

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 721 658**

51 Int. Cl.:

C07D 471/04 (2006.01)

C07D 487/04 (2006.01)

A61K 31/4375 (2006.01)

A61P 31/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.08.2012 PCT/EP2012/065733**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.02.2013 WO13021054**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.08.2012 E 12746093 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.01.2019 EP 2742045**

54 Título: **3,4-dihidro-1h-[1,8]naftiridinonas sustituidas con ciclopenta[c]pirrol antibacterianas**

30 Prioridad:

10.08.2011 EP 11177119

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
02.08.2019

73 Titular/es:

**JANSSEN SCIENCES IRELAND UNLIMITED
COMPANY (100.0%)
Barnahely, Ringaskiddy
Co Cork, IE**

72 Inventor/es:

**GUILLEMONT, JÉRÔME, EMILE, GEORGES;
LANÇOIS, DAVID, FRANCIS, ALAIN;
MOTTE, MAGALI, MADELEINE, SIMONE;
KOUL, ANIL;
BALEMANS, WENDY, MIA, ALBERT y
ARNOULT, ERIC, PIERRE, ALEXANDRE**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 721 658 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

3,4-dihidro-1h-[1,8]naftiridinonas sustituidas con ciclopenta[c]pirrol antibacterianas

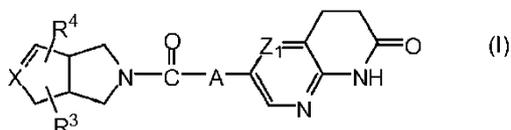
La presente invención se refiere a nuevos compuestos de fórmula (I) que inhiben la actividad de la enzima FabI y, por lo tanto, son útiles en el tratamiento de infecciones bacterianas. Se refiere, además, a composiciones farmacéuticas que comprenden estos compuestos y a procesos químicos para preparar estos compuestos.

Los compuestos de la presente invención son compuestos antibacterianos que inhiben la proteína FabI, una enzima reductasa proteína portadora de enoil-acilo (ACP, por sus siglas en inglés) dependiente de NADH en la vía de la biosíntesis de ácido graso. La ácido graso sintasa (FAS, por sus siglas en inglés) participa en la vía biosintética global de ácidos grasos saturados en todos los organismos, pero la organización estructural de FAS varía considerablemente entre ellos. Las características distintivas de FAS de vertebrados y levaduras son que todas las actividades enzimáticas están codificadas en una o dos cadenas polipeptídicas, y que la proteína portadora de acilo (ACP) existe en forma de un complejo. En cambio, en la FAS bacteriana, cada una de las etapas sintéticas se cataliza mediante un enzima monofuncional distinta y la ACP es una proteína diferenciada. Por lo tanto, es posible inhibir selectivamente la FAS bacteriana al bloquear una de las etapas sintéticas mediante el uso de un agente inhibidor. La enoil-ACP reductasa (Fab I) dependiente de NADH participa en la última etapa de las cuatro etapas de reacción que conforman cada ciclo de biosíntesis de ácido graso bacteriana. Por lo tanto, la enzima FabI es la enzima biosintética en la vía sintética global de la biosíntesis de ácido graso bacteriana.

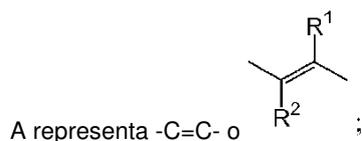
Se ha mostrado que la enzima FabI constituye una diana esencial en patógenos importantes como *E. Coli* (Heath et al. J. Biol. Chem. 1995, 270, 26538; Bergler et al. Eur. J. Biochem. 2000, 275, 4654). Por consiguiente, compuestos que inhiben FabI pueden ser útiles como agentes antibacterianos.

Se han descrito compuestos que tienen actividad inhibidora de la enzima FabI en WO-01/26652, WO-01/26654 y WO-01/27103. Se han descrito compuestos de naftiridinona sustituida que tienen actividad inhibidora de la enzima FabI en WO-03/088897, WO-2007/043835 y WO-2008/098374. La solicitud de patente internacional WO 2007/053131 describe diversos compuestos para su uso potencial como inhibidores de FabI. La solicitud de patente internacional WO 2011/061214 también describe diversos compuestos para su uso potencial como inhibidores de FabI. Sin embargo, ninguno de estos documentos describe un resto bicíclico fusionado que se acopla directamente a un resto carbonilo que es α para un alqueno.

La presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (I)



en donde



el enlace ----- representa un enlace simple o un enlace doble,

X representa carbono o nitrógeno, y cuando X representa nitrógeno entonces el enlace ----- representa un enlace simple;

Z₁ representa CH o N;

R¹ es hidrógeno, alquilo C₁₋₄ o halo;

R² es hidrógeno, alquilo C₁₋₄ o halo;

R³ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆, hidroxi o halo;

R⁴ es hidrógeno; halo; alquilo C₁₋₆; alqueno C₂₋₆; alquino C₂₋₆; alquil C₁₋₆Oxi; alquilC₁₋₄oxicarbonilo; aminocarbonilo; mono o di(alquil C₁₋₄)-aminocarbonilo; arilo; ariloxi; arilcarbonilo; arilsulfonilo; heteroarilo; alquilo C₁₋₆ sustituido con ciano; alquilo C₁₋₆ sustituido con arilo o ariloxi; o alquilo C₁₋₆ sustituido con heteroarilo;

arilo es fenilo; fenilo sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno individualmente seleccionado de halo, hidroxilo, alquilo C₁₋₄, alquilC₁₋₄oxi, polihaloalquilo C₁₋₄, polihaloalquilC₁₋₄oxi, ciano, nitro y amino;

5 heteroarilo es furanilo, tiofenilo, pirrolilo, pirazolilo, imidazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, triazolilo, tetrazolilo, isotiazolilo, tiadiazolilo, oxadiazolilo, piridinilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, benzo[1,3]dioxolilo, benzofuranilo, benzotiazolilo, indolilo, 2,3-dihidro-1H-indolilo, tetrahidrotiofenilo o quinolinilo,

en donde cada heteroarilo puede estar sustituido con uno o dos sustituyentes cada uno seleccionado independientemente de halo, ciano, alquilo C₁₋₄, alquilC₁₋₄oxi, alquilC₁₋₄carbonilo o fenilo;

o una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable de estos.

Según se usa en las definiciones anteriores:

10 - halo es genérico para fluoro, cloro, bromo y yodo;

- alquilo C₁₋₄ define radicales hidrocarburo saturados de cadena lineal y ramificada que tienen de 1 a 4 átomos de carbono tales como, por ejemplo, metilo, etilo, propilo, butilo, 1-metil-etilo, 2-metilpropilo y similares;

- alquilo C₁₋₆ se pretende que incluya alquilo C₁₋₄ y los homólogos superiores de este que tienen 5 o 6 átomos de carbono, tales como, por ejemplo, 2-metilbutilo, pentilo, hexilo y similares;

15 - polihaloalquilo C₁₋₄ se define como alquilo C₁₋₄ (según se definió anteriormente en la presente memoria) sustituido con polihalo sustituido con 2 a 6 átomos de halógeno tales como difluorometilo, trifluorometilo, trifluoroetilo y similares.

20 Según se usa en la descripción, cada vez que se usa el término "compuesto de fórmula (I)", se pretende que incluya también las sales de adición farmacéuticamente que los compuestos de fórmula (I) son capaces de formar y los solvatos que los compuestos de fórmula (I) o las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables que los compuestos de fórmula (I) son capaces de formar.

25 La definición de "compuestos de fórmula (I)" incluye inherentemente todos los estereoisómeros del compuesto de fórmula (I), ya sea como un estereoisómero puro o como una mezcla de dos o más estereoisómeros. Los enantiómeros son estereoisómeros que son imágenes especulares uno del otro que no se pueden superponer. Una mezcla 1:1 de un par de enantiómeros es un racemato o una mezcla racémica. Los diaestereómeros (o diaestereoisómeros) son estereoisómeros que no son enantiómeros, *es decir*, no están relacionados como imágenes especulares. Si un compuesto contiene un grupo cicloalquilo disustituido, los sustituyentes pueden estar en la configuración *cis* o *trans*. Por lo tanto, la invención incluye enantiómeros, diaestereómeros, racematos, isómeros *cis*, isómeros *trans* y mezclas de estos.

30 La configuración absoluta se especifica según el sistema Cahn-Ingold-Prelog. La configuración en un átomo asimétrico se especifica por R o S. Los compuestos resueltos cuya configuración absoluta no se conoce se pueden designar mediante (+) o (-) dependiendo de la dirección en que rotan la luz polarizada plana. Cuando se identifica un estereoisómero específico, esto significa que dicho estereoisómero está sustancialmente libre, es decir, asociado con menos de 50 %, preferiblemente, menos de 20 %, más preferiblemente, menos de 10 %, incluso más preferiblemente, menos de 5 %, en particular, menos de 2 % y lo más preferiblemente, menos de 1 %, de los otros isómeros. Por lo tanto, cuando un compuesto de fórmula (I) se especifica, por ejemplo, como (R), esto significa que el compuesto está sustancialmente libre del isómero (S); cuando un compuesto de fórmula (I) se especifica, por ejemplo, como E, esto significa que el compuesto está sustancialmente libre del isómero Z; cuando un compuesto de fórmula (I) se especifica, por ejemplo, como *cis*, esto significa que el compuesto está sustancialmente libre del isómero *trans*.

Los términos "estereoisómeros" o "formas estereoquímicamente isoméricas" antes en la presente memoria o en adelante en la presente memoria se usan de forma intercambiable.

45 Los expertos en la técnica pueden determinar fácilmente la configuración estereoquímica absoluta de los compuestos de fórmula (I) y de los intermediarios usados en su preparación mediante el uso de métodos conocidos tales como, por ejemplo, difracción de rayos X.

Algunos de los compuestos de fórmula (I) también pueden existir en su forma tautomérica.

Además, algunos compuestos de fórmula (I) y algunos de los intermediarios usados en su preparación pueden exhibir polimorfismo. Se entenderá que la presente invención abarca cualquier forma polimórfica que posee propiedades útiles en el tratamiento de las afecciones indicadas anteriormente en la presente memoria.

50 Las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables, según se mencionaron anteriormente en la presente memoria, se pretende que comprendan las formas de sal de adición de ácido terapéuticamente activas no tóxicas

que los compuestos de fórmula (I) son capaces de formar. Estas sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables pueden obtenerse de manera conveniente al tratar la forma básica con el ácido adecuado. Los ácidos adecuados comprenden, por ejemplo, ácidos inorgánicos tales como ácidos halohídricos, p. ej., ácido clorhídrico o bromhídrico, sulfúrico, nítrico, fosfórico y ácidos similares; o ácidos orgánicos tales como, por ejemplo, acético, propanoico, hidroxiaacético, láctico, pirúvico, oxálico (*es decir*, etanodioico), malónico, succínico (*es decir*, ácido butanodioico), maleico, fumárico, málico, tartárico, cítrico, metanosulfónico, etanosulfónico, bencenosulfónico, *p*-toluenosulfónico, cicláamico, salicílico, *p*-aminosalicílico, pamoico y ácidos similares.

A la inversa, dicha formas de sal se pueden convertir mediante tratamiento con una base adecuada en la forma básica libre.

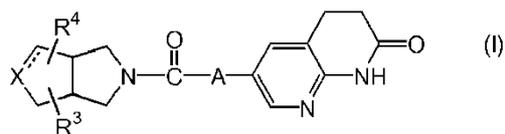
Los compuestos de fórmula (I) pueden existir en su forma no solvatada y solvatada. El término "solvato" se usa en la presente memoria para describir una asociación molecular que comprende un compuesto de la invención y una o más moléculas disolventes farmacéuticamente aceptables, p. ej. agua o etanol. El término "hidrato" se usa cuando dicho disolvente es agua.

El término "FabI" está reconocido en la técnica y se refiere a la enzima bacteriana que se cree que funciona como una proteína portadora de enoil-acilo (ACP) reductasa en la etapa final de las cuatro reacciones que componen cada ciclo de biosíntesis de ácido graso bacteriano. Se cree que esta enzima está ampliamente distribuida en bacterias.

Los compuestos de fórmula (I) que se pueden mencionar incluyen aquellos en que:

(i) Z₁ representa CH y, por consiguiente, el compuesto de fórmula I representa lo siguiente:

en donde



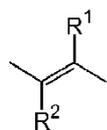
(ii) cuando R¹ o R² representan halo, entonces son preferiblemente F o Cl;

(iii) R¹ representa hidrógeno o alquilo C₁₋₄; y/o

(iv) R² representa hidrógeno o alquilo C₁₋₄.

Los compuestos preferidos de fórmula (I) incluyen aquellos en los que A representa un enlace doble (y no un enlace triple), es decir, se prefiere que:

A represente



Los compuestos de fórmula (I) interesantes son aquellos compuestos de fórmula (I) en donde una o más de las siguientes restricciones se aplican:

- 30 a) R¹ y R² representan hidrógeno; o
- b) R³ representa hidrógeno; o
- c) R³ representa hidrógeno, halo o hidroxilo; o
- d) R⁴ representa hidrógeno o halo; o
- e) R⁴ representa arilo; o
- 35 f) R⁴ representa alquilo C₁₋₆; o
- g) R⁴ representa ariloxi, o arilsulfonilo; o
- h) R⁴ representa alquilo C₁₋₆ sustituido con arilo; o
- i) R⁴ representa heteroarilo; o

j) R⁴ representa alquilo C₁₋₆ sustituido con heteroarilo; o

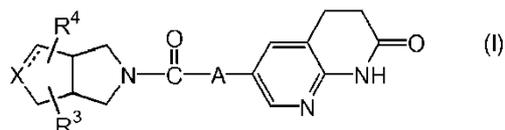
k) heteroarilo representa furanilo, tiofenilo, pirazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, triazolilo, tetrazolilo, tiadiazolilo, piridinilo o pirimidinilo; o

l) X representa carbono; o

5 m) X representa nitrógeno y el enlace ----- representa un enlace simple.

Un primer grupo de compuestos son los compuestos de fórmula (I)

en donde



A representa -C=C- o ;

10

el enlace ----- representa un enlace simple o un enlace doble,

X representa carbono o nitrógeno, y cuando X representa nitrógeno entonces el enlace ----- representa un enlace simple;

R¹ es hidrógeno;

15 R² es hidrógeno;

R³ es hidrógeno, hidroxilo o halo;

R⁴ es hidrógeno; halo; alquilo C₁₋₆; alquil C₁₋₆oxi; alquilC₁₋₄oxicarbonilo; aminocarbonilo; mono o di(alquil C₁₋₄)-aminocarbonilo; arilo; ariloxi; arilsulfonilo; heteroarilo; alquilo C₁₋₆ sustituido con ciano; alquilo C₁₋₆ sustituido con arilo; o alquilo C₁₋₆ sustituido con heteroarilo;

20 arilo es fenilo; fenilo sustituido con un sustituyente seleccionado de halo, alquilo C₁₋₄, alquilC₁₋₄oxi y ciano;

heteroarilo es furanilo, tiofenilo, pirazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, triazolilo, tetrazolilo, tiadiazolilo, piridinilo o pirimidinilo;

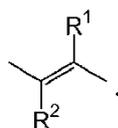
en donde cada heteroarilo puede estar sustituido con un sustituyente seleccionado de halo, ciano, alquilo C₁₋₄, alquilC₁₋₄oxi o alquilC₁₋₄carbonilo;

o una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable de estos.

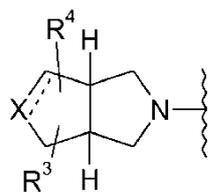
25 Un segundo grupo de compuestos de fórmula (I) son aquellos compuestos de fórmula (I) en donde A representa $\text{-C}\equiv\text{C-}$.

Un tercer grupo de compuestos de fórmula (I) son aquellos compuestos de fórmula (I) en donde

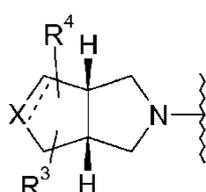
A representa



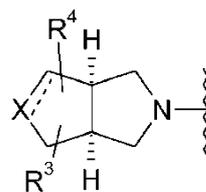
30 Los compuestos de fórmula (I) que se prefieren incluyen aquellos en los que el anillo que contiene X representa uno de los siguientes:



cis



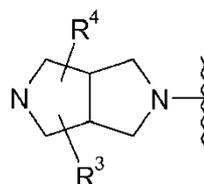
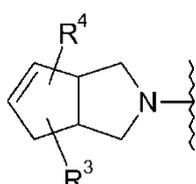
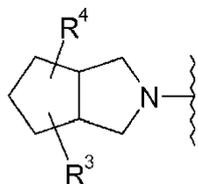
enantiómero simple (cis)



enantiómero simple (cis)

- 5 es decir, bicíclicos que contienen una relación cis en la unión del anillo (una relación trans causaría en el anillo), que pueden ser enantiómeros racémicos o simples. Según se explica posteriormente en la presente memoria, si la estereoquímica absoluta para los enantiómeros simples se desconoce/desconocía, los carbonos quirales en la unión del anillo se pueden representar mediante líneas gruesas o punteadas (en lugar de cuñas).

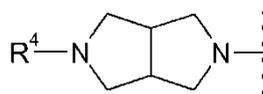
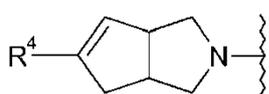
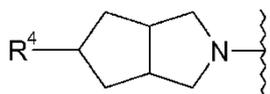
Los compuestos de fórmula (I) que más se prefieren incluyen aquellos en los que el anillo que contiene X bicíclico fusionado representa uno de los siguientes:



- 10 en donde en los bicíclicos fusionados mencionados anteriormente, los compuestos pueden ser enantiómeros racémicos o simples (si no hay simetría relevante y los enantiómeros son posibles), según se representó anteriormente en la presente memoria.

En compuestos de fórmula (I), se prefiere que:

- 15 (i) Haya al menos un sustituyente R^3 o R^4 presente que no represente hidrógeno;
- (ii) Uno de R^3 y R^4 (p. ej., R^3) represente hidrógeno, hidroxilo o halo (p. ej., fluoro) y el otro de R^3 y R^4 (p. ej., R^4) represente un sustituyente distinto de hidrógeno;
- (iii) R^3 represente hidrógeno, hidroxilo o halo (p. ej., fluoro) y lo más preferiblemente, represente hidrógeno (es decir, R^3 esencialmente no está presente);
- (iv) R^4 represente un sustituyente distinto de hidrógeno (es decir, hay un sustituyente R^4 que está presente y no representa hidrógeno);
- 20 (v) R^4 represente un sustituyente distinto de hidrógeno, que está acoplado a X, en el que cualquiera de los mencionados anteriormente se pueden tomar juntos o en combinación. Por ejemplo, (iii), (iv) y/o (v) se pueden tomar en combinación para proporcionar los compuestos de fórmula (I) particularmente preferidos que se muestran a continuación:



- 25 en los que R^4 representa un sustituyente distinto de hidrógeno. Los sustituyentes particularmente preferidos que R^4 (aquí y en otra parte) puede representar incluyen:

- (i) anillo opcionalmente sustituido;
- (ii) heteroanillo opcionalmente sustituido
- (iii) alquilo C_{1-6} sustituido por anillo o heteroanillo (cuyos últimos dos grupos anillo y heteroanillo se sustituyen opcionalmente según se define en la presente memoria);
- 30 (iv) ariloxi (en el que el resto anillo se sustituye opcionalmente según se define en la presente memoria);

(v) arilsulfonilo (en el que el resto arilo se sustituye opcionalmente según se define en la presente memoria);

(vi) alquilo C₁₋₆, que está insustituído (p. ej., etilo, metilo, isopropilo);

(vii) di(alquil C₁₋₄)aminocarbonilo (p. ej., -C(O)N(CH₃)₂);

(viii) aminocarbonilo (-C(O)NH₂);

5 (ix) alquil C₁₋₄carbonilo (p. ej., -C(O)O-CH₂CH₃);

(x) halo (p. ej., fluoro);

(xi) alquinilo C₂₋₆ (p. ej., -C≡C);

(xii) alcoxi C₁₋₆ (p. ej., -OCH₃).

10 Se prefiere particularmente que el grupo R⁴ contenga un resto aromático y, por consiguiente, (i), (ii), (iii), (iv) y (v) indicados anteriormente se prefieren particularmente).

En el caso en que R⁴ representa (i) indicado anteriormente, entonces el grupo arilo es preferiblemente fenilo, cuyo grupo puede estar insustituído o sustituido por uno o dos (p. ej. uno) sustituyentes seleccionados de alquilo C₁₋₄oxi, halo, alquilo C₁₋₄ o ciano (p. ej. -OCH₃, cloro, fluoro, metilo o ciano).

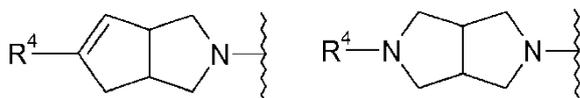
15 En el caso en que R⁴ representa (ii) indicado anteriormente, entonces el grupo heteroarilo es un anillo monocíclico de 5 o 6 miembros que contiene uno a cuatro heteroátomos, por ejemplo, tienilo (p. ej., 2- o 3-tienilo), piridilo (p. ej., 4-piridilo o 3-piridilo), pirazolilo (p. ej., 5-pirazolilo, 4-pirazolilo o 1-pirazolilo), furanilo (p. ej., 2- o 3-furanilo), tiazolilo (p. ej., 2-tiazolilo), isoxazolilo (p. ej., 4-isoxazolilo), pirrolilo (p. ej., 1-pirrolilo), triazolilo (p. ej., 1,2,3-triazol-1-ilo, 1,2,3-triazol-2-ilo o 1,2,4-triazol-2-ilo), tiadiazolilo (p. ej., 1,3,4-tiadiazol-2-ilo), pirimidinilo (p. ej., 5-pirimidinilo), tetrazolilo (p. ej., 1,2,3,4-tetrazol-2-ilo, 1,2,3,4-tetrazol-1-ilo), imidazolilo (p. ej., 2-imidazolilo). Dichos grupos heteroarilo pueden estar insustituídos o sustituidos con uno o dos (p. ej., dos o, preferiblemente, uno) sustituyentes seleccionados de halo, ciano, alquilo C₁₋₄ (p. ej., alquilo C₁₋₂), alquil C₁₋₄oxi (p. ej., alquil C₁₋₂oxi) y alquil C₁₋₄carbonilo (p. ej. alquil C₁₋₂carbonilo), p. ej. -OCH₃, metilo, halo (p. ej., cloro), ciano y -C(O)-CH₃.

25 En el caso en que R⁴ representa (iii) indicado anteriormente, entonces preferiblemente el grupo alquilo C₁₋₆ es metilo, es decir, -CH₃ sustituido con arilo (p. ej. fenilo, tal como fenilo insustituído) o heteroarilo (p. ej., un grupo heteroarilo monocíclico de 5 o 6 miembros que contiene uno o dos (p. ej. uno) heteroátomos), y forman, p. ej., un grupo tienilo, tal como un grupo 2-tienilo; y dicho grupo heteroarilo está preferiblemente insustituído).

En el caso en que R⁴ representa (iv) o (v) indicado anteriormente, arilo es preferiblemente fenilo insustituído y, por consiguiente, el grupo R⁴ es -O-fenilo o -S(O)₂-fenilo.

30 Lo más preferiblemente, el grupo R⁴ representa (i) o (ii) indicados anteriormente, es decir, arilo o heteroarilo. Incluso más preferiblemente, el grupo R⁴ representa (i) indicado anteriormente, especialmente fenilo insustituído.

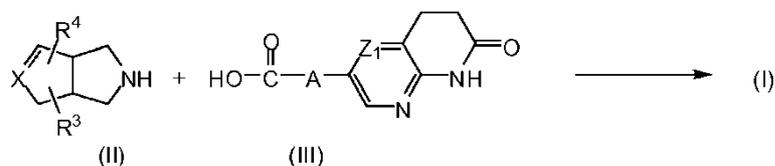
Los compuestos de fórmula (I) más preferidos incluyen aquellos en los que el resto bicíclico fusionado que contiene X representa:



35 en el que R⁴ es según se define en la presente memoria. Dichos compuestos que contienen un resto N(R⁴) o un resto C(R⁴) adyacente a un enlace doble pueden ser beneficiosos. Esto se debe a que la forma del átomo de nitrógeno (p. ej., que es de naturaleza más plana, en comparación con un resto CR⁴ que no está adyacente a un enlace doble) o la presencia del enlace doble en el anillo que contiene X puede ayudar a orientar el grupo R⁴ (si está presente) de manera que el compuesto global (p. ej., en virtud de la orientación del sustituyente R⁴) exhiba propiedades de unión a la enzima bacteriana FabI mejores/mejoradas. Por consiguiente, estos compuestos de la invención pueden ser ventajosos en el sentido de que la presencia del enlace doble puede conducir a una unión/inhibición mejorada a/de la enzima FabI. En consecuencia, los compuestos de la invención pueden ser compuestos ventajosos (p. ej., en comparación con compuestos conocidos) en virtud de estas propiedades que pueden conducir, en consecuencia, a mejor potencia, eficacia, etc.

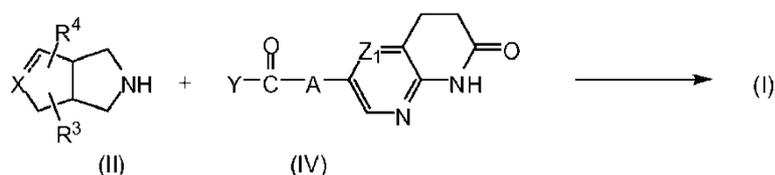
45 Los compuestos de fórmula (I) se pueden preparar generalmente al hacer reaccionar un intermediario de fórmula (II), con un intermediario de fórmula (III), en al menos un disolvente inerte para la reacción y opcionalmente en presencia de al menos un reactivo de acoplamiento adecuado y/o una base adecuada, el dicho proceso comprende, además,

opcionalmente, convertir un compuesto de fórmula (I) en una sal de adición de este, y/o preparar estereoquímicamente formas isoméricas de este.

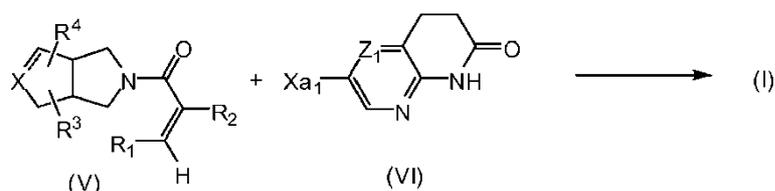


5 Puede ser conveniente activar el ácido carboxílico de fórmula (III) al agregar una cantidad eficaz de un promotor de reacción. Los ejemplos no limitantes de dichos promotores de reacción incluyen carbonildiimidazol, *N,N*-d ciclohexilcarbodiimida o 1-(3-dimetilaminopropil)-3 -etilcarbodiimida, hidroxibenzotriazol, hexafluorofosfato de benzotriazoliloxitris (dimetilamino)-fosfonio, hexafluorofosfato de tetrapirrolidino-fosfonio, hexafluorofosfato de bromotripirrolidino-fosfonio o un derivado funcional de estos.

10 Los compuestos de fórmula (I) también se pueden preparar al hacer reaccionar un intermediario de fórmula (II) con un intermediario de fórmula (IV), en donde Y representa hidroxí o halo. La reacción se puede llevar a cabo en un disolvente inerte para la reacción tal como, por ejemplo, diclorometano o dimetilformamida y opcionalmente en presencia de una base adecuada tal como, por ejemplo, diisopropil-etil-amina (DIPEA).



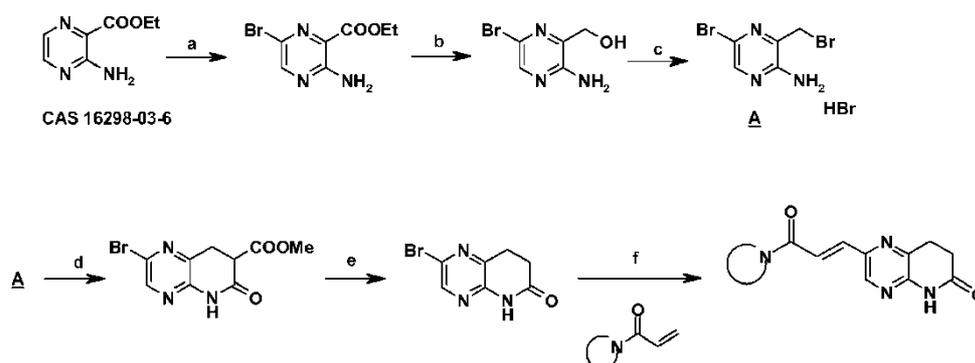
15 Los compuestos de fórmula (I) en los que A representa $-C(R^2)=C(R^1)-$ también se pueden preparar al hacer reaccionar un intermediario de fórmula (V) con un intermediario de fórmula (VI).



20 en donde X_{a1} representa un grupo saliente adecuado tal como un grupo halo adecuado (p. ej., cloro, yodo y, especialmente, bromo) y los otros números enteros son como se definieron anteriormente en la presente memoria, en condiciones de reacción adecuadas, por ejemplo, en condiciones de reacción de acoplamiento con catalizador metálico (p. ej., condiciones de reacción de acoplamiento con metal precioso, en donde el metal precioso es p. ej., basado en paladio), en particular, en condiciones de reacción de Heck mediante el uso preferiblemente de un catalizador basado en paladio tal como acetato de paladio, tetrakis(trifenilfosfina)paladio(0), dicloruro de bis(trifenilfosfina)paladio(II), dicloruro de [1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno]paladio(II) o similares (preferiblemente, el catalizador es acetato de paladio), por ejemplo, opcionalmente en presencia de un disolvente adecuado (p. ej., acetonitrilo o similares), base (p. ej., una base amina tal como *N,N*-diisopropilamina o similares), y un ligando (p. ej., trifenilfosfina, tri-*O*-tolilfosfina o similares). La reacción se puede llevar a cabo en un tubo sellado y/o en un horno de microondas.

30 Los materiales de partida y algunos de los intermediarios son compuestos conocidos y están disponibles comercialmente o se pueden preparar según procedimientos de reacción convencionales generalmente conocidos en la técnica.

Para los compuestos en los que Z_1 representa CH, los intermediarios (IV) y (VI) se pueden preparar según se describe en la presente memoria, o según procedimientos de reacción convencionales generalmente conocidos en la técnica. Para los intermediarios correspondientes en los que Z_1 representa N, se puede dar lo mismo en este caso. Sin embargo, dichos compuestos también se pueden preparar según el siguiente esquema:

**Condiciones:**

- 5 a) NBS, ACN, reflujo, 3 h, 70 %; b) LiAlH_4 1M en THF, THF, 5 °C hasta RT, o.n., 20 %; c) PBr_3 , DCM, RT, o.n., 90 %; f) malonato de dimetilo, NaOMe en MeOH, MeOH, RT, o.n., 25 %; g) NaOH, MeOH, reflujo, 4h, HCl, reflujo, o.n.; h) DIEA, $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, tri-O-tolilfosfina, ACN, DMF, μw , 180 °C, 25 min.

10 Los compuestos de fórmula (I) preparados según los procesos descritos anteriormente en la presente memoria se pueden sintetizar en forma de mezclas racémicas de enantiómeros que se pueden separar entre sí siguiendo los procedimientos de resolución conocidos en la técnica. Aquellos compuestos de fórmula (I) que se obtienen en forma racémica se pueden convertir en las formas de sal diaestereomérica correspondientes mediante reacción con un ácido quiral adecuado. Dichas formas de sal diaestereoméricas posteriormente se separan, por ejemplo, mediante cristalización selectiva o funcional y los enantiómeros se liberan de estas mediante álcali. Un modo alternativo de separar las formas enantioméricas de los compuestos de fórmula (I) implica cromatografía líquida usando una fase estacionaria quiral. Dichas formas estereoquímicamente isoméricas puras también pueden derivar de las formas estereoquímicamente isoméricas puras correspondientes de los materiales de partida adecuados, siempre que la reacción se produzca estereoespecíficamente. Preferiblemente, si se desea un estereoisómero específico, dicho compuesto se sintetizará mediante métodos de preparación estereoespecíficos. Estos métodos emplearán, de manera ventajosa, materiales de partida enantioméricamente puros.

20 Los compuestos descritos en la presente memoria son inhibidores de la enzima FabI, según se demuestra mediante los ejemplos que figuran más adelante (incluido el Ejemplo farmacológico 1). En virtud de estas propiedades inhibitorias de la enzima FabI, los compuestos descritos en la presente memoria son útiles para tratar infecciones bacterianas. Por ejemplo, estos compuestos son útiles para el tratamiento de infecciones bacterianas, tales como, por ejemplo, infecciones de tracto respiratorio superior (p. ej., otitis media, traqueitis bacteriana, epiglotitis aguda, tiroiditis), respiratorio inferior (p. ej., empiema, absceso pulmonar), cardíacas (p. ej., endocarditis infecciosa), gastrointestinales (p. ej., diarrea secretora, absceso esplénico, absceso retroperitoneal), del SNC (p. ej., absceso cerebral), oculares (p. ej., blefaritis, conjuntivitis, queratitis, endoftalmítis, celulitis preseptal y orbital, darcricistitis), de tracto renal y urinario (p. ej., epididimitis, absceso intrarrenal y perinéfrico, síndrome de choque tóxico), cutáneas (p. ej., impétigo, foliculitis, abscesos cutáneos, celulitis, infección de herida, miositis bacteriana), y óseas y articulares (p. ej., artritis séptica, osteomielitis). Además, los compuestos pueden ser útiles en combinación con antibióticos conocidos.

30 Por lo tanto, la presente invención también se refiere a compuestos de fórmula (I) para su uso como un medicamento, especialmente para su uso en el tratamiento de infecciones bacterianas, en particular, infecciones bacterianas causadas por una bacteria que expresa una enzima FabI. Posteriormente, los presentes compuestos se pueden usar para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de infecciones bacterianas, en particular, infecciones bacterianas causadas por una bacteria que expresa una enzima FabI.

35 Además, la presente invención proporciona un compuesto inhibidor de la enzima FabI de fórmula (I) para su uso en un método para tratar infecciones bacterianas que comprende administrar dicho compuesto a un sujeto que lo necesita.

40 Un sujeto que necesita tratamiento tiene una infección bacteriana o se ha expuesto a una bacteria infecciosa, cuyos síntomas se pueden aliviar al administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de los compuestos de la presente invención. Por ejemplo, un sujeto que necesita tratamiento puede tener una infección para la cual se pueden administrar los compuestos de fórmula (I) como un tratamiento. En otro ejemplo, un sujeto que necesita tratamiento puede tener una herida abierta o lesión por quemadura, para la cual se pueden administrar los compuestos de fórmula (I) como un profiláctico. Típicamente, se tratará a un sujeto por una infección bacteriana existente.

45 Un sujeto puede tener una infección bacteriana causada por *Bacillus anthracis*, *Citrobacter* sp., *Escherichia coli*, *Francisella tularensis*, *Haemophilus influenza*, *Listeria mono-cytogenes*, *Moraxella catarrhalis*, *Mycobacterium*

tuberculosis, Neisseria meningitidis, Proteus mirabilis, Proteus vulgaris, Salmonella sp., Serratia sp., Shigella sp., Stenotrophomonas maltophilia, Staphylococcus aureus o Staphylococcus epidermidis. Preferiblemente, el sujeto se trata (profiláctica o terapéuticamente) por una infección bacteriana causada por una bacteria que expresa una enzima Fabl.

- 5 El término "tratar" y "tratamiento", según se usa en la presente memoria, se refieren a un tratamiento curativo, paliativo y profiláctico, que incluye revertir, aliviar, inhibir la progresión o prevenir la enfermedad, tratamiento o afección a la cual se aplica dicho término, o uno o más síntomas de dicha enfermedad, trastorno o afección.

10 Una "cantidad terapéuticamente eficaz" de un compuesto de la presente invención es la cantidad que, cuando se administra a un sujeto que necesita tratamiento, mejora el pronóstico del sujeto, p. ej., retrasa la aparición y/o reduce la gravedad de uno o más de los síntomas del sujeto asociados con una infección bacteriana. La cantidad del compuesto descrito que se va a administrar a un sujeto dependerá la enfermedad específica, el modo de administración y las características del sujeto, tales como salud general, otras enfermedades, edad, sexo, genotipo, peso corporal y tolerancia a fármacos. El experto será capaz de determinar las dosificaciones adecuadas dependiendo de estos y otros factores.

- 15 Los compuestos se pueden evaluar en uno de diversos ensayos biológicos para determinar la concentración de compuesto que se necesita para tener un efecto farmacológico dado.

Además, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un portador farmacéuticamente aceptable y una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I).

20 Para preparar las composiciones farmacéuticas de la presente invención, una cantidad eficaz del compuesto específico, en forma de sal de adición de base o ácido, como el ingrediente activo se combina en una mezcla estrecha con al menos un portador farmacéuticamente aceptable, dicho portador puede tomar una amplia variedad de formas dependiendo de la forma de preparación deseada para la administración. Estas composiciones farmacéuticas están, de manera deseable, en forma de dosificación unitaria adecuada, preferiblemente, para administración oral, administración rectal, administración percutánea o inyección parenteral.

25 Por ejemplo, al preparar las composiciones en forma de dosificación oral, se puede emplear cualquiera de los portadores farmacéuticos líquidos habituales, tales como por ejemplo, agua, glicoles, aceites, alcoholes y similares en el caso de preparaciones líquidas orales tales como suspensiones, jarabes, elixires y disoluciones; o portadores farmacéuticos sólidos tales como almidones, azúcares, caolín, lubricantes, aglutinantes, agentes desintegrantes y similares en el caso de polvos, pastillas, cápsulas y comprimidos. Debido a su fácil administración, los comprimidos y cápsulas representan la forma de dosificación unitaria oral más ventajosa, en cuyo caso obviamente se emplean portadores farmacéuticos sólidos. Para composiciones para inyección parenteral, el portador farmacéutico comprenderá principalmente agua estéril, aunque se pueden incluir otros ingredientes para mejorar la solubilidad del ingrediente activo. Se pueden preparar disoluciones inyectables, por ejemplo, mediante el uso de un portador farmacéutico que comprende una disolución salina, una disolución de glucosa o una mezcla de ambas. También se pueden preparar suspensiones inyectables mediante el uso de portadores líquidos adecuados, agentes de suspensión y similares. En composiciones adecuadas para administración percutánea, el portador farmacéutico puede comprender, opcionalmente, un agente potenciador de la penetración y/o un agente humectante adecuado, opcionalmente combinado con proporciones menores de aditivos adecuados que no causan un efecto nocivo significativo a la piel. Dichos aditivos se pueden seleccionar para facilitar la administración del ingrediente activo a la piel y/o para que sean útiles para preparar las composiciones deseadas. Estas composiciones tópicas se pueden administrar de diversas maneras, p. ej., como un parche transdérmico, una unción dorsal puntual o un ungüento. Las sales de adición de los compuestos de fórmula (I), debido a su solubilidad en agua aumentada con respecto a la forma de base correspondiente, son obviamente más adecuadas para la preparación de composiciones acuosas.

45 Es especialmente ventajoso formular las composiciones farmacéuticas de la invención en forma de dosificación unitaria para facilitar la administración y la uniformidad de la dosificación. "Forma de dosificación unitaria", según se usa en la presente memoria, se refiere a unidades físicamente diferenciadas adecuadas como dosificaciones unitarias, cada unidad contiene una cantidad predeterminada de ingrediente activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el portador farmacéutico necesario. Los ejemplos de dichas formas de dosificación unitarias son comprimidos (incluidos comprimidos ranurados o recubiertos), cápsulas, pastillas, paquetes de polvo, obleas, disoluciones o suspensiones inyectables, cucharaditas, cucharadas y similares, y múltiples segregados de estas.

55 Para administración oral, las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden tomar la forma de formas de dosis sólidas, por ejemplo, comprimidos (formas ingeribles y masticables), cápsulas o cápsulas de gel, preparadas mediante medios convencionales con excipientes y portadores farmacéuticamente aceptables tales como agentes aglutinantes (p. ej., almidón de maíz pregelatinizado, polivinilpirrolidona, hidroxipropilmetilcelulosa y similares), cargas (p. ej., lactosa, celulosa microcristalina, fosfato cálcico y similares), lubricantes (p. ej., estearato de magnesio, talco, sílice y similares), agentes desintegrantes (p. ej., almidón de patata, glicolato de almidón sódico y

similares), agentes humectantes (p. ej., laurilsulfato sódico) y similares. Dichos comprimidos también se pueden recubrir mediante métodos conocidos en la técnica.

Las preparaciones líquidas para administración oral pueden tomar la forma de, p. ej., disoluciones, jarabes o suspensiones, o se pueden formular como un producto seco para mezclar con agua y/u otro portador líquido adecuado antes del uso. Dichas preparaciones líquidas se pueden preparar mediante medios convencionales, opcionalmente con otros aditivos farmacéuticamente aceptables tales como agentes de suspensión (p. ej., jarabe de sorbitol, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa o grasas comestibles hidrogenadas), agentes emulsionantes (p. ej. lecitina o acacia), portadores no acuosos (p. ej., aceite de almendras, ésteres oleosos o alcohol etílico), edulcorantes, sabores, agentes de enmascaramiento y conservantes (p. ej., p-hidroxibenzoatos de metilo o propilo o ácido sórbico).

5 Los edulcorantes farmacéuticamente aceptables útiles en las composiciones farmacéuticas de la invención comprenden preferiblemente al menos un edulcorante intenso tal como aspartamo, acesulfamo potásico, ciclamato sódico, alitamo, un edulcorante de dihidrocalcona, monelina, esteviósido sucralosa (4,1',6'-triclora-4,1',6'-trideoxigalactosacarosa) o, preferiblemente, sacarina, sacarina sódica o cálcica, y opcionalmente al menos un edulcorante voluminoso tal como sorbitol, manitol, fructosa, sacarosa, maltosa, isomalt, glucosa, jarabe de glucosa hidrogenada, xilitol, caramelo o miel. Los edulcorantes intensos se usan de manera conveniente en bajas concentraciones. Por ejemplo, en el caso de la sacarina sódica, la dicha concentración puede variar de aproximadamente 0,04 % a 0,1 % (peso/volumen) de la formulación final. El edulcorante voluminoso se puede usar de manera eficaz en concentraciones mayores que varían de aproximadamente 10 % a aproximadamente 35 %, preferiblemente, de aproximadamente 10 % a 15 % (peso/volumen).

20 Los sabores farmacéuticamente aceptables que pueden enmascarar los ingredientes de sabor amargo en las formulaciones de dosificación baja son preferiblemente sabores frutales tales como cereza, frambuesa, grosella negra o fresa. Una combinación de dos sabores puede proporcionar resultados muy buenos. En las formulaciones de dosificación alta, pueden ser necesarios sabores farmacéuticamente aceptables más intensos tales como Caramel Chocolate, Mint Cool, Fantasy y similares. Cada sabor puede estar presente en la composición final en una concentración que varía de aproximadamente 0,05 % a 1 % (peso/volumen). Las combinaciones de dichos sabores intensos se usan de manera ventajosa. Se usa, preferiblemente, un sabor que no sufre cambios ni pérdida de gusto y/o color en las circunstancias de la formulación.

30 Los compuestos de fórmula (I) se pueden formular para administración parenteral por inyección, convenientemente, inyección intravenosa, intramuscular o subcutánea, por ejemplo, por inyección de bolo o infusión intravenosa continua. Las formulaciones para inyección se pueden presentar en forma de dosificación unitaria, p. ej., en ampollas o contenedores multidosis, incluido un conservante agregado. Pueden tomar la forma de suspensiones, disoluciones o emulsiones en vehículos oleosos o acuosos, y pueden contener agentes de formulación tales como agentes isotonzantes, de suspensión, estabilizantes y/o dispersantes. Alternativamente, el ingrediente activo puede estar presente en forma de polvo para mezclarlo con un vehículo adecuado, p. ej. agua libre de pirógenos estéril, antes del uso.

Los compuestos de fórmula (I) también se pueden formular en composiciones rectales tales como supositorios o enemas de retención, p. ej., que contienen bases de supositorios convencionales tales como manteca de cacao y/u otros glicéridos.

40 Los expertos en el tratamiento de enfermedades antibacterianas relacionado con la inhibición de la enzima FabI determinarán con facilidad la cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) a partir de los resultados de pruebas presentados más adelante en la presente memoria. En general, se contempla que una dosis terapéuticamente eficaz será de aproximadamente 0,001 mg/kg a aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal, más preferiblemente, de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal del paciente que se va a tratar. Puede ser adecuado administrar la dosis terapéuticamente eficaz en forma de dos o más subdosis en intervalos apropiados a lo largo del día. Dichas subdosis se pueden formular como formas de dosificación unitarias, por ejemplo, donde cada una contiene de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 1000 mg, más particularmente, de aproximadamente 1 a aproximadamente 500 mg, del ingrediente activo por forma de dosificación unitaria.

50 La dosificación exacta y la frecuencia de administración depende del compuesto de fórmula (I) específico usado, la afección específica que se está tratando, la gravedad de la afección que se está tratando, la edad, peso y condición física general del paciente específico, así como los otros medicamentos que el paciente puede estar tomando, como lo saben los expertos en la técnica. Además, dicha "cantidad terapéuticamente eficaz" se puede disminuir o aumentar dependiendo de la respuesta del paciente tratado y/o dependiendo de la evaluación del médico que prescribe los compuestos de la presente invención. Por consiguiente, los intervalos de cantidad diaria eficaz mencionados anteriormente en la presente memoria son solamente pautas orientativas.

55 Los compuestos de fórmula (I) pueden tener la ventaja de que pueden ser más eficaces que, menos tóxicos que, de acción más prolongada que, más potentes que, producir menos efectos secundarios que, absorberse más fácilmente que y/o tener un mejor perfil farmacocinético (p. ej., biodisponibilidad oral más alta y/o aclaramiento más bajo) que,

y/o tener otras propiedades farmacológicas, físicas o químicas útiles con respecto a, compuestos conocidos en la técnica anterior, ya sean para uso en las indicaciones indicadas anteriormente o de cualquier otra manera. Los compuestos también pueden exhibir dichas ventajas en virtud de la presencia del resto NR⁴ o el resto CR⁴ que está adyacente a un enlace doble en el anillo que contiene X.

- 5 Por ejemplo, los compuestos de fórmula (I) pueden tener la ventaja de que tienen una buena o mejorada solubilidad termodinámica (p. ej., en comparación con compuestos conocidos en la técnica anterior; y, por ejemplo, según se determina mediante un método conocido y/o un método descrito en la presente memoria). Los compuestos de fórmula (I) pueden tener también la ventaja de que tienen un amplio espectro de actividad contra antibacterianos (p. ej., un espectro más amplio de actividad antibacteriana en comparación con compuestos conocidos en la técnica anterior; y, por ejemplo, según se determina mediante pruebas conocidas y/o pruebas descritas en la presente memoria). Los compuestos de fórmula (I) también pueden tener la ventaja de que tienen buena o mejorada farmacocinética y biodisponibilidad oral *in vivo*. También pueden tener la ventaja de que tienen buena o mejorada eficacia *in vivo*. Por ejemplo, los compuestos de la invención pueden ser adaptables para formulación/dosificación intravenosa y, por consiguiente, pueden exhibir una eficacia mejorada *in vivo* cuando se administran por vía intravenosa. Los compuestos también pueden exhibir dichas ventajas en virtud de la presencia del resto NR⁴ o el resto CR⁴ que está adyacente a un enlace doble en el anillo que contiene X.

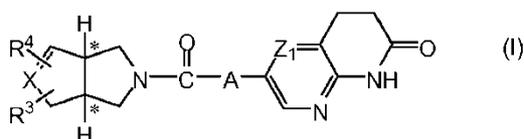
Parte experimental

Abreviaturas

- 20 "DMF" se define como *N,N*-dimetilformamida, "DCM" o "CH₂Cl₂" se define como diclorometano, "MeOH" se define como metanol, "EtOH" se define como etanol, "MgSO₄" se define como sulfato de magnesio y "THF" se define como tetrahidrofurano, "AcOEt" o "EtOAc" se define como acetato de etilo, "DIPEA" se define como diisopropil-etilamina, "EDCI" se define como monoclóhidrato de *N*-(etilcarbonimidóil)-*N,N*-dimetil-1,3-propano-diamina, "HOBT" se define como 1-hidroxi-1*H*-benzotriazol, "DIPA" se define como diisopropilamina, "K₂CO₃" se define como carbonato potásico, "TFA" se define como ácido trifluoroacético, "NH₄OH" se define como hidróxido de amonio, "NaHCO₃" se define como sal monosódica de ácido carbónico, "Et₂O" se define como éter dietílico, "Na₂SO₄" se define como sal disódica de ácido sulfúrico, "CH₃CN" se define como acetonitrilo, "NaOH" se define como hidróxido de sodio, "n-BuLi" se define como *n*-Butilitio, "i-PrOH" se define como isopropanol, "Pd(OAc)₂" se define como acetato de paladio, "DMA" se define como dimetilacetamida, "Et₃N" se define como trietilamina.

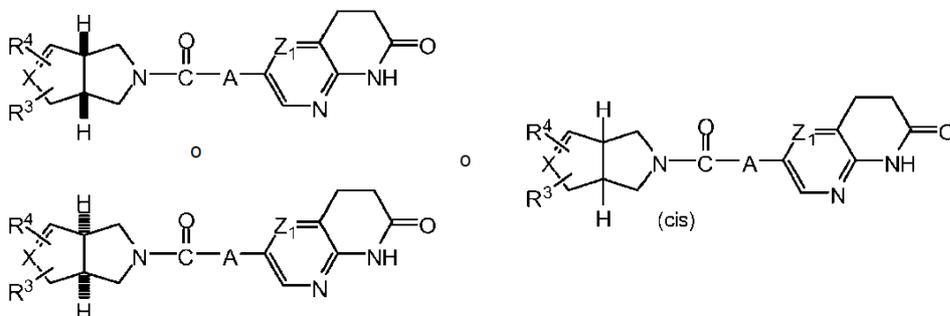
Representación estereoquímica

- 30 Los compuestos de fórmula (I) tienen al menos dos átomos de carbono asimétricos como se ilustra más adelante, en donde los átomos de carbono asimétricos se identifican mediante un *:



Debido a la tensión de anillo en el sistema de dos anillos de cinco miembros anillados, solo se pueden preparar las formas 'cis' y no las formas 'trans'.

- 35 Compuestos de fórmula (I) en donde el sistema de dos anillos de cinco miembros anillados tiene la configuración 'cis'



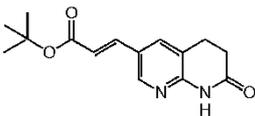
Cada uno de los compuestos "cis" representados anteriormente consiste en una mezcla racémica de dos enantiómeros y se han usado enlaces en negrita o enlaces punteados para indicar esta configuración estereoquímica relativa.

En el caso de que un compuesto "cis" se separase en sus dos enantiómeros individuales, la configuración estereoquímica del enantiómero simple entonces se designaba como R* o S* indicando una estereoquímica relativa. Por consiguiente, un enantiómero simple designado (R*,S*) puede tener la configuración absoluta (R,S) o la configuración (S,R). Si la estereoquímica absoluta de un átomo de carbono quiral específico en un enantiómero simple se conocía, los enlaces en negrita o punteados se reemplazaban por enlaces en cuña para indicar que el compuesto es un enantiómero simple que tiene una estereoquímica absoluta conocida.

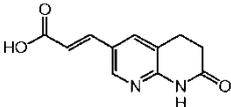
5

A. Síntesis de los intermediarios

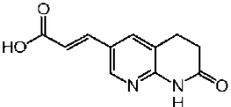
Ejemplo A. 1

a) Preparación del		intermediario (1)
--------------------	---	-------------------

- 10 Se agitó una disolución de 6-bromo-3,4-dihidro-1H-[1,8]nafiridin-2-ona (1,0 g, 4,4 mmol), acrilato de *tert*-butilo (2,56 ml, 17,62 mmol) y *N,N*-diisopropiletilamina (1,46 ml, 8,81 mmol) en acetonitrilo (20 ml) y DMF (7 ml) y se desgasificó con gas nitrógeno durante 10 minutos. Se agregaron tri-*o*-tolilfosfina (0,27 g, 0,88 mmol) y acetato de paladio (II) (47 % en Pd) (0,099 g, 0,44 mol) y la mezcla resultante se sometió a microondas (1600 W, 180 °C, 35 minutos). La mezcla de reacción se evaporó hasta secarse, se recogió en una mezcla de DCM/metanol (8/2) (50 ml), se filtró a través de una almohadilla corta de celite y se lavó con DCM. La capa orgánica se lavó con agua, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó hasta secarse. El residuo se recogió en etanol frío (10 ml) y se agitó a 5 °C durante 5 minutos, el precipitado se retiró por filtración, se lavó con etanol frío (3 ml) y se secó al vacío para proporcionar 950 mg del intermediario (1).
- 15

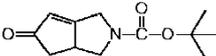
b) Preparación de		CF ₃ COOH	intermediario (2)
-------------------	---	----------------------	-------------------

- 20 El intermediario (1) (4,1 g, 14,95 mmol) se disolvió en una mezcla de ácido trifluoroacético (23,2 ml) en DCM (41 ml). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El sólido resultante se trituroó con éter dietílico, se retiró por filtración y se secó al vacío para proporcionar 3,97 g del intermediario (2).

c) Preparación de		.HCl	intermediario (3)
-------------------	---	------	-------------------

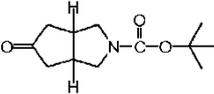
- 25 El intermediario (2) se trituroó durante toda la noche en una mezcla de HCl en dioxano (4 M, 48 ml), el sólido se retiró por filtración, se lavó con éter dietílico y se secó al vacío para proporcionar 3,7 g del intermediario (3).

Ejemplo A. 2

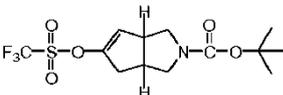
a) Preparación del		intermediario (4)
--------------------	---	-------------------

- 30 Se agitó una disolución de éster *tert*-butílico de ácido alil-prop-2-inil-carbámico (CAS 147528-20-9, 45 g, 0,23 mol), carbonilo de cobalto (17,5 g, 46,1 mmol) y 1,1,3,3-tetrametil-2-tiourea (36,6 g, 0,277 mol) en tolueno (1,8 L) y se calentó a 70 °C durante 5 horas en un autoclave a presión de CO 2-3 bar). La mezcla resultante se filtró a través de una almohadilla corta de celite y se evaporó hasta secarse. El residuo se recogió en DCM y se filtró a través de una almohadilla corta de celite para obtener una disolución transparente. Se evaporó hasta secarse para proporcionar

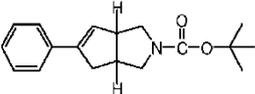
85,7 g de residuo bruto. Se purificó a través de cromatografía líquida preparativa en (gel de sílice 20-45 μ m, 1000 g, fase móvil (gradiente DCM/AcOEt de 95/5 a 80/20). Se recogieron las fracciones puras y el disolvente se evaporó para proporcionar 36,5 g del intermediario (4).

b) Preparación de		(cis)	intermediario (5)
-------------------	---	-------	-------------------

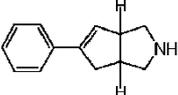
- 5 Se hidrogenó una mezcla del intermediario (4) (37,6 g, 0,168 mol) y paladio al 10 % en carbón (7,5 g) en acetato de etilo (750 ml) a temperatura ambiente durante 30 minutos a 3 bars en un reactor de recipiente cerrado. La mezcla resultante se filtró a través de una almohadilla corta de celite y se evaporó hasta secarse para proporcionar 38,2 g del intermediario (5).

c) Preparación de		(cis)	intermediario (6)
-------------------	---	-------	-------------------

- 10 Se agregó *n*-BuLi 1,6M en hexano (64 ml, 0,102 mol) por goteo a -20 °C, en una atmósfera de N₂, a una disolución de diisopropilamina (14,3 ml, 0,102 mol) en THF seco (140 mL), después la mezcla se agitó a -20 °C durante 20 minutos. A continuación, se agregó una disolución de intermediario (5) (19,1 g, 84,8 mmol) en THF seco (190 mL) a -78 °C y la mezcla resultante se agitó durante 1 hora a -78 °C. Se agregó una disolución de N-fenil-trifluorometano sulfonimida (36,4 g, 0,102 mol) en THF seco (110 mL) a -78°C, después se dejó que la mezcla alcanzara temperatura ambiente y se agitó durante toda la noche. La mezcla se evaporó hasta secarse. El residuo se recogió en DCM, se lavó con una disolución acuosa de NaHCO₃, se secó (MgSO₄) y se evaporó hasta secarse para proporcionar 27,7 g del intermediario (6).
- 15

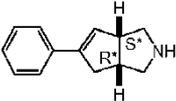
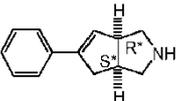
d) Preparación de		(cis)	intermediario (7)
-------------------	---	-------	-------------------

- 20 Se purgó una disolución del intermediario (6) (9,3 g, 26,0 mmol) y ácido fenil borónico (3,81 g, 31,2 mmol) en una disolución de carbonato potásico 2 M (26 ml) y éter dimetilico de etilenglicol (93 ml) con N₂ durante 10 minutos, a continuación, se agregó tetrakis(trifenil)fosfina-paladio (3,0 g, 2,6 mmol). El reactor cerrado se calentó a 80 °C usando un sistema CEM Mars de microondas de cavidad multimodo con una potencia de salida que varía de 0 a 400W durante 30 minutos. La disolución resultante se enfrió hasta temperatura ambiente, se agregaron agua y EtOAc, la capa orgánica se separó, se lavó con agua, después con salmuera, se secó (MgSO₄) y se evaporó hasta secarse.
- 25 La purificación del residuo se llevó a cabo mediante cromatografía rápida sobre gel de sílice (330g, 15-40 μ m, heptano/EtOAc de 100/0 a 80/20). Se recogieron las fracciones puras y se evaporaron hasta secarse para proporcionar 4,3 g del intermediario (7).

e) Preparación de		(cis)	intermediario (8)
-------------------	---	-------	-------------------

- 30 Se agregó ácido trifluoroacético (44 ml) por goteo a una disolución del intermediario (7) (14,5 g, 50,8 mmol) en CH₂Cl₂ (44 ml). La disolución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 30 min, después la mezcla se enfrió hasta 5 °C. Se agregó NaOH 3N lentamente hasta lograr una mezcla básica, esta se extrajo dos veces con

CH₂Cl₂. La capa orgánica combinada se lavó con NaOH 3N, después con agua, se secó sobre MgSO₄ y se evaporó para proporcionar 8,8 g de compuesto racémico de intermediario (8).

f) Preparación de		intermediario (9)
e		intermediario (10)

- 5 Se purificó el intermediario (8) y se resolvió mediante SFC quiral sobre (CHIRALPAK AD-H 5µm 250x20 mm). Fase móvil (isopropilamina al 0,3 %, CO₂ al 73 %, iPrOH al 27 %). Se recogieron las fracciones puras y el disolvente se retiró para proporcionar 3,9 g de intermediario (10) (R*,S*) ([α]_D²⁰ = -53,19 ° (589 nm, c 0,3365 p/v %, DMF, 20 °C)) y 4 g de intermediario (9) (S*,R*) ([α]_D²⁰ = +38,6 ° (589 nm, c 0,285 p/v %, DMF, 20 °C)).

Intermediario (9)

- 10 ¹H RMN (400MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) 7,43 (d, J = 7,6 Hz, 2 H), 7,32 (t, J = 7,6 Hz, 2 H), 7,20 - 7,26 (m, 1 H), 6,07 (d, J = 2,0 Hz, 1 H), 3,30 - 3,39 (m, 1 H), 2,77 - 2,94 (m, 4 H), 2,66 (dd, J = 3,0, 11,1 Hz, 1 H), 2,58 (dd, J = 3,0, 11,1 Hz, 1 H), 2,46 (d, J = 15,7 Hz, 1 H).

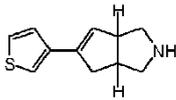
Intermediario (10)

- 15 ¹H -RMN (400MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) 7,43 (d, J = 7,6 Hz, 2 H), 7,32 (t, J = 7,6 Hz, 2 H), 7,20 - 7,26 (m, 1 H), 6,07 (d, J = 2,0 Hz, 1 H), 3,30 - 3,39 (m, 1 H), 2,77 - 2,94 (m, 4 H), 2,66 (dd, J = 3,0, 11,1 Hz, 1 H), 2,58 (dd, J = 3,0, 11,1 Hz, 1 H), 2,46 (d, J = 15,7 Hz, 1 H).

Ejemplo A.3

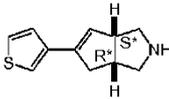
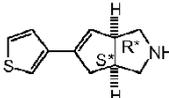
a) Preparación del		(cis)	intermediario (11)
--------------------	---	-------	--------------------

- 20 Se purgó una disolución del intermediario (6) (44,4 g, 111,82 mmol) y ácido 3-tiofenoborónico (17,17 g, 134,19 mmol) en carbonato potásico 2M (112 ml) y éter dimetílico de etilenglicol (444 ml), en un recipiente abierto, con N₂ durante 10 minutos, a continuación, se agregó tetrakis(trifenilfosfin)paladio (12,92 g, 223,65 mmol). La disolución se calentó a 78 °C usando un sistema CEM MARS de microondas de cavidad multimodo con una potencia de salida que varía de 0 a 400W durante 1 hora. La disolución se enfrió hasta temperatura ambiente, se agregaron agua y EtOAc. La mezcla se filtró a través de una almohadilla de celite. La capa orgánica se separó, se lavó con agua, después con salmuera, se secó sobre MgSO₄ y se evaporó hasta secarse. El residuo se purificó mediante cromatografía líquida preparativa en (gel de sílice 20-45 µm, 1000 g, fase móvil (80 % de heptano, 20 % de AcOEt)). Se recogieron las fracciones puras y se concentraron para proporcionar 16 g del intermediario (11).

b) Preparación de		(cis)	intermediario (12)
-------------------	---	-------	--------------------

Se agregó ácido trifluoroacético (14,37 ml, 186,47 mmol) a una disolución del intermediario (11) (5,72 g, 18,65 mmol) en CH₂Cl₂ (57 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. Se agregaron K₂CO₃

(disolución acuosa al 10 %, 50 ml) y después K_2CO_3 sólido a 0 °C para basificar la disolución. La capa orgánica se separó, se lavó con agua, se secó ($MgSO_4$) y se evaporó hasta secarse. El residuo se purificó mediante cromatografía líquida preparativa en (gel de sílice 20-45 μm , 1000 g, fase móvil (1 % de NH_4OH , DCM al 93%, MeOH al 7 %)). Se recogieron las fracciones puras y se concentraron para proporcionar 12 g del intermediario (12).

c) Preparación de		intermediario (13)
e		intermediario (14)

5 Se purificó el intermediario (12) y se resolvió mediante SFC quiral sobre (CHIRALPAK AD-H 5 μm 250x20 mm). Fase móvil (isopropilamina al 0,3 %, CO_2 al 80 %, metanol al 20 %). Se recogieron las fracciones puras y el disolvente se retiró para proporcionar 5,8 g de intermediario (14) (R^*, S^*) ($[\alpha]_D^{20} = -12,4^\circ$ (589 nm, c 0,5 p/v %, DCM, 20 °C)) y 5,6 g de intermediario (13) (S^*, R^*) ($[\alpha]_D^{20} = +9,43^\circ$ (589 nm, c 0,35 p/v %, DCM, 20 °C)).

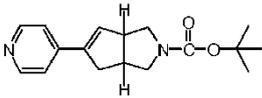
10 Intermediario (13)

1H RMN (500MHz, $DMSO-d_6$) δ (ppm) 7,49 (dd, $J = 2,5, 5,0$ Hz, 1 H), 7,31 (d, $J = 5,0$ Hz, 1 H), 7,29 (d, $J = 2,5$ Hz, 1 H), 5,88 (d, $J = 1,9$ Hz, 1 H), 3,28 - 3,33 (s a, 1 H), 2,75 - 2,87 (m, 4 H), 2,61 (dd, $J = 2,8, 10,7$ Hz, 1 H), 2,54 (dd, $J = 3,3, 10,9$ Hz, 1 H), 2,40-2,15(m, 2 H).

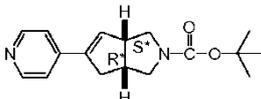
Intermediario (14)

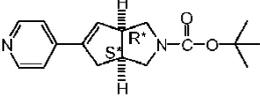
15 1H RMN (500MHz, $DMSO-d_6$) δ (ppm) 7,49 (dd, $J = 2,5, 5,0$ Hz, 1 H), 7,31 (d, $J = 5,0$ Hz, 1 H), 7,29 (d, $J = 2,5$ Hz, 1 H), 5,88 (d, $J = 1,9$ Hz, 1 H), 3,28 - 3,33 (s a, 1 H), 2,75 - 2,87 (m, 4 H), 2,61 (dd, $J = 2,8, 10,7$ Hz, 1 H), 2,54 (dd, $J = 3,3, 10,9$ Hz, 1 H), 2,40-2,15(m, 2 H).

Ejemplo A.4

a) Preparación del		(cis)	intermediario (15)
--------------------	---	-------	--------------------

20 Se purgó una disolución del intermediario (6) (108 g, 0,302 mol) y ácido piridina-4-borónico (49,5 g, 0,363 mol) en carbonato potásico acuoso 2M (302 ml, 0,604 mol) y éter dimetílico de etilenglicol (1,1 L) con N_2 durante 5 minutos, después se agregó tetrakis(trifenil-fosfin)paladio (34,9 g, 0,030 mol), la mezcla se calentó a 78 °C usando un microondas multimodo (CEM Mars 5) con una potencia de salida que varía de 0 a 800 W durante 1 hora, se enfrió hasta temperatura ambiente, se agregaron agua y EtOAc, la capa orgánica se separó, se lavó con agua, después
25 con salmuera, se secó sobre $MgSO_4$ y se evaporó hasta secarse. El residuo se purificó mediante cromatografía líquida preparativa en (gel de sílice 15-40 μm , 300 g, fase móvil (NH_4OH al 0,1 %, DCM al 97%, iPrOH al 3 %)). Se recogieron las fracciones puras y el disolvente se retiró para obtener 47,6 g del intermediario (15).

b) Preparación de		intermediario (17)
-------------------	---	--------------------

e		intermediario (18)
---	---	--------------------

5 El intermediario (16) se purificó y resolvió mediante cromatografía en Chiralpak AD (20 μ m, 2000g, 110 mm) con una velocidad de flujo de 750 ml/min. La fase móvil fue metanol al 100 %. Se recogieron las fracciones puras y se evaporaron hasta secarse para proporcionar 18,7 g de intermediario (18) (R^*,S^*) ($[\alpha]_D^{20} = +55,75^\circ$ (589 nm, c 0,339 p/v %, DMF, 20 °C)) y 20,7 g de intermediario (17) (S^*,R^*) ($[\alpha]_D^{20} = -68,38^\circ$ (589 nm, c 0,253 p/v %, DMF, 20 °C)).

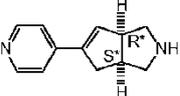
Intermediario (17)

^1H RMN (500MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 8,52 (d, $J = 6,0$ Hz, 2 H), 7,41 (d, $J = 6,0$ Hz, 2 H), 6,50 (s, 1 H), 3,36 - 3,61 (m, 4 H), 2,81 - 3,02 (m, 3 H), 2,61-2,53 (m, 1 H), 1,36 (s, 9 H)

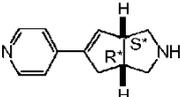
Intermediario (18)

10 ^1H RMN (500MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 8,52 (d, $J = 6,0$ Hz, 2 H), 7,41 (d, $J = 6,0$ Hz, 2 H), 6,50 (s, 1 H), 3,36 - 3,61 (m, 4 H), 2,81 - 3,02 (m, 3 H), 2,61-2,53 (m, 1 H), 1,36 (s, 9 H)

Ejemplo A.5

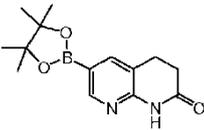
Preparación de		.HCl	intermediario (19)
----------------	---	------	--------------------

15 Se agregó el intermediario (18) (24,8 g, 86,6 mmol) a HCl en dioxano (4 M, 108 ml) a 5 °C, después la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 90 minutos. El precipitado se retiró por filtración, se lavó con Et₂O y se secó al vacío a 70 °C 21,1 g de intermediario (19).

Preparación de		.HCl	intermediario (20)
----------------	---	------	--------------------

Se preparó el intermediario (20) de manera análogo partiendo del intermediario (17).

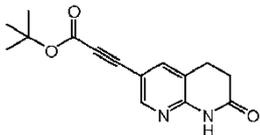
Ejemplo A.6

a) Preparación del		intermediario (21)
--------------------	---	--------------------

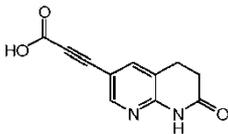
20 Reacción realizada en 4 lotes de 0,5 g de 6-bromo-3,4-dihidro-1H-[1,8]naftiridin-2-ona cada uno. Se agitó una disolución de 6-bromo-3,4-dihidro-1H-[1,8]naftiridin-2-ona (0,5 g, 2,20 mmol), bis(pinacolato)diboro (0,67 g, 2,64 mmol) y acetato potásico (0,648 g, 6,61 mmol) en DMF (5 ml) y CH₃CN (10 ml) y se desgasificó con nitrógeno durante 10 minutos. Se agregó 1,1'-Bis(difenilfosfino)ferrocenodichloropaldio(II) (0,161 g, 0,22mmol) y la mezcla resultante se calentó a 120 °C usando un microondas (Biotage Initiator 60) con una potencia de salida que varía de 0 a 400 W durante 40 minutos. La mezcla se evaporó hasta secarse, el residuo se recogió en DCM y agua, se filtró a

25

través de una almohadilla corta de celite. La capa orgánica del filtrado se separó, se lavó con agua, se secó (MgSO_4) y se evaporó hasta secarse. El residuo se recogió en EtOH, se retiró por filtración y se secó para proporcionar 0,36 g de intermediario (21).

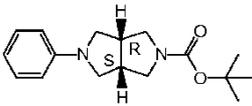
b) Preparación de		intermediario (22)
-------------------	---	--------------------

- 5 Se purgaron el intermediario (21) (1,0 g, 3,65 mmol), propiolato de terc-butilo (0,426 ml, 3,04 mmol), óxido de plata(I) (1,06 g, 4,56 mmol) y K_2CO_3 (0,84 g, 6,08 mmol) en CH_3CN (10 ml) y DMF (5ml) con N_2 , a continuación se agregó acetato de paladio(II) (Pd al 47 %) (0,034 g, 0,152 mmol) y la mezcla se calentó a 100 °C usando un microondas monomodo (Biotage Initiator 60) con una potencia de salida que varía de 0 a 400W durante 20 minutos. Se agregaron agua y EtOAc, la mezcla se filtró a través de una almohadilla corta de celite, la capa orgánica se separó, se lavó con agua, después con salmuera, se secó (MgSO_4) y se evaporó hasta secarse. El residuo obtenido se purificó mediante cromatografía rápida sobre gel de sílice (15-40 μm , cartucho de 30 g, de CH_2Cl_2 a $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}/\text{NH}_4\text{OH}$: 98,5/1,5/0,1) Se recogieron las fracciones puras y se evaporaron hasta secarse para proporcionar 0,037 g del intermediario (22).

c) Preparación de		intermediario (23)
-------------------	--	--------------------

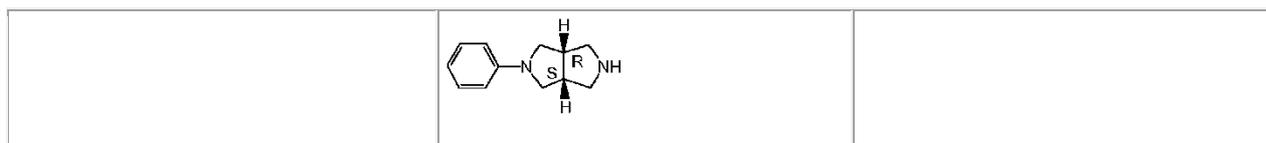
- 15 El intermediario (22) (0,053 g, 0,195 mmol) se disolvió en una disolución de TFA/DCM (0,37 ml /0,5 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El sólido resultante se trituró con Et_2O , se retiró por filtración y se secó al vacío (80 °C) para proporcionar 0,032 g del intermediario (23).

Ejemplo A.7

a) Preparación del		intermediario (24)
--------------------	---	--------------------

- 20 Condiciones del microondas: Biotage, 90 °C, 25 minutos, bajo después de 30 segundos de preagitación. Se agitó una disolución de bromobenceno (0,228 ml, 2,64 mmol), cis-2-*tert*-butiloxi-carbonil-hexahidropirrol[3.4]pirrol (0,6 g, 2,82 mmol) y *tert*-butóxido sódico (0,624 g, 6,5 mmol) en tolueno (extra seco con tamices moleculares) (15 ml) y se desgasificó con nitrógeno durante 10 minutos. Se agregaron Tris(dibencilidenoacetona) dipaladio(0) (0,198 g, 0,216 mmol) y 2-(di-*tert*-butilfosfino)bifenilo (0,065 g, 0,216 mmol) y la mezcla resultante se irradió siguiendo las condiciones del microondas indicadas anteriormente. Se agregaron agua y EtOAc, la capa orgánica se separó y después se secó (MgSO_4), se retiró por filtración y se concentró. El residuo obtenido se purificó mediante cromatografía rápida sobre gel de sílice (15-40 μm , 40 g, heptano/EtOAc 80/20). Se recogieron las fracciones puras y se concentraron para proporcionar el intermediario (24).

b) Preparación de		intermediario (25)
-------------------	--	--------------------



5 Se agregó TFA (4,54 ml, 58,95 mmol) a una disolución del intermediario (24) (1,7 g, 5,9 mmol) en DCM (15 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas, se agregaron agua y DCM, se agregó K_2CO_3 (disolución acuosa al 10 %) para basificar y la capa orgánica se separó, se lavó con agua, se secó ($MgSO_4$) y se evaporó hasta secarse para proporcionar el intermediario (25) como un aceite.

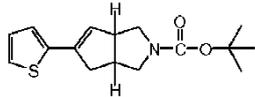
Los siguientes compuestos se prepararon usando el mismo procedimiento que en el Ejemplo A.7 por el cual el bromobenceno se reemplazó por 2-bromotiofeno, 2-bromoanisol, 2-bromo-1-metilbenceno, 2-bromo-1-clorobenceno, 3-bromopiridina, 2-bromotiazol, 4-bromo-1-clorobenceno o 3-bromo-1-clorobenceno, respectivamente.

intermediario (26)	intermediario (27)	intermediario (28)
intermediario (29)	intermediario (30)	intermediario (31)
intermediario (32)	intermediario (33)	

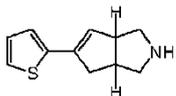
10 Ejemplo A.8

a) Preparación del		(cis)	intermediario (34)
--------------------	--	-------	--------------------

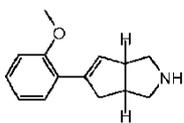
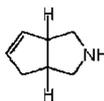
15 Reacción en N_2 . Se agregó *n*-BuLi (1,6M en hexano) (3,33 ml, 5,33 mol) por goteo a $-20\text{ }^\circ\text{C}$ a una disolución de DIPA (0,749 ml, 5,33 mol) en THF (8 ml), después la mezcla se agitó a $-20\text{ }^\circ\text{C}$ durante 20 minutos. A continuación, se agregó una disolución de intermediario (4) (1,0 g, 4,44 mmol) en THF (10 ml) a $-78\text{ }^\circ\text{C}$ y la mezcla resultante se agitó durante 30 minutos a $-78\text{ }^\circ\text{C}$. Se agregó una disolución de *N*-feniltrifluoro-metanosulfonimida (1,74 g, 4,88 mol) en THF (6 mL) a $-78\text{ }^\circ\text{C}$, después se dejó que la mezcla alcanzara temperatura ambiente y se agitó durante toda la noche. La mezcla se concentró y el residuo se purificó mediante cromatografía rápida sobre gel de sílice (40 g, 15-40 μm , heptano/EtOAc 70/30). Se recogieron las fracciones puras y se evaporaron hasta secarse para proporcionar el intermediario (34).

b) Preparación de		(cis)	intermediario (35)
-------------------	---	-------	--------------------

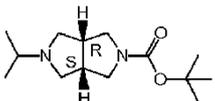
- 5 Reacción en nitrógeno Condiciones del microondas: Biotage Initiator 60, 80 °C, 20 minutos. Se purgó una disolución del intermediario (34) (0,42 g, 0,881 mmol) y ácido tiofeno-2-borónico (0,135 g, 1,06 mmol) en K₂CO₃ (2 M, 0,88 ml) y éter dimetílico de etilenglicol (4 ml) con N₂ durante 10 minutos, a continuación, se agregó tetrakis(trifenilfosfina)paladio(0) (0,102 g, 0,088 mmol). La mezcla se irradió siguiendo las condiciones de microondas indicadas anteriormente, se enfrió hasta temperatura ambiente, se agregaron agua y EtOAc, la capa orgánica se separó, se lavó con agua, después con salmuera, se secó (MgSO₄) y se evaporó hasta secarse. El residuo se purificó mediante cromatografía rápida sobre gel de sílice (10 g, 15-40 μm, heptano 100 a heptano/EtOAc 80/20). Se recogieron las fracciones puras y se evaporaron hasta secarse para proporcionar el intermediario (35).

c) Preparación de		(cis)	intermediario (36)
-------------------	---	-------	--------------------

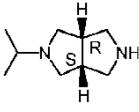
- 10 Se agitó una mezcla de intermediario (35) (0,226 g, 0,776 mmol) en TFA (0,7 ml) y DCM (4ml) a temperatura ambiente durante 1 hora, después la mezcla de reacción se vertió en K₂CO₃ (disolución acuosa al 10 %) y se extrajo con DCM. La capa orgánica se separó, se lavó con agua, se secó (MgSO₄) y se evaporó hasta secarse para proporcionar el intermediario (36).
- 15 Los siguientes compuestos se prepararon usando el mismo procedimiento que en el Ejemplo A.8b/A.8c por el cual el ácido tiofeno-2-borónico se reemplazó por ácido 2-metoxifenil-borónico o ácido fórmico, respectivamente.

	(cis)		(cis)
intermediario (42)		intermediario (43)	

Ejemplo A.9

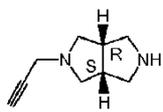
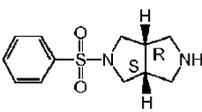
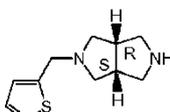
a) Preparación del		intermediario (37)
--------------------	---	--------------------

- 20 Condiciones del microondas: Biotage, 120 °C, 30 minutos. Se irradió una mezcla de *cis*-2-*tert*-butiloxycarbonil-hexahidropirrol[3.4]pirrol (0,027 g, 0,13 mmol), 2-bromo-propano (0,018 mL, 0,19 mmol) y trietilamina (0,088 ml, 0,64 mol) en DMF (0,2 ml) siguiendo las condiciones indicadas anteriormente. Se agregaron agua y EtOAc, la capa orgánica se separó, la capa acuosa se extrajo dos veces con EtOAc, la fase orgánica combinada se lavó con agua y salmuera, se secó (MgSO₄) y se evaporó hasta secarse para proporcionar el intermediario (37).

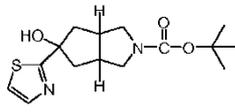
b) Preparación de		intermediario (38)
-------------------	---	--------------------

5 Se agregó TFA (0,62 ml, 8,02 mmol) a una disolución del intermediario (37) (0,204 g, 0,8 mmol) en DCM (2 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas, se agregaron agua y DCM, se agregó K₂CO₃ al 10 % para basificar, se agregó NaCl sólido para saturar y la capa orgánica se separó, se lavó con agua, se secó (MgSO₄) y se evaporó hasta secarse para proporcionar el intermediario (38) como un aceite.

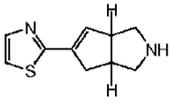
Los siguientes compuestos se prepararon usando el mismo procedimiento que en el Ejemplo A.9 por el cual el 2-bromopropano se reemplazó por bromuro de propargilo, cloruro de bencenosulfonilo o metanosulfonato de 2-tienilmetilo, respectivamente.

		
intermediario (39)	intermediario (40)	intermediario (41)

10 Ejemplo A.10

a) Preparación del		(cis)	intermediario (44)
--------------------	---	-------	--------------------

15 Reacción en N₂. Se agregó BuLi (1,6M en hexano) (4,8 ml, 7,70 mol) por goteo a -78 °C a una disolución de tiazol (0,5 ml, 7,05 mmol) en Et₂O (5 ml), después la mezcla se agitó durante 30 minutos. Se agregó una disolución de intermediario (5) (1,44 g, 6,41 mmol) en Et₂O (7 mL), después se agitó la mezcla y se dejó que alcanzara temperatura ambiente durante 2 horas. Se agregaron agua y EtOAc, la capa orgánica se separó, se lavó con agua, después con salmuera, se secó (MgSO₄) y se evaporó hasta secarse. El residuo obtenido se purificó mediante cromatografía rápida sobre gel de sílice (50 g, 15-40 μm, heptano/EtOAc 80/20 a heptano/EtOAc 50/50). Se recogieron las fracciones puras y se evaporaron hasta secarse para proporcionar el intermediario (44).

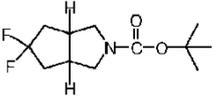
b) Preparación de		(cis)	intermediario (45)
-------------------	---	-------	--------------------

20 Se calentó una mezcla del intermediario (44) (1,05 g, 3,38 mmol) en HCl (37 % en H₂O) (7ml) en un tubo sellado a 140 °C usando un microondas de modo único (Biotage Initiator EXP 60) con una potencia de salida que varía de 0 a 400 W durante 1 hora. La mezcla de reacción se vertió en K₂CO₃ (disolución acuosa al 10 %), la capa orgánica se separó, se secó (MgSO₄) y se evaporó hasta secarse para proporcionar 0,23 g de residuo (1). La capa acuosa se evaporó hasta secarse, el sólido se suspendió en DCM y se agitó durante 10 minutos. La suspensión se filtró y el filtrado se evaporó hasta secarse para proporcionar 0,29 g de residuo (2). Los residuos (1) y (2) se combinaron para la purificación, se llevó a cabo mediante cromatografía rápida sobre gel de sílice (15-40μm, 30 g, de CH₂Cl₂ a

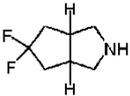
25

$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}/\text{NH}_4\text{OH}$: 90/10/1). Se recogieron las fracciones puras y se evaporaron hasta secarse para proporcionar 0,42 g de intermediario (45).

Ejemplo A.11

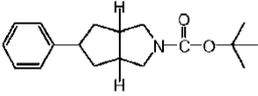
a) Preparación del		(cis)	intermediario (46)
--------------------	---	-------	--------------------

- 5 Se agregó trifluoruro de dietilaminoazufre (1,24 ml, 10,12 mmol) por goteo a una disolución de intermediario (5) (0,570 g, 2,53 mmol) en DCM (6 ml) enfriada en un baño de hielo a 5 °C, la mezcla se agitó 1 hora a 5 °C y después durante toda la noche a temperatura ambiente. La mezcla se enfrió a 0 °C y se agregó NaHCO_3 saturado. La capa orgánica se extrajo con CH_2Cl_2 , se secó (MgSO_4), se filtró y se concentró para proporcionar el intermediario (46).

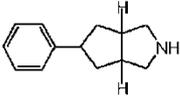
b) Preparación de		(cis)	intermediario (47)
-------------------	---	-------	--------------------

- 10 Se agregó TFA (0,39 ml, 5,12 mmol) a una disolución del intermediario (46) (0,146 g, 0,51 mmol) en DCM (1,5 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas, se agregaron agua y DCM, se agregó K_2CO_3 (disolución acuosa al 10 %) para basificar y la capa orgánica se separó, se lavó con agua, se secó (MgSO_4) y se evaporó hasta secarse para proporcionar el intermediario (47) como un aceite.

Ejemplo A.12

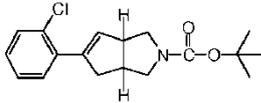
a) Preparación del		(cis)	intermediario (48)
--------------------	---	-------	--------------------

- 15 Se hidrogenó una mezcla de intermediario (7) (0,3 g, 1,05 mmol) y Pd/C al 10 % seco (0,06 g) en MeOH (15 ml) a temperatura ambiente y presión atmosférica durante 2 horas. La mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla corta de celite, se lavó con DCM y el filtrado se evaporó hasta secarse para proporcionar el intermediario (48).

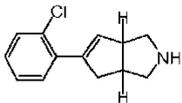
b) Preparación de		(cis)	intermediario (49)
-------------------	---	-------	--------------------

- 20 Se agitó una mezcla de intermediario (48) (0,286 g, 0,995 mmol) y TFA (0,9 ml) en DCM (6 ml) a temperatura ambiente durante 30 minutos, después la mezcla de reacción se vertió en K_2CO_3 (disolución acuosa al 10 %) y se extrajo con DCM. La capa orgánica se separó, se lavó con agua, se secó (MgSO_4) y se evaporó hasta secarse para proporcionar el intermediario (49).

- 25 Ejemplo A.13

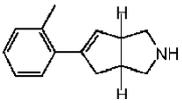
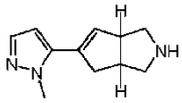
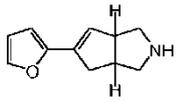
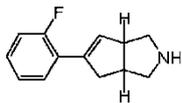
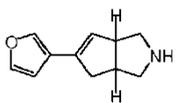
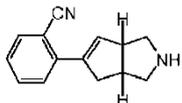
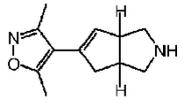
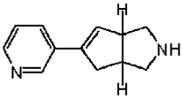
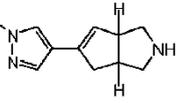
a) Preparación del		(cis)	intermediario (50)
--------------------	---	-------	--------------------

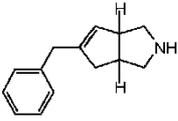
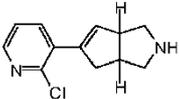
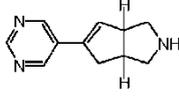
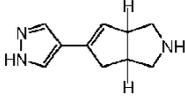
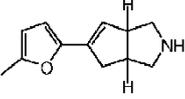
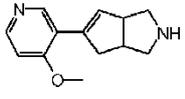
5 Reacción en N₂. Condiciones del microondas: Biotage Initiator 60, 80 °C, 20 minutos. Se purgó una disolución del intermediario (38) (0,45 g, 1,26 mmol) y ácido 2-clorofenilborónico (0,236 g, 1,51 mmol) en K₂CO₃ (2 M, 1,26 ml) y éter dimetílico de etilenglicol (5 ml) con N₂ durante 10 minutos, a continuación, se agregó tetrakis(trifenilfosfina)paladio(0) (0,146 g, 0,126 mmol). La mezcla se irradió siguiendo las condiciones indicadas anteriormente, se enfrió hasta temperatura ambiente, se agregaron agua y DCM, la capa orgánica se separó, se lavó con agua, se secó (MgSO₄) y se evaporó hasta secarse. El residuo se purificó mediante cromatografía líquida preparativa en (gel de sílice 5 µm, 150 x 30,0 mm). Fase móvil (DCM al 100 %). Se recogieron las fracciones deseadas y el disolvente se evaporó para proporcionar el intermediario (50).

b) Preparación de		(cis)	intermediario (51)
-------------------	---	-------	--------------------

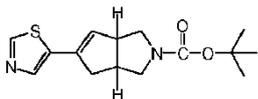
10 Se agitó una mezcla de intermediario (50) (0,3 g, 0,938 mmol) y TFA (0,9 ml) en DCM (6 ml) a temperatura ambiente durante 30 minutos, después la mezcla de reacción se vertió en K₂CO₃ (disolución acuosa al 10 %) y se extrajo con DCM. La capa orgánica se separó, se lavó con agua, se secó (MgSO₄) y se evaporó hasta secarse para proporcionar el intermediario (51).

15 Los siguientes compuestos se prepararon usando el mismo procedimiento que en el Ejemplo A.13 por el cual el ácido 2-clorofenilborónico se reemplazó por ácido 2-metilfenilborónico, éster de pinacol 1-metil-1H-pirazol-5-borónico, ácido furan-2-borónico, ácido 2-fluorofenil-borónico, ácido furan-3-borónico, ácido 2-cianofenilborónico, ácido 5-dimetilisoxazol-4-borónico, ácido piridina-3-borónico, 1-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol, bromuro de bencilcinc, ácido 2-cloropiridina-3-borónico, pinacolato de ácido pirimidil-5-borónico, éster de pinacol de ácido 1-boc-pirazol-4-borónico, ácido 5-metilfuran-2-borónico o ácido 4-metoxi-3-piridinilborónico, respectivamente.

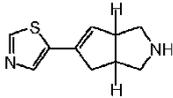
	(cis)		(cis)		(cis)
intermediario (52)		intermediario (53)		intermediario (54)	
	(cis)		(cis)		(cis)
intermediario (55)		intermediario (56)		intermediario (57)	
	(cis)		(cis)		(cis)

intermediario (58)		intermediario (59)		intermediario (60)	
	(cis)		(cis)		(cis)
intermediario (61)		intermediario (62)		intermediario (63)	
	(cis)		(cis)		
intermediario (64)		intermediario (65)		intermediario (66)	

Ejemplo A.14

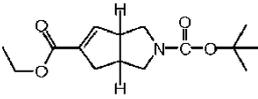
a) Preparación del		(cis)	intermediario (67)
--------------------	---	-------	--------------------

- 5 Se purgaron el intermediario (34) (2,798 mmol), acetato de paladio(II) (Pd al 47 %) (0,14 mmol), K₂CO₃ (4,198 mmol), ácido trimetilacético (0,84 mmol) y tetrafluoroborato de triclorohexilfosfonio (0,196 mmol) con N₂ en un tubo sellado. Se agregaron tiazol (4,198 mmol) y DMA (10 ml) y la mezcla de reacción se calentó a 100 °C durante toda la noche. Se agregaron agua y EtOAc, la capa orgánica se separó, se lavó con agua y salmuera, se secó (MgSO₄) y se evaporó hasta secarse. El residuo obtenido se purificó mediante cromatografía rápida sobre gel de sílice (cartucho de 30 g, 15-40 μm, heptano/EtOAc 80/20 a heptano/EtOAc 60/40). Se recogieron las fracciones puras y se evaporaron hasta secarse para proporcionar el intermediario (67).
- 10

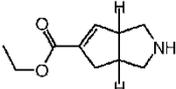
b) Preparación de		(cis)	intermediario (68)
-------------------	---	-------	--------------------

- 15 Se agitó una disolución de intermediario (67) (0,24 g, 0,821 mmol) en TFA (0,8 ml) y DCM (5 ml) a temperatura ambiente durante 30 minutos, después la mezcla de reacción se vertió en K₂CO₃ (disolución acuosa al 10 %) y se extrajo con DCM. La capa orgánica se separó, se lavó con agua, se secó (MgSO₄) y se evaporó hasta secarse para proporcionar 0,1 g del intermediario (68).

Ejemplo A.15

a) Preparación del		(cis)	intermediario (69)
--------------------	---	-------	--------------------

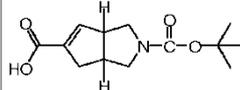
Se agregó Pd(OAc)₂ (1,3 mg, 0,0056 mmol) a una disolución de intermediario (34) (0,1 g, 0,28 mmol), 1,3-bis(difenilfosfino)propano (4,6 mg, 0,011 mmol) y acetato de potasio (0,041 g, 0,42 mmol) en EtOH (0,25 ml) y THF (2 ml) en atmósfera de nitrógeno. La mezcla se agitó a 5 bars de monóxido de carbono a 100 °C durante 18 horas en un autoclave de acero inoxidable para proporcionar el intermediario (69).

b) Preparación de		(cis)	intermediario (70)
-------------------	---	-------	--------------------

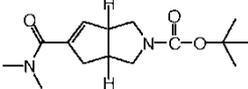
5

Se agitó una disolución de intermediario (69) (0,2 g, 0,711 mmol) en HCl (4M en dioxano) (2 ml) a temperatura ambiente durante 30 minutos, después se evaporó hasta secarse para proporcionar 0,13 g de intermediario (70).

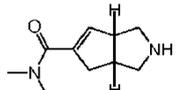
Ejemplo A.16

a) Preparación del		(cis)	intermediario (71)
--------------------	---	-------	--------------------

- 10 Se agregó Pd(OAc)₂ (25 mg, 0,112 mmol) a una disolución de intermediario (34) (2,0 g, 5,6 mmol), 1,3-bis(difenilfosfino)propano (92 mg, 0,22 mmol) y acetato de potasio (0,82 g, 8,4 mmol) en EtOH (5 ml) y THF (40 ml) en atmósfera de nitrógeno, después la mezcla se agitó a 5 bars de monóxido de carbono a 100 °C durante 18 horas en un autoclave de acero inoxidable. La mezcla de reacción se vertió en agua y EtOAc, la capa orgánica se lavó con agua, después con salmuera, se secó (MgSO₄) y se evaporó hasta secarse. El residuo obtenido se purificó mediante cromatografía rápida sobre gel de sílice (15-40 μm, 40 g, Heptano/EtOAc 90/10 a Heptano/EtOAc 70/30). Se recogieron las fracciones puras y se evaporaron hasta secarse para proporcionar 0,61 g de intermediario (71).
- 15

b) Preparación de		(cis)	intermediario (72)
-------------------	---	-------	--------------------

- 20 Se agitó una mezcla de intermediario (71) (0,3 g, 1,18 mmol), dimetilamina en THF (2 M, 1,18 ml, 2,37 mmol), EDCI (0,27 g, 1,42 mmol), HOBt (0,19 g, 6,21 mmol) y trietilamina (0,25 ml, 1,78 mmol) en DCM (3 ml) y THF (3 ml) durante toda la noche a temperatura ambiente. Se agregaron agua y DCM, la capa orgánica se separó, se secó (MgSO₄) y se evaporó hasta secarse para proporcionar 0,37 g del intermediario (72).

c) Preparación de		(cis)	intermediario (73)
-------------------	---	-------	--------------------

- 25 Se agitó una disolución de intermediario (72) (0,37 g, 1,32 mmol) en HCl (4M de dioxano) (4 ml) a temperatura ambiente durante 30 minutos, después la mezcla de reacción se vertió en K₂CO₃ (disolución acuosa al 10 %) y se extrajo con DCM. La capa orgánica se separó, se lavó con agua, se secó (MgSO₄) y se evaporó hasta secarse para proporcionar el intermediario (73).

Ejemplo A.17

a) Preparación del		(cis)	intermediario (74)
--------------------	--	-------	--------------------

- 5 Se agitó una mezcla de intermediario (71) (0,3 g, 1,18 mmol), 1,1,1,3,3,3-hexametildisilazano (0,23 g, 1,42 mmol), EDCI (0,27 g, 1,42 mmol), HOBT (0,19 g, 6,21 mmol) y trietilamina (0,25 ml, 1,78 mmol) en DCM (3 ml) y THF (3 ml) durante toda la noche a temperatura ambiente. Se agregaron agua y DCM, la capa orgánica se separó, se secó (MgSO₄) y se evaporó hasta secarse. El residuo obtenido se purificó mediante cromatografía rápida sobre gel de sílice (15-40µm, 10 g, de CH₂Cl₂ a CH₂Cl₂/CH₃OH/NH₄OH: 94/6/0,1) Se recogieron las fracciones puras y se evaporaron hasta secarse para proporcionar 0,16 g del intermediario (74).

b) Preparación de		(cis)	intermediario (75)
-------------------	--	-------	--------------------

- 10 Se agitó una disolución de intermediario (74) (0,16 g, 0,634 mmol) en HCl (4M en dioxano) (2 ml) a temperatura ambiente durante 30 minutos, después se evaporó hasta secarse para proporcionar 0,1 g de intermediario (75).

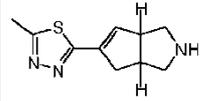
Ejemplo A.18

a) Preparación del		(cis)	intermediario (76)
--------------------	--	-------	--------------------

- 15 Se agitó una disolución de intermediario (34) (0,2 g, 0,56 mmol), bis(pinacolato)diboro (0,171 g, 0,67mmol) y acetato de potasio (0,165 g, 1,68 mmol) en 1,4-dioxano (2 ml) y se desgasificó con N₂ durante 10 minutos. Se agregó 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno-dicloropaladio(II) (0,041 g, 0,056 mmol) y la mezcla de reacción se calentó a 100 °C usando un microondas de modo único (Biotage Initiator EXP 60) con una potencia de salida que varía de 0 a 400 W durante 20 minutos. Se agregaron agua y EtOAc, la capa orgánica se separó, se lavó con agua, después con salmuera, se secó (MgSO₄) y se evaporó hasta secarse. El residuo obtenido se purificó mediante cromatografía rápida sobre gel de sílice (10 g, 15-40 µm, heptano/EtOAc 85/15 a heptano/EtOAc 70/30). Se recogieron las fracciones puras y se evaporaron hasta secarse para proporcionar el intermediario (76).
- 20

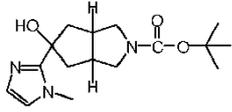
b) Preparación de		(cis)	intermediario (77)
-------------------	--	-------	--------------------

- 25 Se agitó una disolución del intermediario (76) (0,45 g, 1,34 mmol) y 2-bromo-5-metil-1,3,4-tiadiazol (0,288 g, 1,61 mmol) en K₂CO₃ (2 M, 1,34 ml, 2,69 mmol) y éter dimetílico de etilenglicol (5 ml) y se desgasificó con N₂ durante 10 minutos. Se agregó tetrakis(trifenilfosfina)paladio(0) (0,155 g, 0,134 mmol) y la mezcla de reacción se calentó a 150 °C usando un microondas de modo único (Biotage Initiator EXP 60) con una potencia de salida que varía de 0 a 400 W durante 5 minutos. Se agregaron agua y EtOAc, la capa orgánica se separó, se lavó con salmuera, se secó (MgSO₄) y se evaporó hasta secarse. El residuo obtenido se purificó mediante cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (cartucho de 30 g, 15-40 µm, DCM a DCM/MeOH/NH₄OH: 98/2/0,1) Se recogieron las fracciones puras y se evaporaron hasta secarse para proporcionar el intermediario (77).

c) Preparación de		(cis)	intermediario (78)
-------------------	---	-------	--------------------

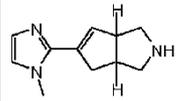
5 Se agitó una disolución de intermediario (77) (0,14 g, 0,455 mmol) en HCl (4M de dioxano) (2 ml) a temperatura ambiente durante 30 minutos, después la mezcla de reacción se vertió en K₂CO₃ acuoso al 10 % y se extrajo con DCM. La capa orgánica se separó, se lavó con agua, se secó (MgSO₄) y se evaporó hasta secarse para proporcionar 81 mg del intermediario (78).

Ejemplo A.19

a) Preparación del		(cis)	intermediario (79)
--------------------	---	-------	--------------------

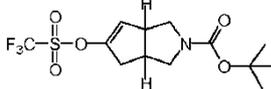
10 Se agregó BuLi (1,6M en hexano) (4,2 ml, 6,66 mmol) por goteo a una disolución de 1-metilimidazol (0,53 ml, 6,66 mmol) en THF (5 ml) en nitrógeno a -78 °C, después la mezcla resultante se agitó durante 1 hora a 0 °C. La mezcla de reacción se enfrió hasta -78 °C, se agregó una disolución de intermediario (5) (1,0 g, 4,44 mmol) en THF (10 ml). La mezcla se agitó a -78°C durante 2 horas, después se dejó que alcanzara temperatura ambiente y se agitó durante toda la noche. Se agregaron agua y EtOAc, la capa orgánica se separó, se lavó con agua y salmuera, se secó (MgSO₄) y se evaporó hasta secarse. El residuo obtenido se purificó mediante cromatografía rápida sobre gel de sílice (15-40 μm, 30 g, de CH₂Cl₂ a CH₂Cl₂/CH₃OH/NH₄OH: 95/5/0,1). Se recogieron las fracciones puras y se evaporaron hasta secarse para proporcionar 0,54 g de intermediario (79).

15

b) Preparación de		(cis)	intermediario (80)
-------------------	---	-------	--------------------

20 Se calentó una mezcla del intermediario (79) (0,54 g, 1,76 mmol) en HCl (37 % en H₂O) (5 ml) en un tubo sellado a 140 °C usando un microondas de modo único (Biotage Initiator EXP 60) con una potencia de salida que varía de 0 a 400 W durante 1 hora. La mezcla de reacción se evaporó hasta secarse para proporcionar 0,47 g del intermediario (80).

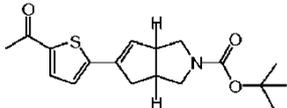
Ejemplo A.20

a) Preparación del		(cis)	intermediario (81)
--------------------	---	-------	--------------------

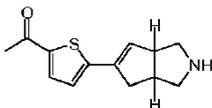
25 La reacción se llevó a cabo en condiciones anhidras en atmósfera de argón y se monitorizó mediante TLC (gel de sílice, éter de petróleo/acetato de etilo 1/1, UV/PMA). Se agregó n-Butilitio, 2,5M en hexanos (4,28 ml, 10,7 mmol) por goteo (5 min) a una disolución de diisopropilamina (1,51 ml, 10,7 mmol) en THF (16 ml) a -20 °C. La mezcla se agitó durante 15 minutos a -20 °C y después se enfrió hasta -78 °C. Se agregó (5 min) una disolución de intermediario (95) (2,00 g, 8,88 mmol) en THF (20 ml) a -78 °C. La mezcla se agitó a -78°C durante 2 horas. Se agregó una disolución de 2-[N,N-bis(trifluorometil-sulfonil)amino]piridina (3,50 g, 9,77 mmol) en THF (12,5 ml) (5 minutos) a -78 °C. A continuación, la mezcla se dejó entibiar hasta temperatura ambiente y se agitó durante 17 horas.

30 La mezcla se calentó a 50 °C durante 4 horas. La mezcla se aplacó mediante adición de cloruro de amonio acuoso

5 saturado (100 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 100 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron (sulfato de sodio), se filtraron y se concentraron. Se agregó diclorometano (50 ml) al residuo obtenido (6,07 g), después la mezcla se retiró por filtración para proporcionar 1,30 g de un sólido blanco. El filtrado se concentró y después se purificó mediante cromatografía en columna rápida sobre gel de sílice (eluyente: éter de petróleo/acetato de etilo 100/0 a 60/40). Se recogieron las fracciones de producto y el disolvente se evaporó para proporcionar 1,02 g del intermediario (81).

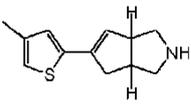
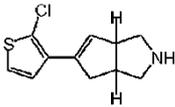
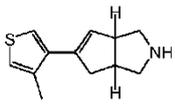
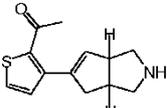
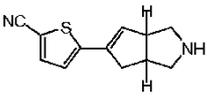
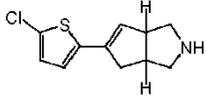
b) Preparación de		(cis)	intermediario (82)
-------------------	---	-------	--------------------

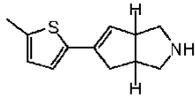
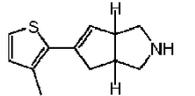
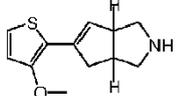
10 La reacción se llevó a cabo en atmósfera de argón y se monitorizó mediante TLC (éter de petróleo/acetato de etilo 8/2, UV/PMA). Se agregaron ácido 5-acetil-2-tienilborónico (0,057 g, 0,336 mmol) y carbonato de potasio acuoso 2M (0,280 ml, 0,560 mmol) a una disolución de intermediario (81) (0,100 g, 0,280 mmol) en 1,2-dimetoxietano (5 ml). La mezcla se purgó con argón y se agregó tetrakis(trifenilfosfina)paladio (0) (0,032 g, 0,028 mmol). A continuación, la mezcla se calentó a 80 °C durante toda la noche. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente y después se agregaron agua (10 ml) y acetato de etilo (10 ml). La capa orgánica se separó, se lavó con agua (10 ml) y con salmuera (10 ml), se secó (sulfato de sodio), se filtró y se evaporó hasta secarse al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente: éter de petróleo/acetato de etilo 8/2). Se recogieron las fracciones deseadas y el disolvente se evaporó para proporcionar 0,076 g del intermediario (82).

c) Preparación de		(cis)	intermediario (83)
-------------------	---	-------	--------------------

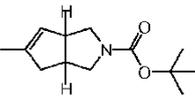
20 La reacción se llevó a cabo en condiciones anhidras, en atmósfera de argón y se monitorizó mediante TLC (gel de sílice, diclorometano/metanol 9/1, UV). Se cloruro de hidrógeno, 4M en dioxano (3,33 ml, 13,3 mmol) a una disolución del intermediario (82) (0,444 g, 1,33mmol) en dioxano (9 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 70 horas y después se concentró hasta secarse para proporcionar 0,370 g de intermediario (83).

25 Los siguientes compuestos se prepararon usando el mismo procedimiento que en el Ejemplo A.20b/ A.20c en el cual el ácido 5-acetil-2-tienilborónico se reemplazó por ácido 4-metil-tiofeno-2-borónico, ácido 2-clorotiofeno-3-borónico, ácido 4-metil-3-tiofeno-borónico, ácido 2-acetil-3-tiofenoborónico, ácido 5-cianotiofeno-2-borónico, ácido 5-clorotiofeno-2-borónico, éster de pinacol de ácido 5-metil-tiofeno-2-borónico, éster de pinacol de ácido 3-metil-tiofeno-2-borónico o éster de pinacol de ácido 3-metoxitiofeno-2-borónico, respectivamente.

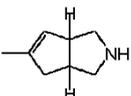
	(cis)		(cis)		(cis)
intermediario (84)		intermediario (85)		intermediario (86)	
	(cis)		(cis)		(cis)

intermediario (87)		intermediario (88)		intermediario (89)	
	(cis)		(cis)		(cis)
intermediario (90)		intermediario (91)		intermediario (92)	

Ejemplo A.21

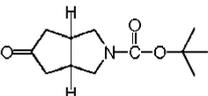
a) Preparación del		(cis)	intermediario (93)
--------------------	---	-------	--------------------

- 5 La reacción se llevó a cabo en condiciones anhidras, en atmósfera de argón y se monitorizó mediante TLC (gel de sílice, eluyente: éter de petróleo/acetato de etilo 9/1, PMA). Se agregó metilitio 1,6M en éter dietílico (3,29 ml, 5,26 mmol) a una suspensión de yoduro de cobre(I) (0,794 g, 4,17 mmol) en THF (5,0 ml) a 0 °C. Después de 1 hora, se agregó una disolución de intermediario (81) (0,355 g, 0,993 mmol) en THF (2,1 ml) a 0 °C mediante una cánula, se enjuagó con THF (2,1 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. La mezcla se aplacó con una disolución acuosa saturada de NH₄Cl (14 ml) y se evaporó hasta secarse. El residuo se purificó mediante
- 10 cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente: pentano/acetato de etilo 95/5). Se recogieron las fracciones de producto y el disolvente se evaporó para proporcionar 0,180 g del intermediario (93).

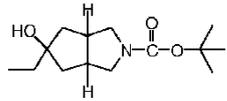
b) Preparación de		(cis)	intermediario (94)
-------------------	---	-------	--------------------

- 15 La reacción se llevó a cabo en condiciones anhidras, en atmósfera de argón y se monitorizó mediante TLC (gel de sílice, eluyente: éter de petróleo/acetato de etilo 9/1, PMA). Se agregó cloruro de hidrógeno 4M en dioxano (2,02 ml, 8,06 mmol) a una disolución de intermediario (93) (0,180 g, 0,806 mmol) en 1,4-dioxano (4,3 ml), la disolución se agitó a temperatura ambiente durante 65 horas y después se concentró hasta secarse para proporcionar 0,141 g de intermediario (94) (110 %).

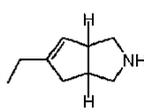
Ejemplo A.22

a) Preparación del		(cis)	intermediario (95)
--------------------	---	-------	--------------------

- 20 La hidrogenación se llevó a cabo en condiciones anhidras y se monitorizó mediante TLC (gel de sílice, éter de petróleo/acetato de etilo 50/50, desarrollador: UV/PMA). Se hidrogenó una disolución de intermediario (4) (6,93 g, 31,0 mmol) en THF (180 ml) a temperatura ambiente (presión atmosférica) con Paladio sobre carbono, carga al 10 %p. (1,65 g) como catalizador durante 15 horas. El catalizador se retiró por filtración en clarcel, la torta del filtro se enjuagó con diclorometano (50 ml) y los filtrados combinados se concentraron a presión reducida hasta secarse.
- 25 El residuo obtenido (7,26 g) se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente: éter de petróleo/acetato de etilo 80/20 a 50/50). Se recogieron las fracciones de producto y el disolvente se evaporó para proporcionar 6,70 g del intermediario (95).

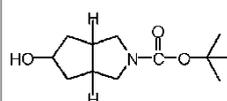
b) Preparación de		(cis)	intermediario (96)
-------------------	---	-------	--------------------

- 5 La reacción se llevó a cabo en condiciones anhidras, en atmósfera de argón y se monitorizó mediante TLC (gel de sílice, eluyente: éter de petróleo/acetato de etilo 6/4, DCIP). Se agregó complejo de tricloruro de lantano-litio 0,6M en THF (3,70 ml, 2,22 mmol) a una disolución del intermediario (95) (0,500 g, 2,22 mmol) en THF (15 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, después se enfrió hasta 0 °C. Se agregó disolución de bromuro de etilmagnesio, 1,0M en THF (2,66 ml, 2,66 mmol) por goteo y la mezcla de reacción se dejó entibiar hasta temperatura ambiente y se agitó durante 18 horas. La mezcla se aplacó mediante adición de NH₄Cl acuoso saturado (50 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron. El residuo obtenido (0,635 g) se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente: éter de petróleo/acetato de etilo 9/1 a 7/3). Se recogieron las fracciones producto y el disolvente se evaporó. El residuo obtenido (0,410 g) se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente: éter de petróleo/acetato de etilo 8/2). Se recogieron las fracciones de producto y el disolvente se evaporó para proporcionar 0,235 g del intermediario (96).

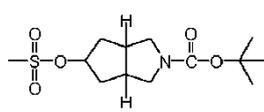
c) Preparación de		(cis)	intermediario (97)
-------------------	--	-------	--------------------

- 15 La reacción se llevó a cabo en condiciones anhidras, en atmósfera de argón y se monitorizó mediante 1H NMR. Se agregó HCl en dioxano (4 M, 2,30 ml, 9,20 mmol) a una disolución del intermediario (96) (0,235 g, 0,920 mmol) en dioxano (2 ml). La mezcla de reacción se agitó a 60 °C durante 18 horas. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, el precipitado se retiró por filtración sobre un filtro de vidrio poroso y se lavó con éter dietílico (20 ml) para proporcionar 0,126 g de sólido. El filtrado se concentró hasta secarse para proporcionar 0,077 g de residuo. El sólido y el residuo se combinaron y disolvieron en dioxano (2 ml). Se agregó 4M HCl en dioxano (2,30 ml, 9,20 mmol) y la mezcla se agitó a 60 °C durante 24 horas, después a 100 °C durante 72 horas. La mezcla de reacción se concentró hasta secarse para proporcionar 0,158 g del intermediario (97).

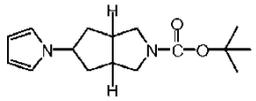
Ejemplo A.23

a) Preparación del		(cis)	intermediario (98)
--------------------	---	-------	--------------------

- 25 La reacción se llevó a cabo en condiciones anhidras, en atmósfera de argón y se monitorizó mediante TLC (gel de sílice, eluyente: éter de petróleo/acetato de etilo 1/1, PMA). Se agregó borohidruro de sodio (0,893 g, 23,6 mmol) en porción durante un período de 30 minutos a una disolución de intermediario (95) (2,66 g, 11,8 mmol) en MeOH (60 ml) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 1 hora y después se concentró hasta secarse. El residuo se diluyó con acetato de etilo (200 ml) y se lavó con agua (100 ml), ácido clorhídrico acuoso 1M (100 ml) y salmuera (100 ml). La capa orgánica se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró para proporcionar 2,27 g del intermediario (98).

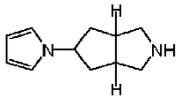
b) Preparación de		(cis)	intermediario (99)
-------------------	---	-------	--------------------

5 La reacción se llevó a cabo en condiciones anhidras, en atmósfera de argón y se monitorizó mediante TLC (gel de sílice, eluyente: éter de petróleo/acetato de etilo 1/1, PMA). Se agregó cloruro de metanosulfonilo (0,930 ml, 11,9 mmol) por goteo a una disolución del intermediario (98) (2,27 g, 9,98 mmol) y trietilamina (4,17 ml, 29,9 mmol) en DCM (50 ml) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora y se concentró hasta secarse. El residuo se diluyó en acetato de etilo (200 ml) y se lavó con agua (100 ml), salmuera (100 ml), ácido clorhídrico acuoso 1M (100 ml) y salmuera (100 ml) nuevamente. La capa orgánica se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró. El residuo obtenido (2,52 g) se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente: éter de petróleo/acetato de etilo, 8/2 a 5/5). Se recogieron las fracciones de producto y el disolvente se evaporó para proporcionar 2,39 g del intermediario (99).

c) Preparación de		(cis)	intermediario (100)
-------------------	---	-------	---------------------

10

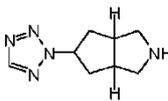
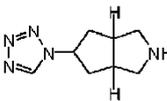
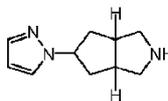
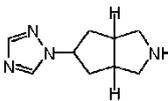
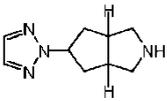
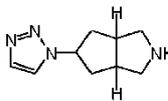
15 La reacción se llevó a cabo en condiciones anhidras, en atmósfera de argón y se monitorizó mediante TLC (sílice gel, eluyente: éter de petróleo/acetato de etilo, 8/2, ninhidrina/PMA). Se disolvió el intermediario (99) (0,300 g, 0,982 mmol) en DMF (3 ml) y la mezcla se enfrió hasta 0 °C. Se agregaron pirrol (0,102 ml, 1,47 mmol) e hidruro de sodio, dispersión al 60 % en aceite mineral (0,0589 g, 1,47 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo (50 ml) y se lavó con agua (2 x 50 ml), después con salmuera (3 x 50 ml). La capa orgánica se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró. El residuo obtenido (0,290 g) se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente: éter de petróleo/acetato de etilo, 98/2 a 95/5, después 90/10). Se recogieron las fracciones de producto y el disolvente se evaporó para proporcionar 0,175 g del intermediario (100).

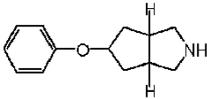
d) Preparación de		(cis)	intermediario (101)
-------------------	---	-------	---------------------

20

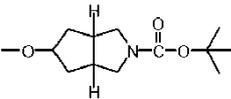
La reacción se llevó a cabo en condiciones anhidras, en atmósfera de argón y se monitorizó mediante TLC (gel de sílice, eluyente: éter de petróleo/acetato de etilo 6/4, PMA). Se agregó HCl 4M en dioxano (1,58 ml, 6,33 mmol) a una disolución del intermediario (100) (0,175 g, 0,633 mmol) en dioxano (3 ml). La mezcla de reacción se agitó a 50 °C durante 2 horas y se concentró hasta secarse para proporcionar 0,135 g de intermediario (101).

25 Los siguientes compuestos se prepararon usando el mismo procedimiento que en el Ejemplo A.23c/ A.23d por el cual el pirrol se reemplazó por tetrazol, pirazol, 1,2,4-triazol, 1,2,3-triazol o fenol, respectivamente.

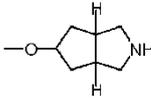
	(cis)		(cis)		(cis)
intermediario (102)		intermediario (103)		intermediario (104)	
	(cis)		(cis)		(cis)
intermediario (105)		intermediario (106)		intermediario (107)	

	(cis)	
intermediario (108)		

Ejemplo A.24

a) Preparación del		(cis)	intermediario (109)
--------------------	---	-------	---------------------

- 5 La reacción se llevó a cabo en condiciones anhidras, en atmósfera de argón y se monitorizó mediante TLC (sílice gel, eluyente: éter de petróleo/acetato de etilo, 8/2, ninhidrina/PMA). Se agregó disolución de metóxido de sodio al 25 %p. en metanol (0,449 ml, 1,96 mmol) a una disolución del intermediario (99) (0,300 g, 0,982 mmol) en MeOH (4 ml). La mezcla agitó en reflujo durante 20 horas. La mezcla de reacción se concentró hasta secarse. El residuo se diluyó con acetato de etilo (50 ml) y se lavó con agua (50 ml), después con salmuera (50 ml). La capa orgánica se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró. El residuo obtenido se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente: éter de petróleo/acetato de etilo, 100/0 a 97/3, después 1/1). Se recogieron las fracciones de producto y el disolvente se evaporó para proporcionar 0,182 g del intermediario (109).
- 10

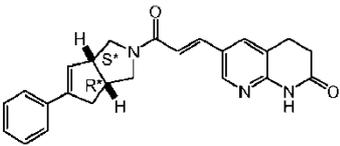
b) Preparación de		(cis)	intermediario (110)
-------------------	---	-------	---------------------

- 15 La reacción se llevó a cabo en condiciones anhidras, en atmósfera de argón y se monitorizó mediante TLC (sílice gel, eluyente: éter de petróleo/acetato de etilo, 8/2, ninhidrina/PMA). Se agregó HCl 4M en dioxano (1,88 ml, 7,54 mmol) a una disolución del intermediario (109) (0,182 g, 0,754 mmol) en dioxano (4 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas, después a 50 °C durante 2 horas. La mezcla de reacción se concentró hasta secarse para proporcionar 0,139 g del intermediario (110).

Algunos compuestos intermediarios usados en la preparación de los compuestos finales están disponibles comercialmente como tal.

20 B. Síntesis de los compuestos finales

Ejemplo B.1

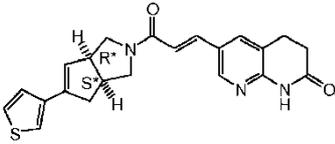
Preparación de		compuesto (14)
----------------	---	----------------

Se agitó una mezcla de intermediario (3) (9,4 g, 36,9 mmol), intermediario (9) (8,2 g, 44,3 mmol), EDCI (8,5 g, 44,3 mmol), hidroxibenzotriazol (6,0 g, 44,3 mmol) y trietilamina (15,4 ml, 0,111 mmol) en CH₂Cl₂ (160 ml) y THF (160 ml)

durante toda la noche a temperatura ambiente. Se agregó agua (175 ml), el precipitado se retiró por filtración, se lavó con agua/EtOH (50 ml). El sólido se suspendió en EtOH (50 ml) y se agitó durante 15 minutos. La suspensión resultante se retiró por filtración y se secó al vacío 70 °C para proporcionar 7,3 g de compuesto (14) como un polvo blanco (mp = 266 °C), ($[\alpha]_D^{20} = -105,1^\circ$ (589 nm, c 0,1275 p/v %, CH₂Cl₂, 20 °C).

- 5 ¹H RMN (500MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) 10,64 (d, *J* = 7,6 Hz, 1 H), 8,33 (dd, *J* = 1,7, 9,6 Hz, 1 H), 8,04 (d, *J* = 17,3 Hz, 1 H), 7,48 (d, *J* = 7,6 Hz, 2 H), 7,31 - 7,42 (m, 3 H), 7,23 - 7,28 (m, 1 H), 6,99 (t, *J* = 15,0 Hz, 1 H), 6,20 (d, *J* = 6,0 Hz, 1 H), 3,38 - 4,04 (m, 5 H), 3,09 - 3,21 (m, 1 H), 2,85 - 3,04 (m, 3 H), 2,55 - 2,67 (m, 3 H).

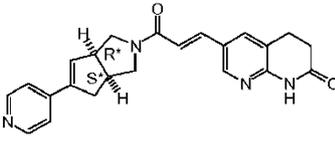
Ejemplo B.2

Preparación de		compuesto (44)
----------------	---	----------------

- 10 Se agitó una disolución de intermediario (14) (5,8 g, 30,32 mmol), intermediario (3) (7,72 g, 30,32 mmol), 1-hidroxibenzotriazol (4,92 g, 36,38 mmol), EDCI (6,97 g, 36,38 mmol) y trietilamina (14,71 ml, 106,12 mmol) en CH₂Cl₂ (100 ml) y THF (100 ml) durante toda la noche a temperatura ambiente. La mezcla se vertió en agua. El precipitado se retiró por filtración y se lavó dos veces con EtOH y se secó al vacío a 65 °C. Este precipitado se cristalizó a partir de EtOH, se retiró por filtración y se secó al vacío 62 °C para proporcionar 9,02 g de compuesto (44)
- 15 como un polvo blanco (mp = 264 °C), ($[\alpha]_D^{20} = +170,12^\circ$ (589 nm, c 0,2075 p/v %, CH₂Cl₂, 20 °C).

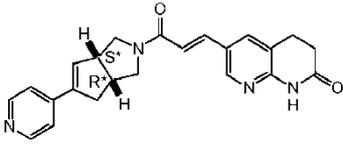
¹H RMN (400MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) 10,63 (d, *J* = 4,5 Hz, 1 H), 8,32 (d, *J* = 5,1 Hz, 1 H), 8,03 (d, *J* = 10,6 Hz, 1 H), 7,52 (dd, *J* = 2,8, 4,8 Hz, 1 H), 7,41 (s a, 1 H), 7,36 (dd, *J* = 4,8, 9,3 Hz, 2 H), 6,98 (dd, *J* = 9,1, 15,7 Hz, 1 H), 6,01 (s a, 1 H), 3,35 - 4,03 (m, 5 H), 2,94 - 3,21 (m, 2 H), 2,90 (q, *J* = 7,9 Hz, 3 H), 2,52 - 2,62 (m, 2 H).

Ejemplo B.3

Preparación de		compuesto (40)
----------------	---	----------------

- 20
- 25 Se agitó una disolución de intermediario (19) (21,1 g, 81,4 mmol), intermediario (3) (17,3 g, 67,8 mmol), 1-hidroxibenzotriazol (11,0 g, 81,4 mmol), EDCI (15,6 g, 81,4 mmol) y trietilamina (47 ml, 0,339 mmol) en CH₂Cl₂ (350 ml) y THF (350 ml) durante toda la noche a temperatura ambiente. Se agregó agua a la mezcla. El precipitado se retiró por filtración, se lavó con agua/EtOH, después EtOH y se secó a 70 °C al vacío para proporcionar 12,7 g de compuesto (40) como un polvo blanco (mp = 271 °C), ($[\alpha]_D^{20} = +116,08^\circ$ (589 nm, c 0,2145 p/v %, CH₂Cl₂, 20 °C)).

¹H RMN (400MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) 10,63 (d, *J* = 5,1 Hz, 1 H), 8,52 (d, *J* = 5,6 Hz, 2 H), 8,33 (d, *J* = 6,1 Hz, 1 H), 8,03 (d, *J* = 13,6 Hz, 1 H), 7,41 - 7,46 (d, *J* = 15,7 Hz, 2 H), 7,38 (d, *J* = 4,0 Hz, 1 H), 6,98 (dd, *J* = 11,6, 15,7 Hz, 1 H), 6,53 (d, *J* = 8,1 Hz, 1 H), 3,37 - 4,04 (m, 5 H), 2,86 - 3,22 (m, 5 H), 2,58 - 2,70 (m, 2 H).

	compuesto (41)
---	----------------

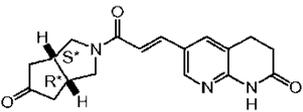
- 30 El compuesto (41) se preparó de manera análoga al hacer reaccionar el intermediario (20) con el intermediario (3) siguiendo el mismo procedimiento.

ES 2 721 658 T3

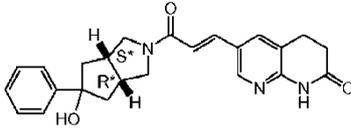
^1H RMN (500MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 10,63 (d, $J = 5,1$ Hz, 1 H), 8,52 (d, $J = 5,6$ Hz, 2 H), 8,33 (d, $J = 6,1$ Hz, 1 H), 8,03 (d, $J = 13,6$ Hz, 1 H), 7,41 - 7,46 (d, $J = 15,7$ Hz, 2 H), 7,38 (d, $J = 4,0$ Hz, 1 H), 6,98 (dd, $J = 11,6, 15,7$ Hz, 1 H), 6,53 (d, $J = 8,1$ Hz, 1 H), 3,37 - 4,04 (m, 5 H), 2,86 - 3,22 (m, 5 H), 2,58 - 2,70 (m, 2 H).

($[\alpha]_D^{20} = -115,85^\circ$ (589 nm, c 0,183 p/v %, CH_2Cl_2 , 20°C)).

5 Ejemplo B.4

a) Preparación del		intermediario (111)
--------------------	---	---------------------

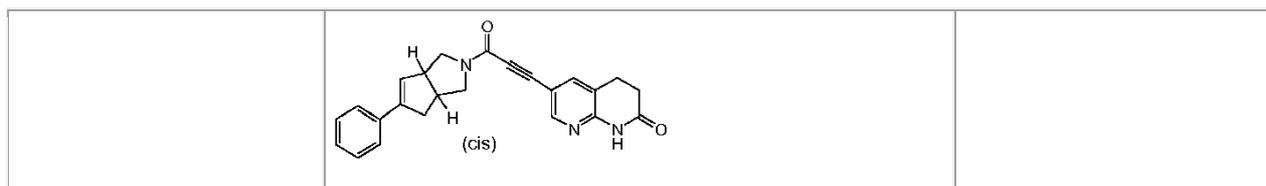
La reacción se llevó a cabo en atmósfera de Ar y se monitorizó mediante TLC (gel de sílice, CH_2Cl_2 /metanol/trietilamina 95/5/0,1, UV/PMA). Se agregó 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (.HCl) (1,70 g, 8,87 mmol) a una mezcla de intermediario (3) (2,02 g, 7,39 mmol), cis hexahidro-ciclopenta[c]pirrol-5(1H)ona bruta (1,85 g, máximo de 8,89 mmol), monohidrato de 1-hidroxibenzotriazol (1,36 g, 8,87 mmol) y *N*-etil-diisopropilamina (6,32 ml, 36,9 mmol) en DMF (75 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche durante 18 horas. La mezcla se concentró a presión reducida, se diluyó con diclorometano (150 ml) y se lavó con NaHCO_3 acuoso saturado (100 ml). La capa acuosa se extrajo nuevamente con diclorometano (2 x 150 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (400 ml), se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y se concentraron a presión reducida hasta secarse. El residuo obtenido se purificó mediante cromatografía en columna rápida sobre gel de sílice (eluyente: diclorometano/metanol, 100/0 a 94/6). Se recogieron las fracciones producto y el disolvente se evaporó. Las capas acuosas básicas se extrajeron nuevamente con diclorometano (3 x 300 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (900 ml), se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y se concentraron a presión reducida hasta secarse. El residuo obtenido se purificó mediante cromatografía en columna rápida sobre gel de sílice (eluyente: diclorometano/metanol, 100/0 a 94/6). Se recogieron las fracciones producto y el disolvente se evaporó. Los residuos deseados se combinaron para proporcionar 1,58 g del intermediario (111).

b) Preparación de		compuesto (71)
-------------------	---	----------------

La reacción se llevó a cabo en condiciones anhidras, en atmósfera de argón y se monitorizó mediante TLC (gel de sílice, diclorometano/metanol 95/5, UV/PMA). Se agregó complejo de tricloruro de lantano-cloruro de litio 0,6M en THF (2,38 ml, 1,43 mmol) a una suspensión del intermediario (111) (0,464 g, 1,43 mmol) en THF (18 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, después se enfrió hasta 0°C . Se agregó disolución de bromuro de fenilmagnesio, 1,0M en THF (3,57 ml, 3,57 mmol) por goteo. La mezcla de reacción se agitó y se dejó entibiar hasta temperatura ambiente durante 3 días. Se agregó disolución de bromuro de fenilmagnesio adicional, 1,0M en THF (2,85 ml, 2,85 mmol, 2 equivalentes) por goteo. La mezcla se agitó a temperatura ambiente 2 días adicionales. La mezcla se aplacó mediante adición de cloruro de amonio acuoso saturado (30 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 30 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y se concentraron a presión reducida hasta secarse. El residuo obtenido (0,801 g) se purificó mediante cromatografía en columna rápida sobre gel de sílice (eluyente: CH_2Cl_2 /MeOH 100/0 a 95/5). Se disolvió el disolvente de las fracciones de producto recogidas. El residuo se trituró con éter dietílico (2 x 3 ml), y después se secó al vacío para proporcionar 0,077 g de compuesto (71).

35 Ejemplo B.5

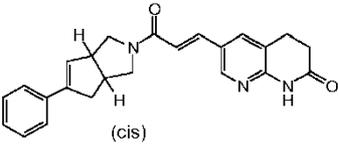
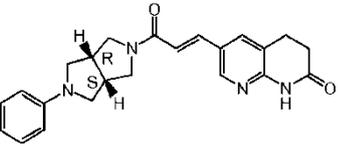
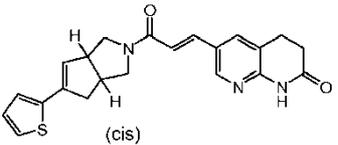
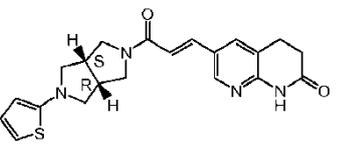
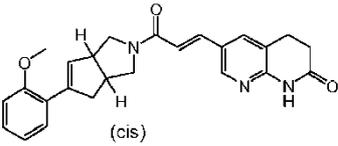
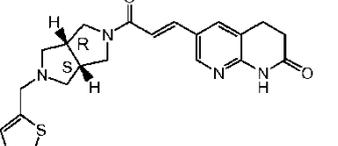
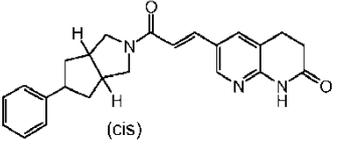
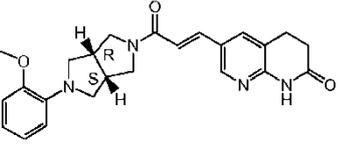
Preparación de		compuesto (73)
----------------	--	----------------

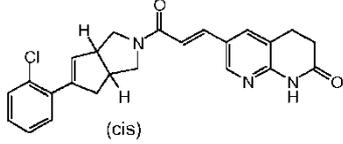
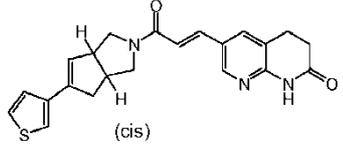
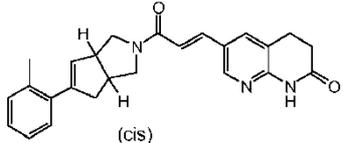
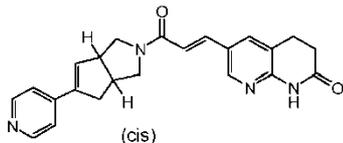
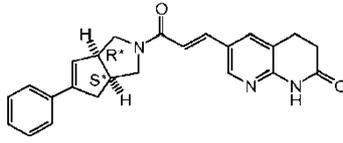
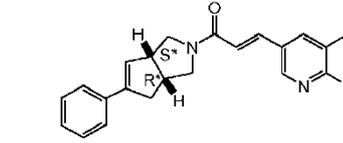
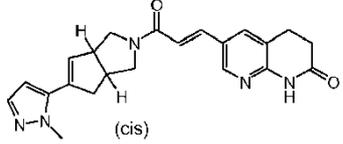
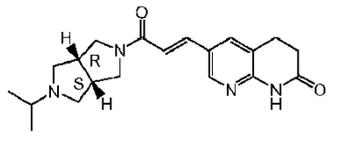
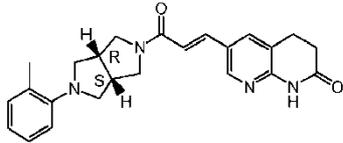
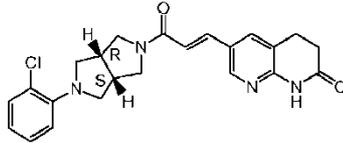
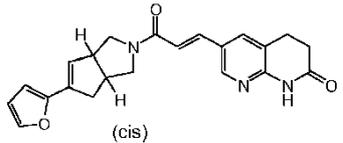
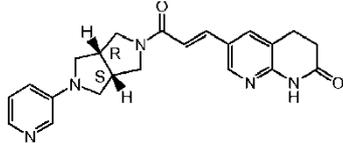


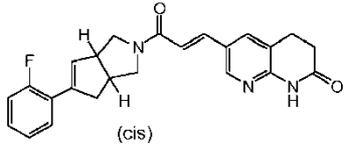
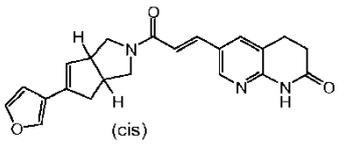
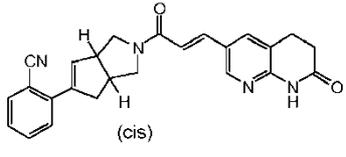
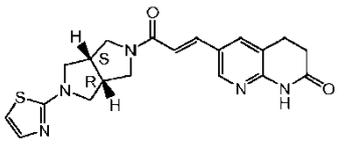
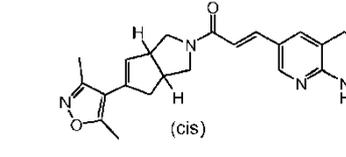
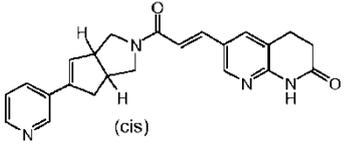
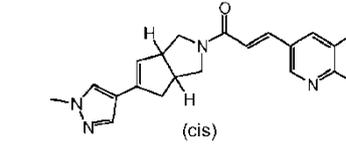
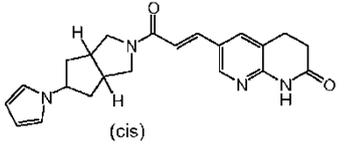
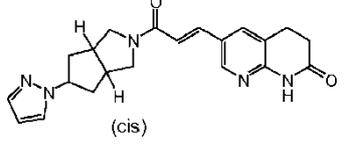
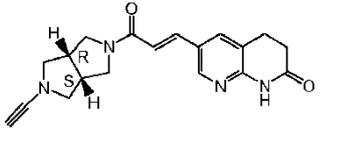
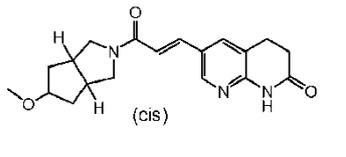
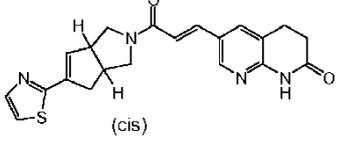
5

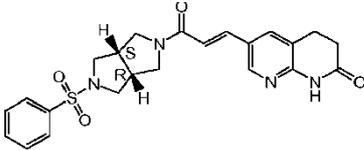
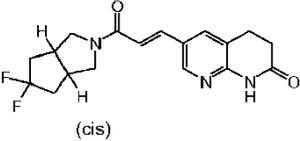
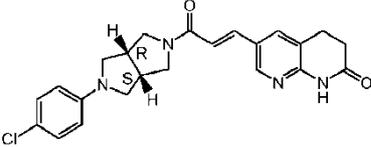
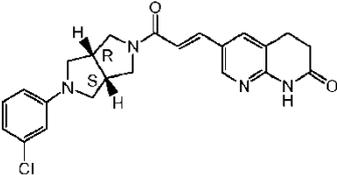
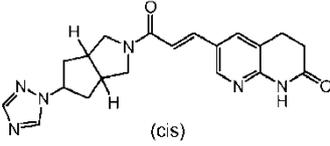
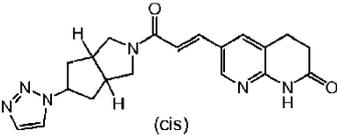
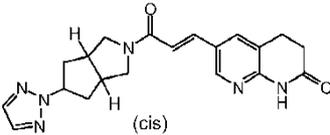
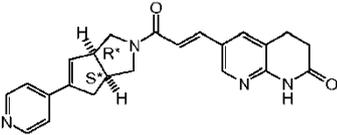
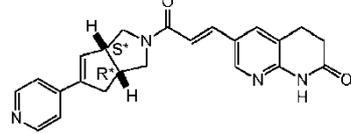
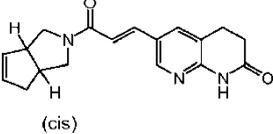
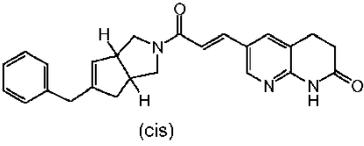
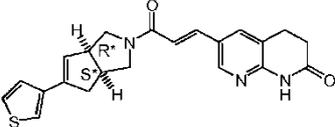
Se agitó una mezcla de intermediario (23) (0,032 g, 0,097 mmol), intermediario (8) (0,032 g, 0,145 mmol), EDCI (0,022 g, 0,0116 mmol), HOBT (0,016 g, 0,116 mmol) y trietilamina (0,049 ml, 0,349 mmol) en DCM (1 ml) y THF (1 ml) durante toda la noche a temperatura ambiente. Se agregó agua, la mezcla se extrajo con DCM, la capa orgánica se separó, se lavó con agua, se secó (MgSO_4) y se evaporó hasta secarse. El residuo se cristalizó a partir de EtOH, el sólido se retiró por filtración, se lavó con EtOH y se secó (vacío a 70 °C) para proporcionar 0,015 g de compuesto (73). La Tabla F-1 reúne los compuestos que se prepararon según uno de los Ejemplos indicados anteriormente.

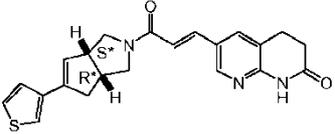
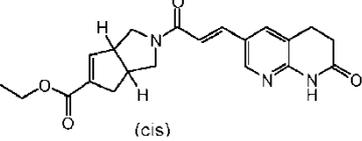
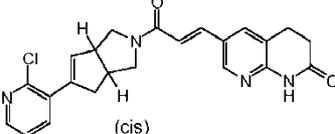
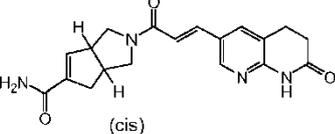
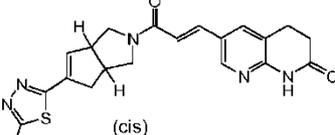
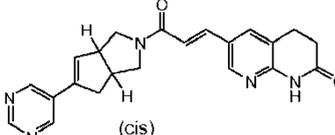
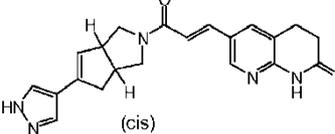
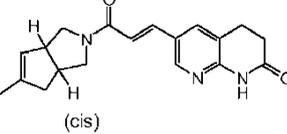
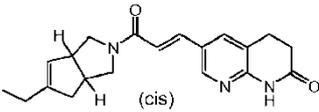
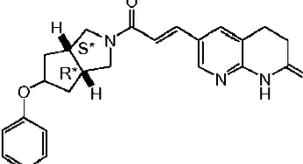
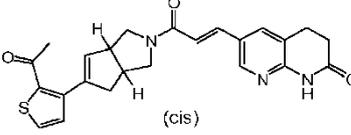
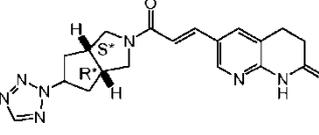
Tabla F-1

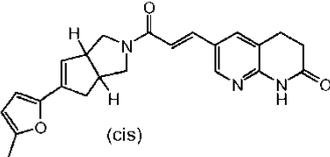
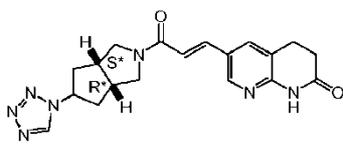
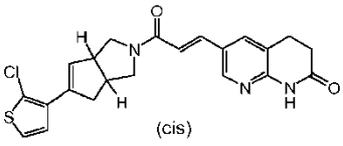
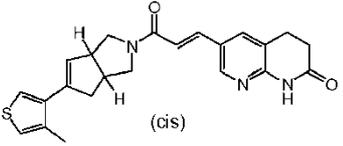
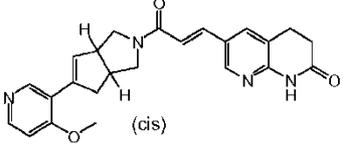
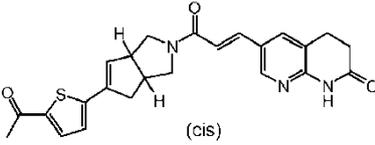
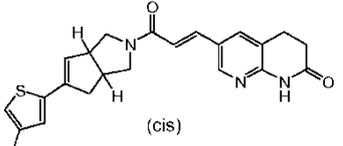
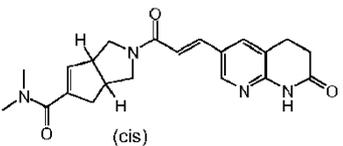
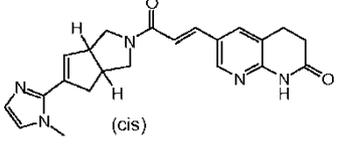
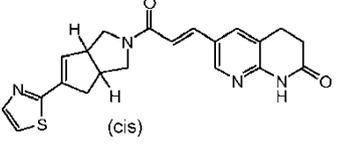
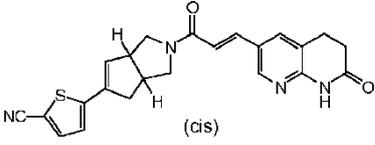
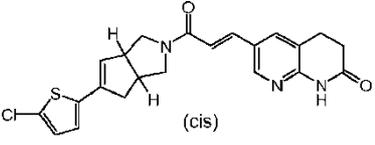
 (cis)	
Co. n.º 1; Ej. B.1	Co. n.º 2; Ej. B.1
 (cis)	
Co. n.º 3; Ej. B.1	Co. n.º 4; Ej. B.1
 (cis)	
Co. n.º 5; Ej. B.1	Co. n.º 6; Ej. B.1
 (cis)	
Co. n.º 7; Ej. B.1	Co. n.º 8; Ej. B.1

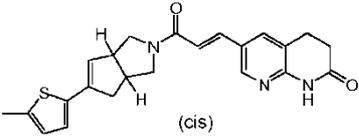
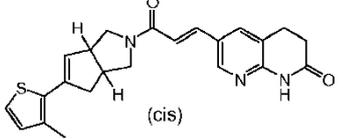
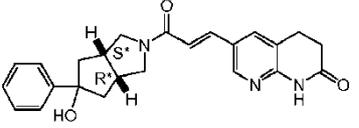
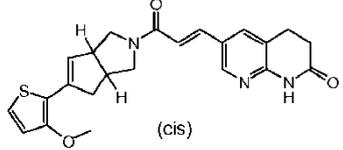
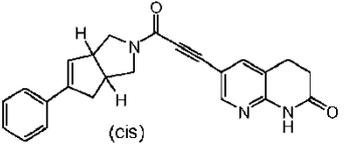
 <p>(cis)</p>	 <p>(cis)</p>
Co. n.º 9; Ej. B.1	Co. n.º 10; Ej. B.1
 <p>(cis)</p>	 <p>(cis)</p>
Co. n.º 11; Ej. B.1	Co. n.º 12; Ej. B.1
	
Co. n.º 13; Ej. B.1; $[\alpha]_D^{20} = +104,17^\circ$ (589 nm, c = 0,096 p/v %, CH ₂ Cl ₂ , 20 °C)	Co. n.º 14; Ej. B.1
 <p>(cis)</p>	
Co. n.º 15; Ej. B.1	Co. n.º 16; Ej. B.1
	
Co. n.º 17; Ej. B.1	Co. n.º 18; Ej. B.1
 <p>(cis)</p>	
Co. n.º 19; Ej. B.1	Co. n.º 20; Ej. B.1

 <p>(cis)</p>	 <p>(cis)</p>
<p>Co. n.º 21; Ej. B.1</p>	<p>Co. n.º 22; Ej. B.1</p>
 <p>(cis)</p>	 <p>(cis)</p>
<p>Co. n.º 23; Ej. B.1</p>	<p>Co. n.º 24; Ej. B.1</p>
 <p>(cis)</p>	 <p>(cis)</p>
<p>Co. n.º 25; Ej. B.1</p>	<p>Co. n.º 26; Ej. B.1</p>
 <p>(cis)</p>	 <p>(cis)</p>
<p>Co. n.º 27; Ej. B.1</p>	<p>Co. n.º 28; Ej. B.1</p>
 <p>(cis)</p>	 <p>(cis)</p>
<p>Co. n.º 29; Ej. B.1</p>	<p>Co. n.º 30; Ej. B.1</p>
 <p>(cis)</p>	 <p>(cis)</p>
<p>Co. n.º 31; Ej. B.1</p>	<p>Co. n.º 32; Ej. B.1</p>

	
<p>Co. n.° 33; Ej. B.1</p>	<p>Co. n.° 34; Ej. B.1</p>
	
<p>Co. n.° 35; Ej. B.1</p>	<p>Co. n.° 36; Ej. B.1</p>
	
<p>Co. n.° 37; Ej. B.1</p>	<p>Co. n.° 38; Ej. B.1</p>
	
<p>Co. n.° 39; Ej. B.1</p>	<p>Co. n.° 40; Ej. B.3</p>
	
<p>Co. n.° 41; Ej. B.3</p>	<p>Co. n.° 42; Ej. B.1</p>
	
<p>Co. n.° 43; Ej. B.1</p>	<p>Co. n.° 44; Ej. B.2</p>

	 <p>(cis)</p>
<p>Co. n.º 45; Ej. B.1; $[\alpha]_D^{20} = -161,79^\circ$ (589 nm, c = 2015 p/v %, CH₂Cl₂, 20 °C)</p>	<p>Co. n.º 46; Ej. B.1</p>
 <p>(cis)</p>	 <p>(cis)</p>
<p>Co. n.º 47; Ej. B.1</p>	<p>Co. n.º 48; Ej. B.1</p>
 <p>(cis)</p>	 <p>(cis)</p>
<p>Co. n.º 49; Ej. B.1</p>	<p>Co. n.º 50; Ej. B.1</p>
 <p>(cis)</p>	 <p>(cis)</p>
<p>Co. n.º 51; Ej. B.1</p>	<p>Co. n.º 52; Ej. B.1</p>
 <p>(cis)</p>	
<p>Co. n.º 53; Ej. B.1</p>	<p>Co. n.º 54; Ej. B.1</p>
 <p>(cis)</p>	
<p>Co. n.º 55; Ej. B.1</p>	<p>Co. n.º 56; Ej. B.1</p>

 <p>(cis)</p>	
<p>Co. n.° 57; Ej. B.1</p>	<p>Co. n.° 58; Ej. B.1</p>
 <p>(cis)</p>	 <p>(cis)</p>
<p>Co. n.° 59; Ej. B.1</p>	<p>Co. n.° 60; Ej. B.1</p>
 <p>(cis)</p>	 <p>(cis)</p>
<p>Co. n.° 61; Ej. B.1</p>	<p>Co. n.° 62; Ej. B.1</p>
 <p>(cis)</p>	 <p>(cis)</p>
<p>Co. n.° 63; Ej. B.1</p>	<p>Co. n.° 64; Ej. B.1</p>
 <p>(cis)</p>	 <p>(cis)</p>
<p>Co. n.° 65; Ej. B.1</p>	<p>Co. n.° 66; Ej. B.1</p>
 <p>(cis)</p>	 <p>(cis)</p>

Co. n.º 67; Ej. B.1	Co. n.º 68; Ej. B.1
 <p>(cis)</p>	 <p>(cis)</p>
Co. n.º 69; Ej. B.1	Co. n.º 70; Ej. B.1
	 <p>(cis)</p>
Co. n.º 71; Ej. B.4	Co. n.º 72; Ej. B.1
 <p>(cis)</p>	
Co. n.º 73; Ej. B.5	

C. Identificación de compuesto

C1. LCMS

Para la caracterización por LCMS de los compuestos de la presente invención se usaron los siguientes métodos.

5 Procedimiento general A

La medición por LC se llevó a cabo mediante el uso de un sistema de UPLC (cromatografía líquida de ultrarrendimiento) Acquity (Waters) que comprende una bomba binaria con desgasificador, un automuestreador, un detector de matriz de diodos (DAD, por sus siglas en inglés) y una columna, según se especifica en los métodos respectivos más adelante, la columna se mantiene a una temperatura de 40 °C. El flujo de la columna se llevó a un detector de MS. El detector de MS se configuró con una fuente de ionización por electropulverización. La tensión de la aguja capilar fue de 3 kV y la temperatura de la fuente se mantuvo a 130°C en el Quattro (espectrómetro de masas cuadrupolar triple de Waters). Se usó nitrógeno como el gas nebulizador. La adquisición de datos se llevó a cabo con un sistema de datos Waters-Micromass MassLynx-Openlynx.

Procedimiento general B

15 La medición por HPLC se llevó a cabo mediante el uso de un sistema Alliance HT 2795 (Waters) que comprende una bomba cuaternaria con desgasificador, un automuestreador, un detector de matriz de diodos (DAD) y una columna, según se especifica en los métodos respectivos más adelante, la columna se mantiene a una temperatura de 30 °C. El flujo de la columna se separó hacia un detector de MS. El detector de MS se configuró con una fuente de ionización por electropulverización. La tensión de la aguja capilar fue de 3 kV y la temperatura de la fuente se mantuvo a 100°C en el LCT (espectrómetro de masas Time of Flight Zspray™ de Waters). Se usó nitrógeno como el gas nebulizador. La adquisición de datos se llevó a cabo con un sistema de datos Waters-Micromass MassLynx-Openlynx.

Método 1

Además del procedimiento general A: se llevó a cabo UPLC de fase inversa en una columna C18 (1,7 µm, 2,1 x 100 mm) Waters Acquity BEH (híbrido de etilsiloxano/sílice puenteado) con una velocidad de flujo de 0,35 ml/min. Se emplearon dos fases móviles (fase móvil A: acetato de amonio 7 mM al 95 % / acetonitrilo al 5 %; fase móvil B: acetonitrilo al 100 %) para ejecutar una condición de gradiente de 90 % de A y 10 % de B (mantenida durante 0,5 minuto) a 8 % de A y 92 % de B en 3,5 minutos, mantenida durante 2 min y de nuevo a las condiciones iniciales en 0,5 min, mantenidas durante 1,5 minuto. Se usó un volumen de inyección de 2 µl. La tensión del cono fue de 20 V para modo de ionización positivo y negativo. Se adquirieron espectros de masa mediante barrido de 100 a 1000 en 0,2 segundos mediante el uso de un retardo interbarrido de 0,1 segundos.

Método 2

10 Además del procedimiento general A: se llevó a cabo UPLC de fase inversa en una columna C18 (1,7 µm, 2,1 x 100 mm) Waters Acquity BEH (híbrido de etilsiloxano/sílice puenteado) con una velocidad de flujo de 0,343 ml/min. Se emplearon dos fases móviles (fase móvil A: acetato de amonio 7 mM al 95 % / acetonitrilo al 5 %; fase móvil B: acetonitrilo al 100 %) para ejecutar una condición de gradiente de 84,2 % de A y 15,8 % de B (mantenida durante 0,49 minuto) a 10,5 % de A y 89,5 % de B en 2,18 minutos, mantenida durante 1,94 min y de nuevo a las condiciones iniciales en 0,73 min, mantenidas durante 0,73 minuto. Se usó un volumen de inyección de 2 µl. La tensión del cono fue de 20 V para modo de ionización positivo y negativo. Se adquirieron espectros de masa mediante barrido de 100 a 1000 en 0,2 segundos mediante el uso de un retardo interbarrido de 0,1 segundos.

Método 3

20 Además del procedimiento general B: se llevó a cabo HPLC de fase inversa en una columna C18 Waters X-bridge (3,5 µm, 4,6 x 100 mm) con una velocidad de flujo de 0,8 ml/min. Se emplearon dos fases móviles (fase móvil A: acetato de amonio 7 mM al 100 %; fase móvil B: acetonitrilo al 100 %) para ejecutar una condición de gradiente de 80 % de A y 20 % de B (mantenida durante 0,5 minuto) a 90 % de B en 4,5 minutos, 90 % de B durante 4 minutos y reequilibrada con las condiciones iniciales en durante 3 minutos. Se usó un volumen de inyección de 5 µl. La tensión del cono fue de 20 V para modo de ionización positivo y negativo. Se adquirieron espectros de masa mediante barrido de 100 a 1000 en 0,4 segundos mediante el uso de un retardo interbarrido de 0,3 segundos.

Método 4

30 Además del procedimiento general B: se llevó a cabo HPLC de fase inversa en una columna C18 Waters Atlantis (5 µm, 3,9 x 100 mm) con una velocidad de flujo de 0,8 ml/min. Se emplearon tres fases móviles (fase móvil A: acetato de amonio 7 mM al 100 %; fase móvil B: acetonitrilo al 100 %; fase móvil C: ácido fórmico al 0,2 % +99,8 % de agua ultrapura) para ejecutar una condición de gradiente de 50 % de A y 50 % de C (mantenida durante 1,5 minuto) a 10 % de A, 80 % de B y 10 % de C en 4,5 minutos, mantenida durante 4 minutos y reequilibrada con las condiciones iniciales durante 3 minutos. Se usó un volumen de inyección de 5 µl. La tensión del cono fue de 20 V para modo de ionización positivo y negativo. Se adquirieron espectros de masa mediante barrido de 100 a 1000 en 0,4 segundos mediante el uso de un retardo interbarrido de 0,3 segundos.

35 Método 5

La medición por HPLC se llevó a cabo mediante el uso de un sistema HPLC 1100/1200 (Agilent) que comprende una bomba cuaternaria con desgasificador, un automuestreador, un detector de matriz de diodos (DAD) y una columna, según se especifica en los métodos respectivos más adelante, la columna se mantiene a temperatura ambiente. El detector de MS (cuadrípolar simple MS-Agilent) se configuró con una fuente de ionización APCI por electropulverización. Se usó nitrógeno como el gas nebulizador. La adquisición de datos se llevó a cabo con un sistema de datos Chemstation.

45 Se llevó a cabo HPLC de fase inversa en una columna C18 Nucleosil (3 µm, 3 x 150 mm) con una velocidad de flujo de 0,42 ml/min. Se emplearon dos fases móviles (fase móvil A: agua/TFA (0,1 %); fase móvil B: acetonitrilo al 100 %) para ejecutar una condición de gradiente de 98 % de A durante 3 minutos, a 100 % de B en 12 minutos, 100 % de B durante 5 minutos y después de nuevo a 98 % de A en 2 minutos y reequilibrada con 98 % de A durante 6 minutos. Se usó un volumen de inyección de 2 µl. La tensión capilar fue de 2 kV, la descarga corona se mantuvo a 1 µA y la temperatura de la fuente se mantuvo a 250 °C.

Se usó una tensión variable para el fragmentador. Se adquirieron espectros de masa mediante ionización por electropulverización y APCI en modo positivo, mediante barrido de 100 a 1100 amu.

Tabla C.1: datos de LC/MS

Co. n.º	Rt	MH ⁺	Método
2	5,12	419	3
3	2,53	392	2
6	2,84	412	1
7	2,43	411	2
9	2,74	420	2
10	2,53	392	2
11	2,74	400	2
12	1,96	387	2
13	3,23	392	1
14	2,63	386	2
15	2,92	426	2
17	2,64	403	2
18	2,65	423	2
19	2,44	376	2
21	2,66	404	2

Co. n.º	Rt	MH ⁺	Método
41	1,98	387	2
42	2,12	310	2
43	2,76	400	2
44	2,63	392	2
45	2,58	392	2
46	2,16	382	2
47	2,24	421	2
48	5,4	353	4
49	1,85	408	2
50	1,78	388	2
51	1,84	376	2
52	13,46	324	5
53	14,13	338	5
54	14,38	404	5
57	2,59	390	2

Co. n.º	Rt	MH ⁺	Método
22	2,4	376	2
23	2,22	405	2
26	1,5	353	2
30	1,78	351	2
31	8,79	342	5
32	2,07	393	2
33	2,12	453	2
34	2,1	348	2
35	2,72	423	2
36	2,73	423	2
37	11,2	379	5
38	11,4	379	5
39	12,26	379	5
40	1,99	387	2

Co. n.º	Rt	MH ⁺	Método
58	11,35	380	5
59	15,16	426	5
60	14,79	406	5
61	2,35	417	2
62	13,58	434	5
63	15,03	406	5
64	1,6	381	2
67	14,01	417	5
68	15,62	426	5
69	15,09	406	5
71	13,1	404	5
72	14,51	422	5
73	2,78	384	2

C2. Puntos de fusión

- 5 Para varios compuestos, se obtuvieron los puntos de fusión con una plataforma caliente de Kofler que consistía en una placa calentada con un gradiente de temperatura lineal, un puntero deslizante y una escala de temperatura en grados Celsius.

10 Para varios compuestos, se determinaron los puntos de fusión mediante el uso de calorimetría diferencial de barrido (DSC, por sus siglas en inglés). Los puntos de fusión se midieron con un gradiente de temperatura de 10 °C/minuto iniciando a 25 °C. La temperatura máxima fue de 350 °C.

ES 2 721 658 T3

Para varios compuestos, se obtuvieron los puntos de fusión con un aparato de punto de fusión Büchi B-560. El medio de calentamiento fue un bloque metálico. La fusión de la muestra se observó visualmente mediante una lente de aumento y un contraste de luz grande. Los puntos de fusión se midieron con un gradiente de temperatura de 3 o 10 °C/minuto. La temperatura máxima fue de 300 °C.

5 Los puntos de fusión restantes se determinaron usando tubos capilares abiertos.

Tabla C.2: datos de punto de fusión

Co. n.º	Punto de fusión	Método	Co. n.º	Punto de fusión	Método
1	274,95 °C	DSC	25	249,0 - 259,1 °C	Büchi
2	218 °C	Kofler	26	227 °C	Kofler
3	259,80 °C	DSC	30	243,45 °C	DSC
4	122 °C	Kofler	32	262 °C	Kofler
5	128,6 - 129,8	-	33	267,48 °C	DSC
6	270,49 °C	DSC	34	>250 °C	Kofler
8	97 - 98 °C	-	35	>260 °C	Kofler
9	178 °C	Kofler	36	150 °C	Kofler
10	244 °C	Kofler	40	268,40 °C	DSC
11	178 °C	Kofler	41	273,08 °C	DSC
13	130 °C	Kofler	42	232 °C	Kofler
14	269,15 °C	DSC	43	227 °C	Kofler
15	246 °C	Kofler	44	262,20 °C	DSC
16	247,3 - 248,5 °C	-	45	258,89 °C	DSC
17	128 °C	Kofler	46	224,32 °C	DSC
18	123 °C	Kofler	47	273,86 °C	DSC
19	135 °C	Kofler	48	>260 °C	Kofler
21	218 °C	Kofler	52	>260 °C	Kofler
22	198 °C	Kofler	61	252 °C	Kofler
24	238,1 - 249,2 °C	Büchi	64	>265 °C	Kofler

D. Ejemplos farmacológicos

D.1 Inhibición de la enzima FabI: Ensayo de inhibición de la enzima FabI de *Staphylococcus aureus*.

ES 2 721 658 T3

5 Se llevaron a cabo ensayos de inhibición de la enzima FabI en placas de microtitulación de 384 pocillos de área media. Los compuestos se evaluaron en mezclas de ensayo de 40 μ l que contenían 100 mM de NaADA, pH 6,5 (ADA = ácido N-[2-acetamido]-2iminodiacético), 250 μ M de crotonoil-CoA, 625 μ M de NADH y 50 μ g/ml de FabI de *S. aureus* ATCC 29213. Los inhibidores variaron típicamente en el intervalo de 50 a 0,39 μ M. Las mezclas de reacción se incubaron durante 30 minutos a temperatura ambiente y la reacción se detuvo mediante la adición de 200 mM de tampón Tris (pH 9,0) para crear un desplazamiento de pH. Se monitorizó el consumo de NADH al medir el cambio en la absorbancia a 340. Al comparar las lecturas de muestra con las de los testigos negativo (ausencia de compuesto) y positivo (ausencia de enzima), se determinó el porcentaje de inhibición de la actividad enzimática de los compuestos. Se ajusta una curva de mejor ajuste por medio de un método de cuadrados mínimos. A partir de esta, se obtuvo el valor CI_{50} (expresado en μ g/ml), que resulta de la inhibición del 50 % de la actividad enzimática.

Tabla D.1 : Valores CI_{50} de FabI de *S. aureus*

Co. n.º	CI_{50} de FabI μ g/mL
1	0,32
2	0,78
3	0,29
4	0,70
5	~0,6
6	3,73
8	0,50
9	0,75
10	0,53
11	0,48
12	0,44
13	0,39
14	0,40
15	0,48
17	0,38
18	0,44
19	~ 0,62
20	1,07
21	0,65
22	0,58

ES 2 721 658 T3

Co. n.º	Cl ₅₀ de Fabl µg/mL
23	0,41
24	0,58
25	0,51
26	0,41
27	0,6
29	1,04
30	2,66
31	1,42
32	0,46
33	3,06
34	1,67
35	1,25
36	0,93
37	3,37
38	2,08
39	0,56
40	0,39
41	0,44
42	0,83
43	0,60
44	0,46
45	0,45
46	0,54
47	0,43
48	2,93

ES 2 721 658 T3

Co. n.º	CI ₅₀ de FabI µg/mL
49	0,44
51	0,54
52	0,50
53	0,36
54	1,84
57	0,62
59	0,76
60	0,59
61	0,54
62	0,44
63	0,63
64	1,62
67	0,63
68	0,99
71	2,55
72	0,43
73	0,80

D.2 Método in vitro para evaluar la actividad antibacteriana de compuestos contra diversas cepas bacterianas

Preparación de suspensiones bacterianas para prueba de susceptibilidad

5 Se usaron las siguientes bacterias: ATCC 29213 de *Staphylococcus aureus*, ATCC 700788 de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA) y ATCC 35218 de *Escherichia coli*. Las bacterias que se usaron en este estudio se cultivaron durante toda la noche en matraces que contenían 100 ml de caldo Mueller-Hinton (n.º de cat. de Difco 0757-17) en agua desionizada estéril, con agitación a 37 °C. Las concentraciones se almacenaron a -70 °C hasta su uso.

10 Las bacterias se incubaron en una placa de soja tríptica que contenía sangre de oveja al 5 % (n.º de cat. de Becton Dickinson 254053) durante 18-24 horas a 35 °C en condiciones aerobias (primer pasaje). Para el segundo pasaje, se inocula caldo Mueller-Hinton nuevo con 5-10 colonias y se cultiva durante toda la noche a 35 °C hasta alcanzar turbidez (al alcanzar la fase logarítmica) en condiciones aerobias. A continuación, la suspensión bacteriana se ajusta hasta densidad de McFarland 0,5 y se diluye adicionalmente 1:100 en medio de caldo Mueller Hinton. Esto se usa como inóculo.

15 Los resultados (para ATCC 29213 de STA) se representan en la tabla D2 más adelante.

Prueba de susceptibilidad antibacteriana: Determinación de CI₉₀

Se llevaron a cabo ensayos MIC mediante el método de microdilución de caldo en un formato de 96 pocillos (placas de microtitulación de fondo plano) con un volumen final de 0,1 ml de caldo Mueller Hinton que contiene dos diluciones en serie de compuestos y se inoculó con 5×10^5 UFC/ml de bacterias (tamaño de inóculo estándar según las pautas del CLSI). Los inhibidores variaron típicamente en el intervalo de 63 a 0,49 μ M. La concentración de DMSO final en el ensayo fue de 1,25 % (concentración máxima tolerable de DMSO = 6 %). En los ensayos en los que se evaluó el efecto del suero humano sobre la actividad de los compuestos contra *S. aureus*, se agregó suero humano a una concentración final de 10 %. Las placas se incubaron a 35 °C durante 16-20 horas. Al finalizar la incubación, el crecimiento bacteriano se cuantificó fluorométricamente. Con este fin, se agregó resazurina a todos los pocillos y las placas se reincubaron. El tiempo de incubación depende del tipo de bacterias. Un cambio de color de azul a rosa indica el crecimiento de bacterias. Se leyó la fluorescencia en un fluorómetro controlado por ordenador (Fluoroskan Ascent FL, Labsystems) a una longitud de onda de excitación de 540 nm y una longitud de onda de emisión de 590 nm. El % de inhibición de crecimiento logrado por los compuestos se calculó según métodos estándares. La CI_{90} (expresada en μ g/ml) se definió como el 90 % de concentración inhibitoria para el crecimiento bacteriano. Se evaluó un panel de compuestos de referencia simultáneamente para aprobación de QC.

Los resultados de representan en la tabla D2 más adelante (STA + HS al 10 %).

Ensayos de citotoxicidad

Se evaluó la citotoxicidad de los compuestos mediante el uso del ensayo MTT. Se expusieron células HeLaM humanas cultivadas en placas de 96 pocillos a diluciones en serie de los compuestos de prueba (volumen final de 0,2 ml) y se incubaron durante 72 horas a 37 °C y CO_2 al 5 %. Los inhibidores variaron típicamente en el intervalo de 25 a 0,8 μ M. La concentración de DMSO final en el ensayo fue de 0,5 %. Se agregó MTT (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio, un tetrazol) y se redujo a formazán violeta solo en las células vivas. La solubilización de los cristales de formazán se logró al agregar 100 μ l de 2-propanol. La viabilidad celular se determinó al medir la absorbancia del formazán reducido, que proporciona un color violeta, a 540 nm y 690 nm. La absorbancia medida a 690 nm se restó automáticamente de la absorbancia a 540 nm, para eliminar los efectos de la absorción no específica. El porcentaje de citotoxicidad lograda por los compuestos se calculó según métodos estándares. La citotoxicidad se indica como CC_{50} , la concentración que causa una reducción del 50 % en la viabilidad celular.

Los resultados se representan en la tabla D2 a continuación (TOX HELAM).

Tabla D2 - datos para ejemplos representativos

Comp. N.º	STA (361.159) μ g/mL	CI_{90}	STA + HS al 10 % (361.169) μ g/mL	CI_{90}	TOX HELAM (222.125) μ g/mL	CC_{50}
1	0,09		0,17		>3,8547	
2	1,02		1,09		>19,4696	
3	0,03		0,06		>3,25636	
5	0,64		1,14		7,92	
8	1,15		1,52		>10,5122	
9	0,33		0,69		4,77	
10	0,08		0,13		>3,915	
11	0,37		1,76		6,19	
12	0,33		0,53		>9,70744	
13	0,31		0,43		>9,68257	
14	0,19		0,19		>9,68257	

ES 2 721 658 T3

Comp. N.º	STA (361.159) µg/mL	CI90	STA + HS al 10 % (361.169) µg/mL	CI90	TOX HELAM (222.125) µg/mL	CC50
15	0,74		0,72		>9,78279	
17	0,37		0,38		>10,1103	
18	0,21		0,37		>10,6233	
19	0,18		0,12		>9,43038	
21	0,13		0,29		>4,0346	
22	0,23		0,25		>9,43038	
23	0,67		0,79		>10,3108	
24	4,05		2,44		>3,9549	
26	1,11		1,11		>3,8646	

Ejemplo E

E.1 Solubilidad termodinámica/Solubilidad en disolución acuosa

- 5 La generación del perfil de solubilidad por pH se llevó a cabo a temperatura ambiente durante un período de 4 días. Se llevó a cabo un estudio de solubilidad por saturación para determinar la solubilidad máxima en una disolución de tampón específica. El compuesto se agregó a la disolución de tampón respectiva hasta alcanzar el punto de saturación. A continuación, se agitó el matraz durante 4 días a temperatura ambiente. Después de 4 días, las disoluciones se filtraron e inyectaron en UPLC y la concentración se determinó usando un método de HPLC genérico.

Resultados

	Co. n.º 14	Co. n.º 1	Co. n.º 41	Co. n.º 2
Tampón pH 2	<0,01	<0,002	1,18	<0,01
Tampón de HP-β-CD al 10 % pH 2	0,076	NT	NT	NT
Tampón de HP-β-CD al 20 % pH 2	0,20	NT	NT	NT
Tampón pH 4	<0,01	<0,002	<0,01	<0,01
Tampón de HP-β-CD al 10 % pH 4	0,069	0,177	1,1	0,11
Tampón de HP-β-CD al 20 % pH 4	0,18	0,308	>1,15	0,28
Tampón pH 7.4	<0,01	<0,002	0,13	<0,01
Tampón de HP-β-CD al 10 % pH 7.4	0,089	0,100	0,49	0,14
Tampón de HP-β-CD al 20 % pH 7.4	0,20	0,417	0,56	0,33
NT = no evaluado				

E.2 Espectro de actividad antimicrobiana

5 Se determinaron las concentraciones inhibitoras mínimas (MIC, por sus siglas en inglés) según la metodología del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI, por sus siglas en inglés) contra bacterias aerobias (CLSI M07-A8) (véase Clinical and Laboratory Standards Institute. 2009. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Documento de CLSI M07-A8, tomo 29, n.º 2.) mediante el método de microdilución de caldo con medio de caldo Mueller-Hinton ajustado con cationes (CA-MHB, por sus siglas en inglés) para la mayoría de los organismos, excepto para *Haemophilus influenzae*, donde se usó el caldo de medio de prueba Haemophilis (HTM, por sus siglas en inglés). Las descripciones de los organismos individuales se pueden encontrar en la tabla. Cuando fue posible, se usaron cepas estándar de ATCC.

10 La densidad del inóculo para la evaluación de la susceptibilidad se estandarizó para proporcionar un inóculo final de aproximadamente 5×10^8 UFC/mL. La MIC del caldo se determinó como la concentración más baja de fármaco que prevenía el crecimiento visible después de 16-24 horas (dependiendo de la especie) de incubación a 35 °C-37 °C.

Tabla: Descripción de organismos individuales evaluados

Organismo	Características	MIC de medio de prueba
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 29213; cepa de referencia MSSA	MHB
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 43300; cepa de referencia MRSA	MHB
<i>Staphylococcus aureus</i>	NRS119; LZD-R; SCCmec IV; origen: EE. UU.	MHB
<i>Staphylococcus aureus</i>	NRS120; LZD-R; SCCmec IV; origen: EE. UU.	MHB
<i>Staphylococcus aureus</i>	NRS121; LZD-R; SCCmec IV; origen: EE. UU.	MHB
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922; cepa de referencia	MHB
<i>Escherichia coli</i>	Mutante Tol C	MHB
<i>Haemophilus influenzae</i>	ATCC 49247; cepa de referencia	Caldo HTM
<i>Moraxella catarrhalis</i>	ATCC 8176; b-lactamasa negativa	MHB

15 Se prepararon disoluciones concentradas de los compuestos en DMSO a concentraciones de 1 mg/mL. El linezolid se preparó en DMSO a una concentración de 2 mg/mL. Las disoluciones concentradas de todos los compuestos se diluyeron en CA-MHB para proporcionar una gama de diluciones dobles, dependiendo de la sensibilidad del organismo evaluado.

20 Resultados (si están disponibles)

Organismo	Núms. de compuesto y MIC ₉₀ (µg/ml)							
	14	1	44	2	41	10	22	12
S.aureus ATCC 29213	0,03	0,016	0,03	0,25	0,03	0,015	0,06	0,125
S.aureus ATCC 43300	0,03	0,016	0,03	0,5	0,03	0,03	0,125	0,125
S.aureus NRS119	0,03	0,03	0,03		0,06			

ES 2 721 658 T3

Organismo	Núms. de compuesto y MIC ₉₀ (µg/ml)							
	14	1	44	2	41	10	22	12
S.aureus NRS120	0,03	0,016	0,03		0,06			
S.aureus NRS121	0,03	0,016	0,06		0,06			
Mutante tolC de E. coli	0,25	≤0,03	>8	0,25	1	0,125	1	0,25
E. coli ATCC 25922	4	>32	>8	>8	8	>8	>8	>8
H. influenza ATCC 49247	0,25		>8	>8	0,5	>8	4	1
M. catarrhalis ATCC 8176	0,015		0,25		0,12			

E.3 Farmacocinética y biodisponibilidad oral in vivo

5 Se investigó la farmacocinética y biodisponibilidad oral in vivo del compuesto de los ejemplos en ratones Swiss macho (alimentados) después de una administración simple por bolo intravenoso (i.v.) y oral (p.o.). Para las formulaciones de disolución para i.v. y p.o., el compuesto se disolvió en una disolución de HP-β-CD al 20 %. El pH de las formulaciones fue de aproximadamente pH 4. Todas las formulaciones i.v. fueron isotónicas

Resultados

	Co. n.º 14	Co. n.º 1	Co. n.º 10	Co. n.º 44	Co. n.º 12
i.v.					
Dosis (mg/kg)	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
n	3	3	3	3	3
C₀ (ng/mL)	2929	2921	4154	4524	2333
Aclaramiento en plasma Cl (L/h/kg)	0,33	0,35	0,64	0,49	2,2
Vd_z (L/kg)	1,3	1,5	1,2	0,9	3,7
AUC_{0-inf} (ng.h/mL)	7464	7074	3992	5037	1124
Semivida (t_{1/2}) (h)	2,7	2,9	1,3	1,3	1,1
Dosis					
p.o. (mg/kg)	10	5	10	10	10
n	3	3	3	3	3
C_{máx} (ng/mL)	2950	1720	3537	2670	275
T_{máx} (h)	2,0	2,0	1,0	1,0	1,0

	Co. n.º 14	Co. n.º 1	Co. n.º 10	Co. n.º 44	Co. n.º 12
i.v.					
AUC_{0-inf} (ng.h/mL)	21394	12158	12376	14527	914 AUC _{0-último}
Semivida (t_{1/2}) (h)	3,2	3,1	2,2	2,8	n.d.
Biodisponibilidad oral (%)	72	86	81	59	21

E.4 Eficacia in vivo

5 El concepto de estudiar el efecto in vivo de un compuesto antibacteriano al tratar ratones infectados intraperitonealmente se introdujo en 1911 para optochin contra neumococos (Morgenroth and Levy, 1911). La popularidad del modelo se debe a su facilidad de uso con experimentos de corta duración, infecciones reproducibles y criterios de valoración simples.

Método

10 La cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 sensible a metilina se usó para infectar a ratones albinos Swiss hembra. Un cultivo bacteriano de caldo de infusión cerebro y corazón (BHI, por sus siglas en inglés) se inoculó el día antes de la infección, se incubó a 37 °C durante toda la noche y se diluyó en caldo BHI nuevo hasta la concentración deseada. La inyección i.p. de $\sim 5 \times 10^8$ - 5×10^9 unidades formadoras de colonias (UFC) se llevó a cabo en cualquiera de los cuadrantes inferiores laterales del abdomen. Después de la inoculación, los ratones se mantuvieron en sus jaulas con observación diaria para determinar el desarrollo de signos de infección o muerte. Para el tratamiento de los ratones, se usaron vías p.o. y i.v. y cada ratón se trató individualmente mediante alimentación gástrica o 15 mediante inyección i.v. Se evaluaron disoluciones (p.o. y i.v.) y suspensiones (p.o.) en este modelo. El parámetro usado para monitorizar el transcurso de la infección y el efecto del tratamiento fue la muerte o supervivencia de los animales en los 3 días posteriores a la infección. Dado que la muerte podía deberse a efectos secundarios tóxicos, se incluyó un grupo testigo no infectado de 3 ratones, tratados con la dosis más alta del compuesto (en los estudios donde se usaron suspensiones) evaluado.

20 Resultados

Actividad antibacteriana in vivo en modelo de peritonitis de infección por *S. aureus* (ATCC 29213) después de dosificación oral y i.v. usando disoluciones

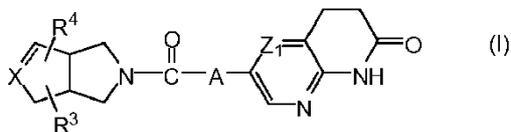
Compuesto	Vía de infección	Inóculo (log10)	Formulación	Vía de tratamiento	Dosis de tratamiento (mpk)	% de supervivencia
44	IP	8,9	Disol al 20 % CD+1HCl	PO. QD	1;5	57; 100
14	IP	8,7	20 % CD+2H2T	IV. QD	2,5; 5	75; 100

Los ratones testigo exhibieron 80 % y 100 % de mortalidad, en cada prueba respectiva.

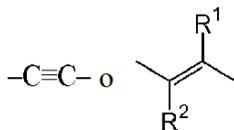
25

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I)



en donde



5 A representa

el enlace ----- representa un enlace simple o un enlace doble,

X representa carbono o nitrógeno, y cuando X representa nitrógeno entonces el enlace -----

representa un enlace simple;

10 Z_1 representa CH o N;

R^1 es hidrógeno, alquilo C_{1-4} o halo;

R^2 es hidrógeno, alquilo C_{1-4} o halo;

R^3 es hidrógeno, alquilo C_{1-6} , hidroxilo o halo;

15 R^4 es hidrógeno; halo; alquilo C_{1-6} ; alqueno C_{2-6} ; alquino C_{2-6} ; alquil C_{1-6} oxi; alquil C_{1-4} oxicarbonilo; aminocarbonilo; mono o di(alquil C_{1-4})-aminocarbonilo; arilo; ariloxi; arilcarbonilo; arilsulfonilo; heteroarilo; alquilo C_{1-6} sustituido con ciano; alquilo C_{1-6} sustituido con arilo o ariloxi; o alquilo C_{1-6} sustituido con heteroarilo;

arilo es fenilo; fenilo sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno individualmente seleccionado de halo, hidroxilo, alquilo C_{1-4} , alquil C_{1-4} oxi, polihaloalquilo C_{1-4} , polihaloalquil C_{1-4} oxi, ciano, nitro y amino;

20 heteroarilo es furanilo, tiofenilo, pirrolilo, pirazolilo, imidazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, triazolilo, tetrazolilo, isotiazolilo, tiadiazolilo, oxadiazolilo, piridinilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, benzo[1,3]dioxolilo, benzofuranilo, benzotiazolilo, indolilo, 2,3-dihidro-1H-indolilo, tetrahidrotiofenilo o quinolinilo,

en donde cada heteroarilo puede estar sustituido con uno o dos sustituyentes cada uno seleccionado independientemente de halo, ciano, alquilo C_{1-4} , alquil C_{1-4} oxi, alquil C_{1-4} carbonilo o fenilo;

o una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable de estos.

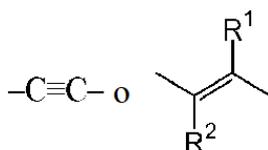
25 2. El compuesto según se reivindica en la reivindicación 1 en donde:

Z_1 representa CH;

R^1 es hidrógeno o alquilo C_{1-4} ;

R^2 es hidrógeno o alquilo C_{1-4} .

3. El compuesto según se reivindica en la reivindicación 1 o la reivindicación 2 en donde



30 A representa

el enlace ---X--- representa un enlace simple o un enlace doble,

X representa carbono o nitrógeno, y cuando X representa nitrógeno entonces el enlace ---X---

representa un enlace simple;

R¹ es hidrógeno;

5 R² es hidrógeno;

R³ es hidrógeno, hidroxilo o halo;

R⁴ es hidrógeno; halo; alquilo C₁₋₆; alquil C₁₋₆oxi; alquilC₁₋₄oxycarbonilo; aminocarbonilo; mono o di(alquil C₁₋₄)-aminocarbonilo; arilo; ariloxi; arilsulfonilo; heteroarilo; alquilo C₁₋₆ sustituido con ciano; alquilo C₁₋₆ sustituido con arilo o ariloxi; o alquilo C₁₋₆ sustituido con heteroarilo;

10 arilo es fenilo; fenilo sustituido con un sustituyente seleccionado de halo, alquilo C₁₋₄, alquilC₁₋₄oxi y ciano;

heteroarilo es furanilo, tiofenilo, pirazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, triazolilo, tetrazolilo, tiadiazolilo, piridinilo o pirimidinilo,

en donde cada heteroarilo puede estar sustituido con un sustituyente seleccionado de halo, ciano, alquilo C₁₋₄, alquilC₁₋₄oxi o alquilC₁₋₄carbonilo;

o una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable de estos.

15 4. El compuesto según se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 en donde R¹ es hidrógeno y R² es hidrógeno.

5. El compuesto según se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 en donde R³ representa hidrógeno.

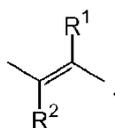
6. El compuesto según se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 en donde R⁴ es arilo.

20 7. El compuesto según se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 en donde R⁴ es heteroarilo.

8. El compuesto según se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 en donde R⁴ es alquilo C₁₋₆ sustituido con arilo.

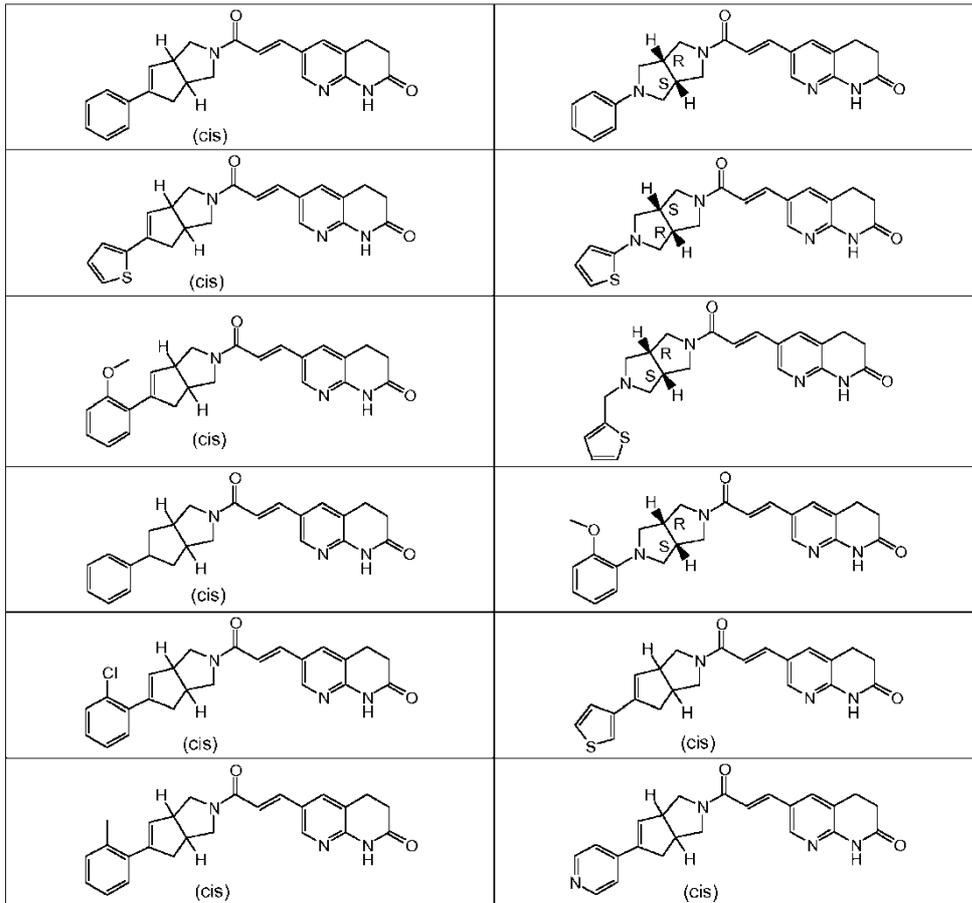
9. El compuesto según se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 en donde X representa nitrógeno y el enlace ---X--- representa un enlace simple.

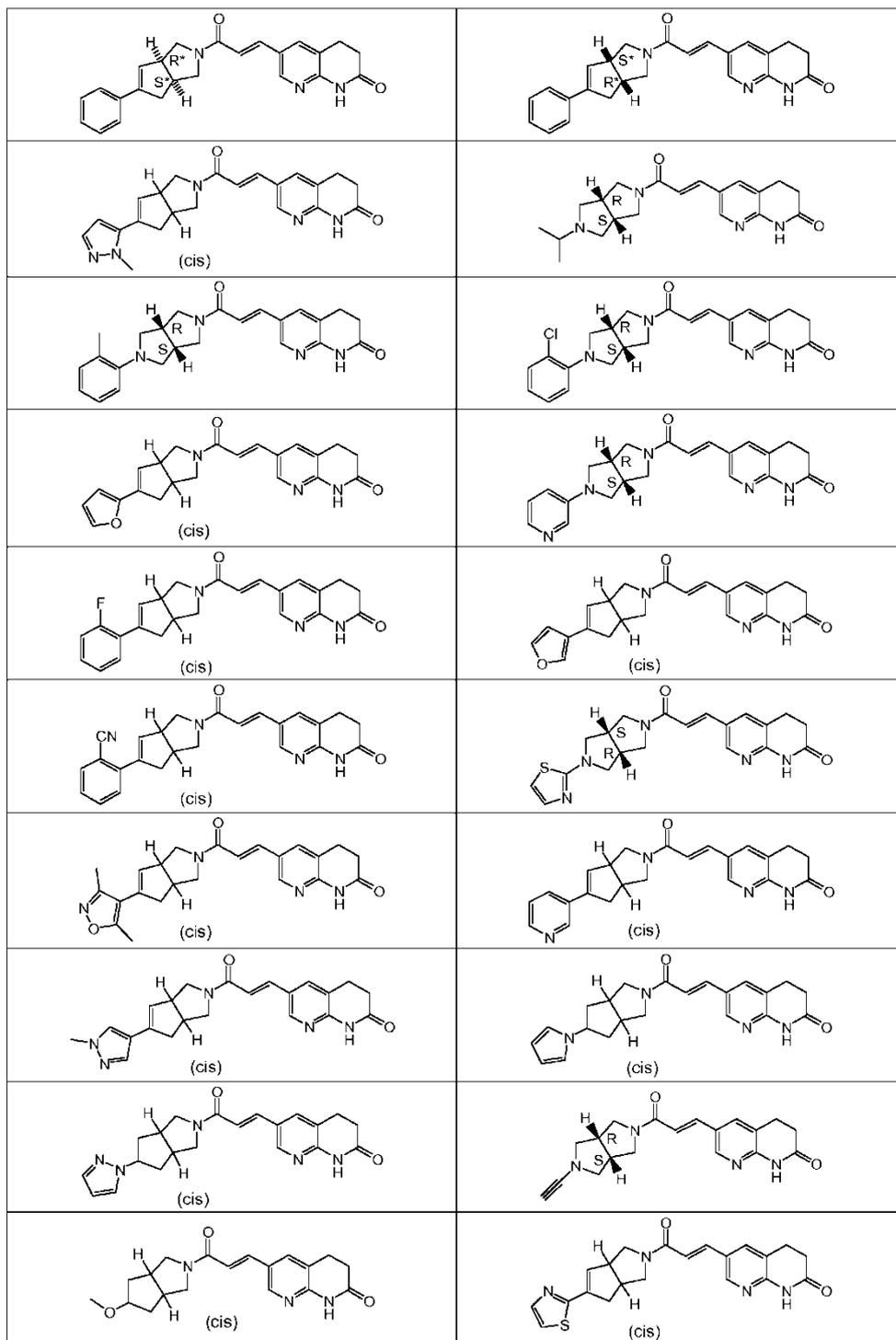
25 10. El compuesto según se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 en donde

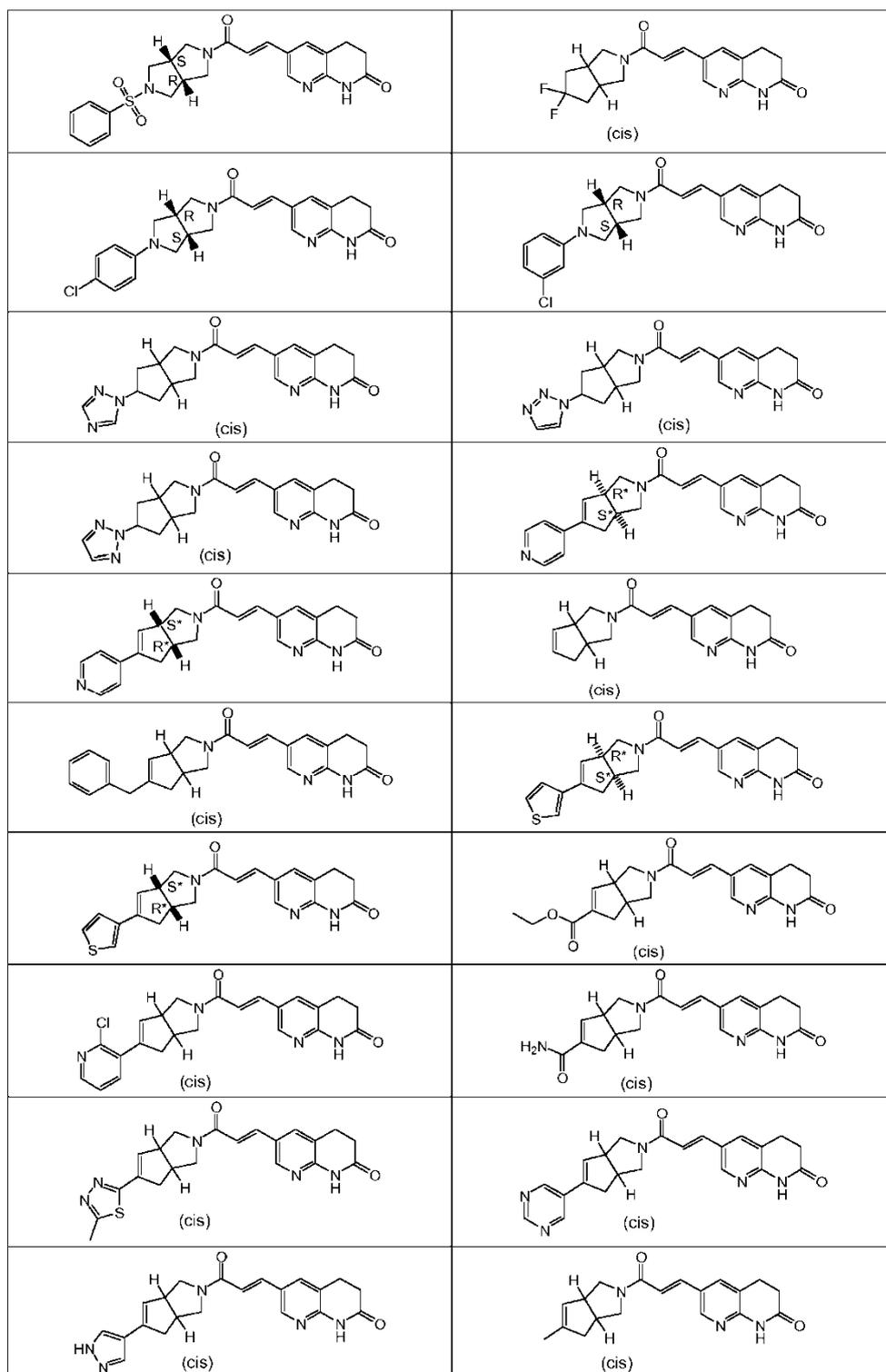


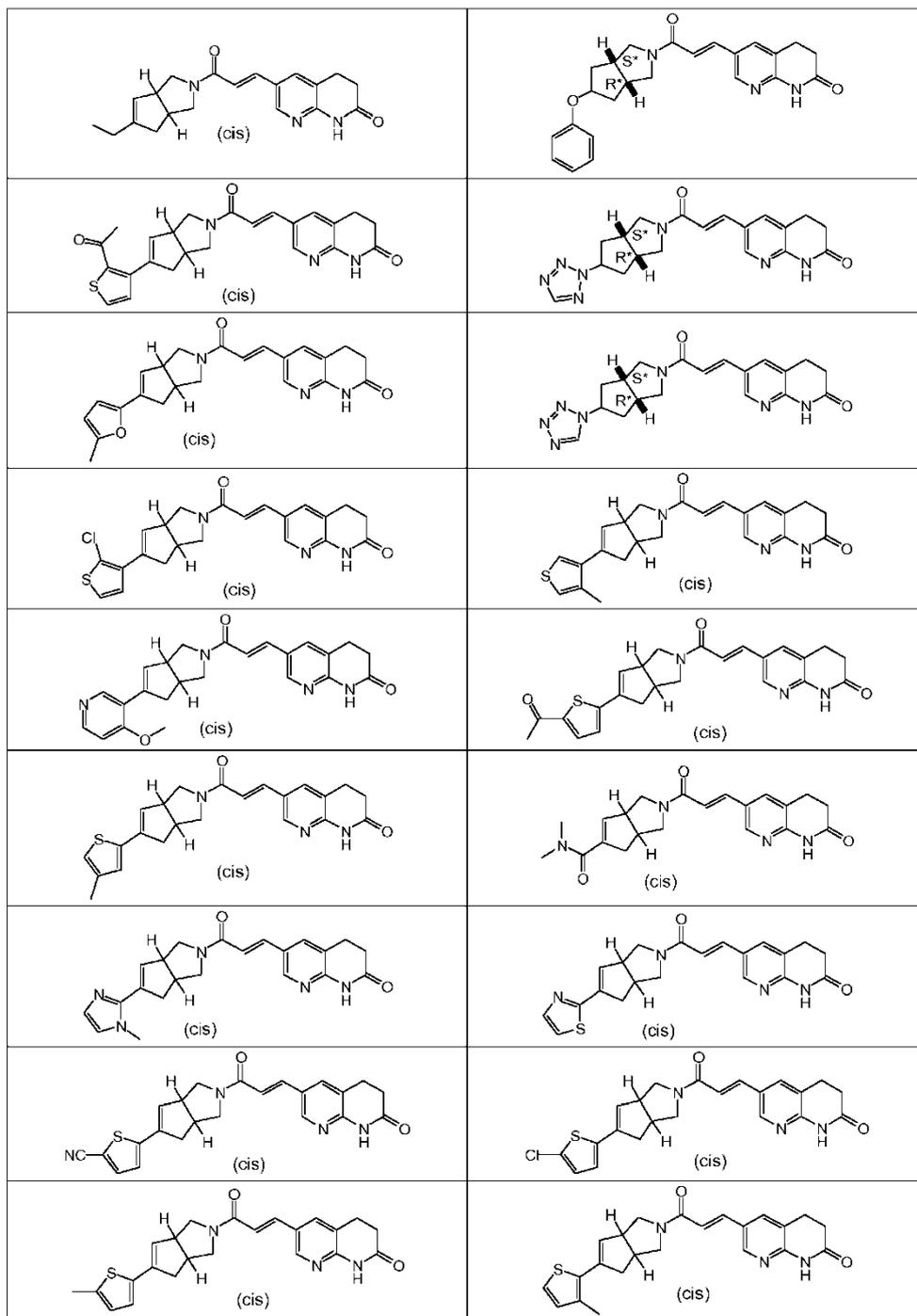
A representa

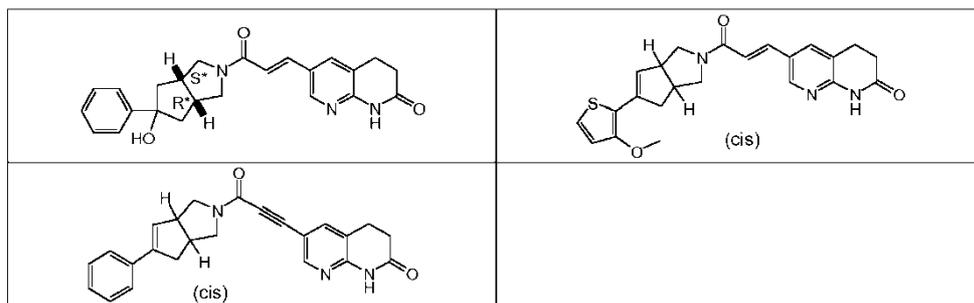
11. Un compuesto de la reivindicación 1 seleccionado de los siguientes:











o una sal farmacéuticamente aceptable de estos.

12. Una composición farmacéutica que comprende un portador farmacéuticamente aceptable y una cantidad terapéuticamente activa de un compuesto según se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11.

5 13. Un proceso para preparar una composición farmacéutica según se reivindica en la reivindicación 12 en donde una cantidad terapéuticamente activa de un compuesto según se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 se mezcla estrechamente con un portador farmacéuticamente aceptable.

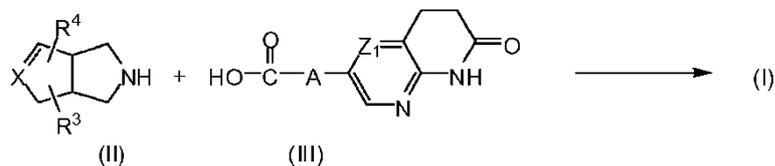
14. Compuesto de fórmula (I) según se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 para su uso como un medicamento.

10 15. Un compuesto de fórmula (I) según se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 para su uso en el tratamiento de infecciones bacterianas.

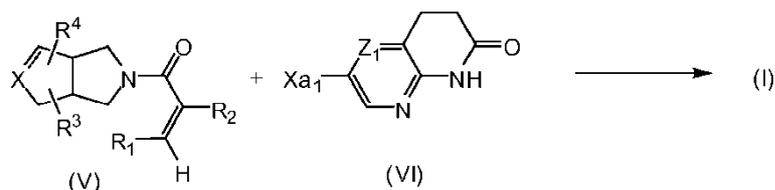
16. Un compuesto según se reivindica en la reivindicación 15 en donde la infección bacteriana es causada por una bacteria que expresa una enzima FabI.

17. Un proceso para preparar compuestos de fórmula (I) según se definen en la reivindicación 1:

15 (i) al hacer reaccionar un intermediario de fórmula (II) con un intermediario de fórmula (III),



(ii) para compuestos de fórmula (I) en los que A representa $-C(R^2)=C(R^1)-$, al hacer reaccionar un intermediario de fórmula (V) con un intermediario de fórmula (VI),



20 en donde X_{a1} representa un grupo saliente adecuado y los otros números enteros son según se definen en la reivindicación 1;

o; si se desea; un compuesto de fórmula (I) se convierte en una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable, o de lo contrario, una sal de adición de ácido de un compuesto de fórmula (I) se convierte en una forma de base libre con álcali.