

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 588 984**

51 Int. Cl.:

C07C 235/46 (2006.01)

C07C 255/54 (2006.01)

A61P 31/04 (2006.01)

A61K 31/166 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.11.2009 PCT/EP2009/064973**

87 Fecha y número de publicación internacional: **10.03.2011 WO11026529**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.11.2009 E 09748125 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.06.2016 EP 2473480**

54 Título: **Nuevo compuesto de hidroxifenilo antibacteriano**

30 Prioridad:

01.09.2009 US 238995 P

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

08.11.2016

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**GERUSZ, VINCENT;
FAIVRE, FABIEN;
OXOBY, MAYALEN;
DENIS, ALEXIS y
BONVIN, YANNICK**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 588 984 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

Nuevo compuesto de hidroxifenilo antibacteriano

La invención se refiere a un nuevo compuesto de hidroxifenilo, a la preparación del compuesto y a intermedios usados en el mismo, al uso del compuesto como un medicamento antibacteriano y a composiciones farmacéuticas que contienen el compuesto.

La invención se refiere particularmente a un nuevo compuesto capaz de inhibir la biosíntesis bacteriana y/o de ácidos grasos de parásitos y al uso del compuesto como un agente antibacteriano y/o antiparasitario.

El surgimiento de agentes patógenos resistentes a antibióticos se ha convertido en un grave problema sanitario en todo el mundo. De hecho, algunas infecciones están actualmente provocadas por organismos resistentes a múltiples fármacos que ya no son sensibles a los tratamientos actualmente disponibles. Por lo tanto, hay una necesidad inmediata de nuevos agentes antibacterianos/antiparasitarios con un nuevo modo de acción.

La biosíntesis de ácidos grasos bacterianos (sistema FASII) ha generado recientemente un gran interés por el desarrollo de nuevos agentes antibacterianos/antiparasitarios (Rock et al. J. Biol. Chem. 2006, 281, 17541; Wright and Reynolds Curr. Opin. Microbiol. 2007, 10, 447). La organización de componentes en la trayectoria de biosíntesis de ácidos grasos bacterianos basada en enzimas discretas es fundamentalmente diferente del sistema FASI multifuncional que se encuentra en los mamíferos, por lo tanto, permite buenas perspectivas de inhibición selectiva. El grado elevado global de conservación en muchas enzimas del sistema FASII bacteriano debe permitir también el desarrollo de agentes antibacterianos/antiparasitarios de amplio espectro.

Entre las enzimas monofuncionales del sistema FASII bacteriano, la FabI representa la enoil-ACP reductasa responsable de la última etapa del ciclo de alargamiento biosintético de ácidos grasos. Usando el cofactor NAD(P)H como una fuente de hidruros, el FabI reduce el enlace doble en el intermedio trans-2-2-enoil-ACP al correspondiente producto acil-ACP. Esta enzima se ha mostrado que constituye una diana esencial en los agentes patógenos principales como *E. coli* (Heath et al. J. Biol. Chem. 1995, 270, 26538; Bergler et al. Eur. J. Biochem. 1996, 242, 689) y *S. aureus* (Heath et al. J. Biol. Chem. 2000, 275, 4654). Sin embargo, han sido aisladas otras isoformas como FabK a partir de *S. pneumoniae* (Heath et al. Nature 2000, 406, 145) y FabL a partir de *B. subtilis* (Heath et al. J. Biol. Chem. 2000, 275, 40128). Aunque el FabK está estructural y mecanísticamente no relacionado con FabI (Marrakchi et al. Biochem J. 2003, 370, 1055), la similitud de FabI con FabL (*B. subtilis*), y InhA (*M. tuberculosis*) y PfENR (*P. falciparum*) ofrece todavía oportunidades de espectros de actividad interesantes (Heath et al. Prag. Lipid Res. 2001, 40, 467).

Han sido ya descritos varios inhibidores FabI en la bibliografía (Tonge et al. Acc. Chem. Res. 2008, 41, 11). Algunos de ellos como las diazaborinas (Baldock et al. Science 1996, 274, 2107) y el isoniazid en su forma activada (Tonge et al. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2003, 100, 13881) actúan modificando covalentemente el cofactor NAD⁺. Sin embargo, algunos inconvenientes están asociados con estos productos. Las diazaborinas solo se usan experimentalmente debido a su toxicidad inherente (Baldock et al. Biochem. Pharmacol. 1998, 55, 1541), mientras que el isoniazid es un profármaco restringido al tratamiento de tuberculosis susceptible. El hecho de que el isoniazid requiere una activación mediante enzimas inducibles por peróxido de hidrógeno (Schultz et al. J. Am. Chem. Soc. 1995, 117, 5009) aumenta las posibilidades de resistencia por la falta de activación de una destoxificación aumentada (Rosner et al. Antimicrob. Agents Chemother. 1993, 37, 2251 y ibid 1994, 38, 1829).

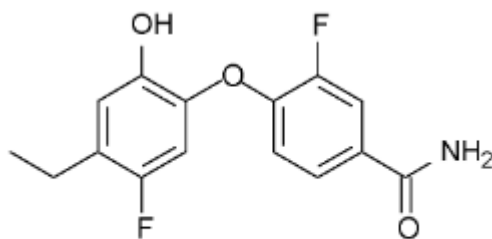
Otros inhibidores actúan interaccionando de forma no covalente con el complejo de cofactor de enzimas. Por ejemplo, el Triclosan, un conservante de artículos de consumo ampliamente usado con una actividad antimicrobiana de amplio espectro se ha encontrado que es un inhibidor de ligado reversible de *E. coli* FabI (Ward et al. Biochemistry 1999, 38, 12514). Unos estudios de toxicología intravenosa sobre este compuesto indicaron una LD₅₀ en ratas de 29 mg/kg que descarta claramente la inyección intravenosa (Lyman et al. Ind. Med. Surg. 1969, 38, 42). Han sido descritos derivados basados en el núcleo de 2-hidroxifenil-éter de triclosano (Tonge et al. J. Med. Chem. 2004, 47, 509, ACS Chem Biol. 2006, 1, 43 y Bioorg. Med. Chem. Lett. 2008, 18, 3029; Surolija et al. Bioorg. Med. Chem. 2006, 14, 8086 y *ibid* 2008, 16, 5536; Freundlich et al. J. Biol. Chem. 2007, 282, 25436) así como otros inhibidores basados en diversas clases de plantillas derivadas de una selección a fondo elevada (Seefeld et al. Bioorg. Med. Chem. Lett. 2001, 11, 2241 y J. Med. Chem. 2003, 46, 1627; Heerding et al. Bioorg. Med. Chem. Lett. 2001, 11, 2061; Miller et al. J. Med. Chem. 2002, 45, 3246; Payne et al. Antimicrob. Agents Chemother. 2002, 46, 3118; Sacchetti et al. J. Biol. Chem. 2003, 278, 20851; Moir et al. Antimicrob. Agents Chemother. 2004, 48, 1541; Montellano et al. J. Med. Chem. 2006, 49, 6308; Kwak et al. Int. J. Antimicro. Ag. 2007, 30, 446; Lee et al. Antimicrob. Agents Chemother. 2007, 51, 2591; Kitagawa et al. J. Med. Chem. 2007, 50, 4710, Bioorg. Med. Chem. 2007, 15, 1106 y Bioorg. Med. Chem. Lett. 2007, 17, 4982; Takahata et al. J. Antibiot. 2007, 60, 123; Kozikowski et al. Bioorg. Med. Chem. Lett. 2008, 18, 3565), no obstante, ninguno de estos inhibidores ha tenido éxito hasta ahora como un fármaco. De forma interesante, algunas clases de estos inhibidores muestran actividad tanto contra FabI como contra FabK: predominantemente FabK para los compuestos duales basados en derivados de fenilimidazol de 4-piridonas (Kitagawa et al. J. Med. Chem. 2007, 50, 4710), predominantemente FabI para los derivados de indol (Payne et al. Antimicrob. Agents Chemother. 2002, 46, 3118; Seefeld et al. J. Med. Chem. 2003, 46, 1627). Sin embargo, la actividad moderada de la segunda enzima puede mostrarse como un inconveniente para estos compuestos ya que puede conducir a un aumento de los mecanismos de resistencia debido a la presión de selección añadida (Tonge et al. Acc. Chem. Res. 2008, 41, 11).

A pesar de lo atractivo de Fabl como una diana antibacteriana/ antiparasitaria, está ampliamente no explotada en este momento ya que no hay fármacos en el mercado o en fases clínicas avanzadas.

5 El documento WO 2007/135562 (Mutabilis SA) describe una serie de derivados de hidroxifenilo que muestran un espectro de actividad selectivo sobre especies que contienen Fabl y dianas relacionadas, en contraste con triclosano.

Una de las finalidades de la invención es proporcionar un compuesto nuevo activo sobre Fabl y dianas relacionadas con propiedades farmacológicas mejoradas sobre los compuestos existentes.

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



(I)

10 o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

El compuesto de fórmula (I) es conocido químicamente como 4-(4-etil-5-fluoro-2-hidroxifenoxi)-3-fluorobenzamida. Por tanto, en una realización, el compuesto de fórmula (I) es 4-(4-etil-5-fluoro-2-hidroxifenoxi)-3-fluorobenzamida o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización adicional, el compuesto de fórmula (I) es 4-(4-etil-5-fluoro-2-hidroxifenoxi)-3-fluorobenzamida.

15 El nuevo compuesto de la invención tiene una buena actividad *in vitro* e *in vivo* y exhibe una solubilidad sorprendentemente mayor que los derivados de hidroxifenilo previamente descritos, como se confirma mediante los datos presentados en la presente memoria descriptiva. Esta solubilidad aumentada proporciona la ventaja significativa de permitir que el compuesto de la invención se administre por vía intravenosa. En particular, el compuesto de la invención es altamente activo *in vitro* contra varias cepas de *Staphylococcus aureus* susceptibles a metilicina (MSSA) patógenos, *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina (MRSA), *Staphylococcus aureus* intermedio de vancomicina (VISA) y *Staphylococcus aureus* resistente a vancomicina (VRSA). Adicionalmente, el compuesto de la invención es también activo *in vivo* en un modelo de móridos contra infecciones de MSSA, MRSA y VISA.

25 El compuesto de la invención exhibe una elevada especificidad y no tiene actividad contra otros agentes patógenos Gram-positivos (*Streptococcus* y *Enterococcus*) que no son dependientes Fabl para la síntesis de ácidos grasos. Además, el compuesto de la invención no muestra una resistencia cruzada con glicopéptidos (vancomicina) y oxazolidinonas (Linezolid) en poblaciones microbianas dianas. Las poblaciones bacterianas dianas expuestas al compuesto de la invención exhiben solamente una baja velocidad de mutación espontánea hacia la resistencia a fármacos (aproximadamente 10^{-9}) y exhiben un efecto bacteriostático o bactericida lento.

30 El compuesto de la invención posee también un excelente perfil de seguridad. Por ejemplo, durante una evaluación detallada de los efectos del compuesto de la invención sobre los principales sistemas fisiológicos que incluían 112 ensayos de unión *in vitro* y 42 ensayos de enzimas *in vitro*, el compuesto de la invención se encontró que está desprovisto de cualquier afinidad o actividad significativa excepto en el transportador de norepinefrina humano con una inhibición de 88%. *In vitro*, el compuesto de la invención produjo una ligera inhibición en la amplitud corriente de cola de hERG de una inhibición de hasta 35,3% a 30 μ M (después de una sustracción resumida), respectivamente. Sin embargo, no se observó una prolongación del intervalo de QT con el compuesto de la invención a ninguno de los niveles de dosis en perros conscientes después de una infusión intravenosa única a 25, 50 y 100 mg/kg. Además, al final de la infusión con el compuesto de la invención, la QT corregida fue generalmente inferior que en el grupo testigo. En una batería de observación funcional y en una evaluación de ensayos de la función respiratoria, el compuesto de la invención fue bien tolerado por ratas sin modificaciones relevantes en comparación con ratas a las que se administró solamente un vehículo. Además, durante estudios *in vivo* con el compuesto de la invención en ratas y perros, no se observaron efectos adversos importantes.

45 En el presente contexto, la expresión "sal farmacéuticamente aceptable" está destinada a indicar sales que no son perjudiciales para el paciente. Estas sales incluyen sales por adición de ácidos farmacéuticamente aceptables, sales metálicas farmacéuticamente aceptables y sales por adición de álcalis farmacéuticamente aceptables. Las sales por adición de ácidos incluyen sales de ácidos inorgánicos así como de ácidos orgánicos.

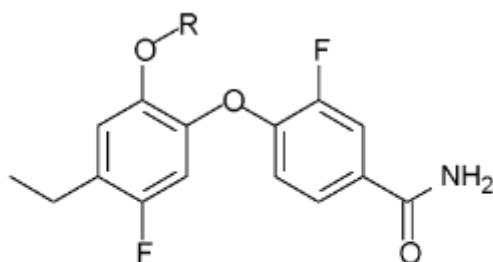
Ejemplos representativos de ácidos inorgánicos adecuados incluyen ácidos clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico,

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

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

El compuesto de fórmula (I) se puede preparar procedimientos conocidos por un químico experto que sean aplicables para preparar compuestos químicamente relacionados. Estos procedimientos usan materiales de partida conocidos o intermedios que pueden ser obtenidos mediante procedimientos estándar de química orgánica. El siguiente procedimiento proporciona una vía no limitativa para la producción del compuesto de fórmula (I) e intermedios usados en el mismo. Este procedimiento constituye una característica adicional de la invención.

Según un aspecto adicional de la invención, se proporciona un procedimiento (a) para preparar el compuesto de fórmula (I) anteriormente definido, que comprende la desalquilación de un compuesto de fórmula (II):



(II);

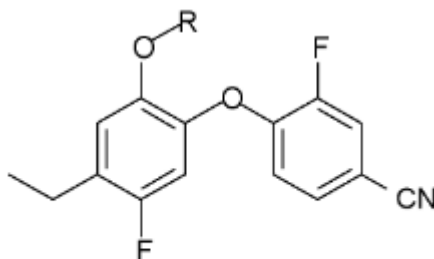
en la que R representa un grupo alquilo C₁₋₆, como metilo.

Las referencias en la presente memoria descriptiva a alquilo C₁₋₆ incluyen cualesquiera grupos lineales, ramificados o hidrocarbonados que tienen de 1 a 6 átomos de carbono, preferentemente metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo y t-butilo, n-pentilo, isopentilo o neopentilo. En una realización particular, R representa metilo.

El procedimiento (a) comprende normalmente el uso de un reactivo desalquilante adecuado como tribromuro de boro. Normalmente el procedimiento (a) se realiza también en presencia de un disolvente adecuado, como diclorometano.

El compuesto de fórmula (II) se puede preparar de acuerdo con procedimientos descritos en la presente memoria descriptiva y es conocido en la presente memoria descriptiva como Intermedio 4 (D4).

Según aspecto adicional de la invención, se proporciona un procedimiento (b) para preparar el compuesto de fórmula (I) como se definió anteriormente, que comprende el tratamiento ácido de un compuesto de fórmula (III):



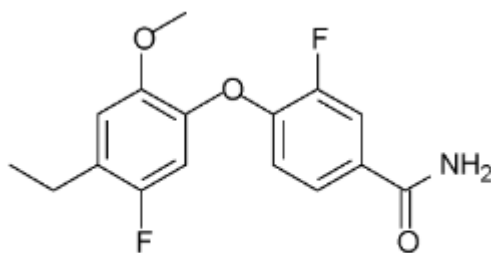
(III);

en la que R representa un grupo alquilo C₁₋₆ como metilo.

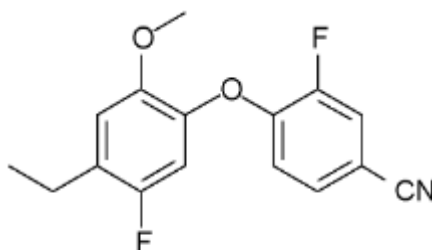
El procedimiento (b) comprende normalmente un tratamiento ácido usando ácidos adecuados, como ácido acético y ácido sulfúrico, seguido de purificación con agentes adecuados, como clarcel y carbón en un disolvente adecuado, como diclorometano.

5 El compuesto de fórmula (III) se puede preparar de acuerdo con procedimientos descritos en la presente memoria descriptiva y es conocido en la presente memoria descriptiva como Intermedio 3 (D3).

Se apreciará que ciertos Intermedios usados en la síntesis del compuesto de fórmula (I) pueden comprender aspectos adicionales de la invención. Por ejemplo, según un aspecto adicional de la invención, se proporciona un intermedio de compuesto (II)^a:

(II)^a.

10 Además, de acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona un intermedio de compuesto (III)^a:

(III)^a.

Como se ilustra mediante el ejemplo proporcionado con posterioridad, el compuesto descrito con anterioridad de fórmula (I) tiene propiedades biológicas valiosas. El compuesto es particularmente útil como un agente antibacteriano que tiene un espectro selectivo de actividad *in vitro* e *in vivo* contra cepas bacterianas que están asociadas a dianas FabI y relacionadas. Estas cepas abarcan *Staphylococcus aureus* que incluyen cepas multirresistentes (como cepas de *Staphylococcus aureus* susceptible a meticilina (MSSA), *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA), *Staphylococcus aureus* intermedio de vancomicina (VISA) y *Staphylococcus aureus* resistente a vancomicina (VRSA), *Acinetobacter baumannii*, *Bacillus anthracis*, *Chlamydophila pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Helicobacter pylori*, *Klebsiella pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* y también bacterias como *Mycobacterium tuberculosis* que portan enzimas FabI homólogas como InhA u otros organismos como *Plasmodium falciparum*. En una realización, el compuesto de la invención es usado en el tratamiento de infecciones microbianas de *Staphylococcus aureus* que incluyen cepas multirresistentes como cepas de *Staphylococcus aureus* susceptible a meticilina (MSSA), *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA), *Staphylococcus aureus* intermedio de vancomicina (VISA) y *Staphylococcus aureus* resistente a vancomicina (VRSA).

El compuesto de fórmula (I) es particularmente adecuado por lo tanto como un principio activo de un medicamento.

Según un aspecto adicional de la invención, se proporciona un compuesto de fórmula (I) como se define con anterioridad para ser usado en terapia.

30 Según un aspecto adicional de la invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) como se define con anterioridad, en asociación con un excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

Dichas composiciones farmacéuticas son formuladas ventajosamente para ser administradas bajo vías oral, tópica, parenteral que incluye inyectable, como una administración intravenosa, con dosis individuales apropiadas para el paciente que va a ser tratado.

35 Las composiciones según la invención pueden ser sólidas como líquidas o en la forma de un gel/ crema y estar

- 5 presente en las formas farmacéuticas comúnmente usadas en medicina humana como, por ejemplo, comprimidos simples o revestidos con azúcar, cápsulas de gelatina, gránulos, supositorios, preparaciones inyectables, ungüentos, cremas o geles; se preparan según métodos habituales. El ingrediente/s puede ser incorporado usando excipientes que son habitualmente usados en estas composiciones farmacéuticas, como talco, goma arábica, lactosa, almidón, estearato de magnesio, vehículos acuosos o no acuosos, sustancias grasas de origen animal o vegetal, derivados de parafina, glicoles, diversos agentes humectantes, dispersantes o emulsionantes o conservantes. Estas preparaciones pueden estar presentes también en la forma de un polvo destinado a ser disuelto de forma extemporánea en un vehículo adecuado, por ejemplo, agua esterilizada no pirógena.
- 10 En una realización, la composición farmacéutica comprende adicionalmente un agente de solubilización. En una realización adicional, el agente de solubilización es hidroxipropil-beta-ciclodextrina (HPBCD), como HPBCD al 20%. La HPBCD es un excipiente para fármacos parenterales bien conocido y proporciona la ventaja de ser bien tolerado en animales.
- En una realización, la composición farmacéutica comprende adicionalmente un agente isotónico. En una realización adicional, el agente isotónico es glucosa, como monohidrato de glucosa al 1%.
- 15 En una realización, la composición farmacéutica comprende adicionalmente un diluyente. En una realización adicional, los diluyentes comprenden agua, como agua QS.
- La dosis administrada varía según el estado tratado, el paciente en cuestión, la vía de administración y el producto previsto. Por ejemplo, puede estar comprendida entre 0,01 g y 10 g por día, mediante vía oral o mediante vía intramuscular o intravenosa en seres humanos.
- 20 Dichas composiciones son particularmente útiles para tratar infecciones humanas o animales por agentes microbianos como *Staphylococcus aureus* que incluyen cepas multirresistentes, *Acinetobacter baumannii*, *Bacillus anthracis*, *Chlamydomphila pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Helicobacter pylori*, *Klebsiella pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *S. intermedius*, *P. multocida*, *B. bronchiseptica*, *M. haemolytica* y *A. pleuropneumoniae* y también bacterias como *Mycobacterium tuberculosis* otros organismos como *Plasmodium falciparum*.
- 25 Dichas composiciones pueden ser útiles en una terapia múltiple, en combinación otros medicamentos, por ejemplo, con antibióticos. Se apreciará que esta terapia múltiple puede comprender normalmente una composición que comprende el compuesto de fórmula (I) que comprenda adicionalmente uno o más de otros medicamentos, como antibióticos o una co-administración (es decir, administración secuencial o simultánea).
- 30 La invención se refiere también a un compuesto de fórmula (I) como se define con anterioridad para ser usado en el tratamiento de infecciones microbianas.

Ejemplos

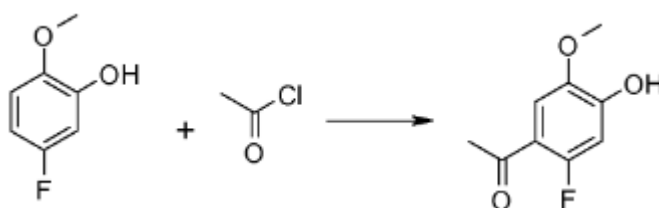
35 Se registraron espectros de resonancia magnética nuclear protónica (^1H RMN) en un instrumento Brüker de 400 MHz y los desplazamientos químicos se expresan en partes por millón campo abajo del tetrametilsilano (TMS) estándar interno. Las abreviaturas para los datos de RMN son como siguen: s = singlete, d= doblete, t = triplete, q = cuadruplete, m = multiplete, dd = doblete de dobletes, dt = doblete de tripletes, br = ancho. J indica la constante de acoplamiento de RMN medida en hercios. CDCl_3 es deuterocloroformo, DMSO-d_6 es hexadeuterodimetilsulfóxido y CD_3OD es tetradeuterometanol. Los espectros de masas se obtuvieron usando la técnica de ionización por electropulverización (ESI) en un dispositivo Agilent 1100 Series LCMS. Analtech Silica Gel GF y E. Se usaron placas de capa fina Merck Silica Gel 60 F-254 para la cromatografía en capa fina. La cromatografía rápida se llevó a cabo en un cartucho Flashsmart Pack de sílice irregular de 40-60 μm o sílice esférica de 20-40 μm . La cromatografía de capa fina preparativa se llevó a cabo en un dispositivo Analtech Silica Gel GF 1000 μm 20x20 cm.

45 El significado de ciertas abreviaturas se proporciona en el presente documento. ESI se refiere a ionización por electropulverización, M en el contexto de espectrometría de masas se refiere al pico molecular, MS se refiere a espectrómetro de masas, RMN se refiere a resonancia magnética nuclear y TLC se refiere a cromatografía de capa fina.

Los materiales de partida están disponibles en el comercio salvo que se indique otra cosa.

Intermedio 1

1-(2-fluoro-4-hidroxi-5-metoxifenil)etanona (D1)



- 5 A una suspensión de AlCl_3 (1,17 g; 8,79 mmol) en 1,2-dicloroetano (2 ml) se añadió cloruro de acetilo (0,55 g; 7,03 mmol). Después 10 minutos de agitación se añadió gota a gota una solución de 5-fluoro-2-metoxifenol (0,50 g; 3,52 mmol) en 1,2-dicloroetano (2 ml). La mezcla de reacción se agitó durante una noche a 40 °C. La mezcla seguidamente se vertió en agua helada y se extrajo con dietil-éter. Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera, se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron para proporcionar 582 mg (90%) del compuesto del título en forma de un sólido blanco apagado.

- 10 MS (ES) m/e 185(M+H)⁺

TLC: eluyente ciclohexano/ EtOAc 7/3 Rf= 0,23

Intermedio 2 (a través de reducción de Clemensen)

4-Etil-5-fluoroguaiacol (D2)



- 15 Una solución de 1-(2-fluoro-4-hidroxi-5-metoxifenil)etanona (18,0 g; 97,7 mmol; 1 eq; que puede ser preparada como se describe con anterioridad para D1) en ácido acético glacial (800 ml) se agita a 70 °C antes de añadir polvo de zinc (63,9 g; 977 mmol; 10 eq.). La mezcla heterogénea gris resultante se calienta seguidamente a reflujo y se agita durante una noche usando un agitador mecánico. Después de este periodo, el zinc se ha agregado y la velocidad de conversión alcanza un 90% según el análisis ¹H RMN de una parte alícuota en bruto. Por lo tanto, el zinc metálico es separado por filtración en un vidrio fritado y se añade polvo de zinc de nueva aportación (6,4 g; 98 mmol) al filtrado amarillo límpido resultante. La solución se calienta a reflujo durante una noche hasta completar la reacción. La solución se filtra en un vidrio fritado y se basifica hasta que se alcanza un pH 11-12 con una solución acuosa saturada de carbonato de potasio (1,5 l) y con carbonato de potasio sólido adicional si es necesario. La capa acuosa resultante se extrae seguidamente con acetato de etilo (1,0 l), se seca sobre sulfato de sodio o mediante destilación azeotrópica de tolueno, se filtra y se concentra bajo vacío para proporcionar el compuesto del título puro (16,1 g; 94,7 mmol; 97%) en forma de un aceite amarillo pálido. Debe apreciarse que el compuesto del título es un producto volátil y debe ser mantenido en el refrigerador bajo argón fuera de la luz (oscuridad con oxígeno y/o exposición UV).
- 20
- 25

Intermedio 2 (a través de hidrogenación catalítica)

4-Etil-5-fluoroguaiacol (D2)

- 30 A una solución de 1-(2-fluoro-4-hidroxi-5-metoxifenil)etanona (242 mg; 1,30 mmol; que puede ser preparada como se describe con anterioridad para D1) en etanol absoluto (3 ml) bajo argón se vierte ácido sulfúrico al 98% (10 µl; 0,13 mmol) y Pd/C al 10% (137 mg; 0,06 mmol). La mezcla de reacción se barre 3 veces con hidrógeno y se agita 48 h bajo 5 bares de hidrógeno.

- 35 Una filtración sobre Celite, lavado con metanol y concentración del filtrado proporciona el material en bruto que se lava adicionalmente con solución acuosa saturada de NH_4Cl . La extracción de la fase acuosa con acetato de etilo, combinación de las fases orgánicas, secado (Na_2SO_4) y concentración final proporciona 186 mg (84%) del compuesto del título en forma de un aceite amarillo pálido. Debe apreciarse que el compuesto del título es un producto volátil y debe ser mantenido en el refrigerador bajo argón fuera de la luz (oscuridad con oxígeno y/o exposición UV).

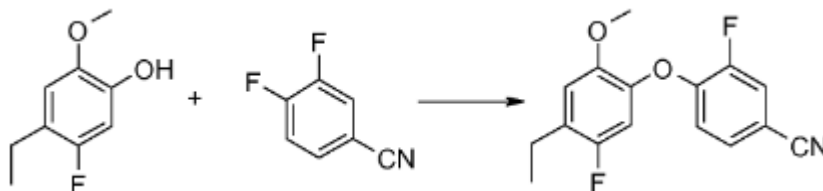
- 40 Respuesta nula o débil en MS.

¹H RMN (DMSO), δ (ppm): 9,20 (bs, 1H), 6,78 (d, J= 3,6 Hz, 1H), 6,54 (d, J= 9 Hz, 1H), 3,73 (s, 3H), 2,50 (q, J= 7,2

Hz, 2H), 1,12 (t, J= 7,4 Hz, 3H)

Intermedio 3

4-(4-etil-5-fluoro-2-metoxifenoxi)-3-fluorobenzonitrilo (D3)



5

Peso molecular = 289,29

Fórmula molecular = C₁₆H₁₃F₂NO₂

10 A una solución de 4-etil-5-fluoroguaiacol (8 g; 47 mmol) y 3,4-difluorobenzonitrilo (6,53 g; 47 mmol; que puede ser preparado como se describió con anterioridad para D2) en 80 ml de acetonitrilo anhidro se añade hidróxido de potasio (3,15 g; 56,4 mmol). La mezcla de reacción bajo atmósfera de argón se agita bajo reflujo durante 16 h. Una concentración, adición de solución acuosa saturada de cloruro de amonio (100 ml), extracción con acetato de etilo (2 x 25 ml), reunificación de las fases orgánicas, lavado con salmuera (100 ml), secado (Na₂SO₄) y concentración final proporciona 12,95 g (95%) del compuesto del título en forma de un sólido marrón.

MS (ES) m/e 290 (M+H)⁺

15 TLC : eluyente ciclohexano/EtOAc 7/3 R_f = 0,74

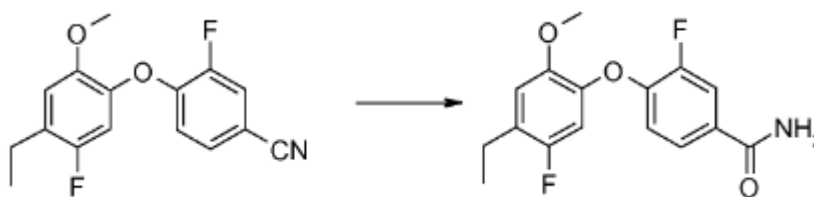
Intermedio 3 (procedimiento alternativo)

4-(4-etil-5-fluoro-2-metoxifenoxi)-3-fluorobenzonitrilo (D3)

20 A 3,4-difluorobenzonitrilo (12,26 g) disuelto en acetonitrilo (10 volúmenes) se añadió 4-etil-5-fluoroguaiacol (15 g; que puede ser preparado como se describió con anterioridad para D2). Seguidamente se añadió hidróxido de potasio (0,33 partes) y la mezcla de reacción se llevó a reflujo durante 7 horas. Una vez que se completó la reacción, la temperatura se rebajó hasta 20 °C, se añadió agua (2,5 volúmenes) y las fases se separaron. La fase orgánica se almacenó a TA (temperatura ambiente) hasta que se usó en la siguiente etapa.

Intermedio 4

4-(4-etil-5-fluoro-2-metoxifenoxi)-3-fluorobenzamida (D4)



25

Peso molecular = 307,30

Fórmula molecular = C₁₆H₁₅F₂NO₃

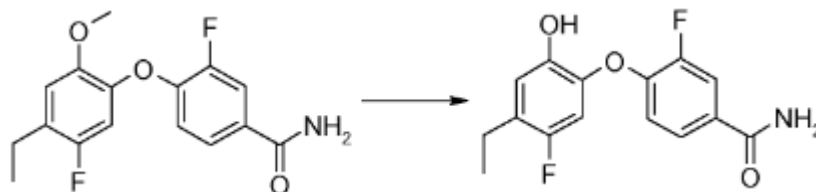
30 A 4-(4-etil-5-fluoro-2-metoxifenoxi)-3-fluorobenzonitrilo (12,95 g; 7,05 mmol; que puede ser preparado como se describió con anterioridad para D3) se añade ácido trifluoroacético (52 ml) y ácido sulfúrico concentrado (13 ml). Después de 1h30 bajo reflujo, la mezcla de reacción se enfría a temperatura ambiente y seguidamente se vierte en agua helada (400 ml). Una extracción con diclorometano (100 ml y seguidamente 2x 25 ml), reunificación de las fases orgánicas, lavado con hidrogenocarbonato de sodio acuoso saturado (250 ml, pH= 8-8,5), secado (Na₂SO₄) y concentración final proporcionan 13,31 g (96%) del compuesto del título en forma de un sólido blanco apagado.

MS (ES) m/e 294 (M+H)⁺

35 TLC : eluyente diclorometano/ metanol 9/1 R_f = 0,3

Ejemplo 1

4-(4-etil-5-fluoro-2-hidroxifenoxi)-3-fluorobenzamida (E1)



Peso molecular = 293,27

Fórmula molecular = C₁₅H₁₃F₂NO₃

5

A 4-(4-etil-5-fluoro-2-metoxifenoxi)-3-fluorobenzamida (13,31 g, 4,59 mmol; que puede ser preparado como se describió con anterioridad para D4) en 130 ml de diclorometano bajo argón a -78 °C bajo agitación intensa se añade durante 15-20 minutos tribromuro de boro (130 ml a 1 M en diclorometano). La mezcla de reacción se calienta a temperatura ambiente bajo agitación y después de 3 h se vuelve a enfriar a -20 °C para una inactivación con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio (100 ml). Se realiza una concentración parcial para separar 170 ml de diclorometano. Se añaden 100 ml de acetato de etilo. Una extracción de la fase acuosa (2 x 25 ml de acetato de etilo), reunificación de las fases orgánicas, lavado con hidrogenocarbonato de sodio acuoso (200 ml a 1 N), secado (Na₂SO₄) y concentración final proporciona el material en bruto que se purifica sobre gel de sílice (gradiente de diclorometano/ metanol: 100/0 → 95/5) para proporcionar el compuesto del título, 8,75 g (68%).

15 MS (ES) m/e 294 (M + H)⁺TLC: eluyente de diclorometano/ metanol 20/1 R_f = 0,4

¹H RMN (DMSO), δ (ppm): 9,59 (s, 1H; OH); 7,95 (bs, 1H; NH); 7,80 (d, 1H, J = 12,2 Hz); 7,63 (d, 1H, J = 8,3 Hz); 7,40 (bs, 1H; NH); 6,96 (d, 1H, J = 9,8 Hz); 6,87 (d, 1H, J = 7,9 Hz); 6,78 (t, 1H, J = 8,2 Hz); 2,56 (q, 2H, J = 7,4 Hz); 1,17 (t, 3H, J = 7,3 Hz).

20 Ejemplo 1 (procedimiento alternativo)

4-(4-etil-5-fluoro-2-hidroxifenoxi)-3-fluorobenzamida (E1)

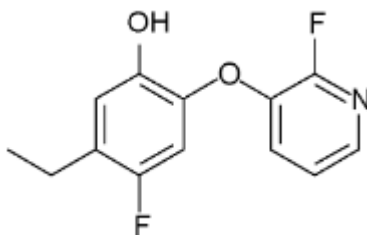
La solución de 4-(4-etil-5-fluoro-2-metoxifenoxi)-3-fluorobenzonitrilo (que puede ser preparada como se describió con anterioridad para D3) en acetonitrilo se destiló parcialmente bajo presión atmosférica hasta 6,4 volúmenes residuales. Seguidamente se añadieron 7 volúmenes de ácido acético y la solución se destiló bajo presión atmosférica hasta 6,4 volúmenes residuales. Se añadió 1 volumen adicional de ácido acético y la solución se destiló nuevamente bajo presión atmosférica hasta 6,4 volúmenes residuales. Se añadió ácido sulfúrico (6 volúmenes en total) y la mezcla de reacción se agitó a 120 °C durante 5 horas. Una vez que se completó la reacción, la temperatura se rebajó hasta 20 °C y se añadieron diclorometano (10 volúmenes) y agua (8 volúmenes). A esta temperatura, se añadieron también clarcel (0,5 partes) y carbón (0,5 partes) y la mezcla resultante se agitó durante 30 minutos. La mezcla se filtró y la torta intermedia se lavó tres veces con 2 volúmenes de diclorometano cada vez. Las fases resultantes se separaron y la fase acuosa se volvió a extraer dos veces con 3 volúmenes de diclorometano. Las fases orgánicas combinadas se destilaron parcialmente bajo presión atmosférica hasta 14,5 volúmenes residuales y añadió metil-ciclohexano (22 volúmenes) a 37 °C ± 2 °C. A esta solución se añadió bicarbonato de sodio (10%) (1 volumen). Se observó una cristalización instantánea. La suspensión se enfrió a 0 °C, se filtró, se lavó dos veces con 2 volúmenes de metil-ciclohexano a TA y se secó a 40 °C bajo vacío para proporcionar la 4-(4-etil-5-fluoro-2-hidroxifenoxi)-3-fluorobenzamida en bruto.

La 4-(4-etil-5-fluoro-2-hidroxifenoxi)-3-fluorobenzamida en bruto se disolvió en 7 volúmenes de isopropanol y 1 volumen de agua a 60 °C para llevar a cabo una filtración en un cartucho de zetacarbone. Seguidamente el cartucho se lavó dos veces con 1 volumen de isopropanol. Se añadió agua (12,5 volúmenes) a esta solución y la mezcla se enfrió a 10 °C/h hasta 5 °C. El producto se filtró, se lavó dos veces con agua (2 volúmenes cada vez) a TA y se secó bajo vacío a 70 °C para proporcionar 4-(4-etil-5-fluoro-2-hidroxifenoxi)-3-fluorobenzamida pura con un rendimiento global de 36,5% en una pureza de HPLC de 99,6%.

40

Ejemplo comparativo 2

5-etil-4-fluoro-2-(2-fluoropiridin-3-iloxi)fenol (E2)



El compuesto del título (E2) se puede preparar como se describe en el Ejemplo 87 del documento WO 2007/135562.

5 Ejemplo 3

Composición farmacéutica que comprende el Ejemplo 1

Se disolvió el Ejemplo 1 en HPBCD al 20% en una solución de glucosa al 1% a una concentración de 10 mg de Ejemplo 1/ml y se rellenó en viales de 30 ml. La composición específica del Ejemplo 3 es como sigue:

Ejemplo 1:300 mg/vial

10 Monohidrato de glucosa:330 mg/vial

HPBCD:6.000 mg/vial

Agua para inyecciónCS 30,00 ml

Los siguientes datos se obtuvieron para el compuesto del Ejemplo 1:

1. Inhibición de FabI

15 El compuesto de la invención es un inhibidor útil de enzima FabI bacteriana.

La actividad inhibidora del compuesto de la enzima FabI se mide *in vitro* mediante la determinación de la IC₅₀ usando un ensayo basado en fluorescencia.

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

20 La actividad bioquímica de la enzima FabI se valora usando el siguiente método.

El tampón de ensayo "AB" contenía ADA 50 mM (sal de monosodio de ácido N-(2-acetamido)iminodiacético), pH 6,5, ditiotreitól 1 mM, 0,006% de Triton-X100 y NaCl 50 mM. Se añaden los siguientes componentes en una placa Costar de poliestireno (Ref 3912) hasta un volumen final de 55,5 µl: 1,5 µl de DMSO o inhibidor disuelto en DMSO y 54 µl de una mezcla de FabI/ NADPH/ NADP⁺ en AB. Después de 60 minutos de preincubación a temperatura ambiente, se comienza la reacción mediante la adición de 5 µl de tioéster de trans-2-octenoi-n-acetil-cisteamina (t-o-NAC) hasta un volumen final de 60,5 µl. Esta mezcla de reacción está así compuesta por FabI 2 nM, NADPH 40 µM (Sigma, N7505), NADP⁺ 10 µM (Sigma, N5755), t-o-NAC 100 µM y un compuesto a concentración definida. La intensidad de la fluorescencia de NADPH (λ_{ex}= 360 nm, λ_{em}= 520 nm) se mide inmediatamente después de la adición de t-o-NAC (T0) y aproximadamente 50 minutos después (T50) mediante un dispositivo Fluostar Optima (BMG) con el fin de conseguir una conversión de NADPH de ±30%. La actividad enzimática se calcula sustrayendo la señal T0 de T50 y sustrayendo seguidamente la señal de fondo (FabI= 0). Los porcentajes de inhibición se calculan frente a muestras no tratadas (inhibidor=0) y la IC₅₀ se ajusta a un modelo de equilibrio de Langmuir clásico usando XLFIT (IDBS).

35 Tabla 1: Inhibición *in vitro* de *S. aureus* recombinante y enzima FabI de *E. coli* mediante los compuestos del Ejemplo 1 y Ejemplo Comparativo 2

Inhibición de FabI IC ₅₀ (µM)	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
Ejemplo 1	0,012-0,014	0,058-068
Ejemplo Comparativo 2	0,008-0,017	0,019-0,065

Los intervalos mostrados en la Tabla 1 indican los resultados a partir de un cierto número de tandas.

2. Actividad antibacteriana

5 El compuesto de la invención es un agente antibacteriano útil que tiene un espectro selectivo de actividad *in vitro* contra cepas bacterianas que se relacionan con FabI y dianas relacionadas. Especialmente, el compuesto de la invención muestra actividad contra *Staphylococcus aureus* que incluye cepas multirresistentes. La actividad se presenta en forma de concentración inhibitoria mínima (MIC) expresada en µg/ml y se determinó usando microdilución en cultivo o métodos de dilución en agar.

Cepas

10 La actividad antibacteriana se determinó sobre MSSA CIP 54.146 proporcionado por la entidad Centre de Ressources Biologiques de l'Institut Pasteur.

Determinación de la MIC usando el método de microdilución de caldo

15 El protocolo es congruente con la metodología de la entidad Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) como se describe en el documento M7-A7 del CLSI. El compuesto que va a ser ensayado se diluye según una serie geométrica de razón 2 en DMSO puro. Las diluciones se transfieren a microplacas de poliestireno esterilizadas, seguidamente de bacterias de fase mid-log en caldo Muller-Hinton con ajuste catiónico (ca-MHB, Fluka, Referencia 90922) con un inóculo final de 5×10^5 cfu/ml. Las microplacas se incuban durante una noche a 35 °C. La MIC se define como la concentración más baja de agente antimicrobiano que previene completamente el crecimiento bacteriano visible. Todas las manipulaciones, excepto el manejo del compuesto (en DMSO puro), se realizan bajo condiciones esterilizadas. La concentración final de DMSO es de 2%.

20 Tabla 2: MIC (µg/ml) (microdilución de caldo del Ejemplo 1 y Ejemplo Comparativo 2)

Ejemplo	<i>S. aureus</i> CIP 54.146
Ejemplo 1	0,063-0,125
Ejemplo Comparativo 2	0,063

Los intervalos mostrados en la Tabla 2 indican los resultados a partir de un cierto número de tandas.

3. Solubilidad

25 Una de las ventajas clave del compuesto de la invención con respecto a otros compuestos inhibidores de FabI es combinar una excelente actividad *in vitro* e *in vivo* con una buena solubilidad. Los datos generados muestran que el Ejemplo 1 es favorable comparativamente en términos de solubilidad acuosa pura así como de solubilidad formulada respecto al Ejemplo Comparativo 2, un compuesto relacionado que muestra una actividad antibacteriana *in vitro* similar.

30 Para cada medio, la saturación del medio se obtiene añadiendo un exceso de compuesto investigado a un volumen dado de medio de ensayo. La suspensión se agita a 20 °C durante 24 h, seguidamente la materia sobrenadante se aísla y se diluye para permitir su inyección en un sistema cromatográfico. La concentración del compuesto en solución para cada medio se determina mediante una estandarización externa. Los resultados de la solubilización se muestran en las Tablas 3 y 4.

Tabla 3: Solubilidad acuosa en tampón de pH 7,4:

Compuesto	Solubilidad (µg/ml)
Ejemplo 1	16
Ejemplo Comparativo 2	8

35 Los resultados de la Tabla 3 muestran que el compuesto de la invención es dos veces más soluble en tampón de pH 7,4 que el Ejemplo Comparativo 2.

La solubilidad se investigó también en solución acuosa de hidroxipropil-beta-ciclodextrina al 20% con dextrosa al 5% y los resultados se muestran en la Tabla 4.

40 Tabla 4: Solubilidad formulada en una solución acuosa de hidroxipropil-beta-ciclodextrina al 20% con dextrosa al 5%:

Compuesto	Solubilidad (µg/ml)
Ejemplo 1	11,3
Ejemplo Comparativo 2	2,4

5 Los resultados de la Tabla 4 muestran que el compuesto de la invención es casi 5 veces más soluble que el compuesto del Ejemplo Comparativo 2. Por tanto, los resultados mostrados en la presente memoria descriptiva describen que el Ejemplo 1 retiene sustancialmente la potencia antibacteriana mostrada por el Ejemplo Comparativo 2 pero tiene adicionalmente una solubilidad mejorada.

4. Estudio de dosis única ascendente de seguridad, tolerancia, características farmacocinéticas y farmacodinámicas del compuesto del Ejemplo 1

(a) Objetivos

10 El objetivo principal de este estudio será valorar la seguridad y tolerancia de dosis intravenosas únicas ascendentes (SAD) en sujetos adultos sanos. El objetivo secundario de este estudio será determinar los perfiles preliminares farmacocinéticos y farmacodinámicos (actividad antibiótica en suero *ex vivo*) del compuesto del Ejemplo 1.

(b) Diseño del estudio

15 El estudio será al azar, doblemente a ciegas, controlado con testigo de placebo, con dosis únicas ascendentes secuenciales en pacientes/ fuera de pacientes en 7 agrupaciones de sujetos (para las dos primeras dosis: 3 activos y 1 placebo, para otros grupos 6 activos y 2 placebos, siguiendo una disposición al azar 3:1).

Esquema de seguridad: solamente 2 sujetos pudieron ser dosificados el mismo día para los cuatro primeros sujetos. Los cuatro sujetos restantes (para los grupos 3 a 7) pudieron ser dosificados el mismo día. No obstante, el intervalo entre cada sujeto será de al menos de 10 minutos.

20 Dependiendo de los resultados de seguridad, pueden ser exploradas agrupaciones adicionales o puede ser modificado el progreso de las dosis (nivel de dosis intermedia).

(c) Número de sujetos y duración del estudio

25 Fue reclutado un número suficiente de sujetos para permitir que hubiera 48 sujetos completados en SAD. Cada sujeto participará solamente en un grupo de dosis. Los sujetos se seleccionaron a partir de voluntarios machos sanos de 18 a 40 años de edad, con un peso corporal = 50 kg y con un índice de masa corporal (BMI) calculado como peso en kg/(altura en m²) de 18 a 30 kg/m² en la selección.

Cada sujeto participará en el estudio durante un máximo de 3,5 semanas. La participación incluirá una evaluación de la selección en las 3 semanas anteriores a la administración de la formulación del Ejemplo 3 y un periodo entre pacientes de 3 días/2 noches (es decir, aproximadamente 36 horas). La evaluación final del estudio se realizó 72 horas después de la dosificación.

30 Se estima que cada una de las partes clínicas (parte 1 y parte 2) del estudio se completará en aproximadamente 2 meses.

(d) Fármaco del estudio, dosificaciones y administración

El fármaco de estudio propuesto, las dosificaciones y la administración son como se muestra en la Tabla 5.

Tabla 5: dosis y modo de administración

Nombre	Dosis (mg)	Modo de administración
Formulación del Ejemplo 3	10 mg od, 50 mg od, 100 mg od, 300 mg od, 600 mg od, 900 mg od, 1.200 mg od	Una vez al día, por vía intravenosa utilizando bombas de infusión a un caudal permanente de 1 ml/min
Placebo	n/a	Por vía intravenosa usando bombas de infusión a un caudal permanente de 1 ml/min

35

(e) Referencia de tiempos para las valoraciones

Todos los valores del tiempo están indicados con referencia al final de la infusión Hend (es decir, Hend +0,5 se realiza 30 minutos después del final de la infusión).

Las dosis previas se refieren al valor del tiempo inmediatamente anterior al comienzo de la infusión, las intermedias se refieren al valor del tiempo a mitad de camino durante la administración, se registran tanto el tiempo de comienzo como el tiempo final de la infusión.

(f) Evaluación de la seguridad

- 5 La seguridad será evaluada a partir de los indicios y síntomas informados, descubrimientos de los exámenes físicos programados, mediciones de signos vitales, ámbito cardiaco, lecturas del ECG digital de 12 derivaciones y resultados de ensayos clínicos de laboratorio.

La tolerancia local de infusión IV se valorará usando una escala de flebitis, infiltración y escalas de Likert.

- 10 Los sujetos accederán a la unidad aproximadamente 14 o 12 horas con anterioridad a la administración del fármaco. Seguidamente permanecerán en la unidad clínica bajo supervisión médica permanente y cuidados de enfermería 24 horas después del final de la infusión.

(g) Características farmacocinéticas

Se obtendrán muestras de sangre (15 ml) y orina (25 ml) para la determinación del perfil farmacocinético de los compuestos del Ejemplo 1 y sus metabolitos.

- 15 Grupos 1 a 7: muestras de sangre para determinaciones analítica en el día 1: dosis previa, toma de muestras intermedias (a mitad de camino de la infusión, excepto para el grupo 1 debido a la baja duración de la infusión), al final de la infusión Hend y seguidamente Hend +0,5, +1, +2, +4, +6, +9, +12, +24, +48 y Hend +72 horas después del final de la infusión. La recogida de orina para las mediciones analíticas de la dosis previa a H0 y seguidamente desde H0 hasta Hend +24, desde Hend +24 hasta Hend +48.

- 20 Todas las muestras farmacocinéticas deben ser almacenadas a -80 °C antes de las determinaciones analíticas.

(h) Características farmacogenéticas

Se recogerá una muestra de sangre adicional (5 ml) para posibles estudios farmacogenéticos futuros relacionados con la absorción, distribución, metabolismo y/o excreción del compuesto del Ejemplo 1. Esta muestra es obligatoria y se recogerá antes de la dosificación (es decir, el día 1 dentro de 1 hora antes de la dosificación).

- 25 (i) Evaluación posterior al estudio

72 horas después de la dosificación (final), se evaluará un examen clínico, signos vitales, ECG digital de 12 derivaciones, y ensayos de laboratorio rutinarios.

A continuación de la compleción del estudio, se aplicará un periodo de exclusión de 3 meses al sujeto antes de que se le permita tomar parte en otra prueba clínica.

- 30 (j) Análisis estadístico

Los parámetros farmacocinéticos PK de dosis única serán derivados del tiempo de concentración en plasma y de los datos de excreción urinaria.

Se usará un método PK compartimental o no compartimental para analizar las concentraciones en plasma y orina del compuesto del Ejemplo 1 y sus metabolitos.

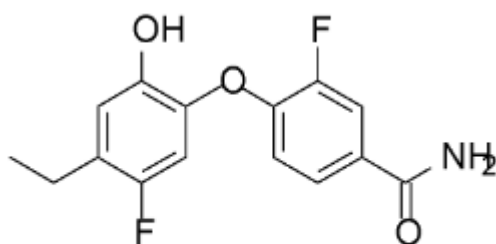
- 35 Los parámetros farmacodinámicos se expresarán en cfu/ml y el cálculo del área bajo la curva del título bacteriostático y bajo la curva del título bactericida (para tasas de destrucción de 90, 99 y 99,9%).

Para los criterios de seguridad, se proporcionarán estadísticas descriptivas para cada grupo de dosis. La descripción de valores potencialmente significativos clínicamente se realizará mediante grupo de dosis para signos vitales, parámetros del ECG y química de la sangre y parámetros de hematología.

- 40 La descripción de acontecimientos adversos y acontecimientos adversos surgidos del tratamiento se realizarán por grupo de dosis.

REIVINDICACIONES

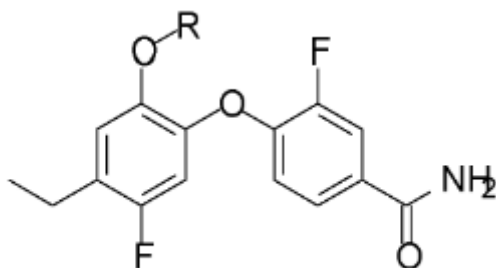
1. Un compuesto de fórmula (I)



(I)

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

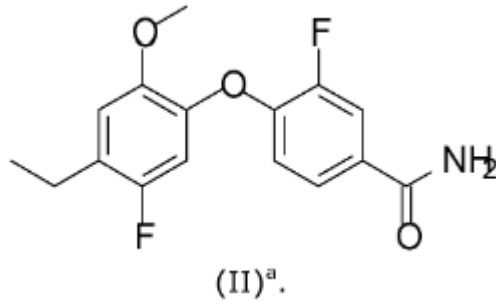
- 5 2. Un compuesto de fórmula (I) como se define en la reivindicación 1, que es 4-(4-etil-5-fluoro-2-hidroxifenoxi)-3-fluorobenzamida.
3. Una composición farmacéutica, que comprende un compuesto de fórmula (I) como se define en la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en asociación con un excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 10 4. Una composición farmacéutica como se define en la reivindicación 3, que comprende adicionalmente un agente de solubilización como HPBCD, en particular HPBCD al 20%.
5. Una composición farmacéutica como se define en la reivindicación 3, que comprende adicionalmente un agente isotónico como glucosa, en particular monohidrato de glucosa al 1%.
6. Una composición farmacéutica como se define en cualquiera de las reivindicaciones 3 a 5, formulada para ser administrada bajo las vías oral, tópica o parenteral que incluye la inyectable.
- 15 7. Una composición farmacéutica como se define en cualquiera de las reivindicaciones 3 a 6, que comprende uno o más de otros medicamentos, por ejemplo, antibióticos.
8. Un compuesto de fórmula (I) como se define en la reivindicación 1 o la reivindicación 2, para ser usado en terapia.
9. Un compuesto de fórmula (I) como se define en la reivindicación 1 o la reivindicación 2, para ser usado en el tratamiento de una infección microbiana.
- 20 10. Un compuesto para ser usado según la reivindicación 9, en que dicha infección microbiana es una infección humana o animal por agentes patógenos microbianos como *Staphylococcus aureus* que incluyen cepas multirresistentes como cepas de *Staphylococcus aureus* susceptible a meticilina (MSSA), *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA), *Staphylococcus aureus* intermedio de vancomicina (VISA) y *Staphylococcus aureus* resistente a vancomicina (VRSA), *Acinetobacter baumannii*, *Bacillus anthracis*, *Chlamydomphila pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Helicobacter pylori*, *Klebsiella pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *S. intermedius*, *P. multocida*, *B. bronchiseptica*, *M. Haemolytica* y *A. pleuropneumoniae* y también bacterias como *Mycobacterium tuberculosis* u otros organismos como *Plasmodium falciparum*.
- 25 11. Un compuesto como se define en la reivindicación 10, en que dicha infección microbiana es una infección humana o animal por *Staphylococcus aureus* que incluye cepas multirresistentes como *Staphylococcus aureus* susceptible a meticilina (MSSA), *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA), *Staphylococcus aureus* intermedio de vancomicina (VISA) y *Staphylococcus aureus* resistente a vancomicina (VRSA).
- 30 12. Un procedimiento para preparar el compuesto de fórmula (I) como se define en la reivindicación 1 o la reivindicación 2, que comprende la desalquilación de un compuesto de fórmula (II)



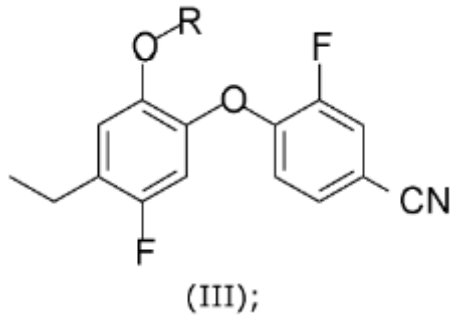
(II);

en la que R representa un grupo alquilo C₁₋₆, como metilo.

13. Un intermedio de fórmula (II)^a:



5 14. Un procedimiento para preparar el compuesto de fórmula (I) como se define en la reivindicación 1 o la reivindicación 2, que comprende un tratamiento ácido de un compuesto de fórmula (III)



en la que R representa un grupo alquilo C₁₋₆, como metilo.

15. Un intermedio de fórmula (III)^a:

