

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 606 168**

51 Int. Cl.:

C07D 233/56 (2006.01) **C07D 233/22** (2006.01)

C07D 257/06 (2006.01) **C07D 403/12** (2006.01)

A61K 31/4174 (2006.01)

A61K 31/4196 (2006.01)

C07C 15/14 (2006.01)

A61P 31/04 (2006.01)

A61P 31/10 (2006.01)

A61P 33/02 (2006.01)

C07D 249/08 (2006.01)

C07C 22/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.08.2010 PCT/BR2010/000276**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.03.2011 WO11022798**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.08.2010 E 10811042 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.09.2016 EP 2471781**

54 Título: **Compuestos bencil aralquil éter, método para preparar los mismos, compuestos intermedios, uso de dichos compuestos, procedimiento para el tratamiento y/o prevención, composición farmacéutica y medicamento que contiene la misma**

30 Prioridad:

28.08.2009 BR 0904249

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

23.03.2017

73 Titular/es:

**BIOLAB SANUS FARMACÉUTICA LTDA (100.0%)
Av. Paulo Ayres, 280 Vila Iasi
06767-220 Taboá da Serra - SP, BR**

72 Inventor/es:

**KEPPLER, ARTUR FRANZ;
SACURAI, SÉRGIO LUIZ;
ZAIM, MARCIO HENRIQUE y
TOUZARIM, CARLOS EDUARDO DA COSTA**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

Observaciones :

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

ES 2 606 168 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Compuestos bencil aralquil éter, método para preparar los mismos, compuestos intermedios, uso de dichos compuestos, procedimiento para el tratamiento y/o prevención, composición farmacéutica y medicamento que contiene la misma

Campo de la invención

La presente invención se refiere a compuestos que son los aralquil bencil éteres descritos en la fórmula (I), sus enantiómeros, sus diastereoisómeros, ésteres, sus sales farmacéuticamente aceptables, sus solvatos farmacéuticamente aceptables, y/o mezclas de los mismos en cualquier proporción de estos compuestos y/o derivados, a procesos para la preparación de estos compuestos, compuestos intermedios, composiciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos y/o derivados, medicamentos que incluyen dichos compuestos y/o derivados, así como a estos compuestos y/o derivados para su uso en el tratamiento y/o prevención de afecciones y/o enfermedades causadas por microorganismos, tales como hongos, bacterias y/o protozoos, para la inhibición de la proliferación y/o supervivencia de dichos microorganismos, para el tratamiento y/o prevención de la colonización de microorganismos en un individuo, y para la fabricación de un medicamento.

La presente invención también se refiere a compuestos de aralquil bencil éteres descritos en la fórmula (I) y, más particularmente, compuestos 1-[2-(2,4-diclorofenil)-2-[[4-(trifluorometil)bencil]oxi]etil]-1H-imidazol para su uso en el método de tratamiento y/o prevención de afecciones en un mamífero causadas por hongos y/u otros microorganismos, tales como bacterias y protozoos.

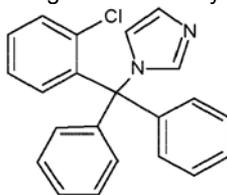
La presente invención incluye compuestos de aralquil bencil éter descritos en la fórmula (I) y mezclas de los mismos en cualquier proporción, sus sales farmacéuticamente aceptables, y composiciones farmacéuticas que los contienen. Más particularmente, la presente invención se refiere al uso de compuestos de aralquil bencil éter descritos en la fórmula (I) y, más particularmente, el compuesto 1-[2-(2,4-diclorofenil)-2-[[4-(trifluorometil)bencil]oxi]etil]-1H-imidazol como antifúngicos fungistáticos y/o fungicidas.

FUNDAMENTOS DE LA INVENCION

Los compuestos azol son los agentes principales usados en la medicina clínica para el tratamiento y/o prevención de afecciones y/o enfermedades asociadas a hongos.

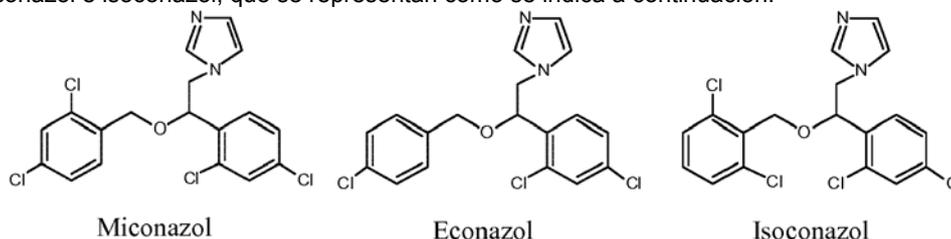
La acción antifúngica de los agentes azol se produce comúnmente a través de la inhibición de ergosterol (*ergosta-5,7,22-trien-3 β -ol*) mediante la inhibición de las proteínas implicadas en la biosíntesis del mismo, tales como: (a) la enzima lanosterol 14-alfa-desmetilasa que pertenece a la familia del citocromo p450 y se codifica por el gen ERG11, y (b) delta²² desaturasa (codificada por el gen ERG5). El ergosterol es un precursor de esterol de la vitamina y un componente estructural de la membrana celular fúngica, que también puede encontrarse en otros microorganismos, tales como protozoos y bacterias.

El documento U.S. 3.705.172 (Bayer), publicado el 05/12/1972, se refiere a compuestos de N-tritil-imidazol entre los que el compuesto clotrimazol representado estructuralmente a continuación, usado en la práctica médica para el tratamiento tópico de dermatofitos, levaduras y hongos dimórficos y filamentosos.

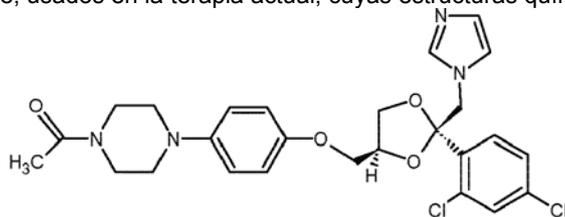


Clotrimazol

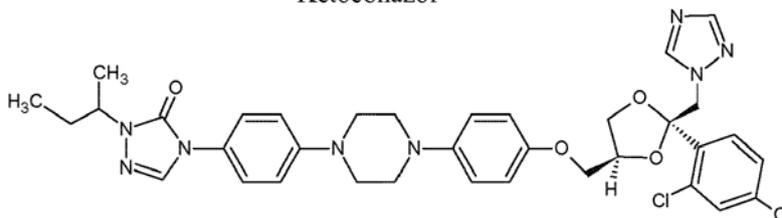
El documento US 3.717.655 (Janssen), publicado el 20/02/1973, se refiere a derivados de aminas o ariletil-imidazol éteres, que se introducen en fármacos antifúngicos de la práctica médica usados hasta hoy en día, tales como miconazol, econazol e isoconazol, que se representan como se indica a continuación:



Los documentos de patente US 4.144.346 (13/03/1979) y US 4.267.179 (12/05/1981), ambos de Janssen, describen componentes antifúngicos derivados de (dioxolan)imidazoles entre los que se encuentran los fármacos ketoconazol e itraconazol, respectivamente, usados en la terapia actual, cuyas estructuras químicas se muestran a continuación:



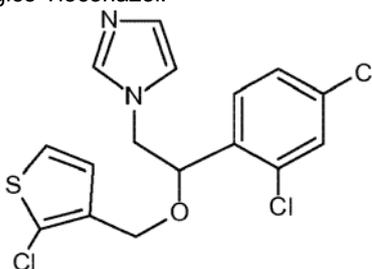
Ketoconazol



Itraconazol

5

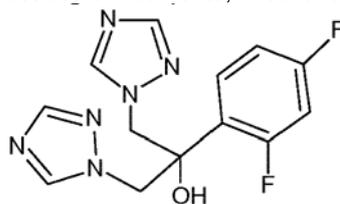
El documento US 4.062.966 (Pfizer) publicado el 12/13/1977 con respecto a nuevos éteres de derivados de (aril etil)imidazol, describe el fármaco antifúngico Tioconazol.



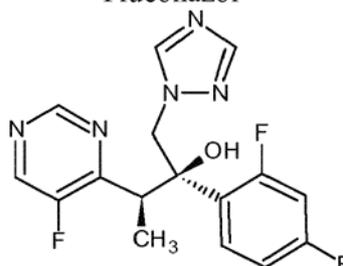
Tioconazol

10

Los compuestos antifúngicos bis-triazol y triazol se describen en el documento de patente US 4.400,219 (Pfizer), publicado el 13/09/1983, y en el documento de patente US 5.278.175 (Pfizer), publicado el 11/01/1994, se desvelan, respectivamente, los agentes antifúngicos usados clínicamente, fluconazol y voriconazol:



Fluconazol



Voriconazol

15

Güven y col., Biorganic and Medicinal Chemistry Letters, 17(2007), 2233-2236 describe la síntesis de una serie de éteres bencílicos sustituidos con fenilo y bencimidazol y su evaluación para actividades antibacterianas antifúngicas

contra *Staphylococcus aureus*, *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA) *Escherichia coli*, *Candida albicans* y *Candida krusei*.

5 Wahbi y col., Eur. J. Med. Chem. (1995, 30), 995-962 se refiere a la síntesis de éteres aromáticos relacionados con los antifúngicos azol Miconazol y ensayados contra diversas cepas de *Candida*.

El documento FR 2334676 desvela triazol éteres para su uso como fungicidas.

10 El documento DE 1940388 desvela la fabricación de 1-(β -aril)etil-imidazol éteres y aminas y su uso como compuestos antifúngicos y antibacterianos.

Fioravanti y col., Med. Chem. Res., 9:3, (1999), 162-175 desvelan análogos de Miconazol y su análisis *in vitro* para determinar la actividad antifúngica y antimicrobacteriana.

15 Nadi y col. Arzneim. -Forsch./Drug Res. 31(II) N.º 12 (1981) desvelan nuevos alfa-aril- β , N-imidazolil etil, bencil y naftilmetil éteres con actividad antimicótica y antibacteriana.

20 El documento EP 0666077 se refiere a derivados de imidazol para su uso en la prevención de infecciones por MRSA.

Es interesante destacar que la exposición prolongada y repetida de las cepas de hongos a agentes antifúngicos puede dar como resultado la resistencia de estas cepas frente a la acción de estos agentes reduciendo la eficiencia de los mismos. Se define como cepa una variante génica específica de un microorganismo.

25 Dicha resistencia puede ser el resultado de diferentes mecanismos, tales como, pero sin limitación: (a) modificación a nivel molecular del gen ERG11, (b) sobreexpresión de bombas de flujo de fármacos específicas, tales como CDR (resistencia dependiente de confluencia) y MDR (resistencia a drogas múltiples), (c) modificación de la biosíntesis del esterol, y (d) reducción en la concentración intracelular de enzimas diana.

30 El problema de resistencia se vuelve más relevante dentro del contexto epidemiológico actual de las enfermedades causadas por hongos. Se ha observado en las últimas décadas un aumento significativo de la incidencia mundial de las infecciones causadas por hongos en los seres humanos. La mayor parte de este aumento es atribuida a la supervivencia prolongada de los pacientes inmunocomprometidos y el uso frecuente y/o crónico de los agentes antimicrobianos.

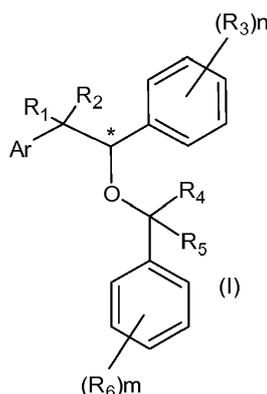
35 Por lo tanto, la mayoría de los pacientes susceptibles a estas infecciones son aquellos que presentan una función inmune debilitada, tanto directamente debido a la inmunosupresión causada por el uso de fármacos citotóxicos o la infección por VIH, como secundariamente a otras enfermedades debilitantes tales como cáncer, leucemia aguda, técnicas quirúrgicas invasivas o exposición prolongada a agentes antimicrobianos.

40 Particularmente, la amplia propagación de infecciones por VIH contribuye al aumento de infecciones oportunistas causadas por hongos que son inofensivos para individuos sanos, pero que se vuelven patógenos debido a la defensa inmune debilitada de los pacientes infectados por VIH.

45 Por lo tanto, considerando el actual contexto epidemiológico de las infecciones causadas por estos microorganismos y la aparición de cepas patógenas resistentes a los fármacos antifúngicos usados actualmente, se torna evidente el interés en el desarrollo de nuevos compuestos. Es deseable el desarrollo de un compuesto de actividad antifúngica de amplio espectro considerando las cepas y/o especies de hongos no resistentes y/o resistentes a fármacos ya conocidos.

50 Descripción de la invención

55 La presente invención tiene el objetivo de proporcionar nuevos compuestos que sean útiles para tratar enfermedades y/o afecciones asociadas a microorganismos, tales como hongos, bacterias y/o protozoos, que son aralkil bencil éteres, cuya estructura química se muestra en fórmula (I):



en la que:

- 5 Ar es imidazolilo;
 R₁, R₂, R₄ y R₅ son independientemente hidrógeno;
 R₃ es halógeno;
 R₆ es trifluorometilo o triclorometilo;
 n es un número entero de 0 a 2;
 10 m es 1.

La presente invención también incluye sales, solvatos y ésteres farmacéuticamente aceptables de los compuestos descritos por la fórmula (I), así como sus enantiómeros y/o diastereómeros farmacéuticamente aceptables, sales y mezclas de los mismos en cualquier proporción.

Otro objetivo de esta invención es proporcionar un proceso para la preparación de compuestos de aralkil bencil éteres descritos en la fórmula (I), así como a sus compuestos intermedios usados en el proceso de síntesis.

También es un objeto de esta invención describir el uso de aralkil bencil éteres de la presente invención o sus sales, solvatos, ésteres, enantiómeros y/o diastereoisómeros farmacéuticamente aceptables o mezclas de los mismos, para tratar y/o prevenir, y/o para la preparación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de afecciones y/o enfermedades causadas por microorganismos, tales como hongos, bacterias y/o protozoos en un organismo eucariota. Además, los compuestos de esta invención se usan para inhibir y/o retrasar, y/o para la fabricación de una medicina para la inhibición y/o retardo de la proliferación y/o supervivencia de microorganismos, tales como hongos, bacterias y/o protozoos, más particularmente de microorganismos patógenos. En particular, el objetivo de esta invención es el uso de aralkil bencil éteres descritos en la fórmula (I) como antifúngicos fungistáticos y/o fungicidas.

Un objetivo adicional de esta invención es proporcionar una cantidad eficaz de al menos uno de los compuestos de aralkil bencil éter descritos en la fórmula (I) de esta invención o sus sales, solvatos, ésteres, enantiómeros y/o diastereoisómeros farmacéuticamente aceptables, o mezclas de los mismos para su uso en el tratamiento y/o prevención de afecciones y/o enfermedades asociadas a microorganismos, tales como hongos, bacterias y/o protozoos, en un mamífero que necesita dicho tratamiento.

Otro objetivo de esta invención es proporcionar composiciones farmacéuticas y medicamentos que comprenden una cantidad eficaz de al menos uno de los compuestos descritos por la fórmula (I) o sus sales, solvatos, ésteres, enantiómeros y/o diastereoisómeros farmacéuticamente aceptables, o mezcal de los mismos, como principio activo y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS Y TABLAS

Figura 1: Caracterización del compuesto obtenido por los procedimientos descritos en los ejemplos 1 y 2 (1-[2-(2,4-diclorofenil)-2-[[4-(trifluorometil)bencil]oxi]etil]-1H-imidazol (BL-123)) por espectroscopia de RMN de carbono 13.

Figura 2: Caracterización del compuesto obtenido por los procedimientos descritos en los ejemplos 1 y 2 (1-[2-(2,4-diclorofenil)-2-[[4-(trifluorometil) bencil]oxi]etil]-1H-imidazol (BL-123)) por espectroscopia de RMN de ¹H.

Figura comparativa 3: Caracterización del compuesto obtenido por el procedimiento descrito en ejemplo 3 (1-[2-(2,4-diclorofenil)]-2-([4-[(2-fenil)-2 H-tetrazol]bencil]oxi)etil]-1H-imidazol (BL-137)) por espectroscopia de RMN de ¹H.

Figura comparativa 4: Caracterización del compuesto obtenido por el procedimiento descrito en ejemplo 3 (1-[2-(2,4-diclorofenil)]-2-([4-[(2-fenil)-2H-tetrazol]bencil]oxi)etil]-1H-imidazol (BL-137)) por espectroscopia de RMN de carbono 13.

Fórmula (I): Fórmula estructural que describe los compuestos básicos incluidos en esta invención, en la que Ar es imidazolilo; R₁, R₂, R₄ y R₅ son independientemente hidrógeno, R₃ es halógeno; n es un número entero de 0 y 2, m es 1, R₆ es trifluorometilo o triclorometilo.

Fórmulas (Ia), (Ib) y (Ic): Fórmulas estructurales básicas que describen los compuestos particularmente preferidos de esta invención, donde R₃ es halógeno y R₆ es trifluorometilo o triclorometilo en cualquier parte en el anillo de bencilo;

Procedimiento 1: Esquema general del proceso de síntesis de compuestos de esta invención, en el que Ar, R₁-R₆, n y m de las fórmulas (II) y (III) son como se han descrito anteriormente, y en las que X se refiere a elementos seleccionados del grupo que consiste en Cl, Br, I, metanosulfonato y toluenosulfonatos.

Procedimiento 2: Esquema particular del proceso de síntesis de esta invención para la preparación del compuesto BL-123.

Procedimiento 3: Esquema particular del proceso de síntesis de esta invención para la preparación del compuesto comparativo BL-137.

Tabla 1: Ejemplos de intermedios descritos por las fórmulas II y III que se emplean en la preparación de compuestos de esta invención de acuerdo con el sustituyente ilustrado en las posiciones Ar, R₁, R₂, R₄, R₅, (R₃)_n, R₆ y m y donde el término "prot" representa los grupos de protección en esta invención y "X" representa elementos seleccionados del grupo que consiste en Cl, Br, I, MS (metanosulfonatos) y TS (toluenosulfonatos).

Tabla 2: Identificación de cepas de hongos filamentosos empleados en ensayos de susceptibilidad a agentes antifúngicos de esta invención.

Tabla 3: Promedio de la concentración inhibitoria mínima (MIC) obtenida en cuatro experimentos de susceptibilidad de cepas de hongos filamentosos, que se describen en la Tabla 2, realizados en días diferentes con lecturas de los resultados realizadas el cuarto y séptimo día.

Tabla 4: Valores promedio de MIC50 (concentración inhibitoria mínima necesaria para inhibir el 50 % de las cepas), MIC 90 (concentración inhibitoria mínima para inhibir el 90 % de las cepas) y VMIC (variación de la concentración inhibitoria mínima) para los agentes usados para las pruebas de susceptibilidad de hongos filamentosos a los agentes antifúngicos de esta invención.

Tabla 5: Identificación de cepas de bacterias y levadura empleadas en ensayos de susceptibilidad a los agentes antifúngicos de esta invención.

Tabla 6: Concentración inhibitoria mínima de los agentes antifúngicos ensayados contra cepas de levaduras y bacterias descritas en la Tabla 5.

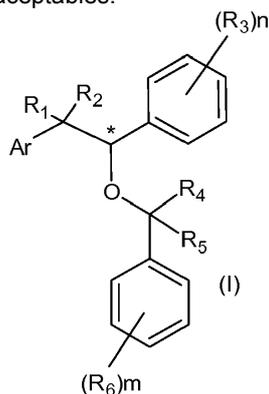
Tabla 7: Ejemplo de formulación en forma de crema que contiene el compuesto BL-123 descrito en esta invención.

Tabla 8: Ejemplo de la formulación en polvo que comprende el compuesto BL-123 descrito en esta invención.

Tabla 9: Ejemplo de formulación en forma de loción que comprende el compuesto BL-123 descrito en esta invención.

Descripción detallada de la invención

Esta invención desvela nuevos compuestos que son útiles para tratar afecciones causadas por hongos y/u otros microorganismos, tales como bacterias y protozoos, que son aralkil bencil éteres, descritos por la fórmula (I) y sus sales, solvatos y ésteres farmacéuticamente aceptables:



en la que:

- Ar es imidazolilo;
- R₁, R₂, R₄, y R₅ son independientemente hidrógeno;
- R₃ es halógeno;
- R₆ trifluorometilo o triclorometilo;
- n es un número entero de 0 a 2;
- m es 1

Los compuestos de fórmula (I) tienen uno o más centros asimétricos y, por lo tanto, pueden existir sales enantioméricas y/o diastereoisoméricas. En particular, se muestra un centro quiral con un asterisco en la descripción de fórmula (I). Por lo tanto, esta invención también incluye los enantiómeros de los compuestos de fórmula (I) en sus formas separadas individuales y/o en forma de mezclas racémicas o mezclas no racémicas con un exceso enantiomérico en cualquier proporción.

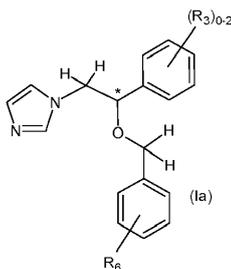
Las sales farmacéuticamente aceptables de compuestos de fórmula (I) se forman añadiendo ácidos farmacéuticamente aceptables. Los ejemplos de sales incluyen, pero sin limitación, sales nitrato, cloruro, bromhidrato, sulfato, bisulfato, fosfato, fosfato ácido, acetato, benzoato, succinato, fumarato, maleato, lactato, citrato, tartrato, gluconato, metasulfonato, bencenosulfonato y *p*-toluenosulfonato.

El término "halógeno" representa átomos de flúor, cloro, bromo o yodo.

Cuando R_6 es un grupo "trifluorometilo" o "triclorometilo", dichos sustituyentes pueden unirse a cualquier posición disponible del grupo fenilo en una o más posiciones.

Un grupo particular de compuestos de la presente invención se selecciona entre los compuestos descritos por la fórmula (I), en la que R_1 , R_2 , R_4 y R_5 son hidrógeno, R_3 es halógeno, n es un número entero de 0 a 2, de manera que, cuando n es igual a 0, el anillo aromático que está unido a R_3 no esté sustituido, m es 1, R_6 es un radical trifluorometilo o triclorometilo en cualquier posición del anillo de bencilo, y Ar es un grupo imidazolilo. Este grupo particular de compuestos de la presente invención se representa por la fórmula (Ia), (Ib) e (Ic), como se indica a continuación, en las que las sustituciones R_3 y R_6 son como se definen en este párrafo:

Más específicamente, los compuestos preferidos de esta invención son compuestos seleccionados entre el grupo que consiste en:



1-[2-(2,4-diclorofenil)-2-{{3-(trifluorometil)bencil}oxi}etil]-1*H*-imidazol

1-[2-(2,4-diclorofenil)-2-{{3-(triclorometil)bencil}oxi}etil]-1*H*-imidazol

1-[2-(2,4-diclorofenil)-2-{{4-(trifluorometil)bencil}oxi}etil]-1*H*-imidazol

1-[2-(2,4-diclorofenil)-2-{{4-(triclorometil)bencil}oxi}etil]-1*H*-imidazol

1-[2-(4-clorofenil)-2-{{4-(trifluorometil)bencil}oxi}etil]-1*H*-imidazol

1-[2-(4-clorofenil)-2-{{4-(triclorometil)bencil}oxi}etil]-1*H*-imidazol

1-[2-(2-clorofenil)-2-{{4-(trifluorometil)bencil}oxi}etil]-1*H*-imidazol

1-[2-(2-clorofenil)-2-{{4-(triclorometil)bencil}oxi}etil]-1*H*-imidazol

1-[2-(4-fluorofenil)-2-{{2-(trifluorometil)bencil}oxi}etil]-1*H*-imidazol

1-[2-(4-fluorofenil)-2-{{2-(triclorometil)bencil}oxi}etil]-1*H*-imidazol

1-[2-(2,4-difluorofenil)-2-{{2-(trifluorometil)bencil}oxi}etil]-1*H*-imidazol

1-[2-(2,4-difluorofenil)-2-{{2-(triclorometil)bencil}oxi}etil]-1*H*-imidazol

o sus sales, solvatos, ésteres, enantiómeros y/o diastereoisómeros farmacéuticamente aceptables.

Ventajosamente, los compuestos de aralkil bencil éteres de fórmula (I) de acuerdo con la presente invención pueden prepararse por medio de una reacción de O-alkilación del alcohol correspondiente del compuesto a preparar. El intermedio usado para la adición del grupo alquilo de acuerdo con la reacción de O-alkilación de esta invención puede obtenerse, por ejemplo, a partir de haluro de bencilo, mesilato de bencilo o tosilato de bencilo sustituido con grupos descritos posteriormente en R_6 que corresponden a los compuestos que se van a preparar.

Las reacciones pueden producirse en el medio de reacción que comprende el disolvente tetrahidrofurano (THF) e hidruro sódico en un intervalo de concentración que varía del 40 % al 80 % (p/v) en relación con el volumen total del medio de reacción.

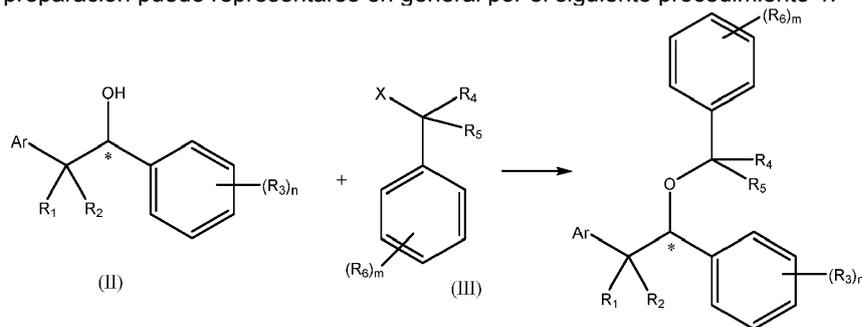
En otro aspecto, las reacciones pueden producirse en un medio de reacción que comprende una solución polar de disolvente de una base fuerte en concentraciones que varían del 20 % al 70 % (p/v) y una sal orgánica básica en una concentración que varía de 0,001 a 0,1 g/ml con respecto al volumen total del medio de reacción. Preferiblemente, dicho disolvente orgánico polar puede ser acetona o metil etil cetona o mezcla de los mismos; dicha solución de base fuerte puede ser una base que comprende elementos de metal alcalino y de metal alcalinotérreos

preferiblemente seleccionados del grupo que consiste en: hidróxido sódico e hidróxido potásico; dicha sal orgánica básica es preferiblemente cloruro de trietilaluminio amonio bencilo.

Los intermedios de la reacción pueden tener opcionalmente grupos protectores de especies reactivas, como por ejemplo, unidos al nitrógeno reactivo del anillo de tetrazol en intermedios que lo contienen.

5 Los ejemplos de grupos protectores pueden ser, pero sin limitación: grupo tritilo, *N,N*-dimetilsulfonamida, *p*-metoxifenilsulfonamida, Bencenosulfonamida, 2,2,2-tricloroetilcarbamato, carbamato de *t*-butilo, *N*-2-cloroetilamina, *N*-trisisopropilsililamina, *N*-2-nitrobencilamina y/o *N*-2-tetrahidropiranilamina.

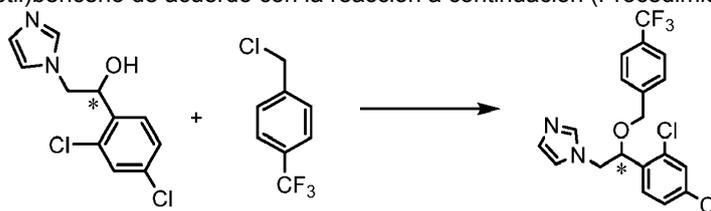
10 Dicho proceso de preparación puede representarse en general por el siguiente procedimiento 1:



en el que Ar, R₁-R₆, *n* y *m* de fórmulas (II) y (III) son como se definen en la descripción detallada de fórmula (I), y en la que X se refiere a elementos seleccionados del grupo que consiste en Cl, Br, I, MS (metanosulfonatos) y TS (toluenosulfonatos).

15 (Procedimiento 1)

20 Ventajosamente, el derivado 1-[2-(2,4-diclorofenil)-2-[[4-(trifluorometil)bencil]oxi]etil]-1H-imidazol (BL-123), de acuerdo con esta invención pueden prepararse a partir de 1-(2,4-diclorofenil)-2-(1H-imidazol-1-il) etanol y 1-(clorometil)-4-(trifluorometil)benceno de acuerdo con la reacción a continuación (Procedimiento 2).



(Procedimiento 2)

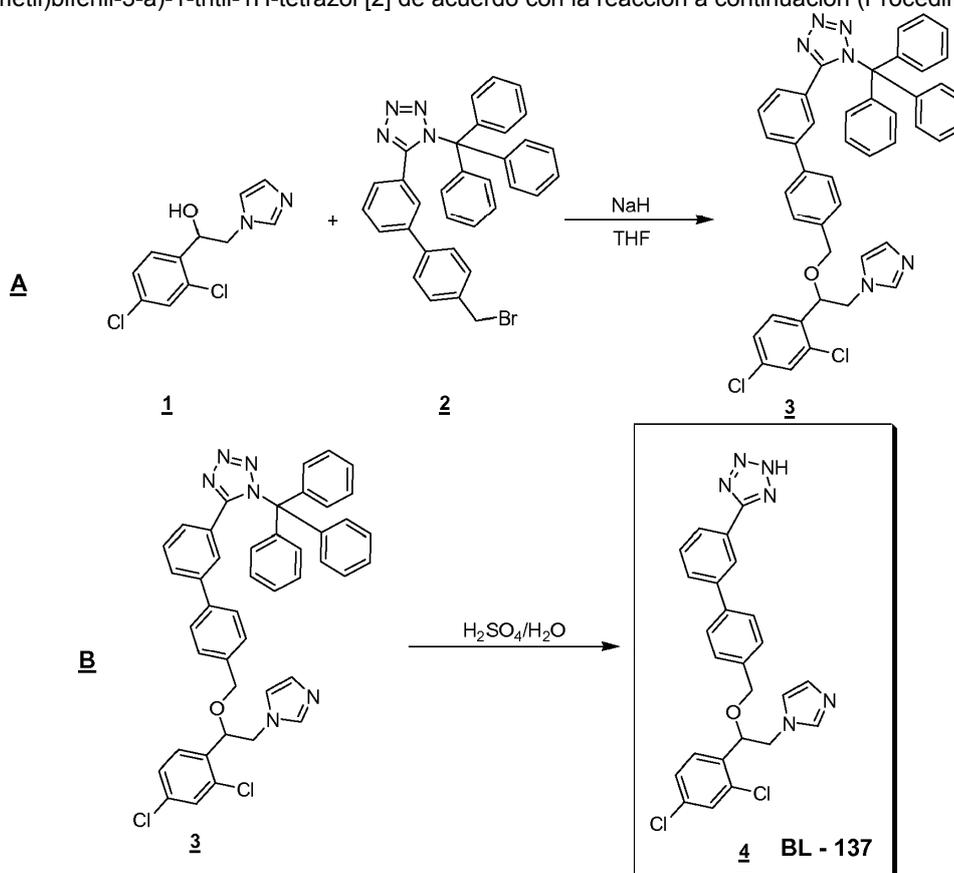
25 Los siguientes ejemplos ilustran, pero sin limitación, procedimientos para la preparación del compuesto 1-[2-(2,4-diclorofenil)-2-[[4-(trifluorometil)bencil]oxi]etil]-1H-imidazol (BL-123) de acuerdo con los procedimientos 1 y 2 anteriores.

30 EJEMPLO 1

Se suspendieron 10,30 g del compuesto 1-(2,4-diclorofenil)-2-(1H-imidazol-1-il)etanol en 26 ml de acetona, después se añadieron 31 ml de una solución al 50 % de hidróxido sódico en agua seguido de más de 26 ml de acetona, manteniendo toda la mezcla de reacción en agitación intensa. Después, se añadieron 0,45 g de cloruro de trietil amonio bencilo, manteniendo la mezcla de reacción a reflujo durante treinta minutos. Aún a reflujo, se añadieron 8,2 g del compuesto 1-(clorometil)-4-(trifluorometil)benceno (diluido en 13 ml de acetona), manteniendo la agitación y el reflujo durante 6 horas. Al final, la mezcla heterogénea se filtró y las fases se separaron. La fase orgánica se evaporó a 45 °C a sequedad. El residuo obtenido se disolvió en 100 ml de éter etílico frío. Después, se añadieron 2 ml de ácido nítrico (65 %) a 0 °C, manteniendo la agitación durante una hora. Al final, el producto se filtró y se lavó con etanol frío y se secó a 65 °C durante 12 horas. El producto obtenido en forma de un sólido de color blanco (compuesto BL123) tenía las siguientes características: RMN 1H (300 MHz-DMSO): 9,05 (1H, s), 7,72-7,74 (1H, m), 7,65-7,66 (4H, m), 7,53-7,54 (1H, m), 7,38-7,45 (3H, m), 5,51-5,20 (1H, m), 4,45-4,64 (4H, m). RMN 13C (75MHz-DMSO): 142,1, 136,3, 134,1, 133,6, 133,3, 129,5, 129,2, 128,5, 128,1, 127,9, 125, 2, 125,1, 123,, 119,8, 75,4, 69,7, 51,8; Análisis Elemental calc. para C₁₉H₁₆Cl₂O₄F₃N₃: C = 47,72 %, H = 3,37 %, N = 8,79 %; obtenido: C = 48,06 %, H = 3,44 %, N = 8,76 %. Punto de fusión: 173-176 °C.

EJEMPLO 2

- 5 Sobre una suspensión al 60 % de NaH (2,0 g) en tetrahidrofurano seco (THF) (18 ml) se añadió una solución del compuesto 1-(2,4-diclorofenil)-2-(1*H*-imidazol-1-iletanol (5,14 g) en THF seco (52 ml) a temperatura ambiente. Después, en la mezcla de reacción se añadió lentamente una solución que contenía el compuesto 1-(clorometil)-4-(trifluorometil)benceno (3,6 ml) en THF seco (10 ml), manteniendo la mezcla resultante a reflujo durante tres horas.
- 10 Al final de este periodo, se añadieron 50 ml de agua y el producto se extrajo con acetato de etilo y se secó con sulfato de magnesio, y el disolvente final se evaporó. El residuo obtenido después de la evaporación completa del disolvente se disolvió en éter dietílico (20 ml) y se enfrió a 0 °C. En la solución del residuo, se añadió suavemente ácido nítrico al 65 % (1,4 ml). Después, el producto se filtró y se secó a 65 °C. El producto puro se obtuvo después de la recristalización en metanol. El producto obtenido en forma de un sólido de color blanco (compuesto BL123) tenía las siguientes características: ¹H RMN (300 MHz-DMSO): 9,05 (1H, s), 7,72 a 7,74 (1H, m), 7,65 a 7,66 (4H, m), 7,53 a 7,54 (1H, m), 7,38 a 7,45 (3H, m), 5,51 a 5,20 (1H, m), 4,45 a 4,64 (4H, m). ¹³C RMN (75MHz-DMSO): 142,1, 136,3, 134,1, 133,6, 133,3, 129,5, 129,2, 128,5, 128,1, 127,9, 125, 2, 125,1, 123,, 119,8, 75,4, 69,7, 51,8. Punto de fusión: 173 a 176 °C.
- 15 Ventajosamente, el derivado 1-[2-(2,4-diclorofenil)-2-({4-[(2-fenil)-2*H*-tetrazol]bencil}oxi)etil]-1*H*-imidazol (BL- 137), de acuerdo con la presente invención puede prepararse a partir de 1-(2,4-diclorofenil)-2-(1*H*-imidazol-1-il)etanol [1] y 5-(4'-(bromometil)bifenil-3-a)-1-tritil-1*H*-tetrazol [2] de acuerdo con la reacción a continuación (Procedimiento 3).



20 (Procedimiento 3)

25 El siguiente ejemplo comparativo ilustra, pero sin limitación, la preparación del compuesto nitrato 1-[2-(2,4-diclorofenil)-2-({4-[(2-fenil)-2*H*-tetrazol]bencil}oxi)etil]-1*H*-imidazol (BL-137) de acuerdo con los procedimientos 1 y 3 anteriores.

EJEMPLO COMPARATIVO 3

30 Un matraz de 3 bocas equipado con agitación mecánica y un condensador a reflujo se cargó con THF (120 ml) y NaH al 60 % (24 g). A esta suspensión se le añadió lentamente una solución de 1-(2,4-diclorofenil)-2-(1*H*-imidazol-1-il) etanol [1] (0,233 mmol, 60 g en 600 ml de THF) y la solución resultante se dejó en agitación mecánica durante 30 min.

35 Después de este periodo, la mezcla de reacción se enfrió en un baño de hielo y se le añadió lentamente una solución de 5-(4'-(bromometil) bifenil-3-a)-1-tritil-1*H*-tetrazol [2] (0,223 mmol; 129 g en 650 ml de THF). Completándose el proceso de adición, el baño de hielo se retiró y la reacción se llevó a reflujo durante 4 horas.

Después de este periodo, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se le añadieron lentamente 560 ml de agua. Esta mezcla de reacción se extrajo con 600 ml de acetato de etilo. La fase orgánica se separó y se extrajo con una solución acuosa al 5 % de ácido cítrico (2 x 420 ml). Las fases acuosas se combinaron y se extrajeron con acetato de etilo (2 x 300 ml). Las fases orgánicas se combinaron y se secaron con MgSO₄. El disolvente se evaporó y se aisló un aceite de color naranja.

La reacción en bruto obtenida en la etapa A se disolvió a 50 °C en 1650 ml de acetonitrilo. Después de conseguir la temperatura ambiente, se añadieron 1300 ml de H₂SO₄ 1,5 N acuoso. Esta mezcla se mantuvo en agitación magnética durante 2 horas. Después de eso, se añadió una solución acuosa 2 M de NaOH, hasta que se alcanzó un pH de 13. Usando vacío, la mezcla de reacción se destiló a 65/70 °C para retirar el acetonitrilo. El material restante en el matraz de partida estuvo en agitación durante 30 min a 30/35 °C. El precipitado formado se filtró y se lavó con 600 ml de una mezcla de agua/acetonitrilo (80/20). El filtrado se extrajo con tolueno caliente (4 x 450 ml). La fase acuosa se seleccionó y con calentamiento, se añadió un volumen suficiente de ácido acético para devolver el pH a aproximadamente 7,0. Manteniendo la temperatura aproximadamente a 55 °C, se añadió acetato de etilo. Esta mezcla se calentó y se agitó durante 30 min. La fase orgánica se seleccionó y la fase acuosa se extrajo con acetato de etilo caliente (3 x 500 ml). Las fases orgánicas se combinaron y se secaron con MgSO₄. El disolvente se retiró con un evaporador rotatorio hasta que se produjo la formación de un sólido denso. La reacción en bruto se enfrió con un baño de hielo en agitación mecánica durante 2 horas. El precipitado se filtró y se lavó con 120 ml de acetonitrilo. El producto sólido obtenido con un color amarillento-blanco, compuesto BL137, tenía las siguientes características: RMN¹H (300 MHz-CDCl₃): 3,78 (1H, dd, *J* = 9 y 15 Hz), 3,91 (1H, d, *J* = 15 Hz), 4,08 (1H, dd, *J* = 3 y 15 Hz), 4,67 (1H, d, *J* = 15 Hz), 4,92 (1H, dd, *J* = 3:09 Hz), 6,78 a 6,86 (2H, m), 6,96 a 7,04 (4H, m), 7,39 a 7,67 (8H, m), 7,98 a 8,01 (1H, m). RMN¹³C (125 MHz-CDCl₃): 52,2, 72,4, 76,8, 119,9, 124,8, 126,4, 128,0, 128,2, 128,6, 128,9; 129,6, 130,6, 130,7, 131,4, 133,1, 134,4, 135,1, 136,1, 136,9, 139,9, 140,7, 155,8, HRMS calc. para C₂₅H₂₀Cl₂N₆O (MH⁺) *m/z* 491,1154, obtenido 491,1134; Punto de fusión: 93-96 °C

Por lo tanto, los compuestos descritos en esta invención pueden prepararse basándose en cualquiera de los procedimientos 1 a 2, y cualquiera de las enseñanzas de los ejemplos 1 a 2, usando los compuestos intermedios correspondientes.

Cuando el término "prot" representa los grupos protectores definidos en esta invención y "X" representa los elementos seleccionados del grupo que consiste en Cl, Br, I, MS (metanosulfonato) y TS (toluenosulfonatos).

Los compuestos de la presente invención, así como sus sales, solvatos, ésteres, enantiómeros y/o diastereoisómeros farmacéuticamente aceptables, tienen potencialmente actividad antimicrobiana, preferiblemente, actividad antifúngica.

Particularmente, los compuestos descritos en esta invención, y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos pueden usarse como agentes antifúngicos, siendo los mismos fungicidas y/o fungistáticos. Los fungicidas son agentes antifúngicos que destruyen la integridad y/u operación de la célula fúngica estimulando su muerte, mientras que los antifúngicos fungistáticos son agentes con la capacidad de prevenir el crecimiento y/o la división celular de los hongos haciéndolos estáticos. De forma interesante, los agentes fungicidas tienen el potencial de eliminar la infección fúngica del huésped, y los agentes fungistáticos normalmente no eliminan por completo la infección.

Además, los compuestos descritos en la presente invención son útiles como inhibidores y/o retardantes de la proliferación y/o supervivencia de microorganismos, tales como hongos, bacterias y/o protozoos, particularmente de microorganismos patógenos.

Los hongos pueden ser parásitos de casi todo el grupo de organismos eucariotas, desde seres unicelulares, tales como algas y protozoos, hasta plantas complejas, animales y el propio ser humano. Los microorganismos tales como hongos que causan enfermedades y/o trastornos en las plantas y/o los animales se denominan patógenos, más específicamente microorganismos patógenos. Se entiende por enfermedad, afección y/o trastorno una situación anormal de un organismo que perjudica una o más funciones corporales, asociadas a signos y síntomas específicos, que puede causarse por factores externos, tales como organismos invasores, o por factores intrínsecos del organismo. Las enfermedades clínicamente evidentes como un estado patológico resultante de la invasión del organismo por microorganismos patógenos, tales como virus, bacterias, hongos, protozoos, parásitos multicelulares y proteínas conocidas como priones, se denominan infecciones.

Los hongos que son patógenos de los mamíferos pueden dividirse en tres tipos morfológicos: (a) levaduras, que son unicelulares y se reproducen de manera asexual, creciendo en forma de colonias; (b) hongos filamentosos, que son pluricelulares, poseen hifas tabiculares o aseptadas, que pueden reproducirse en forma sexual, asexual o parasexual, y (iii) dimórficos, que pueden existir en forma de levadura o filamentosos, dependiendo de la temperatura y las condiciones ambientales. Los hongos filamentosos pueden clasificarse en: (i) dermatofitos y (ii) anemófilos.

Particularmente, los compuestos descritos en la presente invención, sus sales y solvatos, ésteres, enantiómeros y/o diastereoisómeros farmacéuticamente aceptables pueden usarse en el tratamiento y/o prevención de hongos

patógenos primarios que pueden representarse, pero sin limitación, hongos dermatofitos y hongos dimórficos. Se entiende por tratamiento un conjunto de medios, tales como farmacológicos, quirúrgicos o físicos cuyo fin es la cura o alivio de enfermedades o síntomas, después de hacer un diagnóstico. Mientras que prevención es el uso de medios para prevenir la aparición de una enfermedad o síntoma y/o su propagación.

Los principales tipos de dermatofitas médicamente relevantes son *Epidermophyton* sp, *Trichophyton* sp y *Microsporum* sp entre los que pueden destacarse las siguientes especies: *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton verrucosum*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton shoenleinii*, *Trichophyton tonsurans*, *Trichophyton violaceum*, *Trichophyton concentricum*, *Microsporum gypseum*, *Microsporum canis*, *Microsporum audouinii* y *Epidermophyton floccosum*.

Entre los hongos dimórficos, las especies principales de hongos médicamente importantes son: *Paracoccidioides brasiliensis*, *Histoplasma capsulatum*, *Blastomyces dermatiditis*, *Coccidioides immitis*, *Penicillium marneffeii*, y *Sporothrix schenckii*.

La actividad antifúngica de los compuestos de esta invención se midió usando el análisis *in vitro* de la concentración inhibitoria mínima (MIC) del compuesto 1-[2-(2,4-clorofenil)-2-[[4-(trifluorometil)bencil]oxi]etil]-1H-imidazol (BL-123).

La actividad antifúngica del compuesto BL-123 se ensayó en varias cepas de hongos dermatofitas filamentosos a partir de aislados clínicos y de laboratorio, como se muestra en el ejemplo 4.

EJEMPLO 4

4.1 Cultivo de cepas fúngicas

Para los experimentos de la presente invención, se usaron cepas fúngicas de tipo dermatofito que se obtuvieron a partir de aislados clínicos y aislados de laboratorio, como se describe en la Tabla 2 como se indica a continuación:

Tabla 2.

N.º	Identificación	Nombre
<i>Cepas obtenidas a partir de aislados clínicos</i>		
I	16404	<i>Aspeigillus Niger</i>
II	2	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>
III	24	<i>Microsporum gypseum</i>
IV	381a	<i>Trichophyton verrucosum</i>
V	28188	<i>Trichophyton rubrum</i>
VI	373	<i>Microsporum canis</i>
VII	381b	<i>Trichophyton verrucosum</i>
VIII	455	<i>Trichophyton rubrum</i>
<i>Cepas de laboratorio de aislados obtenidos</i>		
IX.	22019	<i>Candida parapsilosis</i>
X	40004	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>
XI.	40005	<i>Trichophyton rubrum</i>
XII.	40051	<i>Microsporum gypseum</i>
XIII.	9533	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>

Las cepas fúngicas se cultivaron en medio agar de patata en un tubo inclinado a una temperatura de 30 °C durante un periodo de 7 a 15 días.

4.2 Montaje de preparaciones y Ensayo

Para los experimentos, se usaron el compuesto 1-[2-(2,4-clorofenil)-2-[[4-(trifluorometil)bencil]oxi]etil]-1H-imidazol (BL-123) en forma de su sal nitrato y nitrato de miconazol. Ambos compuestos se disolvieron en dimetilsulfóxido (DMSO) para corresponder con la concentración final del compuesto igual o menor al 1 %.

La metodología utilizada para el ensayo de la sensibilidad del agente fue microdilución en caldo de acuerdo con el método descrito en la Norma M38-A (Método de referencia para los ensayos de dilución en caldo para determinar la sensibilidad a la terapia antifúngica de hongos filamentosos; NCCLS, volumen 22 n.º 16, Estados Unidos, 2008) como se describe a continuación.

Los hongos se cultivaron conforme el punto 4.1. En los tubos en los que se cultivaron los hongos se añadieron 5 ml de solución salina a fin de extraer los hongos de la superficie de agar. Después, esta suspensión homogénea se transfirió a un tubo nuevo y las unidades formadoras de colonias (UFC) se cuantificaron de acuerdo con métodos de recuento: (i) en placas de agar de dextrosa Sabouraud y (ii) en una cámara de Neubauer.

Después, las cepas de hongos enumeradas en la Tabla 2 se inocularon por duplicado en una placa de 96 pocillos. Se usaron inóculos de $2 \text{ a } 6 \times 10^3$ UFC/ml de hongos, por pocillo, en un volumen total de 0,2 ml de RPMI-1640 (que contenía L-glutamina y sin bicarbonato) tamponado a pH 7,0 con MOPS (ácido 3-(N-morfolina) 15 propanosulfónico). El procedimiento se realizó en un flujo laminar.

5 Los compuestos a ensayar se añadieron en una dilución seriada, por duplicado, a concentraciones finales de 16 μ /ml; 8 μ /ml; 4 μ /ml; 2 μ /ml; 1 μ /ml; 0,5 μ /ml; 0,25 μ g/ml; 0,125 μ /ml; 0,0625 μ /ml; o 0,03125 μ g/ml en medio de cultivo presente en cada pocillo.

10 La incubación de los hongos con estos compuestos se realizó en 4, 5, 6 y 7 días a temperaturas de 30 a 35 °C.

La cuantificación de los hongos se realizó comparando el crecimiento de los hongos en cada pocillo con el crecimiento producido en el control negativo por medio de una lectura de espejo. El control negativo se representa por hongos cultivados en medio de cultivo en ausencia de los compuestos ensayados. La metodología de esta comparación es la clasificación numérica a la que se sometió el pocillo de microdilución. En esta metodología, el valor 4 corresponde a la reducción nula del crecimiento, el valor 3 corresponde a una ligera reducción en el crecimiento o aproximadamente el 75 % del crecimiento del control negativo, el valor 2 corresponde a una reducción prominente en el crecimiento o aproximadamente el 50 % del crecimiento del control negativo; el valor 1 corresponde a un ligero crecimiento o aproximadamente el 25 % del crecimiento del control negativo, y el valor 0 corresponde a ópticamente transparente o ausencia de crecimiento.

En este experimento, la concentración inhibitoria mínima (MIC) se considera como la menor concentración del agente capaz de inhibir al menos el 80 % del crecimiento de las unidades formadoras de colonias (UFC).

25 Los resultados obtenidos en dicho experimento se muestran en la Tabla 3, que describe la MIC media conseguida en cuatro experimentos independientes considerando 4 y 7 días de incubación del compuesto BL123 o miconazol.

El compuesto de la presente invención, BL123, mostró que ejerce un efecto inhibitorio en el crecimiento de 13 cepas diferentes correspondientes a siete especies diferentes de los hongos de tipo dermatofito.

30 De manera interesante, los resultados mostrados en la Tabla 3 muestran que algunas cepas de aislados clínicos que son resistentes a miconazol (cepas I, VII y VIII) son sensibles, de otro modo, a la acción del compuesto BL-123.

(Tabla 3: Promedio de MIC realizadas en diferentes días con lecturas en el cuarto y séptimo día)

	Cepas	Microorganismo	Miconazol (μ g/ml)		BL-123 (μ g/ml)	
			Día 4	Día 7	Día 4	Día 7
I	16404	<i>Aspergillus Niger</i>	>16	>16	8	8
II	2	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	1	1	4	4
III	24	<i>Microsporum gypseum</i>	0,05	0,05	0,25	0,25
IV	381	<i>Trichophyton verrucosum</i>	>16	>16	>16	>16
V	28188	<i>Trichophyton rubrum</i>	0,03	0,06	0,03	0,03
VI.	373	<i>Microsporum canis</i>	0,5	1	0,125	0,5
VII	381	<i>Trichophyton verrucosum</i>	>16	>16	4	>16
VIII	455	<i>Trichophyton rubrum</i>	>16	>16	4	8
IX.	22019	<i>Candida parapsilosis</i>	1	-	2	-
X	40004	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	0,5	1	0,25	0,5
XI.	40005	<i>Trichophyton rubrum</i>	0,5	1	0,25	0,5
XII.	40051	<i>Microsporum gypseum</i>	0,03	0,06	0,03	0,03
XIII.	9533	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	0,06	0,125	0,03	0,125

35 El efecto inhibitor del compuesto BL123 se corroboró por los resultados obtenidos en los experimentos destinados a la obtención de los valores de concentración inhibitoria mínima para inhibir el 50 % de los aislados ensayados (MIC_{50}), la concentración inhibitoria mínima para inhibir el 90 % de los aislados ensayados (MIC_{90}) y la variación de MIC (VMIC) como se describe en la Tabla 4.

40 En estos experimentos, se descubrió que el efecto inhibitorio de BL123 seguía siendo el mismo al usar bajas concentraciones del compuesto con el fin de inhibir el crecimiento del 90 % de la población de las cepas ensayadas. Por el contrario, una mayor parte de la población de las mismas cepas al tratarse con miconazol demostró no responder al tratamiento al usarse a la menor concentración que inhibe el crecimiento del 50 % de la población.

45 (Tabla 4: Valores medios de MIC_{50} y MIC_{90} y variación de MIC para los agentes ensayados)

n = 13	Miconazol		BL-123	
	MIC media (μ g/ml)		MIC media (μ g/ml)	
	Día 4	Día 7	Día 4	Día 7
MIC_{50}	0,5	1	0,25	0,5

MIC90	>16	>16	4	8
VMIC	0,03-> 16	0,06-> 16	0,03-> 16	0,03-> 16

La actividad antimicrobiana de compuestos de la presente invención se midió usando el análisis *in vitro* de la concentración inhibitoria mínima (MIC) de los compuestos 1-[2-(2,4-clorofenil)-2-[[4-(trifluorometil)bencil]oxi]etil]-1H-imidazol (BL-123) y 1-[2-(2,4-diclorofenil)]-2-[[4-[(2-fenil)-2H-tetrazol]bencil]oxi]etil]-1H-imidazol (BL-137).

- 5 La actividad antimicrobiana de los compuestos BL-123 y BL137 se ensayó en varias cepas de hongos tipo levadura y bacterias, como se muestra en el Ejemplo 5.

EJEMPLO 5

10 5.1 Cultivo de cepas de levadura y bacterias

Para los experimentos de la presente invención se usaron (i) cepas de levadura obtenidas a partir de aislados clínicos y aislados de laboratorio, y (ii) cepas bacterianas obtenidas a partir de aislados de laboratorio, como se describe en la Tabla 5 como se indica a continuación.

15

(Tabla 5: Cepas de levadura y bacterias usadas en la ensayada)

N.º	Identificación	Nombre
<i>Cepas de levadura aisladas de laboratorio</i>		
XIV	10231	<i>Candida albicans</i>
<i>Aislados clínicos de cepas de levadura</i>		
XV	22019	<i>Candida parapsilosis</i>
XVI.	2001	<i>Candida glabrata</i>
<i>Cepas bacterianas aisladas de laboratorio</i>		
XVII.	12228	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
XVIII	6538	<i>Staphylococcus aureus</i>

5.1.a Cultivo de cepas de levadura-Preparación de inóculo

20 Las cepas de levadura se cultivaron en medio de cultivo Dextrosa Agar mantenido a una temperatura de 35 °C durante 48 horas.

5.1.a Cultivo de cepas de bacterias-Preparación de inóculo

25 Las cepas bacterianas se cultivaron en medio de cultivo agar de soja tréptica a 35 °C durante dos a seis horas (o hasta la turbidez de una solución estándar McFarland igual a 0,5).

5.2 Montaje de preparaciones y Ensayo

30 Para los experimentos, se usaron el compuesto 1-[2-(2,4-clorofenil)-2-[[4-(trifluorometil)bencil]oxi]etil]-1H-imidazol (BL-123) en forma de su sal nitrato, 1-[2-(2,4-diclorofenil)]-2-[[4-[(2-fenil)-2H-tetrazol]bencil]oxi]etil]-1H-imidazol (BL-137), y nitrato de miconazol. Los compuestos se disolvieron en dimetilsulfóxido (DMSO) para corresponder a la concentración final del compuesto igual a o menos del 1 %.

5.2.a Cepas de levadura

35 La metodología utilizada para ensayar la sensibilidad del agente fue la microdilución en caldo, según el método descrito en la Norma M27-A2 (Método de referencia para ensayos de dilución en caldo para determinar la sensibilidad de levaduras a terapia antifúngica - segunda edición, NCCLS, volumen 22 número 15, Estados Unidos, 2002) como se indica a continuación.

40 Las cepas de levadura se cultivaron de acuerdo con el punto 5.1.a para obtener un cultivo que contenía entre 1×10^6 y 5×10^6 UFC/ml. Después, las suspensiones se diluyeron en medio de cultivo RPMI-1640 (tamponado con MOPS 0,165 mol/l) a una concentración final de 50 a 2500 UFC/ml.

45 Las suspensiones diluidas se inocularon por duplicado en una placa de 96 pocillos. El procedimiento se realizó en un flujo laminar.

50 Los compuestos a ensayar se añadieron en una dilución seriada, por duplicado, a concentraciones finales de 16 µ/ml; 8 µ/ml; 4 µ/ml; 2 µ/ml; 1 µ/ml; 0,5 µ/ml; 0,25 µg/ml; 0,125 µ/ml; 0,0625 µ/ml; o 0,03125 µg/ml en un medio de cultivo presente en cada pocillo. La incubación de hongos con estos compuestos se realizó durante 48 horas a una temperatura de 30 a 35 °C.

5.2.b Cultivo de cepas bacterianas

La metodología usada para ensayar la sensibilidad del agente fue microdilución en caldo de acuerdo con el método descrito en el Estándar M7-A6 (Metodología de los ensayos de sensibilidad a agentes antimicrobianos por dilución para las bacterias con crecimiento aeróbico - 6ª Edición: NCCLS, volumen 23, n.º 2, Estados Unidos, 2003), como se indica a continuación.

Las cepas bacterianas se cultivaron de acuerdo con el punto 5.1.b con el fin de obtener un cultivo que contenía entre 1×10^7 y 5×10^7 UFC/ml. Después, las suspensiones se diluyeron en medio de cultivo Mueller Hinton a una concentración final de 5×10^4 UFC/ml.

Las suspensiones diluidas se inocularon en 0,1 ml por duplicado en placas de 24 pocillos. El procedimiento se realizó en un flujo laminar.

Los compuestos a ensayar se añadieron en una dilución seriada, por duplicado, a concentraciones finales de 16 µ/ml; 8 µ/ml; 4 µ/ml; 2 µ/ml; 1 µ/ml; 0,5 µ/ml; 0,25 µg/ml; 0,125 µ/ml; 0,0625 µ/ml; o 0,03125 µg/ml en 0,9 ml de medio de cultivo presente en cada orificio.

La incubación de hongos con estos compuestos se realizó durante 24 horas a una temperatura de 30 a 35 °C.

Después de la incubación, se observó un crecimiento microbiano a simple vista con respecto a la turbidez o presencia de depósito en el fondo del tubo. Se ha de acordar en este experimento que el medio turbio representa el resultado del crecimiento microbiano y la presencia de depósito y un medio transparente representa la ausencia de crecimiento microbiano. La concentración inhibitoria mínima (CIM) se definió como la menor concentración de fármaco ensayada que impide cualquier grado de crecimiento bacteriano.

Los compuestos de la presente invención BL123 y BL137 mostraron que ejercen un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de tres especies diferentes de levadura y dos especies distintas de bacterias como se muestra en la Tabla 6 a continuación.

(Tabla 6: MIC para cepas de levaduras y bacterias)

	Cepas	Microorganismos	Miconazol (µg/ml)	BL-123	BL-137
XIV	10231	<i>Candida albicans</i>	4,0	8,0	512,0
XV	22019	<i>Candida parapsilosis</i>	2,0	4,0	512,0
XVI.	2001	<i>Candida glabrata</i>	0,125	0,125	512,0
XVII.	12228	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2,0	4,0	128,0
XVIII	6538	<i>Staphylococcus aureus</i>	2,0	4,0	128,0

A partir de lo observado en este experimento se concluye que los compuestos de la presente invención poseen un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de microorganismos y, por lo tanto, pueden usarse como antimicrobianos, preferiblemente contra hongos y bacterias. Se entiende por antimicrobiano cualquier agente que sea un producto químico que destruya o inhiba el crecimiento de microorganismos tales como hongos, bacterias y/o protozoos, o que tiene la capacidad de destruir virus.

Los ejemplos de hongos contra los que los compuestos de esta invención están destinados pueden ser, pero sin limitación, los géneros: *Aspergillus*, *Microsporium*, *Epidermophyton*, *Trichophyton*, *Candida*, *Phycomyces*, *Zygomycetes*, *Rhizopus*, *Mucor*, *Absidia*, *Malassezia*, *Exophiala*, *Piedraia*, *Trichosporum*, *Sporothrix*, *Cladosporium*, *Phialophora*, *Fonsecaea*, *Histoplasma*, *Coccidioides*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Blastomyces*, *Cryptococcus*, *Paracoccidioides*, *Scedosporium*, *Sacharomyces*, *Piedraia*, *Actinomyces*, *Keratinomyces*, *Nannizia*, *Arthroderma*, *Ctenomyces*, *Olpidium*, *Physodema*, *Synchytrium*, *Phytophthora*, *Verticillium*, *Gliocladium*, *Rhytisma*, *Sclerotinia*, *Ophiostoma*, *Lophodermium*, *Elsinoe*, *Capnodium*, *Mycosphaerella*, *Venturia*, *Gaeumannomyces*, *Alternaria*, *Bipolaris*, *Botrytis*, *Cercospora*, *Diplodia*, *Dreschlera*, *Exerohilum*, *Phoma*, *Phomopsis*, *Rhisoctonia*, *Puccinia*, *Erysph*, *Phyllactinia*, *Uncinula*, *Phragmidium*, *Melampsora*, *Eutypha*, *Hypoxylon*, *Xylaria*, *Ceratobasidium*, *Heterobasidium*, *Thanatephorus*, *Armillaria*, entre otros.

Los ejemplos de bacterias contra las que los compuestos de esta invención están destinados pueden ser de los géneros *Actinomyces*, *Corynebacterium*, *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Bacillus*, *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Erysipelothrix*, *Listeria*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Pneumococcus*, *Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Neorickettsia*, *Wolbachia*, *Bacterioides*, *Bartonella*, *Bordetella*, *Borrelia*, *Brucella*, *Burkholderia*, *Campylobacter*, *Chlamydia*, *Chlamydomphila*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia*, *Yersinia*, *Fusobacterium*, *Helicobacter*, *Acinetobacter*, *Mycoplasma*, *Ureaplasma*, *Neisseria*, *Meningococcus*, *Actinobacillus*, *Haemophilus*, *Pasteurella*, *Pseudomonas*, *Rickettsia*, *Treponema*, entre otros.

Los ejemplos de protozoos contra los que los compuestos de esta invención están destinados, pueden ser de los géneros: *Plasmodium*, *Toxoplasma*, *Balantidium*, *Coccidia*, *Cryptosporidium*, *Cylospora*, *Isospora*, *Sarcocystis*,

Babesia, Theileria, Dientamoeba, Giardia, Leishmania, Acanthamoeba, Blastocystis, Anaplasma, Ehrlichia, Trichomonas, Trypanosoma, Giardia, Entamoeba, entre otros.

5 Los compuestos descritos en la presente invención, así como sus sales, solvatos, ésteres, enantiómeros y/o diastereoisómeros farmacéuticamente aceptables, pueden usarse en la fabricación de un fármaco para el tratamiento y/o prevención de afecciones y/o enfermedades asociadas a microorganismos tales como hongos, bacterias y/o protozoos. Además, los compuestos descritos en la presente invención, así como sus sales, solvatos, profármacos, ésteres, enantiómeros y/o diastereoisómeros farmacéuticamente aceptables pueden usarse en la fabricación de una medicina para la inhibición de la proliferación y/o supervivencia de microorganismos, tales como
10 hongos, bacterias y/o protozoos, particularmente de microorganismos patógenos.

Por lo tanto, la presente invención proporciona una cantidad eficaz de al menos un compuesto descrito en la fórmula (I) de la presente invención y sus sales, solvatos, ésteres, enantiómeros y/o diastereoisómeros farmacéuticamente aceptables o mezclas del mismo para su uso en el tratamiento y/o prevención de afecciones y/o enfermedades asociadas a microorganismos tales como hongos, bacterias y/o protozoos, por ejemplo, dermatofitos, levaduras, hongos no dermatofitos filamentosos, bacterias Gran negativas y Gran positivas, y protozoos en un mamífero.
15

La presente invención también proporciona los compuestos de fórmula (I) para su uso en un procedimiento para la inhibición de la proliferación y/o supervivencia de microorganismos, tales como hongos, bacterias y/o protozoos, particularmente microorganismos patógenos.
20

Por lo tanto, dada su eficacia probada, se considera que los compuestos de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos son de interés en terapia, específicamente en el tratamiento y/o la prevención de afecciones y/o enfermedades en individuos asociadas a microorganismos, tales como hongos, bacterias y/o protozoarios. Se entiende por individuo el organismo que representa tanto una unidad fisiológica totalmente independiente como un genotipo único.
25

Las enfermedades que afectan a los hombres, cuando son causadas por patógenos fúngicos, se denominan micosis. Las micosis pueden clasificarse en tres grupos dependiendo del lugar y la profundidad en la que aparecen en el cuerpo, que son: (i) micosis superficiales: infección sobre la superficie de la piel, uñas, vello, mucosas y/o cabellos; (ii) micosis subcutáneas: causadas por hongos capaces de penetrar en las capas profundas de la piel, tales como tejido subcutáneo, tejido conectivo y tejido óseo; y (iii) micosis sistémicas (o profundas): infecciones fúngicas más severas e invasivas que pueden ser adquiridas por la inhalación de esporas de hongos patógenos que permanecen y crecen en los pulmones o alcanzan el torrente sanguíneo, y que pueden infectar otros órganos internos del organismo.
30
35

Las micosis superficiales principales están causadas por hongos dermatofitos y se denominan dermatofitosis. Los ejemplos de dermatofitosis más comunes pueden ser: (i) tiña captis (cuero cabelludo) causada por diversos dermatofitos, tales como *M. canis* (tiña captis microspórica), *T. tonsurans* (tiña tonsurante), *T. mentagrophytes*, *E. floccosum*, *M. gypseum* (Querión), *T. violaceum*, *T. schoenleinii* (pie de atleta de tiña captis) *T. verrucosum*, y *T. schonleinii* (tiña de peines), (ii) tinea barbae (barba) causada por *T. rubrum* y *T. mentagrophytes* (iii) tinea corporis (piel lampiña) causada con mayor frecuencia por *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* y *M. kennels*, (iv) pie de atleta (pies y manos), causado a menudo por *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* y *E. floccosum* (v) tinea cruris (zona inguinal) causada por *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* y *E. floccosum* (vi) tiña del oído causada por *M. kennels*, (vii) imbricate tinea causada por *T. concentricum* (viii) tiña de la uña (Onicomycosis) causada principalmente por diversos dermatofitos de los géneros *Trichophyton*, *Epidermophyton*, rara vez por *Microsporum*;
40
45

Además, los hongos que no son naturalmente patógenos a los humanos pueden desarrollar infecciones oportunistas, secundariamente a otras afecciones preexistentes y debilitantes del sistema inmunológico del huésped. Los principales ejemplos de hongos que causan las infecciones oportunistas son: (i) hongos filamentosos, que pertenecen principalmente a los géneros *Aspergillus sp*, *Fusarium sp*, *Scedosporium sp*, Mucorales y Dematiaceous y (ii) levadura, que pertenecen principalmente a los géneros *Candida sp*, *Cryptococcus sp*, *Trichosporon sp*, *Rhodotorula SP*, *Malassezia sp* y *Saccharomyces sp*.
50

Los ejemplos de dermatosis clínicamente relevante causada por otros hongos filamentosos oportunistas, pueden ser (i) pitiriasis versicolor (piel) causada por *Malassezia furfur*, (ii) foliculitis pitirospórica causada por la infección del hongo *Malassezia furfur* en los folículos pilosebáceos; (iii) tiña negra (palmas de las manos o puntas de los dedos), causada por *Cladosporium werneckii* (iv) piedra negra (pelo) causada por el hongo *Piedraia hortai*.
55

Además, también se pueden citar ejemplos de las enfermedades causadas por los hongos levaduriformes oportunistas, tales como (i) tricosporonosis, causada por el hongo levaduriforme *Trichosporon beigeli* subdividida en piedra blanca (pelo) y tricosporonosis génito-inguinal (erupción en la zona génito-inguinal), (ii) candidiasis, causada por las levaduras del género *Candida sp*, siendo el más frecuente *C. albicans*, pero también puede encontrarse en las especies *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii* y las candidiasis se pueden subdividir en candidiasis oral, candidiasis vulvo-vaginal, candidiasis balanoprepucial, candidiasis intertriginosa, candidiasis mucocutánea y candidiasis folicular.
60
65

Entre las micosis profundas se encuentran: (i) paracoccidioidomicosis, causada por *Paracoccidioides brasiliensis*, que se manifiesta a través de las formas tegumentarias o cutáneo-mucosas, formas linfonodulares, formas viscerales y en otros órganos y formas mixtas, (ii) lobomicosis, causada por *Paracoccidioides loboii* (iii) cromomicosis o cromoblastomicosis, causada por hongos pigmentados tales como *Fonsecaea pedrosoi*, *Fonsecaea compacta*, *Cladosporium cartionii*, *Phialophora verrucosa* y *Rhinocladiella aquaspersa*; (iv) esporotricosis, causada por *Sporothrix schenckii* y se manifiesta en las formas cutáneas y formas extra-cutáneas; (v) Eumicetoma o maduromicosis, causada por diversos hongos dentro de los cuales se encuentran *Pietriellidium boydii*, *Cephalosporium sp*, *Madurella sp*, *Pirenochaeta sp*, *Exophiala sp*; (vi) histoplasmosis, causada por *Histoplasma capsulatum*, (vii) Feohifomicosis causada por los hongos *Exophiala jeanselmei*, *Wangiella dermatitis*, *Cladosporium bantiasenum*, *Alternaria alternada*, *Exophiala moniliae*, *Exophiala spinifera*, *Phialophora verrucosa*, *Phloma sp*, *Curvularia geniculata*, *Mycelia sterilia*; (viii) entomofotoromicosis causada por los hongos *Basidiobolus haptosporus*, *Conidiobolus coranatus* o *Conidiobolus incongruus*; (ix) mucormicosis, causada por los hongos *Absidia corymbifera*, *Rhizomucor pussilus*, *ramossimus Mucor*, *Rhizopus microsporus*, *Rhizopus oryzae*, *Rhizopus rhizopodiformis*, *Cunninghamella Berthollet*, *Saksenae vasiformis*; (x) criptococosis, causada por *Cryptococcus neoformans*; (xi) coccidioidomicosis, causada por *Coccidioides immitis* (xii) blastomicosis norteamericana, causada por *Blastomyces dermatitis*, (xiii) Rinosporidiosis, causada por *Rhinosporidium seeberi*.

Más particularmente, los compuestos de fórmula (I) de esta invención pueden usarse, pero sin limitación, para el tratamiento o prevención de afecciones y/o enfermedades, tales como tiña captis microspórica, tiña tonsurante, Querión, pie de atleta de tiña captis, tiña "haba", tinea barbae, tinea corporis, pie de atleta, tinea cruris, tiña del oído, imbricate tinea, tiña de las uñas, pitiriasis versicolor, foliculitis pitirospórica, tiña negra, piedra negra, candidiasis oral, candidiasis vulvo-vaginal, candidiasis balanoprepucial, candidiasis intertriginosa, candidiasis folicular y/o candidiasis mucocutánea.

Las enfermedades causadas por los hongos que atacan a las plantas poseen relevancia ya que los parásitos destruyen las mismas, y aparecen principalmente en las plantas cultivadas, lo cual ocasiona daños significativos en el agrocultivo. Estas enfermedades pueden denominarse roya, moho u hollín según el agente que las causó, y algunos hongos también pueden producir toxinas-micotoxinas. Las micotoxinas pueden causar enfermedades en los hombres, tal como aflatoxina, producida por *Aspergillus flavus* que son cancerosas para el hombre.

Los ejemplos de afecciones y/o enfermedades asociadas a bacterias que pueden tratarse y/o prevenirse administrando los compuestos de esta invención pueden ser, pero sin limitación: actinomicosis, enfermedad de Whipple, difteria, eritrasma leprosa, úlcera de Buruli, paratuberculosis, tuberculosis, tuberculoma, pericarditis, eritema, micetoma, antrax, botulismo, enterocolitis, enterotoxemia, gangrena gaseosa, tétanos, erisipela, meningitis, neumonía, furunculosis, impétigo, endocarditis, fiebre reumatoide, anaplasmosis, erliquiosis, angiomas, brucelosis, melioidosis, conjuntivitis, linfogranuloma venéreo, tracoma, psitacosis, disentería, granuloma, fiebre tifoidea, fiebre paratifoidea, gingivitis, legionelosis, leptospirosis, pleuropneumonía, gonorrea, tífus, pinta, sífilis, cáncer, neurosífilis, tularemia, cólera, entre otros.

Los ejemplos de afecciones y/o enfermedades asociadas a protozoos que pueden tratarse y/o prevenirse administrando los compuestos de esta invención pueden ser, pero sin limitación: Malaria, toxoplasmosis, balantidiasis, coccidiosidiosis, criptosporidiosis, ciclosporiasis, isosporiasis, sarcocistosis, babesiosis, tripanosomiasis, teileriosis, tripanosomiasis, Dientamoebiasis, giardiasis, leishmaniasis, tricomoniasis, enfermedad de Chagas, amebiasis, disentería amiboidal, entre otros.

Los compuestos descritos en la fórmula (I) de la presente invención y sus sales, solvatos, profármacos, ésteres, enantiómeros y/o diastereoisómeros farmacéuticamente aceptables pueden administrarse por cualquier medio apropiado, tal como por vía tópica, oral, parenteral, intraperitoneal y/o vaginal.

Las composiciones farmacéuticas que comprenden como principio activo una cantidad eficaz de los derivados de fórmula (I), o sus sales, solvatos, ésteres, enantiómeros y/o diastereoisómeros farmacéuticamente aceptables, en solitario o en una mezcla de al menos dos compuestos de fórmula (I) de la presente invención, pueden estar presentes en forma de un líquido, semisólido o sólido, tales como, pero sin limitación (i) cremas, geles, gel-cremas, hidrogeles, polvos, pomadas, lociones o emulsiones; (ii) capsulas opcionalmente revestidas, masticables, efervescentes, multicapa o solubles; (iii) cápsulas de cualquier tipo, tales como, cápsula dura de tipo gelatina, cápsula blanda de tipo gelatina, y almidón; (iv) cápsulas; (v) polvos dispersables o efervescentes; (vi) comprimidos; (vii) gránulos, opcionalmente en forma de micropartículas o microcápsulas, o en preparaciones vectorizadas, tales como liposomas; (viii) soluciones opcionalmente tópicas, orales, nasales u oftálmicas; (ix) supositorios; (x) jarabes; (xi) suspensiones; (xii) inyectables, incluyendo administración por vía subcutánea, intradérmica, intramuscular e intravenosa, entre otras.

También se incluyen en la presente invención las composiciones farmacéuticas de acción controlada, acción rápida, acción prolongada y acción retardada.

Las composiciones farmacéuticas, así como el fármaco que comprende los compuestos descritos en la presente invención, así como sus sales, solvatos, ésteres, enantiómeros y/o diastereoisómeros farmacéuticamente aceptables

se usan para tratar afecciones causadas por hongos y/u otros microorganismos, tales como bacterias y/o protozoos en un mamífero.

5 Las composiciones farmacéuticas que comprenden como principios activos los compuestos descritos en la presente invención, así como sus sales, solvatos, ésteres, enantiómeros y/o diastereoisómeros farmacéuticamente aceptables, pueden comprender estos compuestos en solitario o en mezclas de los mismos, y junto con otro principio activo.

10 Para la administración en mamíferos en el tratamiento curativo o profiláctico de las afecciones causadas por hongos y/u otros microorganismos, tales como bacterias y/o protozoos, las dosis de los compuestos descritos en la fórmula (I) están comprendidas en el intervalo de 0,001 a 1000 mg al día para un paciente que lo necesite. En la práctica, el médico deberá determinar el sistema de dosis unitaria más adecuado para cada paciente, que varía dependiendo de la edad, peso y respuesta individual.

15 Los ejemplos que pueden ilustrar algunas formulaciones farmacéuticas tópicas que comprenden los compuestos de fórmula (I) de acuerdo con la presente invención pueden ser, pero sin limitación, los descritos a continuación.

EJEMPLO 6

20

Tabla 7: Formulación en forma de crema antifúngica

Descripción	Cantidad para 100 g de producto	Unidad
BL-123	1.000	g.
Alcohol cetílico	6.000	g.
Lanolina anhidra	6.000	g.
Miristato de isopropilo	10.000	g.
Monoestearato de propilenglicol	4,000	g.
Metilparabeno	0,100	g.
Monostearato de sorbitán	4,000	g.
Propilenglicol	10.000	g.
Propilparabeno	0,050	g.
Polisorbato 60	6.000	g.
FRAGRANCIA	0,00 a 0,50	g.
DMSO (dimetilsulfóxido)	0,00 a 5,00	g.
Agua purificada QSP	100.000	g.

Procedimiento:

25 En un primer recipiente se calentó agua a $75\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ y se disolvieron metilparabeno y propilparabeno. En un segundo recipiente, se calentaron lanolina anhidra, polisorbato 60, monoestearato de sorbitán, alcohol cetílico, monoestearato de propilenglicol y miristato de isopropilo a $75\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta una fusión completa. El contenido del primer recipiente se añadió al contenido del segundo recipiente en agitación y después se enfrió a $45\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$. A esta mezcla se le añadieron lentamente BL-123 activo, propilenglicol, y opcionalmente DMSO. La mezcla obtenida se enfrió hasta que la temperatura de $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($25\text{-}35\text{ }^{\circ}\text{C}$) y se le puede añadir opcionalmente una fragancia. El peso se completó con agua y la mezcla se homogeneizó.

30

EJEMPLO 7

Tabla 8: Formulación antifúngica en forma de polvo

Descripción	Cantidad para 100 g de producto	Unidad
BL-123	1,000	g.
Dióxido de silicio coloidal	1,00	g.
ÓXIDO DE CINCO	5,00	g.
FRAGRANCIA	0,00 a 0,50	g.
TALCO (NIVEL FARM.) QSP	100,00	g.

35

Se mezclaron el dióxido de silicio y la fragancia y después se pasaron a través de un tamiz de malla 60. En un recipiente separado, el BL-123 activo, óxido de cinc y talco de calidad farmacéutica se mezclaron y se pasaron a través del tamiz de malla 40. Después de este proceso, los polvos se mezclaron.

40 EJEMPLO 8

Tabla 9: Formulación en forma de loción antifúngica

Descripción	Cantidad para 100 ml de producto	Unidad
BL-123	1,00	g.
Macrogol 300	50,00	g.

Descripción	Cantidad para 100 ml de producto	Unidad
FRAGRANCIA	0,00 a 0,50	g.
DMSO (dimetilsulfóxido)	0,00 a 5,00	g.
Propileno QSP	100,00	ml

En un recipiente con capacidad adecuada se añadieron macrogol 300 y propilenglicol y se calentaron a una temperatura de 60 °C a 70 °C. A continuación, en agitación, se añadieron los principios activos BL-123 y, opcionalmente, DMSO, a una temperatura de 60 °C-70 °C y se mezclaron hasta obtener una completa disolución. La mezcla se enfrió a 30 °C y, opcionalmente, se puede añadir una fragancia. El volumen final se completó con propilenglicol y se mezcló hasta obtener una loción.

Los compuestos considerados como antifúngicos pueden asociarse a dianas como se describe, pero sin limitación: [Amaral, AC y col. "Therapeutic targets in Paracoccidioides brasiliensis: post-transcriptome perspectives" Gent Mol Res 4 (2): 430-449, 2005]

(i) sintasas, tales como (a) 1,3-glucano sintasa relacionada con la virulencia de los hongos y (b) quitina sintasa implicada en la síntesis de quitina de aparición exclusiva en hongos; y

(ii) enzimas remodeladoras, tales como (a) manosiltransferasa que es importante para la estructura de la pared celular, la adhesión y la virulencia; (b) transglucosidasas implicadas en la arquitectura final del hongo, y (c) hidrolasas que tienen múltiples funciones en los eventos morfológicos.

(iii) componentes de la membrana plasmática, tales como: (a) esterol ergosterol que es esencial en la membrana citoplasmática, siendo el mismo de aparición exclusiva en hongos; (b) los componentes de la ruta de los esfingolípidos tal como inositol fosforil ceramida que son hongos distintos; y (c) ATPasas de protón que son esenciales para el mantenimiento de la homeostasis celular a través de la regulación del intercambio iónico de la célula

(iv) componentes moleculares, tales como, (a) topoisomerasas, que son enzimas que actúan sobre la replicación, transcripción, recombinación y segregación de los cromosomas, y cuyas diferencias entre las células humanas y de levadura pueden aprovecharse por el modelado molecular; (b) factores de elongación que se requieren para la síntesis proteica; por ejemplo, el factor de elongación 3 que está presente en los hongos y ausente en otros organismos, incluyendo seres humanos; (c) Hsp90, que es una proteína altamente conservada entre los diferentes organismos y está aparentemente asociada a la patogenicidad de los hongos; (d) N-miristoiltransferasa, responsable de la transferencia de miristato al residuo de glicina amino-terminal de varias proteínas de células eucariotas, siendo esencial para la supervivencia de los hongos y cuyas diferencias entre las formas humana y fúngica ya se han revelado; y (e) preniltransferasas, responsables de la prenilación de las proteínas que participan en una diversidad de funciones celulares, tales como el crecimiento celular, la diferenciación, la transducción de señales, entre otros, que poseen similitudes deficientes con las formas humanas.

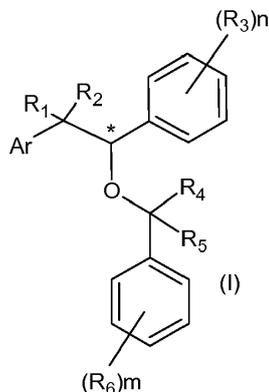
(v) proteínas implicadas en la señalización celular, tal como (a) calcineurina, una fosfatasa específica para serina-treonina, conservada entre eucariotas y que desempeña un papel crucial para mantener la homeostasis celular a través del control del calcio intracelular en condiciones de estrés, está asociada a la virulencia del hongo, y (b) TOR, que son proteínas relacionadas con la fosfatidilinositol cinasa conocidas por su participación en el crecimiento celular en respuesta a las señales mitógenas.

(vi) componentes del metabolismo celular, tales como (a) ciclo del glioxilato, que es una vía alternativa en la que el hongo obtiene energía, las enzimas isocitrato liasa y malato sintasa participan en el proceso; (b) ureasa, que es una metaloenzima responsable de la hidrólisis de urea en carbamato, aumentando el pH. El mismo es un factor patógeno fúngico, que está ausente en los seres humanos, y (c) urato oxidasa, es una enzima de la vía de degradación de purinas y que está implicada en el secuestro de los radicales libres de los hongos que ejerce un papel esencial en su supervivencia, y estando esta ruta ausente en los seres humanos.

(vii) genes esenciales, tales como (a) Cdc28 y (b) Civl que están implicados en el ciclo celular básico de los hongos.

REIVINDICACIONES

1. Compuestos bencil aralquil éteres, caracterizados por ser de fórmula (I):



5

sus sales, solvatos, ésteres, enantiómeros y/o diastereoisómeros farmacéuticamente aceptables, en la que:

- Ar es imidazolilo;
- R₁, R₂, R₄ y R₅ son independientemente hidrógeno;
- R₃ es un halógeno;
- R₆ es trifluorometilo o triclorometilo;
- n es un número entero de 0 a 2;
- m es 1.

10

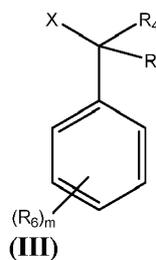
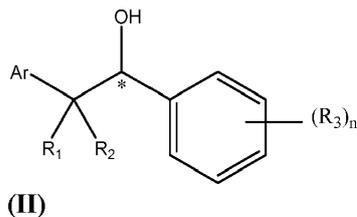
15

2. Compuestos como se ha definido en la reivindicación 1, en los que estos están en forma de sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables.

20

3. Compuestos como se ha definido en la reivindicación 1, en los que el compuesto es 1-[2-(2,4-diclorofenil)-2-[[4-(trifluorometil)bencil]oxi]etil]-1H-imidazol o sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

4. Proceso para preparar los compuestos definidos en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que comprende hacer reaccionar el compuesto de fórmula (II) y el compuesto de fórmula (III):



25

en un medio de reacción adecuado; en las que:

- Ar representa imidazolilo;
- R₁, R₂, R₄ y R₅ son independientemente hidrógeno;
- R₃ es halógeno;
- R₆ es trifluorometilo o triclorometilo;
- n es un número entero de 0 a 2;
- m es 1
- y donde X se selecciona entre Cl, Br, I, metanosulfonato o sulfonato de tolueno.

30

35

5. Proceso de acuerdo con la reivindicación 4, en el que el medio de reacción comprende:

- (a) un disolvente orgánico polar,
- (b) una solución de base fuerte a una concentración que varía del 20 % al 70 % (p/v) y
- (c) una sal básica orgánica a una concentración que varía de 0,001 a 0,1 g/ml en volumen total del medio de reacción.

40

6. Proceso como se ha definido en la reivindicación 5, en el que:

- a) el disolvente orgánico polar se selecciona entre el grupo que consiste en acetona, metil etil cetona, o mezclas de los mismos,
- b) la base fuerte se selecciona entre el grupo que consiste en hidróxido sódico e hidróxido potásico, o
- c) la sal básica orgánica es cloruro de benciltrietilamonio.

5 7. Proceso como se ha definido en la reivindicación 4, en el que dichos intermedios (II) e (III) tienen un grupo protector opcionalmente seleccionado del grupo que consiste en Tritilo, *N,N*-dimetilsulfonamida, *p*-metoxifenilsulfonamida, Bencenosulfonamida, 2,2,2-tricloroetilcarbamato, carbamato de *t*-butilo, *N*-2-cloroetilamina, *N*-trisisopropilsililamina, *N*-2-nitrobencilamina y/o *N*-2-tetrahidropiranilamina.

10 8. Uso de los compuestos que se han definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 en la preparación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de afecciones y/o enfermedades asociadas a microorganismos.

15 9. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 para su uso en el tratamiento y/o prevención de afecciones y/o enfermedades asociadas a microorganismos.

10. Uso de acuerdo con la reivindicación 8, o el compuesto de acuerdo con la reivindicación 9, en el que:

- a) los microorganismos son hongos,
- b) los microorganismos son bacterias, o
- c) los microorganismos son protozoos.

25 11. Composición farmacéutica que comprende como principio activo al menos un compuesto definido en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

25 12. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 11, en la que dicho compuesto es 1-[2-(2,4-diclorofenil)-2-{4-(trifluorometil)bencil]oxi}etil]-1H-imidazol; o sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

30 13. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 11, en la que la composición farmacéutica es para administración tópica, oral o intravenosa.

FIGURA 1

¹³C – BL-123

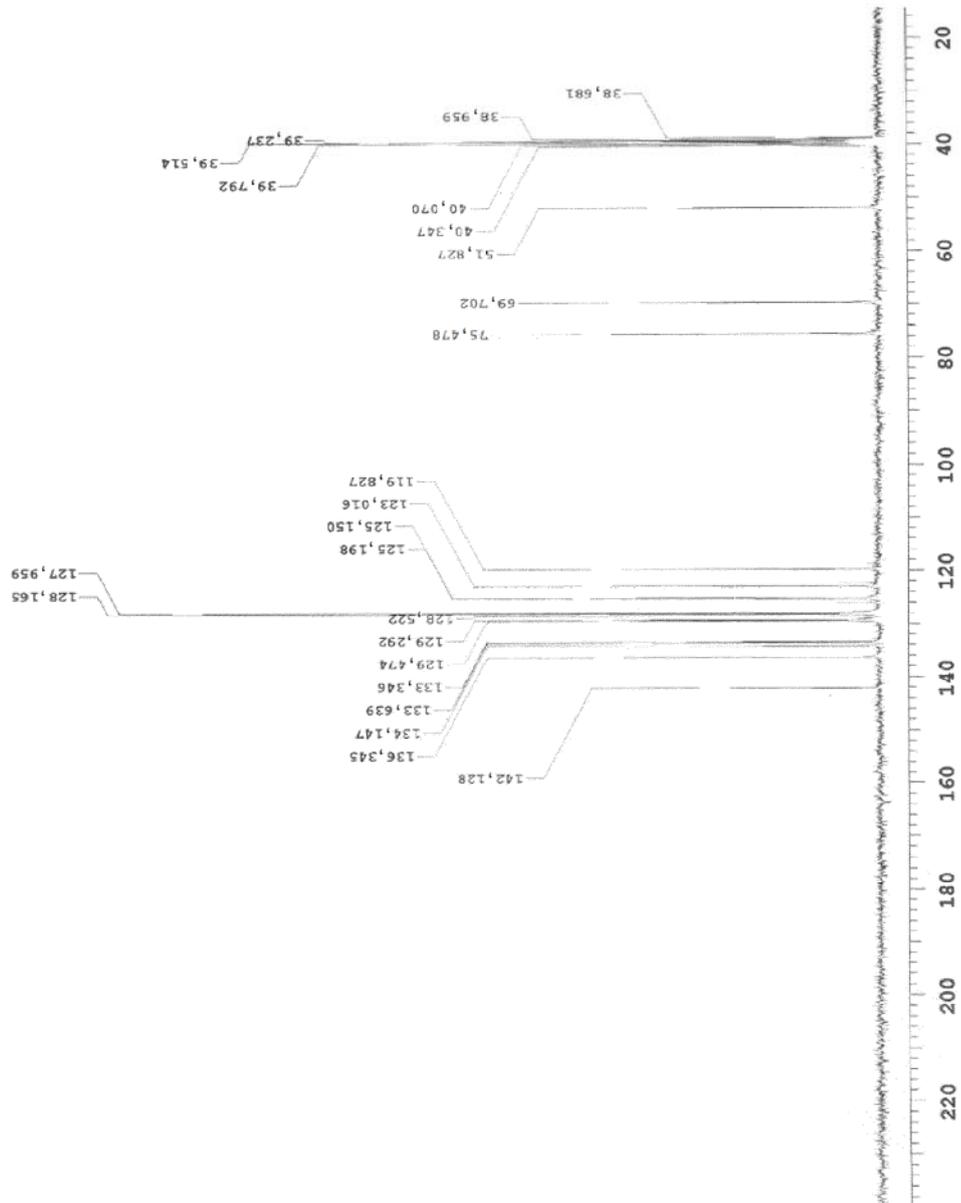


FIGURA 2

¹H - BL-123

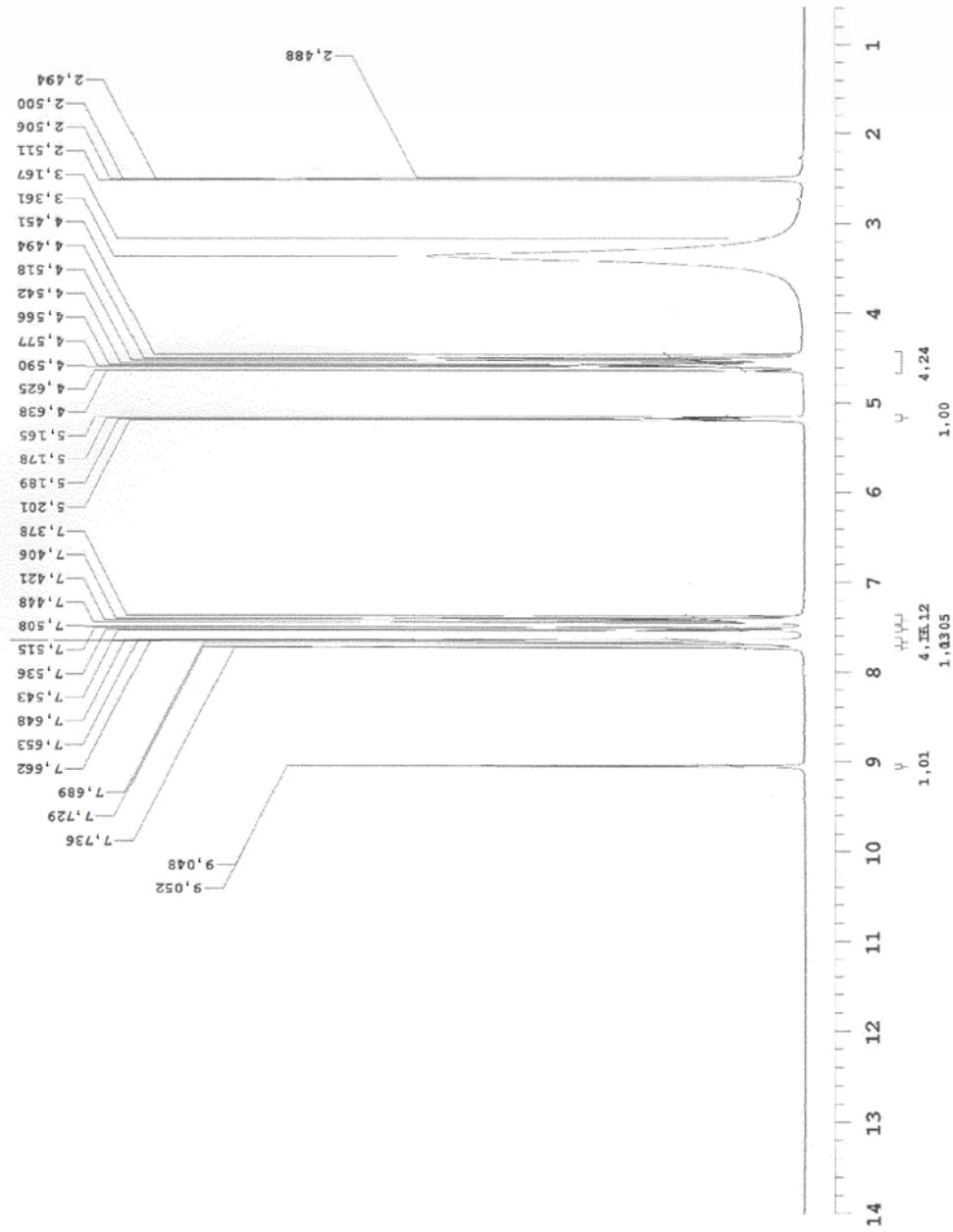


FIGURA 3

^1H - BL-137

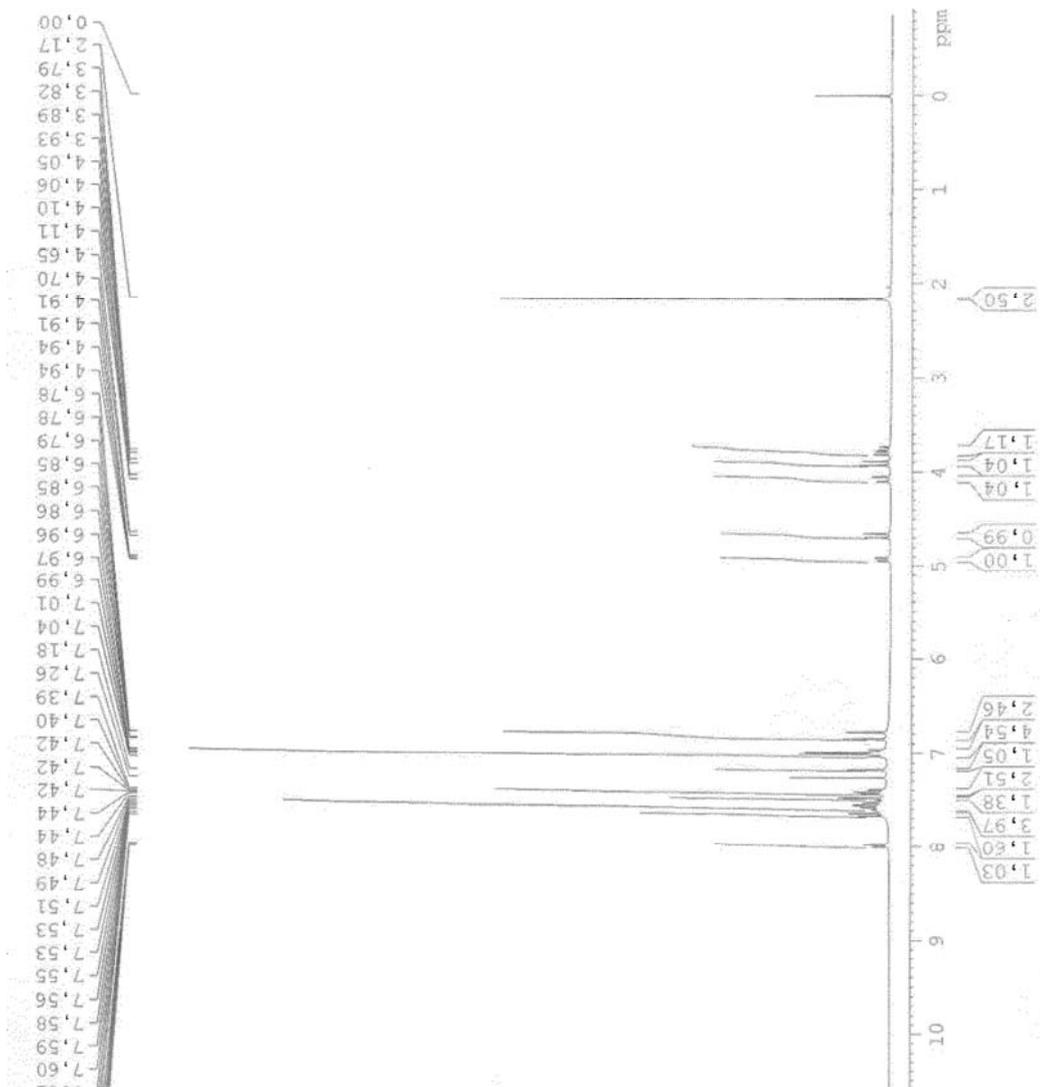


FIGURA 4

^{13}C - BL-137

