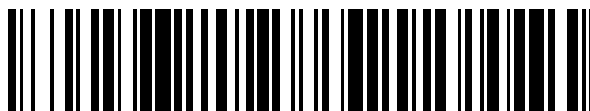


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 658 346**

51 Int. Cl.:

A61K 31/4375 (2006.01)
A61K 31/444 (2006.01)
A61K 31/4545 (2006.01)
A61K 31/4709 (2006.01)
A61K 31/496 (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01)
A61K 38/12 (2006.01)
C07D 455/02 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **31.01.2012 PCT/EP2012/051563**
 87 Fecha y número de publicación internacional: **09.08.2012 WO12104305**
 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **31.01.2012 E 12702023 (8)**
 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.12.2017 EP 2670410**

54 Título: **4-Oxoquinolizinas antimicrobianas**

30 Prioridad:

01.02.2011 US 201161438543 P

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

09.03.2018

73 Titular/es:

**EMERGENT PRODUCT DEVELOPMENT
 GAITHERSBURG INC. (100.0%)
 300 Professional Drive
 Gaithersburg, MD 20879, US**

72 Inventor/es:

**HEIM, JUTTA;
 SCHNEIDER, PETER;
 ROUSSEL, PATRICK;
 MILLIGAN, DANIEL;
 BARTELS, CHRISTIAN y
 DALE, GLENN**

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

Observaciones:

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

ES 2 658 346 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

4-Oxoquinolizinas antimicrobianas

5 CAMPO DE LA INVENCION

Esta invención se refiere a 4-oxoquinolizinas en combinación con concentraciones subinhibitorias de polimixina B.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

10

Descripción de la técnica relacionada

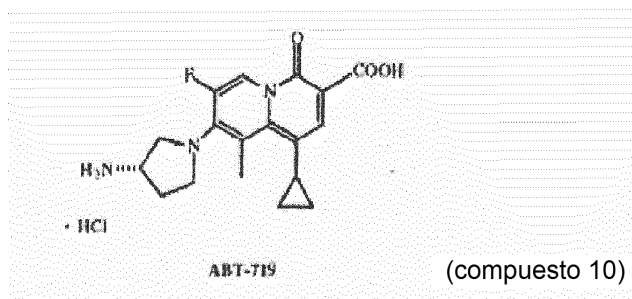
Las quinolonas de segunda generación, tal como Ciprofloxacina, son ampliamente aceptadas para el tratamiento de infecciones bacterianas de los tractos respiratorio y urinario, la piel y los tejidos blandos. Tienen buenos perfiles farmacocinéticos, actividades potentes contra una amplia gama de patógenos Gram-positivos y Gram-negativos, y se usan ampliamente en entornos hospitalarios y comunitarios. Sin embargo, el aumento de la frecuencia de la resistencia bacteriana a las quinolonas ha llevado a una necesidad urgente de nuevos análogos para superar la resistencia a los antibióticos.

20 Las 2-piridonas tienen el potencial de mostrar un nuevo mecanismo de acción con actividad antibacteriana de amplio espectro y propiedades de tipo fármaco favorables para convertirse en los primeros miembros de 2-piridona en dicho uso clínico. Las 2-piridonas están relacionadas de forma lejana con las quinolonas, pero con un núcleo heterocíclico diferente y una distribución electrónica diferente sobre la molécula que conduce a cambios significativos en la reactividad química.

25

En 1994, Abbott informó que los análogos de 2-piridona eran eficaces contra ciertos microorganismos resistentes a las quinolonas (34th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC, documento F41), 1994; documento US 5.789.591), específicamente ABT-719, una 4-oxoquinolizina (también descrita en el presente documento como el compuesto 10)

30



que posee una potente actividad antibacteriana contra los patógenos Gram-positivos y Gram-negativos. Más recientemente, Sato describió una familia de 4-oxo-quinolizinas en un andamiaje de 2-piridona (documentos US 6.525.066; US 7.223.773) que muestra una fuerte actividad antibacteriana contra bacterias Gram-positivas y Gram-negativas y anaerobias.

Existe una necesidad continua de compuestos antimicrobianos que tengan una potente actividad contra muchos patógenos, particularmente los multirresistentes.

40

El documento EP 1437354 A1 describe agentes antibacterianos sintéticos que tienen efectos antibacterianos sobre bacterias gram positivas, bacterias gram negativas y bacterias anaerobias. Los agentes antibacterianos son agentes de 4-oxoquinolizina que tienen un esqueleto de 2-piridona.

45 El documento EP 1227096 A1 describe agentes antibacterianos sintéticos de 4-oxoquinolizina que tienen efectos antibacterianos contra bacterias gram positivas, bacterias gram negativas y bacterias anaerobias.

El documento JP2003261566 A describe la preparación de derivados de ácido oxo-4H-quinolizina-3-carboxílico para su uso como agentes antibacterianos.

El documento JP2003012670 A describe la preparación de derivados de ácido 1-ciclopropil-8-heterocicliil-4-oxo-4H-quinolizina-3-carboxílico para su uso como agentes antibacterianos.

5 El documento JP2002308876 A describe la preparación de agentes antibacterianos de 4-oxoquinolizina que tienen efectos antibacterianos contra bacterias gram positivas, bacterias gram negativas y bacterias anaerobias.

El documento WO 95/10519 describe compuestos de ácido 4-oxo-4H-quinolizina-3-carboxílico para su uso en el tratamiento de infecciones microbianas y bacterianas, así como composiciones farmacéuticas que contienen estos
10 compuestos.

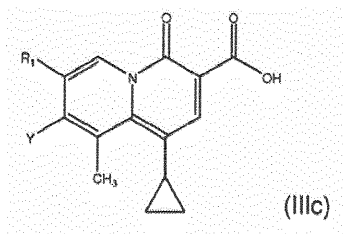
Ma Z et al, "Synthesis and antimicrobial activity of 4h-4-oxoquinolizine derivatives: consequences of structural modification at the C-8 position", Journal of Medicinal Chemistry, American Chemical Society, US, (19990101), vol. 42, doi:10.1021/jm990191k, issn 0022-2623, páginas 4202 - 4213, XP00293606 describen oxoquinolizinas con
15 diversos sustituyentes en la posición C-8 y su eficacia como agentes antibacterianos contra bacterias gram positivas.

Anthony K L Fung et al, "The 2-piridone antibacterial agents: 8-position modifications", Current Pharmaceutical Design, Bentham Science Publishers, NL, (19990701), vol. 5, n.º 7, ISSN 1381-6128, páginas 515 - 543, XP008144110 [X] 51,57-66 describe compuestos de 2-piridona y el efecto que las modificaciones en la posición C-8
20 tienen sobre su actividad antibacteriana.

RESUMEN DE LA INVENCION

Se proporcionan en el presente documentos compuestos de 2-piridona y sus usos como agentes antimicrobianos.
25 Preferiblemente, los compuestos de 2-piridona de la invención con compuestos de 4-oxoquinolizina.

De acuerdo con la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende Polimixina B un compuesto de 4-oxoquinolizina de fórmula IIIc:



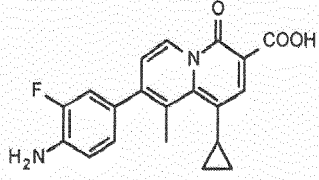
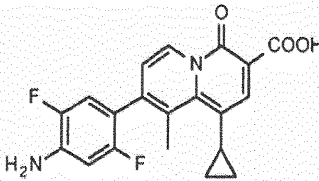
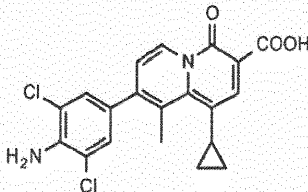
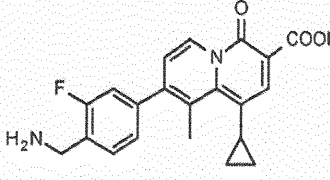
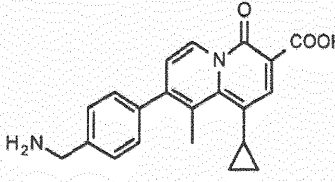
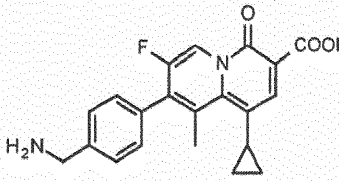
30

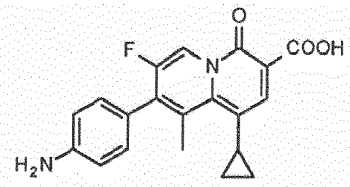
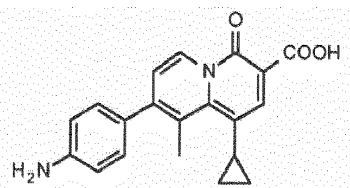
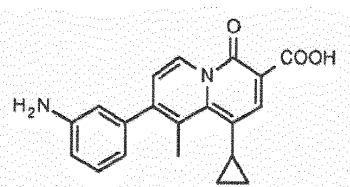
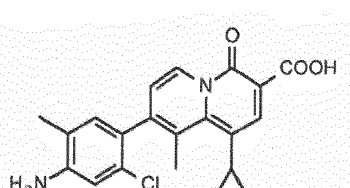
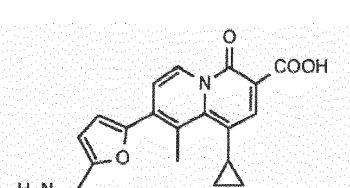
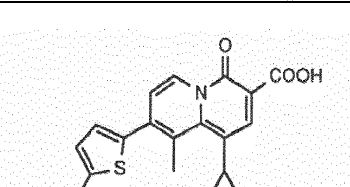
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que

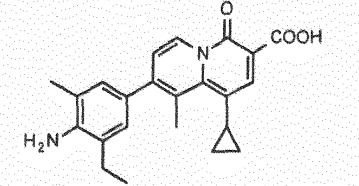
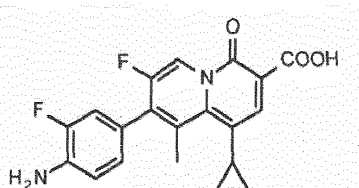
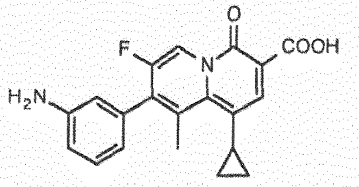
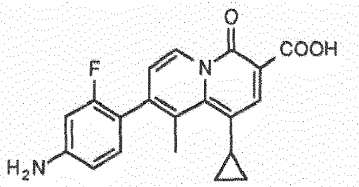
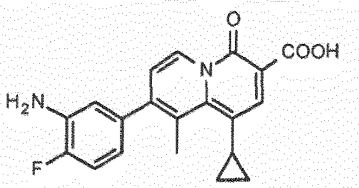
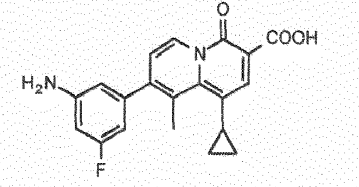
35 R_1 es hidrógeno, halógeno, ciano, alquilo C_{1-8} , haloalquilo C_{1-8} , $-OR^X$, $-N(R^X)_2$, $-C(O)R^X$, $-C(O)OR^X$, o $-C(O)N(R^X)_2$, en la que cada R^X es independientemente hidrógeno, alquilo C_{1-8} , o haloalquilo C_{1-8} ; y
Y es arilo, o heteroarilo, cada uno sustituido con uno a cinco grupos que son $-N(R^{Y1})_2$ o $-alquil\ C_{1-8}-R^Y$ donde R^Y es $-N(R^{Y1})_2$ y está opcionalmente sustituido adicionalmente con uno a cuatro grupos que son
40 cada uno independientemente halógeno, alquilo C_{1-8} , haloalquilo C_{1-8} , cicloalquilo C_{3-8} , heterocicliilo, arilo, heteroarilo, cicloalquil C_{3-8} -alquilo (C_{1-8}), heterocicliil-alquilo (C_{1-8}), aril-alquilo (C_{1-8}), heteroaril-alquilo (C_{1-8}), $-R^Y$, o $-alquil\ C_{1-8}-R^Y$, en la que R^Y es nitro, ciano, $-OR^{Y1}$, $-SR^{Y1}$, $-N(R^{Y1})_2$, $-C(O)R^{Y1}$, $-C(O)OR^{Y1}$, $-C(O)N(R^{Y1})_2$, $-OC(O)R^{Y1}$, $-OC(O)OR^{Y1}$, $-OC(O)N(R^{Y1})_2$, $-N(R^{Y1})C(O)R^{Y1}$, $-N(R^{Y1})C(O)OR^{Y1}$, $-N(R^{Y1})C(O)N(R^{Y1})_2$, $-S(O)_2R^{Y1}$, $-S(O)_2OR^{Y1}$, $-S(O)_2N(R^{Y1})_2$, $-OS(O)_2R^{Y1}$, $-OS(O)_2OR^{Y1}$, $-OS(O)N(R^{Y1})_2$, $-N(R^{Y1})S(O)_2R^{Y1}$, $-N(R^{Y1})S(O)_2OR^{Y1}$, o $-N(R^{Y1})S(O)_2N(R^{Y1})_2$, en la que cada R^{Y1} es independientemente
45 hidrógeno, alquilo C_{1-8} , o haloalquilo C_{1-8} .

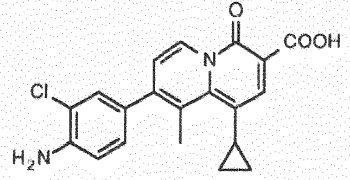
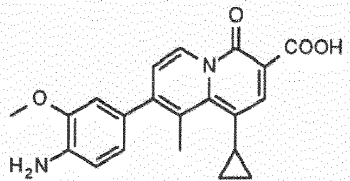
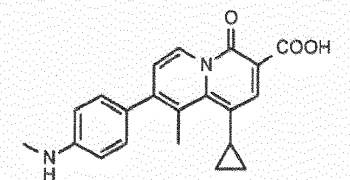
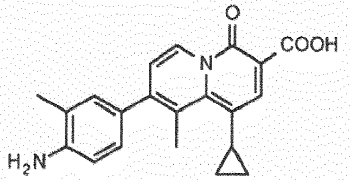
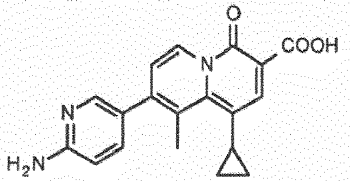
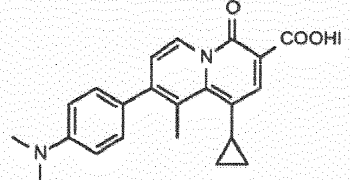
Preferiblemente, R_1 es hidrógeno o halógeno.

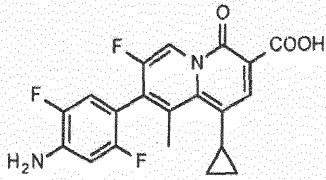
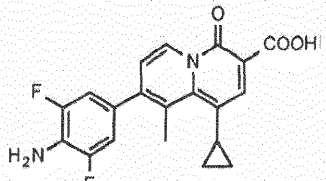
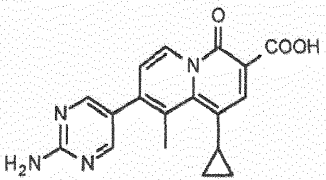
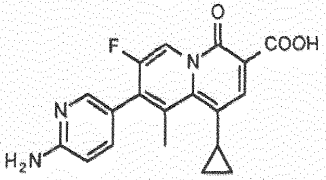
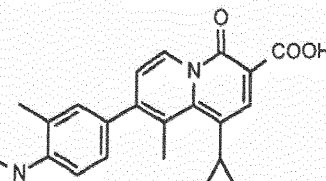
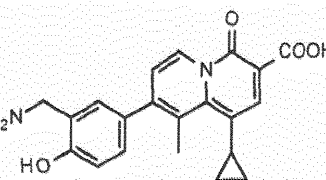
Ventajosamente, el compuesto de 4-oxoquinolizina se selecciona del grupo que consiste en los compuestos:

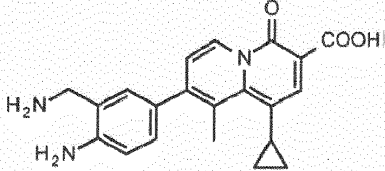
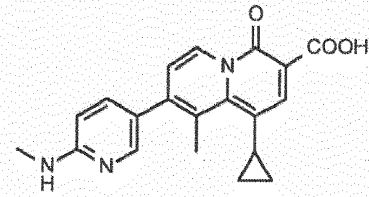
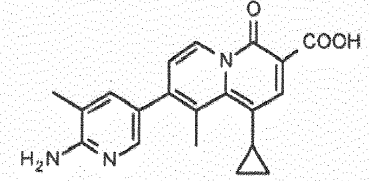
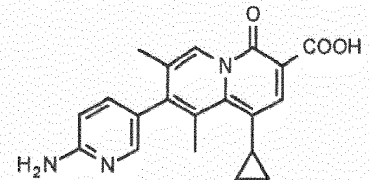
Compuesto 1		ácido 8-(3-fluoro-4-amino-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico
Compuesto 2		ácido 8-(3,6-difluoro-4-amino-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico
Compuesto 3		ácido 8-(3,5-dicloro-4-aminofenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico
Compuesto 4		ácido 8-(3-fluoro-4-aminometilfenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico
Compuesto 5		ácido 8-(4-aminometil-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico
Compuesto 6		ácido 8-(4-aminometil-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico

<p>Compuesto 7</p>		<p>ácido 8-(4-amino-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico</p>
<p>Compuesto 8</p>		<p>ácido 8-(4-amino-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico</p>
<p>Compuesto 9</p>		<p>ácido 8-(3-amino-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico</p>
<p>Compuesto 11</p>		<p>ácido 8-(2-cloro-4-amino-5-metilfenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico</p>
<p>Compuesto 12</p>		<p>ácido 8-[5-aminometil-2-furil]-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico</p>
<p>Compuesto 13</p>		<p>ácido 8-[5-aminometil-2-tienil]-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico</p>

<p>Compuesto 16</p>		<p>ácido 8-(4-amino-3-etil-5-metil-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico</p>
<p>Compuesto 17</p>		<p>ácido 8-(3-fluoro-4-amino-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico</p>
<p>Compuesto 18</p>		<p>ácido 8-(3-amino-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico</p>
<p>Compuesto 20</p>		<p>ácido 8-(2-fluoro-4-amino-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico</p>
<p>Compuesto 21</p>		<p>ácido 8-(3-amino-4-fluoro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico</p>
<p>Compuesto 22</p>		<p>ácido 8-(3-amino-5-fluoro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico</p>

Compuesto 24		ácido 8-(3-cloro-4-amino-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico
Compuesto 25		ácido 8-(3-metoxi-4-amino-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico
Compuesto 28		ácido 8-(4-metilamino-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico
Compuesto 31		ácido 8-(3-metil-4-amino-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico
Compuesto 33		ácido 8-(6-amino-3-piridil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico
Compuesto 37		ácido 8-(4-dimetilamino-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico

<p>Compuesto 43</p>		<p>ácido 8-(2,5-difluoro-4-amino-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico</p>
<p>Compuesto 44</p>		<p>ácido 8-(3,5-difluoro-4-amino-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico</p>
<p>Compuesto 57</p>		<p>ácido 8-(2-aminopirimidin-5-il)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico</p>
<p>Compuesto 60</p>		<p>ácido 8-(6-amino-3-piridil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico</p>
<p>Compuesto 69</p>		<p>ácido 8-[3-metil-4-(metilamino)fenil]-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico</p>
<p>Compuesto 72</p>		<p>ácido 8-[3-(aminometil)-4-hidroxifenil]-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico</p>

Compuesto 76		ácido 8-[3-(aminometil)-4-amino fenil]-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico
Compuesto 78		ácido 8-[6-(metilamino)-3-piridil]-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico
Compuesto 79		ácido 8-(6-amino-5-metil-3-piridil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico
Compuesto 87		ácido 8-(6-amino-3-piridil)-1-ciclopropil-7,9-dimetil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico

Convenientemente, la Polimixina B está presente en una concentración inhibitoria.

Ventajosamente, la composición es para el tratamiento de una infección bacteriana en un individuo que lo necesite.

5

Preferiblemente, la composición es para el tratamiento de una infección bacteriana en un individuo que lo necesite y dicha infección bacteriana es una infección por una cepa multirresistente. Ventajosamente, la composición es para el tratamiento de una infección bacteriana en un individuo que lo necesite, y dicha infección es infección por una o más bacterias de un género seleccionado del grupo que consiste en *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Bordetella*, *Borrelia*, *Brucella*, *Camphylobacter*, *Chlamydia*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Enterococcus*, *Escherichia*, *Fransisella*, *Haemophilus*, *Helicobacter*, *Legionella*, *Leptospira*, *Listeria*, *Mycobacterium*, *Mycoplasma*, *Neisseria*, *Propionibacterium*, *Pseudomonas*, *Rickettsia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Treponema*, *Vibrio* y *Yersinia*.

15 BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La invención se define por las reivindicaciones. Cualquier materia objeto que se presente en las figuras que no esté dentro del alcance de las reivindicaciones se proporciona únicamente con fines informativos.

20 La siguiente descripción detallada de las realizaciones de la presente invención se puede entender mejor al leerse junto con los siguientes dibujos.

La **Figura 1** muestra el isoblograma relacionado con la sinergia de la actividad antibacteriana de los compuestos 2, 33 y 35 con Polimixina B en la cepa de *Acinetobacter* GN52.

La **Figura 2** muestra el isoblograma relacionado con la sinergia de la actividad antibacteriana de los compuestos 2, 33 y 35 con Polimixina B en la cepa de *Acinetobacter* GN56.

5 La **Figura 3** muestra el isoblograma relacionado con la sinergia de la actividad antibacteriana de los compuestos 2 y 35 con Polimixina B sobre la cepa de *Klebsiella pneumonia*-NDM-1.

La **Figura 4** muestra las estructuras de los 5 andamios utilizados como productos intermedios para la preparación de los compuestos de 4-oxoquinolizinas.

10 La **Figura 5** muestra la caracterización de LC-MS del compuesto 1. Los datos se registraron en un sistema Waters Acquity UPLC, equipado con detectores SQD, PDA y ELSD, con una columna Acquity BEH C18 de 1,7 micrómetros. Se realizó la LC con un gradiente de 10 min de 0 al 100 % de B (A: agua con ácido fórmico al 0,1%, B: acetonitrilo con ácido fórmico al 0,1%).

15 La **Figura 6** muestra la caracterización de LC-MS del compuesto 5. Los datos se registraron en un sistema Waters Acquity UPLC, equipado con detectores SQD, PDA y ELSD, con una columna Acquity BEH C18 de 1,7 micrómetros. Se realizó la LC con un gradiente de 10 min de 0 al 100 % de B (A: agua con ácido fórmico al 0,1%, B: acetonitrilo con ácido fórmico al 0,1%).

20 La **Figura 7** muestra la caracterización de LC-MS del compuesto 6. Los datos se registraron en un sistema Waters Acquity UPLC, equipado con detectores SQD, PDA y ELSD, con una columna Acquity BEH C18 de 1,7 micrómetros. Se realizó la LC con un gradiente de 10 min de 0 al 100 % de B (A: agua con ácido fórmico al 0,1%, B: acetonitrilo con ácido fórmico al 0,1%).

Los elementos en las figuras se ilustran por simplicidad y claridad y no han sido dibujados necesariamente a escala. Por ejemplo, las dimensiones de algunos de los elementos en las figuras pueden exagerarse con respecto a otros elementos para ayudar a mejorar la comprensión de las realizaciones) de la presente invención.

25 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La invención se define por las reivindicaciones. Cualquier materia objeto que esté fuera del alcance de las reivindicaciones se proporciona solamente con fines informativos.

30 Definiciones

Los compuestos específicos se nombran en el presente documento como Compuesto seguido de un número, es decir, el Compuesto n, en el que n es un número entero. Esto se refiere a los compuestos nombrados y numerados en la Tabla 1 a continuación en el presente documento.

40 El término "alquilo", como se usa en el presente documento, se refiere a una cadena hidrocarburo saturada, lineal o ramificada. La cadena hidrocarburo contiene preferiblemente de uno a ocho átomos de carbono (alquilo C₁₋₈), tal como preferiblemente de uno a seis átomos de carbono (alquilo C₁₋₆), más preferiblemente de uno a cinco átomos de carbono (alquilo C₁₋₅), incluyendo metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, butilo secundario, butilo terciario, pentilo, isopentilo, neopentilo y pentilo terciario. En un aspecto preferido, alquilo representa un grupo alquilo C₁₋₄, que puede incluir, en particular, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, butilo secundario, y butilo terciario.

45 El término "arilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un sustituyente del anillo aromático o de un sistema anular aromático. Arilo puede ser, por ejemplo, fenilo o naftilo.

50 El término "cicloalquilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo cíclico, que contiene preferiblemente de tres a ocho átomos de carbono (cicloalquilo C₃₋₈), incluyendo ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo y ciclooctilo, más preferiblemente 3 átomos de carbono (ciclopropilo).

El término "haloalquilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo como se define en el presente documento, cuyo grupo alquilo está sustituido una o más veces con uno o más halógeno.

55 El término "heteroarilo" se refiere a un arilo, en el que uno o más carbonos en el anillo se han intercambiado por un heteroátomo. El heteroátomo se selecciona en general del grupo que consiste en N, S y O. El heteroarilo contiene preferiblemente de 1 a 3 heteroátomos.

El término "heterociclilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo monocíclico o un grupo multicíclico que soporta uno o más heteroátomos en su estructura anular. Preferiblemente, el heterociclilo se refiere

a grupos monocíclicos o bicíclicos. Los heteroátomos incluyen nitrógeno (N), oxígeno (O) y azufre (S). Los ejemplos de grupos heterocíclicos monocíclicos de 5 miembros incluyen pirrolidinilo, pirrolilo, 3H-pirrolilo, oxolanilo, furanilo, tiolanilo, tiofenilo, pirazolilo, pirazolidinilo, imidazolilo, imidazolidinilo, 1,2-oxazolilo, 1,3-oxazolilo, 1,2-tiazolilo, 1,3-tiazolilo, y 1,2,5-oxadiazolilo. Los ejemplos de grupos heterocíclicos monocíclicos de 6 miembros incluyen piperidinilo, piridinilo, oxanilo, 2-H-piranilo, 4-H-piranilo, tianilo, 2H-tiopiranilo, piridazinilo, 1,2-diazinanilo, pirimidinilo, 1,3-diazinanilo, pirazinilo, piperazinilo, 1,4-dioxinilo, 1,4-dioxano), 1,4-oxazinilo, morfolinilo, tiomorfolinilo y 1,4-oxatianilo.

La expresión "heteroarilo bicíclico", como se usa en el presente documento, se refiere a un sustituyente de sistema anular aromático bicíclico derivado por fusión de dos grupos monocíclicos, en donde al menos uno de dichos dos grupos monocíclicos contiene uno o más heteroátomos en su estructura anular. Los heteroátomos incluyen nitrógeno (N), oxígeno (O) y azufre (S). Los ejemplos de grupos heterocíclicos bicíclicos incluyen 1H-indolilo, decahidroquinolinilo, octahidrociclopenta[b]pirrolilo, 4H-cromenilo, 2,3-dihidro-1-benzofuranilo, 2H-1,3-benzodioxolilo, 1H-1,3-benzodiazolilo y 1,3-benzotiazolilo.

El término "halógeno", como se usa en el presente documento, se refiere a un sustituyente seleccionado del grupo que consiste en -Cl, -F, -Br e -I.

El término "oxo", como se usa en el presente documento, se refiere a =O.

Compuestos de 4-oxoquinolizina

La presente descripción proporciona 2-piridonas novedosas que tienen potencia, amplitud de actividad antimicrobiana, falta de resistencia cruzada a fármacos existentes, seguridad y/o eficacia en modelos animales para patógenos del CDC de Categoría A y B que incluyen las bacterias particularmente problemáticas que residen dentro de las células huésped de mamífero. Los compuestos de 2-piridona preferidos de la descripción son compuestos de 4-oxoquinolizina. Los compuestos de 2-piridona descritos tienen andamiajes de 2-piridona sustituidos y preferiblemente, los compuestos de 2-piridona contienen un andamiaje de 4-oxoquinolizina sustituido. Se dirigen a las topoisomerasas bacterianas de IIA ya validadas, por ejemplo, ADN girasa y topoisomerasa IV, inhibiendo de este modo un amplio espectro de bacterias Gram-positivas, así como Gram-negativas, de forma importante, aquellas resistentes a las quinolonas y los inhibidores de la topoisomerasa, tal como, por ejemplo, las piperidinilalquilquinolinas. Mediante la síntesis y el perfil *in vitro* e *in vivo*, se ha descubierto que la serie de antibióticos 4-oxoquinolizina descritos en la presente es de amplio espectro y muy potente contra los patógenos del CDC, incluyendo *Burkholderia pseudomallei*, *Bacillus anthracis*, *Yersinia pestis*, *Francisella tularensis*, y *Brucella abortus* en intervalos de MIC90 de pocos nanogramos por mililitro. Se obtienen MIC similares contra patógenos nosocomiales importantes, entre ellos *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter* resistentes al quinolano y *Staphylococcus aureus* MRSA. Además, se ha encontrado que las 4-oxoquinolizinas son igualmente eficaces contra una cepa sustituta de *Burkholderia* que se replica dentro de las células huésped de mamífero.

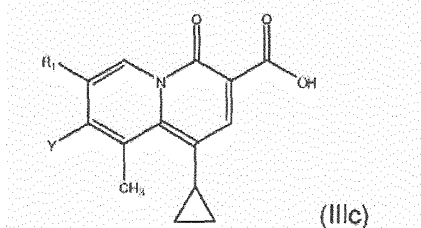
Las 2-piridonas están relacionadas de forma lejana con las quinolonas, pero con un núcleo heterocíclico diferente y una distribución electrónica diferente sobre la molécula que conduce a cambios significativos en la reactividad química. Mostrando un mecanismo de acción posiblemente nuevo contra un objetivo bacteriano ya validado, con propiedades favorables similares a las del fármaco, es probable que las 2-piridonas instantáneas se conviertan en los primeros miembros de 2-piridona en dicho uso clínico. En particular, las 2-piridonas pueden ser compuestos de 4-oxoquinolizina.

Un aspecto de la presente descripción es proporcionar composiciones farmacéuticas que comprenden compuestos de 2-piridona en combinación con polimixina. Dicho compuesto de 2-piridona es preferiblemente un compuesto de 4-oxoquinolizina y dichas polimixinas están presentes preferiblemente en una concentración subinhibitoria y es preferiblemente Polimixina B como se describe en otra parte en el presente documento.

El compuesto de 2-piridona de acuerdo con la presente descripción puede ser cualquier compuesto que tenga un esqueleto de 2-piridona como una estructura parcial. En un aspecto preferido, el compuesto de 2-piridona es un compuesto de 4-oxoquinolizina, es decir, un compuesto que comprende una estructura de esqueleto de 4-oxoquinolizina.

Por lo tanto, en un aspecto preferido de la descripción, la presente descripción se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de 4-oxoquinolizina y polimixina, en las que dicha polimixina preferiblemente está presente en concentraciones subinhibitorias.

De acuerdo con la presente invención el compuesto de 4-oxoquinolizina es un compuesto de fórmula IIIc:



5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que

10 R₁ es hidrógeno, halógeno, ciano, alquilo C₁₋₈, haloalquilo C₁₋₈, -OR^X, -N(R^X)₂, -C(O)R^X, -C(O)OR^X, o -C(O)N(R^X)₂, en la que cada R^X es independientemente hidrógeno, alquilo C₁₋₈, o haloalquilo C₁₋₈; y Y es arilo, o heteroarilo, cada uno sustituido con uno a cinco grupos que son -N(R^{Y1})₂ o -alquil C₁₋₈-R^Y donde R^Y es -N(R^{Y1})₂ y está opcionalmente sustituido adicionalmente con uno a cuatro grupos que son cada uno independientemente halógeno, alquilo C₁₋₈, haloalquilo C₁₋₈, cicloalquilo C₃₋₈, heterociclilo, arilo, heteroarilo, cicloalquil C₃₋₈-alquilo (C₁₋₈), heterociclil-alquilo (C₁₋₈), aril-alquilo (C₁₋₈), heteroaril-alquilo (C₁₋₈), -R^Y, o -alquil C₁₋₈-R^Y, en la que R^Y es nitro, ciano, -OR^{Y1}, -SR^{Y1}, -N(R^{Y1})₂, -C(O)R^{Y1}, -C(O)OR^{Y1}, -C(O)N(R^{Y1})₂, -OC(O)R^{Y1}, -OC(O)OR^{Y1}, -OC(O)N(R^{Y1})₂, -N(R^{Y1})C(O)R^{Y1}, -N(R^{Y1})C(O)OR^{Y1}, -N(R^{Y1})C(O)N(R^{Y1})₂, -S(O)₂R^{Y1}, -S(O)₂OR^{Y1}, -S(O)₂N(R^{Y1})₂, -OS(O)₂R^{Y1}, -OS(O)₂OR^{Y1}, -OS(O)₂N(R^{Y1})₂, -N(R^{Y1})S(O)₂R^{Y1}, -N(R^{Y1})S(O)₂OR^{Y1}, o -N(R^{Y1})S(O)₂N(R^{Y1})₂, en la que cada R^{Y1} es independientemente hidrógeno, alquilo C₁₋₈, o haloalquilo C₁₋₈.

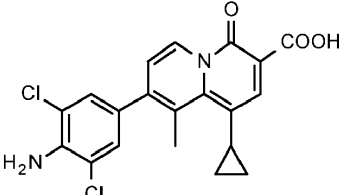
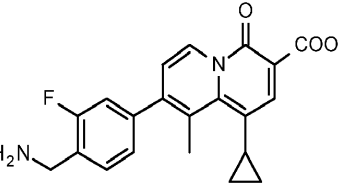
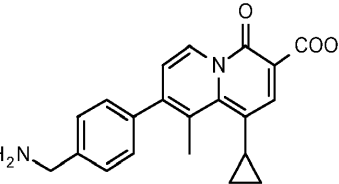
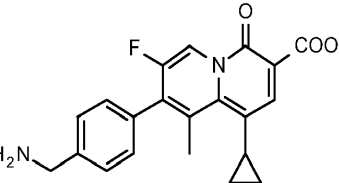
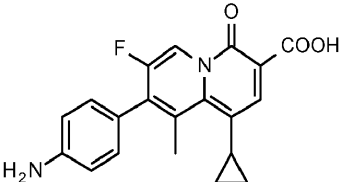
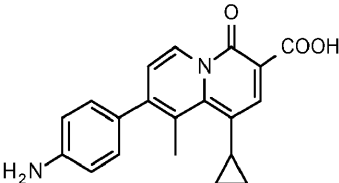
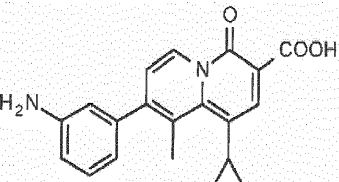
R₁ puede ser preferiblemente como se describe en el siguiente párrafo:

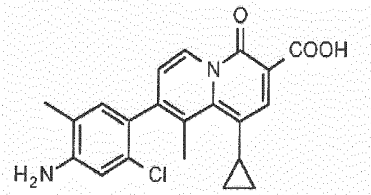
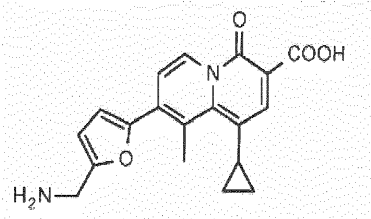
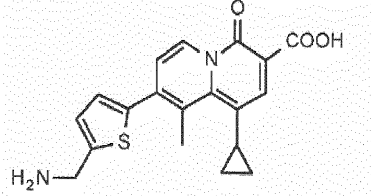
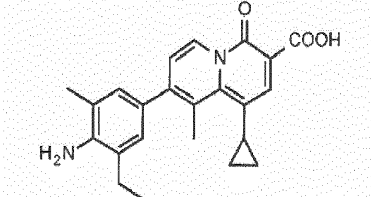
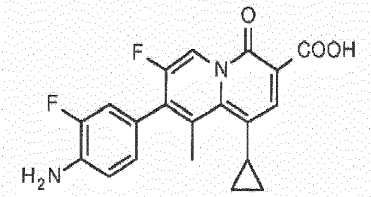
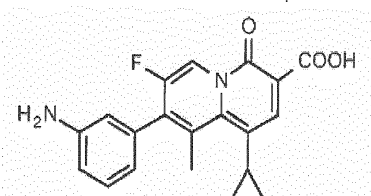
20 En un aspecto preferido, R₁ puede ser hidrógeno o halógeno. Por lo tanto, en un aspecto muy preferido, R₁ es hidrógeno. En otro aspecto preferido, R₁ es halógeno, y más preferiblemente R₁ puede ser flúor. En otro aspecto, R₁ es hidrógeno, halógeno, alquilo C₁₋₈, alcoxi C₁₋₈, amino, alquilamino C₁₋₈, o di(alquil C₁₋₈)amino, preferiblemente R₁ puede ser alquilo C₁₋₈, más preferiblemente alquilo C₁₋₅, incluso más preferiblemente alquilo C₁₋₂, aún más preferiblemente metilo. En otro aspecto R₁ es OR^X, -N(R^X)₂, -C(O)R^X, -C(O)OR^X, o -C(O)N(R^X)₂. En otro aspecto, R₁ es -OR^X o -N(R^X)₂. En otro aspecto, R₁ es -C(O)R^X, -C(O)OR^X, o -C(O)N(R^X)₂. En otro aspecto, R₁ es haloalquilo C₁₋₈ (por ejemplo, trifluorometilo).

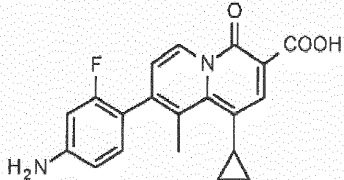
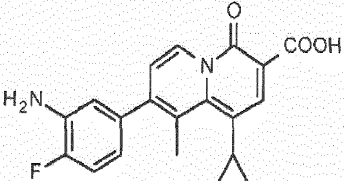
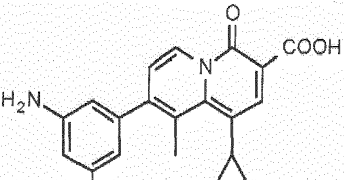
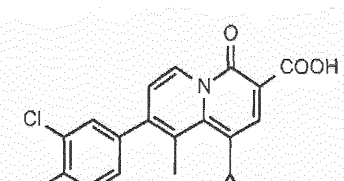
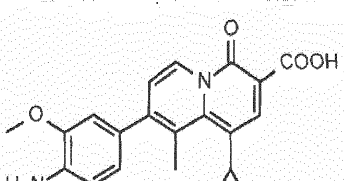
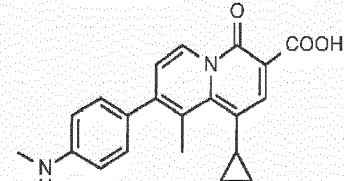
En un aspecto preferido de la descripción, el compuesto de 4-oxoquinolizina se selecciona del grupo de compuestos mencionados en la Tabla 1 a continuación en el presente documento.

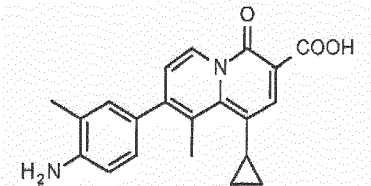
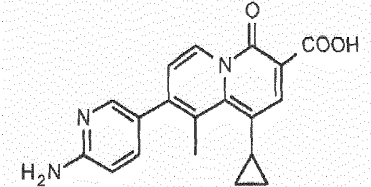
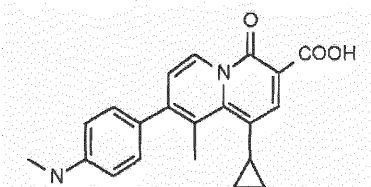
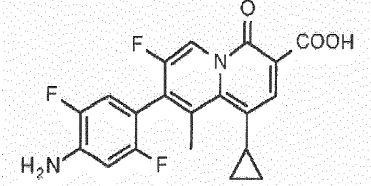
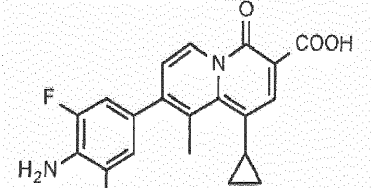
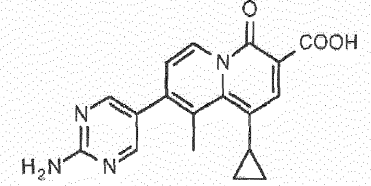
30 **Tabla 1: Ejemplos de compuestos de 4-oxoquinolizinas**

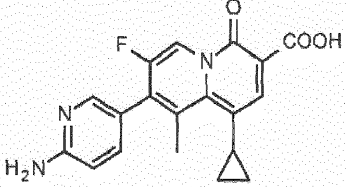
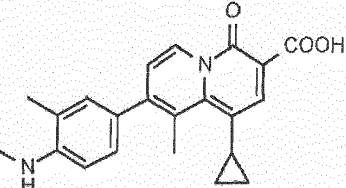
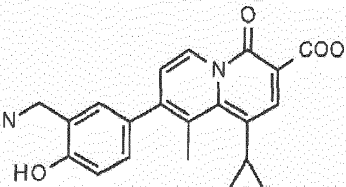
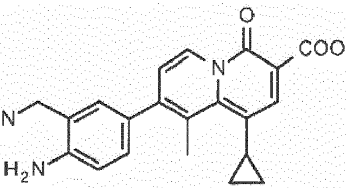
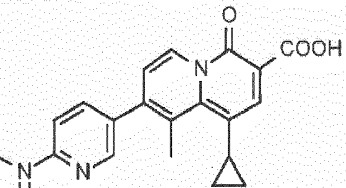
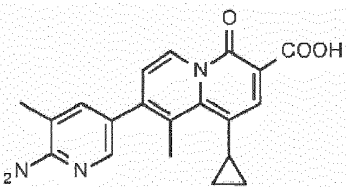
Compuestos	Estructura	Nombre
Compuesto 1		ácido 8-(3-fluoro-4-amino-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico
Compuesto 2		ácido 8-(3,6-difluoro-4-aminofenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico

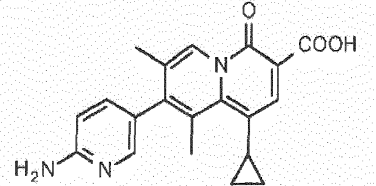
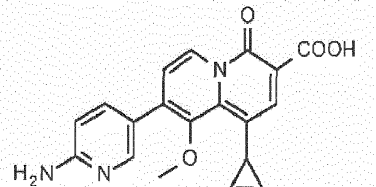
Compuesto 3		ácido 8-(3,5-dicloro-4-aminofenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico
Compuesto 4		ácido 8-(3-fluoro-4-aminometilfenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico
Compuesto 5		ácido 8-(4-aminometil-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico
Compuesto 6		ácido 8-(4-aminometil-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico
Compuesto 7		ácido 8-(4-amino-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico
Compuesto 8		ácido 8-(4-amino-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico
Compuesto 9		ácido 8-(3-amino-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico

<p>Compuesto 11</p>		<p>ácido 8-(2-cloro-4-amino-5-metilfenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico</p>
<p>Compuesto 12</p>		<p>ácido 8-[5-aminometil]-2-furil]-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico</p>
<p>Compuesto 13</p>		<p>ácido 8-[5-aminometil]-2-tienil]-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico</p>
<p>Compuesto 16</p>		<p>ácido 8-(4-amino-3-etil-5-metilfenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico</p>
<p>Compuesto 17</p>		<p>ácido 8-(3-fluoro-4-amino-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico</p>
<p>Compuesto 18</p>		<p>ácido 8-(3-amino-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico</p>

Compuesto 20		ácido 8-(2-fluoro-4-amino-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico
Compuesto 21		ácido 8-(3-amino-4-fluoro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico
Compuesto 22		ácido 8-(3-amino-5-fluoro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico
Compuesto 24		ácido 8-(3-cloro-4-amino-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico
Compuesto 25		ácido 8-(3-metoxi-4-amino-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico
Compuesto 28		ácido 8-(4-metilamino-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico

<p>Compuesto 31</p>		<p>ácido 8-(3-metil-4-amino-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico</p>
<p>Compuesto 33</p>		<p>ácido 8-(6-amino-3-piridil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico</p>
<p>Compuesto 37</p>		<p>ácido 8-(4-dimetilamino-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico</p>
<p>Compuesto 43</p>		<p>ácido 8-(2,5-difluoro-4-aminofenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico</p>
<p>Compuesto 44</p>		<p>ácido 8-(3,5-difluoro-4-amino-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico</p>
<p>Compuesto 57</p>		<p>ácido 8-(2-aminapirimidin-5-il)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico</p>

Compuesto 60		ácido 8-(6-amino-3-piridil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico
Compuesto 69		ácido 8-[3-metil-4-(metilamino)fenil]-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico
Compuesto 72		ácido 8-[3-(aminometil)-4-hidroxifenil]-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico
Compuesto 76		ácido 8-[3-(aminometil)-4-aminofenil]-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico
Compuesto 78		ácido 8-[6-(metilamino)-3-piridil]-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico
Compuesto 79		ácido 8-(6-amino-5-metil-3-piridil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico

<p>Compuesto 87</p>		<p>ácido 8-(6-amino-3-piridil)-1-ciclopropil-7,9-dimetil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico</p>
<p>Compuesto 89</p>		<p>ácido 8-(6-amino-3-piridil)-1-ciclopropil-9-metoxi-4-oxoquinolizin-3-carboxílico</p>

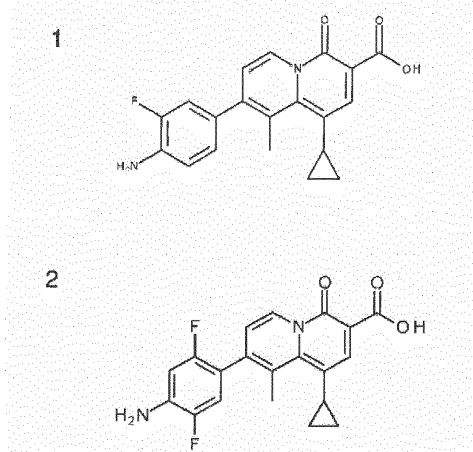
4-Oxoquinolizinas particulares

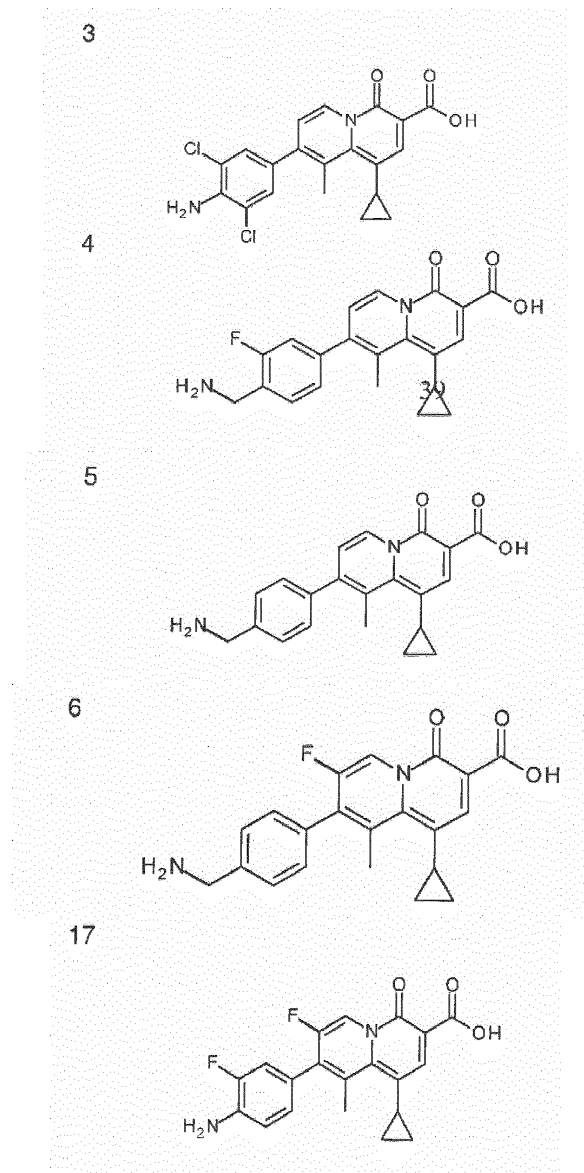
Es un aspecto de la presente descripción proporcionar composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de 2-piridona, preferiblemente un compuesto de 4-oxoquinolizina junto con una Polimixina, preferiblemente Polimixina B. Dicho compuesto de 4-oxoquinolizina puede ser cualquiera de los compuestos de 4-oxoquinolizina descritos en el presente documento anteriormente en la sección 4-oxoquinolizinas, sin embargo, también puede ser cualquiera de los compuestos de 4-oxoquinolizina descritos en esta sección.

10 Además, un aspecto de la presente descripción es proporcionar particularmente 2-piridinas útiles, es decir, tal como compuestos de 4-oxoquinolizina particularmente útiles. Dichos compuestos de 4-oxoquinolizina particularmente útiles tienen un fuerte efecto antibacteriano, es decir que son útiles en el tratamiento de infecciones bacterianas.

Los ejemplos de compuestos de 4-oxoquinolizina útiles de acuerdo con este aspecto pueden seleccionarse, por ejemplo, del grupo que consiste en los compuestos 4, 16, 17, 69 y 76 de la Tabla 1.

En aspectos específicos, la descripción proporciona los compuestos antimicrobianos novedosos, 1-6 y 17:





5

En aspectos de la descripción que se refieren a los compuestos de 4-oxoquinolizina usados en ausencia de polimixinas, se prefiere que dichos compuestos de 4-oxoquinolizina no sean ninguno de los compuestos 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 18, 20, 21, 22, 24, 25, 28, 31, 33, 37, 43 o 44 de la Tabla 1.

10 Sales de 4-oxoquinolizinas

La invención se define por las reivindicaciones. Cualquier materia objeto que esté fuera del alcance de las reivindicaciones se proporciona solamente con fines informativos.

- 15 Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de 4-oxoquinolizina de la descripción pueden incluir sales de adición de ácidos o bases. Sales de adición de ácidos y bases se refiere a las sales de adición inorgánicas y orgánicas relativamente no tóxicas de los compuestos de la presente descripción. Estas sales pueden prepararse *in situ* durante el aislamiento y la purificación finales de los compuestos, o haciendo reaccionar posteriormente el compuesto purificado en su forma de ácido o base libre con un compuesto orgánico o inorgánico adecuado y
- 20 aislando la sal formada de este modo.

Aunque dichas sales deben ser farmacéuticamente aceptables para la administración en animales, a menudo es deseable en la práctica aislar inicialmente el compuesto de base de la mezcla de reacción en forma de una sal farmacéuticamente inaceptable y después simplemente convertirla en el compuesto de base libre por tratamiento con un reactivo alcalino, y a continuación, convertir la base libre en una sal de adición de ácidos farmacéuticamente aceptable.

Las sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables de los compuestos básicos se preparan poniendo en contacto la forma de base libre con una cantidad suficiente del ácido deseado para producir la sal de la manera convencional. La forma de base libre puede regenerarse poniendo en contacto la forma de sal con una base y aislando la base libre de la manera convencional. Las formas de base libre difieren algo de sus respectivas formas de sal en ciertas propiedades físicas tales como la solubilidad en disolventes polares, pero por lo demás, las sales son equivalentes a su respectiva base libre para los fines de la presente descripción.

Las sales de adición de bases farmacéuticamente aceptables se forman con metales o aminas. Las sales de adición de base de compuestos ácidos se preparan poniendo en contacto la forma de ácido libre con una cantidad suficiente de la base deseada para producir la sal de la manera convencional. La forma de ácido libre se puede regenerar poniendo en contacto la forma de sal con un ácido y aislando el ácido libre de una manera convencional. Las formas de ácido libre difieren algo de sus respectivas formas de sal en ciertas propiedades físicas tales como la solubilidad en disolventes polares, pero por lo demás, las sales son equivalentes a su respectivo ácido libre para los fines de la presente descripción.

Las sales se pueden preparar a partir de ácidos inorgánicos o ácidos orgánicos. Un ejemplo de una sal de las 4-oxoquinolizinas de acuerdo con la descripción puede ser sales clorhídricas.

Otro ejemplo de una sal de las 4-oxoquinolizinas según la descripción son sales de potasio.

Métodos para preparar 4-oxoquinolizinas y sales de las mismas

La invención se define por las reivindicaciones. Cualquier materia objeto que esté fuera del alcance de las reivindicaciones se proporciona solamente con fines informativos.

Los compuestos de 4-oxoquinolizina de la descripción descrita en el presente documento en las secciones "4-oxoquinolizinas" y "4-oxoquinolizinas particulares" se pueden preparar usando los métodos resumidos a continuación en el presente documento en el Ejemplo 8. En particular, los andamiajes útiles de los compuestos de 4-oxoquinolizina se pueden preparar como se describe en el Ejemplo 8, y estos pueden modificarse adicionalmente usando métodos conocidos por el experto. Por lo tanto, los andamiajes adecuados se pueden preparar en 6 a 7 etapas como se describe en el Ejemplo 8. Los andamiajes adecuados se pueden usar después para obtener los compuestos de 4-oxoquinolizina finales en 2 a 5 etapas.

Los compuestos de 4-oxoquinolizina de la descripción también pueden prepararse como se describe para compuestos de 4-oxoquinolizina específicos en el Ejemplo 8. Estos métodos pueden modificarse opcionalmente con modificaciones relevantes conocidas por el experto.

El Ejemplo 8 también describió ejemplos útiles de preparación de sales de compuestos de 4-oxoquinolizina. Estos métodos también pueden ser modificados por el experto en la materia para preparar sales de otras 4-oxoquinolizinas.

Propiedades de las 4-oxoquinolizinas preferidas

La invención se define por las reivindicaciones. Cualquier materia objeto que esté fuera del alcance de las reivindicaciones se proporciona solamente con fines informativos.

Las 4-oxoquinolizinas preferidas de acuerdo con la descripción son preferiblemente compuestos antimicrobianos activos.

En particular, los compuestos de 2-piridona, tales como los compuestos de 4-oxoquinolizina de la descripción muestran una potente actividad contra un patógeno que es resistente contra uno o más de los antibióticos de quinolonas, carbapenémicos, de aminósidos y glucopeptídicos, y específicamente, contra un agente patógeno es un patógeno de categoría A o categoría B del CDC. Los compuestos de 4-oxoquinolizina pueden tener, en particular,

una MIC ≤ 10 $\mu\text{g/ml}$, tal como ≤ 5 $\mu\text{g/ml}$, por ejemplo ≤ 1 $\mu\text{g/ml}$, tal como $\leq 0,5$ $\mu\text{g/ml}$ contra *B. thailandensis* al determinarse como se describe a continuación en el presente documento en el Ejemplo 1. *B. thailandensis* es una cepa sustituta, que puede usarse experimentalmente en lugar de *B. pseudomallei*. Por lo tanto, los compuestos de 4-oxoquinolizina pueden tener una MIC ≤ 10 $\mu\text{g/ml}$, tal como ≤ 5 $\mu\text{g/ml}$, por ejemplo ≤ 1 $\mu\text{g/ml}$, tal como $\leq 0,5$ $\mu\text{g/ml}$ contra uno o más de, preferiblemente contra cada uno de *B. antracis*, *F. tularensis*, *B. acortus* y *B. pseudomallei* al determinarse como se describe en el presente documento a continuación en el Ejemplo 1.

Los compuestos de 4-oxoquinolizina de la descripción también pueden tener una MIC ≤ 10 $\mu\text{g/ml}$, tal como ≤ 5 $\mu\text{g/ml}$ contra una o más bacterias seleccionadas del grupo que consiste en *S. aureus*, *S. epidermis*, *E. faecalis* y *E. faecium* al determinarse como se describe en el presente documento a continuación en el Ejemplo 2.

Los compuestos de 4-oxoquinolizina de la descripción pueden tener una MIC ≤ 50 $\mu\text{g/ml}$, tal como ≤ 20 $\mu\text{g/ml}$ contra *A. baumannii*, en la que dicho *A. baumannii* es una cepa resistente a fármaco de *A. baumannii*, por ejemplo, una cepa resistente a múltiples fármacos de *A. baumannii* al determinarse como se describe en el presente documento a continuación en el Ejemplo 3.

Los compuestos de 4-oxoquinolizina de la descripción preferiblemente muestran potentes actividades en presencia de concentraciones subinhibitorias de polimixina B contra *A. baumannii*, incluyendo cepas resistentes a quinolona y multirresistentes de *A. baumannii*. La actividad antimicrobiana de los compuestos de 4-oxoquinolizina al combinarse con concentraciones subinhibitorias de polimixina B contra *Acinetobacter baumannii* que incluyen aislados clínicos multirresistentes puede determinarse como se describe en el presente documento a continuación en el Ejemplo 4. Por lo tanto, los compuestos de 4-oxoquinolizina de la descripción pueden tener una MIC ≤ 20 $\mu\text{g/ml}$, tal como ≤ 15 $\mu\text{g/ml}$, por ejemplo ≤ 10 $\mu\text{g/ml}$, tal como ≤ 5 $\mu\text{g/ml}$ contra *A. baumannii* en presencia de 0,06 $\mu\text{g/ml}$ de Polimixina B al determinarse como se describe en el Ejemplo 4 en el presente documento a continuación.

Los compuestos de 4-oxoquinolizina particulares de la descripción también pueden tener una MIC ≤ 10 $\mu\text{g/ml}$, tal como ≤ 5 $\mu\text{g/ml}$, por ejemplo ≤ 1 $\mu\text{g/ml}$, tal como $\leq 0,5$ $\mu\text{g/ml}$ contra al menos una bacteria Gram negativa y contra al menos una bacteria gram positiva al determinarse como se describe a continuación en el Ejemplo 5.

Los compuestos de 4-oxoquinolizina de la descripción en general tienen una actividad antibacteriana al menos parcialmente sinérgica con Polimixina, tal como con Polimixina B. Esto puede determinarse, por ejemplo, como se describe en el presente documento a continuación en el Ejemplo 6. Por lo tanto, los compuestos de 4-oxoquinolizina de la descripción puede tener un FICI $< 0,75$, tal como $< 0,5$ en relación con las Polimixinas B contra *A. baumannii* y/o *K. pneumoniae*, al determinarse como se describe en el presente documento a continuación en el Ejemplo 6.

Los compuestos de 4-oxoquinolizina de la descripción tienen preferiblemente una baja citotoxicidad contra las células humanas. Por lo tanto, los compuestos de 4-oxoquinolizina de la descripción pueden tener una CI₅₀ de al menos 20 μM , tal como al menos 40 μM con respecto a células HEPG2 V1 al determinarse como se describe en el presente documento a continuación en el Ejemplo 7.

Polimixina

La invención se define por las reivindicaciones. Cualquier materia objeto que esté fuera del alcance de las reivindicaciones se proporciona solamente con fines informativos.

Es un aspecto de la presente descripción proporcionar composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de 4-oxoquinolizina junto con una Polimixina. La Polimixina a usar con presente descripción puede ser una Polimixina útil.

Las polimixinas son antibióticos aislados de cultivos de *Bacillus polymyxa*. En general, las polimixinas son activas como antibióticos contra la mayoría de las bacterias Gram negativas. Las polimixinas de acuerdo con la presente descripción son preferiblemente deca péptidos que contienen cinco o seis residuos de ácido L-2,4-diaminobutírico. Preferiblemente, la secuencia de siete residuos en el extremo C-terminal del deca péptido se forma en un anillo peptídico a través de un enlace isopeptídico a uno de los residuos de ácido diaminobutírico, mientras que el residuo N-terminal preferiblemente se acila con un ácido graso. El ácido graso es preferiblemente $-(\text{CH}_2)_m\text{-COOH}$, en el que m es un número entero en el intervalo de 6 a 15, preferiblemente en el intervalo de 7 a 10, más preferiblemente en el intervalo de 7 a 8, en el que dicho $-(\text{CH}_2)_m\text{-COOH}$ puede estar opcionalmente sustituido con uno o más alquilo, preferiblemente con un alquilo C₁₋₈, más preferiblemente con un alquilo, incluso más preferiblemente con un alquilo, aún más preferiblemente con un metilo.

Las polimixinas preferidas a usar con la presente descripción son la polimixina B o la polimixina E o sales farmacéuticamente aceptables de las mismas.

5 La polimixina B es un antibiótico lipopeptídico originalmente aislado de *Bacillus polymyxa*. La polimixina B de acuerdo con la presente descripción consiste preferiblemente en un anillo peptídico de 7 aminoácidos y una cadena lateral tripeptídica con una cola de ácido graso. La polimixina B de acuerdo con la descripción preferiblemente contiene cinco grupos amina primaria y, por lo tanto, es un polication a pH 7.

10 La polimixina B a usar con la presente descripción se puede seleccionar del grupo que consiste en Polimixina B1, Polimixina B2, Polimixina B3 y Polimixinas B4. Las Polimixinas B a usar con la presente descripción también pueden ser una mezcla de 2 o más de las mencionadas anteriormente, preferiblemente las Polimixinas B son una mezcla que contiene al menos Polimixina B1 y Polimixina B2, más preferiblemente la Polimixina B que se usará con la presente descripción es una mezcla que contiene Polimixina B1, Polimixinas B2, Polimixina B3 y Polimixina B4.

15

Dosificación de Polimixina

La invención se define por las reivindicaciones. Cualquier materia objeto que esté fuera del alcance de las reivindicaciones se proporciona solamente con fines informativos.

20

Es un aspecto de la presente descripción proporcionar composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de 4-oxoquinolizina junto con Polimixina, preferiblemente Polimixina B. En un aspecto de la descripción dicha Polimixina, por ejemplo, la Polimixina B está presente en una concentración subinhibitoria.

25 Dicha concentración subinhibitoria depende, en general, del individuo que va a recibir el tratamiento con la composición farmacéutica. Preferiblemente, dicha concentración subinhibitoria de Polimixina es la administración de menos de 2 mg de polimixina por kg de dicho individuo al día. Por lo tanto, la concentración subinhibitoria puede ser administración de menos de 1,5 mg, tal como menos de 1 mg, por ejemplo menos de 0,5 mg, tal como menos de 0,3 mg, por ejemplo menos de 0,1 mg por kg de dicho individuo al día. Preferiblemente, dicha concentración

30 subinhibitoria de Polimixina B es la administración de menos de 2 mg de polimixina B por kg de dicho individuo al día. Por lo tanto, la concentración subinhibitoria puede ser administración de menos de 1,5 mg, tal como menos de 1 mg, por ejemplo menos de 0,5 mg, tal como menos de 0,3 mg, por ejemplo menos de 0,1 mg de Polimixina B por kg de dicho individuo al día.

35 Por lo tanto, en aspectos de la descripción donde la composición farmacéutica se prepara en dosificaciones unitarias diarias para la administración a un ser humano adulto, entonces cada unidad de dosificación preferiblemente comprende menos de 150 mg de polimixina, tal como menos de 130 mg de polimixina, por ejemplo menos de 110 mg de polimixina, tal como menos de 90 mg de polimixina, por ejemplo menos de 70 mg de polimixina, tal como menos de 50 mg de polimixina, en donde la polimixina puede ser cualquiera de las polimixinas descritas

40 anteriormente en el presente documento en la sección "Polimixina", pero preferiblemente es Polimixina B.

En una realización de la descripción, la concentración subinhibitoria es inferior a 0,5 µg/ml, tal como inferior a 0,4 µg/ml, por ejemplo, inferior a 0,3 µg/ml, tal como inferior a 0,2 µg/ml.

45 Sin embargo, la polimixina también se puede administrar a concentraciones regulares, por ejemplo, se puede administrar polimixina en el intervalo de 2 a 5 mg, tal como polimixina B por kg de dicho individuo.

Composiciones que comprenden Polimixina y un compuesto de 4-oxoquinolizina

50 La invención se define por las reivindicaciones. Cualquier materia objeto que esté fuera del alcance de las reivindicaciones se proporciona solamente con fines informativos.

Es un aspecto de la descripción proporcionar composiciones farmacéuticas que comprenden

55 a) Una Polimixina, que puede ser cualquiera de las Polimixinas descritas en el presente documento anteriormente en la sección "Polimixina"; y

b) Un compuesto de 4-oxoquinolizina, que puede ser cualquiera de los compuestos de 4-oxoquinolizina descritos en el presente documento anteriormente en la sección "compuesto de 4-oxoquinolizina" o la sección "Compuestos particulares de 4-oxoquinolizina".

De forma interesante, la presente descripción describe que el efecto antibacteriano de la polimixina y las 4-oxoquinolizinas es sinérgico. El efecto sinérgico puede determinarse de acuerdo con cualquier método útil, tal como el uso de una técnica de tablero de ajedrez, por ejemplo, usando el método descrito en el Ejemplo 6 a continuación en el presente documento.

Por lo tanto, en un aspecto de la descripción, las composiciones comprenden una concentración subinhibitoria de una polimixina, por ejemplo polimixinas B, y una concentración subinhibitoria de una 4-oxoquinolizina, en donde dicha composición es capaz de inhibir el crecimiento de al menos una bacteria, más preferiblemente la composición es capaz de inhibir el crecimiento de al menos 2 bacterias diferentes, por ejemplo, de al menos 5 bacterias diferentes, tal como de al menos 10 bacterias diferentes.

En un aspecto de la descripción las composiciones farmacéuticas comprenden

- 15 a) Polimixina B; y
 b) un compuesto de 4-oxoquinolizina, que puede ser cualquiera de los compuestos de 4-oxoquinolizina descritos anteriormente en el presente documento en la sección "Compuesto de 4-oxoquinolizina" o la sección "Compuesto de 4-oxoquinolizina particular", en donde el compuesto de 4-oxoquinolizina tiene un efecto antibacteriano contra al menos una bacteria, tal como contra al menos 2 bacterias diferentes, por ejemplo contra al menos 5 bacterias diferentes, tal como contra al menos 10 bacterias diferentes, que es sinérgico con el efecto antibacteriano de la polimixina B, en donde el efecto sinérgico preferiblemente se determina como se describe a continuación en el presente documento en el Ejemplo 6.

Aunque no de acuerdo con la presente invención, en un aspecto, la descripción se refiere a un método para tratar una infección bacteriana en un individuo que lo necesita, en el que el método comprende las etapas de:

- 30 i) administrar polimixina B a un individuo que lo necesite; y
 ii) probar si la polimixina B reduce o cura la infección bacteriana; y
 iii) si la infección bacteriana no se reduce ni se cura por dicha polimixina B, administrar entonces a dicho individuo una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de 4-oxoquinolizina, que puede ser cualquiera de los compuestos de 4-oxoquinolizina descritos anteriormente en el presente documento en la sección "compuesto de 4-oxoquinolizina" o la sección "compuesto de 4-oxoquinolizina particular"; tratando de ese modo dicha infección bacteriana en dicho individuo.

35 La Polixina se puede administrar en cualquier dosificación útil, tal como cualquiera de las dosificaciones descritas anteriormente en el presente documento en la sección "Dosificación de Polimixina". Por ejemplo, la polimixina puede administrarse en el intervalo de 2 a 5 mg de polimixina, tal como polimixina B por kg de dicho individuo, o la polimixina incluso puede administrarse a concentraciones subinhibitorias.

40 El compuesto de 4-oxoquinolizina se puede administrar preferiblemente como se describe a continuación en la sección "Formulaciones farmacéuticas".

Infección bacteriana

45 La invención se define por las reivindicaciones. Cualquier materia objeto que esté fuera del alcance de las reivindicaciones se proporciona solamente con fines informativos.

Es un aspecto de la presente descripción proporcionar composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de 4-oxoquinolizina junto con una Polimixina. Dichas composiciones farmacéuticas son en particular útiles para el tratamiento de una infección bacteriana en un individuo que lo necesita, y preferiblemente para el tratamiento de cualquiera de las infecciones bacterianas descritas en el presente documento en esta sección.

Además, es un aspecto de la presente descripción proporcionar compuestos de 4-oxoquinolizina particularmente útiles como se ha descrito anteriormente en el presente documento en la sección "4-oxoquinolizinas particulares".
 55 Dichos compuestos de 4-oxoquinolizina son en particular útiles para el tratamiento de una infección bacteriana en un individuo que lo necesita, y preferiblemente para el tratamiento de cualquiera de las infecciones bacterianas descritas en el presente documento en esta sección.

En general, las composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de 4-oxoquinolizina junto con una

Polimixina o los compuestos de 4-oxoquinolizina particulares de la descripción son útiles para el tratamiento de un amplio espectro de diferentes infecciones bacterianas. Por lo tanto, son típicamente útiles para el tratamiento de infecciones por al menos dos tipos diferentes de bacterias, tales como al menos 5 tipos diferentes de bacterias, por ejemplo, al menos 10 tipos diferentes de bacterias. En particular, dichas bacterias pueden ser bacterias resistentes a fármacos, tales como bacterias resistentes a múltiples fármacos. Los compuestos de 4-oxoquinolizina y las composiciones farmacéuticas que comprenden 4-oxoquinolizina y polimixina son agentes antibacterianos útiles para el tratamiento de enfermedades infecciosas locales o enfermedades infecciosas generales de seres humanos o animales causadas por bacterias Gram-positivas, bacterias Gram-negativas, bacterias anaerobias, bacterias acidorresistentes u otras bacterias.

10 Aunque no según la presente invención, esta descripción también proporciona métodos para tratar un trastorno infeccioso en un individuo que lo necesita, en el que el individuo, por ejemplo, puede ser un ser humano o un mamífero, administrando una cantidad segura y eficaz de un compuesto de 4-oxoquinolizina a dicho sujeto opcionalmente junto con una polimixina. Como se usa en el presente documento, un "trastorno infeccioso" es cualquier trastorno caracterizado por la presencia de una infección microbiana. Los métodos ejemplares de esta descripción son para el tratamiento de infecciones bacterianas. Dichos trastornos infecciosos incluyen, por ejemplo, infecciones del sistema nervioso central, infecciones del oído externo, infecciones del oído medio (tal como otitis media aguda), infecciones de los senos craneales, infecciones oculares, infecciones de la cavidad oral (tal como infecciones de los dientes, encías y mucosa), infecciones del tracto respiratorio superior, infecciones del tracto respiratorio inferior, incluyendo neumonía, infecciones genitourinarias, infecciones gastrointestinales, infecciones ginecológicas, septicemia, sepsis, peritonitis, infecciones óseas y articulares, infecciones de la piel y la estructura de la piel, endocarditis bacteriana, quemaduras, profilaxis antibacteriana de la cirugía, o profilaxis antibacteriana en pacientes posoperatorios o en pacientes inmunosuprimidos (tal como pacientes que reciben quimioterapia contra el cáncer, o pacientes de trasplante de órganos).

25 Por lo tanto, la infección bacteriana puede ser infección por una o más bacterias de, por ejemplo, el sistema nervioso central, el oído externo, el oído medio (tal como otitis media aguda), los senos craneales, los ojos, la cavidad oral (tal como de los dientes, las encías y la mucosa), el tracto respiratorio superior, el tracto respiratorio inferior, incluyendo pulmón, tracto genitourinario, tracto gastrointestinal, peritoneo, huesos y articulaciones, piel o quemaduras. La infección bacteriana también puede estar relacionada con sepsis, cirugía o infecciones bacterianas en pacientes posoperatorios o en pacientes inmunosuprimidos.

35 La infección bacteriana puede ser infección por cualquier bacteria; preferiblemente la bacteria es una bacteria patógena. La infección bacteriana puede ser una infección por una bacteria gram-negativa o gram-positiva o puede ser una infección por una mezcla de bacterias, que pueden ser gram-positivas o gram-negativas. La presente descripción describe que los compuestos de 4-oxoquinolizina son eficaces en el tratamiento de infecciones tanto por bacterias Gram-positivas como Gram-negativas.

40 En aspectos de la descripción en relación con composiciones farmacéuticas que comprenden tanto compuestos de 4-oxoquinolizina como una polimixina, entonces se prefiere que la bacteria sea una bacteria Gram-negativa.

La infección bacteriana a tratar con la composición farmacéutica que comprende un compuesto de 4-oxoquinolizina y una polimixina o con el compuesto de 4-oxoquinolizina particular de acuerdo con la presente descripción es preferiblemente infección por una o más bacterias de un género seleccionado del grupo que consiste en:

45 *Acinetobacter, Bacillus, Bortadella, Borrelia, Brucella, Camphylobacter, Chlamydia, Clostridium, Corynebacterium, Enterococcus, Escherichia, Fransisella, Haemophilus, Helicobacter, Legionella, Leptospira, Listeria, Mycobacterium, Mycoplasma, Neisseria, Propionibacterium, Pseudomonas, Rickettsia, Salmonella, Shigella, Staphylococcus, Streptococcus, Treponema, Vibrio y Yersinia.*

50 La infección bacteriana a tratar con la composición farmacéutica que comprende un compuesto de 4-oxoquinolizina y una polimixina o con el compuesto de 4-oxoquinolizina particular de acuerdo con la presente descripción es preferiblemente infección por una o más bacterias de un género seleccionado del grupo que consiste en:

55 *Acinetobacter, Bacillus, Brucella, Burkholderia, Citrobacter, Corynebacterium, Enterobacter, Enterococcus, Escherichia, Francisella, Haemophilus, Klepsiella, Listeria, Moraxella, Morgarella, Neisseria, Proteus, Providencia, Pseudomonas, Serratia, Shigella, Staphylococcus, Stenotrophomonas, Streptococcus y Yersinia.*

En un aspecto de la descripción, la infección bacteriana a tratar con la composición farmacéutica que comprende un compuesto de 4-oxoquinolizina y una polimixina, o con el compuesto de 4-oxoquinolizina particular de acuerdo con la presente descripción es una infección por una o más bacterias de un género seleccionado del grupo que consiste en *Acinetobacter*, *Bordetella*, *Borrelia*, *Brucella*, *Camphylobacter*, *Chlamydia*, *Clostridium*, *Corynebacterium*,
5 *Fransisella*, *Helicobacter*, *Legionella*, *Leptospira*, *Listeria*, *Mycobacterium*, *Mycoplasma*, *Neisseria*, *Rickettsia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Treponema*, *Vibrio* y *Yersinia*.

La infección bacteriana a tratar con la composición farmacéutica que comprende un compuesto de 4-oxoquinolizina y una polimixina o con el compuesto de 4-oxoquinolizina particular de acuerdo con la presente descripción es
10 preferiblemente infección por una o más bacterias de un género seleccionado del grupo que consiste en:

Acinetobacter, *Brucella*, *Burkholderia*, *Citrobacter*, *Corynebacterium*, *Enterobacter*, *Francisella*, *Listeria*,
Moraxella, *Morganella*, *Neisseria*, *Proteus*, *Providencia*, *Serratia*, *Shigella*, *Stenotrophomonas*, y *Yersinia*.

15 La infección bacteriana a tratar con la composición farmacéutica que comprende un compuesto de 4-oxoquinolizina y una polimixina o con el compuesto de 4-oxoquinolizina particular de acuerdo con la presente descripción es preferiblemente infección por una o más bacterias seleccionadas del grupo que consiste en:

20 *Acinetobacter* spp., *Acinetobacter baumannii*, *Bacillus anthracis*, *Brucella abortus*, *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia mallei*, *Burkholderia pseudomallei*, *Burkholderia thailandensis*, *Citrobacter freundii*, *Corynebacterium jeikeium*, *Enterobacter* sp, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus gallinarum*, *Escherichia coli*, *Francisella tularensis*, *Haemophilus influenza*, *Klebsiella* spp., *Klebsiella aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Moraxella catarrhalis*,
25 *Morganella morganii*, *Neisseria meningitidis*, *Proteus mirabilis*, *Providencia stuartii*, *Pseudomonas* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Shigella* sp, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Stenotrophomonas maltophilia*,
Streptococcus agalactiae, *Streptococcus bovis*, *Streptococcus constellatus*, *Streptococcus mitis*,
30 *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus del grupo C*, *Yersinia pestis*, y cepas resistentes a fármacos de las mismas.

30 En un aspecto de cualquiera de los aspectos anteriores, las bacterias pueden seleccionarse del grupo que consiste en, (a) *Acinetobacter baumannii*, *Bacillus anthracis*, *Brucella abortus*, *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia mallei*, *Burkholderia pseudomallei*, *Burkholderia thailandensis*, *Citrobacter freundii*, *Corynebacterium jeikeium*, *Enterobacter* sp, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus gallinarum*, *Francisella tularensis*, *Klebsiella aerogenes*, *Listeria monocytogenes*, *Moraxella catarrhalis*, *Morganella morganii*, *Neisseria meningitidis*, *Proteus mirabilis*, *Providencia stuartii*, *Serratia marcescens*, *Shigella* sp, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus bovis*, *Streptococcus constellatus*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sanguis*,
35 *Streptococcus del grupo C*, y *Yersinia pestis*, (b) cepas resistentes a fármacos de cualquier patógeno de la parte (a);
40 y (c) y cepas resistentes a fármacos de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, y *Haemophilus influenza*.

Por el término "cepa resistente a fármacos" se entiende una cepa bacteriana que es resistente al menos a un
45 fármaco antibiótico seleccionado del grupo que consiste en antibióticos de quinolonas, carbapenémicos, de aminósidos y glucopeptídicos. Las cepas resistentes a múltiples fármacos son cepas bacterianas resistentes al menos a dos fármacos antibióticos de diferentes clases, en donde dichas clases se seleccionan del grupo que consiste en antibióticos de quinolonas, carbapenémicos, de aminósidos y glucopeptídicos.

50 La infección bacteriana a tratar con los compuestos de 4-oxoquinolizina descritos en la sección "4-oxoquinolizinas particulares" son preferiblemente bacterias seleccionadas del grupo que consiste en:

55 *Acinetobacter* spp., *Acinetobacter baumannii*, *Bacillus anthracis*, *Brucella abortus*, *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia mallei*, *Burkholderia pseudomallei*, *Burkholderia thailandensis*, *Citrobacter freundii*, *Corynebacterium jeikeium*, *Enterobacter* sp, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus gallinarum*, *Francisella tularensis*, *Klebsiella aerogenes*, *Listeria monocytogenes*, *Moraxella catarrhalis*, *Morganella morganii*, *Neisseria meningitidis*, *Proteus mirabilis*, *Providencia stuartii*, *Serratia marcescens*, *Shigella* sp,
Staphylococcus haemolyticus, *Staphylococcus saprophyticus*, *Stenotrophomonas maltophilia*,
Streptococcus agalactiae, *Streptococcus bovis*, *Streptococcus constellatus*, *Streptococcus mitis*,

Streptococcus pyogenes, Streptococcus oralis, Streptococcus sanguis, Group C Streptococcus, Yersinia pestis, y cepas resistentes a fármacos de las mismas.

5 La infección bacteriana a tratar con la composición farmacéutica que comprende un compuesto de 4-oxoquinolizina y una polimixina o con el compuesto de 4-oxoquinolizina particular de acuerdo con la presente descripción se puede seleccionar del grupo que consiste en *Burkholderia pseudomallei, Bacillus anthracis, Yersinia pestis, Francisella tularensis*, y *Brucella abortu, Klebsiella, Pseudomonas, Acinetobacter* y *Staphylococcus aureus*, en el que dicho *Staphylococcus aureus* puede ser *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA).

10 En un aspecto, la infección bacteriana a tratar con la composición farmacéutica que comprende un compuesto de 4-oxoquinolizina y una polimixina, o con el compuesto de 4-oxoquinolizina particular de acuerdo con la presente descripción, la infección es infección por una bacteria Gram-positiva. Esto puede ser en particular el caso en aspectos de la descripción en relación con los compuestos particulares de 4-oxoquinolizina descritos anteriormente en la sección "4-oxoquinolizinas particulares". Dicha bacteria Gram-positiva se puede seleccionar, por ejemplo, del
15 grupo que consiste en *B. anthracis, S. epidermidis, Staphylococcus aureus, Streptococcus aureus, Streptococcus pneumoniae, Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium*.

La infección bacteriana a tratar con las composiciones farmacéuticas que comprenden compuestos de 4-oxoquinolizina y Polimixinas puede ser preferiblemente por bacterias de un género seleccionado del grupo que
20 consiste en:

Acinetobacter, Bortadella, Borrelia, Brucella, Camphylobacter, Escherichia, Fransisella, Haemophilus, Helicobacter, Legionella, Leptospira, Neisseria, Pseudomonas, Rickettsia, Salmonella, Shigella, Treponema, Vibrio y *Yersinia*.

25 Las bacterias de la infección a tratar con las composiciones farmacéuticas que comprenden compuestos de 4-oxoquinolizina y Polimixinas pueden seleccionarse preferiblemente de un género seleccionado del grupo que consiste en:

30 *Acinetobacter, Brucella, Burkholderia, Citrobacter, Enterobacter, Escherichia, Francisella, Haemophilus, Klepsiella, Maraxella, Morganella, Neisseria, Proteus, Providencia, Pseudomonas, Serratia, Shigella, Stenotrophomonas* y *Yersinia*.

35 En un aspecto, la infección bacteriana a tratar con la composición farmacéutica que comprende un compuesto de 4-oxoquinolizina y una polimixina, o con el compuesto de 4-oxoquinolizina particular de acuerdo con la presente descripción, la infección es infección por una bacteria Gram-negativa. Dicha bacteria Gram-negativa puede seleccionarse, por ejemplo, del grupo que consiste en *F. tularensis, B. abortus, B. pseudomallei, Pseudamonas aeruginasa, Burkholderia thailandensi, Acinetobacter baumannii, Acinetobacter Escherichia coli* y *Klebsiella*.

40 En un aspecto, la infección bacteriana a tratar con la composición farmacéutica que comprende un compuesto de 4-oxoquinolizina y una polimixina, o con el compuesto de 4-oxoquinolizina particular de acuerdo con la presente descripción, la infección es infección por una bacteria anaerobia. Dicha bacteria anaerobia puede ser, por ejemplo, *Bacillus fragilis*.

45 En particular, la bacteria puede ser una cepa bacteriana que es resistente contra uno o más antibióticos de quinolonas, carbapenémicos, de aminósidos y glucopeptídicos, y específicamente, la infección bacteriana puede ser infección por un patógeno de categoría A o B del CDC. CDC son los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades de Estados Unidos, que han categorizado los patógenos según el riesgo para la seguridad nacional (el Ejemplo 1 a continuación describe ejemplos de dichas bacterias).

50 Por lo tanto, la infección bacteriana a tratar con los compuestos de 4-oxoquinolizina de la descripción o con composiciones farmacéuticas que comprenden compuestos de 4-oxoquinolizina y polimixina de acuerdo con la presente descripción puede ser en una realización una bacteria de Categoría A según la clasificación del CDC. Las bacterias de la categoría A se definen como bacterias que

55

- se pueden diseminar o transmitir fácilmente de persona a persona;
- dan como resultado altas tasas de mortalidad y tienen el potencial de tener un gran impacto en la salud pública;
- podrían causar pánico público y perturbación social; y

- requieren una acción especial para la preparación de la salud pública.

Las bacterias de la Categoría A se pueden seleccionar, por ejemplo, del grupo que consiste en *Bacillus anthracis*, *Clostridium botulinum*, *Yersinia pestis* y *Francisella tularensis*.

5

Por lo tanto, la infección bacteriana a tratar con los compuestos de 4-oxoquinolizina de la descripción o con composiciones farmacéuticas que comprenden compuestos de 4-oxoquinolizina y polimixina de acuerdo con la presente descripción puede ser en una realización una bacteria de Categoría B según la clasificación del CDC. Las bacterias de la categoría B se definen como bacterias que

10

- son moderadamente fáciles de diseminar;
- dan como resultado tasas moderadas de morbilidad y bajas tasas de mortalidad; y
- requieren mejoras específicas de la capacidad de diagnóstico del CDC y una mejor vigilancia de la enfermedad.

15

Las bacterias de la Categoría B pueden seleccionarse, por ejemplo, del grupo que consiste en especies de *Brucella*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella*, *Escherichia coli* O157:H7, *Shigella*, *B. abortus*, *Burkholderia mallei*, *Burkholderia pseudomallei*, *Chlamydia psittaci*, *Coxiella burnetii*, *Staphylococcus* spp. *Rickettsia prowazekii*, *Vibrio cholerae* y *Cryptosporidium parvum*.

20

El término "tratamiento" se usa en el presente documento para indicar que, como mínimo, la administración de un compuesto de la presente descripción mitiga una enfermedad asociada a un trastorno infeccioso, por ejemplo, una infección bacteriana en un huésped, tal como en un sujeto mamífero, tal como en seres humanos. Por lo tanto, el término "tratamiento" incluye inhibir el trastorno infeccioso; y/o aliviar o revertir el trastorno infeccioso. En la medida en que los métodos de la presente descripción están dirigidos a prevenir trastornos infecciosos, se entiende que el término "prevenir" no requiere que el estado de la enfermedad se vea completamente frustrado. (Véase el Webster's Ninth Collegiate Dictionary). Más bien, como se usa en el presente documento, el término prevención se refiere a la capacidad del experto en la técnica para identificar una población que es susceptible a trastornos infecciosos, de manera que la administración de los compuestos de la presente descripción puede ocurrir antes del inicio de la infección. El término no implica que la patología sea completamente evitada.

30

Formulaciones farmacéuticas

La invención se define por las reivindicaciones. Cualquier materia objeto que esté fuera del alcance de las reivindicaciones se proporciona solamente con fines informativos.

35

La presente descripción se refiere, en un aspecto, a composiciones farmacéuticas que comprenden compuestos de 4-oxoquinolizina y Polimixina. La presente descripción también se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden compuestos de 4-oxoquinolizina preferidos con o sin presencia de Polimixinas.

40

De acuerdo con la presente descripción, las composiciones farmacéuticas son preferiblemente para el tratamiento de un individuo infectado por el patógeno, tal como un individuo que padece una infección bacteriana. Sin embargo, las composiciones también pueden ser para administración a un individuo en riesgo de adquirir tal infección. Generalmente, el individuo es un vertebrado, preferiblemente un mamífero, y más preferiblemente un ser humano. El tratamiento puede ser de mejora o curación. Por curación, se pretende indicar la supervivencia de la infección que, de lo contrario, en ausencia del tratamiento provoca que el sujeto que padece la infección muestre una patología creciente o incluso morbilidad. Por lo tanto, las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento pueden prepararse para administración profiláctica a un individuo en riesgo de infección por el patógeno, preferiblemente por la bacteria.

45

En un aspecto de la descripción, la composición farmacéutica es para reducir el riesgo de contagio causado por la infección o en un individuo en riesgo de adquirir una infección bacteriana. En relación con las infecciones epidémicas, o incluso pandémicas, que causan una alta tasa de mortalidad, incluso pequeñas reducciones en el riesgo de contagio pueden ser de gran importancia.

50

En otro aspecto, la composición farmacéutica reduce el riesgo de contagio en un individuo que ha adquirido una infección bacteriana en al menos el 5 %, preferiblemente al menos el 10 %, preferiblemente al menos el 15 %, más preferiblemente al menos el 20 %, o al menos el 30 % o al menos el 40 %, o al menos el 50 %, o al menos el 60 %, o al menos el 70 % o al menos el 80 %, o al menos el 90 %, o más. Las composiciones farmacéuticas de la

55

descripción también pueden reducir el riesgo de contagio causado por una infección bacteriana en un individuo en riesgo de adquirir esta infección en al menos el 5 %, o al menos el 10 %, o al menos el 15 %, o al menos el 20 %, o al menos el 30 % o al menos el 40 %, o al menos el 50 %, o al menos el 60 %, o al menos el 70 % o al menos el 80 %, o al menos el 90 %, o más.

5

Aunque no según la presente invención, la administración de las composiciones farmacéuticas antibacterianas de acuerdo con la descripción puede ser solo una vez o la administración puede repetirse varias veces. Por ejemplo, las composiciones farmacéuticas que comprenden compuestos de 4-oxoquinolizina o las composiciones farmacéuticas que comprenden tanto polimixinas como compuestos de 4-oxoquinolizina pueden administrarse repetidamente a intervalos regulares, por ejemplo en el intervalo de 1 a 5 veces al día, en el intervalo de 1 a 100 días, tal como en el intervalo de 1 a 50 días, por ejemplo, en el intervalo de 1 a 25 días, tal como en el intervalo de 10 a 16 días. La dosis diaria total de los compuestos de esta descripción administrada a un huésped en dosis únicas o en dosis divididas puede ser en cantidades. Las composiciones de dosis individuales pueden contener tales cantidades o submúltiplos de las mismas para constituir la dosis diaria. Las dosis preferidas de polimixina que van a estar contenidas en estas composiciones se describen en el presente documento en la sección "Dosificación de polimixina" y las dosis preferidas de compuestos de 4-oxoquinolizina se describen a continuación en el presente documento.

Las composiciones farmacéuticas se pueden preparar para cualquier vía de administración adecuada, por ejemplo, tópica, parenteral, oral, bucal, sistémica, nasal, inyección, transdérmica, rectal, vaginal, etc., o una forma adecuada para la administración por inhalación o insuflación. Por ejemplo, las composiciones farmacéuticas de la descripción se preparan para administración oral o para administración intraperitoneal, tal como para administración oral. De manera similar, las composiciones farmacéuticas de la descripción pueden ser o pueden usarse en el sitio de una herida sobre o en el cuerpo, por ejemplo como resultado de una cirugía o lesión. Igualmente, las composiciones farmacéuticas de la descripción pueden ser o usarse para una infección interna en el sitio de una prótesis.

25

Las dosificaciones iniciales adecuadas para administración a seres humanos se pueden determinar a partir de ensayos *in vitro* o modelos animales. Por ejemplo, se puede formular una dosificación inicial para lograr una concentración sérica que incluye la CI_{50} del compuesto particular que se administra, según se mide en un ensayo *in vitro*. Como alternativa, una dosificación inicial para seres humanos puede basarse en las dosis que se encuentran eficaces en modelos animales de la enfermedad. Por ejemplo, la dosis puede variar según los síntomas, la edad y el peso corporal del paciente. Usualmente, los compuestos de 4-oxoquinolizina se administran a adultos en una dosis de 0,05 a 100 mg/kg/día, preferiblemente de 0,1 a 50 mg/kg/día, en la administración sistémica. Cuando se usan compuestos de 4-oxoquinolizina para el tratamiento local, la concentración del principio activo es del 0,01 al 5 %, preferiblemente del 0,1 al 3 %. Las dosificaciones preferidas de polimixinas se describen en otra parte en el presente documento.

35

Aunque no según la presente invención, los compuestos de 4-oxoquinolizina y la polimixina pueden administrarse preferiblemente de forma simultánea, sin embargo, también se contempla que los compuestos de 4-oxoquinolizina y la polimixina se administran secuencialmente en cualquier orden.

40

Los siguientes ejemplos son ilustrativos de aspectos específicos de la descripción y diversos usos de los mismos. Se exponen con fines explicativos únicamente.

Ejemplos

45

La invención se define por las reivindicaciones. Cualquier materia objeto que esté fuera del alcance de las reivindicaciones se proporciona solamente con fines informativos.

Ejemplo 1: Determinación de la concentración inhibitoria mínima (MIC) para cepas del CDC

50

Este ejemplo muestra que los compuestos de 4-oxoquinolizina muestran una potente actividad contra un patógeno que es un patógeno del CDC de categoría A o categoría B (Tabla 2) y, por ejemplo, *B. thailandensis* (Tabla 3).

Los resultados para *B. anthracis*, *F. tularensis*, *B. abortus*, y *B. pseudomallei* se resumen en la Tabla 2 a continuación. Las diluciones que varían de 32 µg/ml a 0,015 µg/ml (intervalo de dilución de 12 2 veces). La concentración final de DMSO fue de 1,25 % para *B. anthracis* y del 2,5 % para todos los demás agentes seleccionados. El ensayo se realizó por duplicado en placas de 96 pocillos con un volumen de ensayo total de 100 µl. Las bacterias se cultivaron de acuerdo con las directrices de CLSI. El valor MIC se determinó como la concentración más baja que no produjo crecimiento. Los resultados para *B. thailandensis* se resumen en la Tabla 3 a continuación. Varios compuestos

55

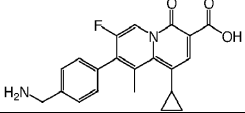
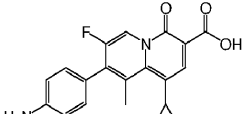
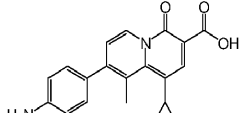
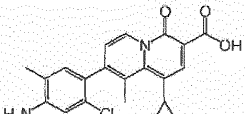
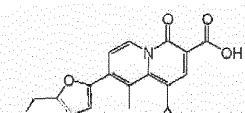
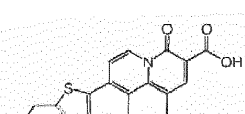
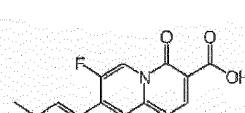
mostraron un cambio de mejora de 2 a 4 diluciones con una MIC90 de entre pH 7 y pH 5. Esta propiedad adicionalmente hace que los compuestos sean terapéuticamente interesantes, particularmente para su uso en tejidos infectados y tejidos donde la acidez citosólica aumenta como resultado de la infección.

5 **Tabla 2** Muestra una potente actividad antimicrobiana contra un panel de patógenos del CDC mostrados por compuestos de 4-oxoquinolizina.

Compuestos	Estructuras	MIC (ug/ml)			
		<i>B. anthracis</i>	<i>F. tularensis</i>	<i>B. abortus</i>	<i>B. pseudomallei</i>
1		<0,008	<0,03	0.125	0.125
5		0.125	0.125	1	2
6		0.125	0.125	0,5	2
9		0,06	0.125	0,25	0,5

Tabla 3 Muestra la potente actividad antimicrobiana contra *B. thailandensis* mostrada por compuestos de 4-oxoquinolizina y un cambio de mejora de 2 a 4 diluciones con una MIC90 de entre pH 7 y pH 5.

Compuestos	Estructura	MIC90 <i>B. thailandensis</i> (ug/ml)	Cambio de mejora de diluciones en <i>B. thailandensis</i> MIC90 (entre pH 7 y pH 5)
1		<0,048	Sí, 4x
2		<0,048	
3		<0,048	
5		0.390	

Compuestos	Estructura	MIC90 <i>B. thailandensis</i> (ug/ml)	Cambio de mejora de diluciones en <i>B. thailandensis</i> MIC90 (entre pH 7 y pH 5)
6		0.390	No
7		<0,048	Sí, 4x
8		<0,024	
11		<0,048	
12		0.390	
13		0.195	
16		<0,048	

Ejemplo 2: Determinación de la concentración inhibitoria mínima (MIC) para bacterias Gram-positivas y Gram-negativas

5 El ejemplo 2 muestra la potente actividad antibacteriana de varios compuestos de 4-oxoquinolizina frente a un panel estándar de cepas Gram-positivas y Gram-negativas (Tabla 4) en comparación con una quinolona comercialmente ya conocida (Ciprofloxacino) y un glucopéptido (Vancomicina). La Tabla 5 a continuación muestra las cepas resistentes usadas para los datos mostrados en la Tabla 6 a continuación que muestra la actividad de una selección de compuestos de 4-oxoquinolizina contra un panel de cepas resistentes a quinolonas.

10

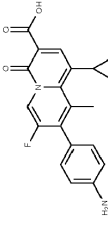
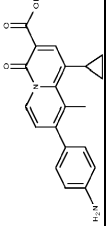
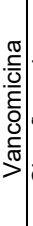

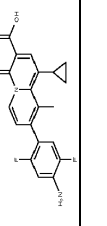
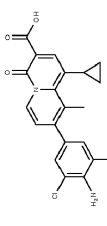
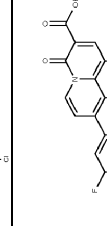
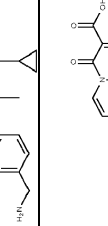
Las MIC se determinaron siguiendo el protocolo CLSI estándar como se describe a continuación en el Ejemplo 4 usando diluciones dobles de compuestos (0,03 a 32 µg/ml), Levofloxacino, Ciprofloxacino, Vancomicina (0,125 a 128 µg/ml) en caldo Mueller Hinton ajustado por cationes (CAMHB, Oxoid). La MIC se determinó como la concentración más baja de un fármaco individual que no conduce a un crecimiento visible.

15

La Tabla 4 a continuación muestra los valores MIC para las presentes 4-oxoquinolizinas frente a un panel estándar de bacterias Gram-positivas y Gram-negativas en comparación con una quinolona (Ciprofloxacino) y un glucopéptido (Vancomicina) comercializados ya conocidos. La Tabla 5 a continuación muestra las cepas resistentes usadas para los datos mostrados en la Tabla 6 a continuación que muestra la actividad de los presentes compuestos de 4-5 oxoquinolizina contra un panel de cepas resistentes a quinolonas.

Tabla 4: Muestra los valores MIC para una selección de 4-oxoquinolizinas frente a paneles estándar de bacterias Gram-positivas y Gram-negativas en comparación con una quinolona (Ciprofloxacino) y un glucopéptido (Vancomicina) comercializados ya conocidos.

Compuestos	Estructuras	MIC (ug/ml)					
		S. aureus 25923	S. aureus 25923 HS	S. aureus 101	S. epidermis 12228	E. faecalis 29212	E. faecium 19434
Compuesto 2		<0,008	0.125	0.125	<0,008	<0,008	0,5
Compuesto 3		<0,008	1	0,06	0.008	0.016	0,5
Compuesto 4		0,06	0.125	4	0,06	0.125	2
Compuesto 5		0,03	0.125	4	0,06	0.125	2
Compuesto 6		0,03	0,25	2	0,03	0.125	4

Compuestos	Estructuras	MIC (ug/ml)							
		S. aureus 25923	S. aureus 25923 HS	S. aureus 101	S. epidermis 12228	E. faecalis 29212	E. faecium 19434		
Compuesto 7		<0,008	1	1	<0,008	0,06	2		
Compuesto 8		<0,008	0,25	0,5	<0,008	0,03	0,5		
Vancomicina		2	2	2	2	2	1		
Ciprofloxacino		1	1	128	0,25	1	8		
Compuesto 2		<0,03	<0,008	0,25	2		0,06		
Compuesto 3		<0,03	0,06	0,5	2		0,25		
Compuesto 4		<0,03	<0,008	0,06	0,5		0,25		
Compuesto 5		<0,03	<0,008	0,06	0,5		0,25		

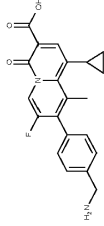
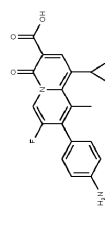
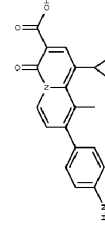
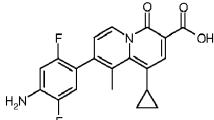
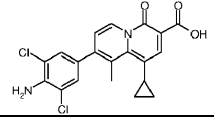
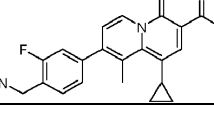
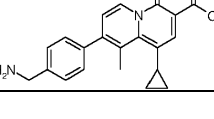
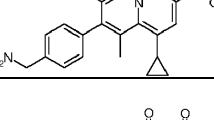
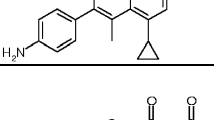
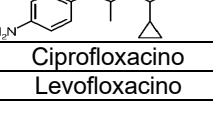
Compuestos	Estructuras	MIC (ug/ml)					
		S. aureus 25923	S. aureus 25923 HS	S. aureus 101	S. epidermis 12228	E. faecalis 29212	E. faecium 19434
Compuesto 6		<0,03	0,03	0.125	2		0,5
Compuesto 7		0,03	<0,008	1	4		0,5
Compuesto 8		0,03	<0,008	0,25	1		0.125
Vancomicina	Vancomicina	>128		>128	>128		>128
Ciprofloxacino	Ciprofloxacino	<0,125	<0,125	<0,125	0,5		4

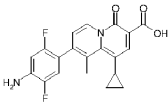
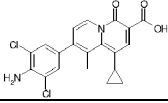
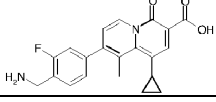
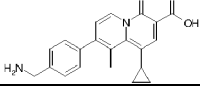
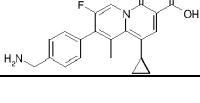
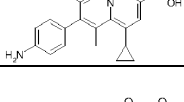
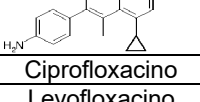
Tabla 5: Lista de las cepas resistentes usadas para los datos mostrados en la Tabla 6

Organismo	Cepa	Fenotipo de resistencia
<i>A. baumannii</i>	OXA-51	CIP R, ESBL
<i>E. coli</i>	CTX-M-15	CIP R, ESBL
<i>E. coli</i>	2906	CIP R
<i>Klebsiella spp</i>	KPC-3	CIP R, ESBL
<i>Pseudomonas spp</i>	PER-1	CIP R, ESBL
<i>P. aeruginosa</i>	1388-3-02	CIP R, POL R
<i>P. aeruginosa</i>	143-3-03	CIP I, POL R
<i>S. aureus</i>	SMITH	CIP R
<i>S. pneumoniae</i>	49619	LEV S
<i>S. pneumonia</i>	1027	LEV R

CIP, ciprofloxacino POL, Polioxina; ESBL, beta-lactamasas de espectro extendido

Tabla 6: Muestra la actividad de 4-o frente a un panel de cepas resistentes a quinolona

Compuestos	Estructuras	MIC (ug/ml)				
		<i>A. baumannii</i> OXA-51	<i>E. coli</i> CTX-M-15	<i>E. coli</i> 2906	<i>Klebsiella ssp</i> KPC-3	<i>S. aureus</i> SMITH
Compuesto 2		4	>32	32	8	<0,03
Compuesto 3		8	>32	>32	8	0,5
Compuesto 4		16	16	8	4	0.125
Compuesto 5		8	16	16	8	0.125
Compuesto 6		8	16	16	16	0.125
Compuesto 7		8	32	32	16	0,25
Compuesto 8		4	>32	>32	16	<0,03
Ciprofloxacino	Ciprofloxacino	128	128	128	128	32
Levofloxacino	Levofloxacino	16	16	32	>128	8

Compuestos	Estructuras	MIC (ug/ml)				
		<i>A. baumannii</i> OXA-51	<i>E. coli</i> CTX-M-15	<i>E. coli</i> 2906	<i>Klebsiella ssp</i> KPC-3	<i>S. aureus</i> SMITH
Compuesto 2		16	8	2	<0,03	0,5
Compuesto 3		32	8	4	0,5	2
Compuesto 4		8	16	4	0.125	1
Compuesto 5		8	16	4	0.125	2
Compuesto 6		16	32	8	0.125	2
Compuesto 7		16	16	4	0,25	4
Compuesto 8		16	8	2	<0,03	2
Ciprofloxacino	Ciprofloxacino	16	16	2	0,5	32
Levofloxacino	Levofloxacino	32	32	8	0,5	16

Ejemplo 3: Determinación de la concentración inhibitoria mínima (MIC) para cepas de *Acinetobacter*

El ejemplo 3 muestra que los compuestos de 4-oxoquinolizina muestran una potente actividad contra un patógeno que es resistente contra uno o más de los antibióticos de quinolonas, carbapenémicos, de aminósidos y glucopeptídicos, y específicamente, la actividad antibacteriana de los compuestos se evaluó frente a una diversidad de cepas de *A. bacter* que consisten en su mayoría en aislados clínicos resistentes (Tabla 7 y 8).

Cepas bacterianas

10

Los organismos utilizados fueron un tipo de cepa y aislados clínicos de *Acinetobacter baumannii* de colecciones de cultivos comerciales o de K. Towner, Nottingham, Reino Unido. Se obtuvo una *Acinetobacter* sp. (H064200250) de D. Livermore, Londres, Reino Unido (véase la Tabla 7 a continuación que enumera las cepas de *Acinetobacter* a las que se hace referencia en la Tabla 8 a continuación).

15

Agentes antimicrobianos

Se adquirieron ciprofloxacino, levofloxacino, vancomicina y amikacina en Fluka y Aldrich (Sigma-Aldrich, Buchs, Suiza); moxifloxacino, meropenem e imipenem/cilastatina se adquirieron en Apin Chemicals Ltd. (Abingdon, Oxon, Reino Unido).

20

Determinación de la concentración inhibitoria mínima (MIC)

Las MIC se determinaron siguiendo el protocolo CLSI estándar como se describe a continuación en el Ejemplo 4 usando diluciones dobles de compuestos (0,03 a 32 µg/ml), Levofloxacin, Ciprofloxacino, Moxifloxacino, Amikacina, Vancomicina, Meropenem e Imipenem/Cilastatina (0,125 a 128 µg/ml) en caldo Mueller Hinton ajustado por cationes (CAMHB, Oxoid). Además, las MIC se ejecutaron en CAMHB complementado. Se usaron puntos de corte CLSI para clasificar la resistencia a carbapenémicos, quinolonas, aminósidos y glucopeptidos¹. Las cepas de *Acinetobacter* se cultivaron en CAMHB durante 20-24 horas a 37 °C en aire ambiente. La MIC se determinó como la concentración más baja de un fármaco individual que no conduce a un crecimiento visible. Con referencia a las siguientes tablas, la

15 **Tabla 7:** Muestra las cepas de *Acinetobacter* usadas para los datos mostrados en la Tabla 8 a continuación.

Organismo	Cepa	Fuente	Origen	Fenotipo de resistencia
<i>A. baumannii</i>	ATCC 19606	DSMZ ¹	Cepa de referencia	-
<i>A. baumannii</i>	J2	Roche	desconocido	LEV R, CIP R
<i>Acinetobacter</i> sp.	H064200250 (OXA51 regulado ascendente)	D. Livermore ²	desconocido	LEV R, CIP R, MRP R, IMP I
<i>A. baumannii</i>	A329	K. Towner ³	Barcelona, ES	LEV R, CIP R, MRP R, IMP R, AMK R, TET R
<i>A. baumannii</i>	A387	K. Towner	Ioannina, GR	LEV I, CIP R, IPM R, AMK R, TET R
<i>A. baumannii</i>	A390	K. Towner	Pleven, Bulgaria	LEV R, CIP R, MRP R, IPM I, AMK R, TET I
<i>A. baumannii</i>	A401	K. Towner	Taiwan	LEV R, CIP R, AMK R, TET R
<i>A. baumannii</i>	A472	K. Towner	Warsaw, PL	LEV R, CIP R, MRP I, IMP I, AMK R, TET R
<i>A. baumannii</i>	A473	K. Towner	Warsaw, PL	LEV R, CIP R, MRP R, IMP R, AMK R, TET R
<i>A. baumannii</i>	A489	K. Towner	Nottingham, Reino Unido (paciente repatriado desde Creta)	LEV R, CIP R, MRP R, IMP R, AMK R, TET R

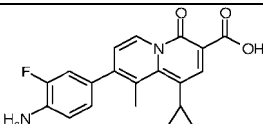
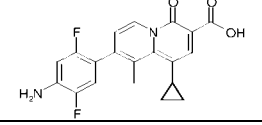
LEV, Levofloxacin; CIP, Ciprofloxacino; MRP, Meropenem; IPM, Imipenem; AMK, Amikacina; TET, tetraciclina

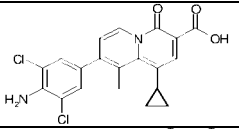
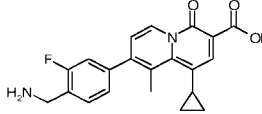
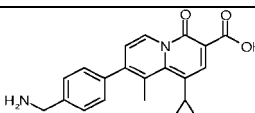
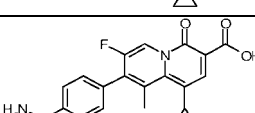
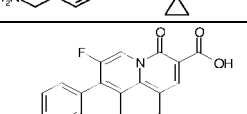
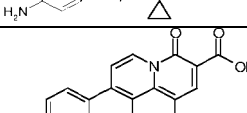
¹DSMZ, Cepa de la colección alemana de microorganismos y cultivos celulares, Braunschweig, Alemania.

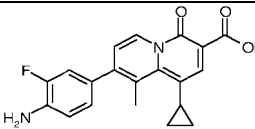
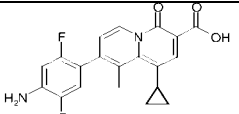
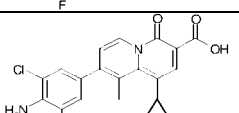
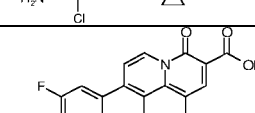
²D. Livermore, Health Protection Agency, Londres, Reino Unido.

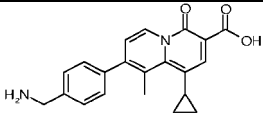
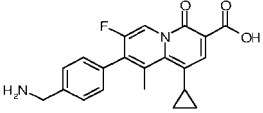
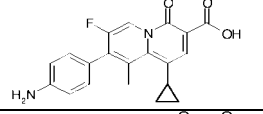
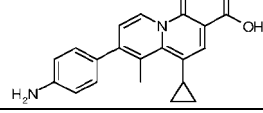
³K. Towner, Nottingham University Hospitals NHS Trust, Nottingham, Reino Unido.

Tabla 8 Muestra los valores MIC para 4-oxoquinolizinas contra un panel de cepas resistentes a *Acinetobacter* en comparación con la eficacia de los fármacos conocidos Levofloxacin, Moxifloxacino, Meropenem, Imipenem y Amikacina.

Compuesto	Estructura	MIC (ug/ml)				
		<i>A. baumannii</i> ATCC 19606	<i>A. baumannii</i> J2	<i>Acinetobacter</i> spp. H064200250	<i>A. baumannii</i> A329	<i>A. baumannii</i> A489
1		0,25	8	8	16	4
2		≤0,03	4	4	8	2

Compuesto	Estructura	MIC (ug/ml)				
		<i>A. baumannii</i> ATCC 19606	<i>A. baumannii</i> J2	<i>Acinetobacter</i> spp. H064200250	<i>A. baumannii</i> A329	<i>A. baumannii</i> A489
3		0,25	8	8	16	4
4		0,25	8	16	16	8
5		0,25	8	16	16	4
6		0,5	16	8	16	8
7		0,5	16	8	16	8
8		1	8	2	16	2
Levofloxacin	Levofloxacin	1	32	16	32	16
Moxifloxacin	Moxifloxacin	0,5	32	16	32	16
Meropenem	Meropenem	2	1	32	128	16
Imipenem	Imipenem	2	4	16	128	128
Amikacina	Amikacina	16	32	16	>128	>128

Compuesto	Estructura	MIC (ug/ml)				
		<i>A. baumannii</i> A387	<i>A. baumannii</i> A390	<i>A. baumannii</i> 401	<i>A. baumannii</i> A472	<i>A. baumannii</i> A473
1		1	16	4	8	4
2		0,5	8	4	4	8
3		1	>32	8	32	4
4		2	8	16	4	8

Compuesto	Estructura	MIC (ug/ml)				
		<i>A. baumannii</i> A387	<i>A. baumannii</i> A390	<i>A. baumannii</i> 401	<i>A. baumannii</i> A472	<i>A. baumannii</i> A473
5		2	8	16	8	8
6		4	8	16	8	8
7		2	8	4	4	4
8		2	16	32	4	2
Levofloxacin	Levofloxacin	8	16	16	16	16
Moxifloxacin	Moxifloxacin	4	16	32	16	16
Meropenem	Meropenem	4	32	32	8	16
Imipenem	Imipenem	16	16	32	16	32
Amikacina	Amikacina	>128	>128	>128	>128	>128

Ejemplo 4: Actividad antimicrobiana de 4-oxoquinolizinas junto con concentraciones subinhibitorias de polimixina B contra aislados clínicos, incluyendo los que son resistentes a quinolonas, carbapenémicos y otros agentes antimicrobianos

5

El Ejemplo 4 describe la determinación de la actividad antimicrobiana de compuestos de 4-oxoquinolizina con sustituciones de 8-anilina y de tipo 8-anilina y muestra que estos mostraron potentes actividades en presencia de concentraciones subinhibitorias de polimixina B contra *A. baumannii* que son resistente a quinolonas, carbapenémicos y otros agentes antimicrobianos. Los compuestos de 4-oxoquinolizina de la invención con anilina o sustituciones de tipo anilina mostraron actividades potentes en presencia de concentraciones subinhibitorias de polimixina B contra *A. baumannii* que incluyen cepas de quinolona y multirresistentes. Las actividades de compuestos que de 8-sustituciones de amina no anilina y el compuesto 10 (ABT-719) fueron menos potenciadas por polimixina B. La potente actividad antimicrobiana mostrada por los presentes compuestos al combinarse con concentraciones subinhibitorias de polimixina B contra *Acinetobacter baumannii*, incluyendo aislados clínicos multirresistentes, se muestra en la Tabla 9, 10 y 11 a continuación. Adicionalmente, los compuestos de 4-oxoquinolizina muestran actividad bactericida en ausencia o presencia de polimixina B como se determina usando un ensayo preliminar de MBC. Los intervalos de MIC sin y con concentraciones subinhibitorias de polimixina B contra cepas resistentes de *A. baumannii* y una cepa sensible de *Acinetobacter* sp se muestran en la Tabla 12.

20 Cepas bacterianas

Los organismos utilizados fueron un tipo de cepa y aislados clínicos de *Acinetobacter baumannii* de colecciones de cultivos comerciales o de K. Towner, Nottingham, Reino Unido. Se obtuvo una *Acinetobacter* sp. (H064200250) de D. Livermore, Londres, Reino Unido.

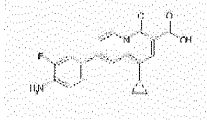
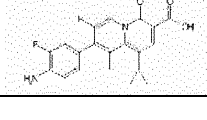
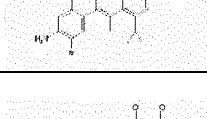
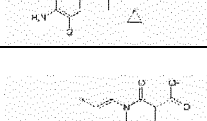
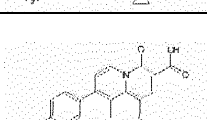
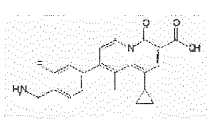
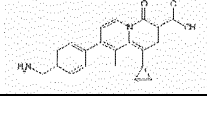
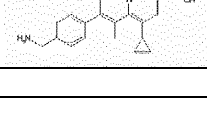
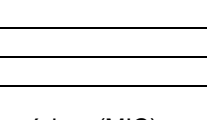
25

Agentes antimicrobianos

Se sintetizaron las 4-oxoquinolizinas con fenil anilinas y fenil aminas como 8 sustituciones, así como también el compuesto de referencia 10 (ABT-719) (véase la Tabla 9 a continuación). Se adquirieron sulfato de polimixina B, levofloxacin y amikacina en Fluka (Sigma - Aldrich, Buchs, Suiza); moxifloxacin, meropenem e imipenem/cilastatina se adquirieron en Apin Chemicals Ltd. (Abingdon, Oxon, Reino Unido).

30

Tabla 9: Agentes antimicrobianos utilizados e intervalos ensayados

Compuestos	Estructura	Intervalo ensayado (µg/ml)
Compuesto 1		0,03-32
Compuesto 17		0 03-32
Compuesto 2		0,03-32
Compuesto 3		0,03-32
Compuesto 7		0 03-32
Compuesto 8		0 03-32
Compuesto 4		0 03-32
Compuesto 5		0 03-32
Compuesto 6		003-32
Levofloxacin		0,125-128
Moxifloxacin		0,125-128
Meropenem		0,125-128
Imipenem/cilastatina		0,125-128
Amikacina		0,125-128
Polimixina B		0,125-128

Determinación de la concentración inhibitoria mínima (MIC)

5 Las MIC se determinaron siguiendo el protocolo CLSI estándar (Clinical y Laboratory Standards Institute. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved Standard-seventh edition M7-A7, Clinical y Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, Estados Unidos, 2006) usando diluciones dobles de 8-fenil anilinas y 8-fenil aminas (0,03 a 32 µg/ml), el compuesto de referencia 10 (ABT-719) (0,008 a 8 µg/ml) y polimixina

B, levofloxacin, moxifloxacin, amikacina, meropenem e imipenem/cilastatina (0,125 a 128 µg/ml) en caldo Mueller Hinton ajustado por cationes (CAMHB, Oxoid). Además, las MIC se realizaron en CAMHB complementado con concentraciones subinhibitorias (0,25 x MIC) de sulfato de polimixina B. Los puntos de corte CLSI se utilizaron para clasificar la resistencia a carbapenémicos, quinolonas, aminoglucósidos y tetraciclinas (DSMZ, Cepa de la colección alemana de microorganismos y cultivos celulares, Braunschweig, Alemania). Las cepas de *Acinetobacter* se cultivaron en CAMHB durante 20-24 horas a 37 °C en aire ambiente. La MIC se determinó como la concentración más baja de un fármaco individual que no conduce a un crecimiento visible.

Desde que se observó el rastreo en el primer experimento, las MIC se confirmaron añadiendo 10 µl de alamarBlue (ensayo AlamarBlue™, Biosource; Lucerna ChemAG) a cada pocillo en el 2º experimento. El ensayo alamarBlue incorpora un indicador de crecimiento basado en la detección de la actividad metabólica. La reducción relacionada con el crecimiento hace que el indicador redox cambie de forma oxidada (azul) a forma reducida (roja). Después de la incubación a 37 °C durante 1 hora, se leyó la MIC como la concentración más baja de un fármaco individual que conduce a un crecimiento no indicado por el color azul.

15 Determinación de la concentración bactericida mínima (MBC) preliminar

Después de leer las MIC, las placas de microtitulación se agitaron (700 rpm, 5 minutos) y se mancharon 5 µl de cultivo de cada pocillo de las placas utilizadas para la determinación de MIC en placas de agar Mueller-Hinton sin antibiótico. Las placas se incubaron durante 18-20 horas a 37 °C. La MBC se leyó como la concentración más baja, en la que el crecimiento de colonias fue de aprox. el 90% menos que el control positivo (es decir, usualmente donde se observaron colonias individuales o ninguna colonia).

25 MIC

Los datos de MIC se muestran en la Tabla 10 (1º experimento) y la Tabla 11 (2º experimento) y los intervalos de MIC se resumen en la Tabla 12 a continuación. Todas las cepas de *A. baumannii* excepto para el tipo de cepa ATCC 19606 y una *Acinetobacter* sp. fueron resistentes a la ciprofloxacino y levofloxacin (una cepa, *A. baumannii* A387 mostró una susceptibilidad intermedia contra levofloxacin y resistencia a la ciprofloxacino). Además, la mayoría de las cepas eran resistentes a carbapenémicos, aminoglucósidos y tetraciclina. Las MIC para la polimixina B variaron de 0,25 a 2 µg/ml (1º experimento) y de 0,25 a 0,5 µg/ml (2º experimento).

35 **Tabla 10** MIC y MBC preliminares sin y con concentraciones subinhibitorias de polimixina B (PB) contra 11 cepas de *A. baumannii* y una cepa de *Acinetobacter* sp. (1º experimento). Los nombres químicos y las estructuras de los compuestos usados se dan en la Tabla 1 anteriormente en el presente documento.

Compuestos	<i>A. baumannii</i> ATCC 19606				
	sin PB		+0,06 µg/ml de PB		MIC sin PB/MIC + PB
	MIC	MBC	MIC	MBC	
Compuesto 1	0,25	0,25	≤0,03	≤0,03	≥8
Compuesto 17	0,5	1	≤0,03	≤0,03	≥16
Compuesto 2	≤0,03	≤0,03	≤0,03	≤0,03	≥1
Compuesto 3	0,25	0,125	≤0,03	≤0,03	≥8
Compuesto 7	0,5	0,5	≤0,03	≤0,03	≥16
Compuesto 8	1	0,125	≤0,03	≤0,03	≥32
Compuesto 4	0,25	0,125	0,125	0,06	2
Compuesto 5	0,25	0,125	0,06	0,06	4
Compuesto 6	0,5	0,25	0,06	0,06	8
Levofloxacin	1	0,5	1	1	1
Moxifloxacin	0,5	0,5	0,5	0,5	1
Meropenem	2	128	1	2	2
Imipenem	2	2	1	2	2
Amikacina	16	16	8	8	2
Polimixina B	0,5	0,5	0,5	0,5	1

Compuestos	<i>A. baumannii</i> J2				
	sin PB		+0,125 µg/ml de PB		MIC sin PB/MIC + PB
	MIC	MBC	MIC	MBC	
Compuesto 1	8	8	≤0,03	≤0,03	≥256
Compuesto 17	4	4	0,06	0,06	64
Compuesto 2	4	4	≤0,03	≤0,03	≥128
Compuesto 3	8	8	0,125	0,125	64
Compuesto 7	16	2	≤0,03	≤0,03	≥512
Compuesto 8	8	8	0,125	0,125	64
Compuesto 4	8	4	2	1	4
Compuesto 5	8	8	0,5	0,5	16
Compuesto 6	16	8	1	1	16
Levofloxacino	32	32	8	8	4
Moxifloxacino	32	32	8	8	4
Meropenem	1	2	1	1	1
Imipenem	4	4	≤0,125	≤0,125	≥32
Amikacina	32	32	4	4	8
Polimixina B	0,5	0,5	0,5	0,5	1

Compuestos	<i>A. baumannii</i> NCTC 13301				
	sin PB		+0,125 µg/ml de PB		MIC sin PB/MIC + PB
	MIC	MBC	MIC	MBC	
Compuesto 1	32	32	≤0,03	0,06	≥1024
Compuesto 17	16	16	≤0,03	≤0,03	≥512
Compuesto 2	16	8	≤0,03	≤0,03	≥512
Compuesto 3	>32	>32	0,5	0,5	≥64
Compuesto 7	16	16	0,06	0,06	256
Compuesto 8	32	16	0,5	1	64
Compuesto 4	8	8	1	0,5	8
Compuesto 5	16	8	1	1	16
Compuesto 6	32	16	1	4 (1)*	32
Levofloxacino	32	32	16	16	2
Moxifloxacino	128	32	128	128	1
Meropenem	32	32	1	1	32
Imipenem	128	128	16	16	8
Amikacina	>128	>128	>128	>128	≥1
Polimixina B	0,5	0,5	1	0,5	0,5

Compuestos	<i>Acinetobacter</i> spp.H064200250				
	sin PB		+0,125 µg/ml de PB		MIC sin PB/MIC + PB
	MIC	MBC	MIC	MBC	
Compuesto 1	8	8	≤0,03	0,25 (0,06)*	≥256
Compuesto 17	8	8	0,06	0,06	128
Compuesto 2	4	4	≤0,03	≤0,03	≥128
Compuesto 3	8	8	0,5	0,5	16
Compuesto 7	8	4	0,25	0,25	32
Compuesto 8	2	4	0,06	0,5 (0,125)*	32
Compuesto 4	16	16	4	8	4
Compuesto 5	16	8	1	1	16
Compuesto 6	8	8	4	4	2
Levofloxacino	16	16	16	16	1
Moxifloxacino	16	16	16	16	1
Meropenem	32	16	1	1	32
Imipenem	16	16	0,5	2 (0,5)*	32
Amikacina	16	16	16	64 (16)*	1

Acinetobacter spp.H064200250					
sin PB		+0,125 µg/ml de PB			
Compuestos	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC sin PB/MIC + PB
Polimixina B	0,5	0,5	0,25	0,5	2

A. baumannii A14					
sin PB		+0,06 µg/ml de PB			
Compuestos	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC sin PB/MIC + PB
Compuesto 1	32	32	0,06	0,06	512
Compuesto 17	16	16	1	1	16
Compuesto 2	16	16	≤0,03	≤0,03	≥512
Compuesto 3	>32	>32	1	1	≥32
Compuesto 7	32	16	1	1	32
Compuesto 8	32	16	1	1	32
Compuesto 4	32	16	8	8	4
Compuesto 5	32	16	4	8	8
Compuesto 6	32	16	8	8	4
Levofloxacino	32	32	32	32	1
Moxifloxacino	32	32	32	32	1
Meropenem	1	2	0,5	0,5	2
Imipenem	1	2	1	1	1
Amikacina	32	32	16	16	2
Polimixina B	0,5	0,5	0,5	0,5	1

A. baumannii A329					
sin PB		+0,125 µg/ml de PB			
Compuestos	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC sin PB/MIC + PB
Compuesto 1	16	16	NR	NR	
Compuesto 17	8	8	NR	NR	
Compuesto 2	8	8	NR	NR	
Compuesto 3	16	16	NR	NR	
Compuesto 7	16	16	NR	NR	
Compuesto 8	16	16	NR	NR	
Compuesto 4	16	16	NR	NR	
Compuesto 5	16	16	NR	NR	
Compuesto	16	16	NR	NR	
Levofloxacino	32	32	NR	NR	
Moxifloxacino	32	64	NR	NR	
Meropenem	128	128	NR	NR	
Imipenem	128	128	NR	NR	
Amikacina	>128	>128	NR	NR	
Polimixina B	0,5	0,5	NR	NR	

A. baumannii A387					
sin PB		+0,06 µg/ml de PB			
Compuestos	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC sin PB/MIC + PB
Compuesto 1	1	1	≤0,03	≤0,03	≥32
Compuesto 17	1	2	≤0,03	≤0,03	≥32
Compuesto 2	0,5	0,5	≤0,03	≤0,03	≥16
Compuesto 3	1	1	≤0,03	0,25 (≤0,03)*	≥32
Compuesto 7	2	2	≤0,03	≤0,03	≥64
Compuesto 8	2	2	≤0,03	≤0,03	≥64
Compuesto 4	2	2	1	1	2
Compuesto 5	2	1	0,25	0,25	8
Compuesto 6	4	4	0,5	0,5	8
Levofloxacino	8	8	8	8	1

A. baumannii A387					
Compuestos	sin PB		+0,06 µg/ml de PB		MIC sin PB/MIC + PB
	MIC	MBC	MIC	MBC	
Moxifloxacino	4	4	4	4	1
Meropenem	4	4	1	1	4
Imipenem	16	16	8	8	2
Amikacina	>128	>128	>128	>128	≥1
Polimixina B	0,25	0,25	0,25	0,25	1

A. baumannii A390					
Compuestos	sin PB		+0,125 µg/ml de PB		MIC sin PB/MIC + PB
	MIC	MBC	MIC	MBC	
Compuesto 1	16	16	NR	NR	
Compuesto 17	16	16	NR	NR	
Compuesto 2	8	8	NR	NR	
Compuesto 3	>32	>32	NR	NR	
Compuesto 7	8	4	NR	NR	
Compuesto 8	16	8	NR	NR	
Compuesto 4	8	8	NR	NR	
Compuesto 5	8	8	NR	NR	
Compuesto 6	8	8	NR	NR	
Levofloxacino	16	8	NR	NR	
Moxifloxacino	16	16	NR	NR	
Meropenem	32	32	NR	NR	
Imipenem	16	16	NR	NR	
Amikacina	>128	>128	NR	NR	
Polimixina B	0,25	0,25	NR	NR	

A. baumannii A 401					
Compuestos	sin PB		+0,06 µg/ml de PB		MIC sin PB/MIC + PB
	MIC	MBC	MIC	MBC	
Compuesto 1	4	16 (4)*	≤0,03	≤0,03	≥128
Compuesto 17	4	8	0,5	0,5	8
Compuesto 2	4	2	≤0,03	≤0,03	≥128
Compuesto 3	8	4	0,125	0,125	64
Compuesto 7	4	4	0,5	0,5	8
Compuesto 8	32	8	≤0,03	≤0,03	≥1024
Compuesto 4	16	4	4	2	4
Compuesto 5	16	8	2	2	8
Compuesto 6	16	4	4	4	4
Levofloxacino	16	16	16	16	1
Moxifloxacino	32	16	16	8	2
Meropenem	32	16	4	4	8
Imipenem	32	32	8	8	4
Amikacina	>128	>128	>128	>128	≥1
Polimixina B	1	1	0,5	0,5	2

A. baumannii A472					
Compuestos	sin PB		+0,125 µg/ml de PB		MIC sin PB/MIC + PB
	MIC	MBC	MIC	MBC	
Compuesto 1	8	8	≤0,03	≤0,03	≥256
Compuesto 17	4	4	≤0,03	0,125	≥128
Compuesto 2	4	4	≤0,03	≤0,03	≥128
Compuesto 3	32	>32	0,5	0,25	64
Compuesto 7	4	4	≤0,03	≤0,03	≥128
Compuesto 8	4	2	≤0,03	≤0,03	≥128

A. baumannii A472					
Compuestos	sin PB		+0,125 µg/ml de PB		MIC sin PB/MIC + PB
	MIC	MBC	MIC	MBC	
Compuesto 4	4	2	1	1	4
Compuesto 5	8	4	1	1	8
Compuesto 6	8	4	0,5	0,5	16
Levofloxacino	16	8	4	4	4
Moxifloxacino	16	8	32	4	0,5
Meropenem	8	8	≤0,125	≤0,125	≥64
Imipenem	16	16	0,25	0,25	64
Amikacina	>128	>128	16	32	≥8
Polimixina B	0,5	0,5	≤0,125	≤0,125	≥4

A. baumannii A473					
Compuestos	sin PB		+0,125 µg/ml de PB		MIC sin PB/MIC + PB
	MIC	MBC	MIC	MBC	
Compuesto 1	4	4	NR	NR	
Compuesto 17	4	4	NR	NR	
Compuesto 2	8	2	NR	NR	
Compuesto 3	4	4	NR	NR	
Compuesto 7	4	4	NR	NR	
Compuesto 8	2	2	NR	NR	
Compuesto 4	8	4	NR	NR	
Compuesto 5	8	4	NR	NR	
Compuesto 6	8	4	NR	NR	
Levofloxacino	16	16	NR	NR	
Moxifloxacino	16	8	NR	NR	
Meropenem	16	64 (16)*	NR	NR	
Imipenem	32	32	NR	NR	
Amikacina	>128	>128	NR	NR	
Polimixina B	1	1	NR	NR	

A. baumannii A489					
Compuestos	sin PB		+0,25 µg/ml de PB		MIC sin PB/MIC + PB
	MIC	MBC	MIC	MBC	
Compuesto 1	4	8	≤0,03	≤0,03	≥128
Compuesto 17	8	4	≤0,03	≤0,03	≥256
Compuesto 2	2	2	≤0,03	≤0,03	≥64
Compuesto 3	4	2	0,06	0,06	64
Compuesto 7	8	4	≤0,03	≤0,03	≥256
Compuesto 8	2	2	≤0,03	≤0,03	≥64
Compuesto 4	8	4	1	1	8
Compuesto 5	4	2	0,5	1	8
Compuesto 6	8	8	0,5	1	16
Levofloxacino	16	32	8	8	2
Moxifloxacino	16	8	4	4	4
Meropenem	16	8	0,5	0,5	32
Imipenem	128	64	2	2	64
Amikacina	>128	>128	128	128	≥1
Polimixina B	2	2	1	1	2

PB, polimixina B

*crecimiento omitido sobre placa MBC

ND, el valor MIC fue superior a los datos anteriores, por lo tanto, este valor no se consideró

NR, la MIC no fue legible debido al crecimiento no homogéneo en los pozos (es decir, se omitió el crecimiento en muchos pocillos)

Tabla 11 MIC y MBC preliminares sin y con concentraciones subinhibitorias de polimixina B (PB) contra 11 cepas de *A. baumannii* y una cepa de *Acinetobacter* sp. (2º experimento). Los nombres químicos y las estructuras de los compuestos usados se dan en la Tabla 1 anteriormente en el presente documento.

Compuestos	<i>A. baumannii</i> NCTC 13301				
	sin PB		+0,125 µg/ml de PB		MIC sin PB/MIC + PB
	MIC	MBC	MIC	MBC	
Compuesto 1	32	32	□0,03	□0,03	□1024
Compuesto 2	16	32	□0,03	□0,03	□512
Compuesto 3	>32	>32	□0,03	□0,03	□1024
Compuesto 7	16	16	□0,03	□0,03	□512
Compuesto 8	16 (8) [#]	16	0,5	0,5	32
Compuesto 4	32	32	0,25	0,25	128
Compuesto 5	8	8	1	1	8
Compuesto 6	16	8	1	2	16
Levofloxacino	32	16	8,00	4,00	4
Moxifloxacino	64 (32) [#]	64	8	8	8
Meropenem	64	64	0,25	□0,125	256
Imipenem	128	128	1	0,5	128
Amikacina	>128	>128	128	64	□1
Polimixina B	0,25	0,25	□0,125 *(0,25)	□0,125	□2

Compuestos	<i>Acinetobacter</i> spp.H064200250 (OXA51)				
	sin PB		+0,125 µg/ml de PB		MIC sin PB/MIC + PB
	MIC	MBC	MIC	MBC	
Compuesto 1	16	32	□0,03	□0,03	□512
Compuesto 2	4	8	□0,03 (0,06) [#]	0,06	□128
Compuesto 3	16	16	0,06	0,06	256
Compuesto 7	16 (8) [#]	8	□0,03	□0,03	□512
Compuesto 8	4 (8) [#]	4	0,125	0,125	32
Compuesto 4	32 (16) [#]	32	0,5	0,5	64
Compuesto 5	16	16	4	4	4
Compuesto 6	16	>32	2	1	8
Levofloxacino	16	16	8	8	2
Moxifloxacino	16	16	16	16	1
Meropenem	16	16	0,25	0,25	64
Imipenem	8	8	0,5	0,5	16
Amikacina	8	8	1	1	8
Polimixina B	0,25	0,25	0,25	0,25	1

Compuestos	<i>A. baumannii</i> A14				
	sin PB		+0,06 µg/ml de PB		MIC sin PB/MIC + PB
	MIC	MBC	MIC	MBC	
Compuesto 1	32	32	0,06	0,06	512
Compuesto 2	16	16	0,06	0,06	256
Compuesto 3	>32	>32	0,125	0,125	□256
Compuesto 7	16	16	2	2	8
Compuesto 8	8	16	0,5	0,5	16
Compuesto 4	32	>32	2	8	16
Compuesto 5	16	16	4	4	4
Compuesto 6	16	16	4	8	4
Levofloxacino	32	32	16,00	16,00	2
Moxifloxacino	32	32	16	16	2
Meropenem	1 (2) [#]	2	1	1	1
Imipenem	1	1	1	0,5	1
Amikacina	16	16	8	8	2
Polimixina B	0,25	0,25	0,25	0,25	1

A. baumannii A329					
Compuestos	sin PB		+0,06 µg/ml de PB		MIC sin PB/MIC + PB
	MIC	MBC	MIC	MBC	
Compuesto 1	16	32	2	2	8
Compuesto 2	8	8	0,5 (1) [#]	0,5	16
Compuesto 3	16 (>32) [#]	32	0,5 (1) [#]	0,25	32
Compuesto 7	16	16	2	2	8
Compuesto 8	8	8	2	2	4
Compuesto 4	16 (32) [#]	32	8	8	2
Compuesto 5	8 (16) [#]	16	8	8	1
Compuesto 6	16	16	8	8	2
Levofloxacino	16	32	32	16	0,5
Moxifloxacino	32	32	32	32	1
Meropenem	128 (>128) [#]	>128	32 (64) [#]	32	4
Imipenem	>128	>128	128	128	□1
Amikacina	128 (>128) [#]	128	128	128	1
Polimixina B	0,25	0,25	0,25	0,25	1

A. baumannii A387					
Compuestos	sin PB		+0,06 µg/ml de PB		MIC sin PB/MIC + PB
	MIC	MBC	MIC	MBC	
Compuesto 1	4	4	□0,03	□0,03	□128
Compuesto 2	1	1	□0,03	□0,03	□32
Compuesto 3	1	4	□0,03	□0,03	□32
Compuesto 7	2	2	□0,03	□0,03	□64
Compuesto 8	1	1	0,5	0,25	2
Compuesto 4	2	2	0,25 (0,125) [#]	0,5	8
Compuesto 5	4	4	1	1	4
Compuesto 6	4	16	1	1	4
Levofloxacino	4	8	4,00	4,00	1
Moxifloxacino	8	8	8	8	1
Meropenem	8	8	4 (2) [#]	2	2
Imipenem	16	16	8	8	2
Amikacina	>128	>128	128	128	□1
Polimixina B	0,25	0,25	□0,125 (0,25) [#]	0,25	□2

A. baumannii A390					
Compuestos	sin PB		+0,06 µg/ml de PB		MIC sin PB/MIC + PB
	MIC	MBC	MIC	MBC	
Compuesto 1	16	16	□0,03	□0,03	□512
Compuesto 2	16	16	□0,03 (0,06) [#]	0,06	□512
Compuesto 3	>32	>32	0,125	0,125	□256
Compuesto 7	16	16	0,125	0,125	128
Compuesto 8	16	16	0,5	0,5	32
Compuesto 4	32	32	0,5	0,5	64
Compuesto 5	8 (16) [#]	16	2	2	4
Compuesto 6	16 (8) [#]	8	2	2	8
Levofloxacino	16 (8) [#]	8	8	8	2
Moxifloxacino	16	16	8	8	2
Meropenem	32	32	2	2	16
Imipenem	16	16	4	4	4
Amikacina	>128	>128	64	64	□2
Polimixina B	0,25	0,25	□0,125	□0,125	□2

A. baumannii A 401					
Compuestos	sin PB		+0,06 µg/ml de PB		MIC sin PB/MIC + PB
	MIC	MBC	MIC	MBC	
Compuesto 1	16	8	□0,03	□0,03	□512
Compuesto 2	4	4	□0,03	□0,03	□128
Compuesto 3	16	16	0,125	0,125	128
Compuesto 7	8	8	1	0,5	8
Compuesto 8	8	8	0,25	0,25	32
Compuesto 4	16	32	0,5	0,5	32
Compuesto 5	8	8	4	4	2
Compuesto 6	16	16	4	32	4
Levofloxacino	16	16	16,00	8,00	1
Moxifloxacino	16	16	16	8	1
Meropenem	16	32	4	4	4
Imipenem	32	32	4	4	8
Amikacina	>128	>128	>128	>128	□1
Polimixina B	0,5	0,5	0,25	0,25	2

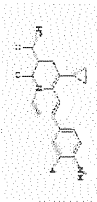


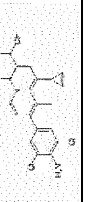
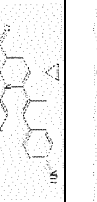

A. baumannii A472					
Compuestos	sin PB		+0,125 µg/ml de PB		MIC sin PB/MIC + PB
	MIC	MBC	MIC	MBC	
Compuesto 1	8	32	□0,03	□0,03	□256
Compuesto 2	4	8	□0,03	□0,03	□128
Compuesto 3	>32	>32	□0,03	□0,03	□1024
Compuesto 7	8	8	□0,03	□0,03	□256
Compuesto 8	4	4	0,06	0,06	64
Compuesto 4	16	16	0,125	0,125	128
Compuesto 5	4	4	1	1	4
Compuesto 6	4	8	1	1	4
Levofloxacino	8	8	4	4	2
Moxifloxacino	16	16	4	4	4
Meropenem	8	8	□0,125	□0,125	□64
Imipenem	8	8	0,25	0,25	32
Amikacina	>128	>128	32	32	□4
Polimixina B	0,5	0,5	0,25	0,25	2

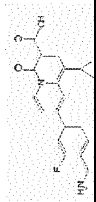
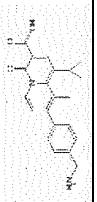
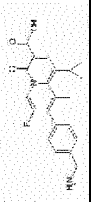
A. baumannii A473					
Compuestos	sin PB		+0,06 µg/ml de PB		MIC sin PB/MIC + PB
	MIC	MBC	MIC	MBC	
Compuesto 1	8	8	1	1	8
Compuesto 2	4	4	0,06 (0,125) [#]	0,125	64
Compuesto 3	8	8	□0,03 (0,06) [#]	0,06	□256
Compuesto 7	4	4	0,06	0,06	64
Compuesto 8	4	4	0,5	0,5	8
Compuesto 4	8	8	0,25	0,25	32
Compuesto 5	8	8	1	1	8
Compuesto 6	8	8	2	2	4
Levofloxacino	8 (16) [#]	8	8,00	8,00	1
Moxifloxacino	8	8	8	8	1
Meropenem	16 (32) [#]	16	2	2	8
Imipenem	32	32	4	4	8
Amikacina	>128	>128	128	128	□1
Polimixina B	0,25 (2) [#]	0,25	0,25	0,25	1

A. baumannii A489					
Compuestos	sin PB		+0,25 µg/ml de PB		MIC sin PB/MIC + PB
	MIC	MBC	MIC	MBC	
Compuesto 1	16	16	□0,03	□0,03	□512
Compuesto 2	4	4	□0,03	□0,03	□128
Compuesto 3	4	4	□0,03	□0,03	□128
Compuesto 7	8	16	□0,03	□0,03	□256
Compuesto 8	8	8	□0,03	□0,03	□256
Compuesto 4	16	16	□0,03 (0,06) [#]	0,06	□512
Compuesto 5	8 (4) [#]	8	0,5	0,5	16
Compuesto 6	4	4	0,5	0,5	8
Levofloxacino	32 (16) [#]	16	8	4	4
Moxifloxacino	16	16	4	4	4
Meropenem	16 (32) [#]	16	□0,125	□0,125	□128
Imipenem	64	64	0,25	0,25	256
Amikacina	>128	>128	64	64	□2
Polimixina B	0,5	0,5	0,25	0,25	2

PB, polimixina B
[#]MIC leída con alamar blue

Tabla 12: Los intervalos de MIC sin y con concentraciones subinhibitorias de polimixina B contra cepas resistentes de *A. baumannii* y una cepa de *Acinetobacter* sp.¹

Compuestos	Estructura	Relaciones de intervalo de la MIC sin PB/MIC con PB					
		Intervalo de MIC sin PB 01-10-2008 n = 8 ²	Intervalo de MIC sin PB 14-10-2008 n = 11 ³	Intervalo de MIC con PB (0,25 x MIC) 01-10-2008 n = 8	Intervalo de MIC con PB (0,25 x MIC) 14-10-2008 n = 11	Intervalo de MIC con PB 01-10-2008 n = 8	Intervalo de MIC con PB 14-10-2008 n = 11
Compuesto 1		1 - 32	4-32	≤0,03 - 0,06	≤0,03-2	≥32 - ≥1024	8 - ≥1024
Compuesto 17		1 - 16	ND ⁴	≤0,03 - 1	ND	8 - ≥512	ND
Compuesto 2		0,5 - 16	1-16	≤003 - 1	≤0,03-0,5	≥16 - ≥512	16 - ≥512
Compuesto 3		1 - >32	1->32	≤0,03 - 1	≤0,03-0,5	16 - ≥64	32 - ≥1024
Compuesto 7		2-32	2-16	≤0,03 - 1	≤0,03-2	8 - ≥512	8 - ≥512
Compuesto 8		2-32	2-32	≤0,03 - 1	≤ 0,03-8	32 - ≥1024	2 - ≥512

Compuestos	Estructura	Intervalo de MIC sin PB			Intervalo de MIC con PB (0,25 x MIC)			Relaciones de intervalo de la MIC sin PB/MIC con PB		
		01-10-2008 n = 8 ²	14-10-2008 n = 11 ³	01-10-2008 n = 8	14-10-2008 n = 11	01-10-2008 n = 8	14-10-2008 n = 11			
Compuesto 4		2 - 32	4-16	1 - 8	0,5-8	2 - 8	1-16			
Compuesto 5		2 - 32	4-16	0,25 - 4	025-8	8 - 16	4-32			
Compuesto 6		4 - 32	ND	05 - 8	ND	2 - 32	ND			
Levofloxacin		8 - 32	4-32	4 - 32	4-32	1 - 4	0,5-8			
Moxifloxacin		4 - 128	8-64	4 - 128	4-32	0,5 - 4	1-8			
Meropenem		1 - 32	1 - 128	<0,125 - 4	≤0.125-32	1 - ≥64	1-256			
Imipenem/cilastatina		1 - 128	1->128	<0,125 - 16	≤0.125-128	1 - 64	1-256			
Amikacina		16 - >128	8->128	4 - >128	05->128	1 - ≥8	1-16			

¹A. *baumannii* ATCC 19606 no se tomó para el cálculo de los intervalos de MIC, ya que era muy susceptible contra los compuestos 4-oxoquinolizina.
²n = 8, tres cepas (A. *baumannii* A329, A390 y A473) no se tomaron para el cálculo de los intervalos de MIC ya que no se observó crecimiento homogéneo (muchos pocillos omitidos) en presencia de polimixina B.
³n = 11, todas las cepas, excepto para la cepa ATCC, se tomaron para el cálculo de intervalos de MIC ⁴ND, no determinado

Los compuestos de 8-fenil anilinas 1-8 y el compuesto de referencia 10 (ABT-719) mostraron actividades potentes contra la cepa ATCC 19606 de *A. baumannii* con y sin concentraciones subinhibitorias de polimixina B. Dado que esta cepa era más susceptible en comparación con los aislados clínicos, sus valores MIC no se tomaron en cuenta para los cálculos de los intervalos de MIC (Tabla 12).

5

Tres cepas de *A. baumannii* no crecieron homogéneamente en todos los pocillos de las placas de microtitulación que contenían 0,125 µg/ml de polimixina B en el primer experimento (*A. baumannii* A329, A390, A473), por lo que estas cepas no se consideraron para el cálculo de los intervalos de MIC en la Tabla 12. En el 2º experimento, se usó una concentración de polimixina B inferior (0,06 µg/ml) y el crecimiento fue homogéneo en todos los pocillos.

10

La actividad de los compuestos de 8-fenil anilinas 1, 2, 3, 7, 8 y 17 se potenció en presencia de polimixina B.

Las actividades de las 8-fenil anilinas fueron de 2 a >1000 veces mayores en presencia de polimixina B en comparación con las actividades sin polimixina B (Tabla 12). En general, las MIC de las 8-fenil anilinas fueron ≤0,03 a 0,5 µg/ml para la mayoría de las cepas, excepto para MIC 4 veces mayores frente a *A. baumannii* A-329 (las MIC

15

fueron de 0,5 a 2 µg/ml). Para esta cepa, las MIC de las 8-fenil anilinas se vieron menos afectadas por la presencia de polimixina B (MIC de 2 a 32 veces menores en presencia de polimixina B) en contraste con las otras cepas (Tabla 11). Los compuestos 2 y 3 fueron las 8-fenil anilinas más activas en presencia de polimixina B frente a las cepas resistentes a quinolonas de *A. baumannii* con MIC que variaban de ≤0,03 a 0,5 µg/ml (Tabla 12). Sin embargo, el compuesto 2 fue más activo contra las cepas de *Acinetobacter* resistentes a quinolonas que el compuesto 3 en

20

ausencia de polimixina B (Tabla 10 y 11).

Las actividades de levofloxacino, moxifloxacino o amikacina no se vieron afectadas significativamente por la polimixina B, mientras que las MIC de meropenem e imipenem/cilastatina fueron de 1 a 256 veces menores en presencia de polimixina B (Tabla 12).

25

MBC preliminares

Las MBC se estimaron manchando 5 µl de cultivos de las placas MIC en agar. Los datos preliminares de MBC se muestran en la Tabla 10 (1º experimento) y la Tabla 11 (2º experimento). Las 8-fenil anilinas y 8-fenil aminas mostraron actividades bactericidas aparentes contra *A. baumannii* con relaciones MBC/MIC preliminares que varían de 1 a 4, excepto unos pocos compuestos frente a unas pocas cepas con una relación MBC/MIC de 8 (Tabla 10). y 11). No se observaron diferencias en las relaciones MBC/MIC en ausencia o presencia de polimixina B, aunque los valores absolutos de MBC (y MIC) fueron menores en presencia de polimixina B especialmente para las 8-fenil anilinas.

35

Ejemplo 5: Actividad antimicrobiana de las 4-oxoquinolizinas frente a un panel seleccionado de cepas Gram-positivas y Gram-negativas y *K. pneumonia*.

El ejemplo 5 muestra la actividad antibacteriana de las 4-oxoquinolizinas particulares contra una selección de cepas Gram-positivas y Gram-negativas (Tabla 13) y de una selección de tres 4-oxoquinolizinas sobre cepas de *K. pneumonia* (Tabla 14).

40

Se midieron los valores MIC para todos los compuestos frente a una selección de cepas bacterianas. Las MIC de 4-oxoquinolizinas frente a una selección de cepas bacterianas Gram-negativas y Gram-positivas se muestran en la Tabla 13 en comparación con antibióticos conocidos. La Tabla 14 muestra la actividad de un número seleccionado de 4-oxoquinolizinas contra cepas de *K. pneumonia*, una cepa sensible y una cepa resistente a quinolona (NDM-1 BAA-2146).

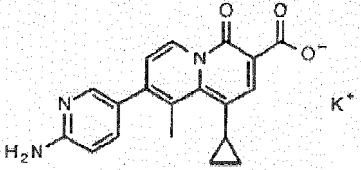
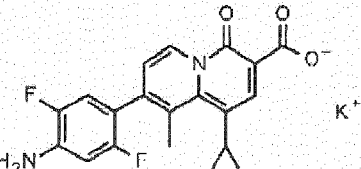
45

Tabla 13 Muestra el valor MIC de algunas 4-oxoquinolizinas en un panel seleccionado de cepas bacterianas. Los nombres químicos y las estructuras de los compuestos se dan en la Tabla 1 anteriormente en el presente documento.

Compuestos	MIC (µg/ml) contra bacterias Gram negativas				MIC (µg/ml) contra bacterias Gram positivas		
	<i>B. thailandensis</i> E264	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>A. baumannii</i> ATCC 19606	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>S. aureus</i> ATCC 43300 (MRSA, FQ-S)	<i>S. aureus</i> BAA-1556 (USA300-Tipo MRSA, FQ-R)
Compuesto 4	1	0,016	1	0,25	0,064	0,032-0,064	0,5
Compuesto 13 Sal K	0,5	0,016	1	0,125	0,016	0,016	0,5
Compuesto 6 Sal K	4	0,064-0,125	4-8	1	0,125	0,064	1
Compuesto 57	>8	1	>8	8	0,25-0,5	0,25	8
Compuesto 60 Sal K	0,5	0,032	2	0,064	0,008	≤0,004	0,125
Compuesto 69 Sal K	1	0,125	4	0,25-0,5	≤0,004	≤0,004	0,25
Compuesto 72 Sal K	2	0,008-0,016	0,5	0,25	0,008	0,008-0,016	0,25
Compuesto 76 Sal K	2	0,032	1	0,25	0,016	0,008-0,016	0,25
Compuesto 78 Sal K	0,5	0,064-0,125	2	0,125	0,008	0,008	0,125
Compuesto 79 Sal K	0,5	0,016	2	0,064	≤0,004	≤0,004	0,125
Compuesto 87 sal K	4	0,125	8	0,25	0,064	0,064	8
Compuesto 89 sal K	4	0,125	8	0,5	0,032	0,032	2
Ciprofloxacino	4	0,008	0,25	1	0,25	0,5	>8
Levofloxacino	4	0,016	1	0,5	0,125	0,25	8
Doxiciclina	2	1	>8	0,125	0,125	0,25	4

5 Además, las MIC específicas en *K. pneumoniae* para el compuesto 2 y el compuesto 33 se muestran en la Tabla 14.

Tabla 14 Muestra la MIC en *K. pneumoniae* para una selección de 4-oxoquinolizinas.

Compuestos	Estructura	MIC (µg/ml)	
		<i>K. pneumoniae</i> ATCC 33495	<i>K. pneumoniae</i> BAA-2146 (NDM-1, FQ-R)
Compuesto 33 sal K		0,064	>8
Compuesto 2 sal K		0,25	>8

Ejemplo 6: Sinergia de la actividad antimicrobiana de 4-oxoquinolizinas con polimixina B contra cepas de *Acinetobacter* y *K. pneumoniae*.

5 El ejemplo 6 muestra que los compuestos de 4-oxoquinolizina poseen actividad antibacteriana sinérgica con polimixina B. Se usó una técnica de tablero de ajedrez para mostrar las interacciones sinérgicas entre tres compuestos de 4-oxoquinolizinas y polimixina B (Tabla 15 y 16, Figuras 1, 2 y 3). Existe una fuerte indicación de que los compuestos 2 y 33 junto con polimixina B son sinérgicos (o al menos parcialmente sinérgicos) contra cepas resistentes a fluoroquinolonas de *A. baumannii*. No se observó interacción entre levofloxacin y la polimixina B.

10 Se usó una técnica de tablero de ajedrez para identificar posibles interacciones sinérgicas o antagonistas entre los compuestos de 4-oxoquinolizinas, levofloxacin y polimixina B. Se incluyó levofloxacin como control. Se prepararon soluciones madre de DMSO al 10% para el compuesto 2 (25,6 mg/ml) y el compuesto 33 (12,8 mg/ml), así como una solución madre de levofloxacin de 1,28 mg/ml y una solución madre de polimixina B de 0,64 mg/ml. Las diluciones
15 finales se realizaron en caldo Mueller-Hinton, el medio de prueba específico utilizado para las determinaciones de MIC de acuerdo con las directrices de CLSI (CLSI. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard-Eighth Edition (2009). CLSI Document M07-A8, CLSI, Wayne, Pennsylvania 19087-1898, Estados Unidos). El medio de ensayo usado fue un caldo Mueller-Hinton II ajustado por cationes (Becton Dickinson UK Ltd., Oxford Science Park, Oxford, Reino Unido, OX4 4DQ).

20 Los compuestos 2 y 33, así como el levofloxacin se ensayaron junto con polimixina B en los siguientes aislados: GN31 *Acinetobacter baumannii* - aislado clínico susceptible a antibióticos, GN52 *Acinetobacter baumannii* - aislado clínico resistente a levofloxacin, GN56 *Acinetobacter baumannii* - aislado clínico resistente a levofloxacin, GN48 *Klebsiella pneumoniae* - NCTC 13443 - NDM-1-metallo-β-lactamaasa, y GN10 *Pseudomonas aeruginosa* - ATCC
25 27853 - aislado de referencia susceptible a antibióticos. Todos los aislamientos son de la colección mantenida en Quotient Bioresearch Ltd., Cambridge, Reino Unido.

Los valores MIC para los compuestos y la polimixina B y el levofloxacin se determinaron mediante microdilución en caldo siguiendo las directrices CLSI, y las MIC de los agentes en combinación se determinaron como se describe por
30 Pillai *et al* (Pillai SK, Moellering RC Jr, Eliopoulos GM; Antimicrobial Combinations en Antibiotics en Laboratory Medicine 5ª Edición (V. Lorian Ed) (2005) pág. 365-440). Los resultados iniciales de MIC se utilizaron para determinar los patrones de placa de microtitulación para los tableros de ajedrez. Se seleccionó un intervalo de concentración de dilución doble adecuado de tal forma que el intervalo de combinación de antibióticos fue de al menos dos concentraciones por encima y cuatro concentraciones por debajo de la MIC para cada aislamiento. Se
35 ensayó un intervalo fijo de 0,008 a 8 mg/l para la polimixina B, excepto en el caso de *A. baumannii* GN31, donde se ensayó un intervalo de 0,004 a 4 mg/l cuando se combinaron con los compuestos 2 y 33, así como levofloxacin.

A partir de los datos brutos, se determinaron los índices de concentración inhibitoria fraccional (FICI) para los compuestos de la invención y el levofloxacin junto con la polimixina B para cada aislado como se indica a
40 continuación:

$$FICI = FIC_x + FIC_y$$

Donde,

45 FIC_x = concentración de la combinación de antibióticos en una fila particular ÷ MIC de la combinación de fármacos en solitario
 FIC_y = MIC de la polimixina B en combinación ÷ MIC de la polimixina B en solitario

50 Los datos se interpretaron de acuerdo con la metodología de Pillai: Sinergia (FICI <0,5), sinergia parcial/adición (FICI 0,51 a 0,75), indiferencia (FICI 0,76 a 2,75), antagonismo (FICI >2,75). Además, se crearon isobogramas para representar visualmente los mismos datos. Aquí, la MIC de polimixina B se trazó frente a cada concentración de la combinación de antibióticos hasta la MIC. Los resultados iniciales de MIC para todos los aislados se dan en la Tabla 15 y los datos de FICI se dan en la Tabla 16 y los isobogramas se muestran en las Figuras 1 a 3.

55 Existe una fuerte indicación de que los compuestos 2 y 33 junto con polimixina B son sinérgicos (o al menos parcialmente sinérgicos) contra cepas resistentes a fluoroquinolonas de *A. baumannii*. No se observó ninguna interacción entre levofloxacin y polimixina B en ninguno de los ensayos en tablero de ajedrez realizados, todos los valores FICI indican indiferencia. No se observó interacción en ninguna de las combinaciones ensayadas para *P.*

aeruginosa susceptible a antibióticos GN10. Sorprendentemente, también se observó una sinergia parcial con el compuesto 2 combinado con polimixina B contra la NDM-1-beta-lactamasa que produce *Klebsiella pneumoniae* al combinarse con polimixina B.

5 **Tabla 15:** MIC pre-tablero de ajedrez de compuestos para el estudio de sinergia.

Agente antimicrobiano	MIC mg/l				
	GN31 <i>Acinetobacter baumannii</i>	GN52 <i>Acinetobacter baumannii</i>	GN56 <i>Acinetobacter baumannii</i>	GN48 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	GN10 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Compuesto 33	0,03	2	16	16	0,5
Compuesto 2	0,06	8	16	32	1
Levofloxacino	0,12	8	32	64	1
Polimixina B	0,5	0,5	0,5	1	1

Tabla 16 Datos FICI de combinaciones del Compuesto 33 y 2 con polimixina B

Aislado	Antibiótico junto con polimixina B	Concentración de combinación de fármacos en combinación (mg/l)	MIC de combinación de fármacos en solitario (mg/l)	FICx	MIC de Polimixina B en combinación (mg/l)	MIC de Polimixina B en solitario (mg/l)	FICy	FICI	Sinergia
GN52	Compuesto 33	1	4	0,25	0,12	0,5	0,24	0,49	Sinergia
	Compuesto 2	1	4	0,25	0,12	0,5	0,24	0,49	Sinergia
	Levofloxacino	1	8	0,13	0,5	0,5	1,00	1,13	Indiferente
GN56	Compuesto 33	2	32	0,06	0,12	0,5	0,24	0,30	Sinergia
	Compuesto 2	1	16	0,06	0,25	0,5	0,50	0,56	Sinergia parcial
	Levofloxacino	4	32	0,13	0,5	0,5	1,00	1,13	Indiferente
GN48	Compuesto 2	4	32	0,13	0,25	0,5	0,50	0,63	Sinergia parcial
	Levofloxacino	8	64	0,13	0,5	0,5	1,00	1,13	Indiferente

GN31 - *Acinetobacter baumannii* - aislado susceptible a antibióticos

GN52 - *Acinetobacter baumannii* - aislado clínico resistente a levofloxacino

GN56 - *Acinetobacter baumannii* - aislado clínico resistente a levofloxacino

GN48 - *Klebsiella pneumoniae* - NCTC 13443 - NDM-1-β-lactamasa que produce aislado

Ejemplo 7

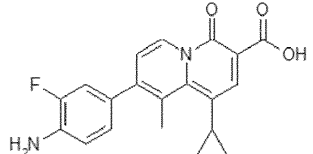
10

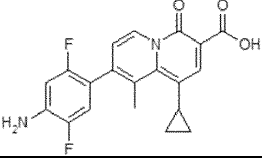
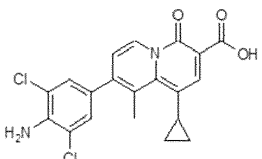
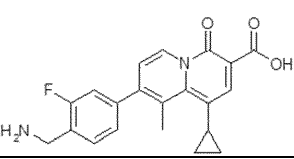
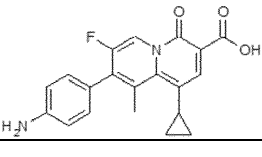
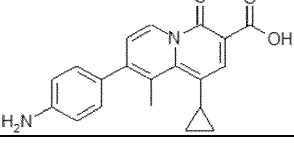
Citotoxicidad

Se determinó la citotoxicidad para los presentes compuestos de 4-oxoquinolizina que muestran baja citotoxicidad. (véase la Tabla 17 a continuación). Por lo tanto, aunque los presentes compuestos 4-oxoquinolizina poseen una potente actividad contra las cepas resistentes tanto Gram-positivas como Gram-negativas, incluyendo las cepas nosocomiales, así como los patógenos del CDC, tienen buenos perfiles de fármaco con respecto a la seguridad y la eficacia.

15

Tabla 17 Muestra los valores de citotoxicidad para las presentes 4-oxoquinolizinas

Compuestos	Estructuras	CI ₅₀ de citotoxicidad (µM)
1		500

Compuestos	Estructuras	CI ₅₀ de citotoxicidad (µM)
2		250
3		50
4		60
7		150
8		90

Ejemplo 8: Preparación de compuestos de 2-piridonas

Métodos analíticos

5

Los espectros de RMN se registraron en un Bruker Avance-400 NMR o Bruker Avance-300 NMR o con muestras en solución en cloroformo deuterado (CDCl₃), MeOH deuterado (CD₃OD) o dimetilsulfóxido deuterado (DMSO-d₆). Los cambios químicos y las constantes de acoplamiento se expresan respectivamente en partes por millón (ppm) y en Herzios (Hz). Los análisis de espectrometría de masas (MS) se realizaron en un Agilent MSD G1946D o en un Waters TQD con ionización por electronebulización (ESI). Se registraron análisis de espectrometría de masas de alta resolución (MS de alta resolución) en un aparato Shimadzu IT-TOF. Los análisis por HPLC se realizaron en columnas Waters XBridge (C18, 30 x 2,1 mm, 3,5 micrómetros) a una temperatura de columna a 35 °C con un caudal de 1 ml/min de una mezcla de eluyente A (ácido fórmico al 0,1% en ACN) y eluyente B (ácido fórmico al 0,1% en agua); se usaron 3 métodos de elución, método 1, método 2 y método 3 como se describe a continuación.

15

Método de HPLC 1

Gradiente lin.: t = 0 min 2 % de A, t = 1,6 min 98 % de A, t = 3 min 98 % de A

Detección: DAD (220 - 320 nm)

Detección: Intervalo de masas de MSD (ESI pos/neg): 100 - 800

20

Detección: Caudal ELSD (PL-ELS 2100) 1,1 ml/min; temp. de gas: 50 °C

Método de HPLC 2

Gradiente lin.: t = 0 min 2 % de A, t = 3,5 min 98 % de A, t = 6 min 98 % de A

Detección: DAD (220 - 320 nm)

Detección: Intervalo de masas de MSD (ESI pos/neg): 100 - 800

25

Detección: Caudal ELSD (PL-ELS 2100) 1,1 ml/min; temp. de gas: 50 °C

Método de HPLC 3

Gradiente lin.: t = 0 min 2 % de A, t = 10 min 98 % de A, t = 14 min 98 % de A
 Detección: DAD (220 - 320 nm)
 Detección: Intervalo de masas de MSD (ESI pos/neg): 100 - 800
 Detección: Caudal ELSD (PL-ELS 2100) 1,1 ml/min; temp. de gas: 50 °C

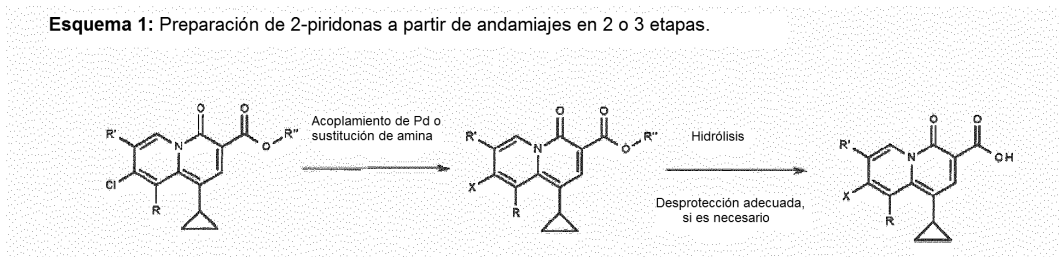
5

Se usaron los siguientes acrónimos y abreviaturas:

ACN	Acetonitrilo
BOC	t-butoxicarbonilo
DCM	Diclorometano
DMF	N,N-dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
ESI-MS	espectrometría de masas de ionización por electronebulización
HPLC	cromatografía líquida de alto rendimiento
LCMS	cromatografía líquida-espectrometría de masas
MeOH	metanol
nBuLi	n-butil litio
RMN	Resonancia magnética nuclear
TFA	Acido trifluoroacético
THF	Tetrahidrofurano

Los compuestos de 2-piridonas se obtuvieron en 2 etapas a partir de un andamiaje adecuado. La mayor parte de los compuestos se prepararon a través de un acoplamiento de paladio entre el andamiaje protegido con éster y un reactivo boronato seguido de hidrólisis del resto éster. Dependiendo de los reactivos de boronato, pueden ser necesarias etapas de desprotección adicionales. Algunos compuestos también se hicieron sustituyendo los andamiajes con una amina en lugar de un acoplamiento de paladio con un boronato, formando así un enlace N-C en lugar de un enlace C-C.

15



La Figura 4 muestra la estructura de 5 andamiajes.

20 La invención se define por las reivindicaciones. Cualquier materia objeto que esté fuera del alcance de las reivindicaciones se proporciona solamente con fines informativos.

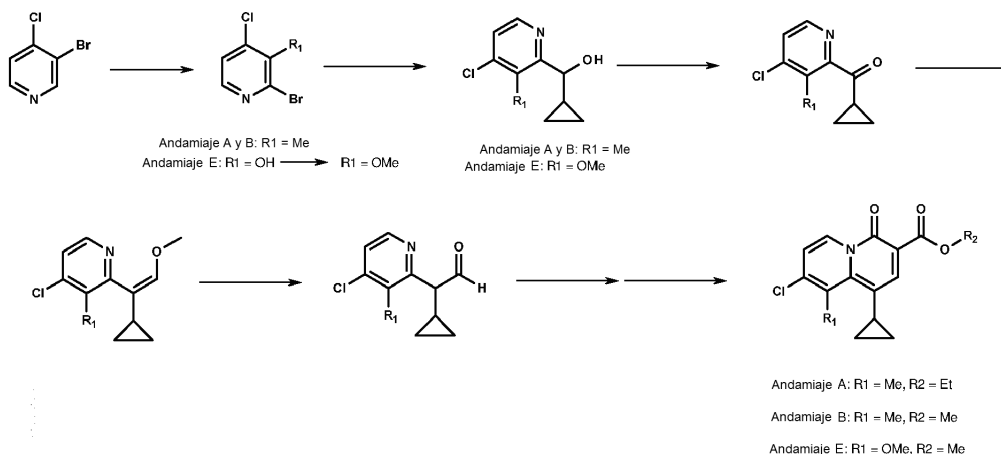
Preparación de andamiajes:

25 Se prepararon sintéticamente los andamiajes 8-cloro-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxilato de etilo (Andamiaje A), 8-cloro-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxilato de metilo (Andamiaje B) y 8-cloro-1-ciclopropil-9-metoxi-4-oxo-quinolizin-3-carboxilato de metilo (Andamiaje E). El andamiaje 8-cloro-1-ciclopropil-7,9-dimetil-4-oxo-quinolizin-3-carboxilato de etilo (Andamiaje D) se obtuvo como un subproducto de la síntesis del andamiaje B. El andamiaje 8-cloro-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxilato de metilo (Andamiaje C) se adquirió en Beijing Louston Fine Chemical Co. Ltd., China.

30

Los andamiajes A, B y E se prepararon en 6-7 etapas a partir de 2-bromo-3-metil-4-cloropiridina comercial.

Esquema 2: Síntesis de andamiajes A, B y E



Preparación del andamiaje A: 8-cloro-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxilato de etilo

5 Preparación de 2-bromo-3-metil-4-cloro-piridina

A una solución de 2,2,6,6-tetrametil-piridina (21,1 ml, 125 mmol) en THF recién destilado (120 ml) a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ se le añadió nBuLi (50 ml, 125 mmol) en 30 min. La mezcla resultante se agitó a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 30 min y se añadió a través de una cánula durante 30 min a una solución de 3-bromo-4-cloro-piridina (20,0 g, 104 mmol) en THF recién destilado (60 ml) que se había enfriado a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ antes de la adición. La mezcla de reacción se agitó a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 30 min antes de añadir yodometano (7,78 ml, 125 mmol) durante un periodo de 10 min. La reacción se agitó a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 30 min y se dejó calentar hasta la temperatura ambiente antes de interrumpirse con NH_4Cl acuoso (65 ml). La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (2 x 150 ml). Las fases orgánicas se separaron, se secaron y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexano:acetato de etilo, 15:1) para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (10,6 g, 49 %).

^1H RMN (CDCl_3 , 300 MHz) δ ppm: 8,10 (d, $J = 5,1$ Hz, 1 H), 7,27 (d, $J = 5,1$ Hz, 1H), 2,51 (s, 3 H).

20 Preparación de (3-metil-4-cloro-piridin-2-il)-ciclopropil-metanol

Una solución de 2-bromo-3-metil-4-cloro-piridina (10,6 g, 57,1 mmol) en THF recién destilado (120 ml) se enfrió a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ y se trató con cloruro de isopropil magnesio (45,7 ml, 2,0 M en THF, 91,5 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 3 h y después se enfrió a $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Se añadió ciclopropano carboxaldehído (6,83 ml, 91,5 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h, se interrumpió añadiendo agua (100 ml), y se extrajo con acetato de etilo (2 x 150 ml). La fase orgánica se separó, se secó y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexano:acetato de etilo, 3:1) para proporcionar el compuesto del título en forma de un aceite de color amarillo (7,01 g, 62 %).

ESI-MS m/z : 198 ($\text{M}+\text{H}^+$); ^1H RMN (CDCl_3 , 300 MHz) δ ppm: 8,28 (d, $J = 5,4$ Hz, 1 H), 7,26 (d, $J = 5,4$ Hz, 1 H), 4,79 (d, $J = 5,4$ Hz, 1 H), 4,55 (s, 1 H), 2,39 (s, 3 H), 1,10-1,28 (m, 1 H), 0,41-0,58 (m, 4 H).

35 Preparación de (3-metil-4-cloro-piridin-2-il)-ciclopropil-metanona

Una solución de (3-metil-4-cloro-piridin-2-il)-ciclopropil-metanol (7,01 g, 35,5 mmol) en DCM (80 ml) se trató con MnO_2 (30,8 g, 355 mmol) a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla de reacción se filtró a través de una capa de Celite y el filtrado se concentró a sequedad, proporcionando el compuesto del título (6,82 g, 98 %).

ESI-MS m/z : 196 ($\text{M}+\text{H}^+$); ^1H RMN (CDCl_3 , 300 MHz) δ ppm: 8,41 (d, $J = 5,4$ Hz, 1 H), 7,42 (d, $J = 5,4$ Hz, 1 H), 2,96-3,04 (m, 1 H), 2,57 (s, 3 H), 1,20-1,28 (m, 2 H), 1,09-1,14 (m, 2 H).

40 Preparación de 2-(1-ciclopropil-2-metoxi-vinil)-3-metil-4-cloro-piridina

Una solución de cloruro de metoximetil trifenilfosfonio (17,9 g, 52,3 mmol) en THF seco (80 ml) se trató con NaH (2,79 g, 69,8 mmol) a 0 °C durante 3 h. A esta mezcla se le añadió una solución de (3-metil-4-cloro-piridin-2-il)-ciclopropil-metanona (6,82 g, 34,9 mmol) en THF seco (20 ml). La mezcla de reacción se calentó a 40 °C durante una noche. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se concentró a sequedad.

5 El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexano:acetato de etilo, 3:1) para proporcionar el compuesto del título (6,41 g, 82 %).

ESI-MS m/z: 224 (M+H)⁺; ¹H RMN (CDCl₃, 300 MHz) δ ppm: 8,31 (d, J = 5,4 Hz, 0,5 H), 8,23 (d, J = 5,4 Hz, 0,5 H), 7,17 (d, J = 5,4 Hz, 1 H), 6,13-6,16 (m, 1 H), 3,70 (s, 1,5 H), 3,56 (s, 1,5 H), 2,38 (s, 1,5 H), 2,31 (s, 1,5 H), 1,91-1,94
10 (m, 0,5 H), 1,63-1,65 (m, 0,5 H), 0,66-0,72 (m, 1 H), 0,56-0,62 (m, 1 H), 0,35-0,38 (m, 1 H), 0,26-0,33 (m, 1 H).

Preparación de 2-(3-metil-4-cloro-piridin-2-il)-2-ciclopropil-acetaldehído

Una solución de 2-(1-ciclopropil-2-metoxi-vinil)-3-metil-4-cloro-piridina (6,41 g, 28,7 mmol) en ácido acético (50 ml)
15 se trató con ácido sulfúrico (6,52 ml, 143 mmol) a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla de reacción se neutralizó con NaOH 2 N a pH 8-9 y se extrajo con acetato de etilo (2 x 100 ml). Las fases orgánicas se combinaron, se secaron y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexano/acetato de etilo = 2:1) para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (4,83 g, 80 %).

20 ESI-MS m/z: 210 (M+H)⁺; ¹H RMN (CDCl₃, 300 MHz) δ ppm: 9,89 (d, J = 2,4 Hz, 1 H), 8,35 (d, J = 5,1 Hz, 1 H), 7,26 (d, J = 5,4 Hz, 1 H), 3,26-3,28 (m, 1 H), 2,35 (s, 3 H), 1,53-1,59 (m, 1 H), 0,55-0,79 (m, 2 H), 0,25-0,39 (m, 2 H).

Preparación de éster dietílico del ácido 2-[2-(3-metil-4-cloro-piridin-2-il)-2-ciclopropil-etilideno]-malónico

25 Una mezcla de (3-metil-4-cloro-piridin-2-il)-ciclopropil-acetaldehído (4,83 g, 23,0 mmol), malonato de dietilo (7,02 g, 43,8 mmol), piperidina (3,62 ml, 36,6 mmol), y ácido acético (4,19 ml, 73,2 mmol) en etanol (100 ml) se calentó a reflujo durante una noche. La mezcla de reacción se concentró a sequedad. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexano:acetato de etilo, 4:1) para proporcionar el compuesto del título en forma de
30 un aceite de color amarillo (5,76 g, 71 %).

ESI-MS m/z: 352 (M+H)⁺.

Preparación de 8-cloro-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de etilo

35 Una solución de éster dietílico del ácido 2-[2-(3-metil-4-cloro-piridin-2-il)-2-ciclopropil-etilideno]-malónico (5,76 g, 16,4 mmol) en Dowtherm A (80 ml) se calentó en un baño de aceite precalentado a 230 °C durante 15 min. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexano:acetato de etilo, 2:1 a 1:2) para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (3,76 g, 75 %).

40 ESI-MS m/z: 306 (M+H)⁺; ¹H RMN (CDCl₃, 300 MHz) δ ppm: 9,34 (d, J = 7,8 Hz, 1 H), 8,40 (s, 1 H), 7,12 (d, J = 7,8 Hz, 1 H), 4,41 (c, 2 H), 3,00 (s, 3 H), 2,28-2,33 (m, 1 H), 1,42 (t, 3 H), 1,03-1,08 (m, 2 H), 0,71-0,76 (m, 2 H).

Preparación del andamiaje B: 8-cloro-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxilato de metilo.

45 Preparación de 2-bromo-4-cloro-3-metil-piridina

En un matraz de 3 bocas de 250 ml se añadió 2,2,6,6-tetrametil-piridina (10,5 ml, 61,7 mmol) a THF seco (100 ml) en una atmósfera inerte y la solución de color amarillo resultante se enfrió a -78 °C. Se añadió una solución 2,5 M de N-butillitio en hexano (25 ml, 62,5 mmol) durante 0,5 h y la mezcla de reacción se agitó a -78 °C durante 0,5 h. La solución se volvió de color amarillo a naranja.

55 En un matraz de 3 bocas de 500 ml se añadió 3-bromo-4-cloro-piridina (9,6 g, 49,9 mmol) a THF seco (50 ml) en una atmósfera inerte. Esta mezcla de reacción se enfrió a -78 °C. La solución de color naranja obtenida previamente se añadió mediante una cánula durante 0,75 h y se agitó a -78 °C durante 0,5 h. La solución/suspensión se volvió de color negro. Se añadió yodometano (3,9 ml, 62,6 mmol) durante 0,5 h y la mezcla de reacción se agitó a -78 °C durante 0,5 h. La mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se inactivó mediante la adición de una solución acuosa saturada de cloruro de amonio (65 ml). La mezcla de reacción se diluyó con agua (100 ml), etanol (100 ml) y acetato de etilo (100 ml). La mezcla se extrajo con acetato de etilo (2 x 100 ml). Las capas

orgánicas se combinaron y se lavaron con salmuera al 50 % (1:1 de agua/salmuera, 100 ml en total) y salmuera (100 ml). Las capas acuosas combinadas se extrajeron con acetato de etilo (100 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se evaporaron a sequedad para producir un aceite de color pardo.

- 5 El aceite en bruto se disolvió de nuevo en acetato de etilo (50 ml), y las sales de amonio precipitaron y se retiraron por filtración. El filtrado se evaporó a sequedad para producir un sólido oleoso de color pardo. Un tercio del producto en bruto obtenido se destiló con un aparato Kügelrohr a 100 °C a una presión reducida de 0,1 mbar. El destilado se eliminó por cristalización en refrigeración, produciendo el compuesto previsto (1,68 g, 12,4 %). El producto en bruto restante se purificó por cromatografía ultrarrápida usando un gradiente de acetato de etilo al 10-75 % en heptano proporcionan un segundo extracto del compuesto (3,53 g, 24,3). Los extractos combinados produjeron el producto previsto (5,21 g, 36,7 %).

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 8,11 (d, $J = 5,2$ Hz, 1 H), 7,27 (d, $J = 6$ Hz, 1 H), 2,52 (s, 3 H).

- 15 Preparación de (4-cloro-3-metil-2-piridil)-ciclopropil-metanol.

Una solución de 2-bromo-4-cloro-3-metilpiridina (7 g, 28,1 mmol) en THF seco (150 ml) se enfrió a 0 °C. Se añadió cuidadosamente complejo de cloruro de isopropil magnesio - cloruro de litio (26 ml, 33,8 mmol) para que la temperatura no se elevará por encima de 5 °C durante la adición. La mezcla se dejó calentar hasta la temperatura ambiente y se agitó durante 1 h. La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C y se añadió cuidadosamente ciclopropano carboxaldehído (2,5 ml, 33,5 mmol) para que la temperatura no se elevara por encima de 5 °C durante la adición. La mezcla se dejó calentar hasta la temperatura ambiente y se agitó durante 1 h. La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C y se añadió cuidadosamente agua (150 ml) por lo que la temperatura no se elevará por encima de 10 °C durante la adición. La mezcla se dejó calentar hasta la temperatura ambiente y se agitó durante 1 h. La mezcla se extrajo con acetato de etilo (3 x 100 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (100 ml), se secaron sobre sulfato sódico y se evaporaron. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (acetato de etilo al 0-30 % en heptano) produciendo un aceite de color amarillo (3,47 g, 16,8 %).

LC-MS: $t = 1,33$ min (método 1); 198 (M+H) $^+$; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 8,28 (d, $J = 5,2$ Hz, 1 H), 7,25 (d, $J = 5,6$ Hz, 1 H), 4,80 (dd, $J = 7,8$ y 5,3 Hz, 1 H), 4,51 (d, $J = 5,6$ Hz, 1 H), 2,38 (s, 3 H), 1,05-1,15 (m, 1 H), 0,52-0,58 (m, 1 H), 0,44-0,50 (m, 1 H), 0,35-0,42 (m, 1 H).

Preparación de (4-cloro-3-metil-2-piridil)-ciclopropil-metanona.

- 35 Se añadió dióxido de manganeso (1126 mg, 12,95 mmol) a una solución de (4-cloro-3-metilpiridin-2-il)-ciclopropil-metanol (250 mg, 1,214 mmol) en DCM (10 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 45 h. La mezcla se filtró sobre un filtro de porosidad 4. El filtrado se concentró a sequedad para producir cristales de color blanco (245 mg, 98 %).

40 LC-MS: $t = 1,92$ min (método 1); 196 (M+H) $^+$; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 8,41 (d, $J = 5$ Hz, 1 H), 7,44 (d, $J = 5,3$ Hz, 1 H), 5,30 (s, 1 H), 2,98-3,05 (1 H, m), 2,52 (s, 3 H), 1,24-1,29 (m, 2 H), 1,08-1,14 (m, 2 H).

Preparación de 4-cloro-2-[1-ciclopropil-2-metoxi-vinil]-3-metil-piridina.

- 45 Una suspensión de color amarillo de (4-cloro-3-metilpiridin-2-il) (ciclopropil) metanona (2,99 g, 15,28 mmol), cloruro de (Metoximetil) trifenilfosfonio (7,84 g, 22,87 mmol) y *terc*-butóxido potásico (3,41 g, 30,4 mmol) en tolueno (50 ml) se calentó a 60 °C y se agitó durante 3,5 h. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se añadió una solución acuosa de ácido clorhídrico 4 M (50 ml). La mezcla de reacción se lavó con tolueno (3 x 50 ml). La capa acuosa se diluyó en hielo, y se añadió bicarbonato sódico sólido hasta que el pH alcanzó 7-8. La mezcla se extrajo con acetato de etilo (3 x 100 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se evaporaron a sequedad. El residuo oleoso se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice usando un gradiente de acetato de etilo en heptano para producir una mezcla 1:1 de los éteres vinílicos isoméricos en forma de un aceite de color amarillo (2,93 g, 82 %).

- 55 LC-MS: $t = 1,68$ min y 1,73 min (isómeros E y Z) (método 1); 224 (M+H) $^+$.

Preparación de 2-(4-cloro-3-metil-2-piridil)-2-ciclopropil-acetaldehído.

A una solución de 4-cloro-2-(1-ciclopropil-2-metoxivinil)-3-metilpiridina (1,7 g, 7,60 mmol) en THF (15 ml) se le

añadió una solución acuosa 2 M de ácido sulfúrico (15,20 ml, 30,4 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a 50 °C durante un total de 2,5 h. La mezcla resultante se vertió en agua y se neutralizó con una solución saturada de bicarbonato sódico, y posteriormente, se extrajo con cloroformo (3 x 20 ml). Las capas orgánicas resultantes se lavaron con agua salada saturada (20 ml), se secaron sobre sulfato sódico y se concentraron a presión reducida. El sólido de color amarillo resultante se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexano:acetato de etilo) (4:1) para obtener el aldehído (1,08 g, 67,8 %).

LC-MS: t = 1,55 min (método 1); 210 (M+H)⁺; 228 (M+H₂O+H)⁺.

10 Preparación de 8-cloro-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxilato de metilo.

Se añadieron piperidina (7 ml, 70,9 mmol) y ácido acético (5,5 ml, 95 mmol) a una solución de 2-(4-cloro-3-metilpiridin-2-il)-2-ciclopropilacetaldehído (4,98 g, 23,75 mmol) en etanol absoluto (200 ml). Se añadió malonato de dimetilo (16,44 ml, 144 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a 100 °C durante 5 h (la mezcla de reacción se convirtió en una solución de color rojo). El disolvente se evaporó a presión reducida. La mezcla resultante se diluyó con éter (100 ml) y se lavó con agua (100 ml) y salmuera (50 ml). La capa orgánica se separó y se secó sobre sulfato sódico. La mezcla se evaporó a sequedad. Se añadió Dowtherm A (110 ml). Esta mezcla de reacción se calentó a 240 °C en irradiación por microondas y se agitó a esta temperatura durante 0,5 h durante lo cual la mezcla de reacción se convirtió en una solución de color negro. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida de fase inversa usando un gradiente de ACN al 5 %-100 % en agua con TFA al 1 % produciendo el éster metílico ciclado (4 g, 51,4 %).

LC-MS: t = 1,88 min (método 1); 292 (M+H)⁺.

25 Preparación del andamiaje D: 8-cloro-1-ciclopropil-7,9-dimetil-4-oxo-quinolizin-3-carboxilato de metilo

Durante la primera preparación de aumento de 8-cloro-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxilato de metilo se observó un subproducto en la primera etapa. Otras preparaciones de aumento del andamiaje se optimizaron para evitar el subproducto. El subproducto se llevó a la última etapa. La purificación por fase inversa (ACN al 40-80 % en ácido fórmico al 0,1 % en agua sobre C₁₈-sílice) proporcionó 8-cloro-1-ciclopropil-7,9-dimetil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo en forma de un sólido de color amarillo (0,4 g).

ESI-MS m/z: 306 (M+H)⁺; 1H RMN (400 MHz DMSO-d₆) δ ppm 9,33 (s, 1 H), 8,36 (s, 1 H), 3,93 (s, 3 H), 3,04 (s, 3 H), 2,48 (s, 3 H), 2,27-2,37 (m, 1 H), 1,01-1,09 (m, 2 H), 0,70-0,77 (m, 2 H); 13C RMN (100 MHz CDCl₃) δ ppm 166,7, 155,2, 147,1, 145,1, 144,0, 130,9, 127,5, 125,7, 115,7, 104,6, 52,1, 20,0, 18,5, 17,0, 9,76 (2 C).

Preparación del andamiaje E: 8-cloro-1-ciclopropil-9-metoxi-4-oxo-quinolizin-3-carboxilato de metilo

Preparación de 2-bromo-4-cloropiridin-3-ol

40

Una solución de n-BuLi 2,5 M en hexanos (180 ml, 450 mmol) se añadió gota a gota a una solución de 2,2,6,6-Tetrametilpiperidina (75 ml, 441 mmol) en THF (800 ml) a -70 °C en una atmósfera inerte. La mezcla de reacción se agitó durante 2 h y se transfirió a una solución de 3-bromo-4-cloropiridina (80,5 g, 418 mmol) en THF (500 ml) a -70 °C en una atmósfera inerte y se agitó durante 2 h. Se añadió gota a gota borato de trimetilo (100 ml, 881 mmol) y se hizo reaccionar durante 2 h. Se añadió gota a gota ácido peracético al 33 % en ácido acético (150 ml, 780 mmol), la mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 14 h. La mezcla se enfrió a 0 °C y se añadió metabisulfito sódico (200 g, 1,05 mol) en agua (400 ml) durante 2 h. Se añadieron agua (300 ml) y acetato de etilo (200 ml). Las capas se separaron y la capa acuosa se lavó con acetato de etilo (3 x 1000 ml). La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se evaporó a sequedad para obtener el producto en bruto que se purificó sobre gel de sílice, usando de 0:1 a 3:2 de acetato de etilo en heptano) para obtener 2-bromo-4-cloropiridin-3-ol en forma de un sólido de color blanco (46,3 g, 50 %).

ESI-MS m/z: 210 (M+H)⁺.

55 Preparación de 2-bromo-4-cloro-3-metoxi-piridina

Se añadieron 2-bromo-4-cloropiridin-3-ol (8,15 g, 39,1 mmol), carbonato potásico (10,5 g, 76 mmol) y yodometano (3,65 ml, 58,6 mmol) a acetona (300 ml) y se agitó durante 18 h a temperatura ambiente en condiciones inertes. La mezcla de reacción se evaporó a sequedad, se disolvió en acetato de etilo (100 ml), se filtró sobre gel de sílice y el

filtro se lavó con acetato de etilo (3 x 100 ml). El filtrado se evaporó a sequedad para obtener un producto en bruto que se purificó sobre gel de sílice usando de 0:1 a 1:0 de acetato de etilo en heptano para obtener 2-bromo-4-cloro-3-metoxipiridina en forma de un sólido cristalino de color blanco (6,8 g, 78 %).

- 5 ESI-MS m/z: 224 (M+H)⁺; 1H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 8,06 (d, *J* = 3,6 Hz, 1 H), 7,31 (d, *J* = 5,0 Hz, 1 H), 3,95 (s, 1 H).

Preparación de (4-cloro-3-metoxi-2-piridil)-ciclopropil-metanol

- 10 Se añadió 2-bromo-4-cloro-3-metoxi-piridina (2,97 g, 13,4 mmol) a THF (seco) (100 ml) y se enfrió a 0 °C. Se añadió complejo de cloruro de isopropilmagnesio - cloruro de litio (13,5 ml, 17,6 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 0,5 h a temperatura ambiente. La mezcla se enfrió a 0 °C, se añadió se añadió ciclopropanocarboxaldehído (1,297 ml, 17,4 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 1 h a temperatura ambiente. La mezcla se enfrió a 0 °C, se añadió agua (72,3 ml, 4 mol) y la mezcla de reacción se agitó durante una noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se extrajo con acetato de etilo (3 x 75 ml), la fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se evaporó a sequedad para obtener un producto en bruto que se purificó sobre gel de sílice usando de 0:1 a 1:0 de acetato de etilo en heptano para obtener (4-cloro-3-metoxi-2-piridil)-ciclopropil-metanol en forma de un aceite de color amarillo (2,4 g, 70 %)
- 20 ESI-MS m/z: 214 (M+H)⁺; 1H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 8,23 (d, *J* = 5,0 Hz, 1 H), 7,29 (d, *J* = 5,0 Hz, 1 H), 4,63 (t, *J* = 7,8 Hz, 1 H), 4,00 (d, *J* = 8,1 Hz, 1 H), 3,93 (s, 3 H), 1,15-1,22 (m, 1 H), 0,57-0,63 (m, 1 H), 0,42-0,50 (m, 3 H).

Preparación de (4-cloro-3-metoxi-2-piridil)-ciclopropil-metanona

- 25 A una solución de (4-cloro-3-metoxi-2-piridil)-ciclopropil-metanol (700 mg, 3,28 mmol) en DCM (20 ml), se añadió óxido de manganeso (IV) (4,6 g, 58 mmol) y se agitó durante 14 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró sobre Celite y el filtrado se evaporó a sequedad para obtener (4-cloro-3-metoxi-2-piridil)-ciclopropil-metanona en forma de un aceite de color amarillo (668 mg, 96 %).
- 30 ESI-MS m/z: 212 (M+H)⁺; 1H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 8,35 (d, *J* = 5,0 Hz, 1 H), 7,49 (d, *J* = 5,0 Hz, 1 H), 3,95 (s, 3 H), 2,96-2,89 (m, 1 H), 1,28-1,33 (m, 2 H), 1,08-1,16 (m, 2 H).

Preparación de 4-cloro-2-(1-ciclopropil-2-metoxivinil)-3-metoxipiridina

- 35 Se disolvió cloruro de (metoximetil)trifenilfosfonio (1,6 g, 4,7 mmol) en THF (20 ml) y se enfrió a -30 °C. Se añadió *n*-BuLi 2,5 Molar en hexanos (1,89 ml, 4,7 mmol) y la mezcla se agitó durante 1 h. Se añadió lentamente (4-cloro-3-metoxipiridin-2-il)-(ciclopropil)metanona (500 mg, 2,4 mmol) disuelta en THF (5 ml) y se agitó durante 4 h. La mezcla de reacción se inactivó con cloruro de amonio saturado (20 ml) y se agitó durante una noche. Se añadieron 25 ml de acetato de etilo y las capas se repartieron. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se evaporó a sequedad para obtener un producto en bruto que se purificó sobre gel de sílice usando de 0:1 a 3:7 acetato de etilo en heptano para obtener 4-cloro-2-(1-ciclopropil-2-metoxivinil)-3-metoxi-piridina en forma de un aceite transparente (361 mg, 63 %).
- 45 ESI-MS m/z: 240 (M+H)⁺; 1H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 8,16 (d, *J* = 5,3 Hz, 1 H), 7,17 (d, *J* = 5,0 Hz, 1 H), 6,57 (s, 1 H), 3,82 (s, 3 H), 3,76 (s, 3 H), 1,83-1,92 (m, 1 H), 0,70-0,77 (m, 2 H), 0,44-0,51 (m, 2 H).

Preparación de 2-(4-cloro-3-metoxipiridin-2-il)-2-ciclopropil-acetaldehído

- 50 Se disolvió 4-cloro-2-(1-ciclopropil-2-metoxivinil)-3-metoxi-piridina (259 mg, 1,1 mmol) en THF (10 ml) y se enfrió a 0 °C. Se añadió ácido sulfúrico 4 M (2,7 ml, 10 mmol) y la reacción se realizó a presión reducida mientras se calentaba a 50 °C durante 2,5 h. La mezcla se diluyó en hielo agua (10 ml) y se añadió bicarbonato sódico hasta que se neutralizó. La mezcla se lavó con DCM (3 x 10 ml) y la fase orgánica se secó, se filtró y se evaporó a sequedad para obtener 2-(4-cloro-3-metoxi-piridin-2-il)-2-ciclopropil-acetaldehído en forma de un aceite de color amarillo (233 mg) que se usará sin purificación adicional.
- 55 ESI-MS m/z: 226 (M+H)⁺.

Preparación de 8-cloro-1-ciclopropil-9-metoxi-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo

Se disolvió 2-(4-cloro-3-metoxi-piridin-2-il)-2-ciclopropil-acetaldehído (4,13 g, 18,3 mmol) (60 ml). Se añadieron ácido acético (4,2 ml, 73 mmol), piperidina (3,6 ml, 37 mmol) y malonato de dimetilo (12,5 ml, 110 mmol) y se agitaron a 100 °C durante 5 h. El disolvente se eliminó por destilación al vacío, la mezcla resultante se diluyó con éter dietílico (200 ml), se lavó con agua (100 ml) y salmuera (100 ml). La fase orgánica se separó, se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se evaporó a sequedad para obtener un aceite de color rojo que no se purificó. La mezcla se disolvió en Dowtherm A (100 ml) y se calentó a 240 °C durante 1 h. La mezcla de reacción se purificó sobre gel de sílice, aclarándose del Dowtherm A con heptano. El producto se purificó usando de 0:1 a 1:0 de acetato de etilo en heptano para obtener: 8-cloro-1-ciclopropil-9-metoxi-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo en forma de un sólido cristalino de color naranja-amarillo (2,83 g, 47 %).

ESI-MS m/z: 308 (M+H)⁺; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 9,27 (d, J = 7,8 Hz, 1 H), 8,28 (s, 1 H), 7,13 (d, J = 7,8 Hz, 1 H), 3,98 (s, 3 H), 3,94 (s, 3 H), 2,47-2,56 (m, 1 H), 0,97-1,04 (m, 2 H), 0,73-0,78 (m, 2 H).

Preparación de los compuestos 1-9, 11-13, y 16-17 del andamiaje B.

Los compuestos se prepararon en primer lugar de acuerdo con los siguientes métodos. La preparación de los compuestos 1, 2, 3, 4, 5, 6, y 17 se describe a continuación. Los mismos métodos también se usaron para preparar los compuestos 7-16. Los nombres químicos y las estructuras de los compuestos se dan en la Tabla 1.

20 Preparación del compuesto 2

Preparación de 2,5-difluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)anilina

Se añadió una solución 0,4 M de 4-Bromo-2,5-difluoroanilina (400 mg, 1,923 mmol) en dimetilsulfóxido (4,8 ml) a acetato sódico (473 mg, 5,77 mmol) y bis-pinacolato diborano (537 mg, 2,115 mmol) en un matraz en una atmósfera de argón. La mezcla se desgasificó con argón antes de la adición de cloruro de bis-(trifenilfosfina)paladio (II) (13,50 mg, 0,019 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 80 °C hasta el consumo completo del material de partida (16 h). Después del enfriamiento, la mezcla de reacción a temperatura ambiente acetato de etilo se añadió y la mezcla de reacción se repartió entre acetato de etilo y una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico. La capa orgánica se lavó con salmuera (4 veces) para retirar el dimetilsulfóxido. El material se secó con sulfato sódico y se concentró al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (heptano/acetato de etilo al 5 %) para dar un sólido de color blanco (220 mg, 44,9 %).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7,26-7,30 (m, 1 H), 6,38-6,43 (m, 1 H), 4,02 (s, 2 H), 1,33 (s, 12 H).

Preparación de 8-(4-amino-2,5-difluoro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxilato de metilo

El siguiente método de acoplamiento de Suzuki se usó hacia la preparación del compuesto 2 y se denomina como el método de acoplamiento de Suzuki general para la preparación de los demás compuestos.

Método de acoplamiento de Suzuki general:

Se añadieron etanol (96 %) (129 µl), carbonato sódico acuoso 2 M (175 µl, 0,350 mmol), 2,5-difluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)anilina (38,6 mg, 0,152 mmol) a una solución de metil 8-cloro-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato (34 mg, 0,117 mmol) en tolueno (250 µl). La mezcla se desgasificó con argón. Se añadió dicloruro de 1,1'-bis-difenilfosfina ferroceno paladio (II) (8,52 mg, 0,012 mmol) y la mezcla se calentó a 90 °C en una atmósfera de argón durante 4 h. La mezcla de reacción se enfrió. La mezcla se diluyó con DCM (3 ml) y se añadió agua (3 ml). Las capas se separaron usando un separador de fases y la capa acuosa se extrajo con DCM (3 x 2 ml). Las capas orgánicas combinadas se concentraron al vacío. La purificación por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando un gradiente (heptano/acetato de etilo) (de 2:1 a 1:1) proporcionó un sólido de color amarillo (46 mg, 100 %).

LC-MS: t = 2,00 min (método 1); 385 (M+H)⁺; 383 (M-H)⁻.

55 Preparación del compuesto 2 Ácido 8-(4-amino-2,5-difluoro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico.

Una solución de 8-(4-amino-2,5-difluorofenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo (36 mg, 0,094 mmol) y una solución acuosa 1 N de hidróxido sódico (0,5 ml, 0,5 mmol) en MeOH (2 ml) se agitó a 50 °C durante 2 h. La mezcla de reacción se enfrió y el MeOH se retiró al vacío y el residuo se recogió en 5 ml de agua y

después se neutralizó con ácido clorhídrico 1 N (□0,5 ml). Se formó una precipitación, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche. El sólido de color amarillo se recogió por filtración y se secó en un desecador. El precipitado se trituró con tolueno/iso-propanol (1:1) (4 ml) y la filtración proporcionó el compuesto del producto 2 (9 mg, 25,9 %).

5

LC-MS: t = 2,07 min (método 1); 371 (M+H)⁺; 369 (M-H)⁻; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 9,45 (d, J = 6 Hz, 1 H), 8,43 (s, 1 H), 7,05 (d, J = 7,3 Hz, 1 H), 7,05 (d, J = 7,3 Hz, 1 H), 6,97 (dd, J = 11 y 6,3 Hz, 1 H), 6,62 (dd, J = 10,6 y 7,3 Hz, 1 H), 5,30 (s, 2 H), 2,30-2,40 (m, 1 H), 2,05 (s, 3 H), 1,00-1,10 (m, 2 H), 0,75-0,82 (m, 2 H).

10 Preparación del compuesto 1.

Preparación del compuesto 1 Ácido 8-(4-amino-3-fluoro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico.

El método de acoplamiento de Suzuki general descrito anteriormente se usó para acoplar 8-cloro-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo con ácido 3-fluoro-4-butiloxicarbonil-aminofenil borónico. La purificación por cromatografía en columna sobre gel de sílice proporcionó 8-[4-(*terc*-butoxicarbonilamino)-3-fluoro-fenil]-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxilato de metilo en forma de un sólido de color amarillo. Una solución del sólido obtenido y TFA (0,2 ml) en DCM (1 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El producto se liofilizó y se disolvió en una mezcla de THF (0,5 ml). Se añadió una solución acuosa 4 N de hidróxido sódico (0,33 ml) antes de irradiarse dos veces a 120 °C en un horno microondas durante 10 min. El producto se purificó por HPLC preparativa produciendo el compuesto 1 ácido 8-(4-amino-3-fluoro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico (19,2 mg, 16 %).

LC-MS: t = 8,30 min (método 3); 353 (M+H)⁺; 351 (M-H)⁻.

25

Preparación del compuesto 3.

Preparación de 3,5-dicloro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-anilina.

Se añadió una solución de 4-bromo-2,6-dicloroanilina (1 g, 4,15 mmol) en dimetilsulfóxido (10 ml) (0,4 M) a acetato sódico (1,022 g, 12,45 mmol) y bis-pinacolato diborano (1,159 g, 4,57 mmol) en un matraz en una atmósfera de argón. La mezcla se desgasificó con argón. Se añadió dicloruro de 1,1'-Bis-difenilfosfina ferroceno paladio (II) (0,328 g, 0,415 mmol) y la mezcla de reacción se calentó a 80 °C durante 16 h. Después del enfriamiento a temperatura ambiente se añadió acetato de etilo (50 ml) y la mezcla de reacción se filtró y se repartió entre acetato de etilo y una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico (50 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera (4 x 50 ml), se secó sobre sulfato sódico y se concentró al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (heptano/acetato de etilo al 5 %) para dar un sólido de color blanco (470 mg, 39,3 %).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7,60 (s, 2 H), 4,67 (s, 2 H), 1,32 (s, 12 H).

40

Preparación de 8-(4-amino-3,5-dicloro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxilato de metilo.

El método de acoplamiento de Suzuki general descrito anteriormente se usó para acoplar metilo 8-cloro-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato con 3,5-dicloro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)anilina. La purificación por cromatografía en columna sobre gel de sílice produjo 8-(4-amino-3,5-dicloro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxilato de metilo en forma de un sólido de color amarillo (41 mg, 78 %).

LC-MS: t = 2,14 min (método 1); 417 (M+H)⁺ e isotópico 419 (M+H)⁺.

50 Preparación del compuesto 3 Ácido 8-(4-amino-3,5-dicloro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico.

Una solución de 8-(4-amino-3,5-diclorofenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo (29,2 mg, 0,052 mmol) y una solución acuosa 1 N de hidróxido sódico (0,5 ml, 0,5 mmol) en MeOH (2 ml) se agitó a 50 °C durante 2 h. La mezcla se enfrió y el MeOH se evaporó. El residuo se recogió en 5 ml de agua y se neutralizó con ácido clorhídrico 1 N □0,5 ml. Se formó un precipitado de color amarillo y el precipitado se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. El sólido de color amarillo se recogió por filtración y se secó en un desecador sobre hidróxido potásico. El producto en bruto se purificó con HPLC preparativa y liofilización produciendo el compuesto 3 en forma de un sólido de color amarillo (13 mg, 61,4 %).

55

LC-MS: t = 3,73 min (método 2); 403 (M+H)⁺ y isotópico 405 (M+H)⁺; 401 (M-H)⁻ e isotópico 403 (M-H)⁻.

Preparación del compuesto 4.

5 Preparación de N-[(4-bromo-2-fluoro-fenil)metil]-carbamato de *tert*-butilo.

Se añadieron di-*tert*-butilo (4,01 g, 18,38 mmol) y trietilamina (2,56 ml, 18,38 mmol) a una solución de 4-bromo-2-fluorofenil)-1-metilamina (2,5 g, 12,25 mmol) en DCM (50 ml) a 0 °C. La mezcla se dejó calentar hasta la temperatura ambiente y se agitó durante 2 h. Se añadió agua (50 ml) y las capas se separaron. La capa orgánica se lavó con salmuera (3 x 50 ml), se secó con sulfato sódico y se concentró al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (heptano:acetato de etilo) (10:0 a 8:2) para producir un aceite incoloro (2,65 g, 71,1 %).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7,20-7,30 (m, 3 H), 4,90 (s, 1 H), 4,30 (d, J = 6 Hz, 2 H), 1,44 (s, 9H).

15 Preparación de N-[[2-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]metil]carbamato de *tert*-butilo.

Una mezcla de N-[(4-bromo-2-fluoro-fenil)metil]carbamato de *tert*-butilo (1,3 g, 4,27 mmol), bis-pinacolato diborano (1,628 g, 6,41 mmol), y acetato sódico (1,052 g, 12,82 mmol) en dimetilsulfóxido seco (4 ml) se desgasificó con argón. Se añadió dicloruro de 1,1'-Bis-(difenilfosfino)ferroceno paladio (II) (0,156 g, 0,214 mmol) y la mezcla se calentó a 90 °C durante 3 h. Después de que tuvo lugar el enfriamiento, la mezcla de reacción se repartió entre acetato de etilo (50 ml) y agua (50 ml). Las capas se separaron y la capa orgánica se lavó con agua (50 ml) y salmuera (50 ml), se secó con sulfato sódico y se concentró para dar un producto en bruto de color rojo/pardo. El material se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (heptano:acetato de etilo) (10:0 a 8:2) proporcionando un aceite incoloro (0,98 g, 65,3 %).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 5,53 (d, J = 8 Hz, 1 H), 5,44 (d, J = 10 Hz, 1 H), 5,53 (t, J = 7,2 Hz, 1 H), 4,90 (s1 H), 4,37 (d, J = 5,8 Hz, 2 H), 1,39 (s, 9 H), 1,25 (s, 12 H).

30 Preparación de 8-[4-[(*tert*-butoxicarbonilamino)metil]-3-fluoro-fenil]-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxilato de metilo.

El método de acoplamiento de Suzuki general descrito anteriormente se usó para acoplar 8-cloro-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo con N-[[2-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]metil]carbamato de *tert*-butilo. La purificación por cromatografía en columna sobre gel de sílice produjo 8-[4-[(*tert*-butoxicarbonilamino)metil]-3-fluorofenil]-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxilato de metilo (24 mg, 31,7 %).

LC-MS: t = 2,22 min (método 1); 481 (M+H)⁺.

40 Preparación del compuesto 4

Preparación de ácido 8-[4-[(*tert*-butoxicarbonilamino)metil]-3-fluoro-fenil]-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico.

Una solución de 8-(4-[(*tert*-butoxicarbonilamino)metil]-3-fluorofenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo (24 mg, 0,050 mmol) y una solución acuosa 1 N de hidróxido sódico (0,500 ml, 0,500 mmol) en MeOH (2 ml) se agitó a 50 °C durante 2 h. La mezcla de reacción se enfrió. El MeOH se retiró a presión reducida, el residuo se recogió en agua (5 ml) y después se neutralizó con una solución 1 N de ácido clorhídrico (□0,5 ml). Se formó una precipitación y la mezcla se extrajo con DCM (3 x 4 ml). La capa orgánica se concentró para dar el ácido (20 mg, 86 %).

LC-MS: t = 2,17 min (método 1); 467 (M+H)⁺; 465 (M-H)⁻.

55 Preparación del compuesto 4 Ácido 8-[4-(aminometil)-3-fluoro-fenil]-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico.

Se añadió una solución de ácido clorhídrico 4 M en dioxano (1 ml, 4 mmol) a una solución de ácido 8-(4-[(*tert*-butoxicarbonilamino)metil]-3-fluorofenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico (24 mg, 0,051 mmol)

en ACN (4 ml). La mezcla se agitó durante 4 h y se formó una suspensión. El compuesto del producto 4 se recogió por filtración (17,7 mg, 78 %).

LC-MS: t = 2,54 min (método 2); 367 (M+H)⁺; 365 (M-H)⁻.

5

Preparación del compuesto 5.

Preparación del compuesto 5 Ácido 8-(4-aminofenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico.

- 10 El método de acoplamiento de Suzuki general descrito anteriormente se usó para acoplar 8-cloro-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo con ácido 4-butiloxicarbonil-aminofenil borónico. La purificación por cromatografía en columna sobre gel de sílice produjo 8-[4-(*terc*-butoxicarbonilamino)-fenil]-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxilato de metilo en forma de un sólido de color amarillo. Una solución del sólido obtenido en una mezcla de THF (1,5 ml) y una solución acuosa 4 N de hidróxido sódico (0,5 ml) se irradió a 120 °C en un horno
- 15 microondas durante 10 min. Los disolventes se evaporaron y el residuo se recogió en DCM (10 ml). La fase orgánica se lavó con agua (10 ml), se secó sobre sulfato sódico y se concentró a sequedad. Una solución del residuo y TFA (0,5 ml) en DCM (0,5 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 h. Después de la evaporación de los disolventes, el producto se purificó por HPLC preparativa produciendo el compuesto 5 ácido 8-(4-aminofenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico (28,9 mg, 43,7 %).

20

LC-MS: t = 5,99 min (método 3); 349 (M+H)⁺; 332 (M-NH₃+H)⁺.

Preparación del compuesto 6.

- 25 Preparación de ácido 8-(4-aminofenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico.

El método de acoplamiento de Suzuki general descrito anteriormente se usó para acoplar 8-cloro-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de etilo con ácido 4-butiloxicarbonilamino-fenil borónico. La purificación por cromatografía en columna sobre gel de sílice produjo 8-[4-(*terc*-butoxicarbonilamino)-fenil]-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxilato de etilo en forma de un sólido de color amarillo.

30

Una solución del sólido de color amarillo obtenido en una mezcla de THF (1,5 ml) y de una solución acuosa 4 N de hidróxido sódico (0,5 ml) se irradió a 120 °C en un horno microondas durante 10 min. Los disolventes se evaporaron y el residuo se recogió en DCM (10 ml). La fase orgánica se lavó con agua (10 ml), se secó sobre sulfato sódico y se concentró a sequedad. Una solución del residuo y TFA (0,5 ml) en DCM (0,5 ml) se agitó a temperatura ambiente

35 durante 1,5 h. Después de la evaporación de los disolventes, el producto se purificó por HPLC preparativa produciendo el compuesto 6 ácido 8-(4-aminofenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico (16,4 mg, 52 %).

- 40 LC-MS: t = 6,01 min (método 3); 367 (M+H)⁺; 350 (M-NH₃+H)⁺; ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 13,89 (s, 1 H), 9,38 (d, J = 5,6 Hz, 1 H), 8,24 (s, 1 H), 7,68 (d, J = 8 Hz, 2 H), 7,54 (d, J = 8 Hz, 1 H), 4,15 (s, 2 H), 2,77 (s, 3 H), 2,48-2,52 (m, 1 H), 1,03-1,05 (m, 2 H), 0,78-0,80 (m, 2 H).

Preparación del compuesto 17.

45

Preparación de 8-[4-(*terc*-butoxicarbonilamino)-3-fluoro-fenil]-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxilato de etilo.

- El método de acoplamiento de Suzuki general descrito anteriormente se usó para acoplar 8-cloro-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de etilo con ácido 3-fluoro-4-(*terc*-butiloxicarbonilamino-fenil borónico. La purificación por cromatografía en columna sobre gel de sílice produjo 8-[4-(*terc*-butoxicarbonilamino)-3-fluoro-fenil]-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxilato de etilo en forma de un sólido de color
- 50 amarillo (280 mg, 61 %).

- 55 LC-MS: t = 2,85 min (método 1); 499 (M+H)⁺.

Preparación del compuesto 17 Ácido 8-(4-amino-3-fluoro-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico.

Una solución de 8-(4-(*tert*-butoxicarbonilamino)-3-fluoro-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de etilo (260 mg, 0,52 mmol) en una solución 4 N de ácido clorhídrico (20 ml). La mezcla se agitó durante 20 min a 50 °C. El producto se liofilizó y se disolvió en una mezcla de THF (1 ml) y una solución acuosa 4 N de hidróxido sódico (1,31 ml, 5,2 mmol) antes de irradiarse a 140 °C en un horno microondas durante 10 min. El producto se purificó por HPLC preparativa produciendo el compuesto 17 ácido 8-(4-amino-3-fluoro-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico (5,1 mg, 2,5 %).

LC-MS: t = 2,24 min (método 1); 371 (M+H)⁺.

10 Preparación de los compuestos 1-9, 11, 13, 17-18, 20-22, 24-25, 28, 31, 33, 37, 43-44, 57, 60, 69, 72, 76, 78-79, 87 y 89 del andamiaje A, B, C, D y E

Los nombres químicos y las estructuras de los compuestos se dan en la Tabla 1.

15 La preparación de los compuestos del andamiaje A, C, D y E se describe a continuación. Los compuestos 1, 2, 3, 4, 5, 6, y 17 también se sintetizaron de nuevo de acuerdo con este método. También se describe la preparación de las sales de potasio correspondientes. Después, los compuestos se denominan tal cual con la letra K después de su número. Si se obtiene un compuesto como otra sal (por ejemplo, sal clorhídrica), el compuesto se denomina tal cual seguido del sufijo apropiado (por ejemplo, HCl).

20 La mayor parte de los ejemplos se prepararon de acuerdo con los procedimientos generales A-D descritos a continuación. La preparación de los otros ejemplos se indica de otro modo específicamente en la sección experimental. Se prepararon específicamente varios boronatos para reaccionar con los andamiajes por los procedimientos generales A o A'. Estos boronatos se fabricaron a partir de los bromo-nitrilos comerciales con los procedimientos generales E, F y G descritos a continuación.

Procedimiento General A:

30 El andamiaje de quinolizina (1 equiv.), boronato (1,3 equiv.) y carbonato de cesio (3 equiv.) se añadieron a una mezcla 3:1 de 1,2-dimetoxietano y agua (4 ml). La mezcla se desgasificó con argón. Se añadió dicloruro de 1,1'-Bis-difenilfosfina ferroceno paladio (II) (0,1 equiv.) y la mezcla se calentó a 90 °C en una atmósfera de argón durante 1 h. La mezcla de reacción se dejó enfriar.

35 El procedimiento de tratamiento habitual fue como se indica a continuación. La mezcla se diluyó con DCM (3 ml) y se añadió agua (3 ml). Las capas se separaron usando un separador de fase y la capa acuosa se extrajo con DCM (2 x 5 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato sódico y se concentraron al vacío. Un procedimiento de tratamiento alternativo consistió en la filtración del residuo y su aclarado con DCM (5 ml) antes de la concentración de los disolventes.

40 El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice y se secó al vacío para proporcionar el producto deseado.

Procedimiento General A' para horno microondas:

45 El andamiaje de quinolizina (1 equiv.), boronato (1,3 equiv.) y carbonato de cesio (3 equiv.) se añadieron a una mezcla 3:1 de 1,2-dimetoxietano y agua (4 ml). La mezcla se desgasificó con argón. Se añadió dicloruro de 1,1'-Bis-difenilfosfina ferroceno paladio (II) (0,1 equiv.) y la mezcla se calentó en un horno microondas a 150 °C en una atmósfera de argón durante 5 min. La mezcla de reacción se dejó enfriar.

50 El procedimiento de tratamiento habitual fue como se indica a continuación. La mezcla se diluyó con DCM (3 ml) y se añadió agua (3 ml). Las capas se separaron usando un separador de fase y la capa acuosa se extrajo con DCM (2 x 5 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato sódico y se concentraron al vacío. Un procedimiento de tratamiento alternativo consistió en la filtración del residuo y su aclarado con DCM (5 ml) antes de la concentración de los disolventes.

55 El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice y se secó al vacío para proporcionar el producto deseado.

Procedimiento General B:

El éster intermedio (1 equiv.) se añadió a una solución de hidróxido de litio (2 equiv.) en una mezcla 1:1 de THF y agua. La mezcla de reacción se agitó durante 18 h a 30 °C. La mezcla se acidificó usando HCl 1 M en agua. El precipitado se retiró por filtración y se secó al vacío para proporcionar el producto deseado.

5

Procedimiento General C:

El intermedio amina protegido con BOC (1 equiv.) se suspendió en DCM y se añadió HCl 1 M en éter dietílico (20 equiv.). La mezcla de reacción se agitó durante 16 h. El precipitado se retiró por filtración y se secó al vacío para proporcionar el producto deseado.

10

Procedimiento General D:

El ácido libre (1 equiv.) se añadió a una solución de hidróxido potásico (1,1 equiv.) en agua y se agitó durante 1 h. La solución se liofilizó para obtener el producto deseado

15

Procedimiento General E:

Una suspensión del bromo-nitrilo (1 equiv.) en seco (8 ml) se enfrió en un baño de hielo en una atmósfera de N₂. Se añadió dicarbonato de di-*terc*-butilo (2-3 equiv.) seguido de la adición cuidadosa de complejo de borano-THF (1 M, 2,4 equiv.). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Cuando fue necesario, se añadió de nuevo el complejo de borano-THF (1 M, 2,4 equiv.) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche.

20

La mezcla se inactivó a 0 °C con agua (8 ml). Las capas se separaron. La capa de agua se extrajo con DCM. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron al vacío para proporcionar la amina protegida con BOC en bruto.

25

Procedimiento General F:

A una solución de la bromo-amina (1 equiv.) en THF (8 ml) se le añadieron Et₃N (3 equiv.), 4-dimetilaminopiridina (0,1 equiv.) y dicarbonato de di-*terc*-butilo (2,2 equiv.). Se observó desprendimiento de gas. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Se añadió agua. La mezcla se extrajo con DCM. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron al vacío para proporcionar la bromo-amina protegida con BOC en bruto.

30

35

Procedimiento General G:

Una mezcla del bromuro (1 equiv.), bis(pinacolato)diboro (1,5 equiv.) y acetato potásico (3 equiv.) en 1,4-dioxano (6 ml) y agua (2 ml) se desgasificó con argón. Se añadió dicloruro de 1,1'-bis-(difenilfosfino)-ferroceno) paladio (0,1 equiv.), el tubo de reacción se tapó y se calentó a 90 °C durante 3 horas. Se añadió agua y la mezcla se extrajo con DCM. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron al vacío para proporcionar el pinacol éster en bruto.

40

Preparación y caracterización de los compuestos 1-9, 11, 13, 17-18, 20-22, 24-25, 28, 31, 33, 37, 43-44, 57, 60, 69, 72, 76, 78-79, 87 y 89.

45

Preparación del compuesto 1

Preparación de 8-(4-amino-3-fluoro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo

50

Se preparó 8-(4-amino-3-fluoro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo de acuerdo con el Procedimiento General A a partir de 8-clora-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo (200 mg, 0,68 mmol) y 2-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)anilina (195 mg, 0,82 mmol). La purificación por cromatografía en columna sobre gel de sílice (DCM:MeOH) (1:0 a 9:1) proporcionó el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (191 mg, 76 %).

55

ESI-MS m/z: 367 (M+H)⁺.

Preparación del compuesto 1 Ácido 8-(4-amino-3-fluoro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico

Se preparó ácido 8-(4-Amino-3-fluoro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico de acuerdo con el Procedimiento General B a partir de 8-(4-amino-3-fluoro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo (191 mg, 0,52 mmol) para proporcionar el compuesto del título 1 en forma de un sólido de color amarillo 5 (135 mg, 73 %).

ESI-MS m/z: 353 (M+H)⁺; 1H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 14,05 (s a, 1 H), 9,55 (d, J = 7,3 Hz, 1 H), 8,21 (s, 1 H), 7,57 (d, J = 7,3 Hz, 1 H), 7,16-7,34 (m, 2 H), 6,92 (t, J = 8,8 Hz, 1 H), 5,74 (s, 2 H), 2,89 (s, 3 H), 2,50-2,70 (m, 1 H), 1,02-1,05 (m, 2 H), 0,73-0,80 (m, 2 H).

10

Preparación del compuesto 1 K, sal potásica del compuesto 1 - 8-(4-amino-3-fluorofenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de potasio

Se preparó 8-(4-amino-3-fluoro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de potasio de acuerdo con el Procedimiento General D a partir del ácido 8-(4-amino-3-fluorofenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico (compuesto 1) (260 mg, 0,74 mmol) para proporcionar el compuesto del título sal K del compuesto 1 en forma de un sólido de color amarillo (288 mg, 98 %).

ESI-MS m/z: 353 (M-K+H)⁺.

20

Preparación del compuesto 2

Preparación de 2,5-difluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-anilina

25 Se disolvieron acetato de potasio (7,08 g, 72 mmol), 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametil-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolano) (7,94 g, 31 mmol) y 4-bromo-2,5-difluoro-anilina (5 g, 24 mmol) en 1,2-dimetoxietano (60 ml), seguido de la adición de dicloruro de 1'-bis-difenilfosfina ferroceno paladio (II) (2,1 g, 2,6 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 90 °C durante 16 h. La mezcla de reacción se evaporó a sequedad al vacío. La mezcla se recubrió sobre hidromatriz y se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (heptano:acetato de etilo, 3:1). El producto se secó al vacío 30 y se recrystalizó en DCM y heptano para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco (3,5 g, 57 %).

ESI-MS m/z: 256,2 (M+H)⁺; 1H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ ppm: 7,30 (dd, J = 5,0 Hz y J = 11,1 Hz, 1 H), 6,41 (c, J = 6,8 Hz, 1 H), 4,06 (s a, 1 H), 1,33 (s, 12 H).

35

Preparación de 8-(4-amino-2,5-difluoro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo

Se preparó 8-(4-amino-2,5-difluoro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo de acuerdo con el Procedimiento General A a partir de 8-cloro-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo 40 (500 mg, 1,71 mmol) y 2,5-difluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-anilina (667 mg, 2,06 mmol). La purificación por cromatografía ultrarrápida en columna sobre sílice (DCM:MeOH) (1:0 a 9:1) proporcionó el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (500 mg, 75 %).

ESI-MS m/z: 407 (M+Na)⁺.

45

Preparación del compuesto 2 Ácido 8-(4-amino-2,5-difluoro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico

Se preparó ácido 8-(4-Amino-2,5-difluoro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico de acuerdo con el Procedimiento General B a partir de 8-(4-amino-2,5-difluoro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo (1 g, 2,6 mmol) para proporcionar el compuesto del título 2 en forma de un sólido de color amarillo (639 mg, 66 %).

ESI-MS m/z: 371 (M+H)⁺; 1H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 13,97 (s, 1 H), 9,32 (d, J = 5,5 Hz, 1 H), 8,24 (s, 1 H), 7,21 (d, J = 12,1 Hz, 1 H), 7,03 (d, J = 8,1 Hz, 1 H), 6,92 (t, J = 8,7 Hz, 1 H), 6,00 (s, 2 H), 2,85 (s, 3 H), 2,40-2,60 (m, 1 H), 1,06-1,08 (m, 2 H), 0,77-0,79 (m, 2 H).

55

Preparación del compuesto 2K (sal potásica del compuesto 2) 8-(4-amino-2,5-difluoro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de potasio

Compuesto 2K - sal potásica del compuesto 2 - Se preparó 8-(4-amino-2,5-difluoro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de potasio de acuerdo con el Procedimiento General D a partir de ácido 8-(4-amino-2,5-difluoro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico (290 mg, 0,78 mmol) para proporcionar la sal K del compuesto 2 en forma de un sólido de color amarillo (287 mg, 90 %).

ESI-MS m/z: 371 (M-K+H)⁺.

Preparación del compuesto 3

10

Preparación de ácido 8-(4-amino-3,5-dicloro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico

Una mezcla de 8-cloro-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de etilo (120 mg, 0,400 mmol), 2,6-dicloro-[4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-anilina (138 mg, 0,48 mmol), (Ph₃P)₂PdCl₂ (28 mg, 0,040 mmol), y Na₂CO₃ (190 mg en 0,8 ml de agua, 1,80 mmol) en THF (5 ml) se desgasificó 3 veces en una atmósfera de N₂ y se calentó a 80 °C durante una noche. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo (50 ml) y se lavó con agua (2 x 20 ml). La fase orgánica se separó, se secó y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexano:acetato de etilo, 2:3) para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (140 mg, 81 %).

20

ESI-MS m/z: 431 (M+H)⁺.

Preparación del compuesto 3 Ácido 8-(4-amino-3,5-dicloro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico

25

Una solución de 8-(4-amino-3,5-dicloro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de etilo (140 mg, 0,326 mmol) en THF (6 ml) y agua (2 ml) se trató con LiOH (55 mg, 1,31 mmol). La reacción se calentó a 60 °C durante una noche y se acidificó con HCl 1 N a pH 4. El precipitado se disolvió con acetato de etilo (50 ml) y se lavó con salmuera (2 x 20 ml). La fase orgánica se separó, se secó y se concentró. El precipitado se filtró para proporcionar el compuesto del título compuesto 3 en forma de un sólido de color amarillo (90 mg, 69 %).

30

ESI-MS m/z: 403 (M+H)⁺; ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 9,30 (d, J = 7,5 Hz, 1 H), 8,25 (s, 1 H), 7,64 (d, J = 7,5 Hz, 1 H), 7,57 (s, 2 H), 6,12 (s, 2 H), 2,92 (s, 3 H), 2,54-2,51 (m, 1 H), 1,13-1,10 (m, 2 H), 0,84-0,83 (m, 2 H).

35 Preparación del compuesto 4

Preparación de 4-bromo-2-fluorobencil-carbamato de *terc*-butilo

A una solución de (4-bromo-2-fluorofenil) metanamina (2,5 g, 12 mmol) en DCM (50 ml) a 0 °C se le añadieron dicarbonato de di-*terc*-butilo (4,01 g, 18 mmol) y trietilamina (2,6 ml, 18 mmol). La mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 2 h. Se añadió agua (50 ml) y las capas se separaron. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato sódico y se concentraron al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (heptano:acetato de etilo) (1:0 a 4:1) para proporcionar el compuesto del título en forma de un aceite incoloro. (2,7 g, 71 %).

45

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 7,21-7,26 (m, 3 H), 4,90 (s a, H), 4,27-4,33 (m, 2 H), 1,44 (s, 9 H).

Preparación de 2-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-bencilcarbamato de *terc*-butilo

Una mezcla de 4-bromo-2-fluorobencil-carbamato de *terc*-butilo (1,3 g, 4,3 mmol), bis(pinacolato)-diboro (1,6 g, 6,4 mmol), y acetato sódico (1,1 g, 13 mmol) en DMSO (seco) (4 ml) se desgasificó con argón. Se añadió dicloruro de 1,1'-Bis(difenilfosfino)-ferroceno paladio (II) (0,156 g, 0,214 mmol) y la mezcla se calentó a 90 °C durante 3 h. Después de un periodo de refrigeración, la mezcla de reacción se repartió entre acetato de etilo (50 ml) y agua (50 ml). Las capas se separaron y la capa orgánica se lavó con agua (50 ml) y salmuera, se secó sobre sulfato sódico y se concentró para dar un producto en bruto de color rojo/pardo. El material se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (heptano:acetato de etilo) (1:0 a 4:1) para proporcionar el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (980 mg, 65 %).

55

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 7,53 (d, J = 7,6 Hz, 1 H), 7,45 (d, J = 10,4 Hz, 1 H), 7,31-7,35 (m, 1 H), 4,91 (s

a, H), 4,36-4,40 (m, 2 H), 1,44 (s, 9 H), 1,34 (s, 12 H).

Preparación de 8-(4-((*tert*-butoxicarbonilamino)-metil)-3-fluorofenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo

5

Se disolvió 8-cloro-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo (46 mg, 0,158 mmol) en tolueno (500 μ l), etanol (96 %) (237 μ l) y carbonato sódico acuoso 2 M (237 μ l, 0,473 mmol). Se añadió 2-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)bencilcarbamato de *tert*-butilo (97 mg, 0,21 mmol). La mezcla se desgasificó con argón y se añadió dicloruro de 1,1'-bis(difenilfosfino)-ferroceno paladio (II) (11,5 mg, 0,016 mmol). La mezcla se calentó a 90 °C durante 4 h. Después de un periodo de refrigeración, la mezcla se diluyó con DCM (3 ml) y agua (3 ml). Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con DCM (3 x 2 ml). La capa orgánica se concentró al vacío. El producto en bruto se purificó con cromatografía en columna sobre gel de sílice (heptano:acetato de etilo) (1:1 a 1:2) para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (24 mg, 32 %).

15 ESI-MS m/z: 481 (M+H)⁺.

Preparación de ácido 8-(4-((*tert*-butoxicarbonilamino)metil)-3-fluorofenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico

20 Se disolvió 8-(4-((*tert*-butoxicarbonilamino)metil)-3-fluorofenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo (24 mg, 0,050 mmol) en MeOH (2 ml) y se añadió hidróxido sódico acuoso 1 M (0,5 ml, 0,5 mmol). La mezcla se agitó a 50 °C durante 2 h. Después de un periodo de refrigeración, el MeOH se retiró al vacío y el residuo se disolvió en agua (5 ml) y se neutralizó con HCl 1 M (0,5 ml). El precipitado formado se extrajo con DCM (3 x 4 ml). La capa orgánica se concentró para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (20 mg, 86 %).

25

ESI-MS m/z: 467 (M+H)⁺.

Preparación del compuesto 4HCl - sal HCl del compuesto 4 - clorhidrato del ácido 8-(4-(aminometil)-3-fluorofenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico

30

Se disolvió ácido 8-(4-((*tert*-butoxicarbonilamino)metil)-3-fluorofenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico (24 mg, 0,051 mmol) en ACN (4 ml). Se añadió HCl 4 M en dioxano (1 ml, 4 mmol). La mezcla se agitó durante 4 h y se formó una suspensión proporcionando después de la filtración el compuesto del título 4HCl en forma de un sólido de color amarillo (17,7 mg, 86 %).

35

ESI-MS m/z: 453 (M+H)⁺.

Preparación del compuesto 4K - sal potásica del compuesto 4 - 8-(4-(aminometil)-3-fluorofenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de potasio

40

Se preparó el compuesto 4K 8-(4-(aminometil)-3-fluorofenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de potasio de acuerdo con el Procedimiento General D a partir de clorhidrato del ácido 8-(4-(aminometil)-3-fluorofenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico (65 mg, 0,16 mmol) para proporcionar la sal K del compuesto 4 en forma de un sólido de color amarillo (79 mg, 100 %).

45

ESI-MS m/z: 367,0 (M-K+H)⁺.

Preparación del compuesto 5

50

Preparación de 8-(4-(((*tert*-butoxicarbonil)-amino)-metil)-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo

Se preparó 8-(4-(((*tert*-butoxicarbonil)-amino)-metil)-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo de acuerdo con el Procedimiento General A a partir de 8-cloro-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo (500 mg, 1,71 mmol) y ácido 4-(((*tert*-butoxicarbonil)-amino)-metil)-fenil)-borónico (516 mg, 2,06 mmol). La purificación por cromatografía ultrarrápida en columna sobre sílice (DCM:MeOH) (1:0 a 9:1) proporcionó el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (850 mg, 100 %).

55

ESI-MS m/z: 485 (M+Na)⁺, 463 (M+H)⁺.

Preparación de ácido 8-(4-(((*terc*-butoxicarbonil)-amino)-metil)-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico

5

Se preparó ácido 8-(4-(((*terc*-Butoxicarbonil)-amino)-metil)-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico de acuerdo con el Procedimiento General B a partir de 8-(4-(((*terc*-butoxicarbonil)-amino)-metil)-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo (1050 mg, 2,3 mmol) para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (950 mg, 93 %).

10

ESI-MS m/z: 449 (M+H)⁺.

Preparación del compuesto 5HCl - sal HCl del compuesto 5 - sal clorhídrica del ácido 8-(4-(aminometil)-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico

15

Se preparó ácido 8-(4-(Aminometil)-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico de acuerdo con el Procedimiento General C a partir de ácido 8-(4-(((*terc*-butoxicarbonil)-amino)-metil)-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico (540 mg, 1,20 mmol) para proporcionar la sal clorhídrica del compuesto del título compuesto 5 en forma de un sólido de color amarillo (360 mg, 86 %).

20

ESI-MS m/z: 349 (M+H)⁺; 1H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 14,07 (s, 1 H), 9,35 (d, *J* = 7,3 Hz, 1 H), 8,64 (s, 2 H), 8,27 (s, 1 H), 7,73 (d, *J* = 7,8 Hz, 2 H), 7,56-7,63 (m, 3 H), 4,13 (s, 2 H), 2,86 (s, 3 H), 2,40-2,60 (m, 1 H), 1,07-1,09 (m, 2 H), 0,78-0,80 (m, 2 H).

25 Preparación del compuesto 5K (sal potásica del compuesto 5) 8-(4-(amino-metil)-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de potasio

Se preparó 8-(4-(amino-metil)-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de potasio de acuerdo con el Procedimiento General D a partir de sal clorhídrica del ácido 8-(4-(amino-metil)-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico (200 mg, 0,52 mmol) para proporcionar la sal K del compuesto 5 en forma de un sólido de color amarillo (153 mg, 76 %).

30

ESI-MS m/z: 349 (M-K+H)⁺.

35 Preparación del compuesto 6

Preparación de 8-(4-(((*terc*-butoxicarbonil)-amino)-metil)-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de etilo Se preparó 8-(4-(((*terc*-butoxicarbonil)-amino)-metil)-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de etilo de acuerdo con el Procedimiento General A a partir de 8-cloro-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de etilo (100 mg, 0,31 mmol) y ácido (4-(((*terc*-butoxicarbonil)-amino)-metil)-fenil)-borónico (101 mg, 0,40 mmol). La purificación por cromatografía ultrarrápida en columna sobre sílice (DCM:MeOH) (1:0 a 9:1) proporcionó el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (167 mg, 100 %).

40

45 ESI-MS m/z: 495 (M+Na)⁺.

Preparación de ácido 8-(4-(((*terc*-butoxicarbonil)-amino)-metil)-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico

50 Se preparó ácido 8-(4-(((*terc*-Butoxicarbonil)-amino)-metil)-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico de acuerdo con el Procedimiento General B a partir de 8-(4-(((*terc*-butoxicarbonil)-amino)-metil)-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de etilo (167 mg, 0,34 mmol) para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (150 mg, 95 %).

50

55 ESI-MS m/z: 467 (M+H)⁺.

Preparación del compuesto 6HCl (sal clorhídrica del compuesto 6) Sal clorhídrica del ácido 8-(4-(amino-metil)-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico

Se preparó ácido 8-(4-Amino-metil-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico de acuerdo con el Procedimiento General C a partir de ácido 8-(4-(((*tert*-butoxicarbonil)-amino)-metil)-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico (150 mg, 0,32 mmol) para proporcionar la sal clorhídrica del compuesto del título compuesto 6 en forma de un sólido de color amarillo (137 mg, 100 %).

5

ESI-MS m/z: 367 (M+H)⁺; 1H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 13,9 (s a, 1 H), 9,41 (d, *J* = 7,3 Hz, 1 H), 8,50 (s a, 2 H), 8,28 (s, 1 H), 7,72 (d, *J* = 7,8 Hz, 2 H), 7,56 (d, *J* = 7,8 Hz 2 H), 4,16 (s, 2 H), 2,79 (s, 3 H), 2,40-2,60 (m, 1 H), 1,05-1,09 (m, 2 H), 0,79-0,82 (m, 2 H).

10 Preparación del compuesto 6K (sal potásica del compuesto 6) 8-(4-amino-metil)-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de potasio

Se preparó 8-(4-amino-metil)-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de potasio de acuerdo con el Procedimiento General D a partir de sal clorhídrica del ácido 8-(4-aminometil-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico (65 mg, 0,16 mmol) para proporcionar la sal K del compuesto 6 en forma de un sólido de color amarillo (79 mg, 100 %).

15

ESI-MS m/z: 367 (M-K+H)⁺; 1H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 13,9 (s a, 1 H), 9,40 (d, *J* = 7,3 Hz, 1 H), 8,43 (s a, 2 H), 8,28 (s, 1 H), 7,72 (d, *J* = 7,8 Hz, 2 H), 7,56 (d, *J* = 7,8 Hz, 2 H), 4,16 (s, 2 H), 2,79 (s, 3 H), 2,50-2,55 (m, 1 H), 1,05-1,09 (m, 2 H), 0,79-0,82 (m, 2 H).

20

Preparación del compuesto 7

Preparación de 8-(4-amino-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de etilo

25

Se preparó 8-(4-amino-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de etilo de acuerdo con el Procedimiento General A a partir de 8-cloro-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de etilo (500 mg, 1,54 mmol) y 4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-anilina (439 mg, 2,00 mmol). La purificación por cromatografía ultrarrápida en columna sobre sílice (DCM:MeOH) (1:0 a 9:1) proporcionó el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (550 mg, 93 %).

30

ESI-MS m/z: 381 (M+H)⁺.

Preparación del compuesto 7 Ácido 8-(4-amino-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico

35

Se preparó ácido 8-(4-Amino-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico de acuerdo con el Procedimiento General B a partir de 8-(4-amino-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de etilo (550 mg, 1,45 mmol) para proporcionar el compuesto del título compuesto 7 en forma de un sólido de color amarillo (435 mg, 85 %).

40

ESI-MS m/z: 353 (M+H)⁺; 1H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 13,95-14,02 (m, 1 H), 9,32 (d, *J* = 5,8 Hz, 1 H), 8,21 (s, 1 H), 7,21 (d, *J* = 6,8 Hz, 2 H), 6,79 (d, *J* = 8,3 Hz, 2 H), 2,85 (s, 3 H), 2,50-2,60 (m, 1 H), 1,05-1,07 (m, 2 H), 0,76-0,78 (m, 2 H).

45 Preparación del compuesto 7K (sal potásica del compuesto 7) 8-(4-amino-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de potasio

Se preparó 8-(4-amino-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de potasio de acuerdo con el Procedimiento General D a partir de ácido 8-(4-amino-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico (460 mg, 0,74 mmol) para proporcionar el compuesto del título sal K del compuesto 7 en forma de un sólido de color amarillo (510 mg, 100 %).

50

ESI-MS m/z: 353 (M-K+H)⁺.

55 Preparación del compuesto 8

Preparación de 8-(4-amino-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo

Se preparó 8-(4-amino-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo de acuerdo con el

Procedimiento General A a partir de 8-cloro-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo (150 mg, 0,51 mmol) y 4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-anilina (135 mg, 0,62 mmol). La purificación por cromatografía ultrarrápida en columna sobre sílice (DCM:MeOH) (1:0 a 9:1) proporcionó el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (25 mg, 14 %).

5

ESI-MS m/z: 349 (M+H)⁺.

Preparación del compuesto 8 Ácido 8-(4-amino-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico

10 Se preparó ácido 8-(4-Amino-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico de acuerdo con el Procedimiento General B a partir de 8-(4-amino-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo (25 mg, 0,07 mmol) para proporcionar el compuesto del título el compuesto 8 en forma de un sólido de color amarillo (18 mg, 77 %).

15 ESI-MS m/z: 335 (M+H)⁺; 1H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 14,11 (s, 1 H), 9,24 (d, J = 7,1 Hz, 1 H), 8,22 (s, 1 H), 7,53 (s, 1 H), 7,30 (d, J = 8,1 Hz, 2 H), 6,72 (d, J = 8,4 Hz, 2 H), 5,67 (s, 2 H), 2,89 (s, 3 H), 2,40-2,50 (m, 1 H), 1,05-1,07 (m, 2 H), 0,73-0,75 (m, 2 H).

Preparación del compuesto 9

20

Preparación de 8-(3-amino-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo

Se preparó 8-(3-amino-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo de acuerdo con el Procedimiento General A usando 8-cloro-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo (195 mg, 0,66 mmol) y ácido (3-aminofenil)-borónico (119 mg, 0,87 mmol). La purificación por cromatografía ultrarrápida en columna sobre sílice (DCM:MeOH) (1:0 a 9:1) proporcionó el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (91 mg, 39 %).

25

ESI-MS m/z: 349 (M+H)⁺.

30

Preparación del compuesto 9 ácido 8-(3-amino-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico Se preparó ácido 8-(3-Amino-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico de acuerdo con el Procedimiento General B a partir de 8-(3-amino-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo (91 mg, 0,26 mmol) para proporcionar el compuesto del título compuesto 9 en forma de un sólido de color amarillo (62,4 mg, 72 %).

35

ESI-MS m/z: 335 (M+H)⁺; 1H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 14,20 (s a, 1 H), 9,32 (d, J = 7,3 Hz, 1 H), 8,26 (s, 1 H), 7,52 (d, J = 7,3 Hz, 1 H), 7,35-7,53 (m, 1 H), 6,82-6,93 (m, 3 H), 2,86 (s, 3 H), 2,50-2,60 (m, 1 H), 1,00-1,10 (m, 2 H), 0,75-0,85 (m, 2 H).

40

Preparación del compuesto 11

Preparación de 8-(4-amino-2-cloro-5-metil-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de etilo

45 Una mezcla de 8-cloro-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de etilo (120 mg, 0,4 mmol), 3-cloro-6-metil-[4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2]dioxaborolan-2-il)-anilina (128 mg, 0,48 mmol), (Ph₃P)₂PdCl₂ (28 mg, 0,040 mmol), y Na₂CO₃ (190 mg en 0,8 ml de agua, 1,80 mmol) en THF (5 ml) se desgasificó 3 veces en una atmósfera de N₂ y se calentó a 80 °C durante una noche. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo (20 ml), y se lavó con agua (20 ml). La fase orgánica se separó, se secó y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexano:acetato de etilo, 1:3) para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (70 mg, 43 %).

50

ESI-MS m/z: 411 (M+H)⁺.

55 Preparación del compuesto 11 Ácido 8-(4-amino-2-cloro-5-metil-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico

Una solución de 8-(4-amino-2-cloro-5-metil-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de etilo (70 mg, 0,171 mmol) en THF (6 ml) y agua (2 ml) se trató con LiOH (29 mg, 0,690 mmol). La reacción se calentó a 60 °C

durante una noche y se acidificó con HCl 1 N a pH 4. El precipitado se disolvió con acetato de etilo (50 ml) y se lavó con salmuera (2 x 20 ml). La fase orgánica se separó, se secó y se concentró. El precipitado se filtró para proporcionar el compuesto del título compuesto 11 en forma de un sólido de color amarillo (51 mg, 78 %).

- 5 ESI-MS m/z: 383 (M+H)⁺; 1H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 9,28 (d, J = 7,5 Hz, 1 H), 8,24 (s, 1 H), 7,43 (d, J = 7,5 Hz, 1 H), 6,99 (s, 1 H), 6,81 (s, 1 H), 5,55 (s, 2 H), 2,75 (s, 3 H), 2,52-2,54 (m, 1 H), 2,07 (s, 3 H), 1,01-1,03 (m, 2 H), 0,70-0,74 (m, 2 H).

Preparación del compuesto 13

10

Preparación de 8-(5-((*tert*-butoxicarbonilamino)metil)tiofen-2-il)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo

- 15 Se preparó 8-(5-((*tert*-butoxicarbonilamino)metil)tiofen-2-il)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo de acuerdo con el Procedimiento General A a partir de 8-cloro-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo (100 mg, 0,34 mmol) y ácido 5-(BOC-aminometil)tiofeno-2-borónico (106 mg, 0,41 mmol). La purificación por cromatografía ultrarrápida en columna sobre sílice (DCM:MeOH) (1:0 a 9:1) proporcionó el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (100,3 mg, 72 %).

- 20 ESI-MS m/z: 469 (M+H)⁺.

Preparación de ácido 8-(5-((*tert*-butoxicarbonilamino)metil)tiofen-2-il)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico

- 25 El compuesto ácido 8-(5-((*tert*-butoxicarbonilamino)metil)tiofen-2-il)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico se preparó de acuerdo con el Procedimiento General B a partir de 8-(5-((*tert*-butoxicarbonilamino)metil)tiofen-2-il)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo (76,2 mg, 0,19 mmol) para proporcionar el compuesto en forma de un sólido de color amarillo (54 mg, 68 %).

- 30 ESI-MS m/z: 455 (M+H)⁺, 453 (M-H)⁻.

Preparación del compuesto 13HCl (sal clorhídrica del compuesto 13) clorhidrato del ácido 8-(5-(aminometil)tiofen-2-il)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico

- 35 El compuesto clorhidrato del ácido 8-(5-(aminometil)tiofen-2-il)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico se preparó de acuerdo con el Procedimiento General C a partir de ácido 8-(5-((*tert*-butoxicarbonilamino)metil)tiofen-2-il)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico (105,3 mg, 0,23 mmol) para proporcionar el compuesto 13HCl en forma de un sólido de color naranja (77,2 mg, 85 %).

- 40 ESI-MS m/z: 355 (M+H)⁺; 1H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 9,27 (d, J = 7,6 Hz, 1 H), 8,80 (s, 2 H), 8,26 (s, 1 H), 7,63 (d, J = 7,3 Hz, 1 H), 7,61 (d, J = 3,8 Hz, 1 H), 7,45 (d, J = 3,8 Hz, 1 H), 4,35 (s, 2 H), 3,03 (s, 3 H), 2,50-2,57 (m, 1 H), 1,06-1,11 (m, 2 H), 0,73-0,77 (m, 2 H).

- 45 Preparación del compuesto 13K (sal potásica del compuesto 13) 8-(5-(aminometil)tiofen-2-il)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de potasio

- 50 El compuesto 8-(5-(aminometil)tiofen-2-il)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de potasio se preparó de acuerdo con el Procedimiento General D a partir de clorhidrato del ácido 8-(5-(aminometil)tiofen-2-il)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico (77,2 mg, 0,20 mmol) para proporcionar el compuesto 13K en forma de un sólido de color naranja (86,0 mg, 100 %).

ESI-MS m/z: 355 (M-K+H)⁺, 353 (M-K-H)⁻.

Preparación del compuesto 17

- 55 Preparación de 8-(4-amino-3-fluoro-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de etilo

Se preparó 8-(4-amino-3-fluoro-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de etilo de acuerdo con el Procedimiento General A a partir de 8-cloro-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de etilo (149 mg, 0,46 mmol) y 2-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-anilina (134 mg, 0,58

mmol). La purificación por cromatografía ultrarrápida en columna sobre sílice (DCM:MeOH) (1:0 a 9:1) proporcionó el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (18 mg, 10 %).

ESI-MS m/z: 399 (M+H)⁺.

5

Preparación del compuesto 17 Ácido 8-(4-amino-3-fluoro-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico

Se preparó ácido 8-(4-Amino-3-fluoro-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico de acuerdo con el Procedimiento General B a partir de 8-(4-amino-3-fluoro-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de etilo (24 mg, 0,06 mmol) para proporcionar el compuesto del título compuesto 17 en forma de un sólido de color amarillo (19 mg, 85 %).

ESI-MS m/z: 371 (M+H)⁺; 1H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 13,99 (s a, 1 H), 9,32 (s, 1 H), 8,22 (s, 1 H), 6,80-7,30 (m, 3 H), 5,73 (s, 2 H), 2,84 (s, 3 H), 2,50-2,60 (m, 1 H), 1,04-1,08 (m, 2 H), 0,76-0,80 (m, 2 H).

Preparación del compuesto 17K (sal potásica del compuesto 17) 8-(4-amino-3-fluorofenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de potasio

20 Se preparó 8-(4-amino-3-fluoro-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de potasio de acuerdo con el Procedimiento General D a partir de ácido 8-(4-amino-3-fluoro-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico (250 mg, 0,68 mmol) e hidróxido potásico para proporcionar el compuesto del título sal K del compuesto 17 en forma de un sólido de color amarillo (276 mg, 90 %).

25 ESI-MS m/z: 371 (M-K+H)⁺.

Preparación del compuesto 18

Preparación de 8-(3-amino-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de etilo

30

Se preparó 8-(3-amino-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de etilo de acuerdo con el Procedimiento General A a partir de 8-cloro-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de etilo (102,5 mg, 0,32 mmol) y ácido (3-amino-fenil)-borónico (54,8 mg, 0,40 mmol). La purificación por cromatografía ultrarrápida en columna sobre sílice (DCM:MeOH) (1:0 a 9:1) proporcionó el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (30 mg, 25 %).

35

ESI-MS m/z: 381 (M+H)⁺.

Preparación del compuesto 18 Ácido 8-(3-amino-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico

40 Se preparó ácido 8-(3-Amino-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico de acuerdo con el Procedimiento General B a partir de 8-(3-amino-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de etilo (140 mg, 0,37 mmol) para proporcionar el compuesto del título compuesto 18 en forma de un sólido de color amarillo (30 mg, 25 %).

45 ESI-MS m/z: 353 (M+H)⁺; 1H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 9,35 (d, J = 5,8 Hz, 1 H), 8,25 (s, 1 H), 7,22 (t, J = 7,6 Hz, 1 H), 6,71 (dd, J = 1,6 Hz y J = 8,1 Hz, 1 H), 6,57 (s, 1 H), 6,51 (d, J = 7,6 Hz, 1 H), 5,40 (s a, 2 H), 2,82 (s, 3 H), 2,53-2,63 (m, 1 H), 1,04-1,07 (m, 2 H), 0,76-0,78 (m, 2 H).

Preparación del compuesto 20

50

Preparación de 8-(4-amino-2-fluoro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo

Se preparó 8-(4-amino-2-fluoro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo de acuerdo con el Procedimiento General A a partir de 8-cloro-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo (100 mg, 0,34 mmol) y 3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-anilina (122 mg, 0,51 mmol). La purificación por cromatografía ultrarrápida en columna sobre sílice (DCM:MeOH) (1:0 a 94:6) proporcionó el compuesto del título 20 en forma de un sólido de color amarillo (87 mg, 64 %).

55

ESI-MS m/z: 367 (M+H)⁺.

Preparación del compuesto 20 Ácido 8-(4-amino-2-fluoro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico

5 Se preparó ácido 8-(4-Amino-2-fluoro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico de acuerdo con el Procedimiento General B a partir de 8-(4-amino-2-fluoro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo (87 mg, 0,24 mmol) para proporcionar el compuesto del título 20 en forma de un sólido de color amarillo (50 mg, 59 %).

10 ESI-MS m/z: 353 (M+H)⁺; 1H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 9,27 (d, J = 7,3 Hz, 1 H), 8,27 (s, 1 H), 7,48 (s, 1 H), 7,18 (t, J = 8,6 Hz, 1 H), 6,57 (dd, J = 8,3 Hz, J = 1,8 Hz, 1 H), 6,49 (dd, J = 13,4 Hz, J = 1,8 Hz, 1 H), 5,92 (s, 2 H), 2,80 (s, 3 H), 2,40-2,60 (m, 1 H), 1,03-1,06 (m, 2 H), 0,70-0,72 (m, 2 H).

Preparación del compuesto 21

15 Preparación de 8-(3-amino-4-fluoro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo

20 Se preparó 8-(3-amino-4-fluoro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo de acuerdo con el Procedimiento General A a partir de 8-cloro-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo (100 mg, 0,34 mmol) y 2-fluoro-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-anilina (122 mg, 0,51 mmol). La purificación por cromatografía ultrarrápida en columna sobre sílice (DCM:MeOH) (1:0 a 94:6) proporcionó el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (128 mg, 98 %).

ESI-MS m/z: 367 (M+H)⁺.

25 Preparación del compuesto 21 Ácido 8-(3-amino-4-fluoro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico

30 Se preparó ácido 8-(3-Amino-4-fluoro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico de acuerdo con el Procedimiento General B a partir de 8-(3-amino-4-fluorofenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo (123 mg, 0,35 mmol) para proporcionar el compuesto del título compuesto 21 en forma de un sólido de color amarillo (60 mg, 49 %).

35 ESI-MS m/z: 353 (M+H)⁺; 1H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 9,31 (d, J = 7,3 Hz, 1 H), 8,26 (s, 1 H), 7,50 (d, J = 7,3 Hz, 1 H), 7,18 (dd, J = 8,3 Hz, J = 11,4 Hz, 1 H), 6,89 (dd, J = 2,0 Hz, J = 8,6 Hz, 1 H), 6,63-6,67 (m, 1 H), 5,44 (s, 2 H), 2,85 (s, 3 H), 2,40-2,54 (m, 1 H), 1,04-1,07 (m, 2 H), 0,76-0,78 (m, 2 H).

Preparación del compuesto 22

Preparación de 8-(3-amino-5-fluoro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo

40 Se preparó 8-(3-amino-5-fluoro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-carboxilato de metilo de acuerdo con el Procedimiento General A a partir de 8-cloro-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo (100 mg, 0,34 mmol) y ácido 3-amino-5-fluoro-fenil-borónico (80 mg, 0,51 mmol). La purificación por cromatografía ultrarrápida en columna sobre sílice (DCM:MeOH) (1:0 a 94:6) proporcionó el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (108 mg, 81 %).

45 ESI-MS m/z: 367 (M+H)⁺.

Preparación del compuesto 22 Ácido 8-(3-amino-5-fluoro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico

50 Se preparó ácido 8-(3-Amino-5-fluoro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico de acuerdo con el Procedimiento General B a partir de 8-(3-amino-5-fluorofenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo (108 mg, 0,29 mmol) para proporcionar el compuesto del título compuesto 22 en forma de un sólido de color amarillo (69 mg, 67 %).

55 ESI-MS m/z: 353 (M+H)⁺; 1H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 9,22 (d, J = 7,3 Hz, 1 H), 8,48 (s, 1 H), 7,19 (d, J = 7,6 Hz, 1 H), 6,36-6,44 (m, 3 H), 6,68 (s, 2 H), 2,81 (s, 3 H), 2,40-2,50 (m, 1 H), 1,02-1,04 (m, 2 H), 0,70-0,72 (m, 2 H).

Preparación del compuesto 24

Preparación de 8-(4-amino-3-cloro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo

5 Se preparó 8-(4-amino-3-cloro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo de acuerdo con el Procedimiento General A a partir de 8-cloro-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo (76 mg, 0,26 mmol) y 2-cloro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-anilina (78 mg, 0,31 mmol). La purificación por cromatografía ultrarrápida en columna sobre sílice (DCM:MeOH) (1:0 a 94:6) proporcionó el compuesto del título 24 en forma de un sólido de color amarillo (63 mg, 62 %).

10 ESI-MS m/z: 387 (M+H)⁺.

Preparación del compuesto 24 Ácido 8-(4-amino-3-cloro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico
Se preparó ácido 8-(4-Amino-3-cloro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico de acuerdo con el Procedimiento General B a partir de 8-(4-amino-3-cloro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato
15 de metilo (63 mg, 0,16 mmol) para proporcionar el compuesto del título compuesto 24 en forma de un sólido de color amarillo (37 mg, 62 %).

ESI-MS m/z: 369 (M+H)⁺; 1H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 9,21 (d, J = 7,3 Hz, 1 H), 8,38 (s, 1 H), 7,43 (s, 1 H), 7,30 (s, 1 H), 7,26 (d, J = 14,5 Hz, 1 H), 6,94 (d, J = 8,3 Hz, 1 H), 5,82 (s, 2 H), 2,85 (s, 3 H), 2,40-2,50 (m, 1 H),
20 1,04-1,06 (m, 2 H), 0,72-0,74 (m, 2 H).

Preparación del compuesto 25

Preparación de 8-(4-amino-3-metoxi-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo

25

Se preparó 8-(4-amino-3-metoxi-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo de acuerdo con el Procedimiento General A a partir de 8-cloro-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo (76 mg, 0,26 mmol) y 2-metoxi-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-anilina (78 mg, 0,31 mmol). La purificación por cromatografía ultrarrápida en columna sobre sílice (DCM:MeOH) (1:0 a 94:6) proporcionó el
30 compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (41 mg, 40 %).

ESI-MS m/z: 379 (M+H)⁺.

Preparación del compuesto 25 Ácido 8-(4-amino-3-metoxi-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-
35 carboxílico

Se preparó ácido 8-(4-Amino-3-metoxi-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico de acuerdo con el Procedimiento General B a partir de 8-(4-amino-3-metoxi-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo (41 mg, 0,11 mmol) para proporcionar el compuesto del título compuesto 25 en forma de un sólido de color
40 amarillo (29 mg, 92 %).

ESI-MS m/z: 365 (M+H)⁺; 1H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 9,27 (d, J = 7,3 Hz, 1 H), 8,19 (s, 1 H), 7,43 (d, J = 7,3 Hz, 1 H), 7,03 (s, 1 H), 6,99 (dd, J = 1,8 Hz, J = 8,1 Hz, 1 H), 6,80 (d, J = 8,1 Hz, 1 H), 5,38 (s, 2 H), 3,86 (s, 3 H),
45 2,92 (s, 3 H), 2,40-2,54 (m, 1 H), 1,06-1,10 (m, 2 H), 0,76-0,80 (m, 2 H).

45

Preparación del compuesto 28

Preparación de 8-(4-(metilamino)-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo

50 Se preparó 8-(4-(metilamino)-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo de acuerdo con el Procedimiento General A a partir de 8-cloro-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo (74 mg, 0,25 mmol) y N-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-anilina (71 mg, 0,31 mmol). La purificación por cromatografía ultrarrápida en columna sobre sílice (DCM:MeOH) (1:0 a 94:6) proporcionó el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (81 mg, 81 %).

55

ESI-MS m/z: 363 (M+H)⁺.

Preparación del compuesto 28 Ácido 8-(4-(metilamino)-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico

Se preparó ácido 8-(4-(Metilamino)-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico de acuerdo con el Procedimiento General B a partir de 8-(4-(metilamino)-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo (81 mg, 0,22 mmol) para proporcionar el compuesto del título compuesto 28 en forma de un sólido de color amarillo (55 mg, 72 %).

5

ESI-MS m/z: 349 (M+H)⁺; 1H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 9,27 (d, J = 7,3 Hz, 1 H), 8,20 (s, 1 H), 9,59 (d, J = 7,3 Hz, 1 H), 7,39 (d, J = 8,6 Hz, 2 H), 6,70 (d, J = 8,6 Hz, 2 H), 6,28 (d, J = 5,1 Hz, 1 H), 2,90 (s, 3 H), 2,76 (d, J = 4,8 Hz, 3 H), 2,40-2,52 (m, 1 H), 1,06-1,08 (m, 2 H), 0,75-0,77 (m, 2 H).

10 Preparación del compuesto 31

Preparación de 2-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-anilina

Se disolvieron acetato potásico (317 mg, 3,22 mmol), 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametil-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolano) (300 mg, 1,18 mmol) y 4-bromo-2-metil-anilina (200 mg, 1,08 mmol) en DMSO (3 ml). La mezcla de reacción se desgasificó usando argón. Se añadió dicloruro de 1,1'-bis-difenilfosfina ferroceno paladio (II) (24 mg, 0,03 mmol) y la mezcla de reacción se calentó a 80 °C durante 5 h. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con acetato de etilo (20 ml). La capa orgánica se lavó con bicarbonato sódico saturado (20 ml) y salmuera (20 ml). La capa orgánica se secó con sulfato sódico, se filtró y se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (heptano:acetato de etilo, 0-40 %) para obtener una mezcla en bruto de material de partida y producto. La mezcla se purificó usando cromatografía en columna de fase inversa para obtener el compuesto del título en forma de un aceite transparente (50 mg, 21 %).

ESI-MS m/z: 234 (M+H)⁺.

25

Preparación de 8-(4-amino-3-metil-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo

Se preparó 8-(4-amino-3-metil)-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo de acuerdo con el Procedimiento General A a partir de 8-cloro-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo (50 mg, 0,17 mmol) y 4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-anilina (52 mg, 0,22 mmol). La purificación por cromatografía ultrarrápida en columna sobre sílice (DCM:MeOH) (1:0 a 9:1) proporcionó el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (31 mg, 50 %).

ESI-MS m/z: 363 (M+H)⁺.

35

Preparación del compuesto 31 Ácido 8-(4-amino-3-metil-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico

Se preparó ácido 8-(4-Amino-3-metil-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico de acuerdo con el Procedimiento General B a partir de 8-(4-amino-3-metil-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo (31 mg, 0,09 mmol) para proporcionar el compuesto del título compuesto 31 en forma de un sólido de color amarillo (19 mg, 60 %).

ESI-MS m/z: 349 (M+H)⁺; 1H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 13,99 (s, 1 H), 9,16-9,25 (m, 1 H), 8,21-8,34 (m, 1 H), 7,52-7,54 (m, 2 H), 7,16-7,20 (m, 1 H), 6,76 (d, J = 8,1 Hz, 1 H), 5,43 (s, 2 H), 2,99 (s, 3 H), 2,89 (s, 3 H), 2,40-2,50 (m, 1 H), 1,03-1,07 (m, 2 H), 0,70-0,75 (m, 2 H).

Preparación del compuesto 33

Preparación de 8-(6-amino-piridin-3-il)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo

50

Se preparó 8-(6-amino-piridin-3-il)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo de acuerdo con el Procedimiento General A a partir de 8-cloro-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo (100 mg, 0,34 mmol) y 5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-piridin-2-amina (113 mg, 0,51 mmol). La purificación por cromatografía ultrarrápida en columna sobre sílice (DCM:MeOH) (1:0 a 94:6) proporcionó el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (135 mg, 100 %).

ESI-MS m/z: 350 (M+H)⁺.

Preparación del compuesto 33 Ácido 8-(6-amino-piridin-3-il)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico

Se preparó ácido 8-(6-Amino-piridin-3-il)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico de acuerdo con el Procedimiento General B a partir de 8-(6-amino-piridin-3-il)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo (61 mg, 0,17 mmol) para proporcionar el compuesto del título 33 en forma de un sólido de color amarillo (34 mg, 60 %).

ESI-MS m/z: 336 (M+H)⁺; 1H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 9,20 (d, J = 7,6 Hz, 1 H), 8,47 (s, 1 H), 8,33 (s, 1 H), 8,12 (s, 1 H), 7,60 (dd, J = 2,3 Hz, J = 8,6 Hz, 1 H), 8,29 (d, J = 6,6 Hz, 1 H), 6,59 (d, J = 8,8 Hz, 1 H), 6,39 (s, 2 H), 2,84 (s, 3 H), 2,50-2,60 (m, 1 H), 1,23 (s, 2 H), 1,03-1,07 (m, 4 H) 0,70-0,72 (m, 2 H).

10

Preparación del compuesto 33K (sal potásica del compuesto 33) 8-(6-amino-piridin-3-il)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de potasio

Se preparó 8-(6-amino-piridin-3-il)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de potasio de acuerdo con el Procedimiento General D a partir de ácido 8-(6-amino-piridin-3-il)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico (510 mg, 1,52 mmol) para proporcionar la sal K del compuesto 33 en forma de un sólido de color amarillo (564 mg, 99 %).

ESI-MS m/z: 336 (M-K+H)⁺.

20

Preparación del compuesto 37

Preparación de 8-(4-(dimetilamino)-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo

25 Se preparó 8-(4-(dimetilamino)-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo de acuerdo con el Procedimiento General A a partir de 8-cloro-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo (77 mg, 0,26 mmol) y ácido (4-(dimetilamino)-fenil)-borónico (56 mg, 0,34 mmol). La purificación por cromatografía ultrarrápida en columna sobre sílice (DCM:MeOH) (1:0 a 94:6) proporcionó el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (39 mg, 31 %).

30

ESI-MS m/z: 377 (M+H)⁺.

Preparación del compuesto 37 Ácido 8-(4-(dimetilamino)-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico

35 Se preparó ácido 8-(4-(Dimetilamino)-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico de acuerdo con el Procedimiento General B a partir de 8-(4-(dimetilamino)-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo (34 mg, 0,09 mmol) para proporcionar el compuesto del título compuesto 37 en forma de un sólido de color amarillo (5,1 mg, 15 %).

40 ESI-MS m/z: 363 (M+H)⁺; 1H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 9,10-9,20 (m, 1 H), 8,44 (s, 1 H), 7,20-7,40 (m, 3 H), 6,80-6,85 (m, 2 H), 2,88 (s, 6 H), 2,82 (s, 3 H), 2,50-2,60 (m, 1 H), 0,98-1,05 (m, 1 H), 0,65-0,70 (m, 1 H).

Preparación del compuesto 43

45 Preparación de 8-(4-amino-2,5-difluoro-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de etilo

Se añadieron 8-cloro-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de etilo (100 mg, 0,32 mmol), 2,5-difluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-anilina (667 mg, 2,06 mmol), triciclohexilfosfina (105 mg, 0,41 mmol) y fluoruro de cesio (482 mg, 3,2 mmol) a ACN (5 ml). La mezcla de reacción se desgasificó con argón.

50 Se añadió acetato de paladio (II) (24 mg, 0,11 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 85 °C durante 2 h. La mezcla de reacción se enfrió y se evaporó al vacío. La purificación por cromatografía ultrarrápida en columna sobre sílice (DCM:MeOH) (1:0 a 9:1) proporcionó el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (100 mg, 35 %).

55 ESI-MS m/z: 403 (M+H)⁺.

Preparación del compuesto 43 Ácido 8-(4-amino-2,5-difluoro-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico

Se preparó ácido 8-(4-Amino-2,5-difluoro-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizín-3-carboxílico de acuerdo con el Procedimiento General B a partir de 8-(4-amino-2,5-difluoro-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizín-3-carboxilato de etilo (100 mg, 0,24 mmol). El compuesto se purificó usando LCMS preparativa y se secó al vacío para proporcionar el compuesto del título 43 en forma de un sólido de color amarillo (11 mg, 12 %).

5

ESI-MS m/z: 389 (M+H)⁺; 1H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 14,0 (s a, 1 H), 9,30 (d, J = 4,3 Hz, 1 H), 8,26 (s, 1 H), 7,25 (c, J = 6,6 Hz, 1 H), 6,72 (t, J = 7,6 Hz, 1 H), 6,02 (s, 2 H), 2,84 (s, 3 H), 2,50-2,60 (m, 1 H), 0,98-1,12 (m, 2 H), 0,63-0,83 (m, 2 H).

10 Preparación del compuesto 44

Preparación de 2,6-difluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-anilina

Se disolvieron acetato potásico (7,08 g, 72 mmol), 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametil-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolano) (6,7 g, 26 mmol) y 4-bromo-2,6-difluoroanilina (5 g, 24 mmol) en DMSO (30 ml), seguido de la adición de dicloruro de 1'-Bis-difenilfosfina ferroceno paladio (II) (0,53 g, 0,7 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 80 °C durante 16 h. La mezcla de reacción se diluyó en acetato de etilo (150 ml) y se lavó con bicarbonato sódico saturado y salmuera (2 x 100 ml). La capa orgánica se recogió, se secó sobre sulfato sódico y se secó al vacío. La purificación por cromatografía ultrarrápida en columna sobre sílice (hexano:acetato de etilo, 3:2) proporcionó el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco (4,5 g, 73 %).

20

ESI-MS m/z: 256 (M+H)⁺; 1H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ ppm: 7,20-7,30 (m, 2 H), 3,93 (s a, 2 H), 1,32 (s, 12 H).

Preparación de 8-(4-amino-3,6-difluoro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizín-3-carboxilato de metilo

25

Se preparó 8-(4-amino-3,6-difluoro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizín-3-carboxilato de metilo de acuerdo con el Procedimiento General A a partir de 8-cloro-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizín-3-carboxilato de metilo (500 mg, 1,71 mmol) y 2,6-difluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-anilina (667 mg, 2,06 mmol). La purificación por cromatografía ultrarrápida en columna sobre sílice (DCM:MeOH) (1:0 a 9:1) proporcionó el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (1140 mg, 86 %).

30

ESI-MS m/z: 423 (M+K)⁺, 407 (M+Na)⁺, 385 (M+H)⁺.

Preparación del compuesto 44 Ácido 8-(4-amino-3,5-difluoro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizín-3-carboxílico

35

Se preparó ácido 8-(4-Amino-3,5-difluoro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizín-3-carboxílico de acuerdo con el Procedimiento General B a partir de 8-(4-amino-3,6-difluoro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizín-3-carboxilato de metilo (1140 mg, 3,0 mmol) para proporcionar el compuesto del título compuesto 44 en forma de un sólido de color amarillo (916 mg, 97 %).

40

ESI-MS m/z: 371 (M+H)⁺; 1H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 14,08 (s, 1 H), 9,26 (d, J = 7,3 Hz, 1 H), 8,22 (s, 1 H), 7,59 (d, J = 7,6 Hz, 1 H), 7,25 (d, J = 7,3 Hz, 2 H), 5,80 (s, 2 H), 2,89-2,91 (m, 3 H), 2,40-2,60 (m, 1 H), 1,07-1,09 (m, 2 H), 0,77-0,79 (m, 2 H).

45

Preparación del compuesto 44K (sal potásica del compuesto 44) 8-(4-amino-3,5-difluoro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizín-3-carboxilato de potasio

Se preparó 8-(4-amino-3,5-difluoro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizín-3-carboxilato de potasio de acuerdo con el Procedimiento General D a partir de ácido 8-(4-amino-3,5-difluorofenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizín-3-carboxílico (300 mg, 0,81 mmol) para proporcionar la sal K del compuesto 44 en forma de un sólido de color amarillo (335 mg, 100 %).

50

ESI-MS m/z: 371 (M-K+H)⁺.

55

Preparación del compuesto 57

Preparación de 8-(2-aminopirimidin-5-il)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizín-3-carboxilato de metilo

Se preparó 8-(2-aminopirimidin-5-il)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo de acuerdo con el Procedimiento General A a partir de 8-cloro-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo (100 mg, 0,34 mmol) y 5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)pirimidin-2-amina (90,8 mg, 0,41 mmol). La purificación por cromatografía ultrarrápida en columna sobre sílice (DCM:MeOH) (1:0 a 9:1) proporcionó el compuesto del título 5 en forma de un sólido de color amarillo (96 mg, 80 %).

ESI-MS m/z: 351 (M+H)⁺; 349 (M-H)⁻.

Preparación del compuesto 57 Ácido 8-(2-aminopirimidin-5-il)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico

10

Se preparó ácido 8-(2-Aminopirimidin-5-il)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico de acuerdo con el Procedimiento General B a partir de 8-(2-aminopirimidin-5-il)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo (96 mg, 0,27 mmol). La purificación por HPLC preparativa proporcionó el compuesto 57 en forma de un sólido de color amarillo (10,8 mg, 11 %).

15

ESI-MS m/z: 337 (M+H)⁺; 335 (M-H)⁻; 1H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 9,29 (d, *J* = 7,6 Hz, 1 H), 8,54 (s, 2 H), 8,50 (s, 1 H), 8,23 (s, 1 H), 7,64 (d, *J* = 7,4 Hz, 1 H), 7,22 (s, 2 H), 2,91 (s, 3 H), 2,40-2,60 (m, 1 H), 1,07-1,09 (m, 2 H), 0,76-0,78 (m, 2 H).

20 Preparación del compuesto 60

Preparación de 8-(6-aminopiridin-3-il)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo

Se preparó 8-(6-aminopiridin-3-il)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de etilo de acuerdo con el Procedimiento General A a partir de 8-cloro-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de etilo (100 mg, 0,34 mmol) y 5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridin-2-amina (93,7 mg, 0,43 mmol). La purificación por cromatografía ultrarrápida en columna sobre sílice (DCM:MeOH) (1:0 a 9:1) proporcionó cuantitativamente el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo.

30 ESI-MS m/z: 382 (M+H)⁺.

Preparación del compuesto 60 Ácido 8-(6-aminopiridin-3-il)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico

35 Se preparó ácido 8-(6-Aminopiridin-3-il)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico de acuerdo con el Procedimiento General B a partir de 8-(6-aminopiridin-3-il)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de etilo (0,32 mmol) para proporcionar el compuesto 60 en forma de un sólido de color amarillo (81 mg, 72 % en dos etapas).

40 ESI-MS m/z: 354 (M+H)⁺, 352 (M-H)⁻; 1H RMN (400 MHz, DMSO) δ ppm 13,94 (s, 1 H), 9,34 (d, *J* = 5,8 Hz, 1 H), 8,24 (s, 1 H), 8,12 (s, 1 H), 7,68 (d, *J* = 8,8 Hz, 1 H), 7,10 (s, 2 H), 6,79 (d, *J* = 8,8 Hz, 1 H), 2,87 (s, 3 H), 2,40-2,60 (m, 1 H), 1,06-1,08 (m, 2 H), 0,78-0,80 (m, 2 H).

Preparación del compuesto 60K (sal potásica del compuesto 60) 8-(6-aminopiridin-3-il)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de potasio

50 Se preparó 8-(6-aminopiridin-3-il)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de potasio de acuerdo con el Procedimiento General D a partir de ácido 8-(6-aminopiridin-3-il)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico (81,0 mg, 0,23 mmol) para proporcionar la sal K del compuesto 60 en forma de un sólido de color amarillo (70,4 mg, 73 %).

ESI-MS m/z: 354 (M-K+H)⁺, 352 (M-K-H)⁻.

Preparación del compuesto 69

55

Preparación de N,2-dimetil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)anilina

Se preparó N,2-dimetil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)anilina de acuerdo con el Procedimiento General G con 4-bromo-N,2-dimetilanilina y bis(pinacolato)diboro. La purificación por cromatografía ultrarrápida en columna

sobre sílice (heptano:acetato de etilo) (1:0 a 1:1) seguido de recristalización en DCM y heptano proporcionó el compuesto del título en forma de un sólido de color blanquecino (104 mg, 17 %).

ESI-MS m/z: 248 (M+H)⁺; 1H RMN (400 MHz, DMSO) δ ppm 7,63 (dd, *J* = 8,1 Hz, *J* = 1,0 Hz, 1 H), 7,50 (s, 1 H), 6,58 (d, *J* = 8,1 Hz, 1 H), 3,83 (s a, 1 H), 2,91 (s, 3 H), 2,12 (s, 3 H), 1,32 (s, 12 H).

Preparación de 8-(3-metil-4-(metilamino)fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo

Se preparó 8-(3-metil-4-(metilamino)fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo de acuerdo con el Procedimiento General A a partir de 8-cloro-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo (100 mg, 0,34 mmol) y N,2-dimetil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)anilina (101,5 mg, 0,41 mmol). El residuo se aclaró con DCM y se secó en una estufa de vacío para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (50 mg, 39 %).

15 ESI-MS m/z: 377 (M+H)⁺, 375 (M-H)⁻.

Preparación del compuesto 69 Ácido 8-(3-metil-4-(metilamino)fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico

20 Se preparó ácido 8-(3-Metil-4-(metilamino)fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico de acuerdo con el Procedimiento General B a partir de 8-(3-metil-4-(metilamino)fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo (50 mg, 0,13 mmol) para proporcionar el compuesto 69 en forma de un sólido de color amarillo (44,3 mg, 92 %).

25 ESI-MS m/z: 363 (M+H)⁺, 361 (M-H)⁻; 1H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 14,15 (s, 1 H), 9,27 (d, *J* = 7,3 Hz, 1 H), 8,19 (s, 1 H), 7,60 (d, *J* = 7,3 Hz, 1 H), 7,34 (d, *J* = 7,8 Hz, 1 H), 7,26 (s, 1 H), 6,64 (d, *J* = 8,3 Hz, 1 H), 6,62-6,65 (m, 1 H), 2,91 (s, 3 H), 2,82 (d, *J* = 4,8 Hz, 3 H), 2,40-2,60 (m, 1 H), 2,17 (s, 3 H), 1,05-1,10 (m, 2 H), 0,74-0,78 (m, 2 H).

Preparación del compuesto 69K (sal potásica del compuesto 69) 8-(3-metil-4-(metilamino)fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de potasio

Se preparó 8-(3-metil-4-(metilamino)fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de potasio de acuerdo con el Procedimiento General D a partir de ácido 8-(3-metil-4-(metilamino)fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico (41,0 mg, 0,11 mmol) para proporcionar la sal K del compuesto 69 en forma de un sólido de color amarillo (44,3 mg, 97 %).

ESI-MS m/z: 363 (M-K+H)⁺, 361 (M-K-H)⁻.

Preparación del compuesto 72

40 Preparación de 5-bromo-2-hidroxibencilcarbamato de *tert*-butilo

Se preparó 5-bromo-2-hidroxibencilcarbamato de *tert*-butilo de acuerdo con el Procedimiento General E a partir de 5-bromo-2-hidroxibenzonitrilo (1 g, 5,05 mmol). La purificación por cromatografía ultrarrápida en columna sobre sílice (heptano:acetato de etilo) (1:0 a 4:1) proporcionó el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco (376 mg, 19 %).

ESI-MS m/z: isotópico 302 y 300 (M+H)⁺.

50 Preparación de 2-hidroxi-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)bencilcarbamato de *tert*-butilo Se preparó 2-hidroxi-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)bencilcarbamato de *tert*-butilo de acuerdo con el Procedimiento General G a partir de 5-bromo-2-hidroxibencilcarbamato de *tert*-butilo (376 mg, 1,24 mmol). La purificación por cromatografía ultrarrápida en columna sobre sílice (heptano:acetato de etilo) (1:0 a 9:1) proporcionó el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco (96 mg, 21 %).

55 SI-MS m/z: 348 (M-H)⁻; 1H RMN (400 MHz, DMSO) δ ppm 9,30 (s, 1 H), 7,67 (dd, *J* = 8,1 Hz, *J* = 1,3 Hz, 1 H), 7,53 (d, *J* = 1,5 Hz, 1 H), 6,94 (d, *J* = 8,1 Hz, 1 H), 5,23-5,26 (m, 1 H), 4,23 (d, *J* = 6,8 Hz, 2 H), 1,43 (s, 9 H), 1,33 (s, 12 H).

Preparación de 8-(3-(((*tert*-butoxicarbonil)amino)metil)-4-hidroxifenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo

Se preparó 8-(3-(((*tert*-butoxicarbonil)amino)metil)-4-hidroxifenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo de acuerdo con el Procedimiento General A a partir de 8-cloro-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato (65 mg, 0,22 mmol) y *tert*-butil 2-hidroxi-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)bencilcarbamato de metilo (93,3 mg, 0,27 mmol). La purificación por cromatografía ultrarrápida en columna sobre sílice (DCM:MeOH) (1:0 a 9:1) proporcionó el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (85 mg, 100 %).

ESI-MS m/z: 479 (M+H)⁺, 477 (M-H)⁻.

Preparación de ácido 8-(3-(((*tert*-butoxicarbonilamino)metil)-4-hidroxifenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico

Se preparó ácido 8-(3-(((*tert*-Butoxicarbonilamino)metil)-4-hidroxifenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico de acuerdo con el Procedimiento General B a partir de 8-(3-(((*tert*-butoxicarbonil)amino)metil)-4-hidroxifenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo (85 mg, 0,22 mmol) para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (27 mg, 27 %).

ESI-MS m/z: 465 (M+H)⁺, 463 (M-H)⁻.

Preparación del compuesto 72HCl (sal clorhídrica del compuesto 72) Clorhidrato de ácido 8-(3-(aminometil)-4-hidroxifenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico

Se preparó clorhidrato del ácido 8-(3-(Aminometil)-4-hidroxifenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico de acuerdo con el Procedimiento General C a partir de ácido 8-(3-(((*tert*-butoxicarbonilamino)metil)-4-hidroxifenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico (27,0 mg, 0,06 mmol) para proporcionar la sal HCl del compuesto 72 en forma de un sólido de color amarillo (23,4 mg, 97 %).

ESI-MS m/z: 365 (M+H)⁺, 363 (M-H); ¹H RMN (400 MHz, MeOD-d₆) δ ppm 9,40 (s, 1 H), 8,42 (s, 1 H), 7,40-7,65 (m, 3 H), 7,11 (d, J = 7,8 Hz, 1 H), 4,22 (s, 2 H), 2,96 (s, 3 H), 2,45-2,60 (m, 1 H), 1,05-1,20 (m, 2 H), 0,75-0,90 (m, 2 H).

Preparación del compuesto 72K (sal potásica del compuesto 72) 8-(3-(aminometil)-4-hidroxifenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de potasio

Se preparó 8-(3-(aminometil)-4-hidroxifenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de potasio de acuerdo con el Procedimiento General D a partir de clorhidrato del ácido 8-(3-(aminometil)-4-hidroxifenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico (23,4 mg, 0,06 mmol) para proporcionar la sal K del compuesto 72 en forma de un sólido de color amarillo (21,2 mg, 88 %).

ESI-MS m/z: 365 (M-K+H)⁺, 363 (M-K-H)⁻.

Preparación del compuesto 76

Preparación de N-[4-bromo-2-(((*tert*-butoxicarbonilamino)-metil)-fenil]carbamato de *tert*-butilo

Se preparó N-[4-bromo-2-(((*tert*-butoxicarbonilamino)-metil)-fenil]carbamato de *tert*-butilo de acuerdo con el Procedimiento General E a partir de 2-amino-5-bromo-benzonitrilo (1,045 g, 5,30 mmol). La purificación por cromatografía ultrarrápida en columna sobre sílice (heptano:acetato de etilo) (1:0 a 9:1) proporcionó el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (1,834 g, 84 %).

ESI-MS m/z: isotópico 401 y 399 (M+H)⁺; ¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ ppm 8,21 (s a, 1 H), 7,95 (d, J = 7,8 Hz, 1 H), 7,37 (dd, J = 8,8 Hz, J = 2,3 Hz, 1 H), 7,26 (d, J = 2,3 Hz, 1 H), 5,00 (s a, 1 H), 4,22 (d, J = 6,6 Hz, 1 H), 1,53 (s, 9 H), 1,46 (s, 9 H).

Preparación de N-[2-(((*tert*-butoxicarbonilamino)metil)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]carbamato de *tert*-butilo

Se preparó N-[2-[(*tert*-butoxicarbonilamino)metil]-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]-carbamato de *tert*-butilo de acuerdo con el Procedimiento General G a partir de N-[4-bromo-2-[(*tert*-butoxicarbonilamino)-metil]-fenil]-carbamato de *tert*-butilo (780 mg, 1,94 mmol). La purificación por cromatografía ultrarrápida en columna sobre sílice (heptano:acetato de etilo) (1:0 a 9:1) proporcionó el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco
5 (314 mg, 30 %).

ESI-MS m/z: 449 (M+H)⁺, 447 (M-H)⁻; 1H RMN (400 MHz, DMSO) δ ppm 8,39 (s a, 1 H), 8,16 (d, J = 8,1 Hz, 1 H), 7,72 (dd, J = 8,3 Hz, J = 1,2 Hz, 1 H), 7,55 (s, 1 H), 4,85-5,00 (m, 1 H), 4,28 (d, J = 6,3 Hz, 2 H), 1,52 (s, 9 H), 1,46 (s, 9 H), 1,33 (s, 12 H).

10

Preparación de 8-(4-(*tert*-butoxicarbonil)amino)-3-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-metil)-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo

Se preparó 8-(4-(*tert*-butoxicarbonil)amino)-3-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-metil)-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo de acuerdo con el Procedimiento General A' a partir de 8-cloro-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo (95 mg, 0,33 mmol) y N-[2-[(*tert*-butoxicarbonilamino)metil]-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]-carbamato de *tert*-butilo (175 mg, 0,39 mmol). La purificación por cromatografía ultrarrápida en columna sobre sílice (DCM:MeOH) (1:0 a 9:1) proporcionó el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (176 mg, 94 %).

20

ESI-MS m/z: 578 (M+H)⁺.

Preparación de ácido 8-(4-(*tert*-butoxicarbonilamino)-3-((*tert*-butoxicarbonilamino)-metil)-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico

25

Se preparó ácido 8-(4-(*tert*-Butoxicarbonilamino)-3-((*tert*-butoxicarbonilamino)-metil)-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico de acuerdo con el Procedimiento General B a partir de 8-(4-(*tert*-butoxicarbonil)amino)-3-((*tert*-butoxicarbonil)-amino)metil)-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo (176 mg, 0,30 mmol) para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color
30 amarillo (123 mg, 84 %).

ESI-MS m/z: 564 (M+H)⁺, 562 (M-H).

Preparación del compuesto 76HCl (sal clorhídrica del compuesto 76) clorhidrato del ácido 8-(4-amino-3-aminometil)fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico
35

Se preparó clorhidrato del ácido 8-(4-Amino-3-(aminometil)fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico de acuerdo con el Procedimiento General C a partir de ácido 8-(4-(*tert*-butoxicarbonilamino)-3-((*tert*-butoxicarbonilamino)metil)-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico (123,0 mg, 0,22 mmol) para proporcionar la sal HCl del compuesto 76 en forma de un sólido de color amarillo (54,7 mg, 60 %).

40

ESI-MS m/z: 364 (M+H)⁺, 362 (M-H)⁻; 1H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 9,31 (d, J = 7,3 Hz, 1 H), 8,31 (s, 3 H), 8,22 (s, 1 H), 7,60 (d, J = 7,6 Hz, 1 H), 7,53 (d, J = 1,8 Hz, 1 H), 7,41 (dd, J = 8,3 Hz, J = 1,8 Hz, 1 H), 6,95 (d, J = 8,3 Hz, 1 H), 4,04 (s, 2 H), 2,92 (s, 3 H), 2,40-2,57 (m, 1 H), 1,06-1,11 (m, 2 H), 0,75-0,78 (m, 2 H).

45

Preparación del compuesto 76K (sal potásica del compuesto 76) 8-(4-amino-3-(aminometil)fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de potasio

Se preparó 8-(4-amino-3-(aminometil)fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de potasio de acuerdo con el Procedimiento General D a partir de clorhidrato del ácido 8-(4-amino-3-(aminometil)fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico (51,7 mg, 0,13 mmol) para proporcionar la sal K del compuesto 76 en forma de un sólido de color amarillo (47,9 mg, 86 %).

50

ESI-MS m/z: 364 (M-K+H)⁺, 362 (M-K-H)⁻.

55

Preparación del compuesto 78

Preparación de 8-(6-(metilamino)piridin-3-il)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo

Se preparó 8-(6-(metilamino)piridin-3-il)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo de acuerdo con el Procedimiento General A a partir de 8-cloro-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo (100 mg, 0,34 mmol) y N-metil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3-dioxolan-2-il)piridin-2-amina (96,2 mg, 0,41 mmol). La purificación por cromatografía ultrarrápida en columna sobre sílice (DCM:MeOH) (1:0 a 9:1) proporcionó el 5 compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (131,6 mg, 96 %).

ESI-MS m/z: 364 (M+H)⁺.

Preparación del compuesto 78 Ácido 8-(6-(metilamino)piridin-3-il)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-
10 carboxílico

Se preparó ácido 8-(6-(Metilamino)piridin-3-il)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico de acuerdo con el Procedimiento General B a partir de 8-(6-(metilamino)piridin-3-il)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-
15 carboxilato de metilo (131,6 mg, 0,33 mmol) para proporcionar el compuesto 78 en forma de un sólido de color amarillo (39,5 mg, 31 %).

ESI-MS m/z: 350 (M+H)⁺, 348 (M-H)⁻; 1H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 14,01 (s, 1 H), 9,33 (d, J = 7,3 Hz, 1 H), 8,85 (s, 1 H), 8,26 (s, 1 H), 8,20 (s, 1 H), 8,01 (d, J = 9,3 Hz, 1 H), 7,61 (d, J = 7,3 Hz, 1 H), 7,11 (d, J = 9,1 Hz, 1 H), 3,01 (s, 3 H), 2,89 (s, 3 H), 2,50-2,58 (m, 1 H), 1,06-1,10 (m, 2 H), 0,78-0,82 (m, 2 H).
20

Preparación del compuesto 78K (sal potásica del compuesto 78) 8-(6-(metilamino)piridin-3-il)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de potasio

Se preparó 8-(6-(metilamino)piridin-3-il)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de potasio de acuerdo con el Procedimiento General D a partir de ácido 8-(6-(metilamino)piridin-3-il)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-
25 quinolizin-3-carboxílico (38,2 mg, 0,11 mmol) para proporcionar la sal K del compuesto 78 en forma de un sólido de color amarillo (37,9 mg, 89 %).

ESI-MS m/z: 350 (M-K+H)⁺, 348 (M-K-H)⁻.
30

Preparación del compuesto 79

Preparación de 8-(6-amino-5-metilpiridin-3-il)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo

Se preparó 8-(6-amino-5-metilpiridin-3-il)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo de acuerdo con el Procedimiento General A a partir de 8-cloro-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo (100 mg, 0,34 mmol) y 3-metil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridin-2-amina (96,2 mg, 0,41 mmol). La purificación por cromatografía ultrarrápida en columna sobre sílice (DCM:MeOH) (1:0 a 9:1) proporcionó cuantitativamente el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo.
40

ESI-MS m/z: 364 (M+H)⁺.

Preparación del compuesto 79 Ácido 8-(6-amino-5-metilpiridin-3-il)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-
45 carboxílico

Se preparó ácido 8-(6-Amino-5-metilpiridin-3-il)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico de acuerdo con el Procedimiento General B a partir de 8-(6-amino-5-metilpiridin-3-il)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-
50 carboxilato de metilo (0,34 mmol) para proporcionar el compuesto 79 en forma de un sólido de color amarillo (75 mg, 57 % en dos etapas).

ESI-MS m/z: 350 (M+H)⁺, 348 (M-H)⁻; 1H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 14,13 (s, 1 H), 9,28 (d, J = 7,0 Hz, 1 H), 8,21 (s, 1 H), 8,07 (s, 1 H), 7,60 (d, J = 6,8 Hz, 1 H), 7,54 (s, 1 H), 6,33 (s, 2 H), 2,91 (s, 3 H), 2,40-2,60 (m, 1 H), 2,14 (s, 3 H), 1,06-1,09 (m, 2 H), 0,72-0,80 (m, 2 H).

Preparación del compuesto 79K (sal potásica del compuesto 79) 8-(6-amino-5-metilpiridin-3-il)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de potasio
55

Se preparó 8-(6-amino-5-metilpiridin-3-il)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de potasio de acuerdo con el Procedimiento General D a partir de ácido 8-(6-amino-5-metilpiridin-3-il)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-

4H-quinolizin-3-carboxílico (71,2 mg, 0,20 mmol) para proporcionar la sal K del compuesto 79 en forma de un sólido de color amarillo (81,1 mg, 100 %).

ESI-MS m/z: 350 (M-K+H)⁺.

5

Preparación del compuesto 87

Preparación de 8-(6-amino-piridin-3-il)-1-ciclopropil-7,9-dimetil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo

10 Se preparó 8-(6-amino-piridin-3-il)-1-ciclopropil-7,9-dimetil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo de acuerdo con el Procedimiento General A a partir de 8-cloro-1-ciclopropil-7,9-dimetil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo (50 mg, 0,16 mmol) y pinacol éster del ácido 2-amino-piridin-5-borónico (43 mg, 0,20 mmol). La purificación por cromatografía ultrarrápida en columna sobre sílice (DCM:MeOH) (1:0 a 25:4) proporcionó el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (44 mg, 69 %).

15

ESI-MS m/z: 3864 (M+H)⁺.

Preparación del compuesto 87 Ácido 8-(6-amino-piridin-3-il)-1-ciclopropil-7,9-dimetil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico

20

Se preparó ácido 8-(6-Amino-piridin-3-il)-1-ciclopropil-7,9-dimetil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico de acuerdo con el Procedimiento General B a partir de 8-(6-amino-piridin-3-il)-1-ciclopropil-7,9-dimetil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato (44 mg, 0,12 mmol) para proporcionar el compuesto 87 en forma de un sólido de color amarillo (19 mg, 41 %).

25 ESI-MS m/z: 350 (M+H)⁺; 1H RMN (400 MHz DMSO-d₆) δ ppm 14,2 (s a, 1 H), 9,26 (s, 1 H), 8,19 (s, 1 H), 7,95 (s, 1 H), 7,45-7,67 (m, 2 H), 7,20 (s a, 2 H), 6,86 (d, J = 8,4 Hz, 1 H), 2,73 (s, 3 H), 2,50-2,60 (m, 1 H), 2,20 (s, 3 H), 0,98-1,12 (m, 2 H), 0,71-0,79 (m, 2 H).

Preparación del compuesto 87K (sal potásica del compuesto 87) 8-(6-amino-piridin-3-il)-1-ciclopropil-7,9-dimetil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de potasio

30

Se preparó 8-(6-amino-piridin-3-il)-1-ciclopropil-7,9-dimetil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de potasio de acuerdo con el Procedimiento General D a partir de ácido 8-(6-amino-piridin-3-il)-1-ciclopropil-7,9-dimetil-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico (29 mg, 0,08 mmol) para proporcionar la sal K del compuesto 87 en forma de un sólido de color amarillo (28 mg, 90 %).

35

ESI-MS m/z: 350 (M-K+H)⁺.

Preparación del compuesto 89

40

Preparación de 8-(6-amino-piridin-3-il)-1-ciclopropil-9-metoxi-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo

Se preparó 8-(6-amino-piridin-3-il)-1-ciclopropil-9-metoxi-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo de acuerdo con el Procedimiento General A a partir de 8-cloro-1-ciclopropil-9-metoxi-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo (50 mg, 0,16 mmol), y pinacol éster del ácido 2-aminopiridin-5-borónico (42,9 mg, 0,20 mmol). La purificación por cromatografía ultrarrápida en columna sobre sílice (DCM:MeOH) (1:0 a 9:1) proporcionó el compuesto del título en forma de un sólido de color naranja (35 mg, 57 %).

45

ESI-MS m/z: 366 (M+H)⁺.

50

Preparación del compuesto 89 Ácido 8-(6-amino-piridin-3-il)-1-ciclopropil-9-metoxi-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico

Se preparó ácido 8-(6-Amino-piridin-3-il)-1-ciclopropil-9-metoxi-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico de acuerdo con el Procedimiento General B a partir de 8-(6-amino-piridin-3-il)-1-ciclopropil-9-metoxi-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de metilo (34 mg, 0,09 mmol) para proporcionar el compuesto 89 en forma de un sólido de color naranja (22,3 mg, 68 %).

55

ESI-MS m/z: 352 (M+H)⁺; 1H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 14,09 (s a, 1 H), 9,29 (d, J = 7,6 Hz, 1 H), 8,51 (d, J = 2 Hz, 1 H), 8,42 (s, 1 H), 7,94 (dd, J = 8,8 Hz, J = 2,5 Hz, 1 H), 7,38 (d, J = 7,3 Hz, 1 H), 6,67 (d, J = 8,8 Hz, 1 H), 4,84

(s a, 2 H), 3,58 (s, 3 H). 2,62-2,70 (m, 1 H), 1,01-1,06 (m, 2 H), 0,81-0,90 (m, 2 H).

Preparación del compuesto 89K (sal potásica del compuesto 89) 8-(6-amino-piridin-3-il)-1-ciclopropil-9-metoxi-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de potasio

5

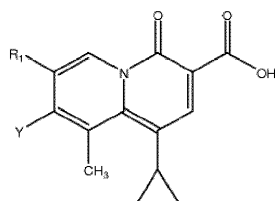
Se preparó 8-(6-amino-piridin-3-il)-1-ciclopropil-9-metoxi-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxilato de potasio de acuerdo con el Procedimiento General D a partir de ácido 8-(6-amino-piridin-3-il)-1-ciclopropil-9-metoxi-4-oxo-4H-quinolizin-3-carboxílico (21,6 mg, 0,06 mmol) para proporcionar la sal K del compuesto 89 en forma de un sólido de color amarillo (22,7 mg, 91 %).

10

ESI-MS m/z: 352 (M-K+H)⁺.

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica que comprende Polimixina B y un compuesto de 4-oxoquinolizina de fórmula IIIc:



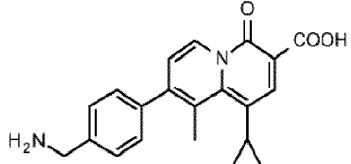
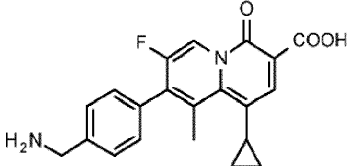
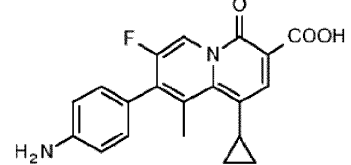
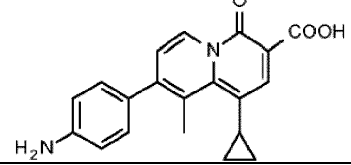
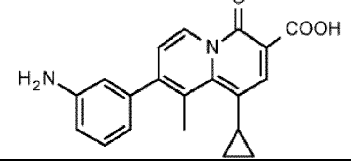
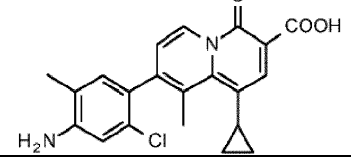
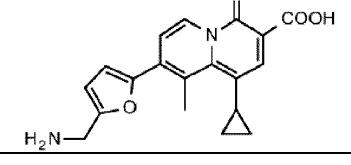
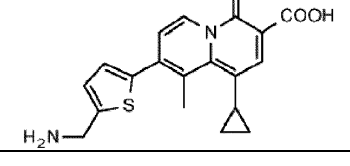
(IIIc)

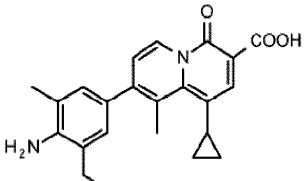
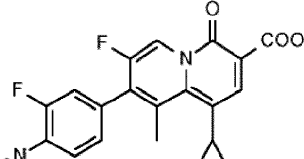
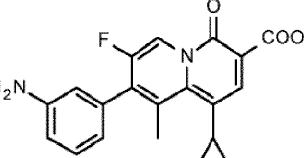
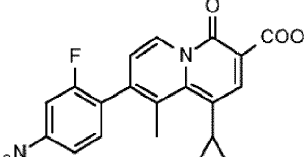
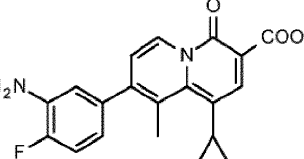
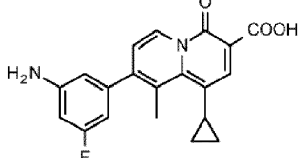
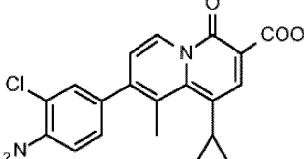
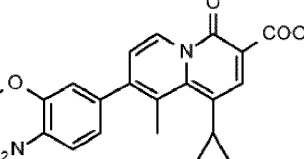
5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que R₁ es hidrógeno, halógeno, ciano, alquilo C₁₋₈, haloalquilo C₁₋₈, -OR^X, -N(R^X)₂, -C(O)R^X, -C(O)OR^X, o -C(O)N(R^X)₂, en la que cada R^X es independientemente hidrógeno, alquilo C₁₋₈, o haloalquilo C₁₋₈; y Y es arilo, o heteroarilo, cada uno sustituido con uno a cinco grupos que son -N(R^{Y1})₂ o -alquil C₁₋₈-R^Y donde R^Y es -N(R^{Y1})₂ y adicionalmente sustituido opcionalmente con uno a cuatro grupos que son cada uno independientemente halógeno, alquilo C₁₋₈, haloalquilo C₁₋₈, cicloalquilo C₃₋₈, heterociclilo, arilo, heteroarilo, cicloalquil C₃₋₈-alquilo (C₁₋₈), heterocicliil-alquilo (C₁₋₈), aril-alquilo (C₁₋₈), heteroaril-alquilo (C₁₋₈), -R^Y, o -alquil C₁₋₈-R^Y, en la que R^Y es nitro, ciano, -OR^{Y1}, -SR^{Y1}, -N(R^{Y1})₂, -C(O)R^{Y1}, -C(O)OR^{Y1}, -C(O)N(R^{Y1})₂, -OC(O)R^{Y1}, -OC(O)OR^{Y1}, -OC(O)N(R^{Y1})₂, -N(R^{Y1})C(O)R^{Y1}, -N(R^{Y1})C(O)OR^{Y1}, -N(R^{Y1})C(O)N(R^{Y1})₂, -S(O)₂R^{Y1}, -S(O)₂OR^{Y1}, -S(O)₂N(R^{Y1})₂, -OS(O)₂R^{Y1}, -OS(O)₂OR^{Y1}, -OS(O)₂N(R^{Y1})₂, -N(R^{Y1})S(O)₂R^{Y1}, -N(R^{Y1})S(O)₂OR^{Y1}, o -N(R^{Y1})S(O)₂N(R^{Y1})₂, en la que cada R^{Y1} es independientemente hidrógeno, alquilo C₁₋₈, o haloalquilo C₁₋₈.

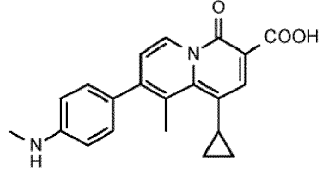
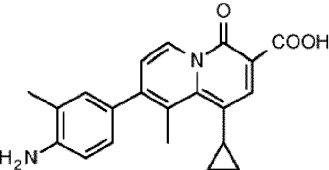
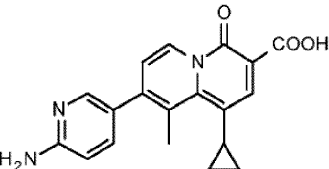
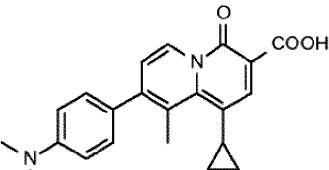
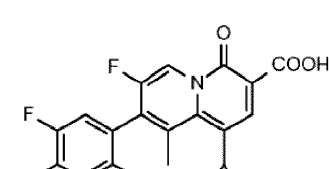
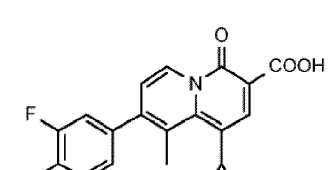
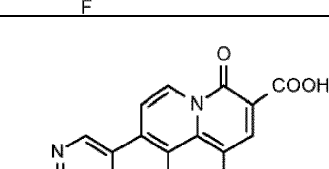
2. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, en la que R₁ es hidrógeno o halógeno.

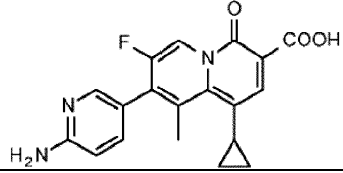
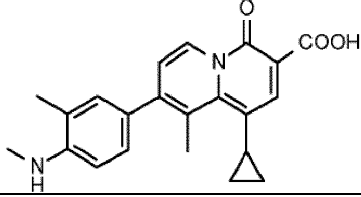
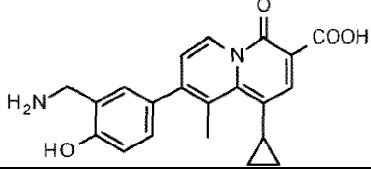
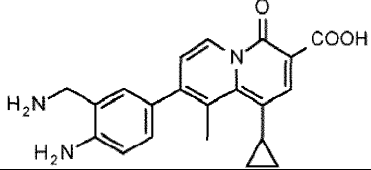
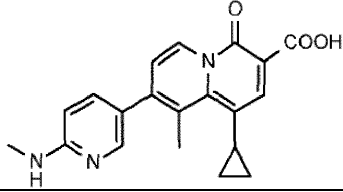
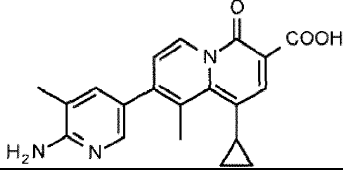
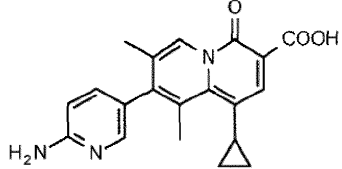
3. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el compuesto de 4-oxoquinolizina se selecciona del grupo que consiste en los compuestos:

<p>Compuesto 1</p>		<p>ácido 8-(3-fluoro-4-amino-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizina-3-carboxílico</p>
<p>Compuesto 2</p>		<p>ácido 8-(3,6-difluoro-4-aminofenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizina-3-carboxílico</p>
<p>Compuesto 3</p>		<p>ácido 8-(3,5-dicloro-4-aminofenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizina-3-carboxílico</p>
<p>Compuesto 4</p>		<p>ácido 8-(3-fluoro-4-aminometilfenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizina-3-carboxílico</p>

Compuesto 5		ácido 8-(4-aminometil-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico
Compuesto 6		ácido 8-(4-aminometil-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico
Compuesto 7		ácido 8-(4-amino-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico
Compuesto 8		ácido 8-(4-amino-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico
Compuesto 9		ácido 8-(3-amino-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico
Compuesto 11		ácido 8-(2-cloro-4-amino-5-metilfenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico
Compuesto 12		ácido 8-[5-aminometil-2-furil]-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico
Compuesto 13		ácido 8-[5-aminometil-2-tienil]-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico

<p>Compuesto 16</p>		<p>ácido 8-(4-amino-3-etil-5-metilfenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico</p>
<p>Compuesto 17</p>		<p>ácido 8-(3-fluoro-4-amino-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico</p>
<p>Compuesto 18</p>		<p>ácido 8-(3-amino-fenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico</p>
<p>Compuesto 20</p>		<p>ácido 8-(2-fluoro-4-amino-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico</p>
<p>Compuesto 21</p>		<p>ácido 8-(3-amino-4-fluoro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico</p>
<p>Compuesto 22</p>		<p>ácido 8-(3-amino-5-fluoro-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico</p>
<p>Compuesto 24</p>		<p>ácido 8-(3-cloro-4-amino-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico</p>
<p>Compuesto 25</p>		<p>ácido 8-(3-metoxi-4-amino-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico</p>

Compuesto 28		ácido 8-(4-metilamino-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico
Compuesto 31		ácido 8-(3-metil-4-amino-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico
Compuesto 33		ácido 8-(6-amino-3-píridil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico
Compuesto 37		ácido 8-(4-dimetilamino-fenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico
Compuesto 43		ácido 8-(2,5-difluoro-4-aminofenil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico
Compuesto 44		ácido 8-(3,5-difluoro-4-aminofenil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico
Compuesto 57		ácido 8-(2-aminopirimidin-5-il)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico

Compuesto 60		ácido 8-(6-amino-3-piridil)-1-ciclopropil-7-fluoro-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico
Compuesto 69		ácido 8-[3-metil-4-(metilamino)fenil]-1-ciclopropil-9-metil-4-oxoquinolizin-3-carboxílico
Compuesto 72		ácido 8-[3-(aminometil)-4-hidroxifenil]-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico
Compuesto 76		ácido 8-[3-(aminometil)-4-amino fenil]-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico
Compuesto 78		ácido 8-[6-(metilamino)-3-piridil]-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico
Compuesto 79		ácido 8-(6-amino-5-metil-3-piridil)-1-ciclopropil-9-metil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico
Compuesto 87		ácido 8-(6-amino-3-piridil)-1-ciclopropil-7,9-dimetil-4-oxo-quinolizin-3-carboxílico

4. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que la Polimixina B está presente en una concentración subinhibitoria.

5. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la composición es para el tratamiento de una infección bacteriana en un individuo que lo necesite.

6. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que la composición es para su uso en el tratamiento de una infección bacteriana en un individuo que lo necesite y dicha infección bacteriana es una infección por una cepa multirresistente.

5

7. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que la composición es para su uso en el tratamiento de una infección bacteriana en un individuo que lo necesite, y dicha infección es una infección por una o más bacterias de un género seleccionado del grupo que consiste en *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Bordetella*, *Borrelia*, *Brucella*, *Camphylobacter*, *Chlamydia*, *Clostridium*, *Corynebacterium*,
10 *Enterococcus*, *Escherichia*, *Fransisella*, *Haemophilus*, *Helicobacter*, *Legionella*, *Leptospira*, *Listeria*, *Mycobacterium*, *Mycoplasma*, *Neisseria*, *Propionibacterium*, *Pseudomonas*, *Rickettsia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Treponema*, *Vibrio* y *Yersinia*.

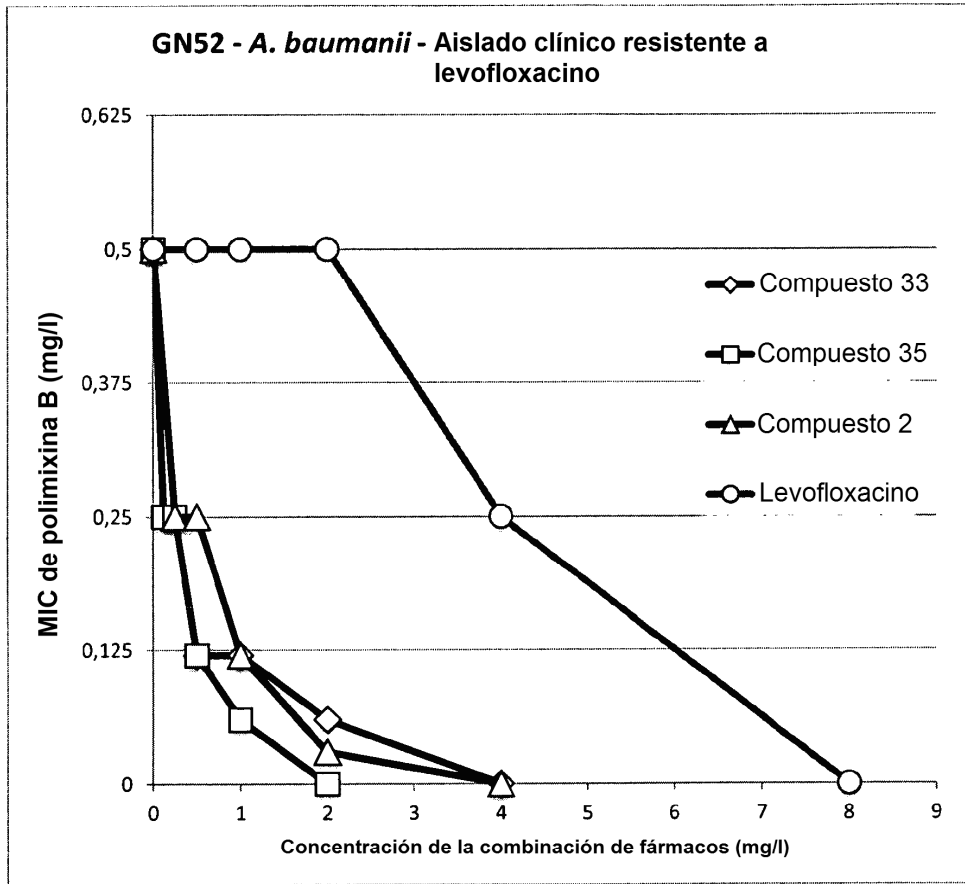


Fig. 1

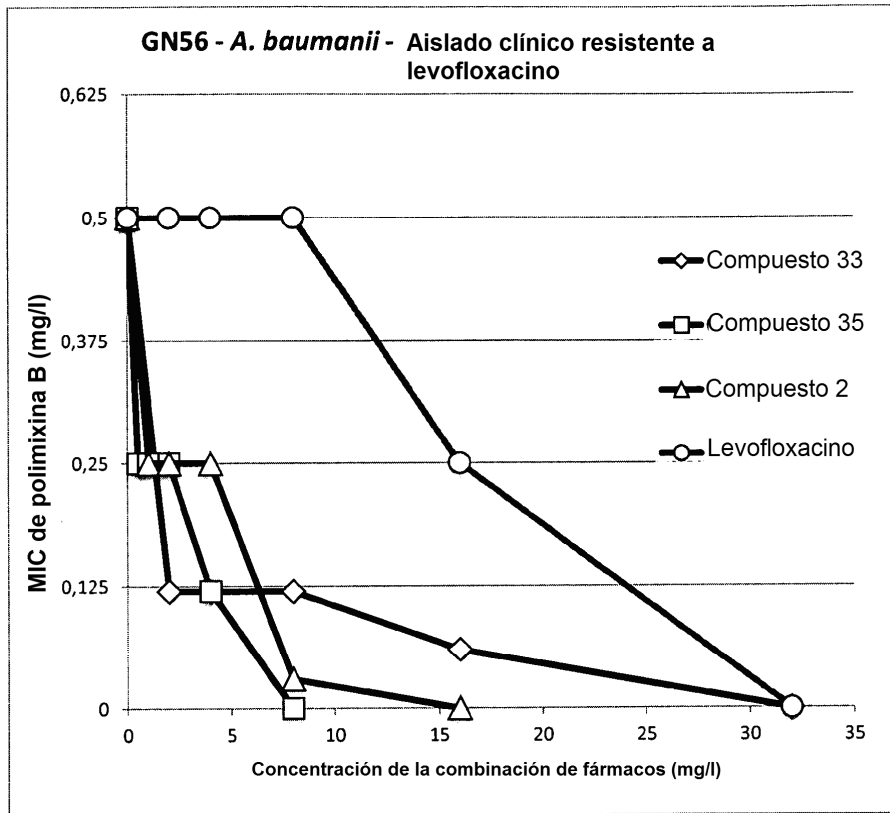


Fig. 2

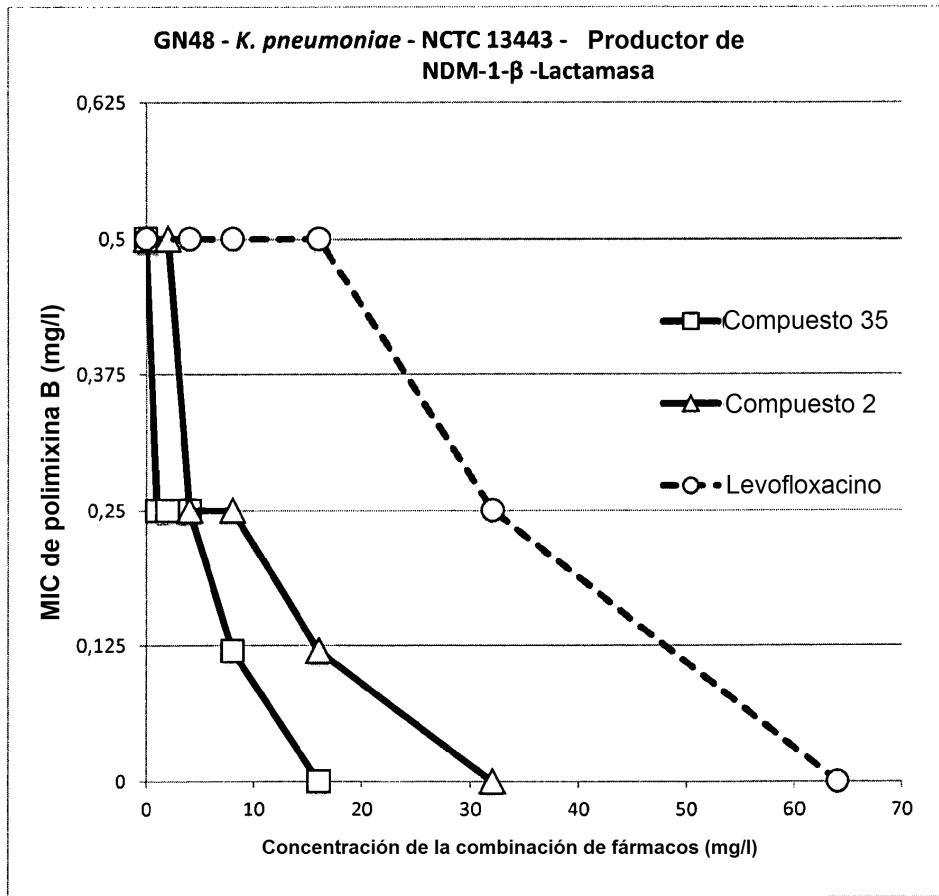
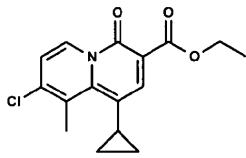
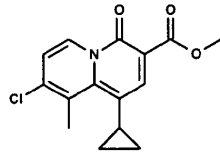


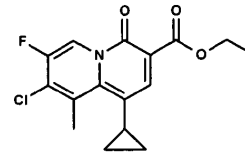
Fig. 3



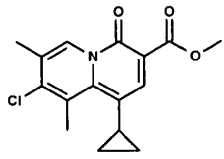
Andamijae A



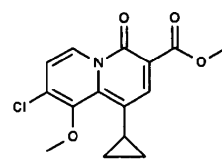
Andamijae B



Andamijae C



Andamijae D



Andamijae E

Fig. 4

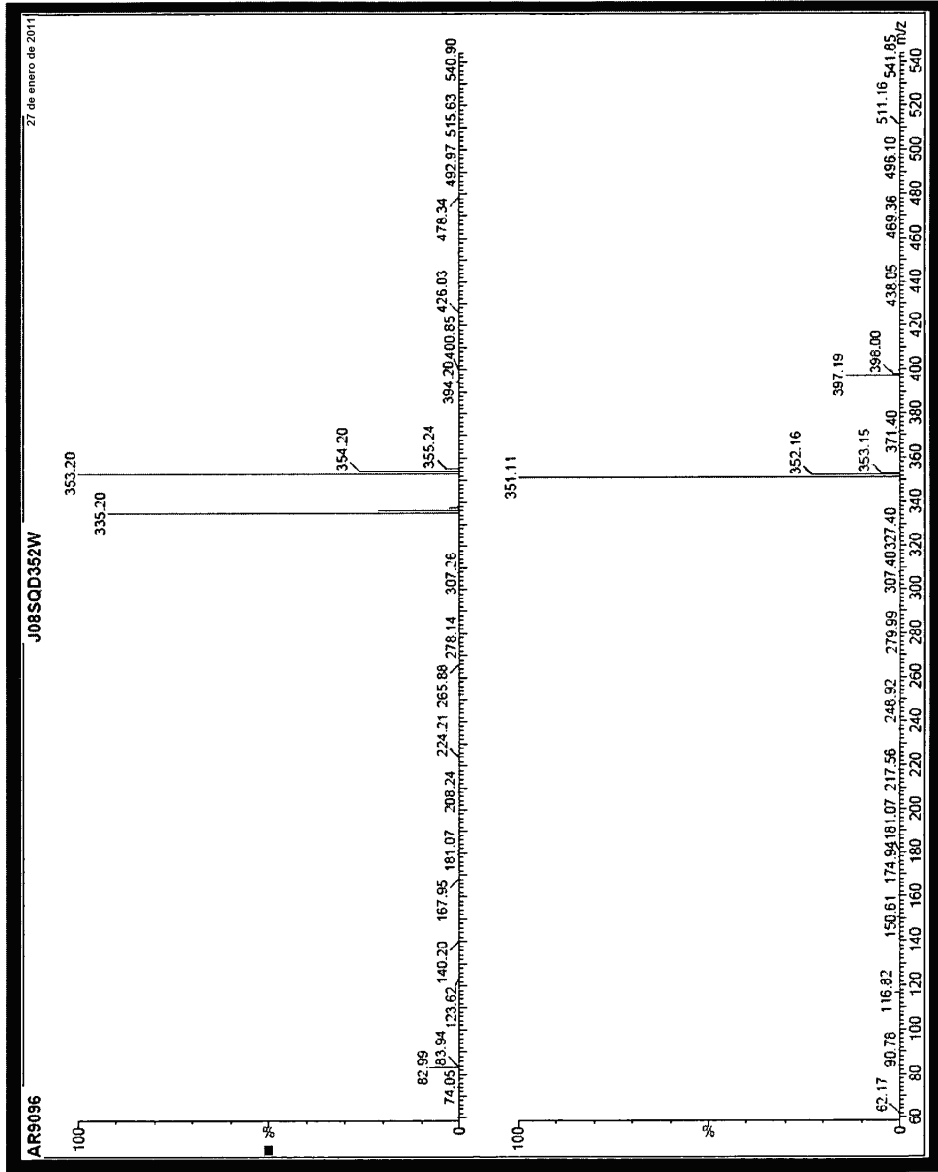


Fig. 5a

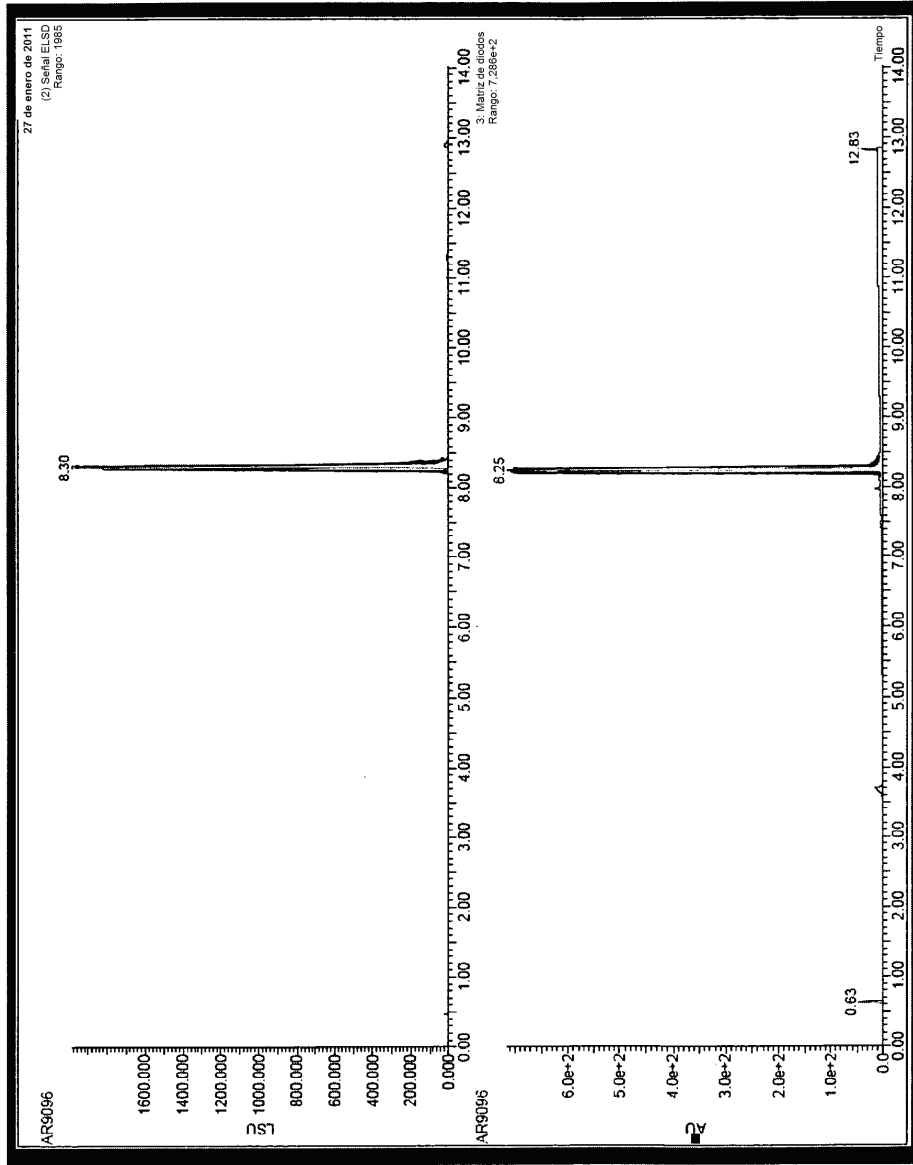


Fig. 5b

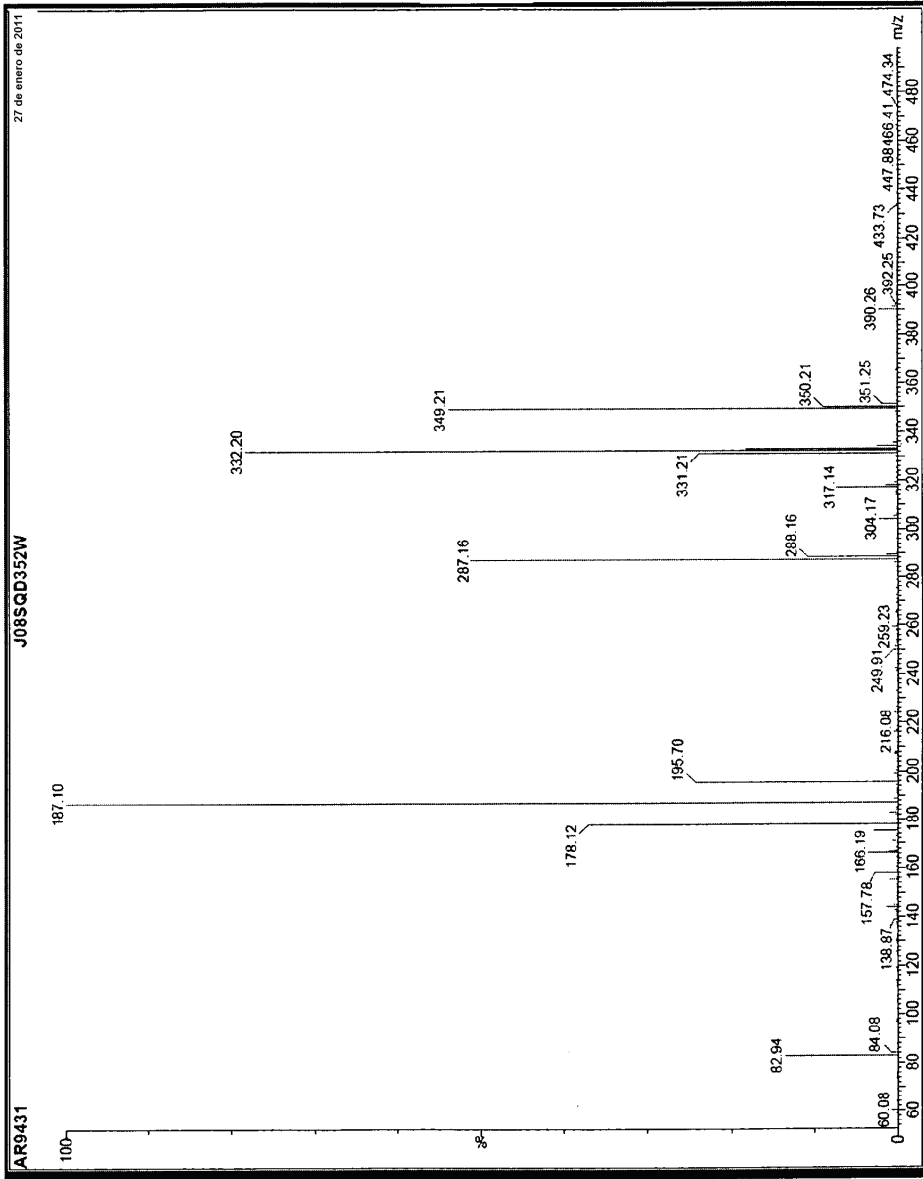


Fig. 6a

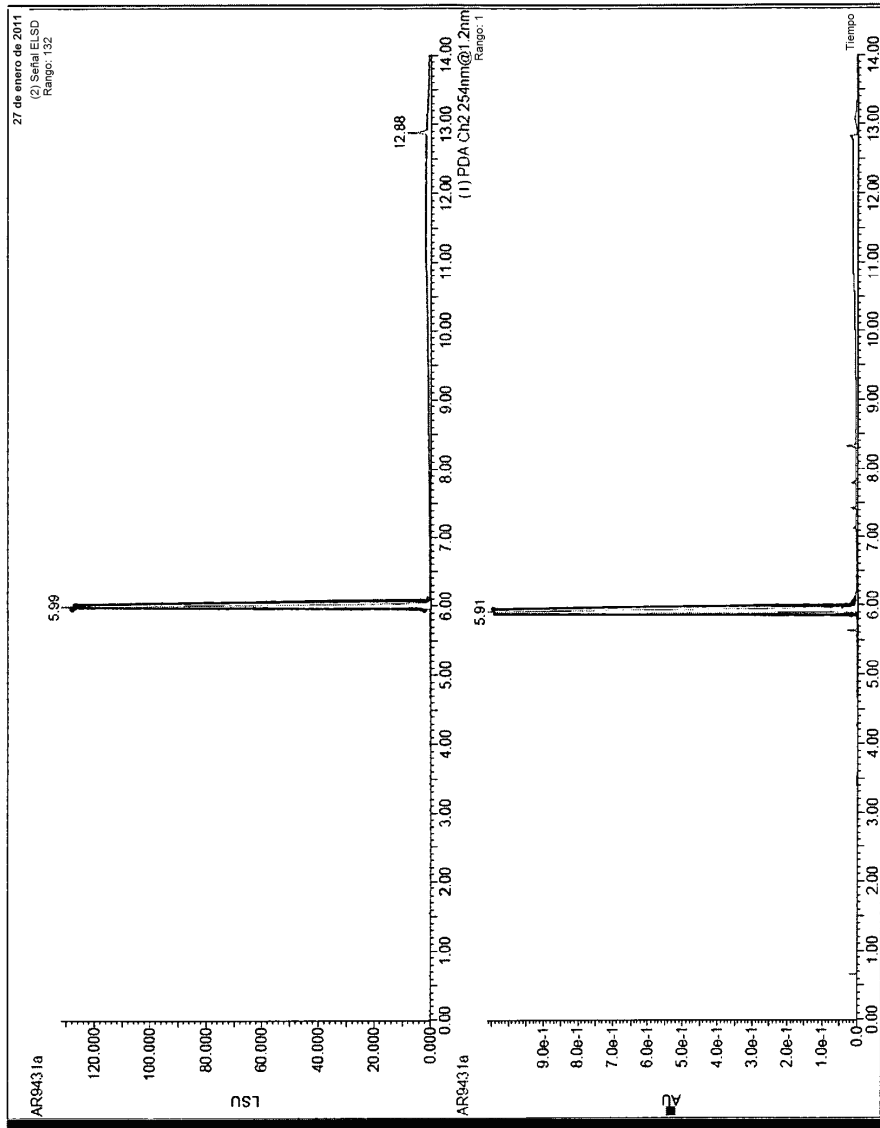


Fig. 6b

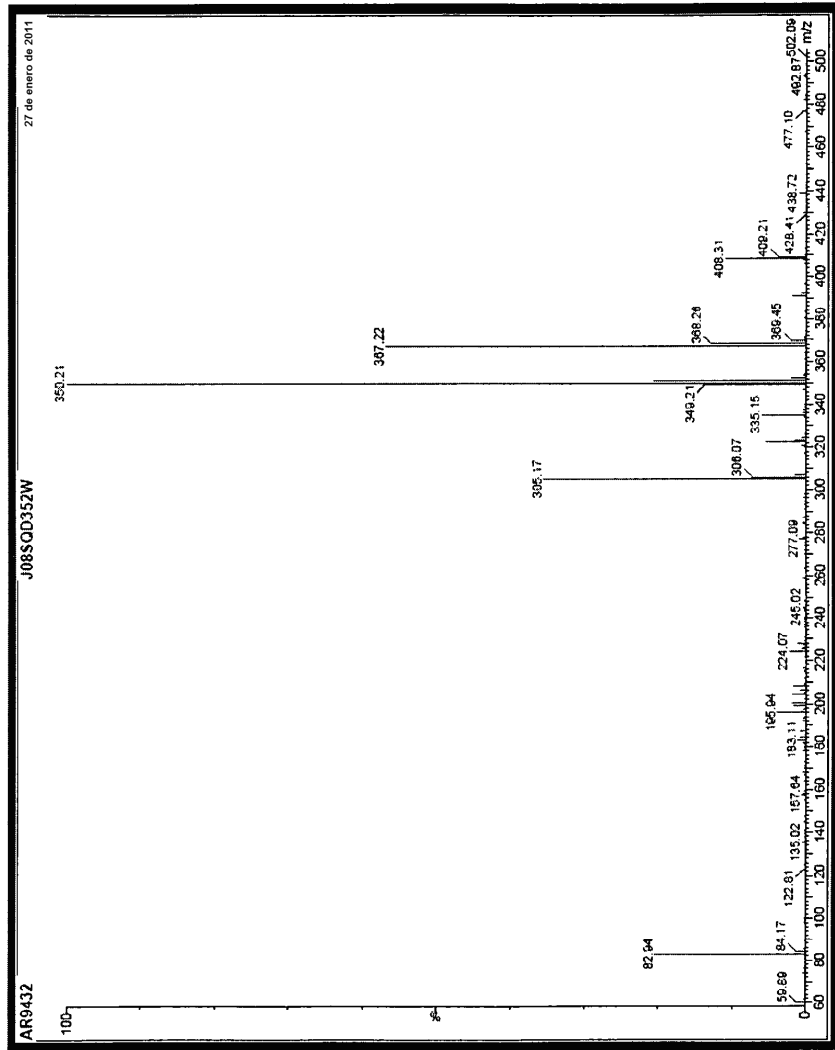


Fig. 7a

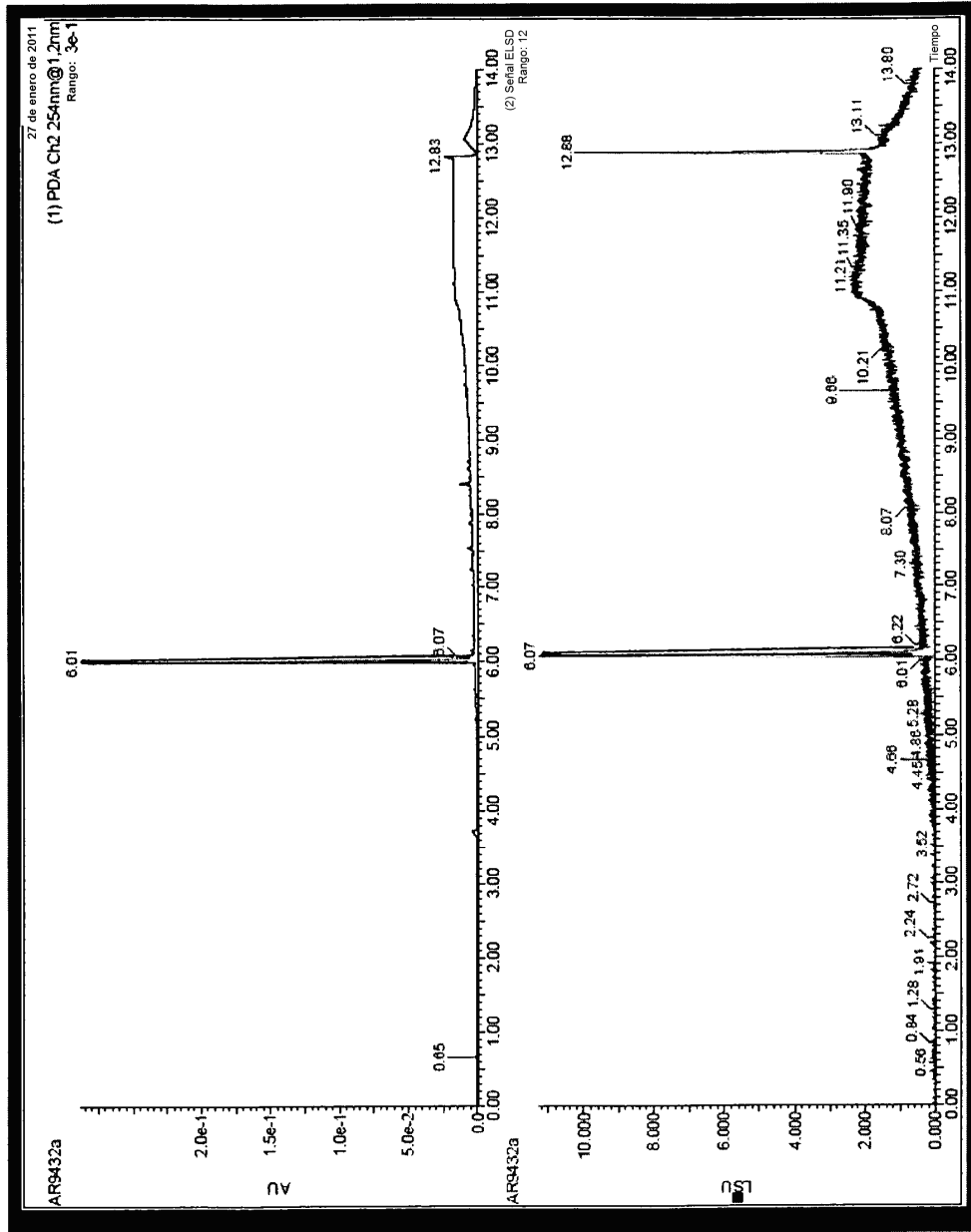


Fig. 7b