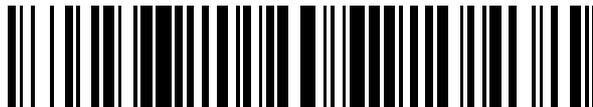


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 542 878**

51 Int. Cl.:

C07D 417/04 (2006.01)

A61K 31/427 (2006.01)

A61P 31/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.12.2008 E 08858696 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.06.2015 EP 2229386**

54 Título: **Un derivado de aminotiazol como agente antibacteriano**

30 Prioridad:

12.12.2007 US 13122

30.01.2008 US 24709

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

12.08.2015

73 Titular/es:

NOVARTIS AG (100.0%)

Lichtstrasse 35

4056 Basel, CH

72 Inventor/es:

BUSHELL, SIMON;

LAMARCHE, MATTHEW J.;

LEEDS, JENNIFER y

WHITEHEAD, LEWIS

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 542 878 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

Un derivado de aminotiazol como agente antibacteriano

5 Desde el descubrimiento de la penicilina, las compañías farmacéuticas han producido una serie de agentes antibacterianos para combatir una amplia variedad de infecciones bacterianas. En los últimos años, se ha producido una rápida aparición de resistencia bacteriana a varios de estos antibióticos. La resistencia a múltiples fármacos entre estos patógenos bacterianos también puede ser debida a la mutación que conduce a un aislamiento clínico más virulento. Tal vez el caso más preocupante ha sido la adquisición de resistencia a la vancomicina, un antibiótico generalmente considerado como el agente de último recurso para las infecciones Gram-positivas graves.

10 Esto es cierto sobre todo de algunos grupos de patógenos Gram-positivos, tales como staphylococci, pneumococci y enterococci (S. Ewig et al.; Antibiotika-Resistenz bei Erregern ambulant erworbener Atemwegsinfektionen (Antibiotic resistance in pathogens of outpatient-acquired respiratory tract infections); Chemother. J. 2002, 11, 12-26; F. Tenover; Development and spread of bacterial resistance to antimicrobial agents: an overview; Clin. Infect. Dis. 2001 Sep. 15, 33 Suppl. 3, 108-115), así como Staphylococcus, Streptococcus, Mycobacterium, Enterococcus, Corynebacterium, Borrelia, Bacillus, Chlamydia, Mycoplasma, y similares.

15 Un problema de gran dimensión así mismo es la creciente incidencia del, Staphylococcus aureus, resistente a la metilicina aureus más virulento (MRSA) entre los aislados clínicos que se encuentran en todo el mundo. Como con organismos resistentes a la vancomicina, muchas cepas de MRSA son resistentes a la mayoría de los antibióticos conocidos, pero las cepas de MRSA se han mantenido sensibles a la vancomicina. Sin embargo, en vista de las crecientes denuncias de aislados clínicos resistentes a la vancomicina y el creciente problema de la resistencia bacteriana, hay una necesidad urgente de nuevas entidades moleculares eficaces contra los organismos Gram-positivos emergentes y actualmente problemáticos.

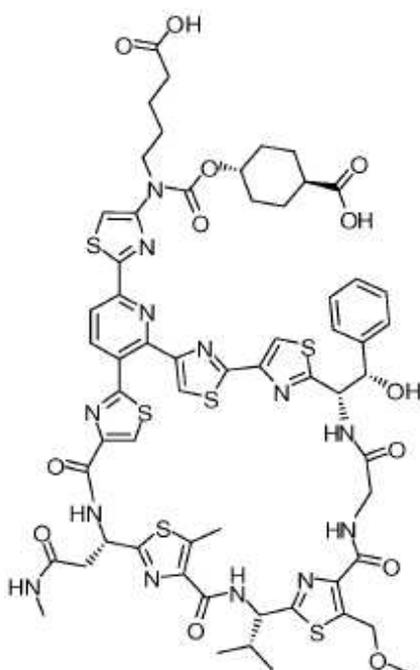
20

Esta creciente resistencia a múltiples fármacos ha reavivado recientemente interés en la búsqueda de nuevas clases estructurales de antibióticos que inhiban o maten estas bacterias.

Resumen de la invención

25 Sigue existiendo una necesidad de nuevos tratamientos y terapias para las infecciones bacterianas. También existe la necesidad de compuestos útiles en el tratamiento o prevención o mejora de uno o más síntomas de las infecciones bacterianas. Además, existe la necesidad de métodos para la modulación de la actividad del factor de elongación EF-Tu, utilizando el compuesto proporcionado en este documento.

En un aspecto, la invención provee un compuesto de fórmula:



Se describe en este documento un método de tratamiento de una infección bacteriana, en donde el tratamiento incluye administrar a un sujeto con necesidad del mismo, una cantidad farmacéuticamente aceptable de un compuesto de la invención de tal manera que se trate la infección bacteriana.

5 Se describe en este documento un método de tratamiento de un estado asociado con EF-Tu, en donde el tratamiento incluye administrar a un sujeto con necesidad del mismo, una cantidad farmacéuticamente aceptable de un compuesto de la invención, de tal manera que se trate el estado asociado con EF-Tu.

Se describe en este documento un método para tratar, inhibir o prevenir la actividad de EF-Tu en un sujeto con necesidad del mismo, que incluye administrar al sujeto una cantidad farmacéuticamente aceptable de un compuesto de la invención.

10 Se describe en este documento un método para tratar, inhibir o prevenir la actividad de las bacterias en un sujeto con necesidad del mismo, que incluye administrar al sujeto una cantidad farmacéuticamente aceptable de un compuesto de la invención, en donde el compuesto interactúa con cualquier objetivo en el ciclo de vida de las bacterias. En una realización, el objetivo es EF-Tu.

15 En este documento se describe un método de tratamiento de una infección bacteriana en un sujeto, en donde el tratamiento incluye administrar a un sujeto con necesidad del mismo, una cantidad farmacéuticamente aceptable de un compuesto de la invención y un portador farmacéuticamente aceptable, de manera que se trate la infección bacteriana.

20 En este documento se describe un método de tratamiento de una infección bacteriana en donde el tratamiento incluye administrar a un sujeto con necesidad del mismo, una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto de la invención en combinación con una cantidad farmacéuticamente eficaz de un agente terapéutico adicional, de manera que se trate la infección bacteriana. El compuesto de la invención y el otro agente farmacéutico se pueden administrar como parte de la misma composición farmacéutica. El compuesto de la invención y el otro agente terapéutico se pueden administrar como composiciones farmacéuticas separadas, y el compuesto se administra antes de, al mismo tiempo que, o después de la administración del otro agente.

25 En este documento se describe un tratamiento de la infección bacteriana embalado, el compuesto de la invención, embalado con las instrucciones para utilizar una cantidad efectiva del compuesto para tratar una infección bacteriana.

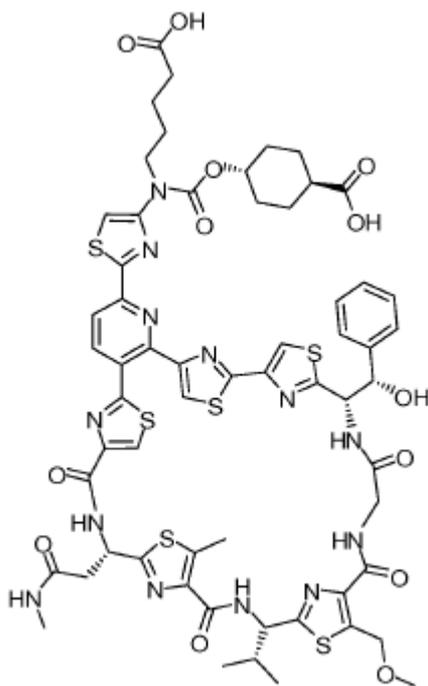
30 Se describe en este documento un método para tratar el acné en sujeto con necesidad del mismo, en donde el tratamiento incluye administrar al sujeto, una cantidad farmacéuticamente aceptable de un compuesto de la invención.

En incluso otro aspecto, la invención provee una composición farmacéutica que incluye un compuesto de la invención, y al menos un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

Descripción detallada de la invención

35 Esta invención está dirigida a un compuesto de la invención, y los intermedios del mismo, así como a las composiciones farmacéuticas que contienen el compuesto para uso en el tratamiento de la infección bacteriana. Esta invención también se refiere al compuesto de la invención o las composiciones del mismo, como moduladores del factor de elongación EF-Tu. El compuesto es particularmente útil en interferir con el ciclo de vida de las bacterias y en el tratamiento o prevención de una infección bacteriana o condiciones fisiológicas asociadas con la misma. La presente invención también se refiere a la terapia de combinación para inhibir la actividad de EFTu en las células, o para tratar o prevenir una infección bacteriana en pacientes, utilizando el compuesto de la invención o composiciones farmacéuticas, o los kits de los mismos.

40 En un aspecto, la invención provee un compuesto de la fórmula:



y las sales de este farmacéuticamente aceptables.

En ciertas realizaciones, el compuesto de la presente invención se caracteriza además como un modulador de EFTu, incluyendo un EF-Tu procariota, y especialmente incluyendo un EF-Tu bacteriano. En una realización preferida, el compuesto de la invención es un inhibidor de EF-Tu.

Tal como se utiliza en este documento, el término "infección(es) bacteriana(s)" incluye, pero no está limitado a, infecciones bacterianas que se producen en mamíferos, peces y aves, así como trastornos relacionados con infecciones bacterianas que se pueden tratar o prevenir mediante la administración de antibióticos tales como el compuesto de la presente invención. Además el tratamiento de las infecciones causadas por cepas de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Mycobacterium tuberculosis* y *Enterococci*, resistentes a múltiples fármacos, el compuesto de la presente invención es útil en el tratamiento de infecciones causadas por otras bacterias, incluyendo, pero no limitando a, *Clostridium difficile*, *Propionibacterium acnes*, *Bacteroides fragilis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Branhamella catarrhalis*, *Haemophilus influenzae*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*, y *Chlamydia trachomatis*.

Tales infecciones bacterianas y trastornos relacionados con tales infecciones incluyen, pero no se limitan a, los siguientes: acné, rosácea, infecciones de la piel, neumonía, otitis media, sinusitis, bronquitis, amigdalitis, y mastoiditis relacionada con la infección por *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Staphylococcus aureus*, *Peptostreptococcus* spp. o *Pseudomonas* spp.; faringitis, fiebre reumática, y glomerulonefritis relacionada con la infección por *Streptococcus pyogenes*, estreptococos de los Grupos C y G, *Clostridium diphtheriae*, o *Actinobacillus haemolyticum*; infecciones de las vías respiratorias relacionadas con la infección por *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, o *Chlamydia pneumoniae*; piel sin complicaciones e infecciones de tejidos blandos, abscesos y osteomielitis y fiebre puerperal relacionada con la infección por *Staphylococcus aureus*, estafilococos coagulasa positivo (*i.e.*, *S. epidermidis*, *S. hemolyticus*, etc.), *S. pyogenes*, *S. agalactiae*, estreptococos de los grupos C-F (estreptococos minuto-colonias), *viridans streptococci*, *Corynebacterium* spp., *Clostridium* spp., o *Bartonella henselae*; infecciones del tracto urinario agudas no complicadas relacionadas con infección por *S. saprophyticus* or *Enterococcus* spp.; uretritis y cervicitis; enfermedades de transmisión sexual relacionadas con la infección por *Chlamydia trachomatis*, *Haemophilus ducreyi*, *Treponema pallidum*, *Ureaplasma urealyticum*, o *Nesseria gonorrhoeae*; enfermedades por toxinas relacionadas con la infección por *S. aureus* (intoxicación alimentaria y síndrome de shock tóxico), o estreptococos Grupos A, S. y C; úlceras relacionadas con la infección por *Helicobacter pylori*; síndromes febriles sistémicos relacionados con la infección por *Borrelia recurrentis*; Enfermedad de Lyme relacionada con infección por *Borrelia burgdorferi*; conjuntivitis, queratitis, y dacrocistitis relacionada con infección por *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *H. influenzae*, or *Listeria* spp.; enfermedad diseminada del complejo de *Mycobacterium avium* (MAC), relacionada con infección por *Mycobacterium avium*, o *Mycobacterium intracellulare*; gastroenteritis relacionada con infección por *Campylobacter jejuni*; protozoos intestinales relacionados con la infección por *Cryptosporidium* spp., infección odontogénica relacionada con infección por *viridans streptococci*; tos persistente relacionada con la infección por *Bordetella pertussis*; gangrena gaseosa

relacionada con la infección por *Clostridium perfringens* or *Bacteroides* spp.; Infección de la piel por *S. aureus*, *Propionibacterium acne*; aterosclerosis relacionada con infección por *Helicobacter pylori* o *Chlamydia pneumoniae*; o similares.

5 Otras infecciones bacterianas y trastornos relacionados con dichas infecciones que se pueden tratar o prevenir en animales incluyen, pero no se limitan a, las siguientes: La enfermedad respiratoria bovina relacionada con infección por *P. haemolytica*, *P. multocida*, *Mycoplasma bovis*, o *Bordetella* spp.; enfermedad entérica de la vaca relacionada con infección por *E. coli* or protozoa (*i.e.*, coccidia, cryptosporidia, etc.), mastitis de la vaca lechera relacionada con la infección por *S. aureus*, *S. uberis*, *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *Klebsiella* spp., *Corynebacterium*, or *Enterococcus* spp.; enfermedad respiratoria porcina relacionada con infección por *A. pleuropneumoniae*, *P.*
10 *multocida*, o *Mycoplasma* spp.; enfermedad entérica porcina relacionada con infección por *E. coli*, *Lawsonia intracellularis*, *Salmonella* spp, o *Serpulina hyodysenteriae*; la pudrición del pie de la vaca relacionada con la infección por *Fusobacterium* spp.; metritis de la vaca relacionada con la infección por *E. coli*; verrugas peludas de la vaca relacionadas con la infección por *Fusobacterium necrophorum* o *Bacteroides nodosus*; ojo rosado de la vaca relacionada con la infección por *Moraxella bovis*, aborto prematuro en vacas relacionado con la infección por protozoos (*i.e.*, neosporium); infección del tracto urinario en perros y gatos relacionada con la infección por *E. coli*;
15 infecciones de piel y tejidos blandos en perros y gatos relacionadas con la infección por *S. epidermidis*, *S. intermedius*, coagulase neg. *Staphylococcus* or *P. multocida*; infecciones dentales o bucales en perros y cabras relacionadas con la infección por *Alcaligenes* spp., *Bacteroides* spp., *Clostridium* spp., *Enterobacter* spp., *Eubacterium* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Porphyromonas* spp., *Campylobacter* spp., *Actinomyces* spp.,
20 *Erysipelothrix* spp., *Rhodococcus* spp., *Trypanosoma* spp., *Plasmodium* spp., *Babesia* spp., *Toxoplasma* spp., *Pneumocystis* spp., *Leishmania* spp., *Trichomonas* spp. o *Prevotella* spp. Otras infecciones bacterianas y trastornos relacionados con dichas infecciones que se pueden tratar o prevenir de acuerdo con la presente invención se denominan en el documento J. P. Sanford at al., "The Sanford Guide To Antimicrobial Therapy," 26th Edition, (Antimicrobial Therapy, Inc., 1996).

25 Otras infecciones bacterianas y trastornos relacionados con dichas infecciones que se pueden tratar o prevenir en animales incluyen, pero no se limitan a, infecciones del sistema nervioso central, infecciones del oído externo, infecciones del oído medio, tales como otitis media aguda, infecciones de los senos craneales, infecciones oculares, infecciones de la cavidad oral, tal como las infecciones de los dientes, las encías y la mucosa, infecciones de las vías respiratorias superiores, infecciones de las vías respiratorias inferiores, infecciones genitourinarias, infecciones gastrointestinales, infecciones ginecológicas, septicemia, infecciones óseas y articulares, infecciones de la piel y estructura de la piel, endocarditis bacteriana, quemaduras, profilaxis antibacteriana de la cirugía, profilaxis antibacteriana en pacientes inmunosuprimidos, tales como pacientes que reciben quimioterapia contra el cáncer, o pacientes de trasplante de órganos y enfermedades crónicas causadas por organismos infecciosos, por ejemplo, arteriosclerosis.

35 La síntesis de proteínas bacterianas requiere proteínas chaperonas de EF-Tu. El EF-Tu es una de las proteínas más abundantes en las bacterias, así como una de las más altamente conservadas, y en un número de especies del gen se duplica con función idéntica. Cuando se une a GTP, EF-Tu puede formar un complejo con la mayoría de los ARNt aminoacilados, cargando el ARNt en el ribosoma. En una realización, la infección bacteriana se asocia con la actividad de EF-Tu. Sin estar ligado por la teoría, se cree que la interrupción de actividad de la proteína de EF-Tu
40 por el compuesto de la invención va a interferir con la síntesis de proteínas y de este modo la función y/o proliferación bacteriana. Debido a que EF-Tu es altamente conservada a través de las bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, el compuesto de la presente invención es útil para el tratamiento de infecciones de ambas clases de bacterias.

45 Tal como se utiliza en este documento, el término "estado asociado con EF-Tu" o "trastorno asociado con EF-Tu" incluye trastornos y estados (*por ejemplo*, un estado de enfermedad) que están asociados con la actividad de EF-Tu. Un ejemplo no limitante de un trastorno asociado con EF-Tu es una infección bacteriana en un sujeto.

La presente invención incluye el tratamiento de infecciones bacterianas, así como trastornos asociados con EF-Tu, como se describió anteriormente, pero la invención no pretende estar limitada a la manera en la cual el compuesto ejerza su función prevista de tratamiento de una enfermedad. La presente invención incluye el tratamiento de las enfermedades descritas en este documento de cualquier manera que permita que se produzca el tratamiento, por
50 ejemplo, infección bacteriana.

En ciertas realizaciones, la invención provee una composición farmacéutica del compuesto de la presente invención. En una realización relacionada, la invención provee una composición farmacéutica del compuesto de la presente invención y un portador o excipiente farmacéuticamente aceptable. En ciertas realizaciones, la invención incluye el
55 compuesto como una entidad química novedosa.

En una realización, la invención incluye un tratamiento embalado de la infección bacteriana. El tratamiento embalado incluye el compuesto de la invención embalado con instrucciones para el uso de una cantidad eficaz del compuesto de la invención para un uso previsto.

5 El compuesto de la presente invención es apropiado como agente activo en composiciones farmacéuticas que son particularmente eficaces para el tratamiento de infecciones bacterianas. La composición farmacéutica en diversas realizaciones tiene una cantidad farmacéuticamente eficaz del agente activo presente junto con otros excipientes, portadores, cargas, diluyentes farmacéuticamente aceptables y similares. La frase, "cantidad farmacéuticamente eficaz" como se usa en este documento indica una cantidad necesaria para administrar a un huésped, o a una célula, tejido, u órgano de un huésped, para lograr un resultado terapéutico, especialmente un efecto de infección anti-bacteriana, por ejemplo, inhibición de la proliferación de una bacteria, o de cualquier otra infección bacteriana.

10 Se describe en este documento un método para inhibir la actividad de una proteína de EF-Tu. El método incluye poner en contacto una célula con el compuesto de la presente invención. En una realización relacionada, el método proporciona, además, que el compuesto está presente en una cantidad eficaz para inhibir selectivamente la actividad de una proteína de EF-Tu.

En otras realizaciones, la presente invención provee un uso del compuesto de la invención para la fabricación de un medicamento para tratar una infección bacteriana en un sujeto.

15 Se describe en este documento un método de fabricación de un medicamento, incluyendo la formulación del compuesto de la presente invención para el tratamiento de un sujeto.

Definiciones

20 El término "tratar", "tratado", "que trata" o "tratamiento" incluye la disminución o alivio de al menos un síntoma asociado o causado por el estado, trastorno o enfermedad que se trata. En ciertas realizaciones, el tratamiento comprende la inducción de una infección bacteriana, seguido por la activación del compuesto de la invención, que a su vez disminuiría o aliviaría al menos un síntoma asociado o causado por la infección bacteriana que se está tratando. Por ejemplo, el tratamiento puede ser la disminución de uno o varios síntomas de un trastorno o la completa erradicación de un trastorno.

25 El término "sujeto" pretende incluir organismos, por ejemplo, procariotas y eucariotas, que son capaces de padecer o que padece una infección bacteriana. Ejemplos de sujetos incluyen mamíferos, por ejemplo, seres humanos, perros, vacas, caballos, cerdos, ovejas, cabras, gatos, ratones, conejos, ratas y animales no humanos transgénicos. En ciertas realizaciones, el sujeto es un ser humano, por ejemplo, un ser humano que padece, en riesgo de padecer, o potencialmente capaz de sufrir una infección bacteriana, y para las enfermedades o condiciones descritas en este documento. En otra realización, el sujeto es una célula.

30 La expresión "compuesto que modula EF-Tu", "modulador de EF-Tu" o "inhibidor de EF-Tu" se refiere a compuestos que modulan, por ejemplo, inhiben, o alteran de otro modo, la actividad de EF-Tu. Ejemplos de compuestos moduladores de EF-Tu, incluyen el compuesto de la invención (incluyendo sales farmacéuticamente aceptables del mismo).

Uso en infección bacteriana

35 El compuesto de la presente invención tiene propiedades farmacológicas valiosas y es útil en el tratamiento de enfermedades. En ciertas realizaciones, el compuesto de la invención es útil en el tratamiento de infecciones bacterianas.

40 El término "uso" incluye una cualquiera o más de las siguientes realizaciones de la invención, respectivamente: el uso en el tratamiento de infecciones bacterianas; el uso para la fabricación de composiciones farmacéuticas para uso en el tratamiento de estas enfermedades, por ejemplo, en la fabricación de un medicamento; preparaciones farmacéuticas que tienen un compuesto de la invención para el tratamiento de estas enfermedades; y un compuesto de la invención para uso en el tratamiento de estas enfermedades; según sea apropiado y conveniente, si no se indica lo contrario. En particular, las enfermedades a tratar y por lo tanto se prefieren para el uso de un compuesto de la presente invención se seleccionan de infecciones bacterianas, así como aquellas enfermedades que dependen de la actividad de EF-Tu. El término "uso" incluye, además, realizaciones de composiciones de la invención que se unen a una proteína de EF-Tu suficientemente para servir como trazadores o etiquetas, de modo que cuando se acopla a un fluorógeno o etiqueta, o se hace radiactivo, se puede utilizar como un reactivo de investigación o como un agente de diagnóstico o de imagen.

50 En ciertas realizaciones, un compuesto de la presente invención se utiliza para el tratamiento de enfermedades asociadas con EF-Tu, y el uso del compuesto de la presente invención como un inhibidor de una cualquiera o más proteínas de EF-Tu. Se prevé que un uso puede ser un tratamiento de inhibición de una o más isoformas de EF-Tu.

Ensayos

La inhibición de la actividad antibacteriana por el compuesto de la invención se puede medir usando un número de ensayos disponibles en la técnica. Un ejemplo de un ensayo de este tipo es la prueba estándar de concentración inhibitoria mínima (MIC) de acuerdo con las directrices CSLI.

Composiciones farmacéuticas

5 La expresión "cantidad eficaz" del compuesto es aquella cantidad necesaria o suficiente para tratar o prevenir una infección bacteriana, por ejemplo, evitar que los diversos síntomas morfológicos y somáticos de una infección bacteriana, y/o una enfermedad o condición descrita en el presente documento. En un ejemplo, una cantidad eficaz del compuesto de la invención es la cantidad suficiente para tratar una infección bacteriana en un sujeto. La cantidad eficaz puede variar dependiendo de factores tales como el tamaño y el peso del sujeto, o el tipo de enfermedad. Un
10 experto en la técnica sería capaz de estudiar los factores contenidos en el presente documento y hacer la determinación con respecto a la cantidad eficaz del compuesto de la invención sin experimentación indebida.

El régimen de administración puede afectar a lo que constituye una cantidad eficaz. El compuesto de la invención se puede administrar al sujeto ya sea antes o después de la aparición de una infección bacteriana. Además, varias dosis divididas, así como las dosis escalonadas, se pueden administrar diariamente o en secuencia, o la dosis
15 puede ser infundida continuamente, o puede ser una inyección en bolo. Además, las dosis del compuesto de la invención se pueden aumentar o disminuir proporcionalmente, según se indica por las exigencias de la situación terapéutica o profiláctica.

El compuesto de la invención puede ser utilizado en el tratamiento de estados, trastornos o enfermedades como se describe en el presente documento, o para la fabricación de composiciones farmacéuticas para uso en el tratamiento
20 de estas enfermedades.

La expresión "composición farmacéutica" incluye preparaciones apropiadas para la administración a mamíferos, *por ejemplo*, los seres humanos. Cuando el compuesto de la presente invención se administra como productos farmacéuticos a los mamíferos, por ejemplo, los seres humanos, se pueden administrar per se o como una
25 composición farmacéutica que contiene, por ejemplo, de 0.1 a 99.5% (más preferiblemente, de 0.5 a 90%) de ingrediente activo en combinación con un portador farmacéuticamente aceptable.

La frase "portador farmacéuticamente aceptable" es reconocida en la técnica e incluye un material, composición o vehículo farmacéuticamente aceptable, apropiado para administrar un compuesto de la presente invención a los mamíferos. Los portadores incluyen líquidos o agentes de carga sólidos, diluyentes, excipientes, solventes o material
30 encapsulante, implicados en llevar o transportar el agente en cuestión desde un órgano, o porción del cuerpo, a otro órgano, o parte del cuerpo. Cada portador debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la formulación y no perjudicial para el paciente. Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como portadores farmacéuticamente aceptables incluyen: azúcares, tales como lactosa, glucosa y sacarosa; almidones, tales como almidón de maíz y almidón de patata; celulosa y sus derivados, tales como carboximetilcelulosa de sodio, etilcelulosa y acetato de celulosa; tragacanto en polvo; malta; gelatina; talco; excipientes, tales como manteca de cacao y ceras para supositorios; aceites, tales como aceite de cacahuete, aceite
35 de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja; glicoles, tales como propilenglicol; polioles, tales como glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol; ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo; agar; agentes reguladores, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; ácido algínico; agua libre de pirógenos; solución salina isotónica; solución de Ringer; alcohol etílico; soluciones reguladoras de fosfato; y otras sustancias compatibles no tóxicas empleadas en formulaciones farmacéuticas.
40

Los agentes humectantes, emulsionantes y lubricantes, tales como laurilsulfato de sodio y estearato de magnesio, así como agentes colorantes, agentes de liberación, agentes de recubrimiento, edulcorantes, aromatizantes y perfumantes, conservantes y antioxidantes también pueden estar presentes en las composiciones.

45 Ejemplos de antioxidantes farmacéuticamente aceptables incluyen: antioxidantes solubles en agua, tales como ácido ascórbico, hidrocloreto de cisteína, bisulfato de sodio, metabisulfito de sodio, sulfito de sodio y similares; antioxidantes solubles en aceite, tales como palmitato de ascorbilo, hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), lecitina, galato de propilo, α -tocoferol, y similares; y agentes quelantes de metales, tales como ácido cítrico, ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), sorbitol, ácido tartárico, ácido fosfórico, y similares.

50 Las formulaciones de la presente invención incluyen las apropiadas para administración oral, nasal, tópica, bucal, sublingual, rectal, vaginal y/o parenteral. Las formulaciones se pueden presentar convenientemente en forma de dosificación unitaria y se pueden preparar por cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica de la farmacia. La cantidad del ingrediente activo que se puede combinar con un material portador para producir una sola forma de dosificación generalmente será aquella cantidad del compuesto que produce un efecto terapéutico. Generalmente,
55 de cada cien por ciento, esta cantidad variará de aproximadamente 1 por ciento a aproximadamente el noventa y

nueve por ciento del ingrediente activo, preferiblemente de aproximadamente 5 por ciento a aproximadamente 70 por ciento, más preferiblemente de aproximadamente 10 por ciento a aproximadamente 30 por ciento.

5 Los métodos para preparar estas formulaciones o composiciones incluyen la etapa de poner en asociación el compuesto de la presente invención con el portador y, opcionalmente, uno o más ingredientes accesorios. En general, las formulaciones se preparan poniendo en asociación uniforme e íntimamente el compuesto de la presente invención con portadores líquidos o portadores sólidos finamente divididos, o ambos, y después, si es necesario, dar forma al producto.

10 Las formulaciones de la invención apropiadas para administración oral pueden estar en forma de cápsulas, sellos, píldoras, tabletas, pastillas (usando una base aromatizada, normalmente sacarosa y goma arábiga o tragacanto), polvos, gránulos, o como una solución o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso, o como una emulsión líquida aceite-en-agua o agua-en-aceite, o como un elixir o jarabe, o como pastillas (utilizando una base inerte, tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y acacia) y/o como colutorios y similares, conteniendo cada una cantidad predeterminada de un compuesto de la presente invención como un ingrediente activo. El compuesto de la presente invención también se puede administrar como un bolo, electuario o pasta.

15 En las formas de dosificación sólidas de la invención para administración oral (cápsulas, comprimidos, píldoras, grageas, polvos, gránulos y similares), el ingrediente activo se mezcla con uno o más portadores farmacéuticamente aceptables, tales como citrato de sodio o fosfato dicálcico, y/o cualquiera de los siguientes: agentes de carga o extendedores, tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol, y/o ácido silícico; aglutinantes, tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y/o acacia; humectantes, tales como glicerol; agentes desintegrantes, tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o tapioca, ácido algínico, ciertos silicatos, y carbonato de sodio; solución de agentes retardantes, tales como parafina; aceleradores de la absorción, tales como compuestos de amonio cuaternario; agentes humectantes, tales como, por ejemplo, alcohol cetílico y monoestearato de glicerol; absorbentes, tales como caolín y arcilla de bentonita; lubricantes, tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, lauril sulfato de sodio, y sus mezclas; y agentes colorantes. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, las composiciones farmacéuticas también pueden comprender agentes reguladores. Las composiciones sólidas de un tipo similar también se pueden emplear como agentes de carga en cápsulas de gelatina blandas y duras usando excipientes tales como lactosa o azúcares de la leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares.

30 Un comprimido se puede fabricar por compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Las tabletas comprimidas se pueden preparar usando aglutinante (por ejemplo, gelatina o hidroxipropilmetilcelulosa), lubricante, diluyente inerte, conservante, disgregante (por ejemplo, almidón glicolato de sodio o carboximetilcelulosa de sodio reticulada), agente con actividad de superficie o dispersante. Los comprimidos moldeados se pueden hacer moldeando en una máquina apropiada una mezcla del compuesto en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte.

35 Los comprimidos, y otras formas de dosificación sólidas de las composiciones farmacéuticas de la presente invención, tales como grageas, cápsulas, píldoras y gránulos, opcionalmente se pueden anotar o preparar con recubrimientos y cubiertas, tales como recubrimientos entéricos y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de formulación farmacéutica. También se pueden formular de manera que proporcionen una liberación lenta o controlada del ingrediente activo usando, por ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa en proporciones variables para proporcionar el perfil de liberación deseado, otras matrices poliméricas, liposomas y/o microesferas. Se pueden esterilizar mediante, por ejemplo, filtración a través de un filtro de retención de bacterias, o incorporando agentes esterilizantes en forma de composiciones sólidas estériles que se pueden disolver en agua estéril, o algún otro medio inyectable estéril inmediatamente antes de su uso. Estas composiciones también pueden contener opcionalmente agentes opacificantes y pueden ser de una composición tal que liberen el(los) ingrediente(s) activo(s) solos, o preferentemente, en una cierta porción del tracto gastrointestinal, opcionalmente, de una manera retardada. Ejemplos de composiciones de inclusión que se pueden usar incluyen sustancias poliméricas y ceras. El ingrediente activo también puede estar en forma micro-encapsulada, si es apropiado, con uno o más de los excipientes descritos anteriormente.

50 Las formas de dosificación líquidas para administración oral del compuesto de la invención incluyen emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además del ingrediente activo, las formas de dosificación líquidas pueden contener diluyentes inertes usados comúnmente en la técnica, tales como, por ejemplo, agua u otros solventes, 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, cacahuete, maíz, germen, oliva, ricino y sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurilo, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitán, y mezclas de los mismos.

Además de los diluyentes inertes, las composiciones orales también pueden incluir adyuvantes tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, edulcorantes, aromatizantes, colorantes, perfumantes y agentes conservantes.

5 Las suspensiones, además del compuesto activo, pueden contener agentes de suspensión como, por ejemplo, alcoholes etoxilados de isoestearilo, sorbitol de polioxietileno y ésteres de sorbitán, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y tragacanto, y mezclas de los mismos.

10 Las formulaciones de las composiciones farmacéuticas de la invención para administración rectal o vaginal se pueden presentar como un supositorio, que se puede preparar mezclando el compuesto de la invención con uno o más excipientes o portadores apropiados no irritantes que comprenden, por ejemplo, manteca de cacao, polietilenglicol, una cera para supositorios o un salicilato, y que es sólido a temperatura ambiente, pero líquido a temperatura corporal y, por lo tanto, se fundirá en el recto o la cavidad vaginal y libera el compuesto activo.

Las formulaciones de la presente invención que son apropiadas para la administración vaginal también incluyen pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones de pulverización que contienen tales portadores como son conocidos en la técnica por ser apropiados.

15 Las formas de dosificación para la administración tópica o transdérmica de un compuesto de esta invención incluyen polvos, pulverizaciones, ungüentos, pastas, cremas, lociones, geles, soluciones, parches e inhalantes. El compuesto activo se puede mezclar en condiciones estériles con un portador farmacéuticamente aceptable, y con cualquier conservante, solución reguladora, o propelente que pueda ser requerido.

20 Los ungüentos, pastas, cremas y geles pueden contener, además de un compuesto activo de esta invención, excipientes, tales como grasas animales y vegetales, aceites, ceras, parafinas, almidón, tragacanto, derivados de celulosa, polietilenglicoles, siliconas, bentonitas, ácido silícico, talco y óxido de zinc, o mezclas de los mismos.

25 Los polvos y aerosoles pueden contener, además del compuesto de esta invención, excipientes tales como lactosa, talco, ácido silícico, hidróxido de aluminio, silicatos de calcio y polvo de poliamida, o mezclas de estas sustancias. Los aerosoles pueden contener adicionalmente propulsores habituales, tales como clorofluorohidrocarburos e hidrocarburos volátiles no sustituidos, tales como butano y propano.

30 Los parches transdérmicos tienen la ventaja añadida de proporcionar una liberación controlada del compuesto de la presente invención al cuerpo. Tales formas de dosificación se pueden hacer disolviendo o dispersando el compuesto en el medio apropiado. También se pueden utilizar potenciadores de la absorción para aumentar el flujo del compuesto a través de la piel. La velocidad de tal flujo se puede controlar proporcionando una membrana de control de velocidad o dispersando el compuesto activo en una matriz polimérica o gel.

Las formulaciones oftálmicas, pomadas oculares, polvos, soluciones y similares, también se contemplan que están dentro del alcance de esta invención.

35 Las composiciones farmacéuticas de esta invención apropiadas para la administración parenteral comprenden el compuesto de la invención en combinación con uno o más soluciones acuosas o no acuosas isotónicas estériles, dispersiones, suspensiones o emulsiones, o polvos estériles farmacéuticamente aceptables que se pueden reconstituir en soluciones inyectables estériles o dispersiones justo antes de usar, que pueden contener antioxidantes, soluciones reguladoras, bacteriostáticos, solutos que hacen la formulación isotónica con la sangre del receptor deseado o agentes de suspensión o espesantes.

40 Los ejemplos de portadores acuosos y no acuosos apropiados que pueden emplearse en las composiciones farmacéuticas de la invención incluyen agua, etanol, polioles (tales como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol, y similares), y mezclas apropiadas de los mismos, aceites vegetales, tales como aceite de oliva, y ésteres orgánicos inyectables, tales como oleato de etilo. La fluidez apropiada se puede mantener, por ejemplo, mediante el uso de materiales de recubrimiento, tales como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersiones y mediante el uso de surfactantes.

45 Estas composiciones también pueden contener adyuvantes tales como conservantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes y agentes dispersantes. La prevención de la acción de microorganismos se puede asegurar mediante la inclusión de diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabeno, clorobutanol, ácido sórbico de fenol, y similares. También puede ser deseable incluir agentes isotónicos, tales como azúcares, cloruro de sodio, y similares en las composiciones. Además, la absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable puede ser provocada por la inclusión de agentes que retrasan la absorción tales como monoestearato de aluminio y gelatina.

50

En algunos casos, con el fin de prolongar el efecto de un fármaco, es deseable ralentizar la absorción del fármaco a partir de la inyección subcutánea o intramuscular. Esto se puede lograr mediante el uso de una suspensión líquida de material cristalino o amorfo que tiene poca solubilidad en agua. La velocidad de absorción del fármaco depende entonces de su velocidad de disolución que, a su vez, puede depender del tamaño del cristal y la forma cristalina.

5 Alternativamente, la absorción retardada de una forma de fármaco administrada por vía parenteral se logra disolviendo o suspendiendo el fármaco en un vehículo oleoso.

Las formas de depósito inyectables se elaboran formando matrices microencapsuladas de los compuestos objeto en polímeros biodegradables tales como polilactida-poliglicólido. Dependiendo de la relación del fármaco con el polímero, y la naturaleza del polímero particular empleado, la velocidad de liberación del fármaco se puede controlar.

10 Ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). Las formulaciones inyectables de depósito también se preparan atrapando el fármaco en liposomas o microemulsiones que son compatibles con el tejido corporal.

Las preparaciones de la presente invención se pueden administrar por vía oral, parenteral, tópica, o rectal. Ellos son, por supuesto, a cargo de formas apropiadas para cada vía de administración. Por ejemplo, se administran en comprimidos o cápsulas, mediante inyección, inhalación, loción ocular, ungüento, supositorio, *etc.*, administración por inyección, infusión o inhalación; tópica mediante loción o ungüento; y rectal mediante supositorios. Se prefiere la administración oral y/o IV.

15

Las frases "administración parenteral" y "administrado por vía parenteral" como se usa en este documento, significa modos de administración distintos de la administración enteral y tópica, normalmente por inyección, e incluye, sin limitación, inyección intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardiaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoidea, intraespinal e intrasternal e infusión.

20

Las frases "administración sistémica", "administrado por vía sistémica", "administración periférica" y "administrado por vía periférica" como se utiliza en este documento significa la administración de un compuesto, fármaco u otro material que no sea directamente en el sistema nervioso central, tal que entra en el sistema del paciente y, por tanto, está sujeto al metabolismo y otros procesos como, por ejemplo, la administración subcutánea.

25

El compuesto se puede administrar a los seres humanos y otros animales para terapia por medio de cualquier ruta de administración apropiada, incluyendo la vía oral, nasal, como, por ejemplo, un aerosol, rectal, intravaginal, parenteral, intracisternal y tópica, como por polvos, ungüentos o gotas, incluyendo bucal y sublingual.

30 Independientemente de la vía de administración seleccionada, el compuesto de la presente invención, que se puede usar en una forma hidratada apropiada, y/o las composiciones farmacéuticas de la presente invención, se formulan en formas de dosificación farmacéuticamente aceptables por métodos convencionales conocidos por los expertos en la técnica.

Los niveles de dosificación reales de los ingredientes activos en las composiciones farmacéuticas de esta invención pueden variarse para obtener una cantidad del ingrediente activo que es eficaz para lograr la respuesta terapéutica deseada para un paciente en particular, composición, y modo de administración, sin ser tóxico para el paciente.

35

El nivel de dosificación seleccionado dependerá de una variedad de factores que incluyen la vía de administración, el tiempo de administración, la velocidad de excreción, la duración del tratamiento, otros fármacos, compuestos y/o materiales utilizados en combinación con el compuesto particular empleado, la edad, sexo, peso, condición, salud general y la historia médica previa del paciente a tratar, y factores similares bien conocidos en las técnicas médicas.

40

Un médico o veterinario que tiene experiencia normal en la técnica puede determinar fácilmente y prescribir la cantidad eficaz de la composición farmacéutica requerida. Por ejemplo, el médico o veterinario podría comenzar con dosis del compuesto de la invención empleado en la composición farmacéutica a niveles más bajos que los requeridos con el fin de lograr el efecto terapéutico deseado e incrementar gradualmente la dosificación hasta que se consiga el efecto deseado.

45

En general, una dosis diaria apropiada de un compuesto de la invención será aquella cantidad del compuesto que es la dosis más baja eficaz para producir un efecto terapéutico. Tal dosis eficaz dependerá generalmente de los factores descritos anteriormente. Generalmente, las dosis intravenosas y subcutáneas de los compuestos de esta invención para un paciente, cuando se utiliza para los efectos analgésicos indicados, variarán de aproximadamente 0.0001 a aproximadamente 100 mg por kilogramo de peso corporal por día, más preferiblemente de aproximadamente 0.01 a aproximadamente 50 mg por kg por día, y aún más preferiblemente de aproximadamente 1,0 a aproximadamente 100 mg por kg por día. Una cantidad eficaz es aquella cantidad que trata una infección bacteriana.

50

Si se desea, la dosis diaria eficaz del compuesto activo se puede administrar como dos, tres, cuatro, cinco, seis o más sub-dosis administradas por separado a intervalos apropiados durante todo el día, opcionalmente, en formas de dosificación unitaria.

5 Mientras que es posible que el compuesto de la presente invención sea administrado solo, es preferible administrar el compuesto como una composición farmacéutica.

Procedimiento de síntesis

El compuesto de la presente invención se prepara a partir de compuestos comúnmente disponibles usando procedimientos conocidos por los expertos en la técnica, incluyendo una cualquiera o más de las siguientes condiciones, sin limitación:

10 Dentro del alcance de este texto, solamente un grupo fácilmente removible que no es un constituyente del producto final deseado particular del compuesto de la presente invención se designa un "grupo protector", a menos que el contexto indique lo contrario. La protección de grupos funcionales mediante tales grupos protectores, los propios grupos protectores, y sus reacciones de escisión se describen por ejemplo en trabajos de referencia estándar, tales como *por ejemplo*, Science of Synthesis: Houben-Weyl Methods of Molecular Transformation. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, Germany, 2005. 41627 pp. (URL: <http://www.science-of-synthesis.com> (Versión Electrónica, 48 volúmenes)); J. F. W. McOmie, "Protective Groups in Organic Chemistry", Plenum Press, London and New York 1973, in T. W. Greene and P. G. M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", Third edition, Wiley, New York 1999, in "The Peptides"; Volume 3 (editors: E. Gross and J. Meienhofer), Academic Press, London and New York 1981, in "Methoden der organischen Chemie" (Methods of Organic Chemistry), Houben Weyl, 4th edition, Volume 15/I, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974, in H.-D. Jakubke and H. Jeschkeit, "Aminosäuren, Peptide, Proteine" (Amino acids, Peptides, Proteins), Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach, and Basel 1982, y en Jochen Lehmann, "Chemie der Kohlenhydrate: Monosaccharide und Derivate" (Chemistry of Carbohydrates: Monosaccharides and Derivatives), Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974. Una característica de los grupos protectores es que se pueden retirar fácilmente (*i.e.*, sin la ocurrencia de reacciones secundarias no deseadas) por ejemplo mediante solvolisis, reducción, fotólisis o alternativamente bajo condiciones fisiológicas (por ejemplo, por escisión enzimática).

Las sales del compuesto de la presente invención que tiene al menos un grupo formador de sal se pueden preparar de una manera conocida per se. Por ejemplo, se pueden formar sales del compuesto de la presente invención que tienen grupos ácidos, por ejemplo, por tratamiento del compuesto con compuestos metálicos, tales como sales de metales alcalinos de ácidos carboxílicos orgánicos apropiados, *por ejemplo*, la sal de sodio del ácido 2-etilhexanoico, con compuestos orgánicos de metales alcalinos o de metales alcalinotérreos, tales como los correspondientes hidróxidos, carbonatos o carbonatos de hidrógeno, tales como hidróxido de sodio o potasio, carbonato o hidrógeno carbonato, con compuestos de calcio correspondientes o con amoníaco o una amina orgánica apropiada, cantidades estequiométricas o sólo un pequeño exceso del agente formador de sal se utiliza preferiblemente. Las sales de adición de ácido del compuesto de la presente invención se obtienen de manera usual, por ejemplo, por tratamiento del compuesto con un ácido o un reactivo de intercambio aniónico apropiado. Las sales internas del compuesto de la presente invención que contienen grupos ácidos y básicos formadores de sales, *por ejemplo*, un grupo carboxi libre y un grupo amino libre, se pueden formar, por ejemplo, mediante la neutralización de sales, tales como sales de adición de ácido, al punto isoeléctrico, por ejemplo, con bases débiles, o mediante el tratamiento con intercambiadores de iones.

Las sales se pueden convertir de manera habitual en los compuestos libres; sales de metales y de amonio se pueden convertir, por ejemplo, por tratamiento con ácidos apropiados, y sales de adición de ácido, por ejemplo, mediante el tratamiento con un agente básico apropiado.

45 Las mezclas de isómeros obtenibles de acuerdo con la invención se pueden separar de una manera conocida per se en los isómeros individuales; los diastereoisómeros se pueden separar, por ejemplo, por reparto entre mezclas de solventes polifásicas, recristalización y/o separación cromatográfica, por ejemplo sobre gel de sílice o por ejemplo, por cromatografía líquida de media presión sobre una columna de fase reversa, y los racematos se pueden separar, por ejemplo, mediante la formación de sales con reactivos formadores de sales ópticamente puros y separación de la mezcla de los diastereoisómeros que se pueden obtener de esta manera, por ejemplo por medio de cristalización fraccionada, o por cromatografía sobre materiales de columna ópticamente activos.

Los compuestos intermedios y productos finales se pueden trabajar y/o purificar de acuerdo con métodos estándar, por ejemplo, utilizando métodos cromatográficos, métodos de distribución, (re-) cristalización, y similares.

Condiciones del proceso general

Lo siguiente aplica en general a todos los procesos mencionados a lo largo de esta descripción.

Las etapas del proceso para sintetizar el compuesto de la invención se puede llevar a cabo bajo condiciones de reacción que se conocen per se, incluyendo las mencionadas específicamente, en la ausencia o, habitualmente, en presencia de solventes o diluyentes, incluyendo, por ejemplo, solventes o diluyentes que son inertes hacia los reactivos utilizados y disolverlos, en la ausencia o presencia de catalizadores, agentes de condensación o neutralizantes, por ejemplo intercambiadores iónicos, tales como intercambiadores catiónicos, *por ejemplo*, en la forma H⁺, dependiendo de la naturaleza de la reacción y/o de los reactivos a temperatura reducida, normal o elevada, por ejemplo en un intervalo de temperatura de aproximadamente -100 °C a aproximadamente 190 °C, incluyendo, por ejemplo, de aproximadamente -80 °C a aproximadamente 150 °C, por ejemplo a -80 a -60 °C, a temperatura ambiente, a -20 a 40 °C o a temperatura de reflujo, bajo presión atmosférica o en un recipiente cerrado, cuando sea apropiado bajo presión, y/o en una atmósfera inerte, por ejemplo bajo una atmósfera de argón o nitrógeno.

En todas las etapas de las reacciones, las mezclas de isómeros que se forman se pueden separar en los isómeros individuales, por ejemplo diastereoisómeros o enantiómeros, o en cualquier mezcla de isómeros deseada, por ejemplo racematos o mezclas de diastereoisómeros, por ejemplo en forma análoga a los métodos descritos en Science of Synthesis: Houben-Weyl Methods of Molecular Transformation. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, Germany. 2005.

Los solventes a partir de los cuales se pueden seleccionar aquellos solventes que son apropiados para cualquier reacción particular incluyen los mencionados específicamente o, por ejemplo, agua, ésteres, tales como alcanos inferiores-alquilo inferior, por ejemplo acetato de etilo, éteres, tales como éteres alifáticos, por ejemplo éter dietílico, o éteres cíclicos, por ejemplo tetrahidrofurano o dioxano, hidrocarburos aromáticos líquidos, tales como benceno o tolueno, alcoholes, tales como metanol, etanol o 1-o 2-propanol, nitrilos, tales como acetonitrilo, hidrocarburos halogenados, tales como cloruro de metileno o cloroformo, amidas ácidas, tales como dimetilformamida o dimetil acetamida, bases, tales como bases de nitrógeno heterocíclicas, por ejemplo piridina o N-metilpirrolidin-2-ona, anhídridos de ácidos carboxílicos, tales como anhídridos de ácidos alcanos inferiores, por ejemplo anhídrido acético, hidrocarburos lineales o ramificados, cíclicos, tales como ciclohexano, hexano o isopentano, o mezclas de esos solventes, por ejemplo soluciones acuosas, a menos que se indique lo contrario en la descripción de los procesos. Tales mezclas de solventes también se pueden usar en el proceso, por ejemplo por cromatografía o partición.

El compuesto, incluyendo sus sales, también se pueden obtener en la forma de hidratos, o sus cristales pueden por ejemplo, incluir el solvente usado para la cristalización. Diferentes formas cristalinas pueden estar presentes.

La invención se refiere también a aquellas formas del proceso en las cuales un compuesto obtenible como un intermedio en cualquier etapa del proceso se utiliza como material inicial y las etapas de proceso restantes se llevan a cabo, o en las cuales se forma un material inicial bajo las condiciones de reacción o se utiliza en forma de un derivado, por ejemplo, en una forma protegida o en la forma de una sal, o un compuesto obtenible por el procedimiento de acuerdo con la invención, se produce bajo las condiciones de proceso y se procesa adicionalmente *in situ*.

Profármacos

Esta invención también describe las composiciones farmacéuticas que contienen, y métodos de tratamiento de infecciones bacterianas mediante la administración, profármacos farmacéuticamente aceptables del compuesto de la invención. Por ejemplo, un compuesto de la invención que tienen grupos amino, amido, hidroxilo o grupos carboxílicos libres se pueden convertir en profármacos. Los profármacos incluyen compuestos en donde un residuo de aminoácido, o una cadena polipeptídica de dos o más (por ejemplo, dos, tres o cuatro) residuos de aminoácidos están unidos covalentemente a través de un enlace amida o éster a un grupo amino, hidroxilo o ácido carboxílico de una compuesto de la invención. Los residuos de aminoácidos incluyen, pero no se limitan a los 20 aminoácidos de origen natural comúnmente designados por símbolos de tres letras y también incluye 4-hidroxiprolina, hidroxilisina, demosina, isodemosina, 3-metilhistidina, norvalina, beta-alanina, ácido gamma-aminobutírico, homocisteína citrulina, homoserina, ornitina y metionina sulfona. También se describen los tipos adicionales de profármacos. Por ejemplo, los grupos carboxilo libres se pueden derivatizar como amidas o ésteres de alquilo. Los grupos hidroxilo libres se pueden derivatizar usando grupos que incluyen pero no se limitan a hemisuccinatos, ésteres de fosfato, dimetilaminoacetatos y fosforiloximetiloxycarbonilos, como se describe en Advanced Drug Delivery Reviews, 1996, 19, 115. También se incluyen los profármacos de carbamato de grupos hidroxilo y amino, como son los profármacos de carbonato, ésteres de sulfonato y ésteres de sulfato de grupos hidroxilo. También se describe, la derivación de grupos hidroxilo como (aciloxi) metilo y (aciloxi) etil éteres, en donde el grupo acilo puede ser un éster de alquilo, opcionalmente sustituido con grupos incluyendo, pero no limitando a, funciones éter, amina y ácido carboxílico, o donde el grupo acilo es un éster de aminoácido como se ha descrito anteriormente. Los profármacos de este tipo se describen en J. Med. Chem. 1996, 39, 10. Las aminas libres también se pueden derivatizar como amidas, sulfonamidas o fosfonamidas. Todas estas fracciones de profármaco pueden incorporar grupos que incluyen pero no limitan a funciones éter, amina y ácido carboxílico.

Combinaciones

Un compuesto de la presente invención también se puede usar en combinación con otros agentes, por ejemplo, un compuesto antibacteriano adicional que es o no es un compuesto de la invención, para el tratamiento de una infección bacteriana en un sujeto.

5 Por el término "combinación" se quiere decir o bien una combinación fija en una forma de dosificación unitaria, o un kit de partes para la administración combinada en donde un compuesto de la presente invención y un socio de combinación se puede administrar de forma independiente al mismo tiempo o por separado dentro de intervalos de tiempo que permiten especialmente que los socios de combinación muestran un efecto cooperativo, *por ejemplo*, sinérgico, o cualquier combinación de los mismos.

10 Un compuesto de la presente invención se puede usar en combinación con otro agente antibacteriano. El término "agente antibacteriano" se refiere a cualquier sustancia que es o bien bactericida o bacteriostática, *i.e.*, capaz de matar o inhibir el crecimiento de células bacterianas. Los agentes antibacterianos incluyen antibióticos, biocidas, antimicrobianos, y agentes bacteriostáticos. Los tipos conocidos de antibióticos incluyen, *por ejemplo*, inhibidores de la síntesis de la pared celular, inhibidores de la membrana celular, los inhibidores de síntesis de proteínas y los
 15 inhibidores que se unen a o afectan la síntesis de ADN o ARN. Numerosos agentes antibióticos apropiados para su uso en el tratamiento de bacterias relacionadas con enfermedades y trastornos, son conocidos y se describen, *por ejemplo*, en The Physician's Desk Reference (PDR), Medical Economics Company (Montvale, N.J.), (53.sup.rd Ed.), 1999; Mayo Medical Center Formulary, Unabridged Version, Mayo Clinic (Rochester, Minn.), January 1998; Merck Index: An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals, (11.sup.th Ed.), Merck & Co., Inc. (Rahway, N.J.), 1989; University of Wisconsin Antimicrobial Use Guide, <http://www.medsch.wisc.edu/clinsci/5amcg/amcg.html>;
 20 Introduction on the Use of the Antibiotics Guideline, of Specific Antibiotic Classes, Thomas Jefferson University, http://jeffine.tju.edu/CWIS/OAC/antibiotics_guide/intro.html; y las referencias citadas en el mismo.

Los ejemplos de antibióticos para uso en combinación con el compuesto de la invención incluyen, pero no se limitan a, quinolonas, macrólidos, glucopéptidos, oxazolidinona, β -lactamas (incluyendo amoxicilina, ampicilina,
 25 bacampicilina, carbenicilina, cloxacilina, dicloxacilina, flucloxacilina, meticilina, mezlocilina, nafcilina, oxacilina, penicilina G, penicilina V, piperacilina, pivampicilina, pivmecilinam, ticarcilina, sulbactam, tazobactam, clavulanato), cefalosporinas (cefaclor, cefadroxilo, cefamandol, cefazolina, cefdinir, cefditoren, cefepima, cefixima, cefonicida, cefoperazona, cefotaxima, cefotetan, cefoxitina, cefpodoxima, cefprozil, ceftazidima, ceftibuteno, ceftizoxima, ceftriaxona, cefuroxima, cefalexina, cefalotina, cefapirina, cefradina), aminoglucósidos (incluyendo gentamicina, estreptomina, amikacina, kanamicina, viomicina, capreomicina), etionamida, protionamida, cicloserina, dapsona, clofazimina, tetraciclinas (tetraciclina, doxiciclina, clortetraciclina, oxitetraciclina, demeclociclina, minociclina), oxazolidinonas (linezolid, eperezolid), metronidazol, rifabutina, isoniazid, etambutol y combinaciones de los
 30 mismos.

Ejemplos de agentes anti-virales para uso en combinación con el compuesto de la invención incluyen, pero no están limitados a, zidovudina, lamivudina, didanosina, zalcitabina, estavudina, abacavir, nevirapina, delavirdina, emtricitabina, efavirenz, saquinavir, ritonavir, indinavir, nelfinavir, amprenavir, tenofovir, adefovir, atazanavir, fosamprenavir, hidroxiurea, AL-721, amplitgen, hidroxitolueno butilado; polimanoacetato, castanoespermina; contra-can; Pharmatex creme, CS-87, penciclovir, famciclovir, aciclovir, cidofovir, ganciclovir, sulfato de dextrano, D-penicilamina fosfonofórmato trisódico, ácido fusídico, HPA-23, la eflornitina, nonoxinol, isetionato de pentamidina, péptido T, fenitoína, isoniazida, ribavirina, rifabutina, ansamicina, trimetrexato, SK-818, suramina, UA001, enfuvirtida, péptidos derivados de gp41, anticuerpos para CD4, CD4 soluble, moléculas que contienen CD4, CD4-IgG2, y sus
 35 combinaciones.

Ejemplos adicionales de agentes del compuesto de la presente invención se pueden usar en combinación con incluyen, pero no se limitan a, eliminadores de radicales libres, ácido ascórbico, Vitamina C, agentes anti-cáncer, agentes quimioterapéuticos, fármacos anti-inflamatorios no esteroideos, fármacos anti-inflamatorios esteroideos, agentes anti-fúngicos, agentes de desintoxicación, analgésicos, broncodilatadores, fármacos para el tratamiento de la isquemia vascular, agente monoclonal anti-cuerpo, minoxidil para la aplicación tópica para el crecimiento del
 45 cabello, diuréticos, inmunosupresores, linfocinas, interferón α - γ - β y combinaciones de los mismos.

El compuesto de la invención y cualquier agente adicional se puede formular en formas de dosificación separadas. Alternativamente, para disminuir el número de formas de dosificación administradas a un paciente, el compuesto de la invención y cualquier agente adicional se puede formular juntos en cualquier combinación. Por ejemplo, el compuesto inhibidor de la invención se puede formular en una forma de dosificación y el agente adicional se puede formular junto en otra forma de dosificación. Cualquier forma de dosificación separada se puede administrar al mismo tiempo o en momentos diferentes.
 50

Alternativamente, una composición de esta invención comprende un agente adicional tal como se describe en el presente documento. Cada componente puede estar presente en las composiciones individuales, composiciones de combinación, o en una sola composición.

Ejemplos de la invención

- 5 La invención se ilustra adicionalmente mediante los siguientes ejemplos, que no se deben interpretar como limitantes adicionales. La práctica de la presente invención empleará, a menos que se indique lo contrario, técnicas convencionales de biología celular, cultivo celular, biología molecular, biología transgénica, microbiología e inmunología, que están dentro de la experiencia de la técnica.

Métodos de síntesis general

- 10 Todos los materiales iniciales, unidades estructurales, reactivos, ácidos, bases, agentes deshidratantes, solventes y catalizadores utilizados para sintetizar el compuesto de la presente invención están disponibles comercialmente o se pueden producir por métodos de síntesis orgánica conocidos por una persona de habilidad normal en la técnica (Houben-Weyl 4th Ed. 1952, Methods of Organic Synthesis Thieme, Volume 21). Además, el compuesto de la presente invención se puede producir por métodos de síntesis orgánica conocidos por una persona de habilidad normal en la técnica como se muestra en los siguientes ejemplos.

EJEMPLOS

Definiciones

| | |
|--------------------------------|-------------------------------|
| A, Å | Angstrom |
| ACN | Acetonitrilo |
| AcOH | Ácido acético |
| aq | Acuoso |
| bnBr | Bromuro de bencilo |
| boc | <i>tert</i> -butoxicarbonilo |
| C | Centígrados |
| Cat. | Catalítico |
| CDI | Cabonildiimidazol |
| CSA | Ácido canforsulfónico |
| conc. | Concentrado |
| C ₂ CO ₃ | Carbonato de cesio |
| Da | Daltons |
| deg | Grados |
| DIBAL,DIBAL-H | Hidruro de diisobutilaluminio |
| DIPEA | Diisopropiletilamina |
| DIPC | N, N'-diisopropilcarbodiimida |
| DMF | N, N-dimetilformamida |
| DMI | 1,3-dimetil-2-imidazolidinona |

| | |
|--------------------------------|---|
| DMP | Dess-Martin peryodinano |
| DCC | N, N-diciclohexilcarbodiimida |
| DCE | Dicloroetano |
| DCM | Diclorometano |
| DMAP | 4-dimetilaminopiridina |
| DMSO | Dimetilsulfóxido |
| EtOAc | Acetato de etilo |
| EtOH | Etanol |
| eq | Equivalentes |
| g | Gas |
| Grubbs II | 1,3-bis (2,4,6-trimetilfenil) -2- (imidazolidinilideno) (diclorofenilmetileno) (triciclohexilfosfina fosfina) rutenio |
| h | Horas |
| HATU | O- (7-azabenzotriazol-1-il) -N, N, N', N'-tetrametiluronio hexafluorofosfato |
| HMPA | Hexametilfosforamida |
| hep | heptano |
| HCl | Ácido clorhídrico |
| inh. | Inhibición |
| imid. | Imidazol |
| K | Kelvin |
| KHMDS | Hexametildisililazida de potasio |
| K ₂ CO ₃ | Carbonato de potasio |
| LDA | Litiodiisopropilamina |
| LiBH ₄ | Borohidruro de litio |
| LHMDS | Litiohexametildisililazida |
| LC | Cromatografía líquida |
| LC/MS | Espectro de masas/cromatografía líquida |
| M | Molar |
| MeCN | Acetonitrilo |
| MeOH | Metanol |
| MgSO ₄ | Sulfato de magnesio |

| | |
|-------------------|---|
| MHz | Megahertz |
| min | Minutos |
| Tamices mol. | Tamices moleculares |
| NaBH ₄ | Borohidruro de sodio |
| N | Normal |
| RMN | Resonancia magnética nuclear |
| Pd/C | Paladio sobre carbono |
| PEG (750) | O- (2-aminoetil) polietilenglicol-metil -O' 750; NH ₂ (CH ₂ CH ₂ O) _n CH ₃ ; CAS [80506-64-5] Fluka 07964; MW PROMEDIO = 750 |
| PS | Poliestireno |
| Py | Piridina |
| PPM | Partes por millón |
| RP | Fase reversa |
| RT | Temperatura ambiente |
| Rt | Tiempo de retención |
| s | Sólido |
| sat. | Saturado |
| TBS | <i>tert</i> -butildimetilsililo |
| TMS | Trimetilsililo |
| TBAF | Fluoruro de tetrabutilamonio |
| TBTU | O-benzotriazol-1-il-N, N', N'-tetrametiluronio tetrafluoroborato |
| TLC | Cromatografía en capa fina |
| TEA | Trietilamina |
| TFA | Ácido trifluoroacético |
| THF | Tetrahidrofurano |
| h | Horas |
| min | Minutos |
| m/z | Masa para carga |
| MS | Espectro de masas |
| HRMS | Espectro de masas de alta resolución |
| RMN | Resonancia magnética nuclear |

Métodos analíticos

RMN: los espectros de protones se registraron en un espectrómetro Bruker 400 MHz ultrashield a menos que se indique lo contrario. Los desplazamientos químicos se reportan en ppm con respecto al metanol (δ 3.31), dimetilsulfóxido (δ 2.50), o cloroformo (δ 7.26).

5 LC/MS:

Método 1: Los compuestos se analizaron en una columna de Inertsil ODS-3 (C18, 50 x 4.6 mm, 3 μ m) con una elución en gradiente de 2 min (20-80% de acetonitrilo/H₂O/formiato de amonio 5 mM) y una velocidad de flujo de 4 mL/min.

10 Método 5: Método LC/MS GENERAL con fase móvil ácida (ácido fórmico al 0.1%) y el gradiente rápido. Espectros de masas electrospray (+) y (-), cromatograma DAD-UV 200-400 nm, rango de barrido 120-1500 Da. Gradiente: 20-80% de MeCN/H₂O en 2 min (2 mL/min), inyección de 2 μ L. Columna: Inertsil ODS3 C-18, 3 cm x 33 mm x 3.0 μ m, 40 °C.

15 Método 6: Método LC/MS GENERAL con fase móvil neutra (NH₄⁺ 5 mM HCOO⁻) y gradiente rápido (20-80%). Espectros de masas electrospray (+) y (-), cromatograma DAD-UV 200-400 nm, rango de barrido 120-1500 Da. Gradiente: 20-80% de MeCN/H₂O en 2 min (2 mL/min), inyección de 2 μ L. Columna: Inertsil ODS3 C-18, 3 cm x 33 mm x 3.0 μ m, 40 °C.

20 Método 7: Método LC/MS para compuestos NO-POLARES (grasientos) con fase móvil ácida (ácido fórmico al 0.1%) y rápido (40-90%) de gradiente. Espectros de masas electrospray (+) y (-), cromatograma DAD-UV 200-400 nm, rango de barrido 120-1500 Da. Gradiente: 40-90% de MeCN/H₂O en 2 min (2 mL/min), inyección de 2 μ L. Columna: Inertsil C8-3, 3 cm x 33 mm x 3.0 μ m, 40 °C.

Método 8: Método LC/MS para compuestos NO-POLARES (grasientos) con fase móvil neutra (NH₄⁺ 5 mM HCOO⁻) y gradiente rápido (40-90%). Espectros de masas electrospray (+) y (-), cromatograma DAD-UV 200-400nm, rango de barrido 120 a 1500 Da. Gradiente: 40-90% de MeCN/H₂O en 2 min (2 mL/min), inyección de 2 μ L. Columna: Inertsil C8-3, 3.0 cm x 33 mm x 3.0 μ m, 40 °C.

25 Método 9: Método LC/MS con gradiente de rango amplio (5-95%) con fase móvil ácida (ácido fórmico al 0.1%). Espectros de masas electrospray (+) y (-), cromatograma DAD-UV 200-400 nm, rango de barrido 120-1500 Da. Gradiente: 5-95% de MeCN/H₂O en 2 min (2 mL/min), inyección de 2 μ L. Columna: Inertsil C8-3, 3.0 cm x 33 mm x 3.0 μ m, 40 °C.

30 Método 10: Método LC/MS con gradiente de rango amplio (5-95%) con fase móvil neutra (NH₄⁺ 5 mM HCOO⁻). Espectros de masas electrospray (+) y (-), cromatograma DAD-UV 200-400 nm, rango de barrido 120-1500 Da. Gradiente: 5-95% de MeCN/H₂O en 2 min (2 mL/min), inyección de 2 μ L. Columna: Inertsil C8-3, 3 cm x 433 mm x 3.0 μ m, 40 °C.

35 Método 11: método de LC/MS para los compuestos polares con fase móvil ácida (ácido fórmico al 0.1%) y gradiente lento (0-100%). Espectros de masas electrospray (+) y (-), cromatograma DAD-UV 200-400 nm, rango de barrido 120-1500 Da. Gradiente: 0-100% de MeCN/H₂O en 2 min (2 mL/min), inyección de 2 μ L. Columna: Inertsil ODS3 (C-18, 3 cm x 33 mm x 3.0 μ m, 40 °C.)

40 Método 12: Método LC/MS para compuestos polares con fase móvil neutra (NH₄⁺ 5 mM HCOO⁻) y lento (0-100%) del gradiente. Espectros de masas electrospray (+) y (-), cromatograma DAD-UV 200-400 nm, rango de barrido 120-1500 Da. Gradiente: 0-100% de MeCN/H₂O en 2 min (2 mL/min), inyección de 2 μ L. Columna: Inertsil ODS-3 (C-18, 3 cm x 33 mm x 3.0 μ m, 40 °C.

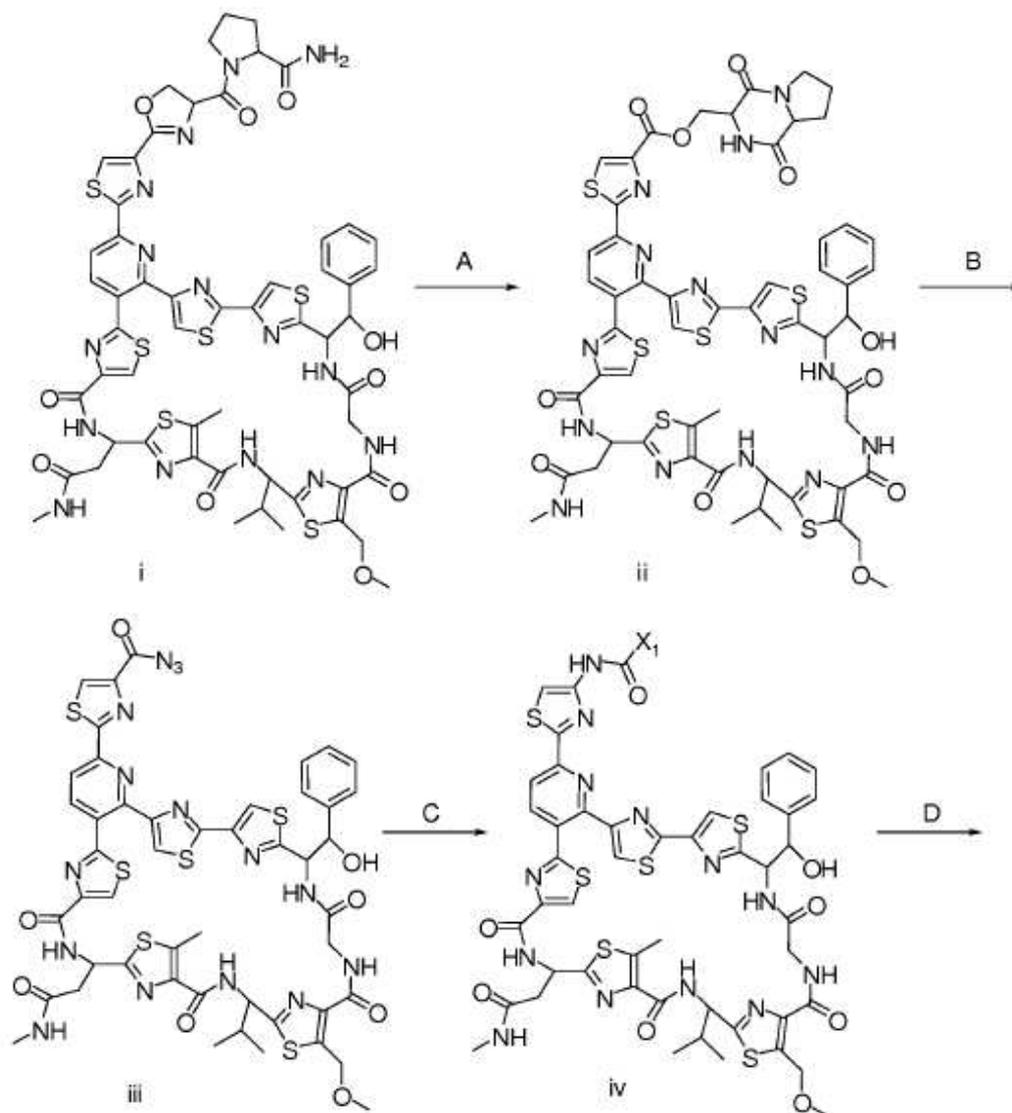
Método 13: Los compuestos se analizaron en una columna de Inertsil ODS-3 (C8, 30 mm x 3.0 mm, 3.0 μ m) con una elución en gradiente de 2 min (acetonitrilo al 5-90% /H₂O/ formiato de amonio 5 mM) y una velocidad de flujo de 2 mL/min.

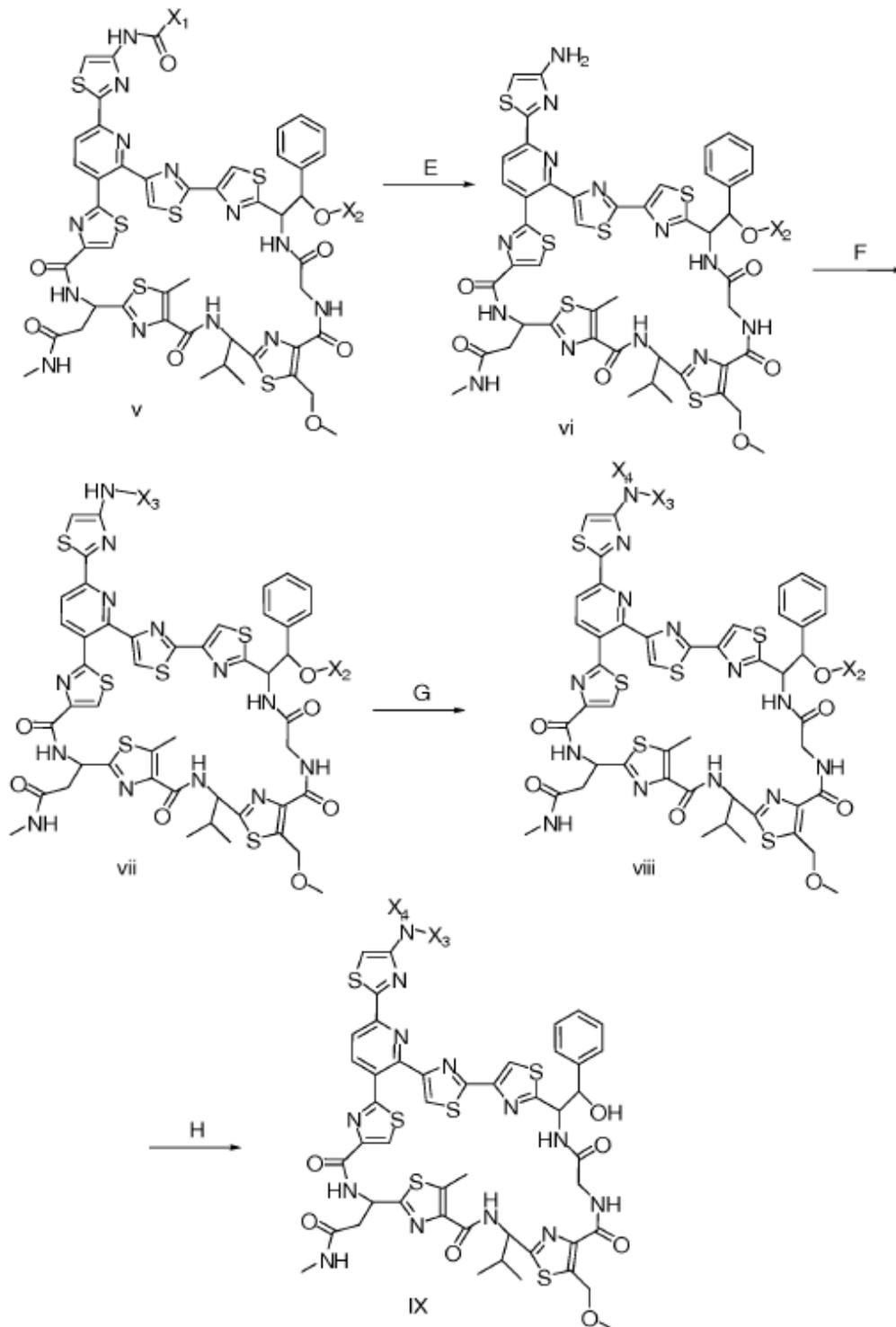
45 Método 14: Los compuestos se analizaron en una columna de Inertsil ODS-3 (C8, 30 mm x 3.0 mm, 3.0 μ m) con un gradiente de elución de 2 min (acetonitrilo al 5-90/H₂O/ ácido fórmico al 0.1%) y una velocidad de flujo de 2 mL/min.

La purificación **HPLC** utiliza una columna C8 o C18 (30 x 100 mm, 5 μ m, marca: Sunfire o XTerra) y se realiza con un gradiente apropiado utilizando dos métodos (a menos que se indique lo contrario). **Método 1** consiste en 0.1% de TFA en 5% - 95% de ACN en H₂O. **Método 2** consta de NH₄OH 10 mM en 5% - 95% de ACN en H₂O.

El análisis LC utiliza una detección de cromatografía líquida UV (LC-UV) usando un cromatógrafo líquido Agilent 1100. Las condiciones de LC son las siguientes: columna: Atlantis C18 (Waters, Inc.), 15 cm x 4.6 mm x 5 µm; temperatura de la columna: ambiente; velocidad de flujo: 1.4 mL/min; volumen de inyección: 3.0 µL; gradiente: A = 0.1% de ácido trifluoroacético (TFA) en agua, B = 0.05% de ácido trifluoroacético (TFA) en acetonitrilo, 0 - 95% de B en 19.0 min, 1.8 min espera.

5

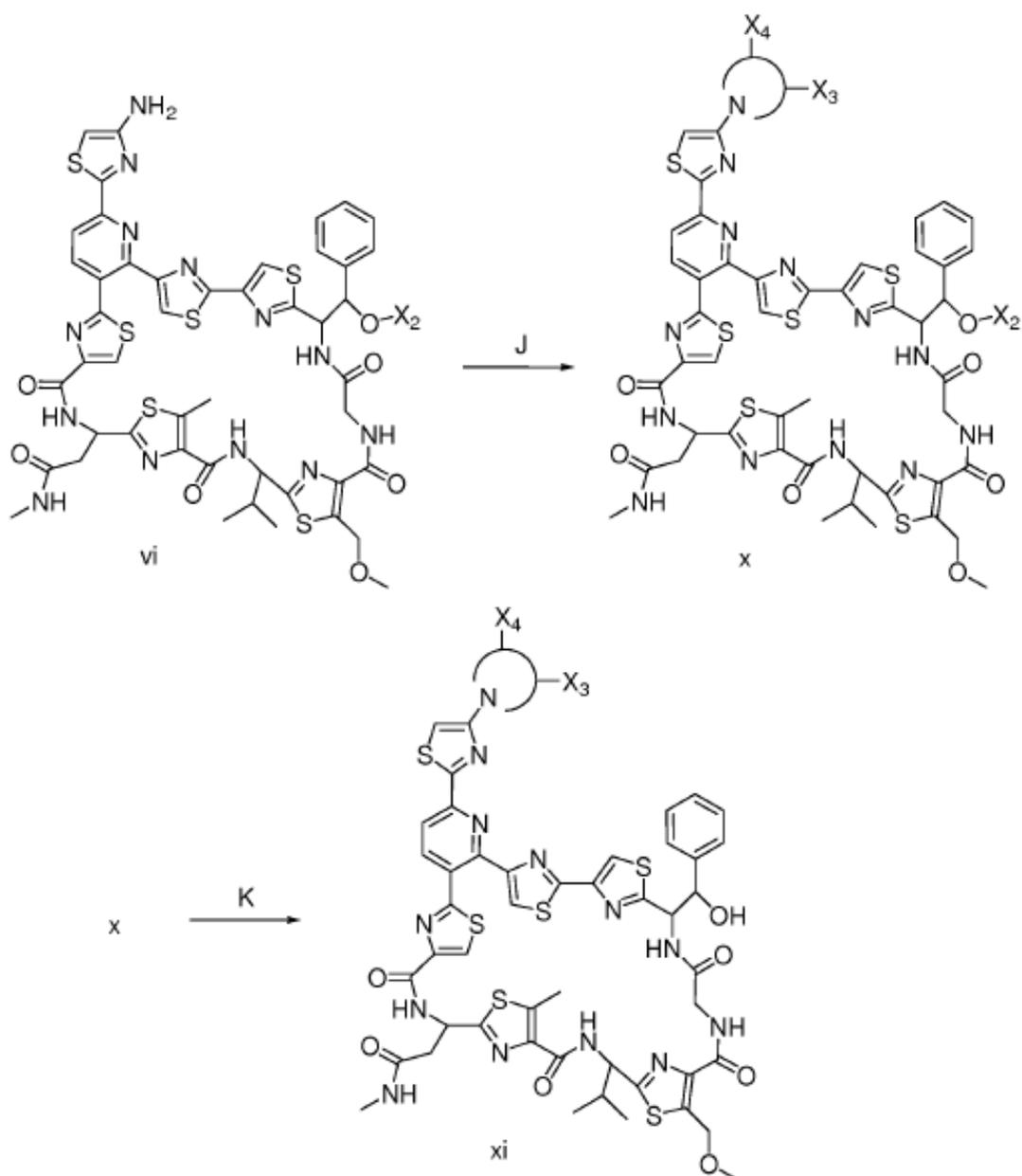
Esquema General 1:



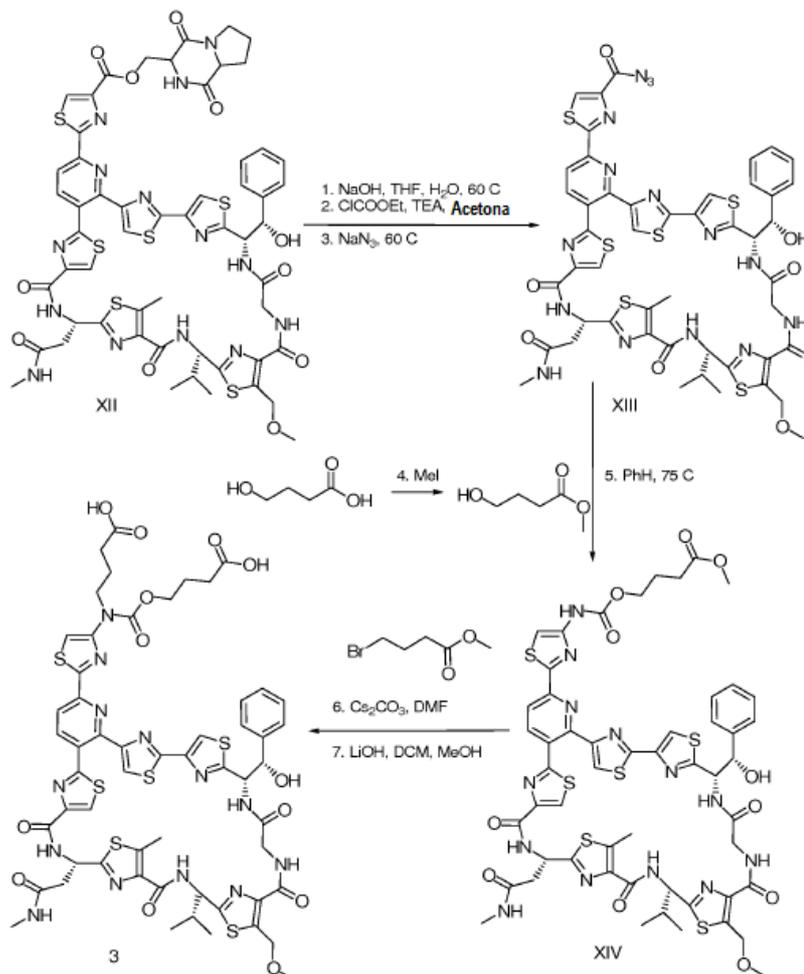
El compuesto de fórmula general (i) se puede preparar a través de métodos sintéticos bien conocidos por los expertos en la técnica, o, alternativamente, aislar a partir de un caldo de fermentación. Véase, por ejemplo, la Patente de EE.UU. 5,202,241. El compuesto de la fórmula estructural general (ii) se puede preparar mediante el procedimiento A, por la reordenación mediada por ácido o base del compuesto (i) en presencia de agua y un ácido o una base apropiado. El compuesto de fórmula general (iii) se puede preparar en el proceso de B a partir de (ii) directamente a través de la reacción con azida o, alternativamente, a través de un proceso multietapa, que incluye la eliminación de la función éster mediante hidrólisis con una base o ácido apropiado, la activación de la fracción del ácido carboxílico usando un agente de activación apropiado, y la reacción con un reactivo apropiado tal como azida. Las azidas representados por la fórmula (iii) son conocidas en la técnica y se sintetizan fácilmente por procedimientos estándar empleados comúnmente en la técnica. El compuesto de fórmula general (iv) se puede

preparar por reacción de la azida (iii) con un grupo nucleófilo, alcohol, amina, o protector (X_1). Un grupo protector apropiado se puede seleccionar por los expertos en la técnica. Los grupos protectores se seleccionan de manera que sean apropiados para las transformaciones representadas y pueden eliminarse después de la síntesis con poca o ninguna pérdida de rendimiento. La introducción y eliminación selectiva de los grupos protectores se les enseña en Greene and Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", John Wiley & Sons (1991). El compuesto de la fórmula estructural general (v) se puede preparar haciendo reaccionar el compuesto (iv) con un reactante reactivo tal como un electrófilo, agente alquilante, agente de acilación, o un grupo protector (X_2) para proporcionar el compuesto (v). El compuesto de estructura general (vi) se puede preparar haciendo reaccionar el compuesto (v) con un ácido, base, un nucleófilo o electrófilo para eliminar el grupo protector (X_1). El compuesto de estructura general (vii) se puede preparar haciendo reaccionar el compuesto (vi) con un electrófilo apropiado, agente alquilante, o agente (X_3) acilar. El compuesto de estructura general (viii) se puede preparar haciendo reaccionar el compuesto (vii) con un electrófilo apropiado, agente de alquilación, agente de acilación (X_4). El compuesto de estructura general (ix) se puede preparar haciendo reaccionar el compuesto (viii) con ácido, base, un nucleófilo o electrófilo para eliminar cualquiera de los grupos protectores restantes. Alternativamente, cualquiera de estas etapas (AH) se puede realizar en un orden diferente, o con algunos pasos retirados o ligeramente alterados, lo que es obvio para los expertos en la técnica.

Esquema General 2:



Esquema 3: Preparación del compuesto diácido 3:



Etapas 1-3:

- 5 A una solución de **XII** (3.1 g, 2.4 mmol) en (CH₃)₂CO (350 mL) y H₂O (40 mL), se le adicionan cristales de NaOH (0.192 g, 4.8 mmol). La mezcla de reacción se sometió a ultrasonidos y se agitó a 22 °C, durante 1 hora (LC/MS: *m/z* [M+H]⁺ 1125, Rt = 1.12 min, método 1). A continuación, la mezcla de reacción se enfrió a 0 °C y se adicionó EtOCOCl (17.8 mL, 192 mmol) mediante una jeringa. Después de agitar la mezcla de reacción a 0 °C, durante 1.5 horas, la reacción muestra el intermedio carbonato de acilo (MS *m/z* 1197 [M+H]⁺). Se adiciona NaN₃ sólido (6.3 g, 96 mmol) a la mezcla de reacción y se agita a 22 °C, durante 12 horas. Se adicionan 15 g de SiO₂ y todos los solventes se evaporan *in vacuo*. El sólido se purifica por cromatografía instantánea, eluyendo con 100% de EtOAc para proporcionar 3.4 g (rendimiento cuantitativo), de un sólido de color crema, **XIII**. MS *m/z* 1167 (M+H₂O).
- 10

Etapa 4:

- 15 A una solución de la sal sódica del ácido (8 g, 63 mmol) en DMF (100 mL) se le adiciona MeI (7.9 mL, 126 mmol) y la mezcla de reacción se agita durante 5 días a 22 °C. El exceso de solventes se eliminó a presión reducida. El residuo se diluye con EtOAc y se lavó con solución de salmuera acuosa. Las capas orgánicas se combinaron y se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y concentraron para proporcionar 6.2 g (83%) de un aceite de color amarillo, éster metílico del ácido 4-hidroxi-butírico.

Etapa 5:

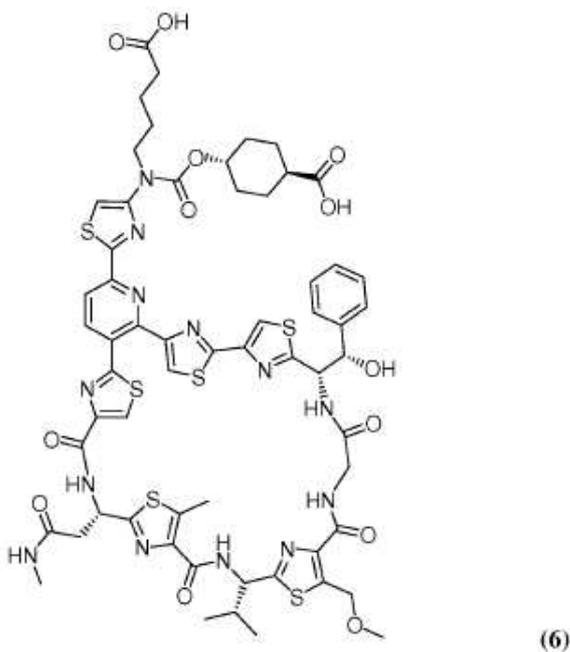
- 20 A una solución de **XIII** (3 g, 2,6 mmol) en PhMe (100 mL) se le adiciona éster metílico del ácido 4-hidroxi-butírico (1.2 g, 10.4 mmol) y la mezcla de reacción se agita a 75 °C, durante 12 horas. Se adicionan 7 g de SiO₂ a la mezcla y los solventes se concentran a presión reducida. El sólido se purifica por cromatografía instantánea, eluyendo con 100% de EtOAc para proporcionar 3.82 g (rendimiento cuantitativo), de un sólido de color amarillo, **XIV**. MS *m/z* 1240 (M+H)⁺.

Etapa 6:

A una solución de **XIV** (1.8 g, 0.15 mmol) en DMF (50 mL), se le adiciona éster metílico del ácido 4-bromo-butírico (1 g, 0.87 mmol) y Cs₂CO₃ (800 mg, 0.48 mmol). La reacción se agitó a 22 °C, durante 48 horas. Se adicionan 5 g de SiO₂ y todos los solventes se evaporan *in vacuo*. El sólido se purifica por cromatografía instantánea, eluyendo con MeOH/DCM (0-10%) para proporcionar 1.5 g (75%), de un sólido de color amarillo. MS *m/z* 1357 (M+H₂O).

Etapa 7:

A una solución del diéster (250 mg, 0.187 mmol) en MeOH (10 mL) y H₂O (2 mL), se le adicionan cristales de NaOH (37 mg, 0.933 mmol) y la mezcla de reacción se agita durante 72 horas a 22 °C. Se adicionan 6 g de SiO₂ y los solventes se concentran a presión reducida. El sólido se purifica por cromatografía instantánea, eluyendo con MeOH/DCM (5-10%) y luego a 10% de MeOH/DCM con 1% de AcOH para proporcionar 0.2 g de un aceite de color amarillo. El aceite de color amarillo se purificó por HPLC Gilson, eluyendo con ACN/H₂O (5-50%) con 3% de *n*-propanol. La liofilización durante 12 h proporciona 4 mg (16%) de un sólido de color blanco, **3**. LC/MS: *m/z* 1329 [M+H₂O]⁺, método 1. LC: Rt = 8.84 min, HRMS (ES+) C₅₆H₅₇N₁₃O₁₃S₆: Calc.: 1312.2601 [M+H]⁺; Encontrado: 1312.2637. ¹H RMN (DMSO-d₆, 600 MHz, 300 K) δ 9.047 (d, 1 H), 8.698 (d, 1 H), 8.683 (d, 1 H), 8.605 (s, 1 H), 8.459 (dd, 1 H), 8.381 (d, 1H), 8.265 (s, 1 H), 8.238 (d, 1 H), 7.758 (s, 1 H), 7.388 (m, 1 H), 7.361 (s, 1 H), 7.321 (m, 1 H), 7.289 (m, 1 H), 7.239 (m, 1 H), 6.06 (b, 1 H), 5.295 (m, 1 H), 5.237 (t, 1 H), 5.211 (dd, 1 H), 4.998 (d, 1 H), 4.979 (s, 2 H), 4.272-3.787 (dd, 2 H), 4.163 (t, 2 H), 4.007 (b, 2 H), 3.391 (s, 3 H), 2.717-1.298 (dd, 2 H), 2.589 (s, 3 H), 2.479 (d, 3 H), 2.336 (t, 2 H), 2.303 (t, 2 H), 2.169 (m, 1 H), 1.900 (m, 2 H), 1.878 (m, 2 H), 0.881-0.846 (d, 3 H).

Ejemplo 4. Preparación del Diácido **6**:

20

El compuesto **6** se preparó de acuerdo con el ejemplo de referencia 1 y el esquema 3.

Etapa 1:

A una solución de **XIII** (1 g, 0.87 mmol) en dioxano (80 mL) se le adiciona éster metílico del ácido *trans*-4-hidroxi ciclohexano carboxílico (0.46 g, 2.9 mmol) y la mezcla de reacción se agita a 80 °C, durante 4 h. Se adiciona SiO₂ a la mezcla y los solventes se concentran a presión reducida. El sólido se purifica por cromatografía instantánea, eluyendo con 10% de DCM/MeOH para proporcionar 530 mg (rendimiento 47.7%), de un sólido de color amarillo, el uretano. MS *m/z* 1280 (M+H)⁺.

25

Etapa 2:

A una solución del uretano (300 mg, 0,234 mmol) y Cs₂CO₃ (267 mg, 0.820 mmol) en DMF (2 mL), se le adiciona metil-5 bromo valerato (0.20 mL, 1.404 mmol). La reacción se agita a rt, durante 12 h, se filtra y se concentra. El

30

ES 2 542 878 T3

residuo se purifica por cromatografía instantánea, eluyendo con MeOH/DCM (gradiente: 0-10%) para proporcionar 270 mg (82.5%), de un sólido de color amarillo. MS m/z 1395 (M+H)⁺.

Etapa 3:

5 A una solución del diéster (270 mg, 0.194 mmol) en MeOH (6.5 mL) y THF (2.5 mL) se le adiciona NaOH 3 N (0.65 mg, 1.94 mmol) y la mezcla de reacción se agita durante 12 h a rt. La reacción se neutraliza con NH₄Cl hasta pH = 6-7. La reacción se concentra con vacío. El residuo se disuelve en DMF/H₂O, se purifica con HPLC (elución con gradiente de MeCN/H₂O, 0.1% de modificador de TFA), y se liofiliza durante 12 h para proporcionar 98.5 mg (37.2%) de un sólido de color amarillo claro, **6**.

10 HRMS (ES+) C₆₀H₆₃N₁₃O₁₃S₆: Calc.: 1366.3071 [M+H]⁺; Encontrado: 1366.3009. LC/MS: m/z [M + 2H]⁺ 1367, Rt = 1.41 min (método 14). ¹H RMN: (600MHz, DMSO-d₆) δ 9.132 (d, 1 H), 8.707 (d, 1 H), 8.681 (d, 1 H), 8.604 (s, 1 H), 8.465 (dd, 1 H), 8.387 (d, 1 H), 8.257 (s, 1 H), 8.217 (d, 1 H), 7.713 (s, 1 H), 7.394 (m, 1 H), 7.354 (s, 1 H), 7.322 (d, 2 H), 7.285 (t, 2 H), 7.235 (t, 1 H), 6.175 (b, 1 H), 5.294 (m, 1 H), 5.239 (t, 1 H), 5.213 (dd, 1 H), 5.007 (d, 1 H), 4.983 (d, 2 H), 4.666 (m, 1 H), 4.287-3.796 (dd, 2 H), 3.982 (b, 2 H), 3.392 (s, 3 H), 2.794-1.285 (dd, 2 H), 2.592 (s, 3 H), 2.479 (d, 3 H), 2.277 (t, 2 H), 2.256 (m, 1 H), 2.170 (m, 1 H), 2.010-1.476 (m, 4H), 1.931-1.476 (m, 4 H), 1.686 (m, 2 H), 1.575 (m, 2 H), 0.885 (d, 3 H), 0.848 (d, 3 H).

Resultados biológicos:

Usando el ensayo de MIC estándar descrito anteriormente con las bacterias *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* or *Staphylococcus aureus*, los compuestos demuestran una concentración mínima inhibitoria que varía de 0.0010 µg/mL a 128 µg/mL.

20 El ensayo *in vitro* para la inhibición de la transcripción-traducción de procariontas [como se describe en las siguientes referencias: 1. Zubay, G. (1973) In vitro synthesis of protein in microbial systems. Annu. Rev. Genet.7, 267.87. 2. Zubay, G. (1980) The isolation and properties of CAP, the catabolite gene activator. Meth. Enzymol. 65, 856.77]. Diluciones de antibióticos y compuestos: las soluciones madre del compuesto a ensayar en 2 µM son 80 µM en 40% de DMSO. Las soluciones madre de los compuestos a ensayar en 10 µM son 400 µM en 40% de DMSO.

25 Configuración del ensayo y el protocolo para el Sistema del Extracto *E. coli* S30 Promega

Tabla 1 mezcla maestra sistema del extracto *E. coli* S30

| Componente | Volumen final (16 µl) |
|---|-----------------------|
| mezcla de aminoácidos "menos metionina" | 1.0 µl |
| mezcla de aminoácidos "menos Cisteína" | 1.0 µl |
| premezcla S30 | 8.0 µl |
| extracto S30 | 6.0 µl |

Tabla 2 componentes del ensayo del sistema del Extracto *E. coli* S30

| Componentes/ Reactivos | Volumen final (20 µl) |
|---|-----------------------|
| Plantilla (pBEST/ <i>luc</i> TM) 286ng/µl | 3.5 µl |
| Compuesto (40x concentración final) en 40% | 0.5 µl |
| DMSO | |
| Mezcla Master (ver tabla 1) | 16 µl |

ES 2 542 878 T3

El ensayo se realiza de la siguiente manera: pipetear 3.5 μL de 286 $\text{ng}/\mu\text{L}$ de ADN de plantilla (pBEST/lucTM) en pozos de ensayo. Los pozos de control negativo sólo reciben sdH₂O. Transferir 0.5 μL de solución madre del compuesto 40x a los pozos de ensayo. Los pozos de control positivo (sin compuesto) reciben 0.5 μL de DMSO al 40% sdH₂O. Pipetear 16 μL de mezcla maestra en pozos de ensayo. Incubar la placa durante dos horas a 37 °C.

5. Enfriar rápidamente la placa de ensayo en hielo durante cinco minutos para detener la reacción. Adicionar un volumen igual (20 μL) de temperatura ambiente reactivo de ensayo de luciferasa Steady-Glo® a todos los pocillos de ensayo. Incubar 20 minutos y leer con luz emitida luminómetro. Los resultados se presentan como% de inhibición @ 2 μM o 10 μM .

| | |
|------------|---------------------------|
| (3) | %inh. @ 2uM = 67.8 |
| (6) | %inh. @ 2uM = 86.8 |

