1998 Nature 394, 531 - 532; Levy y col., 1999 Nature 398, 383 - 384; Ward y col., 1999 Biochem. 38, 12514 - 12525; Heck, Org. Reactions 1982, 27, 345; J. Het. Chem. 1978, 15, 249 - 251; Morb. Mortal Wkly Rep. 1998; 46: 71 - 80; Standards, N.C.f.C.L., Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically; Approved Standard - Quinta Edición. 2000; Baxter, D. F. y col., A novel membrane potential - sensitive fluorescent dye improves cell-based assays for ion channels. J Biomol Screen, 2002 7 (1): págs. 79 - 85; Ahmed, S.A., R. M. Gogal, Jr. y J. E. Walsh, A new rapid and simple non-radioactive assay to monitor and determine the proliferation of lymphocytes: an alternative to [3H]thymidine incorporation assay. J Immunol Methods, 1994 170 (2): págs. 211 - 24; <http://bbrp.lnl.gov/bbrp/ht ml/microbe.ht ml>; <http://artedi.abc.uu.se/Projects/Francisella/>; Solicitudes de Patente de EE.UU. N<sup>os</sup> 08/790.043; 10/009.219. 10/089.019; 09/968.129; 09/968.123; 09/968.236; 09/959.172; 09/979.560; 09/980.369; 10/089.755; 10/089.739; 10/089.740; Solicitudes PCT N<sup>os</sup> PCT/US03/38706; documento WO 0027628; documento WO 0210332; Solicitudes Provisionales de EE.UU. N<sup>os</sup> 60/431.406; 60/465.583; Patentes de EE.UU. N<sup>os</sup> 6.531.126; 6.527.759; 6.518.270; 6.518.239; 6.517.827; 6.461.829; 6.448.054; 6.423.341; 6.495.551; 6.486.149; 6.441.162; 6.436.980; 6.399.629; 6.518.263; 6.503.881; 6.503.881; 6.486.148; 6.465.429; 6.388.070; 6.531.649; 6.531.465; 6.528.089; 6.521.408;

6.518.487; 6.531.508; 6.514.962; 6.503.953; 6.492.351; 6.486.148; 6.461.607; 6.448.054; 6.495.161; 6.495.158;  
6.492.351; 6.486.165; 6.531.465; 6.514.535; 6.489.318; 6.497.886; 6.503.953; 6.503.539. 6.500.459; 6.492.351;  
6.500.463; 6.461.829; 6.448.238; 6.432.444; 6.333.045; 6.291.462; 6.221.859; 6.514.986; 6.340.689; 6.309.663;  
6.303.572; 6.277.836; 6.367.985; 6.468.964; 6.461.607; 6.448.449; 6.436.980; 6.423.741; 6.406.880; 6.395.746;  
5 6.346.391; 6.294.192; 6.267.985; 6.235.908; 6.515.113; 6.509.327; 6.503.955; 6.525.066; 6.531.291; 6.517.827;  
6.514.953; 6.514.541; 6.428.579; 6.451.339; 6.461.607; 6.461.829; 6.503.906; 6.518.239; 6.133.260; 6.174.878;  
6.184.380; 6.187.341; 6.194.429; 6.194.441; 6.198.000; 6.221.859; 6.221.864; 6.239.113; 6.239.141; y 6.248.363.

**Equivalentes**

10

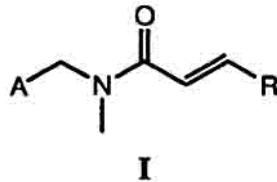
**[0234]** Aunque se han analizado formas de realización específicas de la invención en cuestión, la anterior memoria descriptiva es ilustrativa y no restrictiva. Muchas variaciones de la invención serán evidentes para los expertos en la técnica tras la revisión de esta memoria descriptiva. El ámbito completo de la invención debe ser determinado mediante referencia a las reivindicaciones.

15



REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula I:



5

en la que, independientemente en cada aparición,

A es un anillo monocíclico de 4 - 7 átomos que contiene 0 - 2 heteroátomos, un anillo bicíclico de 8 - 12 átomos que contiene 0 - 4 heteroátomos o un anillo tricíclico de 8 - 12 átomos que contiene 0 - 6 heteroátomos en el que los anillos son independientemente de naturaleza alifática, aromática, heteroarilo o heterocíclica, los heteroátomos se eligen de entre N, S u O y los anillos están opcionalmente sustituidos con uno o más grupos elegidos de entre alquilo C<sub>1-4</sub>, OR", CN, OCF<sub>3</sub>, F, Cl, Br, I; en la que R" es H, alquilo, aralquilo o heteroaralquilo;  
R es

15



en la que, independientemente en cada aparición,

20 R<sub>1</sub> es H, alquilo o arilo;

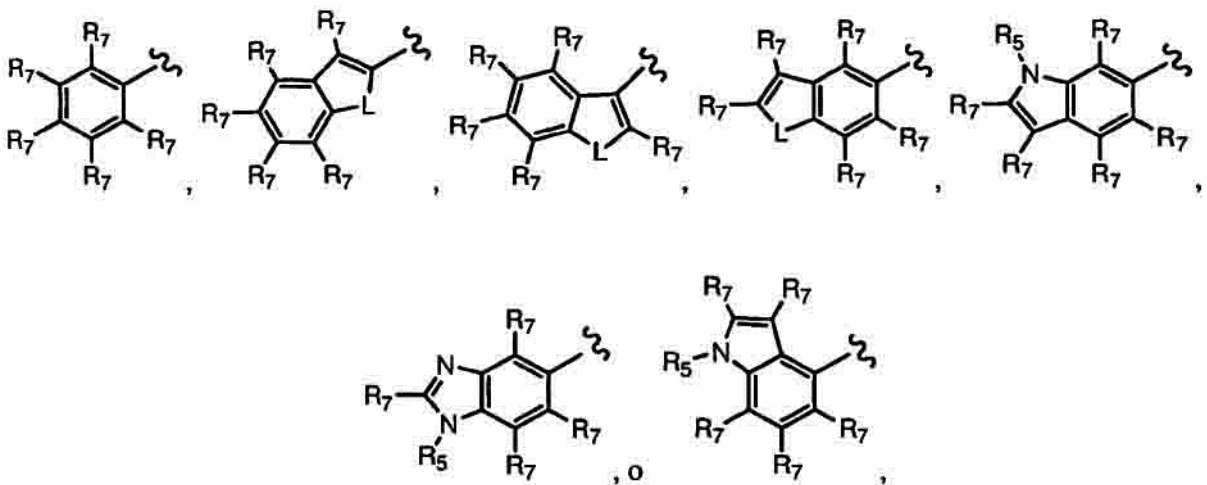
R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> tomados conjuntamente forman un anillo espirocíclico; y

R<sub>5</sub> es H, alquilo o arilo;

25

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

2. El compuesto de la reivindicación 1, en el que A se elige de entre los siguientes:



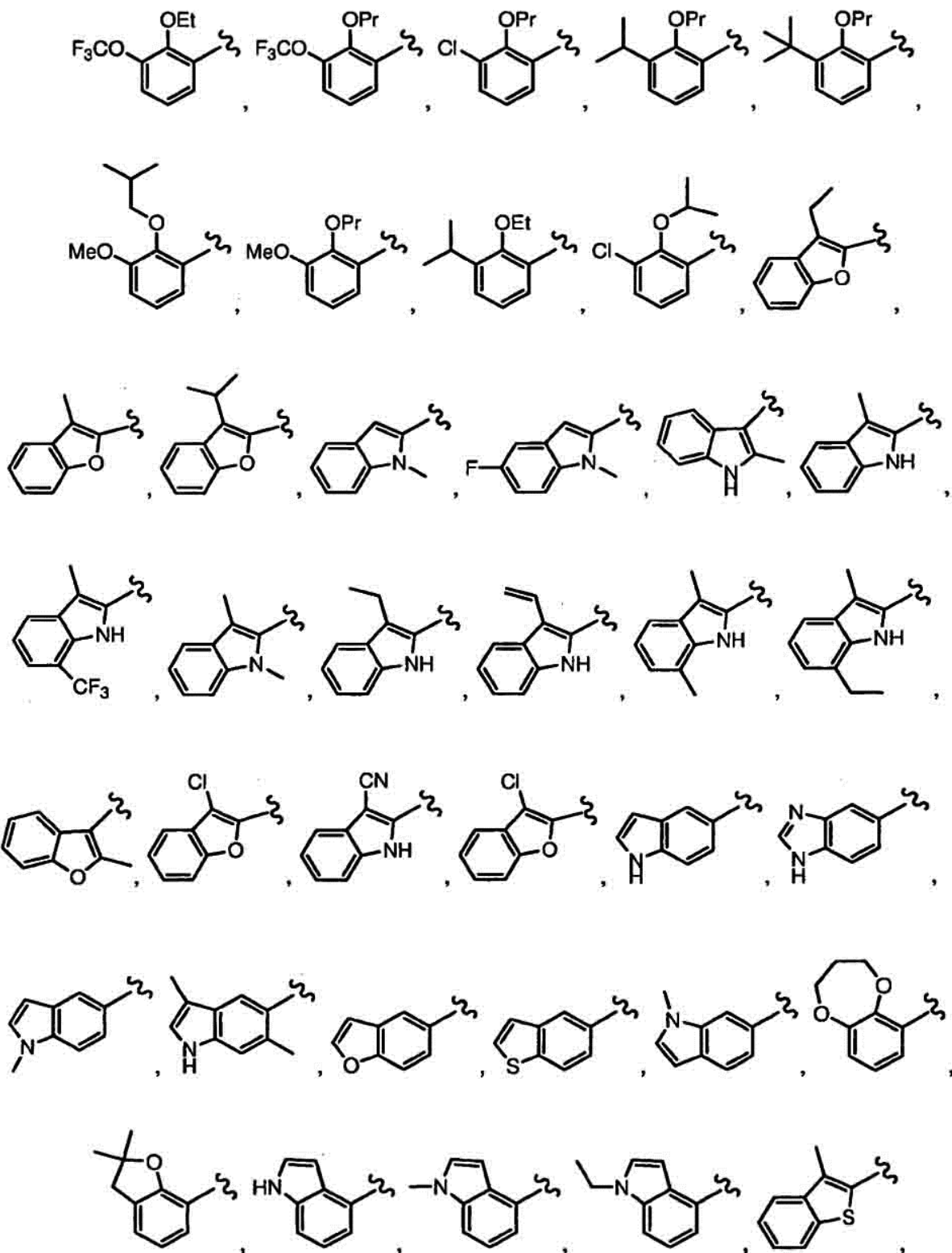
30

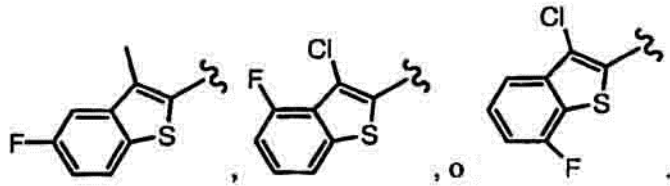
en las que, independientemente en cada aparición,

R<sub>7</sub> es H, alquilo C<sub>1-4</sub>, haloalquilo C<sub>1-4</sub>, alqueno C<sub>1-4</sub>, OR<sup>n</sup>, CN, OCF<sub>3</sub>, F, Cl, Br, I; en la que R<sup>n</sup> es H, alquilo, aralquilo  
5 o heteroaralquilo; y

L es O, S o NR<sub>5</sub>.

3. El compuesto de la reivindicación 1, en el que A se elige de entre los siguientes:  
10





4. El compuesto de la reivindicación 2, en el que el compuesto tiene la fórmula la:



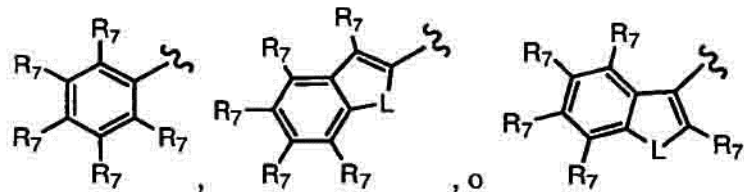
Ia

5

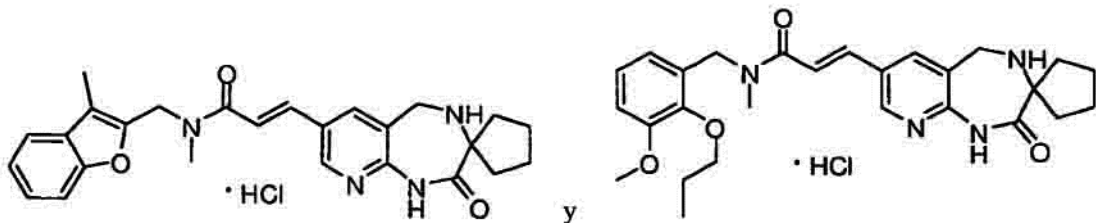
en la que:

A se elige de entre los siguientes:

10



5. El compuesto de la reivindicación 1, en el que el compuesto se elige de entre los siguientes:



15

6. El compuesto de la reivindicación 1, en el que el compuesto inhibe la Fab I con una  $K_i$  de 5  $\mu\text{M}$  o menos.

20 7. El compuesto de la reivindicación 1, en el que el compuesto inhibe la Fab I con una  $CI_{50}$  de 30  $\mu\text{M}$  o menos.

8. El compuesto de la reivindicación 1, en el que el compuesto inhibe la Fab I con una MIC de 32  $\mu\text{g/ml}$  o menos.

25 9. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la reivindicación 1 y un portador o excipiente farmacéuticamente aceptable.

30 10. La composición de la reivindicación 9, en la que la composición está formulada para su administración intravenosa.

11. La composición de la reivindicación 9, en la que la composición está formulada para su administración inyectable.
- 5 12. La composición de la reivindicación 9, en la que la composición está formulada para su aplicación tópica.
13. La composición de la reivindicación 9, en la que la composición está formulada como un supositorio.
- 10 14. La composición de la reivindicación 9, en la que la composición está formulada para su administración sistémica.
15. La composición de la reivindicación 9, en la que la composición está formulada para su administración oral.
- 15 16. La composición de la reivindicación 14, en la que la composición está formulada en comprimidos de forma que la cantidad de compuesto proporcionada en los 20 comprimidos, si se toma conjuntamente, proporciona una dosis de al menos la  $DE_{50}$  pero no más de diez veces la  $DE_{50}$ .
- 20 17. La composición de la reivindicación 9, en la que la composición está formulada para su administración parenteral de forma que la cantidad de compuesto proporcionada en 20 cc de una inyección en bolo proporciona una dosis de al menos la  $DE_{50}$  pero no más de diez veces la  $DE_{50}$ .
18. La composición de la reivindicación 9, en la que la composición está formulada para su administración mediante infusión intravenosa de forma que la cantidad de compuesto proporcionada en un litro de disolución inyectable intravenosa proporciona una dosis de al menos la  $DE_{50}$  pero no más de diez veces la  $DE_{50}$ .
- 25 19. Una píldora para reducir los niveles bacterianos en un sujeto con una enfermedad relacionada con bacterias, que comprende un compuesto de la reivindicación 1.
- 30 20. La píldora de la reivindicación 19, en la que la píldora proporciona un tratamiento bacteriano eficaz durante al menos aproximadamente 8 horas.
21. La píldora de la reivindicación 19, en la que la píldora proporciona un tratamiento bacteriano eficaz durante al menos aproximadamente 12 horas.
- 35 22. La píldora de la reivindicación 19, en la que la píldora proporciona un tratamiento bacteriano eficaz durante al menos aproximadamente 24 horas.
- 40 23. La píldora de la reivindicación 19, en la que la píldora proporciona un tratamiento bacteriano eficaz durante al menos aproximadamente una semana.
24. Un paquete de píldoras en un número suficiente para el tratamiento de una enfermedad bacteriana, que comprende una pluralidad de píldoras en la que cada píldora comprende un compuesto de la reivindicación 1.
- 45 25. El paquete de píldoras de la reivindicación 24, en el que el paquete contiene al menos 5 píldoras.
26. El paquete de píldoras de la reivindicación 24, en el que el paquete contiene al menos 10 píldoras.
- 50 27. El paquete de píldoras de la reivindicación 24, en el que el paquete contiene al menos 20 píldoras.
28. Uso de la composición farmacéutica de la reivindicación 9 para la preparación de un medicamento para el tratamiento de un sujeto con una enfermedad bacteriana.
- 55 29. El uso de la reivindicación 28, en el que el compuesto inhibe la actividad de la Fab I de un microbio con una  $CI_{50}$  al menos 1 orden de magnitud inferior que la  $CI_{50}$  para la inhibición de la hidratasa de la enoíl CoA de un mamífero.
30. El uso de la reivindicación 29, en el que el mamífero es un ser humano.

31. El uso de la reivindicación 28, en el que el compuesto inhibe la actividad de la Fab I de un microbio con una  $K_i$  al menos 1 orden de magnitud inferior que la  $K_i$  para la inhibición de la hidratasa de la enoil CoA de un mamífero.

5

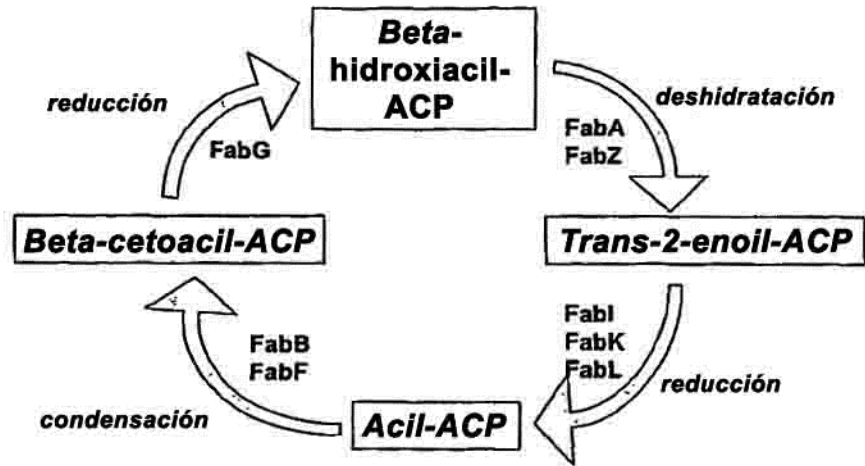
32. El uso de la reivindicación 31, en el que el mamífero es un ser humano.

33. Un método para la desinfección de una superficie inanimada que comprende la administración en la superficie inanimada de un compuesto de la reivindicación 1.

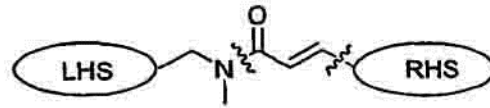
10

34. Un kit que comprende la composición farmacéutica de la reivindicación 9 y las instrucciones para el uso del mismo.

Figura 1.



**Figura 2.**





**Figura 3b**

