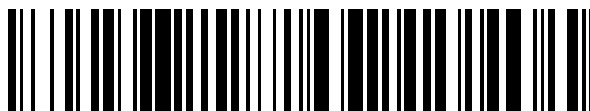


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 705 923**

51 Int. Cl.:

A61K 31/506 (2006.01)

C07D 405/14 (2006.01)

A61K 31/4184 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.01.2012 PCT/US2012/021280**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.07.2012 WO12097273**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.01.2012 E 12701811 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.11.2018 EP 2663562**

54 Título: **Formas sólidas de inhibidor de girasa (R)-1-etil-3-[6-fluoro-5-[2-(1-hidroxi-1-metil-etil)pirimidin-5-il]-7-(tetrahidrofuran-2-il)-1H-bencimidazol-2-il]urea**

30 Prioridad:

14.01.2011 US 201161433169 P

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

27.03.2019

73 Titular/es:

**SPERO TRINEM, INC. (100.0%)
675 Massachusetts, 14th Floor
Cambridge, MA 02139, US**

72 Inventor/es:

**SHANNON, DEAN;
LUISI, BRIAN;
KRAWIEC, MARIUSZ y
KULDIPKUMAR, ANUJ, K.**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 705 923 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

Formas sólidas de inhibidor de girasa (R)-1-etil-3-[6-fluoro-5-[2-(1-hidroxi-1-metil-etil)pirimidin-5-il]-7-(tetrahidrofuran-2-il)-1H-bencimidazol-2-il]urea

Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

Esta solicitud reivindica el beneficio en virtud de 35 U.S.C. §119 de la Solicitud de Patente Provisional de Estados Unidos No. 61/433,169 presentada el 14 de enero de 2011.

Antecedentes de la aplicación

La resistencia bacteriana a antibióticos ha sido reconocida por mucho tiempo, y hoy en día se considera un grave problema de salud en todo el mundo. Como resultado de la resistencia, algunas infecciones bacterianas son difíciles de tratar con antibióticos o incluso no se pueden tratar. Este problema se ha vuelto especialmente grave con el desarrollo reciente de resistencia múltiple a medicamentos en ciertas cepas de bacterias, como *Streptococcus pneumoniae* (SP), *Mycobacterium tuberculosis* y *Enterococcus*. La aparición de enterococos resistentes a vancomicina fue particularmente alarmante porque la vancomicina fue anteriormente el único antibiótico efectivo para tratar esta infección, y se consideró que era el fármaco de "último recurso" para muchas infecciones. Si bien muchas otras bacterias resistentes a fármacos no provocan enfermedades que amenazan la vida, tales como los enterococos, existe el temor de que los genes que inducen la resistencia se puedan propagar a organismos más mortales como el *Staphylococcus aureus*, en los que la resistencia a la metilicina ya es prevalente (De Clerq, et al., Current Opinion in Anti-infective Investigational Drugs, 1999, 1, 1; Levy, "The Challenge of Antibiotic Resistance", Scientific American, March, 1998).

Otra preocupación es la rapidez con que se puede propagar la resistencia a los antibióticos. Por ejemplo, hasta la década de 1960, la SP era universalmente sensible a la penicilina, y en 1987 solo el 0.02% de las cepas de SP en los EE.UU. eran resistentes. Sin embargo, en 1995 se reportó que la resistencia del SP a la penicilina era aproximadamente del siete por ciento y tan alta como el 30% en algunas partes de los EE.UU. (Lewis, "The Rise of Antibiotic Resistant Infections", FDA Consumer magazine, September 1995); Gershman in The Medical Reporter, 1997).

Los hospitales, en particular, sirven como centros para la formación y transmisión de organismos resistentes a fármacos. Las infecciones que ocurren en los hospitales, conocidas como infecciones nosocomiales, se están convirtiendo en un problema cada vez más grave. De los dos millones de estadounidenses infectados en hospitales cada año, más de la mitad de estas infecciones resisten al menos un antibiótico. El Centro para el Control de Enfermedades informó que, en 1992, más de 13.000 pacientes del hospital murieron de infecciones bacterianas resistentes al tratamiento con antibióticos (Lewis, "The Rise of Antibiotic Resistant Infections", FDA Consumer magazine, September 1995).

Como resultado de la necesidad de combatir las bacterias resistentes a fármacos y el fracaso creciente de los fármacos disponibles, ha surgido un interés creciente por descubrir nuevos antibióticos. Una estrategia atractiva para desarrollar nuevos antibióticos es inhibir la girasa y/o topoisomerasa IV del ADN, enzimas bacterianas necesarias para la replicación del ADN y, por lo tanto, necesarias para el crecimiento y la división de las células bacterianas. La actividad de la girasa y/o topoisomerasa IV también están asociadas con eventos en la transcripción, reparación y recombinación del ADN.

La girasa es una de las topoisomerasas, un grupo de enzimas que catalizan la interconversión de los isómeros topológicos del ADN (véase en general, Kornberg and Baker, DNA Replication, 2d Ed., Chapter 12, 1992, W. H. Freeman and Co.; Drlica, Molecular Microbiology, 1992, 6, 425; Drlica and Zhao, Microbiology and Molecular Biology Reviews, 1997, 61, pp. 377-392). La girasa controla el superenrollamiento de ADN y alivia el estrés topológico que se produce cuando las cadenas de ADN de un dúplex parental no se enrollan durante el proceso de replicación. La girasa también cataliza la conversión de ADN dúplex circular relajado y cerrado a una forma negativamente superhelicoidal que es más favorable para la recombinación. El mecanismo de la reacción de superenrollamiento consiste en envolver la girasa alrededor de una región del ADN, rompiendo la doble cadena en esa región, pasando una segunda región del ADN a través de la ruptura y volviendo a unir las cadenas rotas. Dicho mecanismo de división es característico de una topoisomerasa de tipo II. La reacción de superenrollamiento es impulsada por la unión de ATP a girasa. El ATP se hidroliza luego durante la reacción. Esta unión de ATP y la posterior hidrólisis causan cambios conformacionales en la girasa unida al ADN que son necesarios para su actividad. También se ha encontrado que el nivel de superenrollamiento (o relajación) del ADN depende de la relación ATP/ADP. En ausencia de ATP, la girasa solo es capaz de relajar el ADN superenrollado.

La girasa bacteriana de ADN es un tetrámero de proteína de 400 kilodalton que consta de dos subunidades A (GyrA) y dos subunidades B (GyrB). La unión y división del ADN se asocia con GyrA, mientras que la proteína GyrB se une e hidroliza el ATP. La GyrB consiste en un dominio amino-terminal que tiene la actividad ATPasa, y un dominio carboxi-terminal que interactúa con GyrA y el ADN. Por el contrario, las topoisomerasas tipo II eucariotas son

homodímeros que pueden relajar los superenrollamientos negativos y positivos, pero no pueden introducirlos. Idealmente, un antibiótico con base en la inhibición de la girasa y/o topoisomerasa IV de ADN bacteriana sería selectivo para esta enzima y sería relativamente inactivo contra las topoisomerasas eucariotas de tipo II.

5 La topoisomerasa IV resuelve principalmente los dímeros cromosómicos vinculados al final de la replicación del ADN.

Los antibióticos de quinolona ampliamente utilizados inhiben la girasa del ADN bacteriano (GyrA) y/o la topoisomerasa IV (ParC). Ejemplos de las quinolonas incluyen los compuestos tempranos como el ácido nalidíxico y el ácido oxolínico, así como los tardíos fluoroquinolonas más potentes, como la norfloxacin, la ciprofloxacina y la trovafloxacin. Estos compuestos se unen a GyrA y/o ParC y estabilizan el complejo dividido, inhibiendo de esta manera la función general de la girasa, lo que lleva a la muerte celular. Las fluoroquinolonas inhiben las subunidades catalíticas de la girasa (GyrA) y/o la Topoisomerasa IV (Par C) (véase Drlica and Zhao, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 1997, 61, 377-392). Sin embargo, la resistencia a fármacos también se ha reconocido como un problema para esta clase de compuestos (Informe de la OMS, "Use of Quinolones in Food Animals and Potential Impact on Human Health", 1998). Con las quinolonas, al igual que con otras clases de antibióticos, las bacterias expuestas a compuestos anteriores a menudo desarrollan resistencia cruzada a compuestos más potentes en la misma clase.

20 Las subunidades asociadas responsables de suministrar la energía necesaria para el recambio/restablecimiento catalítico de las enzimas mediante hidrólisis de ATP son GyrB (girasa) y ParE (topoisomerasa IV), respectivamente (véase, Champoux, J. J., *Annu. Rev. Biochem.*, 2001, 70, pp. 369-413). Los compuestos que se dirigen a estos mismos sitios de unión de ATP en las subunidades GyrB y ParE serían útiles para tratar diversas infecciones bacterianas (véase, Charifson et al., *J. Med. Chem.*, 2008, 51, pp. 5243-5263).

25 Hay menos inhibidores conocidos que se unen a GyrB. Ejemplos incluyen las cumarinas, novobiocina y cumermicina A1, ciclotialidina, cinodina y clerocidina. Se ha mostrado que las cumarinas se unen a GyrB muy fuertemente. Por ejemplo, la novobiocina crea una red de enlaces de hidrógeno con la proteína y varios contactos hidrófobos. Si bien la novobiocina y el ATP parecen unirse al sitio de unión del ATP, existe una superposición mínima en la orientación unida de los dos compuestos. Las porciones superpuestas son la unidad de azúcar de la novobiocina y la adenina ATP (Maxwell, *Trends in Microbiology*, 1997, 5, 102).

35 Para las bacterias resistentes a la cumarina, la mutación puntual más frecuente se encuentra en un residuo de arginina de la superficie que se une al carbonilo del anillo de cumarina (Arg136 en *E. coli* GyrB). Mientras que las enzimas con esta mutación muestran una menor actividad de superenrollamiento y ATPasa, también son menos sensibles a la inhibición por los fármacos de cumarina (Maxwell, *Mol. Microbiol.*, 1993, 9, 681).

40 A pesar de ser potentes inhibidores del superenrollamiento de girasa, las cumarinas no se han utilizado ampliamente como antibióticos. En general, no son adecuados debido a su baja permeabilidad en bacterias, toxicidad eucariótica y escasa solubilidad en agua (Maxwell, *Trends in Microbiology*, 1997, 5, 102). Sería deseable tener un nuevo y efectivo inhibidor de GyrB y Par que supere estos inconvenientes y, preferiblemente, no se base en la unión a Arg136 para la actividad. Un inhibidor de este tipo sería un atractivo candidato a los antibióticos, sin un historial de problemas de resistencia que afecten a otras clases de antibióticos.

45 Como la resistencia bacteriana a los antibióticos se ha convertido en un importante problema de salud pública, subsiste la necesidad constante de desarrollar antibióticos más nuevos y más potentes. Más particularmente, subsiste la necesidad de antibióticos que representen una nueva clase de compuestos que no se hayan utilizado previamente para tratar infecciones bacterianas. Los compuestos que se dirigen a los sitios de unión de ATP en las subunidades GyrB (girasa) y ParE (topoisomerasa IV) serían útiles para tratar diversas infecciones bacterianas. Dichos compuestos serían particularmente útiles en el tratamiento de infecciones nosocomiales en hospitales donde la formación y transmisión de bacterias resistentes son cada vez más frecuentes.

Resumen de la solicitud

55 La presente solicitud se refiere a formas sólidas de (R)-1-etil-3-[6-fluoro-5-[2-(1-hidroxi-1-metil-etil)pirimidin-5-il]-7-(tetrahydrofuran-2-il)-1H-benzimidazol-2-il]urea ("el compuesto de 6-fluoro benzimidazolil urea"). En una realización, la presente solicitud proporciona la Forma I sólida del compuesto de 6-fluoro benzimidazolil urea, que se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X en polvo (XPRD) que comprende posiciones pico aproximadas (grados $2\theta \pm 0.2$) al medir utilizando radiación $K\alpha$ de Cu, de 9.3, 16.6, 18.5, 19.4, 21.5, y 25.7, cuando el XPRD se recolecta desde aproximadamente 5 hasta aproximadamente 38 grados dos theta (2θ). La Forma I sólida se puede caracterizar por un patrón de difracción de rayos X en polvo (XPRD) que comprende posiciones pico aproximadas (grados $2\theta \pm 0.2$) al medir utilizando radiación $K\alpha$ de Cu, de 9.29, 11.74, 12.13, 12.37, 13.71, 14.18, 14.54, 15.90, 16.32, 16.59, 18.49, 19.43, 19.94, 20.36, 21.53, 22.34, 22.80, 23.50, 23.75, 24.45, 25.09, 25.67, 26.39, 26.69, 27.52, 28.05, 28.43, 30.04, 30.31, 33.40, 34.07, 35.22 y 37.27 cuando el XPRD se recolecta desde aproximadamente 5 hasta aproximadamente 38 grados 2θ . La Forma I sólida también se puede caracterizar por un patrón de difracción de rayos X en polvo, según se mide utilizando radiación $K\alpha$ de Cu, sustancialmente similar a la Figura 1 y un pico endotérmico que tiene

una temperatura de inicio en aproximadamente 318°C según se mide mediante calorimetría de barrido diferencial en la que la temperatura se escanea en aproximadamente 10°C por minuto. La presente solicitud también proporciona un método para preparar la Forma I en cristal del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea al suspender un material sólido de la base libre en un sistema de solventes que comprende un alcohol y un éter y aislar el sólido.

5 Otra realización de la solicitud proporciona la Forma II sólida de la sal de clorhidrato del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea, caracterizada por un patrón de difracción de rayos X en polvo (XPRD) que comprende posiciones pico aproximadas (grados $2\theta \pm 0.2$) al medir utilizando radiación $K\alpha$ de Cu, de 6.7, 9.2, 16.7, 18.6, 19.5, 20.5, 25.6, y 27.5, cuando el XPRD se recolecta desde aproximadamente 5 hasta aproximadamente 38 grados 2θ .
 10 La Forma II sólida también se puede caracterizar por un patrón de difracción de rayos X en polvo, según se mide utilizando radiación $K\alpha$ de Cu, sustancialmente similar a la Figura 4 y por un pico endotérmico que tiene una temperatura de inicio en aproximadamente 252°C según se mide mediante calorimetría de barrido diferencial en la que la temperatura se escanea en aproximadamente 10°C por minuto. La Forma II sólida de la sal de clorhidrato del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea se puede preparar al suspender una base libre del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea en una mezcla de solventes ácidos que comprende uno o más solventes etéreos y agua.

Una realización adicional de la presente solicitud es una Forma amorfa III del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea (base libre), caracterizada por un patrón de difracción de rayos X en polvo (XPRD) utilizando radiación $K\alpha$ de Cu, caracterizada por un halo amplio sin pico de difracción discernible. Una realización adicional de la presente solicitud es un método para preparar una Forma amorfa III del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea (base libre) que comprende liofilizar, secar por pulverización, secar en tambor, o secar por conversión de impulsos una solución del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea.

25 Aún otra realización de la presente solicitud es una Forma amorfa IV de la sal de mesilato del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea caracterizada por un patrón de difracción de rayos X en polvo (XPRD) utilizando radiación $K\alpha$ de Cu, caracterizada por un halo amplio sin pico de difracción discernible.

Descripción de las figuras

30 La Figura 1 muestra un patrón de difracción de rayos X en polvo de la Forma I sólida del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea (base libre) recolectada desde aproximadamente 5 hasta aproximadamente 38 grados 2θ .
 La Figura 2 muestra un termograma de DSC (Calorimetría de Barrido Diferencial) de la Forma I sólida del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea (base libre).
 35 La Figura 3 muestra un termograma de TGA (análisis gravimétrico térmico) de la Forma I sólida del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea (base libre).
 La Figura 4 muestra un patrón de difracción de rayos X en polvo de la Forma II sólida de la sal de clorhidrato del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea.
 La Figura 5 muestra un termograma de DSC de la Forma II sólida de la sal de clorhidrato del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea.
 40 La Figura 6 muestra un termograma de TGA de la Forma II sólida del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea.
 La Figura 7 es un patrón de difracción de rayos X en polvo de una Forma amorfa III del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea (base libre).
 La Figura 8 muestra un termograma de DSC de la Forma amorfa III del 6-fluoro bencimidazolil urea (base libre) que exhibe una pequeña exotermia seguida por tres endotermas más grandes.
 45 La Figura 9 es un patrón de difracción de rayos X en polvo de una Forma amorfa IV de la sal de mesilato del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea.
 La Figura 10 es un espectro de $^1\text{H-RMN}$ de la sal de mesilato del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea.

Descripción detallada

50 La presente solicitud se dirige a formas sólidas sustancialmente puras, novedosas de (R)-1-etil-3-[6-fluoro-5-[2-(1-hidroxi-1-metil-etil)pirimidin-5-il]-7-(tetrahidrofuran-2-il)-1H-bencimidazol-2-il]urea ("el compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea").
 55 Los inventores han descubierto una forma cristalina de base libre del compuesto (Forma I), una forma cristalina de una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea (Forma II, que corresponde a una sal de clorhidrato), una forma amorfa de la base libre (Forma III) así como también una forma amorfa de la sal de mesilato del compuesto (Forma IV).
 60 Por lo tanto, un aspecto de la presente solicitud es una Forma I sólida novedosa del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea (base libre). En un aspecto, la presente solicitud proporciona un proceso para preparar la Forma I sólida del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea.

Una Forma I sólida sustancialmente pura del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea se puede preparar a partir de un compuesto amorfo o cristalino al poner en contacto el compuesto con un sistema de solventes que comprende un alcohol y un éter y aislar el sólido. El compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea se puede poner en contacto con

5 el solvente ya sea al saturar una solución del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea en el solvente a temperatura ambiente y permitir que la mezcla repose durante un periodo de tiempo extendido (por ejemplo, durante la noche). Alternativamente, el compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea se puede disolver en el solvente a temperatura elevada, por ejemplo, a reflujo, seguido al enfriar la solución a temperatura ambiente o inferior y aislar la Forma I sólida.

10 En una realización del proceso, una Forma I sólida sustancialmente pura del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea se puede preparar a partir de forma amorfa o cristalina del compuesto al preparar una solución saturada del compuesto en un solvente adecuado a temperatura ambiente y aislar la Forma I que resulta. En práctica esto se puede lograr al disolver una cantidad suficiente del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea en el solvente a temperatura elevada (hasta reflujo) de tal manera que cuando la solución se deja a enfriar a temperatura ambiente se obtiene una solución saturada, de la cual se precipita y se puede aislar la Forma I. En otras realizaciones, el compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea se puede aislar desde una mezcla de reacción al modificar la solubilidad del compuesto en el solvente. Por ejemplo, remover algo o todos los solventes o reducir la temperatura de mezcla puede reducir la solubilidad del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea y se puede precipitar la Forma I sólida. Alternativamente, agregar un segundo solvente a la mezcla puede precipitar la Forma I sólida del compuesto.

20 En una realización, el solvente para la preparación de la Forma I es una mezcla de etanol y éter de etilo. El aislamiento del sólido resultante proporciona la Forma I.

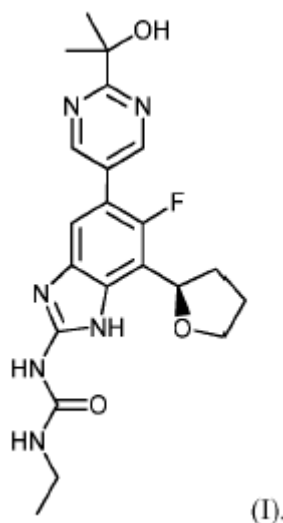
25 La Forma I sólida del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea se puede identificar por las siguientes características: una endoterma amplia en aproximadamente 250°C, una endoterma de fusión con un inicio extrapolado de aproximadamente 318°C según se determina por calorimetría de barrido diferencial utilizando índice de escaneo de 10°C por minuto; y un patrón de difracción de rayos X en polvo esencialmente como se muestra en la Tabla 1 y la Figura 1 en las que los patrones de XRPD se midieron utilizando un difractómetro de polvo equipado con una fuente de tubo de rayos X Cu. La muestra se iluminó con radiación K α_1 de Cu y los datos de XRPD se recolectaron desde aproximadamente 5 hasta aproximadamente 40° 2 θ . Un experto en la técnica reconocerá que las intensidades relativas de los picos de XRPD pueden variar significativamente dependiendo de la orientación de la muestra bajo prueba y del tipo y configuración del instrumento utilizado, de tal manera que las intensidades en las trazas de XRPD incluidas en este documento sean de grado ilustrativo y no están destinadas a ser utilizados para comparaciones absolutas.

35 La Figura 1 es un patrón de difracción de rayos X en polvo de la Forma I sólida de compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea (base libre) recolectado desde aproximadamente 5 hasta aproximadamente 40 grados 2 θ . Los picos que corresponden al patrón de difracción de rayos X en polvo que tienen una intensidad relativa mayor de o igual a 5% se enumeran en la Tabla 1.

40 La Figura 2 muestra un termograma de DSC de la Forma I sólida del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea que exhibe una endoterma amplia con una transición de inicio en aproximadamente 250°C y una endoterma con una transición de inicio en aproximadamente 318°C. Un experto en la técnica reconocerá que el pico y temperaturas de inicio de las endotermas pueden variar dependiendo de las condiciones experimentales. Los datos en la Figura 2 se recolectaron equilibrando una muestra de 2.5 mg del sólido en aproximadamente 35°C durante aproximadamente 10 minutos. Durante el periodo de recolección de datos., la temperatura se aumentó a una tasa de aproximadamente 10°C por minuto.

45 La Figura 3 es un termograma de TGA (análisis gravimétrico térmico) de la Forma I sólida del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea que exhibe una pérdida de peso inicial de aproximadamente 15% por ciento en el rango de temperatura de 50 a 300°C con pérdida de peso adicional de aproximadamente 25% entre 300 y 400°C.

50 En una realización, la presente invención proporciona una Forma I sólida del compuesto de la fórmula (I):



5 Caracterizada por un patrón de difracción de rayos X en polvo (XPRD) que comprende posiciones pico aproximadas (grados $2\theta \pm 0.2$) al medir utilizando radiación $K\alpha$ de Cu, seleccionada del grupo que consiste de 9.3, 16.6, 18.5, 19.4, 21.5 y 25.7, cuando el XPRD se recolecta desde aproximadamente 5 hasta aproximadamente 38 grados 2θ .

10 En otra realización, la Forma I sólida se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X en polvo (XPRD) que comprende posiciones pico aproximadas (grados $2\theta \pm 0.2$) al medir utilizando radiación $K\alpha$ de Cu, a 9.29, 11.74, 12.13, 12.37, 13.71, 14.18, 14.54, 15.90, 16.32, 16.59, 18.49, 19.43, 19.94, 20.36, 21.53, 22.34, 22.80, 23.50, 23.75, 24.45, 25.09, 25.67, 26.39, 26.69, 27.52, 28.05, 28.43, 30.04, 30.31, 33.40, 34.07, 35.22 y 37.27 cuando el XPRD se recolecta desde aproximadamente 5 hasta aproximadamente 38 grados 2θ .

15 En otra realización, la Forma I sólida se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X en polvo, según se mide utilizando radiación $K\alpha$ de Cu, sustancialmente similar a la Figura 1.

En otra realización, la Forma I sólida se caracteriza adicionalmente por un pico endotérmico que tiene una temperatura de inicio en aproximadamente 318°C según se mide mediante calorimetría de barrido diferencial en la que la temperatura se escanea en aproximadamente 10°C por minuto.

20 En otra realización, la presente invención proporciona un método para preparar la Forma I en cristal del compuesto de la fórmula (I) que comprende suspender un material sólido de la base libre en el sistema de solventes que comprende un alcohol y un éter y aislar el sólido.

25 En otra realización, la Forma I sólida es estable durante por lo menos un mes a 40°C con humedad relativa de hasta 75%.

Tabla 1. Picos de patrón de XRPD para la Forma I sólida del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea

Pico No.	Posición [2θ]	Intensidad relativa [%]
1	9.29	66
2	11.74	14
3	12.13	14
4	12.37	15
5	13.71	5
6	14.18	6
7	14.54	19
8	15.90	23
9	16.32	24
10	16.59	100
11	18.49	92
12	19.43	87
13	19.94	9
14	20.36	6
15	21.53	81
16	22.34	10
17	22.80	19

Pico No.	Posición [°2θ]	Intensidad relativa [%]
18	23.50	8
19	23.75	13
20	24.45	28
21	25.09	6
22	25.67	58
23	26.39	5
24	26.69	6
25	27.52	8
26	28.05	25
27	28.43	18
28	30.04	6
29	30.31	10
31	33.40	14
32	34.07	6
33	35.22	5
34	37.27	5

En otro aspecto, la presente solicitud proporciona la Forma II en cristal de la sal de adición de ácido clorhídrico del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea. En una realización, la presente solicitud proporciona un proceso para preparar la Forma II sólida del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea. La sal de adición de ácido clorhídrico farmacéuticamente aceptable del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea se puede preparar mediante cualquier método conocido por aquellos expertos en la técnica.

En algunas realizaciones, la sal de adición de ácido clorhídrico del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea se puede precipitar luego de formación a partir de la adición de un ácido a una solución del compuesto. En otras realizaciones, la sal de adición de ácido se puede aislar a partir de la mezcla de reacción al modificar la solubilidad de la sal en el solvente. Por ejemplo, eliminando algunos o todos los solventes o al reducir la temperatura de mezcla se puede reducir la solubilidad de la sal de clorhidrato del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea y se precipita la sal. Alternativamente, agregar un segundo solvente a la mezcla puede precipitar la sal.

En realizaciones adicionales, el ácido clorhídrico gaseoso se puede burbujear a través de una solución del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea hasta que se prepara una sal de adición de mono ácido del compuesto. En ciertas realizaciones, cantidades estequiométricas de ácido clorhídrico y el compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea se pueden mezclar juntas para formar una sal de adición de mono ácido del compuesto. Por ejemplo, una solución del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea en un solvente polar se puede mezclar con una cantidad estequiométrica de una solución acuosa de ácido clorhídrico. Ejemplos de solventes polares que pueden ser adecuados para preparar la Forma II sólida de la sal de clorhidrato del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea incluyen éteres tales como éter de dietilo y tetrahidrofurano (THF).

En una realización particular, cantidades estequiométricas del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea en THF y ácido clorhídrico acuoso se mezclaron lentamente y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se precipitó una sal de clorhidrato blanca sólida del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea. El sólido se aisló, se lavó con agua y se secó bajo vacío.

La Forma II sólida del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea se puede identificar por las siguientes características: una endoterma amplia con una temperatura pico de aproximadamente 210°C, una endoterma de fusión con un inicio extrapolado de aproximadamente 252°C según se determina por calorimetría de barrido diferencial utilizando tasa de escaneo de 10°C por minuto; y un patrón de difracción de rayos X en polvo esencialmente como se muestra en la Tabla 2 y la Figura 4 en las que los patrones de XRPD se midieron utilizando un difractómetro de polvo equipado una fuente de tubo de rayos X de Cu. La muestra se iluminó con radiación $K\alpha_1$ de cobre y los datos de XRPD se recolectaron desde aproximadamente 5 hasta aproximadamente 40° 2θ. Un experto en la técnica reconocerá que intensidades relativas de los picos de XRPD pueden variar significativamente dependiendo de la orientación de la muestra.

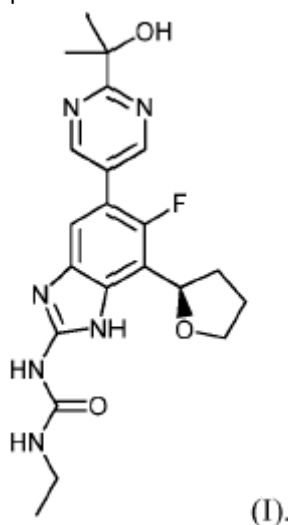
La Figura 4 es un patrón de difracción de rayos X en polvo de la Forma II sólida de la sal de clorhidrato del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea recolectado desde aproximadamente 5 hasta aproximadamente 38 grados 2 θ. Los picos que corresponden a patrón de difracción de rayos X en polvo que tiene una intensidad relativa mayor de o igual a 5% se enumeran en la Tabla 2.

La Figura 5 muestra un termograma de DSC de la Forma II sólida de la sal de clorhidrato del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea que exhibe una endoterma en aproximadamente 210°C y una endoterma en aproximadamente 252°C. Un experto en la técnica reconocerá que el pico y temperaturas de inicio de las endotermas pueden variar dependiendo de las condiciones experimentales. Los datos en la Figura 5 se recolectaron equilibrando una muestra

de 1 mg del sólido en aproximadamente 35°C durante aproximadamente 10 minutos. Durante el periodo de recolección de datos., la temperatura se aumentó a una tasa de aproximadamente 10°C por minuto.

5 La Figura 6 es un termograma de TGA de la Forma II sólida del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea que exhibe una pérdida de peso inicial de aproximadamente 8% por ciento entre 100 y 220°C seguido por una segunda pérdida de peso de aproximadamente un 8% adicional entre aproximadamente 240 y 270°C seguido por una tercera pérdida de peso de aproximadamente 3% entre 270 y 300°C. Un experto en la técnica reconocerá que las temperaturas de inicio de la pérdida de peso pueden variar dependiendo de las condiciones experimentales. Aunque los solicitantes no desean unirse a una explicación particular del endoterma en la DSC y pérdida de peso en el TGA, parece que la transición con pico grande en la DSC se debe a una degradación acoplada de la transición de fusión del material como se sugiere por la pérdida de peso en el TGA.

En una realización, la presente invención proporciona una sal de ácido clorhídrico del compuesto de la fórmula (I):



15 En otra realización, la sal de ácido clorhídrico es la forma sólida de la Forma II.

20 La sal de ácido clorhídrico de forma sólida de la Forma II se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X en polvo (XPRD) que comprende posiciones pico aproximadas (grados $2\theta \pm 0.2$) al medir utilizando radiación $K\alpha$ de Cu, de 6.7, 9.2, 16.7, 18.6, 19.5, 20.5, 25.6, y 27.5, cuando el XPRD se recolecta desde aproximadamente 4 hasta aproximadamente 38 grados 2θ .

25 En otra realización, la sal de ácido clorhídrico de forma sólida de la Forma II se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X en polvo, según se mide utilizando radiación $K\alpha$ de Cu, sustancialmente similar a la Figura 4.

En otra realización, la sal de ácido clorhídrico de forma sólida de la Forma II se caracteriza adicionalmente por un pico endotérmico que tiene una temperatura de inicio en aproximadamente 252°C según se mide mediante calorimetría de barrido diferencial en la que la temperatura se escanea en aproximadamente 10°C por minuto.

30 En aún otra realización, la presente invención proporciona un método para preparar la Forma II sólida de la sal de clorhidrato del compuesto de la fórmula (I) que comprende suspender una base libre del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea en una mezcla de solventes ácidos que comprende uno o más solventes etéreos y agua.

35 En otra realización, la sal de ácido clorhídrico de forma sólida de la Forma II es estable durante por lo menos un mes a 40°C con humedad relativa de hasta 75%.

Tabla 2. Picos de patrón de XRPD para la Forma II sólida del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea

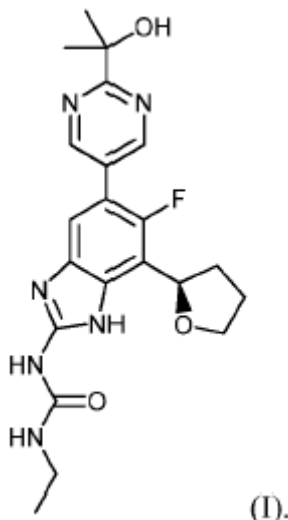
Pico No.	Posición [$^{\circ}2\theta$]	intensidad relativa [%]
1	6.67	13
2	9.25	33
3	11.64	7
4	13.36	7
5	15.90	7
6	16.69	17
7	18.59	12
8	18.81	7

9	19.51	14
10	20.48	100
11	22.59	7
12	24.57	5
13	25.61	11
14	27.54	16

Otro aspecto de la presente solicitud es proporcionar una composición que comprende un compuesto amorfo de 6-fluoro bencimidazolil urea (base libre). El término "amorfo" como se aplica en este documento al compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea o sus sales se refiere a una forma en estado sólido en la que las moléculas de 6-fluoro bencimidazolil urea en general están presentes en una disposición desordenada y no forman una red cristalina o celda unitaria distinguible. Cuando se somete a difracción de rayos X en polvo, un compuesto completamente amorfo no produce un patrón de difracción característico de una forma cristalina. La difracción de rayos X en polvo de un material parcialmente amorfo aún puede carecer de rasgos característicos de una forma de cristal porque los picos de difracción de la porción cristalina de la muestra pueden ser demasiado débiles para ser observables sobre el ruido. La Figura 7 es un patrón de difracción de rayos X en polvo de una forma amorfa III del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea (base libre).

La Figura 8 muestra un termograma de DSC de la Forma amorfa III de 6-fluoro bencimidazolil urea (base libre) que exhibe una pequeña exotermia seguida por tres endotermas más grandes. La exoterma pequeña tiene una temperatura de inicio de 127°C mientras que las tres endotermas tienen temperaturas de inicio de 183°C, 226°C, y 279°C. Un experto en la técnica reconocerá que el pico y temperaturas de inicio de la exoterma y las endotermas pueden variar dependiendo de las condiciones experimentales. Los datos en la Figura 8 se recolectaron equilibrando una muestra de 2.9 mg del compuesto amorfo de 6-fluoro bencimidazolil urea en aproximadamente 35°C durante aproximadamente 10 minutos. Durante el periodo de recolección de datos., la temperatura se aumentó a una tasa de aproximadamente 10°C por minuto.

La presente invención proporciona una Forma amorfa III de la fluoro bencimidazolil urea compuesto de la fórmula I:



Caracterizada por un patrón de difracción de rayos X en polvo (XPRD) utilizando radiación K_{α} de Cu, caracterizada por un halo amplio sin pico de difracción discernible.

La presente invención proporciona un método para preparar la Forma amorfa III del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea que comprende liofilizar, secar por pulverización, secar en tambor, o secar por conversión de impulsos una solución del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea.

En otro aspecto, la presente solicitud proporciona una Forma IV de fase sólida amorfa de la sal de mesilato del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea. En una realización, la presente solicitud proporciona un proceso para preparar la Forma IV sólida de la sal de mesilato del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea. Una sal de ácido metanosulfónico farmacéuticamente aceptable del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea se puede preparar mediante cualquier método conocido por aquellos expertos en la técnica. Por ejemplo, una solución de ácido metanosulfónico se puede agregar a una solución del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea hasta una sal de adición de mono ácido del compuesto se prepara. En una realización, la sal de mesilato del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea se puede precipitar luego de adición del ácido a una solución del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea. En otras realizaciones, la sal de adición de ácido se puede aislar a partir de la mezcla de reacción al modificar la solubilidad de la sal en el solvente. Por ejemplo, al eliminar algunos o todos los solventes o

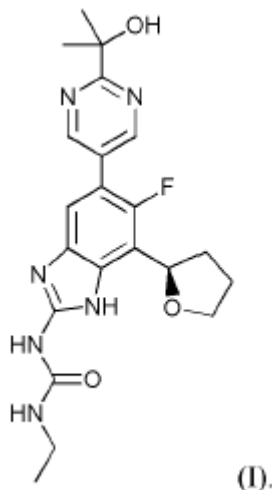
reducir la temperatura de mezcla se puede reducir la solubilidad de la sal de mesilato del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea y se precipita la sal. Por lo tanto, en algunas realizaciones, el material amorfo se recolecta después de que se precipita desde una solución después de concentrar la solución al evaporar algo del solvente, por ejemplo, utilizando un evaporador giratorio. Alternativamente, agregar un segundo solvente a la mezcla puede precipitar la sal.

La sal de mesilato del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea se puede convertir a una forma sólida amorfa utilizando cualquier método conocido por aquellos expertos en la técnica. La sal de mesilato del compuesto amorfo de 6-fluoro bencimidazolil urea se puede caracterizar por la ausencia de una característica del patrón de difracción de una forma cristalina. La difracción de rayos X en polvo de una sal de mesilato del compuesto parcialmente amorfo de 6-fluoro bencimidazolil urea aún puede carecer de rasgos característicos de una forma de cristal debido a que los picos de difracción de la porción cristalina de la muestra pueden ser demasiado débiles para ser observados sobre el ruido. La Figura 9 es un patrón de difracción de rayos X en polvo de una Forma amorfa IV de la sal de mesilato del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea.

En una realización, la sal de mesilato del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea amorfo se puede preparar al secar por pulverización una solución de la sal en el solvente apropiado. El secado por pulverización es bien conocido en la técnica y a menudo se utiliza para secar materiales sensibles al calor, tales como los fármacos. El secado por pulverización también proporciona una distribución de partículas consistente que se puede reproducir bastante bien. Se puede utilizar cualquier gas para secar el polvo, aunque comúnmente se utiliza aire. Si el material es sensible al aire, se puede utilizar un gas inerte, como nitrógeno o argón. Cualquier método que convierta una solución, lechada, suspensión o emulsión de la sal para producir un polvo sólido puede ser adecuado para preparar la Forma IV amorfa sólida de la sal de mesilato del compuesto de 6-fluoro bencimidazolilurea. Por ejemplo, se puede utilizar secado por congelación, secado en tambor o secado por conversión de impulsos para producir una sal de mesilato amorfo del compuesto de 6-fluoro-bencimidazolilurea.

En una realización, una solución del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea en un solvente polar se puede secar por pulverización utilizando un secador de nanopulverización equipado con un condensador. La temperatura de entrada se puede mantener entre 80-120°C.

En otra realización, la presente invención proporciona una Forma amorfa IV de la sal de mesilato del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea de la fórmula I:



En otra realización, la Forma amorfa IV de la sal de mesilato del compuesto 6-fluorobencimidazolil urea se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X en polvo (XPRD) utilizando radiación K_{α} de Cu, caracterizada por un halo amplio sin pico de difracción discernible

Se debe entender que las Formas I y II sólidas y las Formas III y IV sólidas amorfas de, respectivamente, sal de mesilato y base libre del compuesto de 6-fluoro bencimidazolilurea, además de tener el XRPD, DSC, TGA y otras características descritas en el presente documento, también puede poseer otras características no descritas, tales como, pero sin limitarse a, la presencia de agua o una o más moléculas de solvente.

Difracción de rayos X en polvo (XRPD): el patrón de XRPD de las formas cristalinas se registró a temperatura ambiente en modo de reflexión utilizando un sistema Bruker D8 Discover equipado con una fuente de tubo sellada y un detector de área Hi-Star (Bruker AXS, Madison, Wisconsin). El generador de rayos X se operó a una tensión de 40 kV y una corriente de 35 mA. La muestra de polvo se colocó sobre una oblea de fondo cero de Si. Se registraron dos cuadros con un tiempo de exposición de 120 s cada uno. Los datos se integraron posteriormente en el rango de 3° - 41° 2θ con un tamaño de etapa de 0.02° y se fusionaron en un patrón continuo.

5 Difracción de rayos X en polvo (XRPD) para formas amorfas: el patrón de XRPD de la forma sólida amorfa se registró a temperatura ambiente en modo de reflexión utilizando el sistema Bruker D8 Advance equipado con un detector sensible a la posición Vantec-1 (Bruker AXS, Madison, Wisconsin). El generador de rayos X se operó a una tensión de 40 kV y una corriente de 45 mA. La muestra de polvo se colocó sobre un soporte de fondo cero de Si, se hizo girar a 15 rpm durante el experimento en un modo continuo utilizando una rendija variable en el detector. Los datos se recolectaron de 3 a 40 grados con incrementos de 0.0144653 grados (0.25 s/etapa).

10 Calorimetría de barrido diferencial (DSC): La DSC se realizó en una muestra del material utilizando un calorímetro de barrido diferencial DSC Q2000 (TA Instruments, New Castle, DE). El instrumento se calibró con indio. Se pesó una muestra de aproximadamente 1-2 mg en una bandeja de aluminio que se corrugó utilizando una tapa con y sin orificios. Las muestras de DSC se escanearon desde 30°C hasta las temperaturas indicadas en los gráficos a una velocidad de calentamiento de 10°C/min con 50 mL/min de flujo de nitrógeno. Se modularon las series de muestras bajo DSC modulada (MDSC) + y -1°C cada 60 s con aumentos de velocidades de 2 o 3°C/min.

15 Los datos se recolectaron con el software Thermal Advantage Q Series™ y se analizaron con el software Universal Analysis 2000 (TA Instruments, New Castle, DE).

20 Análisis termogravimétrico (TGA): Se utilizó un analizador termogravimétrico modelo Q5000 (TA Instruments, New Castle, DE) Para la medición de TGA. Se escaneó una muestra con un peso de aproximadamente 3-5 mg desde 30°C hasta las temperaturas indicadas en las gráficas a una velocidad de calentamiento de 10°C/min. Los datos se recolectaron con el software Thermal Advantage Q Series™ y se analizaron con el software Universal Analysis 2000 (TA Instruments, New Castle, DE).

25 La presente invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un portador, adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable.

30 La presente invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en controlar, tratar o reducir el avance, gravedad o efectos de una infección bacteriana nosocomial o no nosocomial en la que la infección bacteriana se caracteriza por la presencia de uno o más de *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium difficile*, *Moraxella catarrhalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, complejo de *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium abscessus*, *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium ulcerans*, *Chlamydomphila pneumoniae*, *Chlamydia trachomatis*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pyogenes* o estreptococos β-hemolíticos.

40 En otra realización, la presente invención proporciona dicha composición o compuesto para uso en controlar, tratar o reducir el avance, gravedad o efectos de una infección bacteriana nosocomial o no nosocomial en un paciente, en el que la infección bacteriana se selecciona de uno o más de los siguientes: infecciones respiratorias superiores, infecciones respiratorias inferiores, infecciones del oído, infecciones pleuropulmonares y bronquiales, infecciones complicadas del tracto urinario, infecciones no complicadas del tracto urinario, Infecciones intraabdominales, infecciones cardiovasculares, infecciones del torrente sanguíneo, sepsis, bacteriemia, infecciones del SNC, infecciones de la piel y tejidos blandos, infecciones GI, infecciones de los huesos y articulaciones, infecciones genitales, infecciones oculares o infecciones granulomatosas, infecciones cutáneas sin complicaciones y estructura de la piel. (uSSSI), infecciones complicadas de la piel y la estructura de la piel (cSSSI), infecciones por catéter, faringitis, sinusitis, otitis externa, otitis media, bronquitis, empiema, neumonía, neumonía bacteriana adquirida en la comunidad (CABP), neumonía adquirida en el hospital (HAP), neumonía bacteriana adquirida en el hospital, neumonía asociada al ventilador (VAP), infecciones del pie diabético, infecciones por enterococos resistentes a la vancomicina, cistitis y pielonefritis, cálculos renales, prostatitis, peritonitis, infecciones intraabdominales complicadas (cIAI) y otras infecciones interabdominales, peritonitis asociada a diálisis, abscesos viscerales, endocarditis, miocarditis, pericarditis, sepsis asociada a transfusión, meningitis, encefalitis, absceso cerebral, osteomielitis, artritis, úlceras genitales, uretritis, vaginitis, cervicitis, gingivitis, conjuntivitis, queratitis, endoftalmitis, una infección en pacientes con fibrosis quística o una infección de pacientes neutropénicos febriles.

55 En otra realización, la infección bacteriana se selecciona de uno o más de los siguientes: neumonía bacteriana adquirida en la comunidad (CABP), neumonía adquirida en el hospital (HAP), neumonía bacteriana adquirida en el hospital, neumonía asociada al ventilador (VAP), bacteriemia Infecciones del pie diabético, infecciones por catéter, infecciones no complicadas de la piel y de la estructura de la piel (uSSSI), infecciones complicadas de la piel y de la estructura de la piel (cSSSI), infecciones por enterococos resistentes a la vancomicina u osteomielitis.

60 De acuerdo con otra realización, se describe un método para disminuir o inhibir la cantidad de bacterias en una muestra biológica. Este método comprende poner en contacto dicha muestra biológica con un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

65

El término “muestra biológica”, como se utiliza en el presente documento, incluye cultivos celulares o extractos de los mismos; material de biopsia obtenido de un mamífero o extractos del mismo; y sangre, saliva, orina, heces, semen, lágrimas u otros fluidos corporales o extractos de los mismos. El término “muestra biológica” también incluye organismos vivos, en cuyo caso “poner en contacto un compuesto de esta invención con una muestra biológica” es sinónimo del término “administrar dicho compuesto o composición que comprende dicho compuesto) a un mamífero”.

Los inhibidores de la girasa y/o topoisomerasa IV de esta invención, o sales farmacéuticas de los mismos, se pueden formular en composiciones farmacéuticas para administración a animales o humanos. Estas composiciones farmacéuticas eficaces para tratar o prevenir una infección bacteriana que comprenden el inhibidor de girasa y/o topoisomerasa IV en una cantidad suficiente para disminuir de forma mensurable la cantidad de bacterias y un portador farmacéuticamente aceptable, son otra realización de la presente invención. El término “disminuir considerablemente la cantidad de bacterias”, como se utiliza en este documento, significa un cambio medible en el número de bacterias entre una muestra que contiene dicho inhibidor y una muestra que contiene solo bacterias.

De acuerdo con otra realización, el compuesto de la presente invención es útil para tratar pacientes en el campo veterinario que incluyen, pero no se limitan a, zoológico, laboratorio, compañía humana y animales de granja, incluyendo primates, roedores, reptiles y aves. Ejemplos de dichos animales incluyen, pero no se limitan a, cobayas, hámsters, jerbos, ratas, ratones, conejos, perros, gatos, caballos, cerdos, ovejas, vacas, cabras, ciervos, monos rhesus, monos, tamarindos, monos, babuinos, gorilas, chimpancés, orangutanes, gibones, avestruces, pollos, pavos, patos y gansos.

El término “infecciones no nosocomiales” también se conoce como infecciones adquiridas en la comunidad.

En otra realización, la infección bacteriana se caracteriza por la presencia de uno o más de *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, o *Staphylococcus aureus*.

En otra realización, la infección bacteriana se caracteriza por la presencia de uno o más de *E. coli*, *Moraxella catarrhalis*, o *Haemophilus influenzae*.

En otra realización, la infección bacteriana se caracteriza por la presencia de uno o más de *Clostridium difficile*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, complejo de *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium abscessus*, *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium ulcerans*, *Chlamydophila pneumoniae* y *Chlamydia trachomatis*.

En otra realización, la infección bacteriana se caracteriza por la presencia de uno o más de *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium difficile*, *Moraxella catarrhalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, complejo de *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium abscessus*, *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium ulcerans*, *Chlamydophila pneumoniae*, *Chlamydia trachomatis*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pyogenes* o estreptococos β -hemolíticos.

En algunas realizaciones, la infección bacteriana se caracteriza por la presencia de uno o más de *Staphylococcus aureus* resistente a Meticilina, *Staphylococcus aureus* resistente a Fluoroquinolona, *Staphylococcus aureus* resistente a intermedio de Vancomicina, *Staphylococcus aureus* resistente a Linezolid, *Streptococcus pneumoniae* resistente a Fluoroquinolona, *Streptococcus pneumoniae* resistente a un macrólido, *Streptococcus pneumoniae* resistente a Fluoroquinolona, *Enterococcus faecalis* resistente a Vancomicina, *Enterococcus faecalis* resistente a Linezolid, *Enterococcus faecalis* resistente a Fluoroquinolona, *Enterococcus faecium* resistente a Vancomicina, *Enterococcus faecium* resistente a Linezolid, *Enterococcus faecium* resistente a Fluoroquinolona, *Enterococcus faecium* resistente a Ampicilina, *Haemophilus influenzae* resistente a un macrólido, *Haemophilus influenzae* resistente a β -lactama, *Haemophilus influenzae* resistente a Fluoroquinolona, *Moraxella catarrhalis* resistente a β -lactama, *Staphylococcus epidermidis* resistente a Meticilina, *Staphylococcus epidermidis* resistente a Fluoroquinolona, *Staphylococcus epidermidis* resistente a Vancomicina, *Staphylococcus epidermidis* resistente a Fluoroquinolona, *Mycoplasma pneumoniae* resistente a un macrólido, *Mycobacterium tuberculosis* resistente a Isoniazid, *Mycobacterium tuberculosis* resistente a Rifampin, *Coagulase negative staphylococcus* resistente a Meticilina, *Coagulase negative staphylococcus* resistente a Fluoroquinolona, *Staphylococcus aureus* resistente a intermedio de Glicopéptido, *Staphylococcus aureus* resistente a Vancomicina, *Staphylococcus aureus* resistente a intermedio de Heterovancomicina, resistente a Heterovancomicina *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* resistente a un macrólido-Lincosamida-estreptogramina, *Enterococcus faecalis* resistente a β -lactama, *Enterococcus faecium* resistente a β -lactama, *Streptococcus pneumoniae* resistente a un cetólido, *Streptococcus pyogenes* resistente a un cetólido, *Streptococcus pyogenes* resistente a un macrólido, *Staphylococcus epidermidis* resistente a Vancomicina, *Neisseria gonorrhoeae* resistente a Fluoroquinolona, *Pseudomonas aeruginosa* resistente a múltiples fármacos o *Neisseria gonorrhoeae* resistente a Cefalosporina.

De acuerdo con otra realización, los estafilococos resistentes a Meticilina se seleccionan de *Staphylococcus aureus* resistente a Meticilina, *Staphylococcus epidermidis* resistente a Meticilina, o *Coagulase negative staphylococcus* resistente a Meticilina.

En algunas realizaciones, una forma de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se utiliza para tratar MRSA adquirida en comunidad (es decir, cMRSA).

5 En otras realizaciones, una forma de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se utiliza para tratar organismo resistente a daptomicina que incluye, pero no se limita a, *Enterococcus faecium* resistente a Daptomicina y *Staphylococcus aureus* resistente a Daptomicina.

10 De acuerdo con otra realización, los Estafilococos resistente a Fluoroquinolona se seleccionan de *Staphylococcus aureus* resistente a Fluoroquinolona, *Staphylococcus epidermidis* resistente a Fluoroquinolona, o *Coagulase negative staphylococcus* resistente a Fluoroquinolona.

15 De acuerdo con otra realización, los Estafilococos resistentes un glicopéptido se seleccionan de *Staphylococcus aureus* resistente a intermedio de Glicopéptido, *Staphylococcus aureus* resistente a Vancomicina, *Staphylococcus aureus* resistente a intermedio de Vancomicina, *Staphylococcus aureus* resistente a intermedio de Heterovancomicina, o *Staphylococcus aureus* resistente a Heterovancomicina.

De acuerdo con otra realización, el estafilococo resistente un macrólido-Lincosamida-Streptogramina es *Staphylococcus aureus* resistente un macrólido-Lincosamida-Streptogramina.

20 De acuerdo con otra realización, los Enterococos resistente a Linezolid se seleccionan de *Enterococcus faecalis* resistente a Linezolid, o *Enterococcus faecium* resistente a Linezolid.

25 De acuerdo con otra realización, los Enterococos resistentes un glicopéptidos se seleccionan de *Enterococcus faecium* resistente a Vancomicina o *Enterococcus faecalis* resistente a Vancomicina.

De acuerdo con otra realización, el *Enterococcus faecalis* resistente a β -lactama es *Enterococcus faecium* resistente a β -lactama.

30 De acuerdo con otra realización, el Estreptococo resistente una penicilina es *Streptococcus pneumoniae* resistente una penicilina.

De acuerdo con otra realización, el Estreptococo resistente un macrólido es *Streptococcus pneumoniae* resistente un macrólido.

35 De acuerdo con otra realización, los Estreptococos resistentes un cetólido se seleccionan de *Streptococcus pneumoniae* resistente un macrólido y *Streptococcus pyogenes* resistente un cetólido.

40 De acuerdo con otra realización, el Estreptococo resistente a Fluoroquinolona es *Streptococcus pneumoniae* resistente a Fluoroquinolona.

De acuerdo con otra realización, el Haemophilus resistente a β -lactama es *Haemophilus influenzae* resistente a β -lactama.

45 De acuerdo con otra realización, el Haemophilus resistente a Fluoroquinolona es *Haemophilus influenzae* resistente a Fluoroquinolona.

De acuerdo con otra realización, el Haemophilus resistente un macrólido es *Haemophilus influenzae* resistente un macrólido.

50 De acuerdo con otra realización, el Mycoplasma resistente un macrólido es *Mycoplasma pneumoniae* resistente un macrólido.

De acuerdo con otra realización, el Mycobacterium resistente a Isoniazid es *Mycobacterium tuberculosis* resistente a Isoniazid.

55 De acuerdo con otra realización, el Mycobacterium resistente a Rifampin es *Mycobacterium tuberculosis* resistente a Rifampin.

60 De acuerdo con otra realización, el Moraxella resistente a β -lactama es *Moraxella catarrhalis* resistente a β -lactama.

65 De acuerdo con otra realización, la infección bacteriana se caracteriza por la presencia de uno o más de los siguientes: *Staphylococcus aureus* resistente a Metilina, *Staphylococcus aureus* resistente a Fluoroquinolona, *Staphylococcus aureus* resistente a intermedio de Vancomicina, *Staphylococcus aureus* resistente a Linezolid, *Streptococcus pneumoniae* resistente una penicilina, *Streptococcus pneumoniae* resistente un macrólido, *Streptococcus pneumoniae* resistente a Fluoroquinolona, *Enterococcus faecalis* resistente a Vancomicina, *Enterococcus faecalis* resistente a Linezolid, *Enterococcus faecalis* resistente a Fluoroquinolona, *Enterococcus*

faecium resistente a Vancomicina, *Enterococcus faecium* resistente a Linezolid, *Enterococcus faecium* resistente a Fluoroquinolona, *Enterococcus faecium* resistente a Ampicilina, *Haemophilus influenzae* resistente un macrólido, *Haemophilus influenzae* resistente a β -lactama, *Haemophilus influenzae* resistente a Fluoroquinolona, *Moraxella catarrhalis* resistente a β -lactama, *Staphylococcus epidermidis* resistente a Meticilina, *Staphylococcus epidermidis* resistente a Meticilina, *Staphylococcus epidermidis* resistente a Vancomicina, *Staphylococcus epidermidis* resistente a Fluoroquinolona, *Mycoplasma pneumoniae* resistente un macrólido, *Mycobacterium tuberculosis* resistente a Isoniazid, *Mycobacterium tuberculosis* resistente a Rifampin, *Neisseria gonorrhoeae* resistente a Fluoroquinolona o *Neisseria gonorrhoeae* resistente a Cefalosporina.

De acuerdo con otra realización, la infección bacteriana se caracteriza por la presencia de uno o más de los siguientes: *Staphylococcus aureus* resistente a Meticilina, *Staphylococcus epidermidis* resistente a Meticilina, *Coagulase negative staphylococcus* resistente a Meticilina, *Staphylococcus aureus* resistente a Fluoroquinolona, *Staphylococcus epidermidis* resistente a Fluoroquinolona, *Coagulase negative staphylococcus* resistente a Fluoroquinolona, *Staphylococcus aureus* resistente a Vancomicina, *Staphylococcus aureus* resistente a intermedio de Glicopéptido, *Staphylococcus aureus* resistente a Vancomicina, *Staphylococcus aureus* resistente a intermedio de Vancomicina, *Staphylococcus aureus* resistente a intermedio de Heterovancomicina, *Staphylococcus aureus* resistente a Heterovancomicina, *Enterococcus faecium* resistente a Vancomicina, *Enterococcus faecalis* resistente a Vancomicina, *Streptococcus pneumoniae* resistente una penicilina, *Streptococcus pneumoniae* resistente un macrólido, *Streptococcus pneumoniae* resistente a Fluoroquinolona, *Streptococcus pyogenes* resistente un macrólido, o *Haemophilus influenzae* resistente a β -lactama.

De acuerdo con otra realización, la infección bacteriana se caracteriza por la presencia de uno o más de los siguientes: *Staphylococcus aureus* resistente a Meticilina, *Enterococcus faecium* resistente a Vancomicina, *Enterococcus faecalis* resistente a Vancomicina, *Staphylococcus aureus* resistente a Vancomicina, *Staphylococcus aureus* resistente a intermedio de Vancomicina, *Staphylococcus aureus* resistente a intermedio de Heterovancomicina, *Staphylococcus aureus* resistente a Heterovancomicina, *Pseudomonas aeruginosa* resistente a múltiples fármacos, *Mycobacterium tuberculosis* resistente a Isoniazid, y *Mycobacterium tuberculosis* resistente a Rifampin.

Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de esta invención incluyen aquellas derivadas de ácidos y bases inorgánicos y orgánicos farmacéuticamente aceptables. Ejemplos de sales ácidas adecuadas incluyen acetato, adipato, alginato, aspartato, benzoato, bencenosulfonato, bisulfato, butirato, citrato, alcanforato, canforsulfonato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, formiato, fumarato, glucoheptanoato, glicerofosfato, glicolato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, 2-hidroxi-etanosulfonato, lactato, maleato, malonato, metanosulfonato, 2-naftalensulfonato, nicotinato, nitrato, palmoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, salicilato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, tosilato y undecanoato. Otros ácidos, tales como oxálico, aunque no son en sí mismos farmacéuticamente aceptables, se pueden emplear en la preparación de sales útiles como intermedios para obtener los compuestos de la invención y sus sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables.

Las sales derivadas de bases apropiadas incluyen sales de metales alcalinos (por ejemplo, sodio y potasio), metales alcalinotérreos (por ejemplo, magnesio), amonio y $N^+(\text{alquilo } C_{1-4})_4$. Esta invención también prevé la cuaternización de cualquier grupo que contenga nitrógeno básico de los compuestos divulgados en el presente documento. Se pueden obtener productos solubles o dispersables en agua o en aceite mediante dicha cuaternización.

Las composiciones farmacéuticas de esta invención comprenden un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un portador farmacéuticamente aceptable. Dichas composiciones pueden comprender opcionalmente un agente terapéutico adicional. Dichos agentes incluyen, pero no se limitan a, un antibiótico, un agente antiinflamatorio, un inhibidor de metaloproteasa de la matriz, un inhibidor de lipoxigenasa, un antagonista de citoquina, un inmunosupresor, un agente contra el cáncer, un agente antivírico, una citoquina, un factor de crecimiento, un inmunomodulador, una prostaglandina o un compuesto de hiperproliferación antivascolar.

El término "portador farmacéuticamente aceptable" se refiere a un portador no tóxico que se puede administrar a un paciente, junto con un compuesto de esta invención, y que no destruye la actividad farmacológica del mismo.

Los portadores farmacéuticamente aceptables que se pueden utilizar en las composiciones farmacéuticas de esta invención incluyen, pero no se limitan a, intercambiadores iónicos, alúmina, estearato de aluminio, lecitina, proteínas del suero, tales como albúmina de suero humano, sustancias tampón tales como fosfatos, glicina, ácido sórbico, sorbato de potasio, mezclas de glicéridos parciales de ácidos grasos vegetales saturados, agua, sales o electrolitos, tales como sulfato de protamina, hidrógeno fosfato de disodio, fosfato de hidrógeno de potasio, cloruro de sodio, sales de zinc, sílice coloidal, trisilicato de magnesio, polivinilpirrolidona, sustancias a base de celulosa, polietilenglicol, carboximetilcelulosa de sodio, poliácridatos, ceras, polímeros de bloque de polietileno-polióxipropileno, grasa de lana y sistemas de suministro de fármacos autoemulsionantes (SEDDS) tales como el alfa-tocoferol, polietilenglicol 1000 succinato u otras matrices de suministro polimérico similares.

El término “cantidad farmacéuticamente efectiva” se refiere a una cantidad efectiva para tratar o mejorar una infección bacteriana en un paciente. El término “cantidad profilácticamente efectiva” se refiere a una cantidad efectiva para prevenir o disminuir sustancialmente una infección bacteriana en un paciente.

5 Dependiendo de la afección particular, o del estado de la enfermedad, que se va a tratar o prevenir, se pueden administrar agentes terapéuticos adicionales, que normalmente se administran para tratar o prevenir esa afección, junto con los inhibidores de esta invención. Dichos agentes terapéuticos incluyen, pero no se limitan a, un antibiótico, un agente antiinflamatorio, un inhibidor de metaloproteasa de la matriz, un inhibidor de lipoxigenasa, un antagonista de citoquina, un inmunosupresor, un agente contra el cáncer, un agente antivírico, una citocina, un factor de crecimiento, un inmunomodulador, una prostaglandina o un compuesto de hiperproliferación antivascular.

10 Los compuestos de esta invención se pueden emplear de una manera convencional para controlar los niveles de infecciones bacterianas in vivo y para tratar enfermedades o reducir el avance o la gravedad de los efectos que están mediados por bacterias. Dichos métodos de tratamiento, sus niveles de dosificación y requisitos se pueden seleccionar por aquellos expertos en la técnica a partir de los métodos y técnicas disponibles.

15 Por ejemplo, un compuesto de esta invención se puede combinar con un adyuvante farmacéuticamente aceptable para la administración a un paciente que padece una infección o enfermedad bacteriana de una manera farmacéuticamente aceptable y en una cantidad efectiva para disminuir la gravedad de esa infección o enfermedad.

20 Alternativamente, los compuestos de esta invención se pueden utilizar en composiciones y métodos para tratar o proteger a individuos contra infecciones o enfermedades bacterianas durante periodos de tiempo prolongados. En una realización, los compuestos de esta invención se pueden utilizar en composiciones y métodos para tratar o proteger a individuos contra infecciones o enfermedades bacterianas durante un período de 1-2 semanas. En otra realización, los compuestos de esta invención se pueden utilizar en composiciones y métodos para tratar o proteger a individuos contra infecciones o enfermedades bacterianas durante un período de 4-8 semanas (por ejemplo, en el tratamiento de pacientes con o en riesgo de desarrollar endocarditis u osteomielitis). En otra realización, los compuestos de esta invención se pueden utilizar en composiciones y métodos para tratar o proteger a individuos contra infecciones o enfermedades bacterianas durante un periodo de 8-12 semanas. Los compuestos se pueden emplear en dichas composiciones solos o junto con otros compuestos de esta invención de una manera consistente con la utilización convencional de inhibidores enzimáticos en composiciones farmacéuticas. Por ejemplo, un compuesto de esta invención se puede combinar con adyuvantes farmacéuticamente aceptables empleados convencionalmente en vacunas y administrarse en cantidades profilácticamente efectivas para proteger a los individuos durante un período prolongado de tiempo contra infecciones o enfermedades bacterianas.

35 En algunas realizaciones, los compuestos de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, se pueden utilizar profilácticamente para prevenir una infección bacteriana. En algunas realizaciones, los compuestos de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, se pueden utilizar antes, durante o después de un procedimiento dental o quirúrgico para prevenir infecciones oportunistas tales como aquellas encontradas en la endocarditis bacteriana. En otras realizaciones, los compuestos de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, se pueden utilizar profilácticamente en procedimientos dentales, que incluyen, pero no se limitan a, extracciones, procedimientos periodontales, colocaciones de implantes dentales y cirugía endodóntica. En otras realizaciones, los compuestos de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, se pueden utilizar profilácticamente en procedimientos quirúrgicos que incluyen, pero no se limitan a, cirugía general, cirugía respiratoria (amigdalectomía/adenoidectomía), cirugía gastrointestinal (cirugía de GI superior e intestino delgado electivo, escleroterapia esofágica y dilatación, resecciones del intestino grueso, apendicectomía aguda), cirugía traumatológica (cirugía abdominal penetrante), cirugía genitourinaria (prostatactomía, dilatación uretral, cistoscopia, histerectomía vaginal o abdominal, cesárea), cirugía de trasplante (trasplante de riñón, hígado, páncreas o riñón), cirugía de cabeza y cuello (extirpaciones de la piel, disecciones del cuello, laringectomía, cirugías de cáncer de cabeza y cuello, fracturas mandibulares), cirugía ortopédica (reemplazo total de articulaciones, fracturas abiertas traumáticas), cirugía vascular (procedimientos vasculares periféricos), cirugía cardiorácnica, cirugía de bypass coronario, resección pulmonar y neurocirugía.

55 El término “prevenir una infección bacteriana” como se utiliza en este documento, a menos que se indique lo contrario, significa el uso profiláctico de un antibiótico, tal como un inhibidor de girasa y/o topoisomerasa IV de la presente invención, para prevenir una infección bacteriana. El tratamiento con un inhibidor de girasa y/o topoisomerasa IV se podría realizar de manera profiláctica para prevenir una infección provocada por un organismo que es susceptible al inhibidor de girasa y/o la topoisomerasa IV. Un conjunto general de condiciones en las que se podría considerar el tratamiento profiláctico es cuando un individuo es más vulnerable a la infección debido a, por ejemplo, inmunidad debilitada, cirugía, trauma, presencia de un dispositivo artificial en el cuerpo (temporal o permanente), un defecto anatómico, exposición a altos niveles de bacterias o posible exposición a un patógeno causante de enfermedad. Ejemplos de factores que podrían llevar a una inmunidad debilitada incluyen la quimioterapia, radioterapia, diabetes, la edad avanzada, infección por VIH y el trasplante. Un ejemplo de un defecto anatómico sería un defecto en la válvula cardíaca que aumenta el riesgo de endocarditis bacteriana. Ejemplos de dispositivos artificiales incluyen articulaciones artificiales, clavos quirúrgicos, catéteres, etc. Otro conjunto de situaciones en el que el uso profiláctico de un inhibidor de girasa y/o topoisomerasa IV podría ser apropiado sería

prevenir la propagación de un patógeno entre individuos (directa o indirecta). Un ejemplo específico de uso profiláctico para prevenir la propagación de un patógeno es el uso de un inhibidor de girasa y/o topoisomerasa IV por parte de individuos en una institución de salud (por ejemplo, un hospital o un hogar de ancianos).

- 5 Los compuestos de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, también se pueden administrar conjuntamente con otros antibióticos para aumentar el efecto de la terapia o la profilaxis contra diversas infecciones bacterianas. Cuando los compuestos de esta invención se administran en terapias de combinación con otros agentes, se pueden administrar de forma secuencial o concurrente al paciente. Alternativamente, las composiciones farmacéuticas o profilácticas de acuerdo con esta invención comprenden una combinación de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y otro agente terapéutico o profiláctico.

10 En algunas realizaciones, el agente o agentes terapéuticos adicionales es un antibiótico seleccionado de una penicilina natural, una penicilina resistente a la penicilinasas, una penicilina antipseudomonal, una aminopenicilina, una cefalosporina de primera generación, una cefalosporina de segunda generación, una cefalosporina de tercera generación, una cefalosporina de cuarta generación, un carbapenem, una cefamicina, una quinolona, una fluoroquinolona, un aminoglucósido, un macrólido, un cetólido, una polimixina, una tetraciclina, un glicopéptido, una estreptogramina, una oxazolidinona, rifamicina o sulfamida.

15 En algunas realizaciones, el agente o agentes terapéuticos adicionales es un antibiótico seleccionado de una penicilina, una cefalosporina, una quinolona, un aminoglucósido o una oxazolidinona.

20 En otras realizaciones, los agentes terapéuticos adicionales se seleccionan de una penicilina natural que incluye penicilina G benzatínica, penicilina G y penicilina V, de una penicilina resistente a la penicilinasas que incluye Cloxacilina, Dicloxacilina, Nafcilina y Oxacilina, de una penicilina antipseudomonal que incluye Carbenicilina, Mezlocilina, Piperilina, Piperilina/tazobactam, Ticarcilina y Ticarcilina/Clavulanato, de una aminopenicilina que incluye Amoxicilina, Ampicilina y Ampicilina/Sulbactam, de una cefalosporina de primera generación que incluye Cefazolin, Cefadroxil, Cefalexina y Cephadrina, de una cefalosporina de segunda generación que incluye Cefaclor, Cefaclor-CD, Cefamandol, Cefonacid, Cefprozil, Loracarbef y Cefuroxima, de una cefalosporina de tercera generación que incluye Cefdinir, Cefixima, Cefoperazona, Cefotaxima, Cefpodoxima, Ceftazidima, Ceftibuten, Ceftizoxime y Ceftriaxona, de una cefalosporina de cuarta generación que incluye Cefepime, Ceftarolina y Ceftobiprol, de una Cefamicina que incluye Cefotetan y Cefoxitin, de un carbapenem que incluye Doripenem, Imipenem y Meropenem, de un monobactam que incluye Aztreonam, de una quinolona que incluye Cinoxacina, Ácido Nalidíxico, Ácido Oxolínico y caco Pipemídico, de una fluoroquinolona que incluye Besifloxacina, Ciprofloxacina, Enoxacina, Gatifloxacina, Grepafloxacina, Levofloxacina, Lomefloxacina, Moxifloxacina, Norfloxacina, Ofloxacina y Esparfloxacina, de un aminoglicosido que incluye Amikacina, Gentamicina, Kanamicina, Neomicina, Netilmicina, Espectinomina, Estreptomina y Tobramicina, de un macrólido que incluye Azitromicina, Claritromicina y Eritromicina, de un cetólido que incluye Telitromicina, de una tetraciclina que incluye Clortetraciclina, Demeclociclina, Doxiciclina, Minociclina y Tetraciclina, de un glicopéptido que incluye Oritavancina, Dalbavancina, Telavancina, Teicoplanin y Vancomicina, de una estreptogramina que incluye Dalfopristina/quinupristina, de una oxazolidinona que incluye Linezolid, de una Rifamicina que incluye Rifabutin y Rifampin y de otros antibióticos que incluyen bactitracina, colistina, Tigacilo, Daptomicina, cloramfenicol, clindamicina, isoniazid, metronidazol, mupirocin, polimixina B, pirazinamida, trimetoprim/sulfametoxazol y sulfisoxazol.

25 En otras realizaciones, los agentes terapéuticos adicionales se seleccionan de una penicilina natural que incluye Penicilina G, de una penicilina resistente a penicilinasas que incluye Nafcilina y Oxacilina, de una penicilina antipseudomonal que incluye Piperilina/tazobactam, de una aminopenicilina que incluye Amoxicilina, de una cefalosporina de primera generación que incluye Cefalexina, de una cefalosporina de segunda generación que incluye Cefaclor, Cefaclor-CD y Cefuroxima, de una cefalosporina de tercera generación que incluye Ceftazidima y Ceftriaxona, de una cefalosporina de cuarta generación que incluye Cefepime, de un carbapenem que incluye Imepenem, Meropenem, Ertapenem, Doripenem, Panipenem y Biapenem, una fluoroquinolona que incluye Ciprofloxacina, Gatifloxacina, Levofloxacina y Moxifloxacina, de un aminoglucósido que incluye Tobramicina, de un macrólido que incluye Azitromicina y Claritromicina, de una Tetraciclina que incluye Doxiciclina, de un glicopéptido que incluye Vancomicina, de una Rifamicina que incluye Rifampin y de otros antibióticos que incluyen isoniazid, pirazinamida, Tigacil, Daptomicina o trimetoprim/sulfametoxazol.

30 En algunas realizaciones, una forma sólida de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se puede administrar para el tratamiento de una infección gram positiva. En algunas realizaciones, la composición es un sólido, líquido (por ejemplo, una suspensión), o una composición iv (por ejemplo, una forma del compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se disuelve en un líquido y se administra iv). En algunas realizaciones, la composición que incluye un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra en combinación con un agente antibiótico adicional, por ejemplo, una penicilina natural, una penicilina resistente a penicilinasas, una penicilina antipseudomonal, una aminopenicilina, una cefalosporina de primera generación, una cefalosporina de segunda generación, una cefalosporina de tercera generación, una cefalosporina de cuarta generación, un carbapenem, una cefamicina, una quinolona, una fluoroquinolona, un aminoglucósido, un macrólido, un cetólido, una polimixina, una tetraciclina, un glicopéptido, una streptogramina, una oxazolidinona, una rifamicina, o una sulfonamida. En algunas realizaciones, la

composición que incluye una forma sólida de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra por vía oral, y el agente antibiótico adicional, por ejemplo, una penicilina natural, una penicilina resistente a penicilinas, una penicilina antipseudomonal, una aminopenicilina, una cefalosporina de primera generación, una cefalosporina de segunda generación, una cefalosporina de tercera generación, una cefalosporina de cuarta generación, un carbapenem, una cefamicina, una quinolona, una fluoroquinolona, un aminoglicósido, un macrólido, un cetólido, una polimixina, una tetraciclina, un glicopéptido, una estreptogramina, una oxazolidinona, una rifamicina, o una sulfonamida se administra iv.

En algunas realizaciones, una forma sólida de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se puede administrar para el tratamiento de una infección gram negativa. En algunas realizaciones, la composición es un sólido, líquido (por ejemplo, una suspensión), o una composición iv (por ejemplo, una forma de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se disuelve en un líquido y se administra iv). En algunas realizaciones la composición que incluye un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra en combinación con un agente antibiótico adicional, seleccionado de una: penicilina natural, una penicilina resistente a penicilinas, una penicilina antipseudomonal, una aminopenicilina, una cefalosporina de primera generación, una cefalosporina de segunda generación, una cefalosporina de tercera generación, una cefalosporina de cuarta generación, un carbapenem, una cefamicina, un monobactam, una quinolona, una fluoroquinolona, un aminoglicósido, un macrólido, un cetólido, una polimixina, tetraciclina o una sulfonamida. En algunas realizaciones, la composición que incluye una forma sólida de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra por vía oral, y el agente antibiótico adicional, por ejemplo, una penicilina natural, una penicilina resistente a penicilinas, una penicilina antipseudomonal, una aminopenicilina, una cefalosporina de primera generación, una cefalosporina de segunda generación, una cefalosporina de tercera generación, una cefalosporina de cuarta generación, un carbapenem, una cefamicina, un monobactam, una quinolona, una fluoroquinolona, un aminoglicósido, un macrólido, un cetólido, una polimixina, tetraciclina o una sulfonamida se administra por vía oral. En algunas realizaciones, el agente terapéutico adicional se administra iv.

Los agentes terapéuticos adicionales descritos anteriormente se pueden administrar por separado, como parte de un régimen de dosificación múltiple, de la composición que contiene inhibidor. Alternativamente, estos agentes pueden ser parte de una forma de dosificación única, mezclada junto con el inhibidor en una sola composición.

Las composiciones farmacéuticas de esta invención se pueden administrar por vía oral, parenteral, por pulverización de inhalación, por vía tópica, rectal, nasal, bucal, vaginal o a través de un depósito implantado. Las composiciones farmacéuticas de esta invención pueden contener cualquier portador, adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable no tóxico convencional. En algunos casos, el pH de la formulación se puede ajustar con ácidos, bases o tampones farmacéuticamente aceptables para mejorar la estabilidad del compuesto formulado o su forma de suministro. El término parenteral como se utiliza en este documento incluye técnicas de inyección o infusión subcutánea, intracutánea, intravenosa, intramuscular, intraarticular, intrasinovial, intrasternal, intratecal, intralesional e intracraneal.

Las composiciones farmacéuticas pueden estar en forma de una preparación inyectable estéril, por ejemplo, como una suspensión acuosa u oleaginosas inyectable estéril. Esta suspensión se puede formular de acuerdo con técnicas conocidas en la materia utilizando agentes dispersantes o humectantes adecuados (tales como, por ejemplo, Tween 80) y agentes de suspensión. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o solvente no tóxico parenteralmente aceptable, por ejemplo, como una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y solventes aceptables que se pueden emplear están el manitol, agua, solución de Ringer y solución de cloruro de sodio isotónica. Adicionalmente, los aceites fijos estériles se emplean convencionalmente como un solvente o medio de suspensión. Para este propósito, se puede emplear cualquier aceite fijo insípido, que incluyen mono o diglicéridos sintéticos. Los ácidos grasos, tales como el ácido oleico y sus derivados de glicéridos, son útiles en la preparación de inyectables, al igual que los aceites naturales farmacéuticamente aceptables, como el aceite de oliva o el aceite de ricino, especialmente en sus versiones polioxiethyladas. Estas soluciones o suspensiones de aceite también pueden contener un diluyente o dispersante de alcohol de cadena larga, como los descritos en Pharmacopeia Helvetica, o un alcohol similar.

Las composiciones farmacéuticas de esta invención se pueden administrar por vía oral en cualquier forma de dosificación aceptable por vía oral que incluye, pero no se limita a, cápsulas, comprimidos y suspensiones y soluciones acuosas. En el caso de comprimidos para uso oral, los vehículos que se utilizan comúnmente incluyen lactosa y almidón de maíz. Los agentes lubricantes, tales como el estearato de magnesio, también suelen agregarse. Para la administración oral en forma de cápsula, los diluyentes útiles incluyen lactosa y almidón de maíz seco. Cuando se administran por vía oral suspensiones y soluciones acuosas y propilenglicol, el ingrediente activo se combina con agentes emulsionantes y de suspensión. Si se desea, se pueden agregar ciertos agentes edulcorantes y/o saborizantes y/o colorantes.

Las composiciones farmacéuticas de esta invención también se pueden administrar en forma de supositorios para administración rectal. Estas composiciones se pueden preparar al mezclar un compuesto de esta invención con un excipiente no irritante adecuado que sea sólido a temperatura ambiente pero líquido a la temperatura rectal y, por lo

tanto, se fundirá en el recto para liberar los componentes activos. Dichos materiales incluyen, pero no se limitan a, manteca de cacao, cera de abeja y polietilenglicoles.

5 La administración tópica de las composiciones farmacéuticas de esta invención es especialmente útil cuando el tratamiento deseado implica áreas u órganos fácilmente accesibles mediante aplicación tópica. Para la aplicación
tópica a la piel, la composición farmacéutica se debe formular con una pomada adecuada que contenga los
componentes activos suspendidos o disueltos en un portador. Los portadores para la administración tópica de los
compuestos de esta invención incluyen, pero no se limitan a, aceite mineral, petróleo líquido, petróleo blanco,
propilenglicol, polioxietileno, polioxipropileno, cera emulsionante y agua. Alternativamente, la composición
10 farmacéutica se puede formular con una loción o crema adecuada que contiene el compuesto activo suspendido o
disuelto en un portador. Los portadores adecuados incluyen, pero no se limitan a, aceite mineral, monoestearato de
sorbitán, polisorbato 60, cera de ésteres cetílicos, alcohol cetearílico, 2-octildodecanol, alcohol bencílico y agua. Las
composiciones farmacéuticas de esta invención también pueden aplicarse tópicamente al tracto intestinal inferior
mediante una formulación de supositorio rectal o en una formulación de enema adecuada. Los parches
15 transdérmicos administrados por vía tópica también se incluyen en esta invención.

Las composiciones farmacéuticas de esta invención se pueden administrar mediante aerosol nasal o inhalación.
Dichas composiciones se preparan de acuerdo con técnicas bien conocidas en la técnica de la formulación
farmacéutica y se pueden preparar como soluciones en solución salina, empleando alcohol bencílico u otros
20 conservantes adecuados, promotores de la absorción para mejorar la biodisponibilidad, fluorocarbonos y/u otros
agentes solubilizantes o dispersantes conocidos en la técnica.

De acuerdo con otra realización, los compuestos de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de los
mismos, también se pueden suministrar por implantación (por ejemplo, quirúrgicamente), tal como con un dispositivo
25 implantable o permanente. Un dispositivo implantable o permanente puede diseñarse para residir de forma
permanente o temporal en un sujeto. Los ejemplos de dispositivos implantables y permanentes incluyen, pero no se
limitan a, lentes de contacto, catéteres venosos centrales y conectores sin aguja, tubos endotraqueales, dispositivos
intrauterinos, válvulas cardíacas mecánicas, marcapasos, catéteres de diálisis peritoneal, prótesis articulares, tales
como reemplazos de cadera y rodilla, tubos de timpanostomía, catéteres urinarios, prótesis de voz, stents, bombas
30 de suministro, filtros vasculares y composiciones de liberación de control implantables. Las biopelículas pueden ser
perjudiciales para la salud de los pacientes con dispositivos médicos implantables o permanentes, ya que introducen
un sustrato artificial en el cuerpo y pueden causar infecciones persistentes. Por lo tanto, proporcionar compuestos de
fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en o sobre el dispositivo implantable o
permanente puede prevenir o reducir la producción de una biopelícula. Adicionalmente, los dispositivos implantables
35 o permanentes se pueden utilizar como un depósito o reservorio de compuestos de fórmula (I), o una sal
farmacéuticamente aceptable de los mismos. Cualquier dispositivo implantable o permanente se puede utilizar para
suministrar compuestos de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, siempre que a) el
dispositivo, compuestos de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, y cualquier
composición farmacéutica que incluya los compuestos de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de los
40 mismos, son biocompatibles, y b) que el dispositivo puede suministrar o liberar una cantidad efectiva de compuestos
de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, para conferir un efecto terapéutico en el
paciente tratado.

La administración de agentes terapéuticos a través de dispositivos implantables o permanentes es conocida en la
45 técnica. Ver, por ejemplo, "Recent Developments in Coated Stents" by Hofma et al. published in Current
Interventional Cardiology Reports 2001, 3:28-36. Otras descripciones de dispositivos implantables se pueden
encontrar en las patentes de Estados Unidos Números 6,569,195 y 6,322,847; y los números de solicitud de patente
de Estados Unidos 2004/0044405, 2004/0018228, 2003/0229390, 2003/0225450, 2003/0216699 y 2003/0204168.

50 En algunas realizaciones, el dispositivo implantable es un stent. En una realización específica, un stent puede incluir
cables de malla entrelazados. Cada cable puede incluir cables metálicos para soporte estructural y cables
poliméricos para suministrar el agente terapéutico. El alambre polimérico se puede dosificar al sumergir el polímero
en una solución del agente terapéutico. Alternativamente, el agente terapéutico se puede incorporar en el alambre
polimérico durante la formación del alambre a partir de soluciones precursoras poliméricas.

55 En otras realizaciones, los dispositivos implantables o permanentes se pueden recubrir con recubrimientos
poliméricos que incluyen el agente terapéutico. El recubrimiento polimérico puede diseñarse para controlar la
velocidad de liberación del agente terapéutico. La liberación controlada de agentes terapéuticos puede utilizar
diversas tecnologías. Se conocen dispositivos que tienen una capa o recubrimiento monolítico que incorpora una
60 solución y/o dispersión heterogénea de un agente activo en una sustancia polimérica, en la que la difusión del
agente es limitante de la velocidad, ya que el agente se difunde a través del polímero a la interfaz polímero-fluido y
se libera en el fluido circundante. En algunos dispositivos, una sustancia soluble también se disuelve o dispersa en
el material polimérico, de modo que se dejan poros o canales adicionales después de que el material se disuelve. Un
dispositivo matricial también está generalmente limitado a la difusión, pero los canales u otra geometría interna del
65 dispositivo también desempeñan un papel en la liberación del agente al fluido. Los canales pueden ser canales
preexistentes o canales dejados por el agente liberado u otras sustancias solubles.

Los dispositivos erosionables o degradables tienen normalmente el agente activo físicamente inmovilizado en el polímero. El agente activo se puede disolver y/o dispersar en todo el material polimérico. El material polimérico a menudo se degrada hidrolíticamente con el tiempo mediante la hidrólisis de enlaces lábiles, lo que permite que el polímero se erosione en el fluido, liberando el agente activo en el fluido. Los polímeros hidrófilos tienen una tasa generalmente más rápida de erosión en relación con los polímeros hidrófobos. Se considera que los polímeros hidrófobos tienen una difusión casi puramente superficial del agente activo, que tiene erosión desde la superficie hacia el interior. Se considera que los polímeros hidrófilos permiten que el agua penetre en la superficie del polímero, lo que permite la hidrólisis de los enlaces lábiles debajo de la superficie, lo que puede conducir a una erosión homogénea o masiva del polímero.

El recubrimiento del dispositivo implantable o permanente puede incluir una mezcla de polímeros que tienen cada uno una velocidad de liberación diferente del agente terapéutico. Por ejemplo, el recubrimiento puede incluir un copolímero de ácido poliláctico/óxido de polietileno (PLA-PEO) y un copolímero de ácido poliláctico/policaprolactona (PLA-PCL). El copolímero de ácido poliláctico/óxido de polietileno (PLA-PEO) puede exhibir una mayor tasa de liberación de agente terapéutico en relación con el copolímero de ácido poliláctico/policaprolactona (PLA-PCL). Las cantidades relativas y las tasas de dosificación del agente terapéutico suministrado a lo largo del tiempo pueden controlarse al controlar las cantidades relativas de los polímeros de liberación más rápida en relación con los polímeros de liberación más lenta. Para mayores tasas de liberación inicial, la proporción de polímero de liberación más rápida se puede aumentar en relación con el polímero de liberación más lenta. Si se desea liberar la mayor parte de la dosificación durante un largo período de tiempo, la mayor parte del polímero puede ser el polímero de liberación más lenta. El dispositivo se puede recubrir al rociar el dispositivo con una solución o dispersión de polímero, agente activo y solvente. El solvente se puede evaporar, dejando un recubrimiento de polímero y agente activo. El agente activo se puede disolver y/o dispersar en el polímero. En algunas realizaciones, los copolímeros se pueden extrudir sobre el dispositivo.

Niveles de dosificación entre aproximadamente 0.01 y aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal por día, preferiblemente entre 0.5 y aproximadamente 75 mg/kg de peso corporal por día y lo más preferiblemente entre aproximadamente 1 y 50 mg/kg de peso corporal por día del compuesto de ingrediente activo. Son útiles en una monoterapia para la prevención y tratamiento de infecciones bacterianas.

Normalmente, las composiciones farmacéuticas de esta invención se administrarán de aproximadamente 1 a 5 veces por día o alternativamente, como una infusión continua. Alternativamente, las composiciones de la presente invención se pueden administrar en una formulación pulsátil. Dicha administración se puede utilizar como una terapia crónica o aguda. La cantidad de ingrediente activo que se puede combinar con los materiales portadores para producir una forma de dosificación única variará dependiendo del anfitrión tratado y el modo particular de administración. Una preparación típica contendrá de aproximadamente un 5% a aproximadamente un 95% de compuesto activo (p/p). Preferiblemente, dichas preparaciones contienen desde aproximadamente 20% hasta aproximadamente 80% del compuesto activo.

Cuando las composiciones de esta invención comprenden una combinación de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y uno o más agentes terapéuticos o profilácticos adicionales, tanto el compuesto como el agente adicional deben estar presentes en niveles de dosificación entre aproximadamente el 10% al 80% de la dosis normalmente administrada en un régimen de monoterapia.

Tras la mejora de la afección del paciente, se puede administrar una dosis de mantenimiento de un compuesto, composición o combinación de esta invención, si es necesario. Posteriormente, la dosis o la frecuencia de administración, o ambas, pueden reducirse, en función de los síntomas, a un nivel en el cual la condición mejorada se retiene cuando los síntomas se han aliviado al nivel deseado, el tratamiento debe cesar. Sin embargo, los pacientes pueden requerir tratamiento intermitente a largo plazo ante cualquier recurrencia o síntomas de la enfermedad.

Como apreciará el experto en la materia, se pueden requerir dosis más bajas o más altas que las mencionadas anteriormente. La dosis específica y los regímenes de tratamiento para cualquier paciente en particular dependerán de una variedad de factores, que incluyen la actividad del compuesto específico empleado, la edad, peso corporal, estado general de salud, sexo, dieta, tiempo de administración, tasa de excreción, combinación de fármacos, gravedad y el curso de la enfermedad, y la disposición del paciente a la enfermedad y el juicio del médico tratante.

De acuerdo con otra realización, la invención proporciona métodos para tratar o prevenir una infección bacteriana o estado patológico, que comprende la etapa de administrar a un paciente cualquier compuesto, composición farmacéutica o combinación descrita en el presente documento. El término "paciente", como se utiliza en el presente documento, significa un animal, preferiblemente un mamífero, y lo más preferiblemente un humano.

Los compuestos de esta invención también son útiles como reactivos comerciales que se unen eficazmente a las enzimas girasa B y/o topoisomerasa IV. Como reactivos comerciales, los compuestos de esta invención, y sus derivados, se pueden utilizar para bloquear la actividad de la girasa B y/o topoisomerasa IV en ensayos bioquímicos

o celulares para la girasa bacteriana B y/o topoisomerasa IV o sus homólogos o se pueden derivar para unirse a una resina estable como un sustrato atado para aplicaciones de cromatografía de afinidad. Estos y otros usos que caracterizan los inhibidores de girasa B y/o topoisomerasa IV comerciales serán evidentes para los expertos en la técnica.

5 Para que esta invención se entienda mejor, se exponen los siguientes esquemas y ejemplos. Estos ejemplos son solo para fines ilustrativos y no deben interpretarse como limitantes del alcance de la invención de ninguna manera.

Las siguientes definiciones describen los términos y abreviaturas utilizadas en este documento:

Ac	acetilo
Bu	butilo
Et	etilo
PH	fenilo
Me	metilo
THF	tetrahidrofurano
DCM	diclorometano
CH ₂ Cl ₂	diclorometano
EtOAc	acetato de etilo
CH ₃ CN	acetonitrilo
EtOH	etanol
Et ₂ O	éter de dietilo
MeOH	metanol
MTBE	éter de metil tert-butilo
DMF	N,N-dimetilformamida
DMA	N,N-dimetilacetamida
DMSO	sulfóxido de dimetilo
HOAc	ácido acético
TEA	triethylamina
TFA	ácido trifluoroacético
TFAA	anhídrido trifluoroacético
Et ₃ N	triethylamina
DIPEA	diisopropiletilamina
DIEA	diisopropiletilamina
K ₂ CO ₃	carbonato de potasio
Na ₂ CO ₃	carbonato de sodio
Na ₂ S ₂ O ₃	tiosulfato de sodio
Cs ₂ CO ₃	carbonato de cesio
NaHCO ₃	bicarbonato de sodio
NaOH	hidróxido de sodio
Na ₂ SO ₄	sulfato de sodio
MgSO ₄	sulfato de magnesio
K ₃ PO ₄	fosfato de potasio
NH ₄ Cl	cloruro de amonio
LC/MS	cromatografía líquida/espectros de masas
GCMS	espectros de masas de Cromatografía de gases
HPLC	cromatografía líquida de alto rendimiento
GC	Cromatografía de gases
LC	Cromatografía líquida
IC	Cromatografía iónica
IM	Intramuscular
CFU/cfu	unidades formadoras de colonia
MIC	Concentración inhibidora mínima
Hr o h	horas
atm	atmósferas
rt o RT	temperatura ambiente
TLC	cromatografía de capa fina
HCl	ácido clorhídrico
H ₂ O	agua
EtNCO	isocianato de etilo
Pd/C	paladio sobre carbono
NaOAc	acetato de sodio
H ₂ SO ₄	ácido sulfúrico
N ₂	gas de nitrógeno
H ₂	gas de hidrógeno
n-BuLi	n-butilo litio
DI	desionizado

Pd(OAc) ₂	acetato de paladio (II)
PPh ₃	trifenilfosfina
i-PrOH	alcohol isopropílico
NBS	N-bromosuccinimida
Pd[(Ph ₃)P] ₄	tetrakis(trifenilfosfina)paladio(0)
PTFE	politetrafluoroetileno
rpm	revoluciones por minuto
SM	material de partida
Equiv.	Equivalentes
¹ H-RMN	Resonancia magnética nuclear de protones

Síntesis de los compuestos

Ejemplos

5

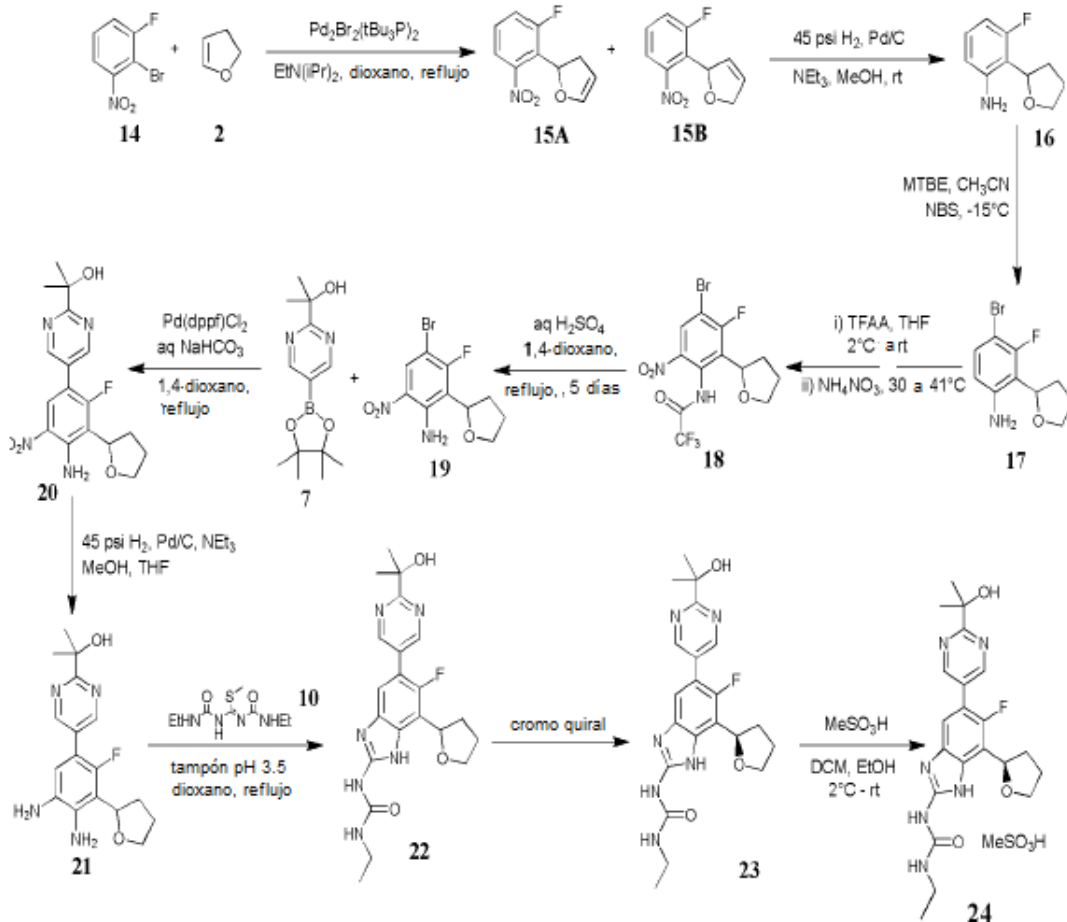
El compuesto de 6 fluoro benzimidazolil urea

Síntesis de (R)-1-etil-3-(6-fluoro-5-(2-(2-hidroxiopropan-2-il)pirimidin-5-il)-7-(tetrahidrofuran-2-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)urea

10

El Esquema 3 proporciona un método para preparar el compuesto de 6-fluoro benzoimidazolil urea.

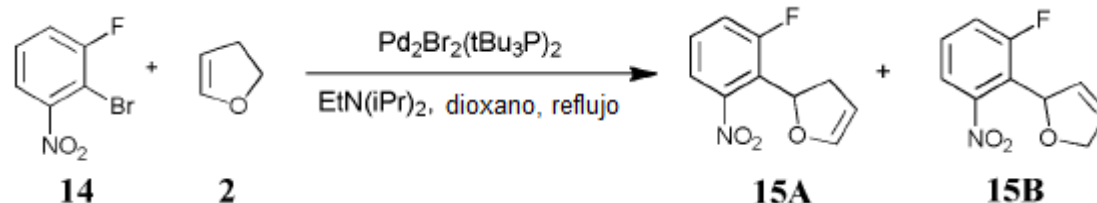
Esquema 3



15

Ejemplo 1.a

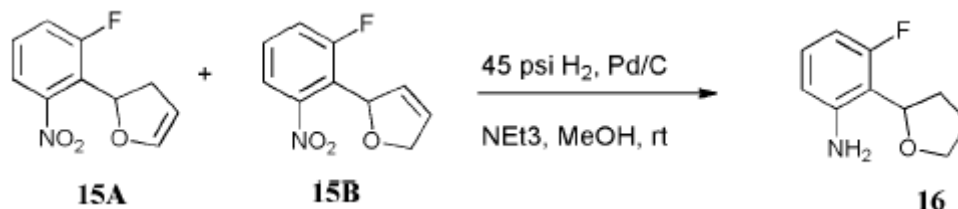
Preparación de 2-(2-fluoro-6-nitro-fenil)-2,3-dihidrofurano (15A) y 2-(2-fluoro-6-nitrofenil)-2,5-dihidrofurano (15B)



- 5 2-Bromo-1-fluoro-3-nitro-benceno (14) (200.3 g, 98%, 892.3 mmol, Bosche F6657), 1,4-dioxano (981.5 mL, Sigma-Aldrich 360481), y 2,3-dihidrofurano (2) (341.1 mL, 99%, 4.462 mol, Aldrich 200018) se cargaron en un matraz de reacción, seguido por N,N-diisopropiltilamina (155.4 mL, 892.3 mmol, Sigma-Aldrich 550043) y dímero de bromo(tri-tert-butilfosfina)paladio(I) (6.936 g, 8.923 mmol, Johnson Matthey C4099). La mezcla se agitó a reflujo durante 2 hrs (La HPLC mostró 98% de consumo del arilbromuro de partida). La mezcla de reacción se dejó enfriar; el precipitado se eliminó mediante filtración, se enjuagó con EtOAc, y el filtrado se concentró en vacío hasta un aceite semisólido marrón rojizo oscuro. El aceite semisólido se disolvió en CH_2Cl_2 , se eluyó a través de un tapón de sílice con CH_2Cl_2 , y se concentró en vacío dando una mezcla de 15A y 15B como un aceite ámbar oscuro (291.3 g). El producto crudo se llevó adelante sin más purificación. El producto principal fue 2-(2-fluoro-6-nitro-fenil)-2,3-dihidrofurano (15A) (96%): LCMS (columna C18 que se eluye con gradiente de CH_3CN /agua al 10-90% durante 5 minutos con modificador de ácido fórmico) M+1: 210.23 (3.13 min); ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ 7.54 (dt, J = 8.0, 1.2 Hz, 1H), 7.43 (td, J = 8.2, 5.2 Hz, 1H), 7.32 (ddd, J = 9.7, 8.3, 1.3 Hz, 1H), 6.33 (dd, J = 4.9, 2.4 Hz, 1H), 5.80 (t, J = 10.9 Hz, 1H), 5.06 (q, J = 2.4 Hz, 1H), 3.18 - 3.07 (m, 1H), 2.94 - 2.82 (m, 1H) ppm. El producto menor fue 2-(2-fluoro-6-nitro-fenil)-2,5-dihidrofurano (15B) (4%): GCMS (columna Agilent HP-5MS 30 m x 250 mm x 0.25 mm calentando a 60°C durante 2 min a 300°C durante 15 min con una velocidad de flujo 1 mL/min) M+1: 210 (11.95 min). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ 7.47 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.43 - 7.34 (m, 1H), 7.30 - 7.23 (m, 1H), 6.21 - 6.15 (m, 1H), 6.11 - 6.06 (m, 1H), 5.97 - 5.91 (m, 1H), 4.89 - 4.73 (m, 2H) ppm.

Ejemplo 1.b

- 25 Preparación de 3-fluoro-2-tetrahidrofuran-2-il-anilina (16)

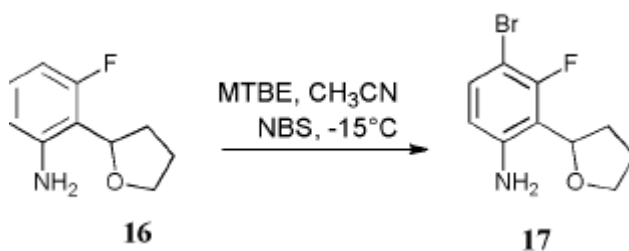


- 30 Paladio sobre carbono al 5% (37.3 g, 50% de humedad, 8.76 mmol, Aldrich 330116) se colocó en una botella Parr bajo nitrógeno, seguido por MeOH (70 mL, JT-Baker 909333). La mezcla cruda de 2-(2-fluoro-6-nitro-fenil)-2,3-dihidrofurano y 2-(2-fluoro-6-nitrofenil)-2,5-dihidrofurano (15A&15B) (186.6 g, 892.1 mmol) se disolvió en MeOH (117 mL) se agregó a la botella Parr, seguido por NEt_3 (124.3 mL, 892.1 mmol, Sigma-Aldrich 471283). La botella se colocó sobre un agitador Parr y se saturó con H_2 . Después de agregar 45 psi (310 kPa) H_2 , la mezcla de reacción se agitó hasta que se completó el consumo del material de partida (HPLC y LCMS mostraron reacción completa). La mezcla de reacción se purgó con nitrógeno, se filtró a través de Celite™ y se enjuagó con EtOAc. El filtrado se concentró sobre un evaporador rotatorio dando un aceite marrón, que se disolvió en Et_2O y se lavó con agua (2x). La fase de éter se extrajo con HCl 1 N acuoso (5 x 250 mL), que se lavó con Et_2O (3x) y luego se basificó con NaOH 6 N acuoso a pH 12-14. La fase acuosa básica se extrajo con diclorometano (CH_2Cl_2 , 4x), y el extracto orgánico combinado se lavó con NH_4Cl acuoso saturado, se secó sobre MgSO_4 , y se filtró a través de una almohadilla de sílice que se eluye con CH_2Cl_2 un EtOAc/hexano al 25%. El filtrado deseado se concentró bajo presión reducida dando 16 como un aceite marrón claro (121.8 g, 84% de GCMS más pureza de RMN). GCMS (columna Agilent HP-5MS 30 m x 250 mm x 0.25 mm calentando a 60°C durante 2 min a 300°C durante 15 min con una velocidad de flujo de 1 mL/min) M+1: 182.0 (11.44 min). LCMS (columna C18 que se eluye con gradiente de CH_3CN /agua al 10-90% durante 5 minutos con modificador de ácido fórmico) M+1: 182.10 (2.61 min). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ 6.97 (td, J = 8.1, 6.3 Hz, 1H), 6.43 - 6.35 (m, 2H), 5.21 - 5.13 (m, 1H), 4.54 (s, 2H), 4.16 - 4.07 (m, 1H), 3.90 - 3.81 (m, 1H), 2.23 - 2.00 (m, 4H) ppm. Se obtuvieron cultivos adicionales como sigue: la fase de éter combinada se lavó con NaHCO_3 acuoso saturado, solución salina, se secó sobre Na_2SO_4 , se decantó, y se concentró bajo presión reducida. El aceite se destiló en vacío (ca. 15 torr) recolectando el destilado a 101-108°C. A una solución agitada del aceite destilado en EtOH (1 volumen) a 2°C se agregó lentamente HCl 5 M (1 eq) en iPrOH. La suspensión resultante se llevó a temperatura ambiente, se diluyó con EtOAc (3 volúmenes, vol/vol), y se agitó durante 2 hrs. Un sólido blanco se recolectó mediante filtración, se lavó con EtOAc, y se secó bajo presión reducida dando un segundo cultivo de producto como la sal de HCl. El licor madre se concentró a una suspensión, se diluyó con EtOAc y el sólido

recolectado mediante filtración, se lavó con EtOAc, y se secó en vacío dando la sal de HCl como un tercer cultivo del producto. LCMS (columna C18 que se eluye con gradiente de CH₃CN/agua al 10-90% durante 5 minutos con modificador de ácido fórmico) M+1: 182.10 (2.58 min). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 10.73 (br.s, 3H), 7.66 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.33 (td, J = 8.2, 5.9 Hz, 1H), 7.13 - 7.05 (m, 1H), 5.26 (dd, J = 9.0, 6.5 Hz, 1H), 4.38 - 4.28 (m, 1H), 4.00 - 3.91 (m, 1H), 2.59 - 2.46 (m, 1H), 2.30 - 1.95 (m, 3H) ppm. El rendimiento general de los tres cultivos fueron 76%.

Ejemplo 1.c

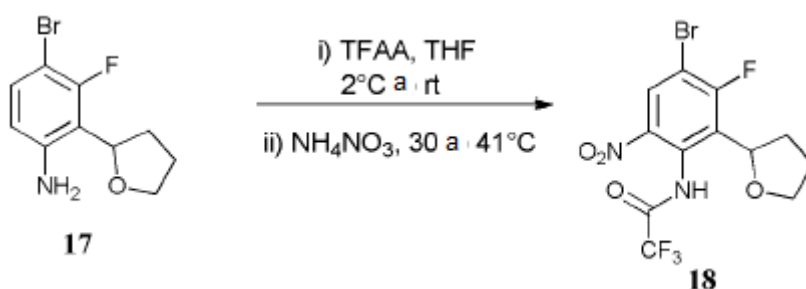
Preparación de 4-bromo-3-fluoro-2-tetrahidrofuran-2-il-anilina (17).



A una solución agitada de 3-fluoro-2-tetrahidrofuran-2-il-anilina (16) (131.9 g, 92%, 669.7 mmol) en éter de metil tert-butilo (1.456 L) y acetonitrilo (485 mL) enfriada a -20°C se agregó N-bromosuccinimida (120.4 g, 99%, 669.7 mmol, Aldrich B81255) en 3 porciones que mantienen una temperatura de reacción por debajo de aproximadamente -15°C. Después de adición completa, se continuó la agitación a -15 a -10°C durante 30 minutos. ¹H RMN de una alícuota preparada mostró 96% de consumo de anilina de partida. Se agregaron otros 4.82 g de NBS a la mezcla de reacción y se agitó a -10°C durante 30 minutos adicionales. Se agregó Na₂S₂O₃ 1 N acuoso (670 mL) a la mezcla de reacción. El baño frío se eliminó, la mezcla se agitó durante 20 minutos, luego se diluyó con EtOAc. Las capas se separaron. La fase orgánica se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado (2x), agua, y solución salina, se secó sobre Na₂SO₄, se decantó, y se concentró bajo presión reducida dando un aceite ámbar oscuro. El residuo se diluyó con hexano y se eluyó a través de un tapón corto de sílice con 25% de EtOAc/hexano a 50% de EtOAc/hexano. El filtrado deseado se concentró en vacío dando 17 como un aceite ámbar oscuro (182.9 g, 90% de rendimiento; 86% de pureza de RMN). LCMS (columna C18 que se eluye con gradiente de 10-90% de AcN/agua durante 5 minutos con modificador de ácido fórmico) M+1: 260.12 (3.20 min). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 7.15 (dd, J = 8.6, 7.6 Hz, 1H), 6.30 (dd, J = 8.7, 1.3 Hz, 1H), 5.19 - 5.12 (m, 1H), 4.58 (s, 2H), 4.16 - 4.07 (m, 1H), 3.90 - 3.81 (m, 1H), 2.23 - 1.99 (m, 4H) ppm.

Ejemplo 1.d

Preparación de N-(4-bromo-3-fluoro-6-nitro-2-tetrahidrofuran-2-il-fenil)-2,2,2-trifluoroacetamida (18).

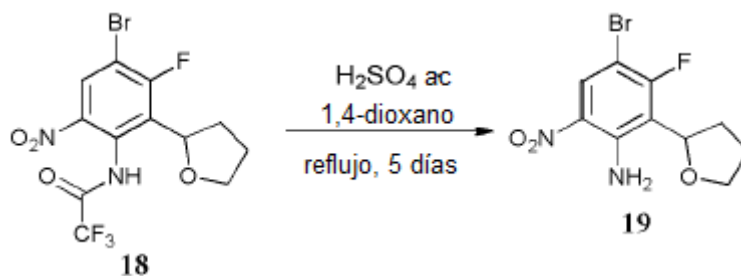


Un anhídrido trifluoroacético (565.3 mL, 4.067 mol, Sigma-Aldrich 106232) en agitación a 2°C se agregó lentamente 4-bromo-3-fluoro-2-tetrahidrofuran-2-il-anilina pura (17) (123.0 g, 86%, 406.7 mmol) como un aceite espeso a través de embudo de adición durante aproximadamente 20 minutos (temperatura de reacción se eleva a 13°C). El aceite restante se enjuagó en la mezcla de reacción con THF anhidro (35 mL). El baño frío se eliminó y la reacción se calentó a 35°C, seguido por adición en forma de porción de NH₄NO₃ (4.88 g x 20 porciones, 1.22 mol, Sigma-Aldrich A7455) durante 2.5 hrs manteniendo la temperatura de reacción entre 30 y 41°C utilizando un baño de agua helada solo cuando sea necesario para controlar la exoterma. Después de adición completa la mezcla de reacción se agitó durante otros 10 minutos (La HPLC mostró 99% de la reacción completa). Se vertió lentamente en hielo triturado (1.23 kg) y se agitó durante 1 hr para permitir la formación de un precipitado sólido filtrable, que se recolectó y se lavó con agua, escasamente con NaHCO₃ acuoso saturado, y de nuevo agua (a pH 7). El producto se secó en un horno de convección durante la noche a 40°C y luego bajo presión reducida en un horno a 50°C durante la noche dando 18 como un sólido beige (152.5 g, 90% de rendimiento; 96% de pureza de HPLC). LCMS (columna C18 que se eluye con 10-90% de gradiente de CH₃CN/agua durante 5 minutos con modificador de ácido fórmico) M+1:

401.30 (3.41 min). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ 10.56 (s, 1H), 8.19 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H), 5.22 (dd, $J = 10.3, 6.4$ Hz, 1H), 4.22 (dd, $J = 15.8, 7.2$ Hz, 1H), 3.99 (dd, $J = 16.1, 7.5$ Hz, 1H), 2.50 - 2.38 (m, 1H), 2.22 - 2.11 (m, 2H), 1.86 - 1.71 (m, 1H) ppm.

5 Ejemplo 1.e

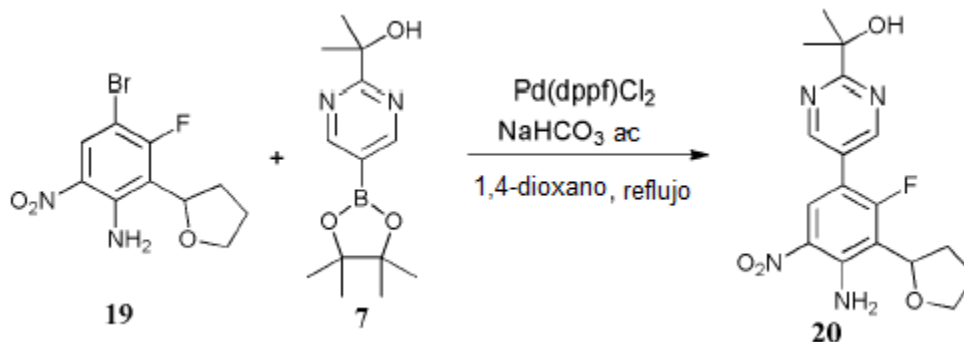
Preparación de 4-bromo-3-fluoro-6-nitro-2-tetrahidrofurano-2-il-anilina (19).



10 Se cargó un matraz de reacción con N-(4-bromo-3-fluoro-6-nitro-2-tetrahidrofurano-2-il-fenil)-2,2,2-trifluoroacetamida (18) (242.3 g, 604.1 mmol), 1,4-dioxano (1.212 L), y ácido sulfúrico 2 M acuoso (362.4 mL, 724.9 mmol), y se agitó a reflujo durante 5 días (La HPLC mostró 98% de conversión). La mezcla de reacción se dejó enfriar, se diluyó con EtOAc, se neutralizó con NaHCO_3 acuoso saturado, se separaron las capas, y se volvió a extraer la fase acuosa con EtOAc (2x). La fase orgánica combinada se lavó con solución salina (2x), se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se concentró en vacío dando 19 como un sólido marrón verdoso (181.7 g, 94% de rendimiento; 95% de pureza de HPLC). El producto se llevó a la siguiente etapa sin purificación adicional. LCMS (columna C18 que se eluye con 10-90% de gradiente de CH_3CN /agua durante 5 minutos con modificador de ácido fórmico) M+1: 305.20 (3.63 min). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ 8.35 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H), 7.45 (s, 2H), 5.23 - 5.16 (m, 1H), 4.23 - 4.14 (m, 1H), 3.93 - 3.84 (m, 1H), 2.31 - 1.96 (m, 4H) ppm.

Ejemplo 1.f

25 Preparación de 2-[5-(4-amino-2-fluoro-5-nitro-3-tetrahidrofurano-2-il-fenil)pirimidin-2-il]propan-2-ol (20).

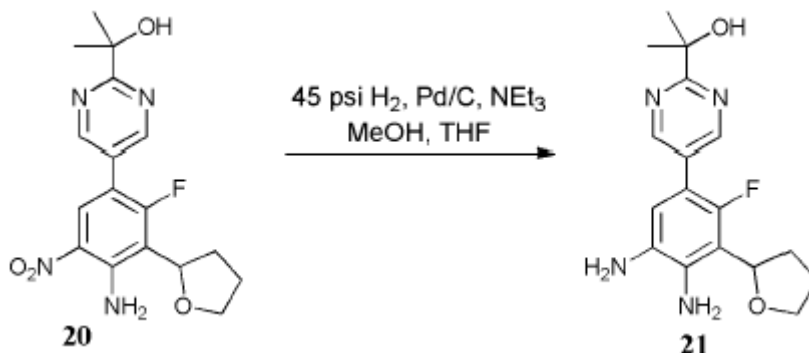


30 A una solución agitada de 4-bromo-3-fluoro-6-nitro-2-tetrahidrofurano-2-il-anilina (19) (525.0 g, 1.721 mol, Bridge Organics Co.) en 1,4-dioxano (4.20 L, Sigma-Aldrich 360481) se agregó una solución de NaHCO_3 1.2 M acuosa (4.302 L, 5.163 mol). Una corriente de nitrógeno se burbujeó a través de la mezcla de agitación durante 2 hrs, seguido por adición de 2-[5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)pirimidin-2-il]propan-2-ol (7) (545.4 g, 2.065 mol, Bridge Organics Co.) y aducto de diclorometano 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno dicloropaladio (42.16 g, 51.63 mmol, Strem 460450). La mezcla de reacción se agitó a reflujo durante la noche, se dejó enfriar, se diluyó con EtOAc (8.4 L), y las capas se separaron. La fase orgánica se lavó con NH_4Cl acuoso saturado y luego solución salina. La fase acuosa se volvió a extraer con EtOAc (4 L) y se lavó este extracto orgánico con solución salina. La fase orgánica combinada se secó sobre MgSO_4 , se filtró a través de un tapón corto de Florisil®, eludido con EtOAc, y el filtrado se concentró sobre un evaporador rotatorio dando un sólido húmedo. Este se disolvió en CH_2Cl_2 , se cargó sobre una almohadilla de gel de sílice, se eluyó con hexano, luego 25% de EtOAc/hexano, y luego 50% de EtOAc/hexano. El filtrado deseado se concentró sobre un evaporador rotatorio hasta una suspensión espesa, y el sólido se recolectó mediante filtración, se trituroó con MTBE, y se secó en vacío dando 20 como un sólido amarillo brillante (55.8% de rendimiento, 90-97% de pureza de HPLC). El filtrado se concentró y se repitió la purificación anterior dando un segundo cultivo de 20 como un sólido amarillo brillante (19.7% de rendimiento). El filtrado se concentró de nuevo dando un aceite marrón oscuro y este se cargó sobre una columna de sílice con tolueno y CH_2Cl_2 mínimo. Se eluyó con EtOAc/hexano (0% a 50%). Las fracciones deseadas se concentraron a una

suspensión y se diluyeron con MTBE/hexano. El sólido se recolectó mediante filtración y se lavó con MTBE mínimo dando un tercer cultivo de 20 como un sólido amarillo brillante (4.9% de rendimiento) con un rendimiento general de 80% a partir de los tres cultivos. LCMS (columna C18 que se eluye con 10-90% de gradiente de CH₃CN/agua durante 5 minutos con modificador de ácido fórmico) M+1: 363.48 (2.95 min). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 8.84 (d, J = 1.6 Hz, 2H), 8.27 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.62 (s, 2H), 5.31 -5.24 (m, 1H), 4.63 (s, 1H), 4.27 - 4.18 (m, 1H), 3.97 - 3.87 (m, 1H), 2.33 - 2.05 (m, 4H), 1.64 (s, 6H) ppm.

Ejemplo 1.g

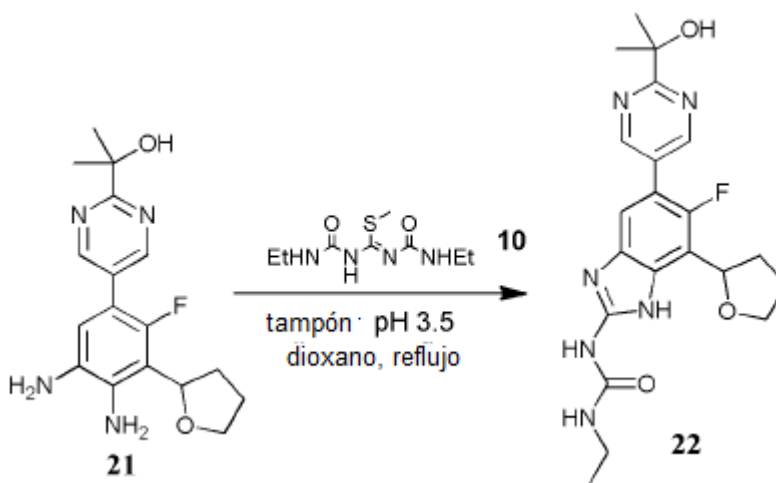
10 Preparación de 2-[5-(4,5-diamino-2-fluoro-3-tetrahidrofuran-2-il-fenil)pirimidin-2-il]propan-2-ol (21).



15 5% de paladio sobre carbono (14.21 g, 50% de humedad, 3.339 mmol, Aldrich 330116) se colocó en una botella Parr bajo nitrógeno, seguido por MeOH (242 mL, JT-Baker 909333) y NEt₃ (46.54 mL, 333.9 mmol, Sigma-Aldrich 471283). 2-[5-(4-Amino-2-fluoro-5-nitro-3-tetrahidrofuran-2-il-fenil)pirimidin-2-il]propan-2-ol (20) (121.0 g, 333.9 mmol) se disolvió en THF caliente (360 mL), se dejó enfriar, se agregó a la mezcla de reacción, y se enjuagó la cantidad residual de 20 con otra porción de THF (124 mL). La botella se colocó sobre un agitador Parr y se saturó con H₂. Después de agregar 45 psi (310 kPa) H₂, la botella se agitó hasta que se completó el consumo de 20 (HPLC y LCMS mostraron reacción completa). La mezcla de reacción se purgó con nitrógeno, se filtró a través de Celite™ y se enjuagó con EtOAc. se volvió a filtrar a través de papel (microfibra de vidrio) y el filtrado se concentró en vacío. La reacción se repitió tres o más veces sobre la misma escala y las tandas se combinaron dando 21 como un sólido marrón (447 g, 99% de rendimiento; 93% de pureza de HPLC). LCMS (columna C18 que se eluye con 10-90% de gradiente de CH₃CN/agua durante 5 minutos con modificador de ácido fórmico) M+1: 333.46 (1.79 min). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 8.81 (d, J = 1.4 Hz, 2H), 6.69 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 5.27 -5.20 (m, 1H), 4.73 (s, 1H), 4.70 (s, 2H), 4.23 - 4.14 (m, 1H), 3.94 - 3.86 (m, 1H), 3.22 (s, 2H), 2.32 - 2.22 (m, 1H), 2.18 - 1.99 (m, 3H), 1.63 (s, 6H) ppm.

Ejemplo 1.h

30 Preparación de 1-etil-3-[6-fluoro-5-[2-(1-hidroxi-1-metil-etil)pirimidin-5-il]-7-tetrahidrofuran-2-il-1H-bencimidazol-2-il]urea (22)

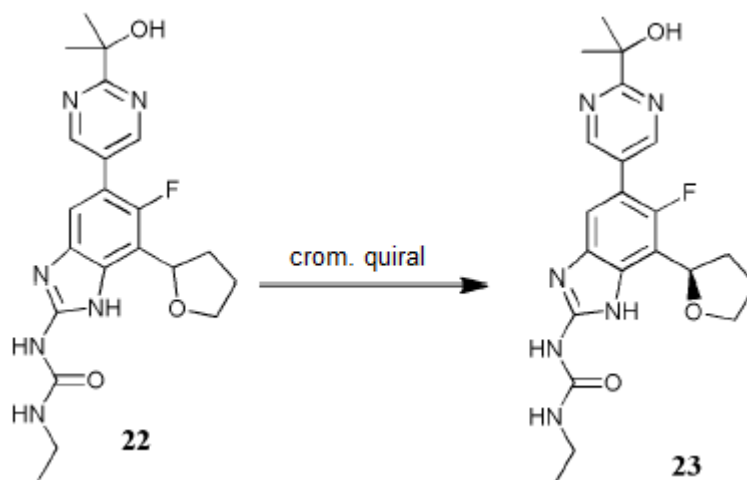


35 A una suspensión de agitación de 2-[5-(4,5-diamino-2-fluoro-3-tetrahidrofuran-2-il-fenil)pirimidin-2-il]propan-2-ol (21) (111.3 g, 334.9 mmol) y 1,4-dioxano (556.5 mL, Sigma-Aldrich 360481) se agregó 1-etil-3-(N-(etilcarbamoyl)-C-metilsulfanyl-carbonimidoil)urea (10) (93.36 g, 401.9 mmol, CB Research and Development) seguido por un tampón

de pH 3.5 (1.113 L), se preparó al disolver trihidrato de NaOAc (158.1 g) en H₂SO₄ 1N acuoso (1.100 L). La mezcla de reacción se agitó a reflujo durante la noche (La HPLC mostró conversión completa), se enfrió a temperatura ambiente, y se vertió en forma de porción (para minimizar la espuma) en una solución agitada de NaHCO₃ saturado acuoso (2.23 L) dando pH 8-9. La mezcla resultante se agitó durante 30 minutos, el sólido se recolectó mediante filtración, se lavó copiosamente con agua a pH neutro, y luego más escasamente con EtOH. El sólido se secó bajo presión reducida dando 22 como un sólido amarillento blancuzco (135.2 g, 94% de rendimiento; 99% de pureza de HPLC). LCMS (columna C18 que se eluye con 10-90% de gradiente de CH₃CN/agua durante 5 minutos con modificador de ácido fórmico) M+1: 429.58 (2.03 min). ¹H RMN (300 MHz, MeOD) δ 8.95 (d, J = 1.6 Hz, 2H), 7.45 (d, J = 6.5 Hz, 1H), 5.38 (br.s, 1H), 4.27 (dd, J = 14.9, 7.1 Hz, 1H), 4.01 (dd, J = 15.1, 7.0 Hz, 1H), 3.37 - 3.29 (m, 2H), 2.55 (br.s, 1H), 2.19 - 2.07 (m, 2H), 2.02 - 1.82 (br.s, 1H), 1.63 (s, 6H), 1.21 (t, J = 7.2 Hz, 3H) ppm.

Ejemplo 1.i

Aislamiento cromatográfico quiral de 1-etil-3-[6-fluoro-5-[2-(1-hidroxi-1-metil-etil)pirimidin-5-il]-7-[(2R)-tetrahidrofuran-2-il]-1H-bencimidazol-2-il]urea (23)



Una muestra racémica de 1-etil-3-[6-fluoro-5-[2-(1-hidroxi-1-metiletil)pirimidin-5-il]-7-tetrahidrofuran-2-il]-1H-bencimidazol-2-il]urea (22) (133.60 g) se resolvió sobre una columna CHIRALPAK® IC® (por Chiral Technologies) eluyendo con CH₂Cl₂/MeOH/TEA (60/40/0.1) a 25°C dando el enantiómero deseado 23 como un sólido blancuzco (66.8 g, 45% de rendimiento; 99.8% de pureza de HPLC, 99+% ee). El tiempo de retención de HPLC quiral analítica fue 7.7 min (columna CHIRALPAK® IC® 4.6 x 250 mm, velocidad de flujo 1 mL/min, 30°C). El sólido se suspendió en 2:1 EtOH/Et₂O (5 volúmenes), se agitó durante 10 minutos, se recolectó mediante filtración, se lavó con 2:1 EtOH/Et₂O, y se secó bajo presión reducida dando un sólido blanco (60.6 g).

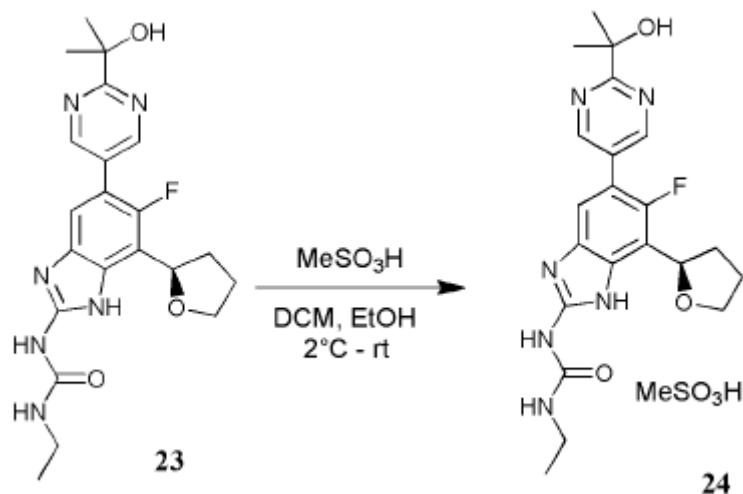
La estructura y la estereoquímica absoluta de 23 se confirmaron mediante análisis de difracción de rayos X de cristal único. Los datos de difracción de cristal único se adquirieron en un difractómetro Bruker Apex II equipado con una fuente Cu K-alfa de tubo sellado (radiación Cu K α , γ = 1.54178 Å) y un detector CCD Apex II. Se seleccionó un cristal con dimensiones de 0.15 x 0.15 x 0.10 mm, se limpió utilizando aceite mineral, se montó en un MicroMount y se centró sobre un sistema Bruker APEXII. Se obtuvieron tres tandas de 40 cuadros separados en el espacio recíproco para proporcionar una matriz de orientación y parámetros de celda iniciales. Los parámetros de celda finales se obtuvieron y se refinaron después de que se completó con base en la recolección de datos al conjunto de datos completo. Con base en estadísticas de ausencias e intensidades sistemáticas, la estructura se resolvió y se refinó en el grupo espacial P2₁ acéntrico.

Se obtuvo un conjunto de datos de difracción de espacio recíproco a una resolución de 0.85 Å utilizando etapas de 0.5° utilizando exposiciones de 30 s para cada cuadro. Los datos se recolectaron a 100 (2) K. La integración de las intensidades y el refinamiento de los parámetros celulares se realizaron utilizando el software APEXII. La observación del cristal después de la recolección de datos no mostró signos de descomposición. Como se muestra en la Figura 2, hay dos moléculas independientes de simetría en la estructura y ambas moléculas independientes de simetría son isómeros R.

Los datos se recolectaron, refinaron y redujeron utilizando el software Apex II. La estructura se resolvió utilizando el SHELXS97 (Sheldrick, 1990); programa(s) y la estructura refinada utilizando el programa SHELXL97 (Sheldrick, 1997). El cristal muestra la celda monoclinica con grupo espacial P2₁. Los parámetros de la red son: a = 9.9016(2) Å, b = 10.9184(2) Å, c = 19.2975(4) Å, β = 102.826 (1)°. Volumen = 2034.19 (7) Å³.

Ejemplo 1.j

Preparación de la sal de ácido metanosulfónico de 1-etil-3-[6-fluoro-5-[2-(1-hidroxi-1-metil-etil)pirimidin-5-il]7-[(2R)-tetrahidrofuran-2-il]-1H-benzimidazol-2-il]urea (24).



5

A una suspensión de agitación de 1-etil-3-[6-fluoro-5-[2-(1-hidroxi-1-metiletil)pirimidin-5-il]-7-[(2R)-tetrahidrofuran-2-il]-1H-bencimidazol-2-il]urea (23) (15.05 g, 35.13 mmol) en diclorometano (60 mL, J.T. Baker 931533) y etanol absoluto (15 mL, Pharmco-AAPER 111000200) se agregó ácido metanosulfónico (2.392 mL, 36.89 mmol, Sigma-Aldrich 471356). Se agitó a temperatura ambiente hasta que se observó una solución clara. Se agregó heptano (300 mL) lentamente durante aproximadamente 1 hr y se recolectó el precipitado sólido mediante filtración (utilizando un papel cualitativo Whatman # 3 papel sobre la parte superior de un papel de microfibras de vidrio GF/F Whatman). Se secó bajo presión reducida en un horno de vacío (se desecó con sulfato de calcio e hidróxido de potasio) durante la noche a 40°C dando 24 como un sólido blanco (13.46 g, 99+% de pureza de HPLC, 99+% ee). La HPLC quiral analítica muestra un enantiómero con tiempo de retención de 8.6 min que se eluye con CH₂Cl₂/MeOH/TEA (60/40/0.1) sobre una columna CHIRALPAK® IC® 4.6 x 250 mm con velocidad de flujo de 1 mL/min a 30°C. Un segundo cultivo de producto sólido blanco 24 (4.36 g, 98% de pureza de HPLC, 99+% ee) se obtuvo del filtrado. LCMS (columna C18 que se eluye con 10-90% de gradiente de CH₃CN/agua durante 5 minutos con modificador de ácido fórmico) M+1: 429.58 (2.03 min). ¹H RMN (300 MHz, MeOD) δ 9.00 (d, J = 1.6 Hz, 2H), 7.67 (d, J = 6.1 Hz, 1H), 5.39 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 4.30 (dd, J = 14.9, 6.9 Hz, 1H), 4.03 (dd, J = 14.8, 7.7 Hz, 1H), 3.40 - 3.31 (m, 2H), 2.72 (s, 3H), 2.70 - 2.60 (m, 1H), 2.21 - 2.08 (m, 2H), 1.98 - 1.84 (m, 1H), 1.65 (s, 6H), 1.22 (t, J = 7.2 Hz, 3H) ppm.

Ejemplo 1.k

Preparación de 1-etil-3-[6-fluoro-5-[2-(1-hidroxi-1-metil-etil)pirimidin-5-il]-7-tetrahidrofuran-2-il]-1H-bencimidazol-2-il]urea

A una solución de 2-[5-(4,5-diamino-2-fluoro-3-tetrahidrofuran-2-il-fenil)pirimidin-2-il]propan-2-ol (7.220 g, 21.72 mmol) y 1-etil-3-(N-(etilcarbamoil)-C-metilsulfanil-carbonimidoil)urea (6.054 g, 26.06 mmol, CB Research and Development) en 1,4-dioxano (36.1 mL, Sigma-Aldrich 360481) se agregó un tampón de pH 3.5 (72.2 mL), preparada al disolver trihidrato de NaOAc (5.32 g) en H₂SO₄ 1N acuoso (37 mL). La mezcla de reacción se agitó a reflujo durante la noche (La HPLC mostró conversión completa), se enfrió a temperatura ambiente, y se vertió en forma de porción (espuma) en una solución agitada de NaHCO₃ saturado acuoso (144 mL) dando pH 8-9. Esta se agitó durante 20 minutos, el sólido se recolectó mediante filtración, se lavó copiosamente con agua a pH neutro, y luego más escasamente con EtOH. El sólido se secó bajo presión reducida dando un sólido beige (7.90 g, 99% de pureza de HPLC). LCMS (columna C18 que se eluye con 10-90% de gradiente de CH₃CN/agua durante 5 minutos con modificador de ácido fórmico) M+1: 429.45 (2.03 min). El tiempo de retención de HPLC fue 3.89 min (columna YMC ODS-AQ 150 x 3.0 mm que se eluye con 10-90% de gradiente de CH₃CN/agua durante 8 minutos con modificador de TFA 0.1% y velocidad de flujo de 1 mL/min).

Preparación de Forma I

Ejemplo 1.1

Aislamiento cromatográfico quiral de (R)-1-etil-3-[6-fluoro-5-[2-(1-hidroxi-1-metiletil)pirimidin-5-il]-7-(tetrahidrofuran-2-il)-1H-bencimidazol-2-il]urea

Una muestra racémica de 1-etil-3-[6-fluoro-5-[2-(1-hidroxi-1-metiletil)pirimidin-5-il]-7-tetrahidrofuran-2-il]-1H-bencimidazol-2-il]urea (133.60 g) se resolvió sobre una columna CHIRALPAK® IC® (mediante Chiral Technologies) que se eluye con DCM/MeOH/TEA (60/40/0.1) a 25°C dando el enantiómero deseado como un sólido blancuzco

(66.8 g, 99.8% de pureza de HPLC, 99+% ee). El tiempo de retención de HPLC quiral analítica fue 7.7 min (columna CHIRALPAK® IC® 4.6 x 250 mm, velocidad de flujo 1 mL/min, 30°C). El sólido se suspendió en 2:1 EtOH/Et₂O (5 volúmenes), se agitó durante 10 minutos, se recolectó mediante filtración, se lavó con 2:1 EtOH/Et₂O, y se secó bajo presión reducida dando un sólido blanco (60.6 g). ¹H RMN (300 MHz, MeOD) δ 8.95 (d, J = 1.6 Hz, 2H), 7.45 (d, J = 6.5 Hz, 1H), 5.38 (br.s, 1H), 4.27 (dd, J = 14.9, 7.1 Hz, 1H), 4.01 (dd, J = 15.1, 7.0 Hz, 1H), 3.37 - 3.29 (m, 2H), 2.55 (br.s, 1H), 2.19 - 2.07 (m, 2H), 2.02 - 1.82 (br.s, 1H), 1.63 (s, 6H), 1.21 (t, J = 7.2 Hz, 3H) ppm.

Preparación de Forma II

10 Ejemplo 1.m

A 100 mg del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea se agregó 1 ml de THF. Una cantidad estequiométrica de HCl se agregó como una solución 12M acuosa. Luego se agregó 4 mL de MTBE y la suspensión se dejó equilibrar durante la noche con agitación a temperatura ambiente. Luego se filtró, y el sólido blanco se secó bajo vacío durante varias horas.

Preparación de Forma III

20 Ejemplo 1.n

Se pesaron 100 mg del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea y se disolvieron en 200 mL de mezcla de diclorometano/metanol 1:1 (v:v). Esta solución se secó por pulverización sobre el secador por pulverización Buchi B-90 Nano (programa de bombeo 2) con un condensador adherido a las velocidades de pulverización de 100%. Se utilizó temperatura de entrada de 101°C con un flujo de nitrógeno de 10 L/min, una presión máxima de nitrógeno de 10 psi (69 kPa) y una presión de CO₂ máxima de 15 psi (103 kPa). Se recuperó 55 mg de polvo blanco.

Se realizó secado por pulverización sobre el secador de pulverización Buchi B-90 Nano con un condensador unido. Se preparó una solución del compuesto de 6-fluoro bencimidazolil urea en un sistema de solventes compuesto de CH₂Cl₂:Metanol (1:1) y se pulverizó de acuerdo con los parámetros enumerados adelante.

30

Preparación de Forma IV

Ejemplo 1.o

35 Preparación de la sal de ácido metanosulfónico de (R)-1-etil-3-[6-fluoro-5-[2-(1-hidroxi-1-metil-etil)pirimidin-5-il]-7-(tetrahydrofuran-2-il)-1H-bencimidazol-2-il]urea

Una suspensión de agitación de (R)-1-etil-3-[6-fluoro-5-[2-(1-hidroxi-1-metiletil)pirimidin-5-il]-7-(tetrahydrofuran-2-il)-1H-bencimidazol-2-il]urea (2.530 g, 5.905 mmol) en diclorometano (22.8 mL, Sigma-Aldrich 270997) y etanol absoluto (2.5 mL) se enfrió con un baño de agua helada. Se agregó ácido metanosulfónico (0.402 mL, 6.20 mmol, Sigma-Aldrich 471356), se retiró el baño frío, y se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos. La mezcla se concentró sobre un evaporador rotatorio a 30°C hasta un aceite espeso, luego se agregó lentamente para agitar Et₂O, y se enjuagó el producto residual con CH₂Cl₂ en el éter. El precipitado gomoso se agitó hasta que se rompió en un sólido pastoso, que se recolectó mediante filtración, se lavó con Et₂O, y se secó bajo presión reducida dando un sólido blancuzco (2.85 g, 99% de pureza de HPLC, 99+% ee). LCMS (columna C18 que se eluye con 10-90% de gradiente de CH₃CN/agua durante 5 minutos con modificador de ácido fórmico) M+1: 429.51 (2.49 min). El tiempo de retención de HPLC fue 3.86 min (columna YMC ODS-AQ 150 x 3.0 mm que se eluye con 10-90% de gradiente de CH₃CN/agua durante 8 minutos con modificador de TFA 0.1% y velocidad de flujo de 1 mL/min). La HPLC quiral analítica muestra un enantiómero con tiempo de retención de 7.8 min eluyendo con DCM/MeOH/TEA (60/40/0.1) sobre una columna CHIRALPAK® IC® 4.6 x 250 mm con velocidad de flujo de 1 mL/min a 30°C. ¹H RMN (300 MHz, MeOD) δ 8.99 (d, J = 1.6 Hz, 2H), 7.67 (d, J = 6.1 Hz, 1H), 5.38 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 4.30 (dd, J = 15.0, 6.9 Hz, 1H), 4.02 (dd, J = 14.8, 7.6 Hz, 1H), 3.38 - 3.30 (m, 2H), 2.73 (s, 3H), 2.70 - 2.60 (m, 1H), 2.20 - 2.07 (m, 2H), 1.99 - 1.84 (m, 1H), 1.64 (s, 6H), 1.22 (t, J = 7.2 Hz, 3H) ppm.

55 Ejemplo 1.p

Datos de estabilidad

Se encontró que la sal de mesilato del compuesto de 6-fluorobencimidazolilurea es química y físicamente inestable a 25°C/60% de HR en el momento de una semana, y químicamente inestable a t=2 semanas cuando se almacena a 40°C/ambiente.

La base libre del compuesto 6-fluoro bencimidazolil urea fue química y físicamente estable bajo todas las condiciones de almacenamiento (25°C/60% de HR, 40°C/ambiente y 40°C/75% de HR) en el punto de tiempo de 1 mes. Se observaron pequeños cambios en el patrón de XRPD, pero se consideró que todos tenían la misma forma que en el tiempo cero (t=0).

65

La sal de clorhidrato del compuesto de 6-fluoro bencimidazolilurea fue química y físicamente estable bajo todas las condiciones de almacenamiento (25°C/60% HR, 40°C/ambiente y 40°C/75% HR) en el punto de tiempo de 1 mes.

5 Ejemplo 2

Estudios Enzimológicos

10 Las actividades de inhibición enzimática de los compuestos de esta invención se pueden determinar en los experimentos que se describen a continuación:

Ensayo de ATPasa de girasa de ADN

15 La actividad de hidrólisis de ATP de la girasa del ADN de *S. aureus* se mide al acoplar la producción de ADP a través de la piruvato quinasa/lactato deshidrogenasa a la oxidación de NADH. Este método ha sido descrito previamente (Tamura and Gellert, 1990, J. Biol. Chem., 265, 21342).

20 Los ensayos de ATPasa se llevan a cabo a 30°C en soluciones tamponadas que contienen TRIS 100 mM, pH 7.6, MgCl₂ 1.5 mM, KCl 150 mM. El sistema de acoplamiento contiene concentraciones finales de 2.5 mM de fosfoenol piruvato, 200 µM de nicotinamida adenina dinucleótido (NADH), DTT 1 mM, 30 µg/ml de piruvato quinasa y 10 µg/ml de lactato deshidrogenasa. Se agregan la enzima (concentración final 90 nM) y una solución de DMSO (concentración final del 3%) de un compuesto. La mezcla de reacción se deja incubar durante 10 minutos a 30°C. La reacción se inicia mediante la adición de ATP a una concentración final de 0.9 mM, y la tasa de desaparición de NADH se monitorizó a 340 nanómetros en el transcurso de 10 minutos. Los valores de K_i e IC₅₀ se determinan a partir de los perfiles de velocidad en función de concentración.

25 TABLA 3 Inhibición de girasa de ADN de *S. aureus*
Compuesto seleccionado K_i (nM)
23* 9

*El Compuesto 23 se puede preparar como en el Ejemplo 1.i, anterior

Ensayo ATPasa de Topo IV de ADN

30 La conversión de ATP a ADP por la enzima TopoIV de *S. aureus* se acopla a la conversión de NADH a NAD⁺, y el progreso de la reacción se mide por el cambio en la absorbancia a 340 nm. TopoIV (64 nM) se incuba con el compuesto seleccionado (DMSO final al 3%) en tampón durante 10 minutos a 30°C. El tampón consiste en Tris 7.5 100 mM, MgCl₂ 1.5 mM, K glutamato 200 mM, fosfoenol piruvato 2.5 mM, NADH 0.2 mM, DTT 1 mM, 5 µg/mL de ADN linealizado, 50 µg/mL de BSA, 30 µg/mL de piruvato quinasa y 10 µg/mL de lactato deshidrogenasa (LDH). La reacción se inicia con ATP, y las velocidades se monitorizan continuamente durante 20 minutos a 30°C en un lector de placas Molecular Devices SpectraMAX. La constante de inhibición, K_i y la IC₅₀ se determinan a partir de las gráficas de velocidad en función de la concentración del compuesto seleccionado ajustada a la ecuación de Morrison para los inhibidores de unión fuerte.

40 TABLA 4 Inhibición de Topo IV de ADN de *S. aureus*
Compuesto seleccionado K_i (nM)
Compuesto 23 12

Ejemplo 3

45 Pruebas de susceptibilidad en medios líquidos

Los compuestos de esta invención se ensayaron para determinar la actividad antimicrobiana mediante pruebas de susceptibilidad en medios líquidos. Dichos ensayos se pueden realizar dentro de los lineamientos del último documento CLSI que rige dichas prácticas: "M07-A8 Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically; Approved Standard Eighth Edition (2009)". Otras publicaciones tales como "Antibiotics in Laboratory Medicine" (Edited by V. Lorian, Publishers Williams and Wilkins, 1996) proporcionan técnicas prácticas esenciales en las pruebas de antibióticos de laboratorio. Los protocolos específicos utilizados fueron los siguientes:

55 Protocolo # 1: Determinación por MIC de girasa de compuestos utilizando el método de caldo de microdilución

Materiales

- Placas de microtitulación de 96 pozos de fondo redondo (Costar 3788)
- Placas de agar Mueller Hinton II (MHII; premezcla BBL)
- 60 Caldo líquido Mueller Hinton II (MHII; premezcla BBL)
- Sistema de Inoculación BBL Prompt (Fisher B26306)

ES 2 705 923 T3

- Espejo de lectura de prueba (Fisher)
Placas de agar con bacterias rayadas en colonias individuales, recién preparadas
DMSO estéril
Suero humano (U.S. Biologicals S1010-51)
- 5 Sangre de caballo laqueada (Quad Five 270-100)
Resazurina 0.01%
Suero de rata Sprague Dawley (U.S. Biologicals 1011-90B o Valley BioMedical AS3061SD)
Suero combinado de ratón (Valley BioMedical AS3054)
- 10 Cepas (Media, Caldo y Agar):
1. *Staphylococcus aureus* ATCC # 29213
- a. MHII
 - 15 b. MHII + suero humano al 50%
 - c. MHII + suero de rata al 50%
 - d. MHII + suero de ratón al 50%
2. *Staphylococcus aureus* ATCC #29213 GyrB T173I (MHII)
 - 20 3. *Staphylococcus aureus*, cepas de colección de JMI; véase tabla 9 (MHII)
 4. *Staphylococcus epidermidis*, cepas de colección de JMI; véase tabla 9 (MHII)
 5. *Enterococcus faecalis* ATCC #29212 (MHII + sangre de caballo lacada al 3%)
 6. *Enterococcus faecium* ATCC #49624 (MHII + sangre de caballo lacada al 3%)
 7. *Enterococcus faecalis*, cepas de colección de JMI; véase tabla 9 (MHII + sangre de caballo lacada al 3%)
 - 25 8. *Enterococcus faecium*, cepas de colección de JMI; véase tabla 9 (MHII + sangre de caballo lacada al 3%)
 9. *Streptococcus pneumoniae* ATCC #10015 (MHII + sangre de caballo lacada al 3%)
 10. *Streptococcus pneumoniae*, cepas de colección de JMI; véase tabla 9 (MHII + sangre de caballo lacada al 3%)
 11. estreptococos β -hemolíticos, Grupos A, B, C, G) cepas de colección de JMI; véase tabla 9 (MHII + sangre de caballo lacada al 3%)
 - 30 12. *Bacillus cereus* ATCC 10987 (MHII)
 13. *Bacillus cereus* ATCC 14579 (MHII)
 14. *Bacillus subtilis* ATCC 6638 (MHII)
 15. *Bacillus subtilis* (168) ATCC 6051 (MHII)
- 35 Preparación del inóculo (para todas las cepas distintas de *S. aureus* + sueros al 50%):
1. Utilizando el kit BBL Prompt, se seleccionaron 5 colonias grandes, o 10 pequeñas y separadas del crecimiento del cultivo sobre el medio de agar apropiado como se indicó anteriormente e inocularon 1 mL de solución salina estéril provista en el kit.
 - 40 2. Se agitó en vórtex los pozos durante aproximadamente 30 s para proporcionar una suspensión de $\sim 10^8$ células/mL. La densidad real se podría confirmar colocando diluciones de esta suspensión.
 3. Se diluyó la suspensión 1/100 al transferir 0.15 mL de células en 15 mL ($\sim 10^6$ células/mL) de caldo estéril (o véase a continuación) para cada placa de compuestos probados, luego se agitó para mezclar. Si se probaron más de 1 placa de compuestos (> 8 compuestos), que incluyen los compuestos 23 o 24, los volúmenes se incrementaron de acuerdo con lo anterior.
 - 45 a. Para *E. faecalis*, *E. faecium* y *S. pneumoniae*: se utilizaron 14.1 mL de MHII + 0.9 mL de sangre de caballo lacada.
- 50 4. Se utilizaron 50 μ L de células ($\sim 5 \times 10^4$ células) para inocular cada pozo de microtitulación que contenía 50 μ L del fármaco diluido en caldo (véase más abajo).
- Diluciones de fármacos, inoculación, determinación de MIC:
- 55 1. Todos los fármacos/compuestos se prepararon a una concentración de 12.8 mg/mL, generalmente en DMSO al 100%.
 2. Existencias de fármaco/compuesto diluidas a 200 x concentración final deseada en 50 μ L de DMSO. Si la concentración inicial de MIC era de 8 μ g/mL de concentración final, se requerían 6.25 μ L de existencias + 43.75 μ L de DMSO. Cada existencia de 200 x se colocó en una fila separada de la columna 1 de una nueva placa de microtitulación de 96 pozos.
 - 60 3. Se agregaron 25 μ L de DMSO a las columnas 2 a 12 de todas las filas de la placa de microtitulación que contenían 200 x existencias de compuestos y se diluyeron en serie 25 μ L desde la columna 1 hasta la columna 11, las puntas cambiaron después de cada columna, es decir, 25 μ L del compuesto + 25 μ L de DMSO = 2 x dilución.
 - 65 Deje el DMSO "sin compuesto" al final de la serie para el control.

ES 2 705 923 T3

4. Para cada cepa probada (excepto *S. aureus* + suero humano al 50%), se prepararon dos placas de microtitulación con 50 µL de caldo MHII utilizando un pipeteador Matrix.

5. Se transfirieron 0.5 µL de cada dilución (con el autotipetador de matriz) a 50 µL de medio/microtitulación de pozo antes de la adición de 50 µl de células. La concentración inicial habitual del compuesto fue de 8 µg/mL después de la dilución 1/200 en medio + células; las concentraciones de compuesto disminuyeron en etapas 2x en las filas de la placa de microtitulación. Todos los MIC se realizaron por duplicado.

10 6. Todos los pozos se inocularon con 50 µl de suspensión celular diluida (ver anteriormente) hasta un volumen final de 100 µl.

15 7. Después se agregó el inóculo, se mezcló bien cada pozo con un pipeteador multicanal manual; se utilizaron las mismas puntas que van desde una concentración baja hasta una alta concentración del fármaco en la misma placa de microtitulación.

8. Las placas se incubaron a 37°C durante por lo menos 18 horas.

20 9. Las placas se observaron con un espejo de lectura de prueba después de 18 horas y la MIC se registró como la concentración más baja de fármaco en la que no se observó crecimiento (claridad óptica en el pozo).

Preparación de *S. aureus* + suero humano al 50%, *S. aureus* + suero de rata al 50% o *S. aureus* + suero de ratón al 50%.

25 1. Se prepararon medios de suero al 50% al combinar 15 mL de MHII + 15 mL de suero humano - total de 30 mL. Incremento del volumen en incrementos de 30 mL cuando se probó más de 1 placa del compuesto.

30 2. Se utilizó el mismo inóculo BBL Prompt de *S. aureus* ATCC # 29213 como se describió anteriormente, diluido 1/200 transfiriendo 0.15 mL de células a 30 mL (~5x10⁵ células/mL) del 50% de medio de suero humano preparado anteriormente y se arremolinó para mezcla.

3. Se llenaron todos los pozos de prueba del número deseado de placas de microtitulación con 100 µL de células en 50% de medio de suero.

35 4. Se transfirieron 0.5 µL de cada dilución del compuesto (con el auto-pipeteador Matrix) a 100 µL de células/medios. La concentración inicial habitual del compuesto fue de 8 µg/mL después de la dilución 1/200 en medio + células; las concentraciones del compuesto disminuyeron en las etapas 2x en las filas de una placa de microtitulación. Todos los MIC se realizaron por duplicado.

40 5. Se mezcló bien cada pozo con un pipeteador multicanal manual; se utilizaron las mismas puntas que van desde una concentración baja hasta una concentración alta de fármaco en la misma placa de microtitulación.

45 6. Las placas se incubaron a 37°C durante por lo menos 18 horas. Después de incubación, se agregaron 25 µL de Resazurin al 0.01% a cada pozo y se continuó incubando a 37°C durante por lo menos 1 hora adicional o hasta que cambia el color del Resazurin.

50 7. Las placas se vieron con un espejo de lectura de prueba y se grabó el MIC. Al utilizar Resazurin, el color del tinte cambió de azul oscuro a rosa brillante en los pozos sin crecimiento. La concentración más baja de fármaco que volvió el colorante rosado fue el MIC.

Protocolo 2: Determinación de MIC de girasa de compuestos contra gram negativos utilizando el método de caldo de microdilución

Materiales

55 Placas de microtitulación de 96 pozos de fondo redondo (Costar 3788)

Placas de agar Mueller Hinton II (MHII; premezcla BBL)

Caldo líquido Mueller Hinton II (MHII; premezcla BBL)

Sistema de inoculación BBL Prompt (Fisher b26306)

60 Espejo de lectura de prueba (Fisher)

Placas de agar con bacterias rayadas en colonias individuales, recién preparadas

DMSO estéril

Cepas (medio MHII para todos; caldo y agar):

65

1. *Escherichia coli* ATCC # 25922 2.

Escherichia coli, cepas de colección de JMI, véase tabla 9

3. *Escherichia coli* AG100 WT

4. *Escherichia coli* AG100 tolC

5. *Acinetobacter baumannii* ATCC # BAA-1710

6. *Acinetobacter baumannii* ATCC # 19606

7. *Acinetobacter baumannii*, cepas de colección de JMI, véase tabla 9

8. *Klebsiella pneumoniae* ATCC # BAA-1705

9. *Klebsiella pneumoniae* ATCC # 700603

10. *Klebsiella pneumoniae*, cepas de colección de JMI, véase tabla 9

11. *Moraxella catarrhalis* ATCC# 25238

12. *Moraxella catarrhalis* ATCC# 49143

13. *Moraxella catarrhalis*, cepas de colección de JMI, véase tabla 9

14. *Haemophilus influenzae* ATCC 49247

15. *Haemophilus influenzae* (RdI KW20) ATCC 51907

16. *Haemophilus influenzae* Rd0894 (AcrA-)

17. *Haemophilus influenzae*, cepas de colección de JMI, véase tabla 9

18. *Pseudomonas aeruginosa* PAO1

19. *Pseudomonas aeruginosa*, cepas de colección de JMI, véase tabla 9

20. *Proteus mirabilis*, cepas de colección de JMI, véase tabla 9

21. *Enterobacter cloacae*, cepas de colección de JMI, véase tabla 9

22. *Stenotrophomonas maltophilia* ATCC BAA-84

Stenotrophomonas maltophilia ATCC13637

Preparación del inóculo:

25 1. Utilizando el kit BBL Prompt, se seleccionaron 5 colonias grandes o 10 pequeñas y se separaron de los cultivos cultivados en medio de agar y se inocularon 1 mL de solución salina estéril que venía con el kit.

30 2. Se agitó en vórtex los pozos durante ~30 s para obtener una suspensión de $\sim 10^8$ células/mL. La densidad real se podría confirmar al colocar diluciones de esta suspensión.

35 3. Se diluyó la suspensión 1/100 al transferir 0.15 ml de células a 15 mL ($\sim 10^6$ células/mL) de caldo estéril (véase más abajo) para cada placa de compuestos analizados, se agitó para mezclar. Si se probara más de 1 placa de compuestos (> 8 compuestos), que incluyen el compuesto 23 o 24, se aumentarán los volúmenes de acuerdo con lo anterior.

40 4. Se utilizaron 50 μ l de células ($\sim 5 \times 10^4$ células) para inocular cada pozo de microtitulación que contenía 50 μ l del fármaco diluido en caldo (véase más abajo).

Diluciones de fármacos, inoculación, determinación de MIC:

45 1. Todas las existencias de fármacos/compuestos se prepararon a una concentración de 12.8 mg/ml, generalmente en DMSO al 100%.

50 2. Existencias de fármaco/compuesto diluidas a 200x a concentración final deseada en 50 μ L de DMSO. Si la concentración inicial de MIC fue de 8 μ g/mL de concentración final, se necesitaron 6.25 μ L de existencia + 43.75 μ L de DMSO. Cada existencia de 200x se colocó en una fila separada de la columna 1 de una nueva placa de microtitulación de 96 pozos.

55 3. Se agregaron 25 μ L de DMSO a las columnas 2-12 de todas las filas de la placa de microtitulación que contenían 200x de existencias de compuestos y se diluyeron en serie 25 μ L desde la columna 1 hasta la columna 11, las puntas cambiaron después de cada columna, es decir, 25 μ L del compuesto + 25 μ L de DMSO = 2x dilución. Deje el DMSO "sin compuesto" al final de la serie para el control.

60 4. Para cada cepa probada, se prepararon dos placas de microtitulación con 50 μ L de caldo MHII utilizando un pipeteador Matrix.

65 5. Se transfirieron 0.5 μ L de cada dilución (con el autotipetador de matriz) a 50 μ L de medio/microtitulación de pozo antes de la adición de 50 μ l de células. La concentración inicial habitual del compuesto fue de 8 μ g/mL después de la dilución 1/200 en medio + células; las concentraciones del compuesto disminuyeron en las etapas 2x en las filas de una placa de microtitulación. Todos los MIC se realizaron por duplicado.

6. Todos los pozos se inocularon con 50 μ l de suspensión celular diluida (véase anteriormente) hasta un volumen final de 100

ES 2 705 923 T3

7. Después se agregó el inóculo, cada pozo se mezcló a fondo con un pipeteador multicanal manual; se utilizaron las mismas puntas que van desde una concentración baja hasta una concentración alta del fármaco en la misma placa de microtitulación.

5 8. Las placas se incubaron a 37°C durante por lo menos 18 horas.

9. Las placas se observaron con un espejo de lectura de prueba después de 18 horas y la MIC se registró como la concentración más baja del fármaco en la que no se observó crecimiento (claridad óptica en el pozo).

10 Protocolo #3: Determinación de MIC de girasa de compuestos utilizando el método de dilución de agar

Materiales:

Placas de Petri 60 x 15 mm (Thermo Scientific Cat. # 12567100)

15 Tubos de centrifuga, 15 ml (Costar)

Sistema de inoculación BBL Prompt (Fisher b26306)

Placas de agar con bacterias rayadas en colonias individuales recién preparadas

DMSO estéril

Recipientes de incubación GasPak™ (BD cat. # 260672)

20 Sobres de sistema de contenedores GasPak™ EZ Anaerobe (BD Cat. # 260678)

Sobres de sistema de contenedores GasPak™ EZ C02 (BD, cat. N° 260679)

Sobres de sistema de contenedores GasPak™ EZ Campy (BD, cat. #260680)

Cepas

25

1. *Clostridium difficile* ATCC BAA-1382;

2. *Clostridium difficile*, cepas de colección de CMI, véase tabla 8

3. *Clostridium perfringens*, cepas de colección de CMI, véase tabla 8

4. *Bacteroides fragilis* y *Bacteroides spp.*, cepas de colección de CMI, véase tabla 8

30 5. *Fusobacterium spp.*, cepas de colección de CMI, véase tabla 8

6. *Peptostreptococcus, spp.*, cepas de colecciones de CMI, véase tabla 8

7. *Prevotella spp.*, cepas de colección de CMI, véase tabla 8

8. *N. gonorrhoeae* ATCC 35541

9. *N. gonorrhoeae* ATCC 49226

35 10. *Neisseria gonorrhoeae*, cepas de colección de JMI, véase tabla 8

11. *Neisseria meningitidis*, cepas de colección de JMI, véase tabla 8

Preparación de los medios y condiciones de crecimiento:

40 El medio de crecimiento recomendado para cada especie microbiana se preparó de acuerdo con la publicación CLSI 'M11-A7 Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria; Approved Standard - Seventh Edition (2007)' con la excepción de *N. gonorrhoeae* y *N. meningitidis* para la cual se prepararon medios de acuerdo con "M07-A8 Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically; Approved Standard—Eighth Edition (2009)"

45

Vertido de placa:

1. Se prepararon 100x de existencias de fármacos de cada compuesto de prueba como se describe en la Tabla 1. Se utilizó un tubo de centrifuga de 15 mL y se agregaron 100 uL de cada existencia de fármaco a 10 mL de agar fundido (enfriado a ~55°C en baño de agua). Se mezcló al invertir el tubo 2-3 veces, luego se vertió en una placa de Petri de 60 x 15 mm etiquetada individualmente.

50

2. Las concentraciones de prueba de rutina fueron: 0.002 ug/mL-16 ug/mL (14 placas).

55

3. Se vertieron 4 placas libres de fármaco: 2 como control positivo, 2 como control aeróbico.

4. Se dejó que las placas se secaran. Se utilizó el mismo día o almacenó durante la noche a temperatura ambiente o se almacenó hasta por 3 días a 4°C.

60

Las placas se etiquetaron de acuerdo con la concentración de fármaco y la colocación de la cepa

Crecimiento de células que requieren el mantenimiento de un ambiente anaeróbico:

1. Todo el trabajo realizado con bacterias anaeróbicas se realizó lo más rápidamente posible; el trabajo se realizó en cabinas de bioseguridad (es decir, ambiente aeróbico) se completó en menos de 30 minutos antes de que las células regresaran a las cámaras anaeróbicas.

65

2. La incubación de bacterias anaeróbicas se logró utilizando cámaras GasPak™. Las cámaras de estilo caja grande (VWR 90003-636) requerían 2 sobres anaeróbicos (VWR 90003-642), mientras que las cámaras de estilo de cilindro alto (VWR 90003-602) solo requerían 1 sobre.

5 Inoculación de placa (realizada en gabinete de bioseguridad):

1. Se rayó cada cepa en placas de agar individuales como se describió anteriormente. Se incubó durante el tiempo requerido y las condiciones ambientales (es decir, anaeróbico, microaerófilo, etc.).

10 2. Se utilizó el método de suspensión de colonias directa para suspender bucles de células recién rayadas en ~4 mL de NaCl₂ al 0.9% y se agitó con vórtex.

15 3. Se ajustó la suspensión a O.D.₆₀₀ 0.05 (5 x 10⁷ cfu/mL). Se sometió a vórtex para mezclar.

4. Se transfirieron ~0.2 mL de cultivos mixtos ajustados a una placa de 96 pozos. Cuando se probaron ≤ 5 cepas, todas las cepas se alinearon en una sola fila. Cuando se probaron > 5 cepas, se transfirieron las cepas a una placa con no más de 5 cepas en una sola fila. Esto fue necesario para ajustar en las placas pequeñas.

20 5. Se utilizó un pipeteador multicanal, se colocaron 0.002 mL de cada cepa a partir de placas de 96 pozos preparadas sobre cada placa de prueba MIC. Esto resultó en ~1x10⁵ cfu/punto. Cuando se probó *C. difficile*, las cepas enjambradas cuando crecieron, sin embargo, la distancia entre los puntos de los pipeteadores multicanal fue lo suficientemente grande como para que las células enjambradas no afectaran los resultados del ensayo.

25 a. Primero se inocularon 2 placas libres de fármaco, mientras que las otras 2 placas libres de fármaco se inocularon por última vez después de las placas de prueba MIC. El primero y el segundo sirvieron como controles de crecimiento e inoculación. Se incubó una placa de cada conjunto de controles libres de fármacos bajo condiciones atmosféricas requeridas con las placas MIC y una serie aeróbicamente para probar la contaminación con bacterias aeróbicas. El cultivo aeróbico fue negativo para el crecimiento cuando se trabaja con una cepa anaerobia o microaerófila estricta. Se observó cierto crecimiento con *N. gonorrhoeae*.

30 6. Permitir que el inóculo se seque (durante el tiempo más corto que sea necesario), luego se colocó boca abajo en el GasPak con el número apropiado de sobres e incube.

35 7. Se incubó *Neisseria spp.* a 37°C en un ambiente de CO₂ al 5% durante 24 h.

Determinación de MIC:

40 Se examinaron las placas de prueba después del tiempo de incubación correcto y se leyó el punto final de la MIC a la concentración en la que se produjo una reducción marcada en la aparición del crecimiento sobre la placa de prueba en comparación con aquella del crecimiento sobre las placas de control positivo.

TABLA 5 Diluciones compuestas para la determinación de MIC utilizando el método de dilución en agar.

Etapa	Existencias (ug/ml)	Fuente	Volumen de existencia (uL)	Diluyente, DMSO (uL)**	Conc. intermedia (ug/mL)	Conc. Final a 1:100 (ug/mL)	Volumen (uL) agregado a 10 mL de agar
1	1.600*	Existencia			1,600	16	100
2	1.600	Existencia	75	75	800	8	100
3	1.600	Existencia	75	225	400	4	100
4	1.600	Existencia	75	525	200	2	100
5	200	Etapa 4	75	75	100	1	100
6	200	Etapa 4	75	225	50	0.5	100
7	200	Etapa 4	75	525	25	0.25	100
8	25	Etapa 7	75	75	12.5	0.125	100
9	25	Etapa 7	75	225	6.25	0.06	100
10	25	Etapa 7	75	525	3.1	0.03	100
11	3	Etapa 10	75	75	1.6	0.016	100
12	3	Etapa 10	75	225	0.8	0.008	100
13	3	Etapa 10	75	525	0.4	0.004	100
14	0.4	Etapa 13	75	75	0.2	0.002	100

* 1.600 ug/ml = 64 ul (10 mg/ml de existencia) + 336 ul de DMSO; 400 ul de volumen total para comenzar
 ** compuesto disuelto y diluido en DMSO al 100%

ES 2 705 923 T3

Protocolo # 4. Procedimiento de determinación de MIC para especies de *Mycobacterium*

Materiales

- 5 Placas de microtitulación de 96 pozos de fondo redondo (Costar 3788) o similares
Sellos de placa de película (PerkinElmer, TopSeal-A # 6005250 o similar)
Caldo Middlebrook 7H10 con glicerol al 0.2%
10 Agar Middlebrook 7H10 con glicerol al 0.2%
Enriquecimiento OADC Middlebrook

Preparación del inóculo para *M. tuberculosis*:

- 15 1. Se utilizó la existencia de *M. tuberculosis* congelada preparada almacenada a -70°C . *M. tuberculosis* se cultivó en caldo 7H10 + OADC al 10%, luego se congeló a una concentración de 100 Klett o 5×10^7 ufc/ml,
2. Se preparó una dilución 1:20 mediante la eliminación de 1 ml del caldo congelado y se agregó a 19 ml de caldo 7H10 + 10% de OADC (concentración final 2.5×10^6 ufc/ml).
20 3. A partir de esta dilución, se preparó una segunda dilución 1:20, se extrajo 1 ml y se agregó a 19 ml de caldo fresco. Este fue el inóculo final para agregar a las placas de 96 pozos.

Preparación del inóculo para *M. kansasii*, *M. avium*, *M. abscessus* y *Nocardia spc.*

- 25 1. Se utilizó el cultivo en existencia congelado preparado o un cultivo fresco en caldo 7H10 a una concentración de 10 Klett o 5×10^7 /ml.
2. Se preparó una dilución de 1:20 mediante la eliminación de 1.0 ml del cultivo en existencia y se agregó a 19 ml de caldo 7H10 (concentración final 2.5×10^6 cfu/ml).
30 3. De esta dilución preparada una dilución 1:20, se extrajo 1 ml y se agregó a 19 ml de caldo fresco (suspensión final)

Preparación de la placa:

- 35 1. Placas rotuladas.
2. Se agregaron 50 μl de caldo 7H10 + 10% de OADC a todos los pozos que se están utilizando para la determinación de MIC mediante un pipeteador electrónico multicanal.
40 3. Se prepararon soluciones madre de fármacos (por ejemplo, 1 mg/ml de concentración) para analizar.
4. Se descongelaron y diluyeron soluciones madre congeladas utilizando caldo 7H10 + 10% de OADC para obtener una solución de trabajo 4 veces la concentración máxima probada (por ejemplo, concentración final 32 $\mu\text{g}/\text{ml}$, la concentración más alta probada fue 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$). Se hicieron diluciones a partir de la solución madre. Para comenzar a
45 una concentración de 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$, los fármacos se prepararon a 4 $\mu\text{g}/\text{ml}$, por lo que la concentración inicial fue de 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Se retiraron 25 μl de la existencia de 1 mg/ml y se agregaron a 6.2 ml de caldo. Todas las diluciones de fármacos se hicieron en caldo.
5. Se agregaron 50 μl de la solución de trabajo 4x al primer pozo de la fila designada. Se continúa para todos los compuestos a probar. Utilizando una pipeta electrónica multicanal, se mezclaron 4X y se diluyeron en serie los compuestos diluidos a través del pozo 11. Se desechan los 50 μl restantes. Se utiliza el 12° pozo como control positivo.
50 6. Se incubaron placas a 37°C de *M. tuberculosis* durante ~18 días; *M. avium* y *M. kansasii* durante ~7 días; *Nocardia* y *M. abscessus* durante ~4 días; con sellos de película.
55 7. Se leyó visualmente y se registró los resultados. La MIC se registró como la concentración más baja del fármaco en el que no se observó crecimiento (claridad óptica en el pozo).

60 Protocolo # 5. Protocolo para el ensayo MIC de cambio de suero de *Mycobacterium tuberculosis*

Materiales y reactivos:

- 65 Placas de microtitulación de 96 pozos de fondo plano y lados negros Costar # 3904
Caldo Middlebrook 7H9 (BD271310) con glicerol al 0.2%
Enriquecimiento OADC Middlebrook

Suero bovino fetal
Catalasa (Sigma C1345)
Dextrosa
NaCl₂

5 Sistema de Inoculación BBL Prompt (Fisher b26306)

Placas de agar (Middlebrook 7H11 con glicerol al 0.2% y enriquecimiento de OADC) con bacterias que se extienden a colonias individuales
DMSO estéril

10 Preparación de medios:

1. Para las MIC modificadas con suero, se requirieron tres medios diferentes, todos los cuales tenían una base de 7H9 + glicerol al 0.2%. Era importante que todos los medios y suplementos se esterilizaran antes de los MIC.

15 2. Se prepararon todos los medios a continuación y se inocularon como se describe en la siguiente sección. Se probaron todos los compuestos contra Mtb utilizando cada medio.

a. 7H9 + glicerol al 0.2% + 10% de OADC (medios MIC "estándar").

b. 7H9 + glicerol al 0.2% + 2 g/L de dextrosa + 0.85 g/L de NaCl + 0.003 g/L de catalasa (FBS al 0%).

20 c. 2x 7H9 + glicerol al 0.2% + 2 g/L de dextrosa + 0.85 g/L de NaCl + 0.003 g/L de catalasa combinada con un volumen igual de suero fetal bovino (FBS al 50%).

Preparación del inóculo:

25 1. Utilizando BBL Prompt, se recogieron 5-10 colonias bien separadas y se inoculó 1 ml de solución salina estéril que vino en el kit. Normalmente, las placas tenían de dos a tres semanas de edad cuando se utilizaron para este ensayo debido al lento crecimiento de este organismo en cultivo.

30 2. Se agitó en vórtex, luego se sometió a sonicación en un baño de agua durante 30 segundos, proporcionando una suspensión de $\sim 10^8$ de células/ml. La densidad real se podría confirmar al colocar diluciones de esta suspensión.

3. Se preparó el inóculo en cada una de las tres formulaciones de los medios al diluir la suspensión 1/200 de BBL (por ejemplo: se transfirieron 0.2 ml de células a 40 ml de medio) para obtener una densidad celular inicial de $\sim 10^6$ de células/ml.

35 4. Se utilizaron 100 μ l de células ($\sim 5 \times 10^4$ células) para inocular cada pozo de microtitulación que contenía 1 μ l de fármaco en DMSO (véase más abajo).

Diluciones de fármacos, inoculación, determinación de MIC:

40 1. Las existencias de fármacos de control Isoniazid y Novobiocin se prepararon a 10 mM en DMSO al 100%, mientras que Ciprofloxacina y Rifampin se prepararon a 1 mM en DMSO al 50% y DMSO al 100%, respectivamente. Diluciones preparadas: se dispensaron 100 μ L de solución madre en la primera columna de una placa de 96 pozos. Se prepararon diluciones en serie de 11 etapas y 2 etapas en la fila para cada compuesto, al transferir 50 μ l de la columna 1 a 50 μ l de DMSO en la columna 2. Se continuó transfiriendo 50 μ L de la columna 2 a la columna 11 mientras se mezclaron y cambiaron las puntas en cada columna. Columna izquierda 12 con DMSO solo como control.

50 2. Se transfirieron 1 μ l de cada dilución a un pozo de microtitulación vacío antes de agregar 100 μ l de células. La concentración inicial de isoniazida y novobiocina fue de 100 μ M después de la dilución en medio + células; la concentración inicial de Ciprofloxacina y Rifampina fue de 10 μ M después de la dilución en medio + células. Las concentraciones de compuestos disminuyeron en etapas 2x moviéndose a través de las filas de la placa de microtitulación. Todas las MIC se realizaron por duplicado en cada una de las tres condiciones del medio.

55 3. Los conjuntos de prueba de compuestos fueron normalmente a 10 mM y 50 μ L de volumen.

4. Se utilizó un pipeteador multicanal, se eliminó todo el volumen de cada columna de la placa maestra y se transfirió a la primera columna de una nueva placa de microtitulación de 96 pozos. Se repitió para cada columna de compuestos en la placa maestra, transfiriéndose a la columna 1 de una nueva placa de 96 pozos.

60 5. Como se describió anteriormente para los compuestos de control, se generaron diluciones de 2 puntos y 11 puntos de cada compuesto utilizando DMSO como diluyente. En todos los casos, la columna de la izquierda 12 como DMSO solo para un control. Una vez que se completaron todas las diluciones, nuevamente se transfirieron 1 μ l de cada dilución a un pozo de microtitulación vacío antes de la adición de 100 μ l de células como se hizo para los compuestos de control.

65

6. Todos los pozos se inocularon con 100 µl de suspensión celular diluida (véase anteriormente).
7. Después de la adición del inóculo, se mezclaron las placas golpeando suavemente los lados de la placa.
- 5 8. Las placas se incubaron en una cámara humidificada a 37°C durante 9 días.
9. A los 9 días, se agregaron 25 µl de resazurina estéril al 0.01% a cada pozo. Se midió la fluorescencia de fondo en excitación 492 nm, Emisión 595 nm y se devolvió la placa a la incubadora durante otras 24 horas.
- 10 10. Después de 24 horas, se midió la fluorescencia de cada pozo a una excitación de 492 nm, emisión de 595 nm.
11. El porcentaje de inhibición por un compuesto dado se calculó de la siguiente manera: Porcentaje de inhibición = $100 - \frac{[\text{fluorescencia de pozo} - \text{fluorescencia de fondo promedio}]}{[\text{control de DMSO} - \text{fluorescencia de fondo promedio}]} \times 100$. Las MIC se calificaron para las tres condiciones del medio como la concentración de compuesto más baja que inhibió la señal de reducción de resazurina (“% de inhibición”) del $\geq 70\%$ en una condición de medio dada.
- 15 La Tabla 6 muestra los resultados del ensayo de MIC para la sal de mesilato del compuesto de bencimidazolilurea de esta invención.
- 20 En la Tabla 6 y en las siguientes Tablas y Ejemplos, el “Compuesto 24” es la sal de amesilato del “Compuesto 23” y se puede preparar de acuerdo con el Ejemplo 1.j, anterior. Este es el mismo número que se utiliza para identificar dicho compuesto como se utiliza en los ejemplos anteriores.

TABLA 6 Valores de MIC del Compuesto 24

Cepa/Condición especial	Protocolo	Compuesto 24
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	1	0.021
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213 con suero humano	1	0.15
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213 con suero de rata	1	0.18
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213 con suero de ratón	1	0.5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213 GyrB T173I	1	0.3
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212, con sangre de caballo laqueada	1	0.028
<i>Enterococcus faecium</i> ATCC 49624 con sangre de caballo laqueada	1	0.11
<i>Enterococcus faecium</i> ATCC 49624	1	0.11
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 10015, con sangre de caballo laqueada	1	0.01
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10987	1	0.031
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579	1	0.031
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6638	1	2
<i>Bacillus subtilis</i> (168) ATCC 6051	1	4
<i>Clostridium difficile</i> ATCC BAA-1382	3	0.38
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 49247	2	0.5
<i>Haemophilus influenzae</i> (Rd1 KW20) ATCC 51907	2	1.3
<i>Haemophilus influenzae</i> Rd0894 (AcrA-)	2	0.041
<i>Moraxella catarrhalis</i> ATCC 25238	2	≤ 0.016
<i>Moraxella catarrhalis</i> ATCC 49143	2	≤ 0.016
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ATCC 35541	3	0.42
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ATCC 49226	3	1
<i>Escherichia coli</i> AG100 WT	2	4
<i>Escherichia coli</i> AG100 <i>tolC</i>	2	0.063
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	2	12
<i>Escherichia coli</i> CHE30	2	8
<i>Escherichia coli</i> CHE30 <i>tolC</i>	2	0.125
<i>Escherichia coli</i> MC4100	2	>16
<i>Escherichia coli</i> MC4100 <i>tolC</i>	2	0.25
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	2	16
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC BAA-1705	2	12
<i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC 19606	2	8
<i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC BAA-1710	2	6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PAO1	2	>16
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PAO750	2	0.25
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ATCC BAA-84	2	>8
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ATCC13637	2	>8
<i>Mycobacterium avium</i> 103	4	0.18
<i>M. avium</i> Far	4	0.23
<i>M. avium</i> 3404.4	4	0.23

Cepa/Condición especial	Protocolo	Compuesto 24
<i>Nocardia caviae</i> 2497	4	0.125
<i>N. asteroides</i> 2039	4	1
<i>N. nova</i> 10	4	1
<i>M. kansasii</i> 303	4	0.03
<i>M. kansasii</i> 316	4	0.06
<i>M. kansasii</i> 379	4	<0.015
<i>M. tuberculosis</i> H37Rv ATCC 25618	4	0.015
<i>M. tuberculosis</i> Erdman ATCC 35801	4	0.06
<i>M. tuberculosis</i> Erdman ATCC 35801	5	0.03
<i>M. tuberculosis</i> Erdman ATCC 35801 con suero de ratón	5	0.5
<i>M. abscessus</i> BB2	4	1
<i>M. abscessus</i> MC 6005	4	1
<i>M. abscessus</i> MC 5931	4	0.5
<i>M. abscessus</i> MC 5605	4	1.5
<i>M. abscessus</i> MC 6025	4	0.75
<i>M. abscessus</i> MC 5908	4	1.5
<i>M. abscessus</i> BB3	4	0.5
<i>M. abscessus</i> BB4	4	2
<i>M. abscessus</i> BB5	4	0.5
<i>M. abscessus</i> MC 5922	4	0.25
<i>M. abscessus</i> MC 5960	4	0.5
<i>M. abscessus</i> BB1	4	2
<i>M. abscessus</i> MC 5812	4	1
<i>M. abscessus</i> MC 5901	4	1
<i>M. abscessus</i> BB6	4	0.5
<i>M. abscessus</i> BB8	4	0.5
<i>M. abscessus</i> MC 5908	4	1
<i>M. abscessus</i> LT 949	4	1
<i>M. abscessus</i> BB10	4	0.015
<i>M. abscessus</i> MC 6142	4	0.5
<i>M. abscessus</i> MC 6136	4	0.5
<i>M. abscessus</i> MC 6111	4	0.5
<i>M. abscessus</i> MC 6153	4	1

La Tabla 7 muestra los resultados del ensayo MIC90 para compuestos seleccionados de esta invención.

5 TABLA 7 Valores de MIC90 de compuestos seleccionados con paneles de patógenos gram-positivos, gram-negativos y anaeróbicos

Organismo	Número de aislados probados	Protocolo	Rango (µg/ml)	MIC90(µg/ml)
<i>Aeróbica Gram-positiva</i>				
<i>Staphylococcus aureus</i>	67	1	0.008-0.06	0.03
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	35	1	0.008-0.03	0.03
<i>Enterococcus faecalis</i>	34	1	0.015-0.12	0.06
<i>Enterococcus faecium</i>	33	1	0.003-0.25	0.12
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	67	1	0.008-0.03	0.015
Esteptococos β-haemolíticos (Grupos A, B, C y G)	28	1	0.015-0.12	0.12
<i>Aeróbica Gram-negativa</i>				
<i>Haemophilus influenzae</i>	55	2	0.06-2	1
<i>Moraxella catarrhalis</i>	26	2	≤0.004-0.03	0.03
<i>Acinetobacter baumannii</i>	12	2	4 ->8	>8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12	2	>8->8	>8
<i>Escherichia coli</i>	12	2	2 ->8	>8
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	12	2	2 ->8	>8
<i>Proteus mirabilis</i>	12	2	4 ->8	>8
<i>Enterobacter cloacae</i>	12	2	>8->8	>8
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	13	3	0.12-0.25	0.25
<i>Neisseria meningitidis</i>	12	3	0.008-0.06	0.03
<i>Anaerobes</i>				
<i>Bacteroides</i> y <i>Parabacter</i> spp.	26	3	0.12-16	16
<i>Bacteroides fragilis</i>	25	3	1-16	16
<i>Clostridium difficile</i>	16	3	0.06-4	0.25

ES 2 705 923 T3

Organismo	Número de aislados probados	Protocolo	Rango (µg/ml)	MIC90(µg/ml)
<i>Clostridium perfringens</i>	12	3	0.12-0.5	0.5
<i>Fusobacterium spp.</i>	16	3	0.015->16	>16
<i>Peptostreptococcus spp.</i>	11	3	0.03->16	>16
<i>Prevotella spp.</i>	13	3	0.06-16	16

En la Tabla 8 a continuación, el término "CMI" significa The Clinical Microbiology Institute located in Wilsonville, Oregon.

5 TABLA 8 Paneles de organismos anaeróbicos utilizados para generar datos MIC90

CMI#	ORGANISMO
A2380	<i>B. fragilis</i>
A2381	<i>B. fragilis</i>
A2382	<i>B. fragilis</i>
A2486	<i>B. fragilis</i>
A2487	<i>B. fragilis</i>
A2489	<i>B. fragilis</i>
A2527	<i>B. fragilis</i>
A2529	<i>B. fragilis</i>
A2562	<i>B. fragilis</i>
A2627	<i>B. fragilis</i>
A2802	<i>B. fragilis</i>
A2803	<i>B. fragilis</i>
A2804	<i>B. fragilis</i>
A2805	<i>B. fragilis</i>
A2806	<i>B. fragilis</i>
A2807	<i>B. fragilis</i>
A2808	<i>B. fragilis</i>
A2809	<i>B. fragilis</i>
A2810	<i>B. fragilis</i>
A2811	<i>B. fragilis</i>
A2812	<i>B. fragilis</i>
A2813	<i>B. fragilis</i>
A2814	<i>B. fragilis</i>
A2460	<i>B. thetaiotaomicron</i>
A2462	<i>B. thetaiotaomicron</i>
A2463	<i>B. thetaiotaomicron</i>
A2464	<i>B. thetaiotaomicron</i>
A2536	<i>B. thetaiotaomicron</i>
A2591	<i>B. uniformis</i>
A2604	<i>B. vulgatus</i>
A2606	<i>B. vulgatus</i>
A2613	<i>B. ovatus</i>
A2616	<i>B. ovatus</i>
A2815	<i>Bacteroides tectum</i>
A2816	<i>B. ureolyticus</i>
A2817	<i>Bacteroides capillosus</i>
A2818	<i>B. ureolyticus</i>
A2824	<i>Parabacter distasonis</i>
A2825	<i>B. ovatus</i>
A2826	<i>B. uniformis</i>
A2827	<i>B. uniformis</i>
A2828	<i>B. vulgatus</i>
A2829	<i>B. vulgatus</i>
A2830	<i>B. ovatus</i>
A2831	<i>B. thetaiotaomicron</i>
A2832	<i>Parabacter distasonis</i>
A2833	<i>B. thetaiotaomicron</i>
A2767	<i>C. difficile</i>
A2768	<i>C. difficile</i>

ES 2 705 923 T3

CMI#	ORGANISMO
A2769	<i>C. difficile</i>
A2770	<i>C. difficile</i>
A2771	<i>C. difficile</i>
A2772	<i>C. difficile</i>
A2773	<i>C. difficile</i>
A2774	<i>C. difficile</i>
A2775	<i>C. difficile</i>
A2776	<i>C. difficile</i>
A2777	<i>C. difficile</i>
A2778	<i>C. difficile</i>
A2779	<i>C. difficile</i>
A2780	<i>C. difficile</i>
A2140	<i>C. perfringens</i>
A2203	<i>C. perfringens</i>
A2204	<i>C. perfringens</i>
A2227	<i>C. perfringens</i>
A2228	<i>C. perfringens</i>
A2229	<i>C. perfringens</i>
A2315	<i>C. perfringens</i>
A2332	<i>C. perfringens</i>
A2333	<i>C. perfringens</i>
A2334	<i>C. perfringens</i>
A2389	<i>C. perfringens</i>
A2390	<i>C. perfringens</i>
A864	<i>F. necrophorum</i>
A871	<i>F. nucleatum</i>
A1667	<i>F. necrophorum</i>
A1666	<i>F. necrophorum</i>
A2249	<i>F. nucleatum</i>
A2716	<i>Fusobacterium species</i>
A2717	<i>Fusobacterium species</i>
A2719	<i>Fusobacterium species</i>
A2721	<i>Fusobacterium species</i>
A2722	<i>Fusobacterium species</i>
A2710	<i>Fusobacterium species</i>
A2711	<i>Fusobacterium species</i>
A2712	<i>Fusobacterium species</i>
A2713	<i>Fusobacterium species</i>
A2714	<i>Fusobacterium species</i>
A2715	<i>Fusobacterium species</i>
A1594	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>
A2158	<i>Peptostreptococcus magnus</i>
A2168	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>
A2170	<i>Peptostreptococcus magnus</i>
A2171	<i>Peptostreptococcus magnus</i>
A2575	<i>Peptostreptococcus spp.</i>
A2579	<i>Peptostreptococcus asaccharolyticus</i>
A2580	<i>Peptostreptococcus asaccharolyticus</i>
A2614	<i>Peptostreptococcus asaccharolyticus</i>
A2620	<i>Peptostreptococcus asaccharolyticus</i>
A2629	<i>Peptostreptococcus spp.</i>
A2739	<i>Prevotella denticola</i>
A2752	<i>Prevotella bivia</i>
A2753	<i>Prevotella intermedia</i>
A2754	<i>Prevotella intermedia</i>
A2756	<i>Prevotella bivia</i>
A2759	<i>Prevotella bivia</i>
A2760	<i>Prevotella denticola</i>
A2761	<i>Prevotella intermedia</i>
A2762	<i>Prevotella melaninogenica</i>

ES 2 705 923 T3

CMI#	ORGANISMO
A2765	<i>Prevotella melaninogenica</i>
A2766	<i>Prevotella melaninogenica</i>
A2821	<i>Prevotella bivia</i>
A2822	<i>Prevotella bivia</i>
QCBF	<i>B. fragilis</i>
QCBT	<i>B. thetaiotaomicron</i>
QCCD	<i>C. difficile</i>
QCBF	<i>B. fragilis</i>
QCBT	<i>B. thetaiotaomicron</i>
QCCD	<i>C. difficile</i>

En la Tabla 9 a continuación, el término "JMI" significa The Jones Microbiology Institute ubicado en North Liberty, Iowa.

5 TABLA 9 Paneles de organismo gram positivo y gram negativo utilizado para generar datos MIC90

Aislado JMI #	Código de Organismo JMI	Organismo
394	ACB	<i>Acinetobacter baumannii</i>
2166	ACB	<i>Acinetobacter baumannii</i>
3060	ACB	<i>Acinetobacter baumannii</i>
3170	ACB	<i>Acinetobacter baumannii</i>
9328	ACB	<i>Acinetobacter baumannii</i>
9922	ACB	<i>Acinetobacter baumannii</i>
13618	ACB	<i>Acinetobacter baumannii</i>
14308	ACB	<i>Acinetobacter baumannii</i>
17086	ACB	<i>Acinetobacter baumannii</i>
17176	ACB	<i>Acinetobacter baumannii</i>
30554	ACB	<i>Acinetobacter baumannii</i>
32007	ACB	<i>Acinetobacter baumannii</i>
1192	ECL	<i>Enterobacter cloacae</i>
3096	ECL	<i>Enterobacter cloacae</i>
5534	ECL	<i>Enterobacter cloacae</i>
6487	ECL	<i>Enterobacter cloacae</i>
9592	ECL	<i>Enterobacter cloacae</i>
11680	ECL	<i>Enterobacter cloacae</i>
12573	ECL	<i>Enterobacter cloacae</i>
12735	ECL	<i>Enterobacter cloacae</i>
13057	ECL	<i>Enterobacter cloacae</i>
18048	ECL	<i>Enterobacter cloacae</i>
25173	ECL	<i>Enterobacter cloacae</i>
29443	ECL	<i>Enterobacter cloacae</i>
44	EF	<i>Enterococcus faecalis</i>
355	EF	<i>Enterococcus faecalis</i>
886	EF	<i>Enterococcus faecalis</i>
955	EF	<i>Enterococcus faecalis</i>
1000	EF	<i>Enterococcus faecalis</i>
1053	EF	<i>Enterococcus faecalis</i>
1142	EF	<i>Enterococcus faecalis</i>
1325	EF	<i>Enterococcus faecalis</i>
1446	EF	<i>Enterococcus faecalis</i>
2014	EF	<i>Enterococcus faecalis</i>
2103	EF	<i>Enterococcus faecalis</i>
2255	EF	<i>Enterococcus faecalis</i>
2978	EF	<i>Enterococcus faecalis</i>
2986	EF	<i>Enterococcus faecalis</i>
5027	EF	<i>Enterococcus faecalis</i>
5270	EF	<i>Enterococcus faecalis</i>
5874	EF	<i>Enterococcus faecalis</i>
7430	EF	<i>Enterococcus faecalis</i>
7904	EF	<i>Enterococcus faecalis</i>
8092	EF	<i>Enterococcus faecalis</i>

ES 2 705 923 T3

Aislado JMI #	Código de Organismo JMI	Organismo
8691	EF	<i>Enterococcus faecalis</i>
9090	EF	<i>Enterococcus faecalis</i>
10795	EF	<i>Enterococcus faecalis</i>
14104	EF	<i>Enterococcus faecalis</i>
16481	EF	<i>Enterococcus faecalis</i>
18217	EF	<i>Enterococcus faecalis</i>
22442	EF	<i>Enterococcus faecalis</i>
25726	EF	<i>Enterococcus faecalis</i>
26143	EF	<i>Enterococcus faecalis</i>
28131	EF	<i>Enterococcus faecalis</i>
29765	EF	<i>Enterococcus faecalis</i>
30279	EF	<i>Enterococcus faecalis</i>
31234	EF	<i>Enterococcus faecalis</i>
31673	EF	<i>Enterococcus faecalis</i>
115	EFM	<i>Enterococcus faecium</i>
227	EFM	<i>Enterococcus faecium</i>
414	EFM	<i>Enterococcus faecium</i>
712	EFM	<i>Enterococcus faecium</i>
870	EFM	<i>Enterococcus faecium</i>
911	EFM	<i>Enterococcus faecium</i>
2356	EFM	<i>Enterococcus faecium</i>
2364	EFM	<i>Enterococcus faecium</i>
2762	EFM	<i>Enterococcus faecium</i>
3062	EFM	<i>Enterococcus faecium</i>
4464	EFM	<i>Enterococcus faecium</i>
4473	EFM	<i>Enterococcus faecium</i>
4653	EFM	<i>Enterococcus faecium</i>
4679	EFM	<i>Enterococcus faecium</i>
6803	EFM	<i>Enterococcus faecium</i>
6836	EFM	<i>Enterococcus faecium</i>
8280	EFM	<i>Enterococcus faecium</i>
8702	EFM	<i>Enterococcus faecium</i>
9855	EFM	<i>Enterococcus faecium</i>
10766	EFM	<i>Enterococcus faecium</i>
12799	EFM	<i>Enterococcus faecium</i>
13556	EFM	<i>Enterococcus faecium</i>
13783	EFM	<i>Enterococcus faecium</i>
14687	EFM	<i>Enterococcus faecium</i>
15268	EFM	<i>Enterococcus faecium</i>
15525	EFM	<i>Enterococcus faecium</i>
15538	EFM	<i>Enterococcus faecium</i>
18102	EFM	<i>Enterococcus faecium</i>
18306	EFM	<i>Enterococcus faecium</i>
19967	EFM	<i>Enterococcus faecium</i>
22428	EFM	<i>Enterococcus faecium</i>
23482	EFM	<i>Enterococcus faecium</i>
597	EC	<i>Escherichia coli</i>
847	EC	<i>Escherichia coli</i>
1451	EC	<i>Escherichia coli</i>
8682	EC	<i>Escherichia coli</i>
11199	EC	<i>Escherichia coli</i>
12583	EC	<i>Escherichia coli</i>
12792	EC	<i>Escherichia coli</i>
13265	EC	<i>Escherichia coli</i>
14594	EC	<i>Escherichia coli</i>
22148	EC	<i>Escherichia coli</i>
29743	EC	<i>Escherichia coli</i>
30426	EC	<i>Escherichia coli</i>
470	BSA	Group A Streptococcus
2965	BSA	Group A Streptococcus

ES 2 705 923 T3

Aislado JMI #	Código de Organismo JMI	Organismo
3112	BSA	Group A <i>Streptococcus</i>
3637	BSA	Group A <i>Streptococcus</i>
4393	BSA	Group A <i>Streptococcus</i>
4546	BSA	Group A <i>Streptococcus</i>
4615	BSA	Group A <i>Streptococcus</i>
5848	BSA	Group A <i>Streptococcus</i>
6194	BSA	Group A <i>Streptococcus</i>
8816	BSA	Group A <i>Streptococcus</i>
11814	BSA	Group A <i>Streptococcus</i>
16977	BSA	Group A <i>Streptococcus</i>
18083	BSA	Group A <i>Streptococcus</i>
18821	BSA	Group A <i>Streptococcus</i>
25178	BSA	Group A <i>Streptococcus</i>
30704	BSA	Group A <i>Streptococcus</i>
12	BSB	Group B <i>Streptococcus</i>
10366	BSB	Group B <i>Streptococcus</i>
10611	BSB	Group B <i>Streptococcus</i>
16786	BSB	Group B <i>Streptococcus</i>
18833	BSB	Group B <i>Streptococcus</i>
30225	BSB	Group B <i>Streptococcus</i>
10422	BSC	Group C <i>Streptococcus</i>
14209	BSC	Group C <i>Streptococcus</i>
29732	BSC	Group C <i>Streptococcus</i>
8544	BSG	Group G <i>Streptococcus</i>
18086	BSG	Group G <i>Streptococcus</i>
29815	BSG	Group G <i>Streptococcus</i>
147	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
180	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
934	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
970	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
1298	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
1819	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
1915	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
2000	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
2562	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
2821	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
3133	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
3140	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
3497	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
3508	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
3535	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
4082	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
4108	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
4422	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
4868	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
4872	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
5858	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
6258	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
6875	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
7063	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
7600	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
8465	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
10280	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
10732	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
10850	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
11366	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
11716	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
11724	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
11908	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
12093	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>

ES 2 705 923 T3

Aislado JMI #	Código de Organismo JMI	Organismo
12107	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
13424	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
13439	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
13672	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
13687	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
13792	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
13793	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
14440	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
15351	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
15356	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
15678	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
15800	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
17841	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
18614	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
25195	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
27021	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
28326	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
28332	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
29918	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
29923	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
31911	HI	<i>Haemophilus influenzae</i>
428	KPN	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
791	KPN	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
836	KPN	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
1422	KPN	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
1674	KPN	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
1883	KPN	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
6486	KPN	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
8789	KPN	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
10705	KPN	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
11123	KPN	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
28148	KPN	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
29432	KPN	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
937	MCAT	<i>Moraxella catarrhalis</i>
1290	MCAT	<i>Moraxella catarrhalis</i>
1830	MCAT	<i>Moraxella catarrhalis</i>
1903	MCAT	<i>Moraxella catarrhalis</i>
4346	MCAT	<i>Moraxella catarrhalis</i>
4880	MCAT	<i>Moraxella catarrhalis</i>
6241	MCAT	<i>Moraxella catarrhalis</i>
6551	MCAT	<i>Moraxella catarrhalis</i>
7074	MCAT	<i>Moraxella catarrhalis</i>
7259	MCAT	<i>Moraxella catarrhalis</i>
7544	MCAT	<i>Moraxella catarrhalis</i>
8142	MCAT	<i>Moraxella catarrhalis</i>
8451	MCAT	<i>Moraxella catarrhalis</i>
9246	MCAT	<i>Moraxella catarrhalis</i>
9996	MCAT	<i>Moraxella catarrhalis</i>
12158	MCAT	<i>Moraxella catarrhalis</i>
13443	MCAT	<i>Moraxella catarrhalis</i>
13692	MCAT	<i>Moraxella catarrhalis</i>
13817	MCAT	<i>Moraxella catarrhalis</i>
14431	MCAT	<i>Moraxella catarrhalis</i>
14762	MCAT	<i>Moraxella catarrhalis</i>
14842	MCAT	<i>Moraxella catarrhalis</i>
15361	MCAT	<i>Moraxella catarrhalis</i>
15741	MCAT	<i>Moraxella catarrhalis</i>
17843	MCAT	<i>Moraxella catarrhalis</i>
18639	MCAT	<i>Moraxella catarrhalis</i>
241	GC	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>

ES 2 705 923 T3

Aislado JMI #	Código de Organismo JMI	Organismo
291	GC	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
293	GC	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
344	GC	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
451	GC	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
474	GC	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
491	GC	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
493	GC	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
503	GC	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
521	GC	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
552	GC	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
573	GC	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
592	GC	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
25	NM	<i>Neisseria meningitidis</i>
813	NM	<i>Neisseria meningitidis</i>
1725	NM	<i>Neisseria meningitidis</i>
2747	NM	<i>Neisseria meningitidis</i>
3201	NM	<i>Neisseria meningitidis</i>
3335	NM	<i>Neisseria meningitidis</i>
7053	NM	<i>Neisseria meningitidis</i>
9407	NM	<i>Neisseria meningitidis</i>
10447	NM	<i>Neisseria meningitidis</i>
12685	NM	<i>Neisseria meningitidis</i>
12841	NM	<i>Neisseria meningitidis</i>
14038	NM	<i>Neisseria meningitidis</i>
1127	PM	<i>Proteus mirabilis</i>
3049	PM	<i>Proteus mirabilis</i>
4471	PM	<i>Proteus mirabilis</i>
8793	PM	<i>Proteus mirabilis</i>
10702	PM	<i>Proteus mirabilis</i>
11218	PM	<i>Proteus mirabilis</i>
14662	PM	<i>Proteus mirabilis</i>
17072	PM	<i>Proteus mirabilis</i>
19059	PM	<i>Proteus mirabilis</i>
23367	PM	<i>Proteus mirabilis</i>
29819	PM	<i>Proteus mirabilis</i>
31419	PM	<i>Proteus mirabilis</i>
1881	PSA	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
5061	PSA	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
7909	PSA	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
8713	PSA	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
14318	PSA	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
14772	PSA	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
15512	PSA	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
17093	PSA	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
17802	PSA	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
19661	PSA	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
29967	PSA	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
31539	PSA	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
82	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
99	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
138	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
139	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
140	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
141	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
142	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
272	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
287	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
354	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
382	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
1112	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>

ES 2 705 923 T3

Aislado JMI #	Código de Organismo JMI	Organismo
1687	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
1848	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
2031	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
2159	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
2645	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
3256	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
3276	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
4044	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
4214	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
4217	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
4220	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
4231	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
4240	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
4262	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
4370	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
4665	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
4666	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
4667	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
5026	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
5666	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
6792	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
7023	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
7461	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
7899	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
7901	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
8714	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
9374	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
9437	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
10056	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
10110	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
11379	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
11629	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
11659	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
12788	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
12789	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
13043	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
13086	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
13721	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
13742	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
13932	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
14210	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
14384	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
15428	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
15430	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
17721	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
18688	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
19095	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
20195	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
22141	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
22689	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
27398	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
29048	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
29051	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
30491	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
30538	SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
25	SEPI	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
53	SEPI	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
385	SEPI	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
398	SEPI	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
701	SEPI	<i>Staphylococcus epidermidis</i>

ES 2 705 923 T3

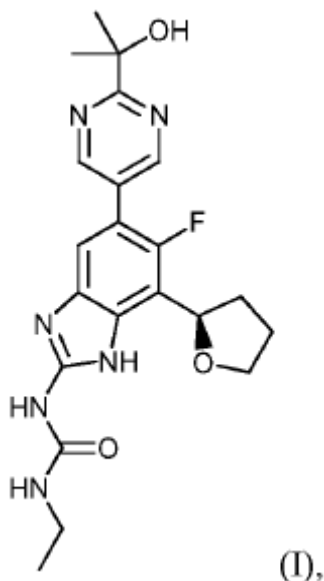
Aislado JMI #	Código de Organismo JMI	Organismo
713	SEPI	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
1381	SEPI	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
2174	SEPI	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
2286	SEPI	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
2969	SEPI	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
3417	SEPI	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
3447	SEPI	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
4753	SEPI	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
7241	SEPI	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
9366	SEPI	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
10665	SEPI	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
11792	SEPI	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
12311	SEPI	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
13036	SEPI	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
13227	SEPI	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
13243	SEPI	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
13621	SEPI	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
13638	SEPI	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
13800	SEPI	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
14078	SEPI	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
14392	SEPI	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
15007	SEPI	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
16733	SEPI	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
18871	SEPI	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
23285	SEPI	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
27805	SEPI	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
29679	SEPI	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
29985	SEPI	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
30259	SEPI	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
31444	SEPI	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
268	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
1264	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
2482	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
2653	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
2994	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
3123	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
3124	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
4336	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
4858	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
5606	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
5881	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
5897	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
5900	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
6051	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
6216	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
6556	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
7270	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
7584	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
8479	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
8501	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
9256	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
9257	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
10246	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
10467	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
10886	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
11217	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
11228	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
11238	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
11757	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
11768	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>

ES 2 705 923 T3

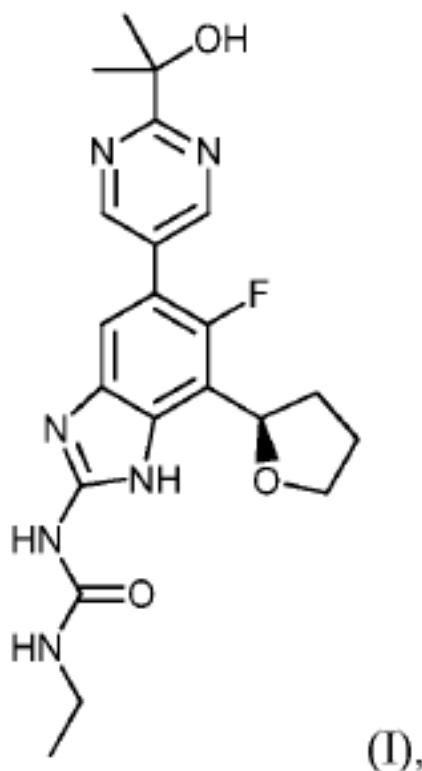
Aislado JMI #	Código de Organismo JMI	Organismo
12121	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
12124	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
12149	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
12767	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
12988	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
13321	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
13393	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
13521	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
13544	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
13700	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
13704	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
13822	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
13838	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
14131	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
14413	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
14744	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
14808	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
14827	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
14835	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
14836	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
15832	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
17336	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
17343	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
17349	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
17735	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
18060	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
18567	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
18595	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
19082	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
19826	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
22174	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
22175	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
27003	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
28310	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
28312	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
29890	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
29910	SPN	<i>Streptococcus pneumoniae</i>

REIVINDICACIONES

1. Una Forma I cristalina del compuesto de la fórmula (I):



- 5 que se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X en polvo (XPRD) que comprende posiciones pico aproximadas (grados $2\theta \pm 0.2$) al medir utilizando radiación $K\alpha$ de Cu, de 9.3, 16.6, 18.5, 19.4, 21.5, y 25.7, cuando el XPRD se recolecta desde aproximadamente 5 hasta aproximadamente 38 grados 2θ .
- 10 2. La Forma I cristalina de la reivindicación 1, caracterizada por un patrón de difracción de rayos X en polvo (XPRD) que comprende posiciones pico aproximadas (grados $2\theta \pm 0.2$) al medir utilizando radiación $K\alpha$ de Cu, de 9.29, 11.74, 12.13, 12.37, 13.71, 14.18, 14.54, 15.90, 16.32, 16.59, 18.49, 19.43, 19.94, 20.36, 21.53, 22.34, 22.80, 23.50, 23.75, 24.45, 25.09, 25.67, 26.39, 26.69, 27.52, 28.05, 28.43, 30.04, 30.31, 33.40, 34.07, 35.22 y 37.27 cuando el XPRD se recolecta desde aproximadamente 5 hasta aproximadamente 38 grados 2θ .
- 15 3. La Forma I cristalina de la reivindicación 2, caracterizada adicionalmente por un pico endotérmico que tiene una temperatura de inicio en aproximadamente 318°C según se mide mediante calorimetría de barrido diferencial en la que la temperatura se escanea en aproximadamente 10°C por minuto.
- 20 4. Un método para preparar la Forma I cristalina del compuesto de la fórmula (I) de acuerdo con la reivindicación 1 que comprende suspender un material sólido de la base libre en un sistema de solventes que comprende un alcohol y un éter y aislar el sólido.
5. Una sal de ácido clorhídrico del compuesto de la fórmula (I):



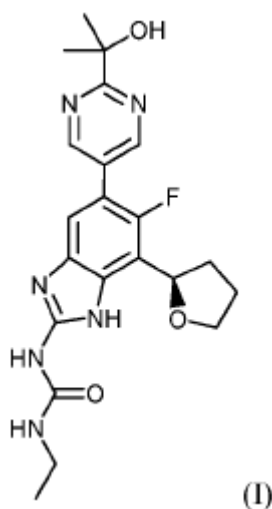
5 en la que dicha sal es una Forma II cristalina caracterizada por un patrón de difracción de rayos X en polvo (XPRD) que comprende posiciones pico aproximadas (grados $2\theta \pm 0.2$) al medir utilizando radiación K_{α} de Cu, de 6.7, 9.2, 16.7, 18.6, 19.5, 20.5, 25.6, y 27.5, cuando el XPRD se recolecta desde aproximadamente 5 hasta aproximadamente 38 grados 2θ .

10 6. La sal de ácido clorhídrico de la reivindicación 5, en la que dicha sal es la Forma II cristalina caracterizada por un patrón de difracción de rayos X en polvo (XPRD) que comprende posiciones pico aproximadas (grados $2\theta \pm 0.2$) al medir utilizando radiación K_{α} de Cu, a 6.67, 9.25, 11.64, 13.36, 15.90, 16.69, 18.59, 18.81, 19.51, 20.48, 22.59, 24.57, 25.61 y 27.54 cuando el XPRD se recolecta desde aproximadamente 5 hasta aproximadamente 38 grados 2θ .

15 7. La sal de ácido clorhídrico de la reivindicación 5, en la que dicha Forma II cristalina se caracteriza adicionalmente por un pico endotérmico que tiene una temperatura de inicio en aproximadamente 252°C según se mide mediante calorimetría de barrido diferencial en la que la temperatura se escanea en aproximadamente 10°C por minuto.

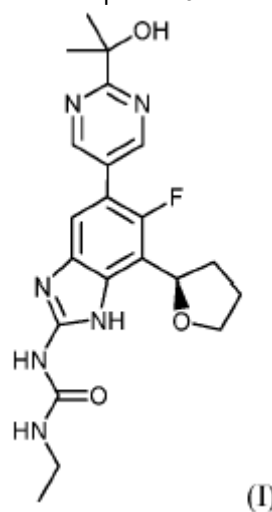
20 8. Un método para preparar la Forma II cristalina de la sal de clorhidrato del compuesto de la fórmula (I) de acuerdo con la reivindicación 5 que comprende suspender una base libre del compuesto 6-fluorobencimidazolil urea en una mezcla de solventes ácidos que comprende uno o más solventes etéreos y agua.

9. Una Forma amorfa III del compuesto 6-fluorobencimidazolil urea de la fórmula I:



que se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X en polvo (XPRD) utilizando radiación K_{α} de Cu, caracterizada por un halo amplio sin pico de difracción discernible.

- 5 10. Un método para preparar la Forma amorfa III del compuesto 6-fluorobencimidazolil urea de acuerdo con la reivindicación 9 que comprende liofilizar, secar por pulverización, secar en tambor, o secar por conversión de impulsos una solución del compuesto 6-fluorobencimidazolil urea.
- 10 11. Una Forma amorfa IV de la sal de mesilato del compuesto 6-fluorobencimidazolil urea de la fórmula I:



que se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X en polvo (XPRD) utilizando radiación K_{α} de Cu, caracterizada por un halo amplio sin pico de difracción discernible.

- 15 12. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de acuerdo con cualquier reivindicación precedente y un portador, adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 20 13. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 para uso en controlar, tratar o reducir el avance, gravedad o efectos de una infección bacteriana nosocomial o no nosocomial, en el que la infección bacteriana se caracteriza por la presencia de uno o más de *Mycobacterium tuberculosis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium difficile*, *Moraxella catarrhalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, complejo de *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium abscessus*, *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium ulcerans*, *Chlamydomydia pneumoniae*, *Chlamydia trachomatis*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pyogenes* o estreptococos β -hemolíticos.
- 25

FIG. 1

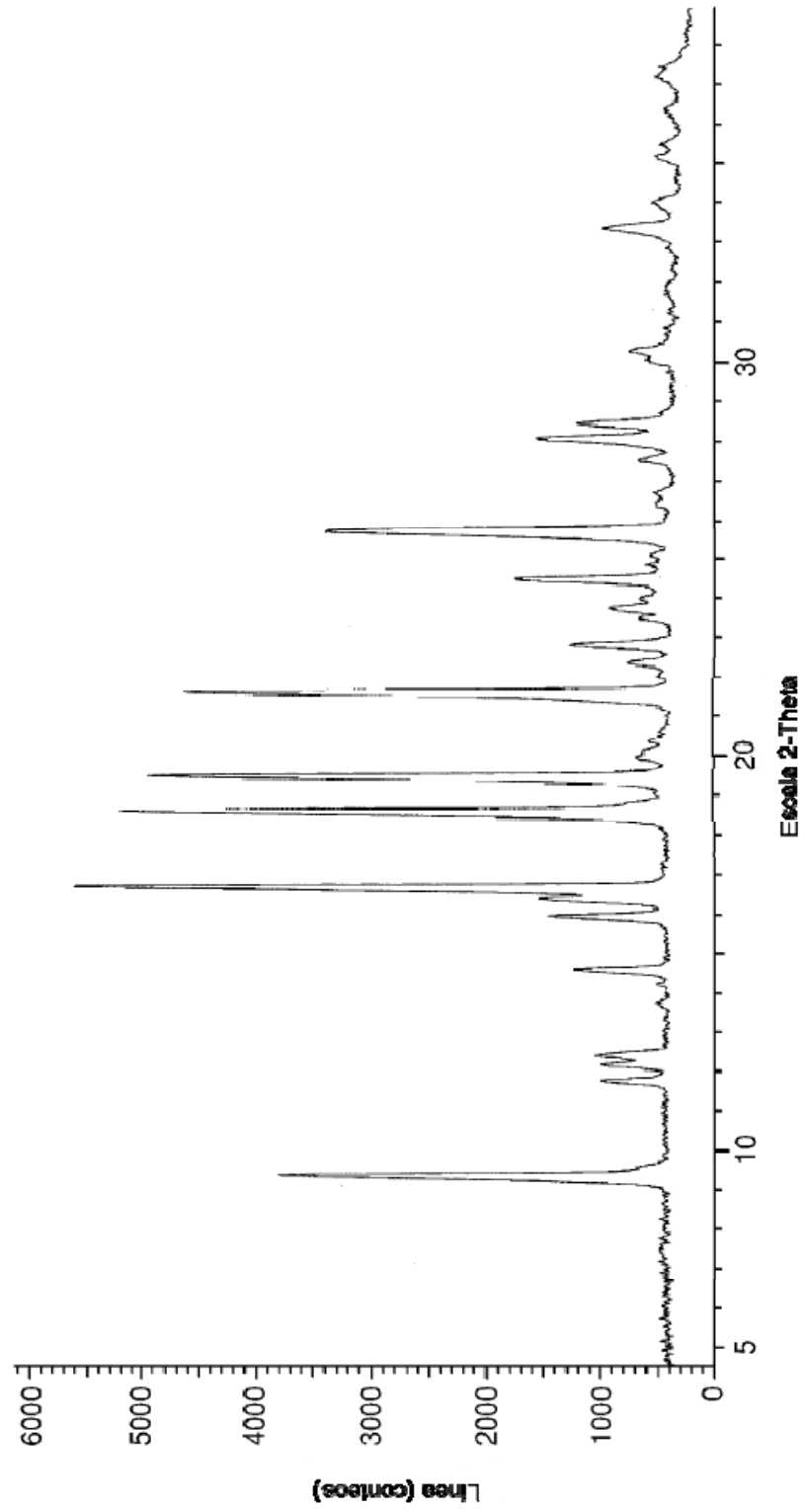


FIG. 2

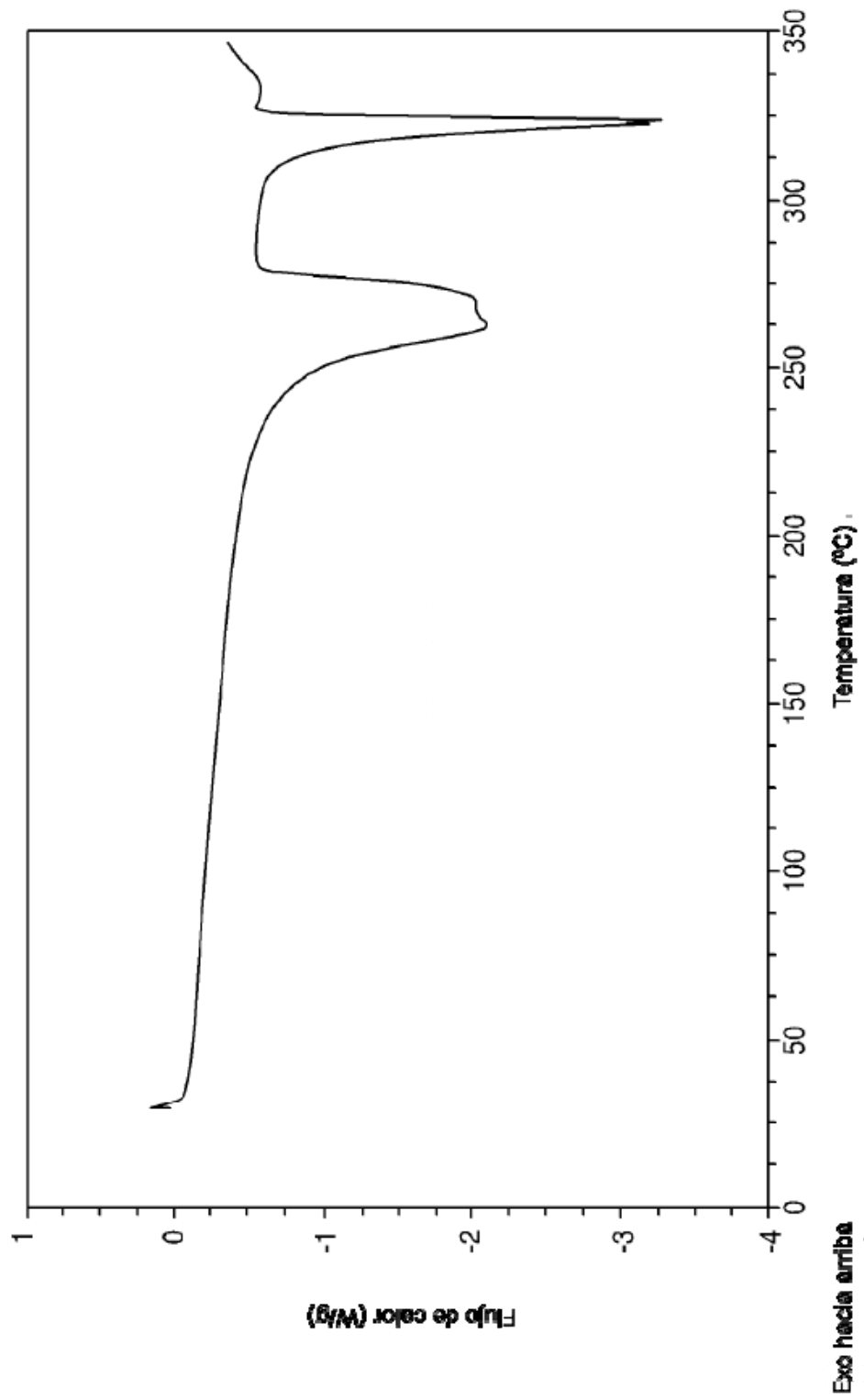


FIG. 3

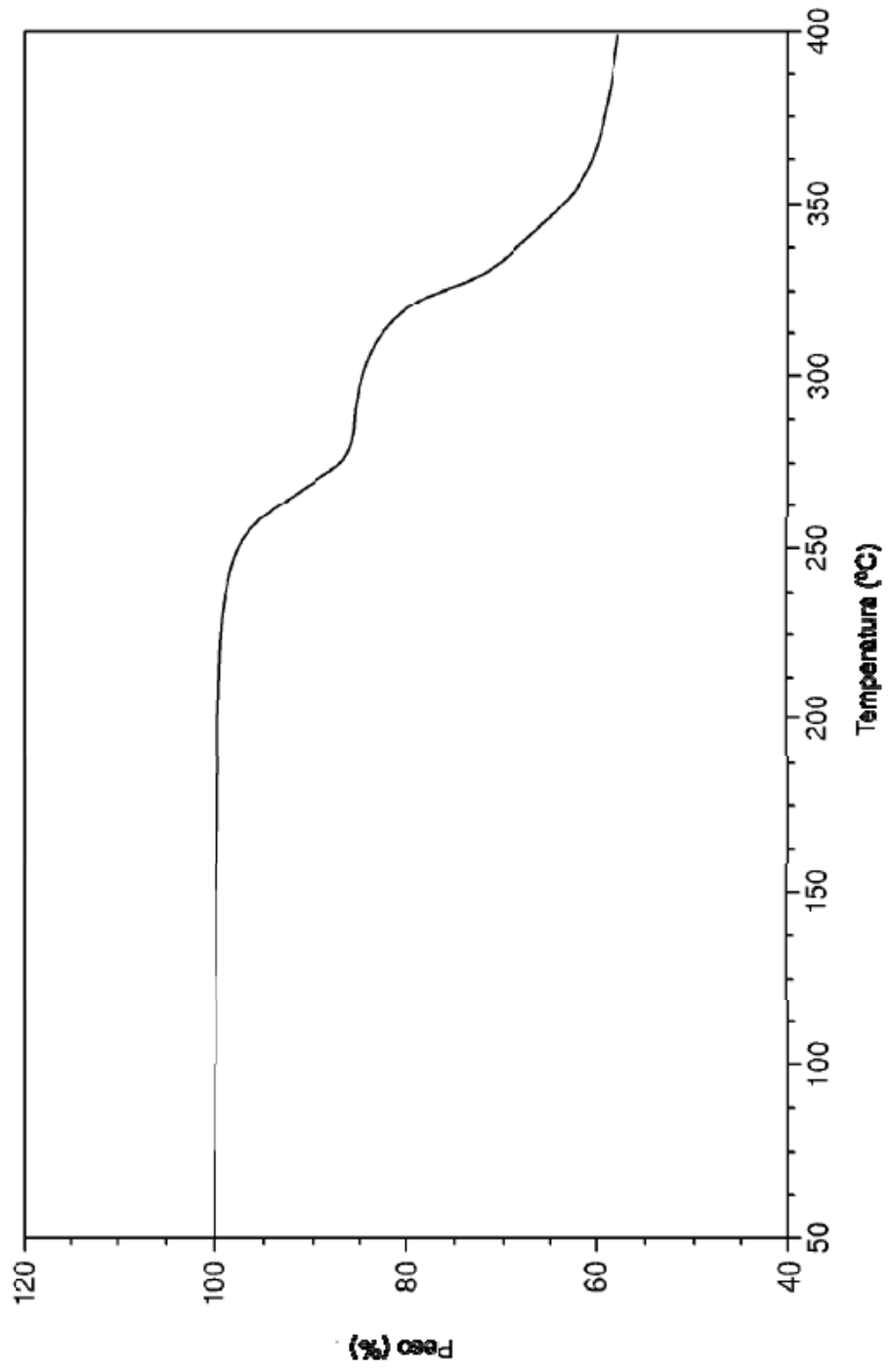


FIG. 4

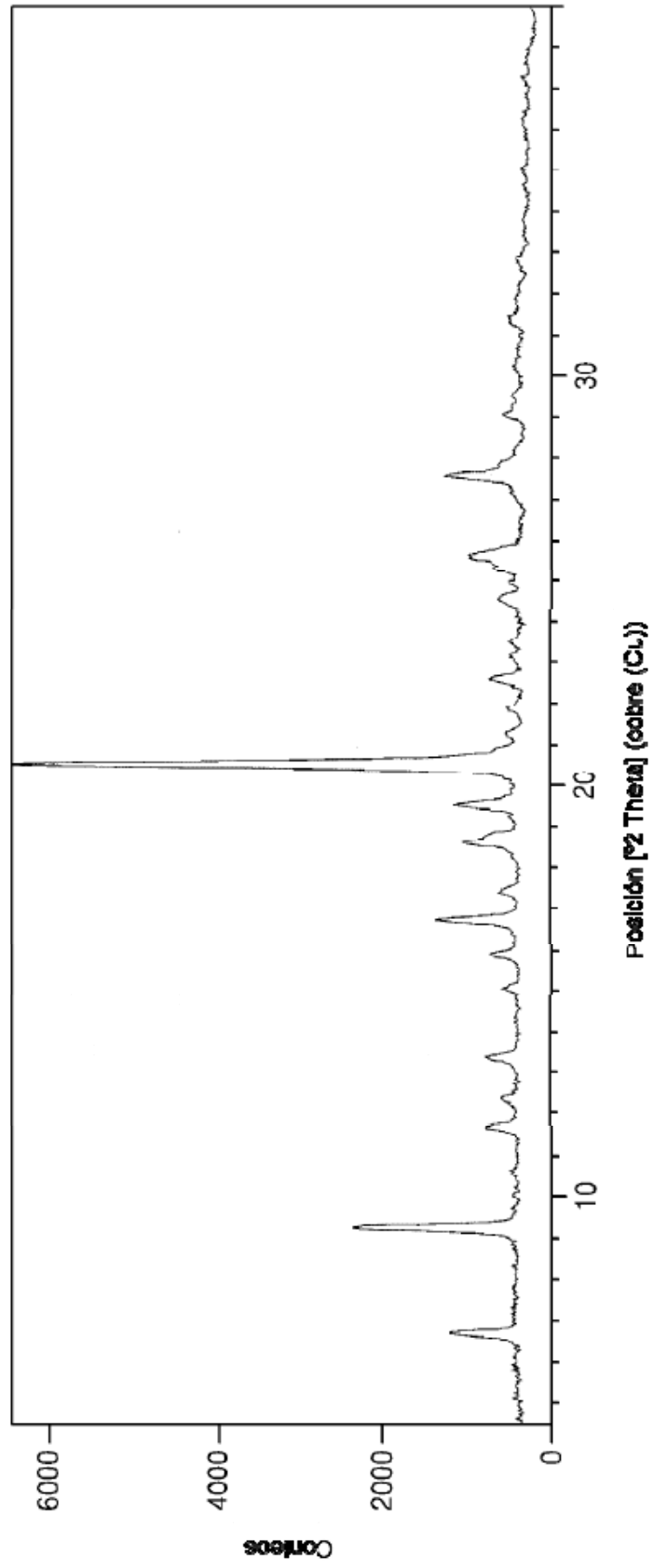


FIG. 5

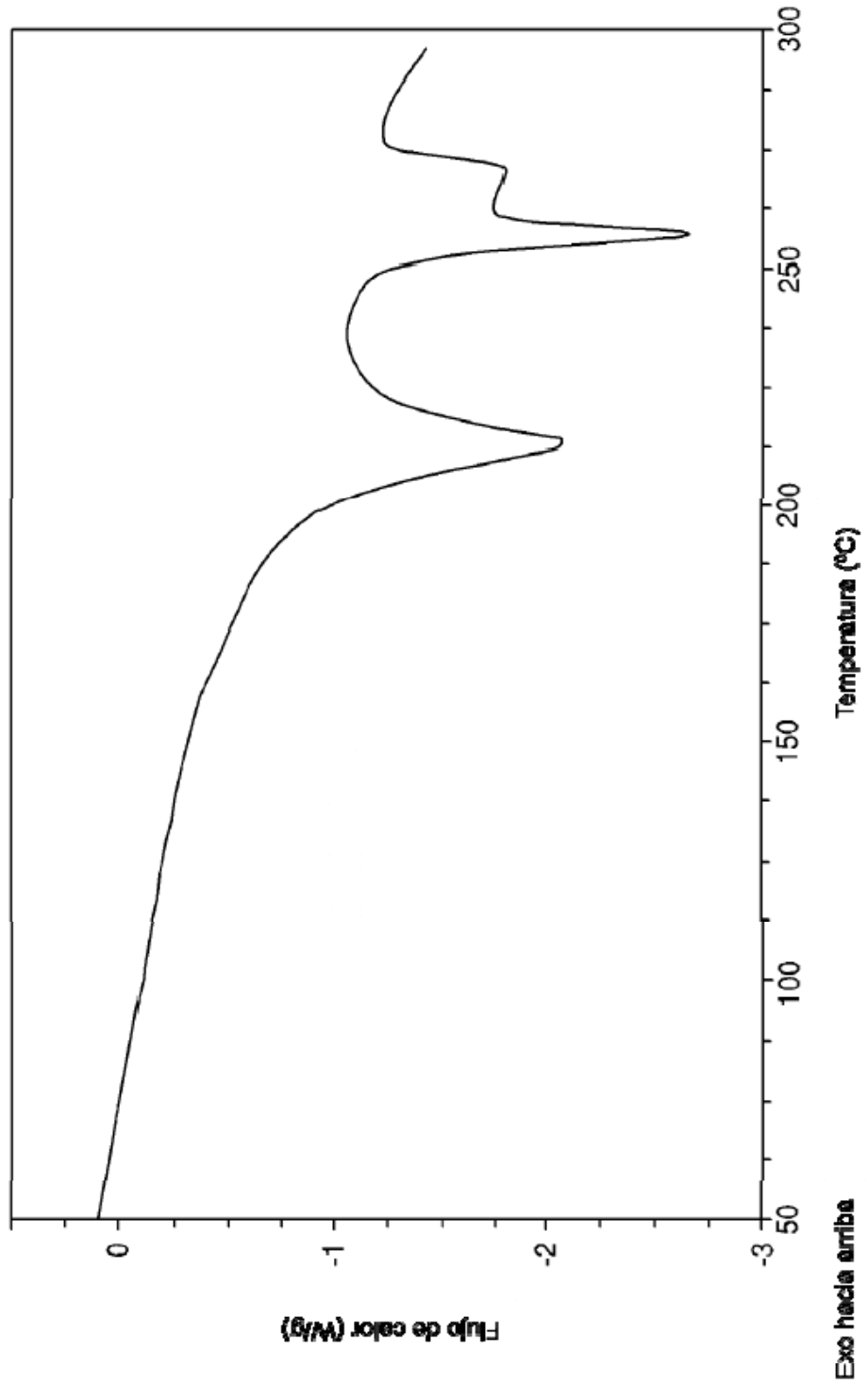


FIG. 6

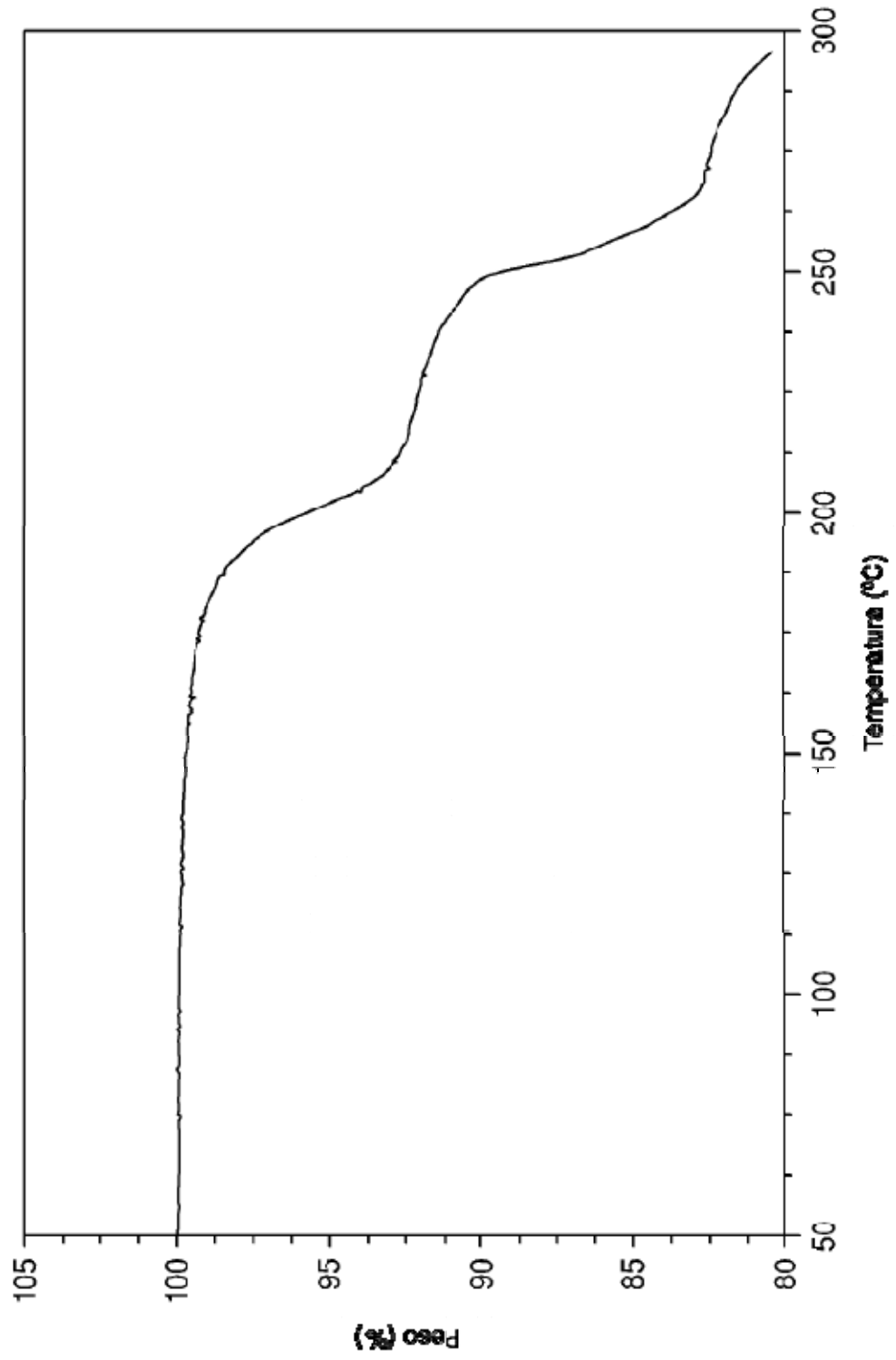


FIG. 7

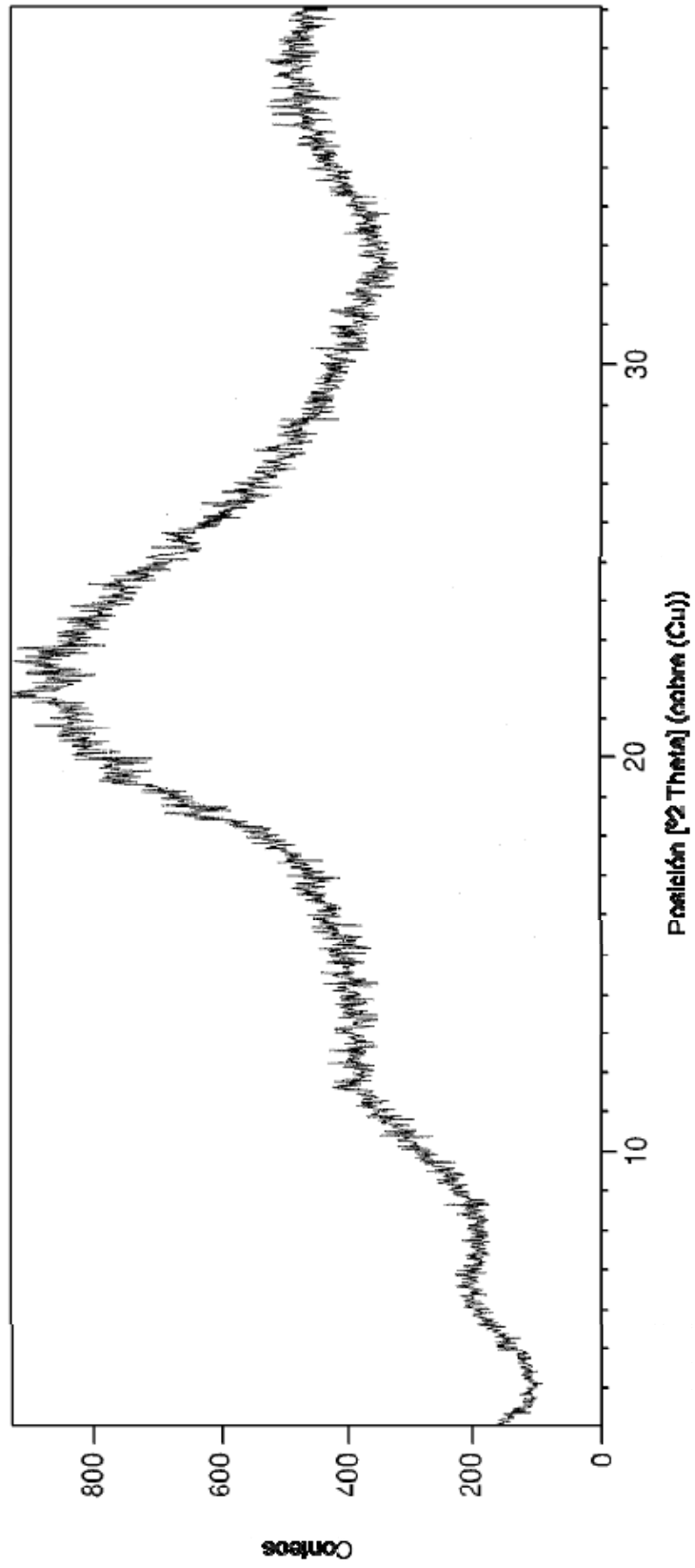


FIG. 8

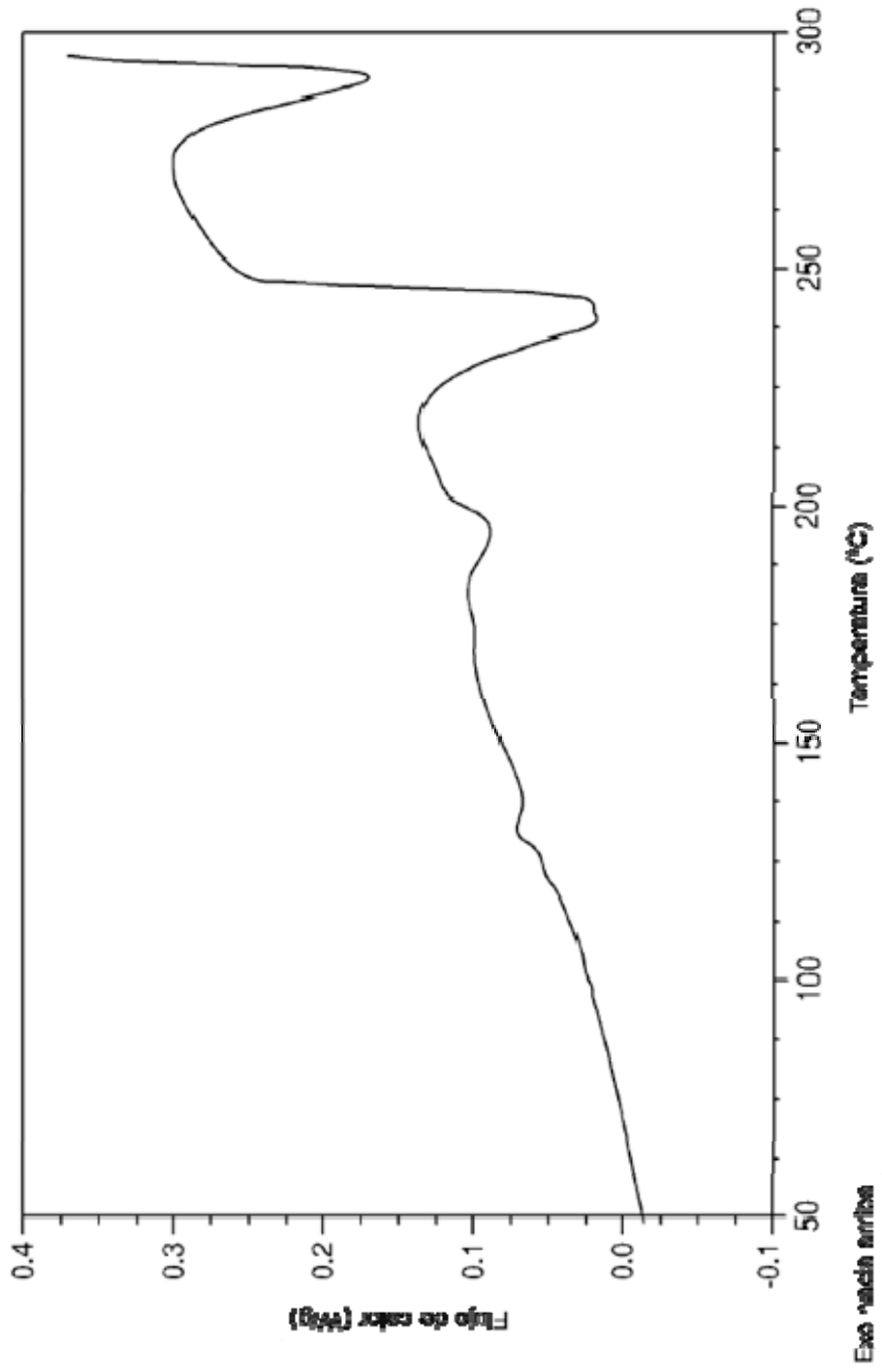
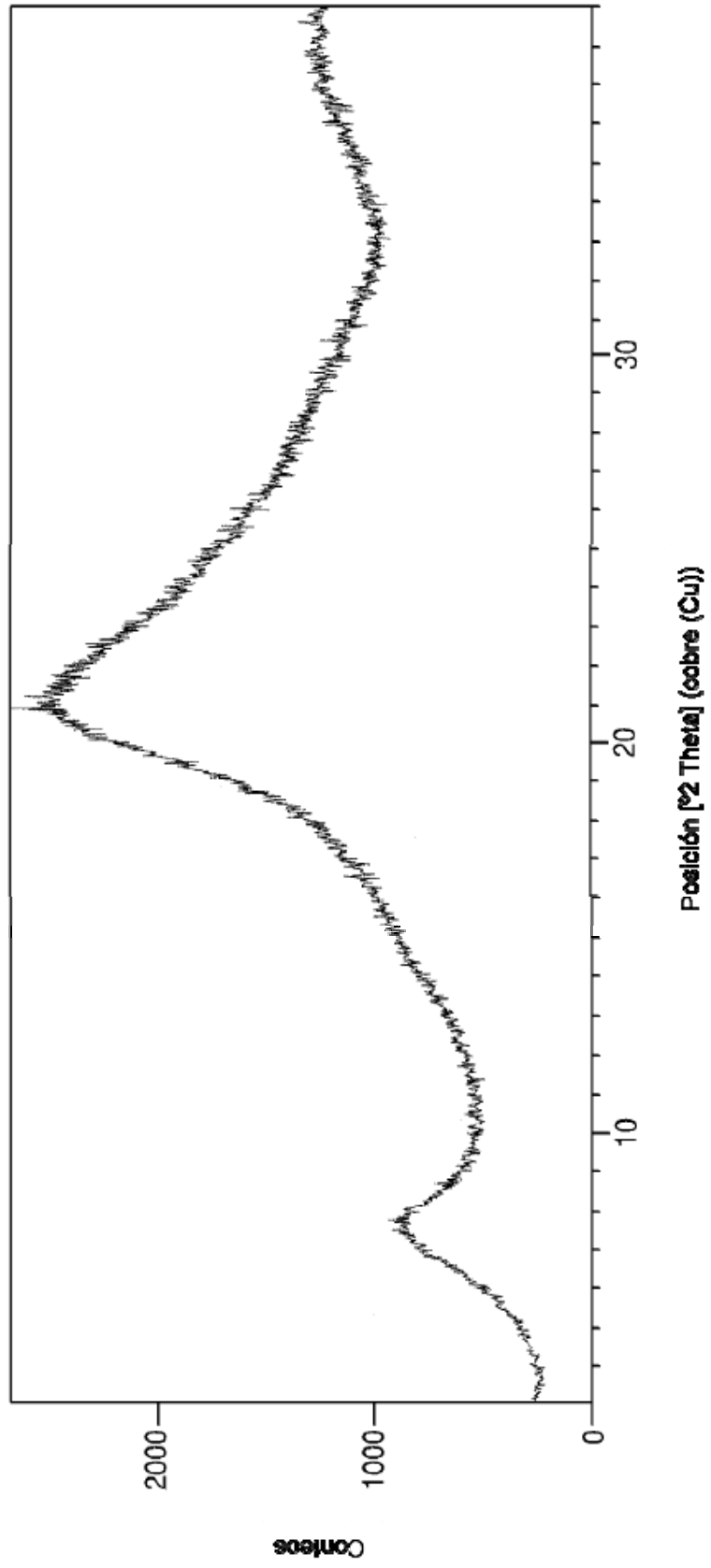


FIG. 9



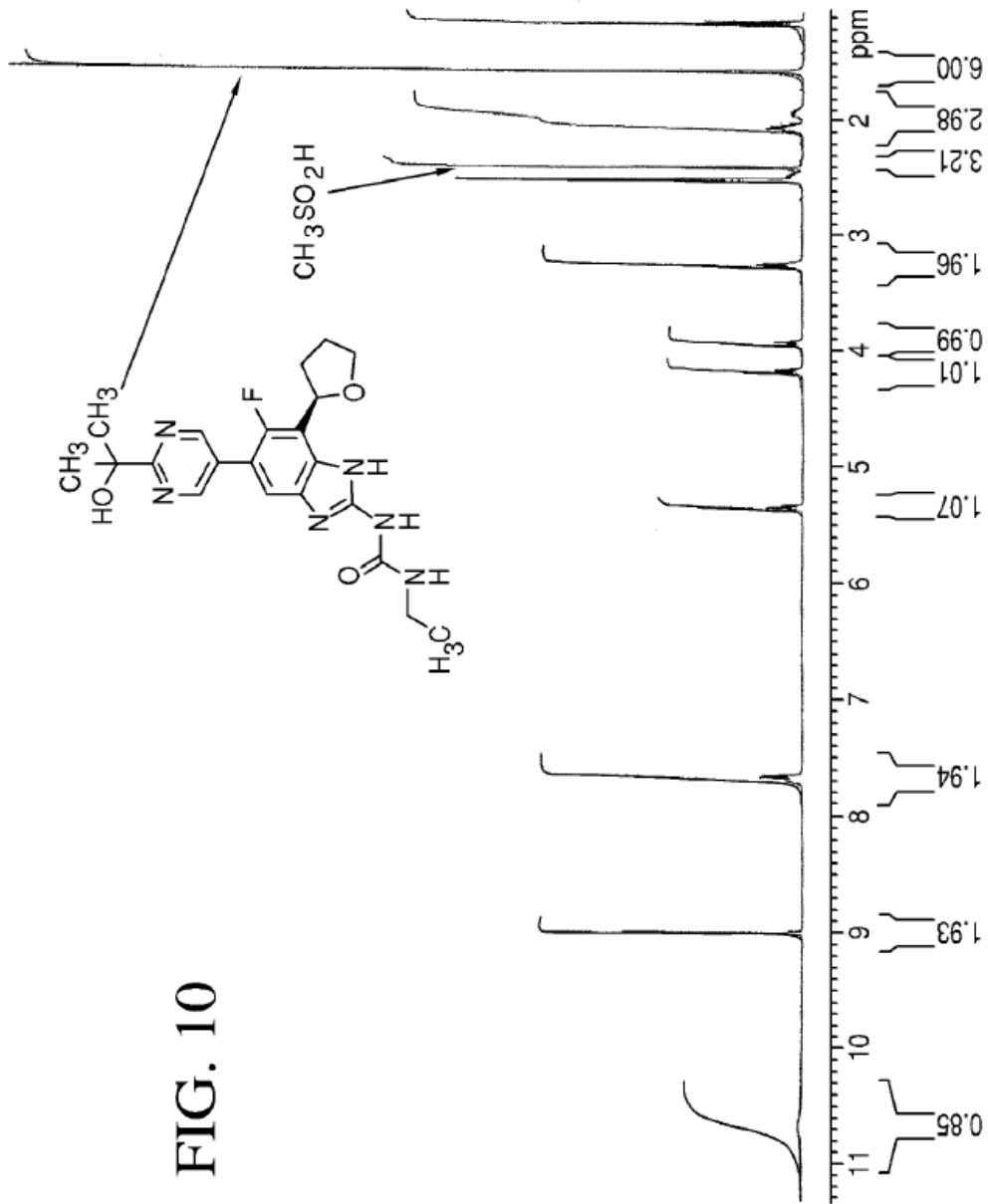


FIG. 10