

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 538 998**

51 Int. Cl.:

C07D 487/04 (2006.01)

A61K 31/53 (2006.01)

A61P 31/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.08.2011 E 11740921 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.03.2015 EP 2601193**

54 Título: **Compuestos con actividad antibacteriana contra Clostridium**

30 Prioridad:

04.08.2010 EP 10171842

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

25.06.2015

73 Titular/es:

**ELANCO ANIMAL HEALTH IRELAND LIMITED
(100.0%)
70 Sir John Rogerson's Quay
Dublin, IE**

72 Inventor/es:

**GUILLEMONT, JERÔME, EMILE, GEORGES;
RABOISSON, PIERRE JEAN-MARIE BERNARD y
LOUNIS, NACER**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 538 998 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

Compuestos con actividad antibacteriana contra *Clostridium*

La presente invención se refiere a nuevos compuestos de fórmula (I) que tienen actividad antibacteriana contra las bacterias *Clostridium*, en particular *Clostridium perfringens*, a composiciones farmacéuticas que comprenden estos compuestos y a procedimientos químicos para la preparación de estos compuestos.

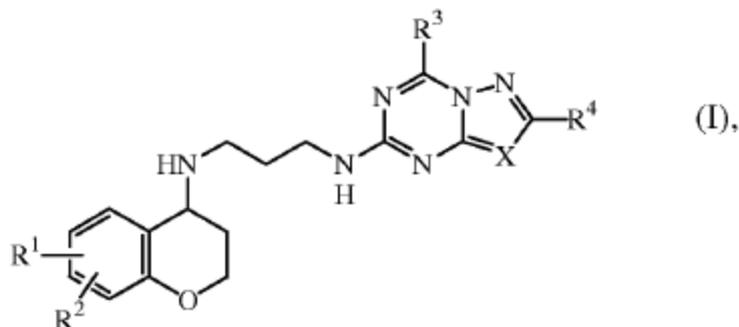
Clostridium es un género de bacterias Gram-positivas que forman esporas que crecen en condiciones anaeróbicas, que comprenden más de 100 especies. Hay cuatro especies principales responsables de enfermedades en seres humanos y otros animales de sangre caliente: *C. botulinum*, un organismo productor de una toxina en los alimentos o las heridas que causa botulismo; *C. difficile* que puede causar colitis pseudomembranosa, megacolon tóxico y diarreas asociadas a antibióticos; *C. tetani*, que es el organismo causante del tétanos; y *C. perfringens*.

C. perfringens es ubicuo en el medio ambiente y se encuentra en el suelo, el polvo, ingredientes crudos tales como las especias usadas en la elaboración de alimentos, y en los intestinos de los seres humanos y los animales. Produce más de 15 toxinas diferentes, y las infecciones debidas a *C. perfringens* pueden causar intoxicación alimentaria por *C. perfringens* de tipo A, enterotoxemia, enteritis necrosante y gangrena gaseosa. En la industria avícola, las infecciones por *C. perfringens* pueden causar problemas de salud intestinal en pollos de engorde con importantes consecuencias económicas negativas. Dado que el uso de antibióticos en la industria alimentaria está muy regulado, existe la necesidad de compuestos antibacterianos alternativos.

El documento WO-2008/039640 desvela el compuesto 5-[3-((R)(+)-6,8-dibromo-croman-4-ilamino)-propilamino]-4H-tien[3,2-b]piridin-7-ona, que también se conoce como REP3123, y su actividad antibacteriana contra *Clostridium difficile*.

Los ensayos *in vitro* de la actividad antibacteriana del compuesto REP3123 demuestran que dicho compuesto es activo contra las bacterias del género *Clostridium*, sin embargo REP3123 también tiene actividad antibacteriana contra una amplia variedad de bacterias que están presentes en el intestino. Dicha actividad antibacteriana de amplio espectro contra las bacterias Gram-positivas tiene un efecto negativo en la flora intestinal. Por lo tanto, existe la necesidad de compuestos antibacterianos con actividad contra las bacterias del género *Clostridium* que tengan una actividad de espectro estrecho contra las bacterias Gram-positivas y concomitantemente ningún efecto negativo sobre la flora intestinal.

La presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (I)



incluyendo cualquier forma estereoquímicamente isomérica y tautómero del mismo, en la que:

R^1 y R^2 se seleccionan, cada uno de manera independiente, entre hidrógeno, halo, hidroxilo, alquilo C_{1-6} , polihaloalquilo C_{1-6} , alquilo C_{1-6} o polihaloalquilo C_{1-6} ;

R^3 es hidroxilo, amino, mono- o di-(alquil C_{1-4})-amino;

R^4 es hidrógeno o alquilo C_{1-4} ;

X es nitrógeno o CR^5 , en el que R^5 es hidrógeno, halo o alquilo C_{1-4} ;

a condición de que cuando R^3 sea hidroxilo, entonces X representa CH y R^4 representa hidrógeno; o una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable del mismo, o uno de sus solvatos.

La condición está concebida para excluir los compuestos que tienen poca o ninguna actividad antibacteriana contra las bacterias del género *Clostridium*.

Como se usan en las definiciones anteriores:

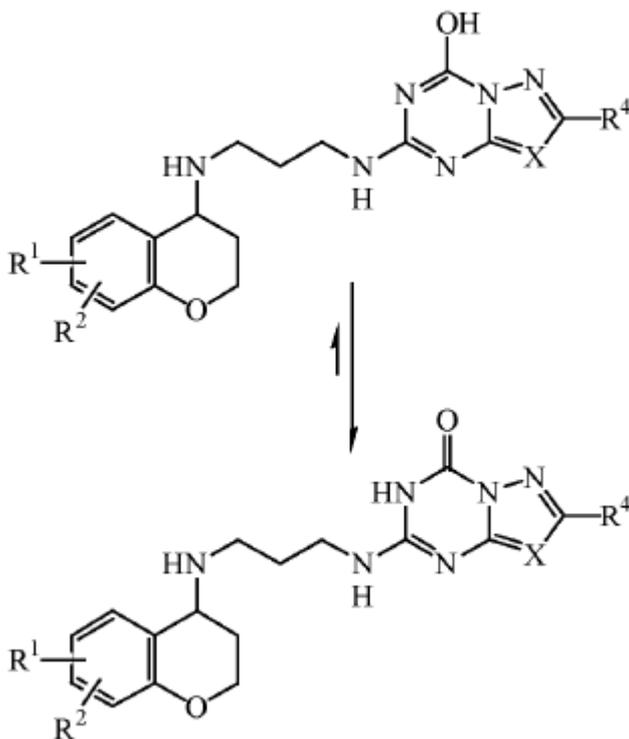
- halo es genérico de flúor, cloro, bromo y yodo;
- alquilo C_{1-4} define radicales de hidrocarburo saturados de cadena lineal o ramificada que tienen de 1 a 4 átomos

- de carbono tales como, por ejemplo, metilo, etilo, propilo, butilo, 1-metiletilo, 2-metilpropilo y similares;
- alquilo C₁₋₆ pretende incluir alquilo C₁₋₄ y los homólogos superiores de los mismos que tienen 5 o 6 átomos de carbono, tales como, por ejemplo, 2-metilbutilo, pentilo, hexilo y similares;
 - polihaloalquilo C₁₋₆ se define como alquilo C₁₋₆ polihalosustituído, en particular, alquilo C₁₋₄ (como se ha definido anteriormente en el presente documento) sustituido con de 2 a 6 átomos de halógeno tales como difluorometilo, trifluorometilo, trifluoroetilo y similares.

La expresión "formas estereoquímicamente isoméricas", como se ha usado anteriormente en el presente documento, define todas las posibles formas isoméricas que los compuestos de fórmula (I) pueden poseer. A menos que se mencione o se indique algo distinto, la designación química de los compuestos denota la mezcla de todas las posibles formas estereoquímicamente isoméricas, conteniendo dichas mezclas todos los diastereómeros y enantiómeros de la estructura molecular básica. Más en particular, los centros estereogénicos pueden tener la configuración *R* o *S*; los sustituyentes en los radicales (parcialmente) saturados bivalentes cíclicos pueden tener configuración *cis* o *trans*. Es evidente que las formas estereoquímicamente isoméricas de los compuestos de fórmula (I) pretenden quedar abarcadas dentro del alcance de la presente invención.

La configuración estereoquímica absoluta de los compuestos de fórmula (I) y de los productos intermedios usados en su preparación puede ser fácilmente determinada por los expertos en la materia durante el uso de procedimientos bien conocidos tales como, por ejemplo, la difracción de rayos X.

Algunos de los compuestos de fórmula (I) también pueden existir en su forma tautomérica. Se pretende que dichas formas, aunque no se indique explícitamente en la fórmula anterior, estén incluidas dentro del alcance de la presente invención. Por ejemplo, para los compuestos de fórmula (I), en la que R³ representa hidroxilo, la correspondiente forma ceto puede ser el tautómero poblado principalmente.



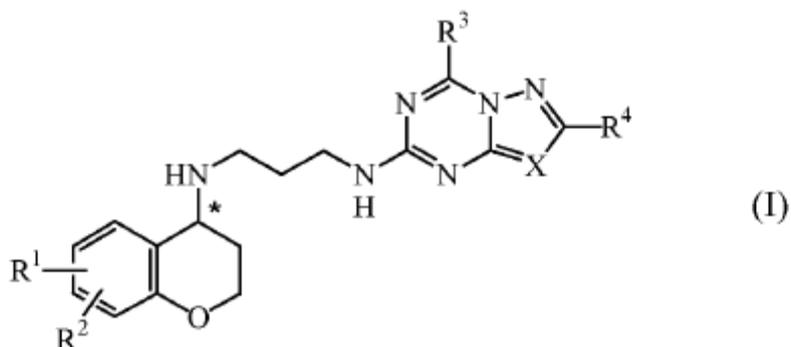
Además, algunos compuestos de fórmula (I) y algunos de los productos intermedios usados en su preparación pueden presentar polimorfismo. Se ha de entender que la presente invención engloba cualquier forma polimórfica que posea propiedades útiles en el tratamiento de las afecciones indicadas anteriormente.

Las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables mencionadas anteriormente en el presente documento pretenden comprender las formas de sal de adición de ácido terapéuticamente activas y no tóxicas que los compuestos de fórmula (I) son capaces de formar. Estas sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables se pueden obtener convenientemente tratando la forma de base con un ácido apropiado. Los ácidos apropiados comprenden, por ejemplo, ácidos inorgánicos tales como hidrácidos halogenados, por ejemplo, ácido clorhídrico o bromhídrico, sulfúrico, nítrico, fosfórico y ácidos similares; o ácidos orgánicos tales como, por ejemplo, ácido acético, propanoico, hidroxiacético, láctico, pirúvico, oxálico (es decir, etanodioico), malónico, succínico (es decir, ácido butanodioico), maleico, fumárico, málico, tartárico, cítrico, metanosulfónico, etanosulfónico, bencenosulfónico, *p*-toluenosulfónico, ciclámico, salicílico, *p*-aminosalicílico, pamoico y ácidos similares.

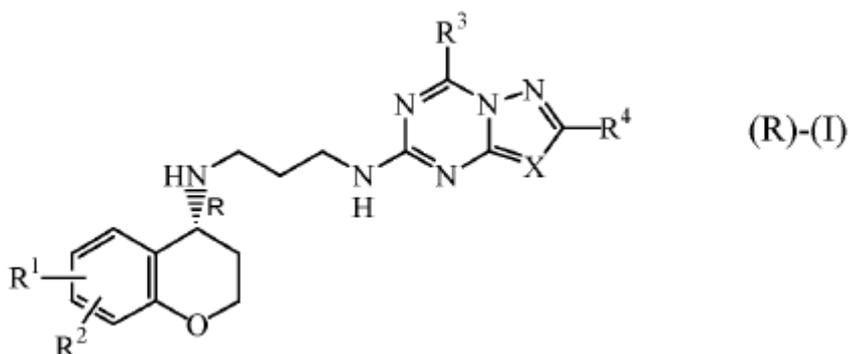
Por el contrario, dichas formas de sal se pueden convertir mediante el tratamiento con una base apropiada en la forma de base libre.

Los compuestos de fórmula (I) pueden existir tanto en forma no solvatada como solvatada. El término "solvato" se usa en el presente documento para describir una asociación molecular que comprende un compuesto de la invención y una o más moléculas de disolvente farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, agua o etanol. El término "hidrato" se usa cuando dicho disolvente es agua.

Los compuestos de fórmula (I) tienen al menos un átomo de carbono asimétrico como se ilustra a continuación, donde los átomos de carbono asimétricos se identifican por un *.



10 En una realización, la presente invención se refiere a compuestos de fórmula (R)-(I) que se definen como compuestos de fórmula (I) que tiene la configuración (R) en la posición 4 del resto cromanilo.



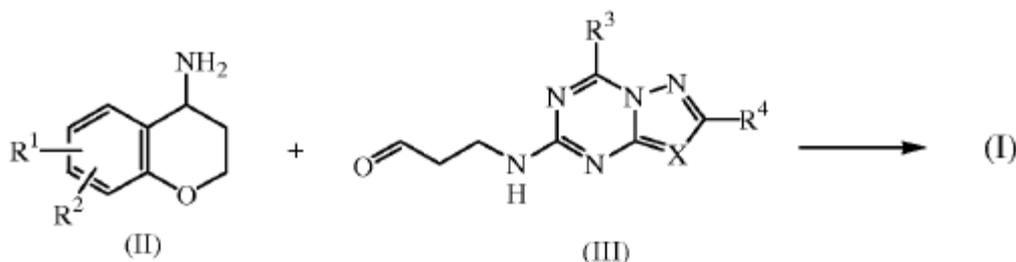
Los compuestos de fórmula (I) interesantes son aquellos compuestos de fórmula (I) en los que se aplica una o más de las siguientes restricciones:

- 15 a) R¹ y R² son cada uno halo; o
 b) R¹ y R² son cada uno bromo, y se encuentran en la posición 6 y 8 del resto cromanilo; o
 c) R³ es hidroxilo; o
 d) R³ es amino; o
 e) R³ es metilamino; o
 20 f) R⁴ es hidrógeno; o
 g) R⁴ es metilo; o
 h) X es nitrógeno; o
 i) X es CR⁵, en el que R⁵ representa hidrógeno; o
 j) X es CR⁵, en el que R⁵ representa halo, en particular, cloro.

25 Un primer grupo de compuestos son aquellos compuestos de fórmula (R)-(I), en la que R¹ y R² son cada uno bromo y se encuentran en la posición 6 y 8 del resto cromanilo, y en la que R³ representa hidroxilo.

Otro grupo de compuestos son aquellos compuestos de fórmula (R)-(I), en la que R¹ y R² son cada uno bromo y se encuentran en la posición 6 y 8 del resto cromanilo, y en la que R³ representa amino.

30 Los compuestos de fórmula (I) se pueden preparar mediante N-alquilación reductora de un producto intermedio de fórmula (II) con un producto intermedio de fórmula (III), siguiendo procedimientos de N-alquilación reductora conocidos en la técnica.

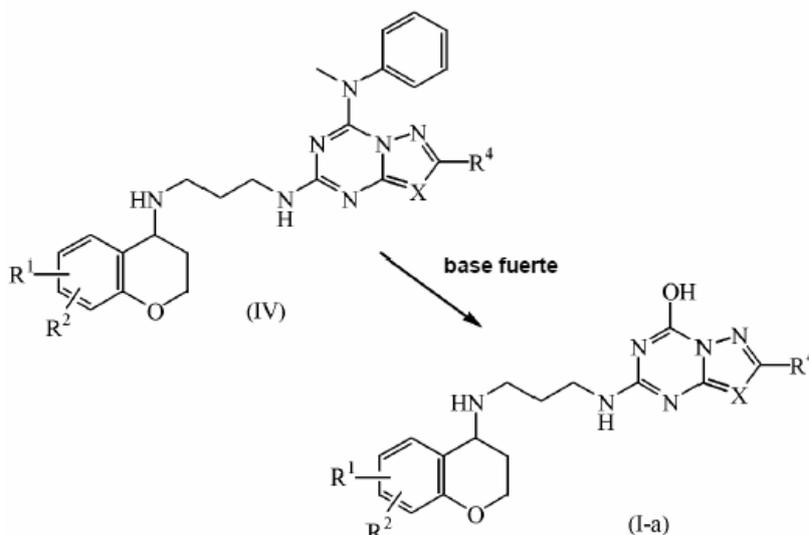


Dicha *N*-alquilación reductora se puede realizar en un disolvente inerte a la reacción tal como, por ejemplo, diclorometano, THF, tolueno o una mezcla de los mismos, y en presencia de un agente reductor tal como, por ejemplo, un borohidruro, por ejemplo, borohidruro de sodio, cianoborohidruro de sodio o triacetoxiborohidruro. También puede ser conveniente usar hidrógeno como agente reductor en combinación con un catalizador adecuado tal como, por ejemplo, paladio sobre carbón vegetal o platino sobre carbón vegetal. En caso de usarse hidrógeno como agente reductor, puede ser ventajoso añadir un agente deshidratante a la mezcla de reacción, tal como, por ejemplo, *tert*-butóxido de aluminio. Para evitar la hidrogenación adicional no deseada de ciertos grupos funcionales en los reactivos y los productos de reacción, también puede ser ventajoso añadir un veneno apropiado para el catalizador a la mezcla de reacción, por ejemplo, tiofeno o quinolina-azufre. Para aumentar la velocidad de la reacción, se puede elevar la temperatura en un intervalo entre la temperatura ambiente y la temperatura de reflujo de la mezcla de reacción y, opcionalmente, se puede elevar la presión del gas de hidrógeno.

Cuando se preparan compuestos de fórmula (I) en la que R³ representa amino o mono-(alquil C₁₋₄)-amino usando el procedimiento de *N*-alquilación descrito anteriormente, puede ser apropiado proteger dicha funcionalidad amina. Los grupos protectores para las funcionalidades amina son conocidos en la técnica y se retiran tras el procedimiento de *N*-alquilación.

También se pueden preparar compuestos de fórmula (I) en la que R³ representa hidroxilo usando el procedimiento de *N*-alquilación descrito anteriormente mediante el cual se protege la funcionalidad hidroxilo con grupos protectores conocidos en la técnica.

Los compuestos de fórmula (I-a), definidos como compuestos de fórmula (I) en la que R³ representa hidroxilo, se pueden preparar mediante la hidrólisis de los productos intermedios de fórmula (IV) en condiciones básicas. Los productos intermedios de fórmula (IV) se pueden preparar de acuerdo con el procedimiento de *N*-alquilación general descrito anteriormente.



Los materiales de partida y algunos de los productos intermedios son compuestos conocidos y se encuentran disponibles en el mercado o se pueden preparar de acuerdo con procedimientos de reacción convencionales, en general, conocidos en la técnica.

Los compuestos de fórmula (I) como los preparados en los procedimientos descritos anteriormente en el presente documento se pueden sintetizar en forma de mezclas racémicas de enantiómeros que se pueden separar entre sí siguiendo procedimientos de resolución conocidos en la técnica. Dichos compuestos de fórmula (I) que se obtienen en forma racémica se pueden convertir en las formas de sal diastereomérica correspondientes mediante la reacción con un ácido quiral adecuado. Dichas formas de sal diastereoméricas se separan subsiguientemente, por ejemplo, por cristalización selectiva o fraccionada, y los enantiómeros se liberan de las mismas por medio de una base. Una manera alternativa de separar las formas enantioméricas de los compuestos de fórmula (I) implica la cromatografía líquida usando una fase estacionaria quiral. Dichas formas isoméricas estereoquímicamente puras también se pueden derivar de las correspondientes formas isoméricas estereoquímicamente puras de los materiales de partida apropiados, a condición de que la reacción se produzca de manera estereoespecífica. Preferentemente, si se desea un determinado estereoisómero, dicho compuesto se sintetizará mediante procedimientos de preparación estereoespecíficos. Estos procedimientos emplearán ventajosamente materiales de partida enantioméricamente puros.

Los compuestos de fórmula (I), incluyendo cualquier forma estereoquímicamente isomérica y sus tautómeros, y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, poseen actividad antibacteriana, en particular, contra bacterias del género *Clostridium*, más concretamente, *Clostridium perfringens*, como se demuestra en los ejemplos farmacológicos.

Por lo tanto, la presente invención también se refiere a compuestos de fórmula (I) para su uso como un medicamento, especialmente para su uso en el tratamiento de infecciones bacterianas, en particular, infecciones basadas en *Clostridium*, más particularmente, infecciones basadas en *Clostridium perfringens*. Posteriormente, los presentes compuestos se pueden usar para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de infecciones bacterianas, en particular, de infecciones basadas en *Clostridium*, más particularmente, de infecciones basadas en *Clostridium perfringens*. Las infecciones basadas en *Clostridium perfringens* son, por ejemplo, intoxicación alimentaria por *C. perfringens* de tipo A, enterotoxemia, enteritis necrosante y gangrena gaseosa.

Los términos "tratar" y "tratamiento", como se usan en el presente documento, se refieren al tratamiento curativo, paliativo y profiláctico, incluyendo la inversión, el alivio, la inhibición del progreso de o la prevención de la enfermedad, del trastorno o de la afección a los que se aplica dicho término, o uno o más síntomas de dicha enfermedad, dicho trastorno o dicha afección.

"Animales de sangre caliente", como se usa en el presente texto, incluye tanto seres humanos como animales tales como animales de granja (por ejemplo, ovejas, vacas, cerdos, cabras o caballos), animales domésticos (por ejemplo, perros, gatos o cobayas), así como animales silvestres en cautiverio y aves (por ejemplo, aves de corral).

Además, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable y una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I).

La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I)", como se usa en el presente documento, significa la cantidad de compuesto de fórmula (I) que provoca la respuesta biológica o medicinal en el animal de sangre caliente que está siendo examinado por el médico o veterinario, que incluye el alivio de los síntomas de la afección que se esté tratando. La cantidad terapéuticamente eficaz se puede determinar usando técnicas de optimización habituales, y depende de la afección que se vaya a tratar en particular, del estado del animal de sangre caliente, de la vía de administración, de la formulación y del juicio del facultativo, así como de otros factores evidentes para los expertos en la materia. Se puede obtener una cantidad terapéuticamente eficaz mediante la dosificación múltiple.

Además, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable y una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I).

Para el uso en animales de sangre caliente, incluyendo seres humanos, los compuestos de fórmula (I) se pueden administrar solos, pero generalmente se administrarán en mezcla con un diluyente o un vehículo farmacéutica o veterinariamente aceptable seleccionado con respecto a la vía de administración deseada y la práctica farmacéutica convencional. Por ejemplo, se pueden administrar por vía oral, incluyendo la vía sublingual, en forma de comprimidos que contengan excipientes tales como almidón o lactosa, o en cápsulas u óvulos, solos o mezclados con excipientes, o en forma de elixires, soluciones o suspensiones que contengan agentes aromatizantes o colorantes. Los compuestos de fórmula (I) se pueden incorporar a cápsulas, comprimidos o bolos para dirigirlos hacia el colon o duodeno mediante la disolución retardada de dichas cápsulas, comprimidos o bolos durante un tiempo determinado después de la administración oral. Los compuestos de fórmula (I) se pueden inyectar parenteralmente, por ejemplo, por vía intravenosa, intramuscular o subcutánea. Para la administración parenteral, lo mejor es usarlos en forma de una solución o suspensión acuosa estéril que puede contener otras sustancias, por ejemplo, suficiente sal o glucosa para hacer solución isotónica con la sangre. Los compuestos de fórmula (I) se pueden administrar por vía tópica, en forma de cremas estériles, geles, formulaciones de unción dorsal continua o puntual, suspensiones, lociones, pomadas, polvos finos, pulverizados, apósitos con fármaco incorporado o por medio de un parche cutáneo. Por ejemplo, los compuestos de fórmula (I) se pueden incorporar a una crema constituida por una emulsión acuosa u oleosa de polietilenglicoles o parafina líquida, o se pueden incorporar a una

5 pomada que consista en una base de parafina blanda de cera blanca, o en forma de hidrogel con derivados de celulosa o poliacrilato, u otros modificadores de la viscosidad, o en forma de un polvo seco o pulverizado líquido o aerosol con propulsores de butano/propano, HFA o CFC, o en forma de un apósito con fármaco incorporado, ya sea como un apósito de tul, con apósitos de gasa de parafina blanda blanca o polietilenglicoles impregnados o con apósitos de hidrogel, hidrocoloide, alginato o película. Los compuestos de fórmula (I) también se podrían administrar intraocularmente en forma de una gota ocular con tampones apropiados, modificadores de la viscosidad (por ejemplo, derivados de celulosa), conservantes (por ejemplo, cloruro de benzalconio (BZK)) y agentes para ajustar la tonicidad (por ejemplo, cloruro de sodio). Dichas técnicas de formulación son bien conocidas en la materia. Todas estas formulaciones también pueden contener estabilizantes y conservantes apropiados.

10 Para un uso veterinario, los compuestos se pueden administrar en forma de una formulación convenientemente aceptable de acuerdo con la práctica veterinaria habitual, y el veterinario determinará la pauta de dosificación y la vía de administración que serán las más apropiadas para el animal en cuestión.

15 Por la aplicación tópica, se pueden usar baño desinfectante, pulverizado, polvo, polvo fino, formulación de unción dorsal continua o puntual, concentrado emulsionable, líquido de chorro, champús, collar, etiqueta o arnés. Dichas formulaciones se preparan de una manera convencional de acuerdo con la práctica veterinaria y farmacéutica convencional. Así pues, las cápsulas, los bolos o los comprimidos se pueden preparar mezclando el principio activo con un diluyente o vehículo adecuado finamente dividido, que contenga además un agente desintegrante y/o aglutinante tal como almidón, lactosa, talco o estearato de magnesio. Se puede preparar una formulación de poción dispersando los principios activos en una solución acuosa junto con agentes dispersantes o humectantes, y las formulaciones inyectables se pueden preparar en forma de una solución o emulsión estéril. Las formulaciones de unción dorsal continua o puntual se pueden preparar mediante la disolución de los principios activos en un vehículo líquido aceptable, tal como butildigol, parafina líquida o un éster no volátil, con o sin la adición de un componente volátil tal como isopropanol.

25 Como alternativa, las formulaciones de pulverización, y de unción dorsal continua o puntual se pueden preparar mediante encapsulación para dejar un residuo de agente activo en la superficie del animal. Estas formulaciones variarán con respecto al peso de compuesto activo dependiendo de la especie del animal receptor que se vaya a tratar, de la gravedad y del tipo de infección, así como del tipo y el peso corporal del receptor. Las formulaciones que comprenden un compuesto de fórmula (I) se pueden administrar de forma continua, en particular, para la profilaxis mediante procedimientos conocidos.

30 Como alternativa, las combinaciones se pueden administrar con el pienso del animal y, con este fin, se puede preparar un aditivo o una premezcla de pienso concentrado para mezclarlo con el alimento habitual del animal.

Para el uso en seres humanos, los compuestos de fórmula (I) se administran como una formulación farmacéuticamente aceptable de acuerdo con la práctica médica habitual.

35 Los expertos en el tratamiento de infecciones bacterianas, en particular, de infecciones por *Clostridium*, determinarán fácilmente la cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) a partir de los resultados del ensayo presentado de aquí en adelante en el presente documento. En general, se contempla que una dosis terapéuticamente eficaz será de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal, más preferentemente de aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal del animal de sangre caliente que se vaya a tratar. Puede ser apropiado administrar la dosis terapéuticamente eficaz en forma de dos o más subdosis a intervalos apropiados a lo largo del día.

40 La dosis y frecuencia de administración exactas dependen del compuesto de fórmula (I) usado en particular, de la afección que se esté tratando en particular, de la gravedad de la afección que se esté tratando, de la edad, del peso y del estado físico general del animal de sangre caliente en particular, así como de la otra medicación que el animal de sangre caliente pueda estar tomando, como es bien conocido por los expertos en la materia. Además, dicha cantidad diaria eficaz se puede reducir o aumentar en función de la respuesta del animal tratado y/o de la evaluación del médico o veterinario que prescribe los compuestos de la presente invención. Por lo tanto, los intervalos de cantidades diarias eficaces mencionados anteriormente en el presente documento solo son directrices.

Parte experimental

50 "DMF" se define como *N,N*-dimetilformamida, "CH₂Cl₂" se define como diclorometano, "MeOH" se define como metanol, "EtOH" se define como etanol, "TEA" se define como trietilamina, "DPPA" se define como difeniléster de ácido fosforázdico, "DBU" se define como 2,3,4,6,7,8,9,10-octahidro-pirimido[1,2-*a*]azepina, "NaBH(OAc)₃" se define como triacetoxiborohidruro de sodio, "MgSO₄" se define como sulfato de magnesio, "POCl₃" se define como tricloruro fosfórico, "Na₂SO₃" se define como sulfito de sodio, "CH₃NH₂" se define como metanamina, "NaHCO₃" se define como bicarbonato de sodio, "CHCl₃" se define como triclorometano, "Na₂SO₄" se define como sulfato de sodio, "NH₄OH" se define como hidróxido de amonio, "H₂SO₄" se define como ácido sulfúrico, "NCS" se define como 1-cloro-2,5-pirrolidinodiona, "NaOH" se define como hidróxido de sodio y "THF" se define como tetrahidrofurano.

Se determinaron los puntos de fusión (p.f.) para una serie de compuestos con un aparato de puntos de fusión WRS-2A que se adquirió en Shanghai Precision and Scientific Instrument Co. Ltd. Se midieron los puntos de fusión con una

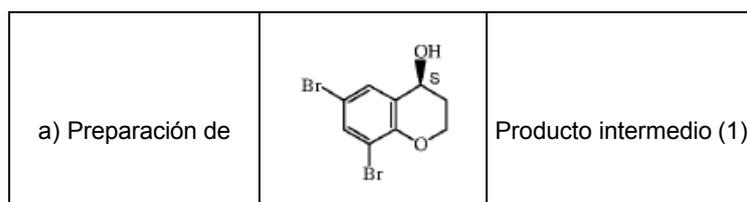
velocidad de calentamiento lineal de 0,2-5,0 °C/minuto. Los valores presentados son intervalos de fusión. La temperatura máxima fue de 300 °C.

RMN de ^1H

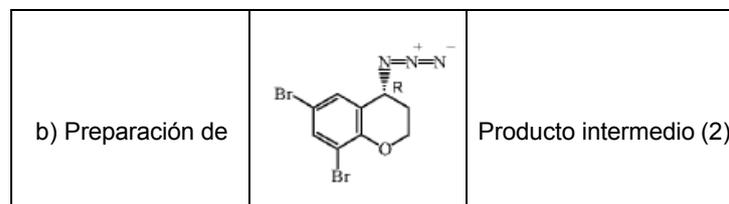
- 5 Se registraron los espectros de RMN de ^1H para una serie de compuestos en un espectrómetro Bruker DPX-300 o Bruker DPX-400 con secuencias de pulso convencionales, funcionando a 300 MHz y 400 MHz, respectivamente, con el uso de cloroformo-*d* (cloroformo deuterado, CDCl_3) o DMSO-*d*₆ (DMSO deuterado, dimetilsulfóxido-*d*₆) como disolventes. Los desplazamientos químicos (δ) se presentan en partes por millón (ppm) con respecto al tetrametilsilano (TMS), que se usó como patrón interno.

A. Síntesis de los productos intermedios

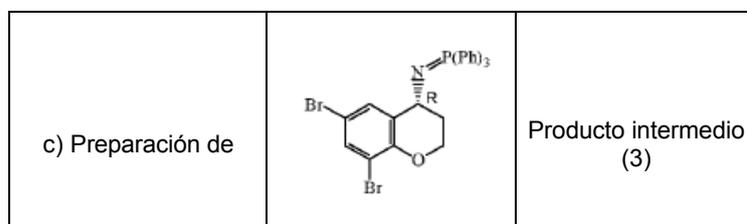
10 Ejemplo A.1



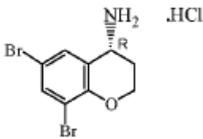
- 15 Se añadió ácido fórmico (81 g) gota a gota a 0 °C a TEA (1.040 mmol). Después de agitar durante 10 minutos, se añadió a la mezcla de reacción 6,8-dibromo-2,3-dihidro-4*H*-1-benzopiran-4-ona (261 mmol), seguida del producto intermedio (14) (0,5 mmol) y DMF (300 ml) a 25 °C. Tras la adición, se agitó la mezcla de reacción a 40 °C durante 24 horas. La cromatografía de capa fina (éter de petróleo/acetato de etilo = 5/1) demostró que la reacción se había terminado. Se inactivó la mezcla de reacción mediante la adición de agua (1.000 ml) a 0 °C. Se extrajo la mezcla de reacción resultante con acetato de etilo (tres veces 1.000 ml). Se lavó la fase orgánica con salmuera (500 ml), se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró, dando el producto en bruto. Se lavó el producto en bruto con metiléter *terc*-butílico, dando 78 g del producto intermedio (1).



- 20 A una solución agitada del producto intermedio (1) (253 mmol) en THF (2.000 ml), se añadió DPPA (334 mmol) a 25 °C. Después de agitar durante 15 minutos a 25 °C, se añadió DBU (691 mmol) a 0 °C. Tras la adición, se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 12 horas. La cromatografía de capa fina (éter de petróleo/acetato de etilo = 10:1) demostró que el material de partida se había consumido por completo. Se trató la mezcla de reacción con agua (1.000 ml) y se extrajo con acetato de etilo (tres veces, 1.000 ml). Se lavó la fase orgánica con salmuera (1.000 ml), se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró, dando el producto en bruto. Se purificó el producto en bruto por cromatografía en gel de sílice (éter de petróleo/acetato de etilo = 50/1), dando 60,3 g del producto intermedio (2).

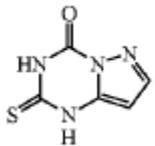


- 30 Se añadió trifenilfosfina (362 mmol) a la mezcla de producto intermedio (2) (181 mmol) en H_2O (80 ml) y THF (800 ml) a 25 °C. Tras la adición, se agitó la mezcla de reacción a 25 °C durante 1 hora. La cromatografía de capa fina (éter de petróleo/acetato de etilo = 5/1) demostró que la reacción se había completado. Se concentró la mezcla de reacción y se repartió el residuo entre acetato de etilo (1.000 ml) y H_2O (1.000 ml). Tras separarla, se extrajo la fase acuosa con acetato de etilo (500 ml). Se lavó la fase orgánica con salmuera (1.000 ml), se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró, dando 150 g del producto intermedio (3).

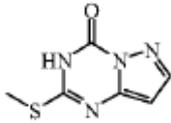
d) Preparación de		Producto intermedio (4)
-------------------	---	-------------------------

- 5 Se añadió H₄OH (180 ml) a la solución de producto intermedio (3) (181 mmol) en EtOH (1.500 ml) a 0 °C. Se calentó la mezcla de reacción resultante a reflujo durante 3 horas. La cromatografía de capa fina (CH₂Cl₂/MeOH = 10/1) demostró que la reacción se había completado. Se evaporó la mezcla de reacción para eliminar el EtOH, y se acidificó el residuo mediante la adición de HCl 6 N a pH = 2. Se filtró la mezcla resultante y se lavó el sólido resultante con acetato de etilo (500 ml), dando 40 g de producto intermedio (4).

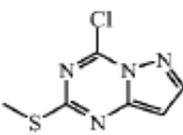
Ejemplo A.2

a) Preparación de		Producto intermedio (5)
-------------------	---	-------------------------

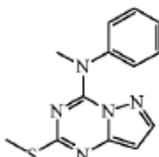
- 10 Se agitó una mezcla de etiléster de ácido *N*-[(1*H*-pirazol-3-ilamino)tioxometil]-carbámico (514 mmol) en NaOH 2 N acuoso (565 mmol) a 15 °C durante 3 horas. A continuación, se acidificó la mezcla con Na₂SO₄ 2 N. Se filtró el precipitado, se lavó con agua (1.000 ml) y metiléter *terc*-butílico (500 ml). Se secó el sólido resultante al vacío, dando el producto como un sólido blanco, obteniéndose 78 g del producto intermedio (5).

b) Preparación de		Producto intermedio (6)
-------------------	---	-------------------------

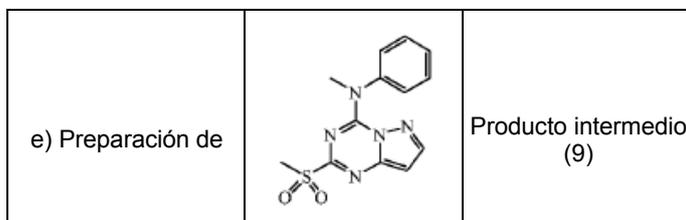
- 15 A una suspensión agitada de producto intermedio (5) (464 mmol, 1 equivalente) en EtOH (1.600 ml), se añadió gota a gota solución acuosa de NaOH 2 N (480 ml, 2 equivalentes), seguida de yodometano (511 mmol, 1,1 equivalentes) a 0 °C. Tras la adición, se agitó la mezcla a 15 °C durante 2 horas. La cromatografía de Capa Fina (CH₂Cl₂/MeOH = 10/1) demostró que la reacción se había completado. Se filtró el precipitado, y después se suspendió en agua (800 ml) y se acidificó con Na₂SO₄ 2 N. Se agitó la suspensión a 0 °C durante 5 minutos. Se filtró el precipitado y se lavó con agua fría (900 ml). Se secó el sólido resultante al vacío, proporcionando 75 g del producto intermedio (6) en forma de un sólido blanco.

c) Preparación de		Producto intermedio (7)
-------------------	---	-------------------------

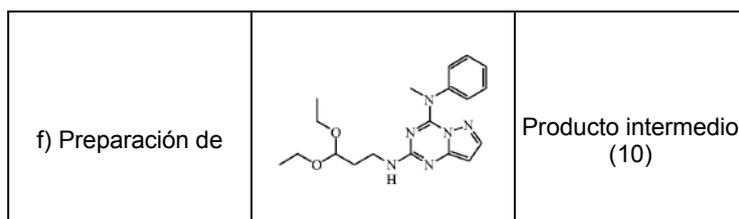
- 20 Se calentó una mezcla de producto intermedio (6) (374 mmol), *N,N*-dimetil-4-piridinamina (1,31 mmol) en POCl₃ (1.500 ml) a reflujo durante 2 horas a 100 °C. Después de enfriar hasta la temperatura ambiente, se eliminó el exceso de POCl₃ al vacío y se secó el residuo resultante durante 2 horas. El producto en bruto se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional, produciendo 240 g del producto intermedio (7).

d) Preparación de		Producto intermedio (8)
-------------------	---	-------------------------

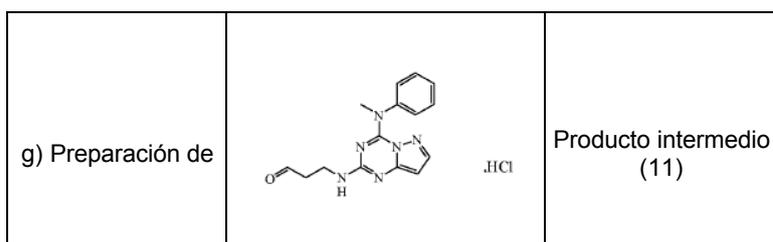
- 5 Se disolvió el producto intermedio (7) (374 mmol) en CH_2Cl_2 seco (2.000 ml), a continuación, se añadieron *N*-metilbencenammina (285 ml) y TEA (355 ml) gota a gota a 0 °C. Después de agitar durante 10 minutos, se dejó calentar la mezcla hasta la temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La cromatografía de capa fina ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 10/1$) demostró que la reacción se había completado. Se lavó la mezcla de reacción con agua (600 ml) y salmuera (300 ml). Se secó la capa orgánica sobre MgSO_4 , se filtró y se concentró, dando el producto bruto, que se lavó más con EtOH, dando 82 g del producto intermedio (8).



- 10 A una solución agitada del producto intermedio (8) (303 mmol) en CH_2Cl_2 (2000 ml), se añadió ácido 3-cloroperoxibenzoico (1.059 mmol) a 0 °C en porciones. Tras la adición, se agitó la mezcla de reacción a 0 °C durante 1 hora y luego a 15 °C durante 2 horas. La cromatografía de capa fina (éter de petróleo/acetato de etilo = 5/1) demostró que la reacción se había completado. Se lavó la mezcla de reacción con solución acuosa saturada de Na_2SO_3 (cuatro veces con 600 ml) y después se añadió solución acuosa saturada de NaHCO_3 hasta pH = 7. Se extrajo la capa acuosa con CH_2Cl_2 (500 ml). Se lavaron las fases orgánicas combinadas con salmuera (800 ml), se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron, dando el producto en bruto. Se lavó el producto en bruto con metiléter *tert*-butílico (tres veces con 500 ml), dando 87 g del producto intermedio (9).

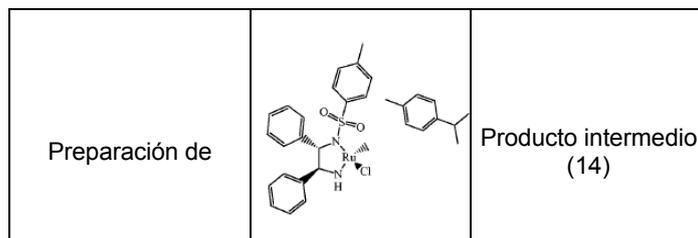


- 15 A una solución agitada del producto intermedio (9) (287 mmol) en CHCl_3 (2000 ml), se añadió 3,3-dietoxi-1-propanamina (474 mmol) a 0 °C en porciones. Tras la adición, se agitó la mezcla de reacción a 0 °C durante 1 hora y luego a 15 °C durante 2 horas. La cromatografía de capa fina (éter de petróleo/acetato de etilo = 5/1) demostró que la reacción se había completado. Se lavó la mezcla de reacción con solución acuosa saturada de Na_2SO_3 (cuatro veces con 600 ml), y después se añadió solución acuosa saturada de NaHCO_3 hasta pH = 7. Se extrajo la capa acuosa con CH_2Cl_2 (500 ml). Se lavaron las fases orgánicas combinadas con salmuera (800 ml), se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron, dando el producto en bruto. Se lavó el producto en bruto con metiléter *tert*-butílico (tres veces 500 ml), dando 87 g del producto intermedio (10) (p.f. 100,8-103,8 °C).



- 25 Se añadió HCl 12 N (7,5 ml) a la solución de producto intermedio (10) (81 mmol) en THF (450 ml) por debajo de 20 °C. Después de agitar durante 5 minutos, se agitó la mezcla de reacción a 20 °C durante 1 hora. La cromatografía de capa fina ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 20/1$) demostró que la reacción se había completado. Se añadió acetato de etilo (500 ml). Se agitó la mezcla de reacción durante 30 minutos. Se filtró el precipitado, se lavó con acetato de etilo y se secó al vacío, dando 32 g del producto intermedio (11).

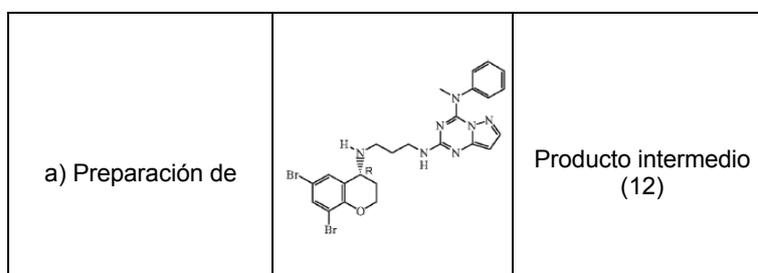
Ejemplo A.3



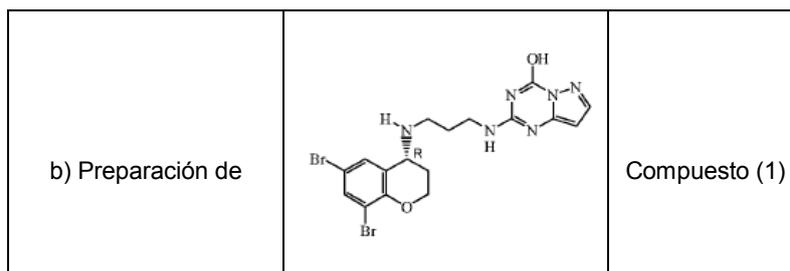
Se agitó una mezcla de *N*-[(1*S*,2*S*)-2-amino-1,2-difeniletíl]-4-metil-bencenosulfonamida (2,13 mmol), dímero de dicloro(*p*-cimeno)rutenio (II) (2,13 mmol) y TEA (0,6 ml) en 2-propanol (21 ml) a 80 °C durante 1 hora. Después de enfriar hasta 20 °C, se concentró la solución orgánica al vacío. Se lavó el sólido resultante con agua (10 ml) y se secó a presión reducida, dando el producto en bruto, que se recristalizó posteriormente en metanol, dando 0,37 g del producto en forma de un producto intermedio sólido de color naranja brillante (14).

B. Preparación de los compuestos finales

Ejemplo B.1



Se añadió TEA (210,6 mmol) a la solución de producto intermedio (11) (81 mmol) y producto intermedio (4) (81 mmol). Después de agitar durante 1 hora, se añadió NaBH(OAc)₃ (113 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a 20 °C durante 2 horas. La cromatografía de capa fina (CH₂Cl₂/MeOH = 10/1) demostró que la reacción se había completado. Se diluyó la mezcla con acetato de etilo (1.000 ml) y se lavó adicionalmente con solución acuosa saturada de NaHCO₃ (dos veces con 500 ml). Se secó la capa orgánica sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró, dando 55 g de del producto intermedio (12) en bruto en forma de un aceite incoloro que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

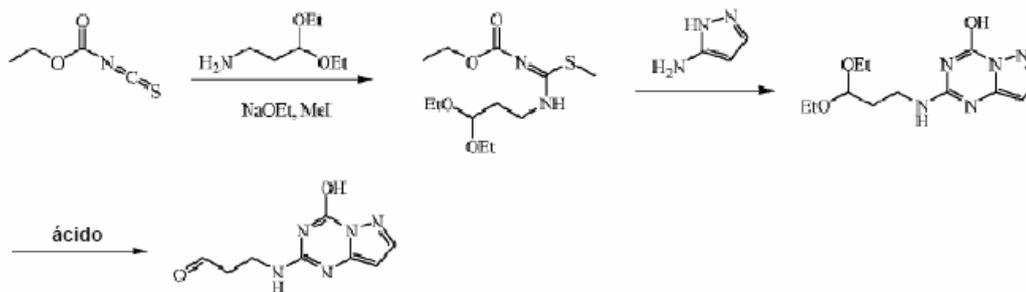


A una solución agitada del producto intermedio (12) (6 mmol) en EtOH (100 ml), se añadió NaOH 5 N (12 ml) gota a gota a 0 °C. Tras la adición, se calentó la mezcla de reacción a reflujo durante 3 horas a 85 °C. La cromatografía de capa fina (CH₂Cl₂/MeOH = 10/1) demostró que la reacción se había completado. Se eliminó el EtOH a presión reducida y se neutralizó el residuo con ácido cítrico acuoso saturado a pH = 7. Se añadió la mezcla a una solución de agua (50 ml) y acetato de etilo (100 ml). Se filtró el precipitado, se lavó con acetonitrilo (tres veces con 50 ml) y se secó al vacío, dando 1,8 g del compuesto (1).

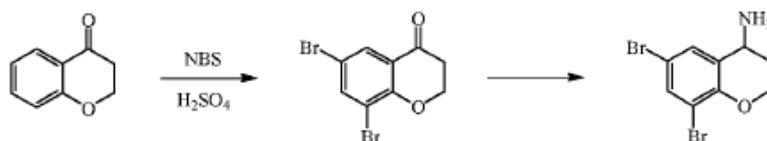
El compuesto (5) se preparó usando el mismo procedimiento haciendo reaccionar el producto intermedio (11) con (*R*)-6,8-dicloro-croman-4-ilamina.

A continuación, se representa un procedimiento alternativo para la preparación del compuesto (1).

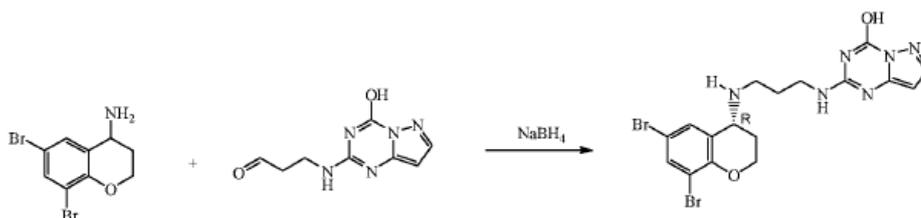
Etapa 1



Etapa 2



5 Etapa 3

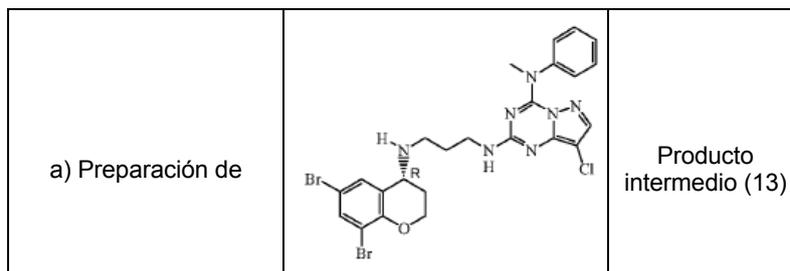


Ejemplo B.2

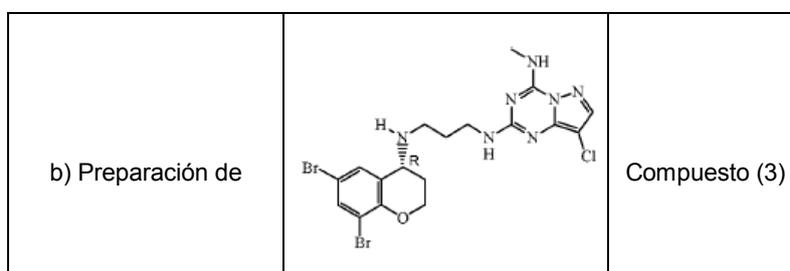
Preparación de	 .HCl	Compuesto (2)
----------------	----------	---------------

Se añadió HCl 4 M en dioxano (30 ml) a la solución del compuesto (1) (3,6 mmol) en MeOH (10 ml) a 20 °C. Se agitó la mezcla durante 3 horas a 20 °C. Se eliminó el disolvente a presión reducida. Se secó el residuo al vacío, obteniéndose 1,62 g del Compuesto (2) (p.f: 234,6-235,6 °C). Rotación óptica: $[\alpha]_{589}^{20} = +10,67$; 8,77 mg/ml, metanol.

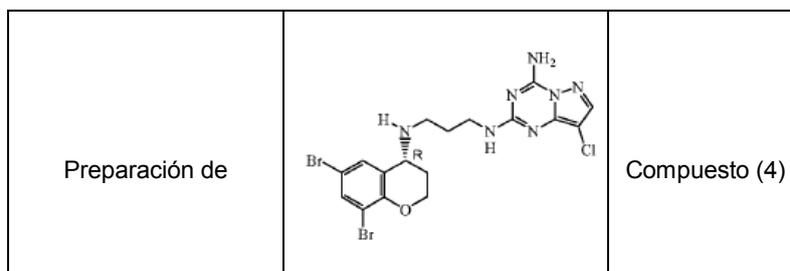
RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,86-2,07 (m, 2 H), 2,14-2,28 (m, 1 H), 2,30-2,44 (m, 1 H), 3,04 (sa, 1 H), 3,17 (sa, 1 H), 3,36-3,43 (m, 2 H), 4,34-4,43 (m, 1 H), 4,43-4,52 (m, 1 H), 4,52-4,60 (m, 1 H), 5,88 (d, J = 2,0 Hz, 1 H), 7,11 (t, J = 5,4 Hz, 1 H), 7,78 (d, J = 1,6 Hz, 1 H), 7,81-7,89 (m, 2 H), 9,21 (sa, 1 H), 9,32 (sa, 1 H).

Ejemplo B.3

Se agitó una solución del producto intermedio (12) (10,2 mmol) en DMF (300 ml) a 80 °C durante 5 minutos. Se añadió NCS (20,4 mmol) a la mezcla bajo atmósfera de nitrógeno, y se agitó la reacción durante 3 horas. A continuación, se eliminó la DMF a presión reducida. Se lavó el residuo con metiléter *terc*-butílico (tres veces con 50 ml) y se filtró. Se secó el sólido a presión reducida, obteniéndose 2,8 g de producto intermedio (13).



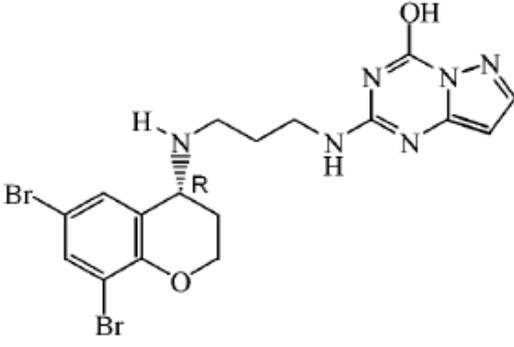
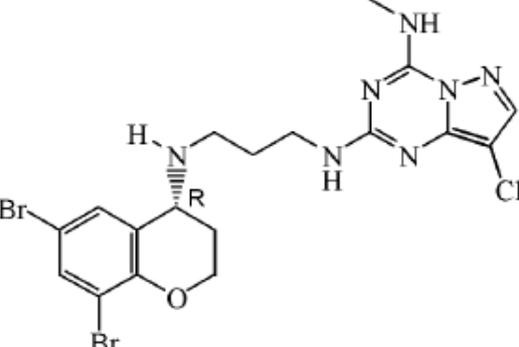
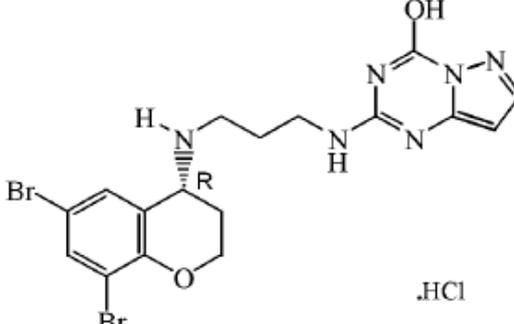
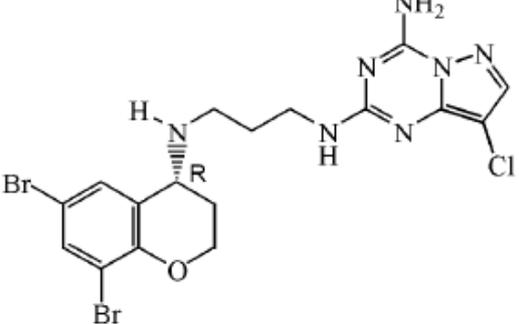
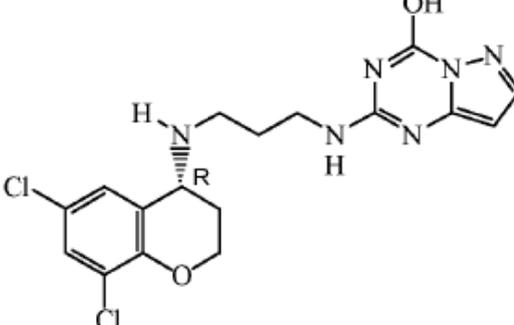
Se añadió producto intermedio (13) (0,97 mmol) y CH₃NH₂ 2 M en THF (5 ml) a EtOH anhidro (5 ml) a 20 °C. Se agitó la mezcla a 150 °C bajo microondas durante 4 horas. Se eliminó el EtOH a presión reducida. Se purificó el residuo por cromatografía preparativa líquida de alto rendimiento (columna: YMC, 250 x 20 mm, fase móvil: CH₃CN al 20-50 % (CF₃COOH al 0,075 % v/v); caudal: 25 ml/min; tiempo de acabado: 15 minutos)). Se recogió la fracción deseada y se evaporó. Se neutralizó la solución acuosa a pH = 7 y se concentró. Se filtró el sólido y se lavó con agua (tres veces con 30 ml), proporcionando 0,065 g del Compuesto (3) (p.f.: 108,8-118,6 °C).

Ejemplo B.4

Se agitó una mezcla de producto intermedio (13) (0,97 mmol) y NH₃ 2 M en MeOH (10 ml) a 125 °C bajo microondas durante 3 horas. Se concentró la mezcla a presión reducida. Se purificó el residuo por cromatografía preparativa líquida de alto rendimiento (columna: YMC, 250 x 20 mm, fase móvil: CH₃CN al 30-60 % (CF₃COOH al 0,075 % v/v); caudal: 25 ml/min; tiempo de acabado: 15 minutos)). Se recogió la fracción deseada y se evaporó. Se neutralizó la solución acuosa a pH = 7 y se concentró. Se filtró el sólido resultante y se lavó más con agua (tres veces con 30 ml). Se secó el producto bajo un alto vacío, proporcionando 0,09 g del compuesto (4) (p.f.: 78,7-94,1 °C).

La Tabla 1 enumera los compuestos que se prepararon de acuerdo con uno de los ejemplos anteriores.

Tabla 1:

	
Compuesto N° 1; Ej. B.1	Compuesto N° 3; Ej. B.3
	
Compuesto N° 2; Ej. B.2; .HCl	Compuesto N° 4; Ej. B.4
	
Compuesto N° 5; Ej. B.1	

C. Parte analítica

C. 1. Procedimiento general A de EM-CL

Procedimiento general A

- 5 La medición de HPLC se realizó usando un módulo de Agilent 1100 que comprendía una bomba, un detector de red de diodos (DAD) (longitud de onda usada de 220 nm), un calentador de columna y una columna como se especifica en los respectivos procedimientos que figuran más adelante. Se dividió el flujo de la columna entre una G1946C y G1956A de la serie MSD de Agilent. El detector de EM estaba configurado con EM-IENPA (ionización por electronebulización a presión atmosférica). Los espectros de masas se adquirieron mediante exploración de 100 a 1.000. El voltaje de la aguja capilar fue de 2.500 V para el modo de ionización positivo y de 3.000 V para el modo de ionización negativo. La tensión de fragmentación fue de 50 V. La temperatura del gas de secado se mantuvo a 350 °C a un caudal de 10 l/min.

Procedimiento 1

- 15 Además del procedimiento general A: se llevó a cabo la HPLC de fase inversa en una columna YMC-Pack ODS-AQ de 5 µm, 50 x 2,0 mm con un caudal de 0,8 ml/min. Se usaron dos fases móviles (fase móvil A: agua con TFA al 0,1 %; fase móvil B: acetonitrilo con TFA al 0,05 %). En primer lugar, se mantuvo A al 100 % durante 1 minuto. A

continuación, se aplicó un gradiente hasta A al 40 % y B al 60 en 4 minutos, y se mantuvo durante 2,5 minutos. Se usaron los volúmenes inyectados comunes de 2 µl. La temperatura del horno fue de 50 °C. (polaridad de EM: positiva).

Procedimiento 2

- 5 Además del procedimiento general A: se llevó a cabo la HPLC de fase inversa en una columna YMC-Pack ODS-AQ de 5 µm, 50 x 2,0 mm con un caudal de 0,8 ml/min. Se usaron dos fases móviles (fase móvil A: agua con TFA al 0,1 %; fase móvil B: acetonitrilo con TFA al 0,05 %). En primer lugar, se mantuvo A al 90 % y B al 10 % durante 0,8 minutos. A continuación, se aplicó un gradiente hasta A al 20 % y B al 80 en 3,7 minutos, y se mantuvo durante 3 minutos. Se usaron los volúmenes inyectados comunes de 2 µl. La temperatura del horno fue de 50 °C. (polaridad de EM: positiva).

Tabla 2: Datos analíticos - Tiempo de retención (T_r en minutos), pico (MH)⁺ (de la base libre), procedimiento de EM-CL y puntos de fusión (p.f. se define como punto de fusión).

Compuesto N°	T_r	(MH) ⁺	Procedimiento de EM-CL
1	4,16	499,0	1
2	4	468,9	1
3	3,39	545,9	2
4	3,25	531,9	2

D. Ejemplos farmacológicos

D.1.1 Procedimiento *in vitro* para ensayar compuestos contra *C. perfringens*

- 15 Se llenaron placas de microvaloración de plástico de 96 pocillos estériles, de fondo plano, con 100 µl de medio de caldo de infusión de cerebro y corazón. Posteriormente, se añadieron soluciones madre (100 x concentración de ensayo final) de compuestos en volúmenes de 2 µl a una serie de pocillos para permitir la evaluación de sus efectos sobre el crecimiento bacteriano. Se incluyeron muestras de control sin tratar con y sin inóculo en cada placa de microvaloración. Se añadieron aproximadamente 50.000 UFC por pocillo de *Clostridium perfringens* (cepa 56), en un volumen de 100 µl en medio de caldo de infusión de cerebro y corazón a los pocillos. Se incubaron los cultivos a 37 °C durante 24 horas en un recipiente anaeróbico. Se leyó la densidad óptica (DO) en un espectrofotómetro controlado por ordenador (Envision) a una longitud de onda de 540 nm. Se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento alcanzado por los compuestos de acuerdo con procedimientos convencionales, y se expresó como CI_{90} (µg/ml) que define la concentración inhibidora del 90 % para el crecimiento bacteriano.

- 25 D.1.2. Procedimiento *in vitro* para ensayar los compuestos en cuanto a la actividad antibacteriana contra la cepa de *C. difficile*

- 30 Se llenaron placas de microvaloración de plástico de 96 pocillos estériles, de fondo plano, con 100 µl de medio de caldo clostridial reforzado. Posteriormente, se añadieron soluciones madre (100 x concentración de ensayo final) de compuestos en volúmenes de 2 µl a una serie de pocillos para permitir la evaluación de sus efectos sobre el crecimiento bacteriano. Se incluyeron muestras de control sin tratar con y sin inóculo en cada placa de microvaloración. Se añadieron aproximadamente 50.000 UFC por pocillo de *Clostridium difficile* (ATCC9689), en un volumen de 100 µl en medio de caldo clostridial reforzado a los pocillos. Se incubaron los cultivos a 37 °C durante 24 horas en un recipiente anaeróbico. Se leyó la densidad óptica (DO) en un espectrofotómetro controlado por ordenador (Thermomax) a una longitud de onda de 570 nm. Se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento alcanzado por los compuestos de acuerdo con procedimientos convencionales, y se expresó como CI_{90} (µg/ml) que define la concentración inhibidora del 90 % para el crecimiento bacteriano.

Resultados para D.1.1 y D.1.2:

- 40 REP3123 mostró una buena actividad tanto contra *C. perfringens* como contra *C. difficile*, mostrando una CI_{90} de 0,25 y 0,5-1 µg/ml, respectivamente. El Compuesto (2) de la presente invención mostró una buena actividad tanto contra *C. perfringens* como contra *C. difficile*, mostrando una CI_{90} de 0,5 y 2 µg/ml, respectivamente.

D.1.3. Procedimiento *in vitro* para ensayar compuestos contra varias bacterias

- 45 Se llenaron placas de microvaloración de plástico de 96 pocillos estériles, de fondo plano, con 100 µl de medio de caldo. Posteriormente, se añadieron soluciones madre (100 x concentración de ensayo final) de compuestos en volúmenes de 2 µl a una serie de pocillos para permitir la evaluación de sus efectos sobre el crecimiento bacteriano. Se incluyeron muestras de control sin tratar con y sin inóculo en cada placa de microvaloración. Se añadieron

aproximadamente 50.000 UFC por pocillo de bacterias, en un volumen de 100 µl en medio de caldo a los pocillos. Se incubaron las placas a 37 °C. Se determinó la concentración mínima de inhibición como la concentración más alta sin crecimiento visible y se expresó CI₉₀ (µg/ml) que define la concentración inhibidora del 90 % para el crecimiento bacteriano.

5 Medio y condiciones de incubación:

Staphylococcus aureus, *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*: medio de Mueller Hinton; incubación durante 20-24 horas en condiciones aeróbicas.

Enterococcus faecalis, *Streptococcus pneumoniae*: Medio de Todd Hewitt; incubación durante 20-24 horas en CO₂ al 5 %.

Mycobacterium smegmatis: Medio de Mueller Hinton; incubación durante 48 horas en condiciones aeróbicas.

Acinetobacter baumannii: Caldo de nutrientes; la incubación durante 20-24 horas en condiciones aeróbicas.

Moraxella catarrhalis: Medio de infusión de cerebro y corazón; incubación durante 20-24 horas en condiciones aeróbicas.

Resultados para D.1.3:

10 Tanto REP3123 como el Compuesto (2) de la presente invención no mostraron ninguna actividad contra las bacterias Gram negativas. Las CI₉₀ de REP3123 resultaron ser >32, >64, 16, >78 y >64 µg/ml frente a *E. coli*, *K. pneumoniae*, *M. catarhalis*, *P. aeruginosa* y *A. baumannii*, respectivamente. Las CI₉₀ del Compuesto (2) de la presente invención resultaron ser >31, >64, 16, >75 y >64 µg/ml contra *E. coli*, *K. pneumoniae*, *M. catarhalis*, *P. aeruginosa* y *A. baumannii*, respectivamente.

15 REP3123 mostró buenas actividades contra todas las bacterias Gram positivas ensayadas. Las CI₉₀ de REP3123 resultaron ser <0,25, <0,25, <0,25, 1, 0,12 y 0,12 µg/ml frente a *S. aureus*, *S. aureus* resistente a la meticilina, *S. epidermidis*, *E. faecalis*, *S. pneumoniae*, *B. subtilis* y *L. monocytogenes*, respectivamente. El Compuesto (2) de la presente invención resultó ser inactivo contra todas las bacterias Gram positivas ensayadas excepto contra *E. faecalis* y *L. monocytogenes*. Sin embargo, la actividad del Compuesto (2) de la presente invención resultó ser incluso mucho menor contra estos 2 microorganismos que la de REP3123. Las CI₉₀ del Compuesto (2) de la presente invención fueron 8-15, 7-13, 15, 1,5, > 31, 4 y 2 µg/ml frente a *S. aureus*, *S. aureus* resistente a la metilina, *S. epidermidis*, *E. faecalis*, *S. pneumoniae*, *B. subtilis* y *L. monocytogenes*, respectivamente.

25 Tanto REP3123 como el Compuesto (2) de la presente invención no mostraron ninguna actividad contra *Mycobacterium smegmatis*. Las CI₉₀ de REP3123 y del Compuesto (2) de la presente invención contra *M. smegmatis* resultaron ser de 6-8 y > 31 µg/ml, respectivamente.

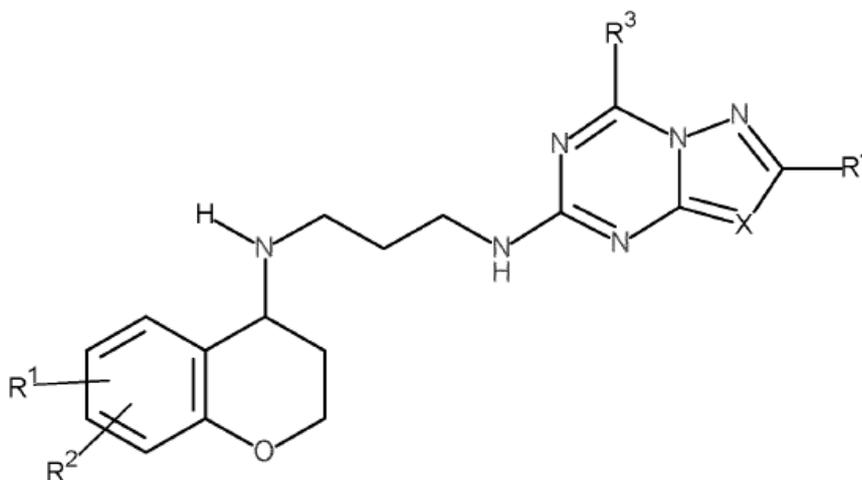
Tabla 3: Actividad antibacteriana de REP3123 y del Compuesto (2) contra bacterias Gram positivas

Bacterias Gram positivas	REP3123	Compuesto (2)
<i>S. aureus</i>	<0,25 µg/ml	8-15 µg/ml
<i>S. aureus</i> resistente a la meticilina	<0,25 µg/ml	7-13 µg/ml
<i>S. epidermidis</i>	<0,25 µg/ml	15 µg/ml
<i>E. faecalis</i>	<0,25 µg/ml	1,5 µg/ml
<i>S. pneumoniae</i>	1 µg/ml	>31 µg/ml
<i>B. subtilis</i>	0,12 µg/ml	4 µg/ml
<i>L. monocytogenes</i>	0,12 µg/ml	2 µg/ml

La comparación entre REP3123 y el Compuesto (2) de la presente invención demuestra claramente la actividad de amplio espectro de REP3123 contra las bacterias Gram positivas frente a la actividad de espectro reducido del Compuesto (2).

REIVINDICACIONES

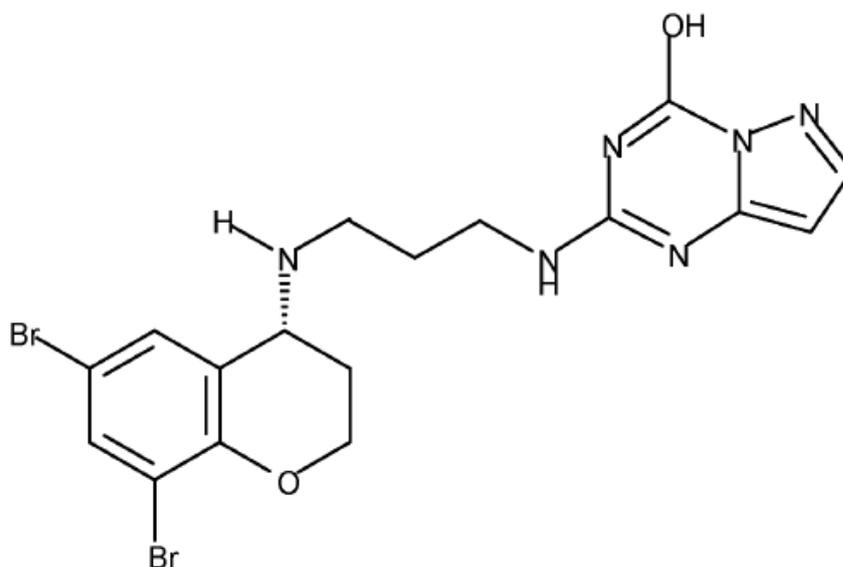
1. Un compuesto de fórmula (I)



(I),

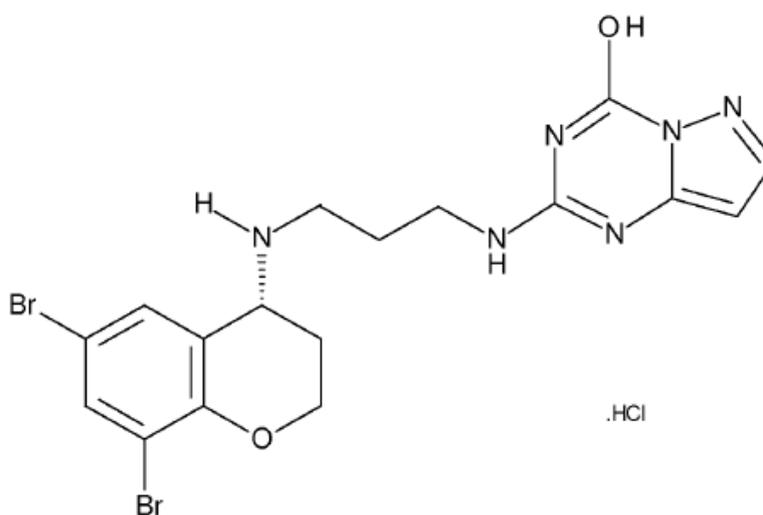
incluyendo cualquier forma estereoquímicamente isomérica y tautómero del mismo, en la que:

- 5 R¹ y R² son seleccionados, cada uno de manera independiente, entre hidrógeno, halo, hidroxilo, alquilo C₁₋₆, polihaloalquilo C₁₋₆, alquilo C₁₋₆ o polihaloalquilo C₁₋₆;
 R³ es hidroxilo, amino, mono- o di-(alquil C₁₋₄)-amino;
 R⁴ es hidrógeno o alquilo C₁₋₄;
 X es nitrógeno o CR⁵, en el que R⁵ es hidrógeno, halo o alquilo C₁₋₄; a condición de que cuando R³ sea hidroxilo,
 10 entonces X representa CH y R⁴ representa hidrógeno;
 o una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable del mismo o uno de sus solvatos.
2. El compuesto según lo reivindicado en la reivindicación 1, incluyendo cualquier forma estereoquímicamente isomérica o tautómero del mismo, o una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable del mismo o uno de sus solvatos, que tiene la configuración (*R*) en la posición 4 del resto cromanilo.
- 15 3. El compuesto según lo reivindicado en la reivindicación 1 o la reivindicación 2, incluyendo cualquier forma estereoquímicamente isomérica o tautómero del mismo, o una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable del mismo o uno de sus solvatos, en el que R¹ y R² son cada uno halo.
4. El compuesto según lo reivindicado en la reivindicación 1, incluyendo cualquier forma estereoquímicamente isomérica o tautómero del mismo, o una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable del mismo o uno de sus solvatos, en el que R¹ y R² son cada uno bromo y están ubicados en la posición 6 y 8 del resto de cromanilo.
- 20 5. El compuesto según lo reivindicado en la reivindicación 2, incluyendo cualquier forma estereoquímicamente isomérica o tautómero del mismo, o una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable del mismo o uno de sus solvatos, en el que R¹ y R² son cada uno bromo y están ubicados en la posición 6 y 8 del resto de cromanilo, y en el que R³ represente hidroxilo.
- 25 6. El compuesto según lo reivindicado en la reivindicación 5, incluyendo cualquier forma estereoquímicamente isomérica o tautómero del mismo, en el que el compuesto es:



Compuesto (1)

o



Compuesto (2)

- 5
7. Una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y una cantidad terapéuticamente activa de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, incluyendo cualquier forma estereoquímicamente isomérica o tautómero del mismo, o una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable del mismo o uno de sus solvatos.
- 10 8. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, incluyendo cualquier forma estereoquímicamente isomérica o tautómero del mismo, o una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable del mismo o uno de sus solvatos, para su uso como un medicamento.
9. El compuesto según lo reivindicado en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, incluyendo cualquier forma estereoquímicamente isomérica o tautómero del mismo, o una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable del mismo o uno de sus solvatos, para su uso en el tratamiento de una infección bacteriana.
- 15 10. El compuesto para su uso según lo reivindicado en la reivindicación 9, en el que la infección bacteriana es una infección a base de *Clostridium*.