(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 331 250**

(51) Int. Cl.:

C07D 235/30 (2006.01) ***C07D 263/58*** (2006.01)
C07D 403/04 (2006.01) ***C07D 413/04*** (2006.01)
A61K 31/00 (2006.01) ***A61K 31/4184*** (2006.01)
A61K 31/4439 (2006.01) ***A61K 31/506*** (2006.01)
A61K 31/437 (2006.01) ***A61K 31/4709*** (2006.01)
A61K 31/55 (2006.01) ***A61K 31/5377*** (2006.01)
A61K 31/423 (2006.01) ***A61K 45/06*** (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Número de solicitud europea: **05008137 .1**
(96) Fecha de presentación : **12.12.2001**
(97) Número de publicación de la solicitud: **1557410**
(97) Fecha de publicación de la solicitud: **27.07.2005**

(54) Título: **Inhibidores de la girasa bacteriana y usos de los mismos.**

(30) Prioridad: **15.12.2000 US 256094 P**
13.03.2001 US 275292 P

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
28.12.2009

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
28.12.2009

(73) Titular/es:
VERTEX PHARMACEUTICALS INCORPORATED
Patent Department, 130 Waverly Street
Cambridge, Massachusetts 02139-4242, US

(72) Inventor/es: **Grillot, Anne-Laure;**
Charifson, Paul;
Stamos, Dean;
Liao, Yusheng y
Trudeau, Martin

(74) Agente: **Carpintero López, Mario**

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).

Venta de fascículos: Oficina Española de Patentes y Marcas. Pº de la Castellana, 75 – 28071 Madrid

DESCRIPCIÓN

Inhibidores de la girasa bacteriana y usos de los mismos.

Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

La presente solicitud reivindica prioridad con respecto a la Solicitud de Patente Provisional US 60/256,094, presentada el 15 de diciembre de 2000 y la Solicitud de Patente Provisional US 60/275,292, presentada el 13 de marzo de 2001.

Campo de la invención

La presente invención se circunscribe al campo de la química medicinal y versa acerca de compuestos, y composiciones farmacéuticas de los mismos, que inhiben las girasas bacterianas. Los compuestos son útiles como inhibidores de la actividad de la girasa bacteriana. La presente invención también versa acerca de compuestos para el tratamiento de infecciones bacterianas en mamíferos. La presente invención también versa acerca de procedimientos para disminuir la cantidad de bacterias en una muestra biológica *ex vivo*.

Antecedentes de la invención

Hace tiempo que se conoce la resistencia bacteriana a los antibióticos, y en la actualidad se considera que es un serio problema médico a escala mundial. Como consecuencia de la resistencia, algunas infecciones bacterianas son o bien difíciles de tratar con antibióticos o incluso intratables. Este problema ha cobrado una seriedad especialmente acusada con el desarrollo reciente de la resistencia a medicamentos múltiples en ciertas cepas de bacterias, como el *Streptococcus pneumoniae* (SP), el *Mycobacterium tuberculoses* y el *Enterococcus*. La aparición de enterococos resistentes a la vancomicina resultó especialmente alarmante, porque, con anterioridad, la vancomicina era el único antibiótico efectivo para el tratamiento de esta infección, y había sido considerada para muchas infecciones el fármaco de "último recurso". Aunque muchas otras bacterias resistentes a los fármacos, como los enterococos, no causan enfermedades que supongan una amenaza para la vida existe el temor de que los genes que inducen la resistencia pudieran difundirse a organismos más letales como el *Staphylococcus aureus*, en los que ya impera la resistencia a la meticilina (De Clerq, *et al*., Current: Opinion in Anti-infective Investigational Drugs, 1999, 1, 1; Levy, "The Challenge of Antibiotic Resistance", Scientific American, marzo de 1998).

Otra inquietud es lo rápidamente que puede extenderse la resistencia a los antibióticos. Por ejemplo, hasta la década de 1960 es SP era universalmente sensible a la penicilina, y en 1987 únicamente era resistente el 0,02% de las cepas de SP en los Estados Unidos. Sin embargo, para 1995 había informes de que la resistencia del SP a la penicilina era de aproximadamente el 7% y de que alcanzaba el 30% en algunas zonas de los Estados Unidos (Lewis, FDA Consumer magazine (septiembre de 1995); Gershman en The Medical Reporter, 1997).

Los hospitales en particular sirven como centros para la formación y la transmisión de organismos resistentes a los fármacos. Las infecciones que se producen en los hospitales, denominadas infecciones nosocomiales, están convirtiéndose en un problema de seriedad creciente. En los dos millones de estadounidenses infectados en los hospitales cada año, más de la mitad de estas infecciones resisten al menos un antibiótico. El Centro para el Control de las Enfermedades presentó el informe de que, en 1992, más de 13.000 pacientes de hospitales fallecieron por infecciones bacterianas que eran resistentes al tratamiento con antibióticos (Lewis, "The Rise of Antibiotic-Resistant Infections", revista FDA Consumer, septiembre de 1995).

Como consecuencia de la necesidad de combatir a las bacterias resistentes a los fármacos y de la creciente inadecuación de los fármacos disponibles, ha habido un interés renaciente en el descubrimiento de nuevos antibióticos. Una estrategia atractiva para el desarrollo de nuevos antibióticos es inhibir la girasa del ADN, enzima bacteriana necesaria para la replicación del ADN y, por lo tanto, necesaria para el desarrollo y la división celulares de las bacterias. La actividad de la girasa también está asociada con acontecimientos de la transcripción, la reparación y la recombinación del ADN.

La girasa es una de las topoisomerasas, grupo de enzimas que catalizan la interconversión de los isómeros topológicos del ADN (véanse, en general, Kornberg y Baker, DNA Replication, 2ª ed., capítulo 12, 1992, W.H. Freeman and Co.; Drlica, Molecular Microbiology, 1992, 6; 425; Drlica y Zhao, Microbiology and Molecular Biology Reviews, 1997, 61, 377). La propia girasa controla el superenrollamiento del ADN y libera la tensión topológica que se da cuando se desenrollan hebras de ADN de un dúplex parental durante el proceso de replicación. La girasa también cataliza la conversión del ADN dúplex circular cerrado y relajado a una forma negativamente superhelicoidal que es más favorable para la recombinación. El mecanismo de la reacción de superenrollamiento conlleva el recubrimiento de una zona del ADN con girasa, la ruptura de la doble hebra en esa zona, hacer pasar una segunda zona del ADN por la ruptura y volver a unir las hebras rotas. Un mecanismo de escisión tal es característico de una topoisomerasa de tipo II. La reacción de superenrollamiento es dirigida por el enlace de ATP con la girasa. A continuación, el ATP es hidrolizado durante la reacción. Este enlace con ATP y la hidrólisis subsiguiente causan cambios de conformación en la girasa enlazada por el ADN que son necesarios para su actividad. También se ha descubierto que el nivel de superenrollamiento (o la relajación) del ADN dependen de la proporción ATP/ADP. En ausencia de ATP, la girasa únicamente es capaz de relajar el ADN superenrollado.

La girasa de ADN bacteriano es un tetrámero proteínico de 400 kilodaltones que consiste en dos subunidades A (GyrA) y dos B (GyrB). El enlace y la escisión del ADN están asociados con la GyrA, mientras que el ATP es enlazado e hidrolizado por la proteína GyrB. La GyrB consiste en un dominio de terminaciones amino que tiene una actividad ATPasa y un dominio de terminaciones carboxi que interactúa con GyrA y el ADN. En cambio, las topoisomerasas eucarióticas de tipo II son homodímeros que pueden relajar superenrollamientos negativos y positivos, pero que no pueden introducir superenrollamientos negativos. Lo ideal sería que un antibiótico basado en la inhibición de la girada del ADN bacteriano fuese selectivo de esta enzima y que fuera relativamente inactivo contra las topoisomerasas eucarióticas de tipo II.

Los antibióticos de quinolona, de uso generalizado, inhiben la girasa del ADN bacteriano. Los ejemplos de quinolonas incluyen los primeros compuestos, como el ácido nalidíxico y el ácido oxolínico, al igual que las posteriores y más potentes fluoroquinolonas, como la norfloxacina, la ciprofloxacina y la trovafloxacina. Estos compuestos se enlazan con la GyrA y estabilizan el complejo escindido, inhibiendo así la función global de la girasa, lo que lleva a la muerte celular. Sin embargo, también se ha reconocido que la resistencia a los fármacos es un problema para esta clase de compuestos (informe de la OMS, "Use of Quinolones in Food Animals and Potential Impact on Human Health", 1998). Con las quinolonas, igual que con otros clases de antibióticos, las bacterias expuestas a los primeros compuestos desarrollan a menudo rápidamente resistencia cruzada a compuestos más potentes de la misma clase.

Hay menos inhibidores conocidos que se enlacen con la GyrB. Los ejemplos incluyen las cumarinas, la novobiocina y la cumermicina A1, la ciclotialidina, la cinodina y la clerocidina. Se ha demostrado que las cumarinas se enlazan de manera muy estrecha con la GyrB. Por ejemplo, la novobiocina crea una red de enlaces de hidrógeno con la proteína y varios contactos hidrófobos. Aunque la novobiocina y el ATP parecen realmente enlazarse dentro del emplazamiento de enlace del ATP, hay un solapamiento mínimo en la orientación del enlace de los dos componentes. Las porciones que se solapan son la unidad de azúcar de la novobiocina y la adenina de ATP (Maxwell, Trends in Microbiology, 1997, 5, 102).

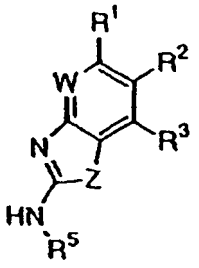
Para las bacterias resistentes a la cumarina, la mutación puntual más frecuente es en un residuo de arginina superficial que se enlaza con el carbonilo del anillo de cumarina (Arg136 en la GyrB de *E. coli*). Aunque las enzimas con esta mutación muestran un superenrollamiento y una actividad ATPasa inferiores, son también menos sensibles a la inhibición por fármacos de cumarina (Maxwell, Mol. Microbiol., 1993, 9, 681).

A pesar de ser potentes inhibidores del superenrollamiento de la girasa, las cumarinas no se han empleado de forma generalizada como antibióticos. Por lo general no resultan adecuadas, dada su baja permeabilidad a las bacterias, su toxicidad eucariótica y su baja solubilidad en agua (Maxwell, Trends in Microbiology, 1997, 5, 102). Sería deseable que hubiera un nuevo inhibidor efectivo de la GyrB que supere estos inconvenientes y, preferiblemente, que no dependa del enlace con Arg136 para su actividad. Tal inhibidor sería un candidato antibiótico atractivo, sin una historia de problemas de resistencia que acosan a otras clases de antibióticos.

Dado que la resistencia bacteriana a los antibióticos se ha convertido en un importante problema de la salud pública, existe una continua necesidad de desarrollar antibióticos nuevos y más potentes. Más particularmente, existe la necesidad de antibióticos que representen una nueva clase de compuestos que no se hayan usado previamente para tratar infecciones bacterianas. Tales compuestos resultarían especialmente útiles para tratar infecciones nosocomiales en los hospitales, en los que la formación y la transmisión de bacterias resistentes están llegando a ser crecientemente generalizadas.

Descripción de la invención

Se ha descubierto que los compuestos de la presente invención y las composiciones farmacéuticas de los mismos son útiles en el tratamiento de infecciones bacterianas. Una realización de la presente invención tiene que ver con un compuesto de la fórmula I:



I

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que

Z es N-R^4 u O

W es CR^a

R^a es hidrógeno

R^4 es hidrógeno

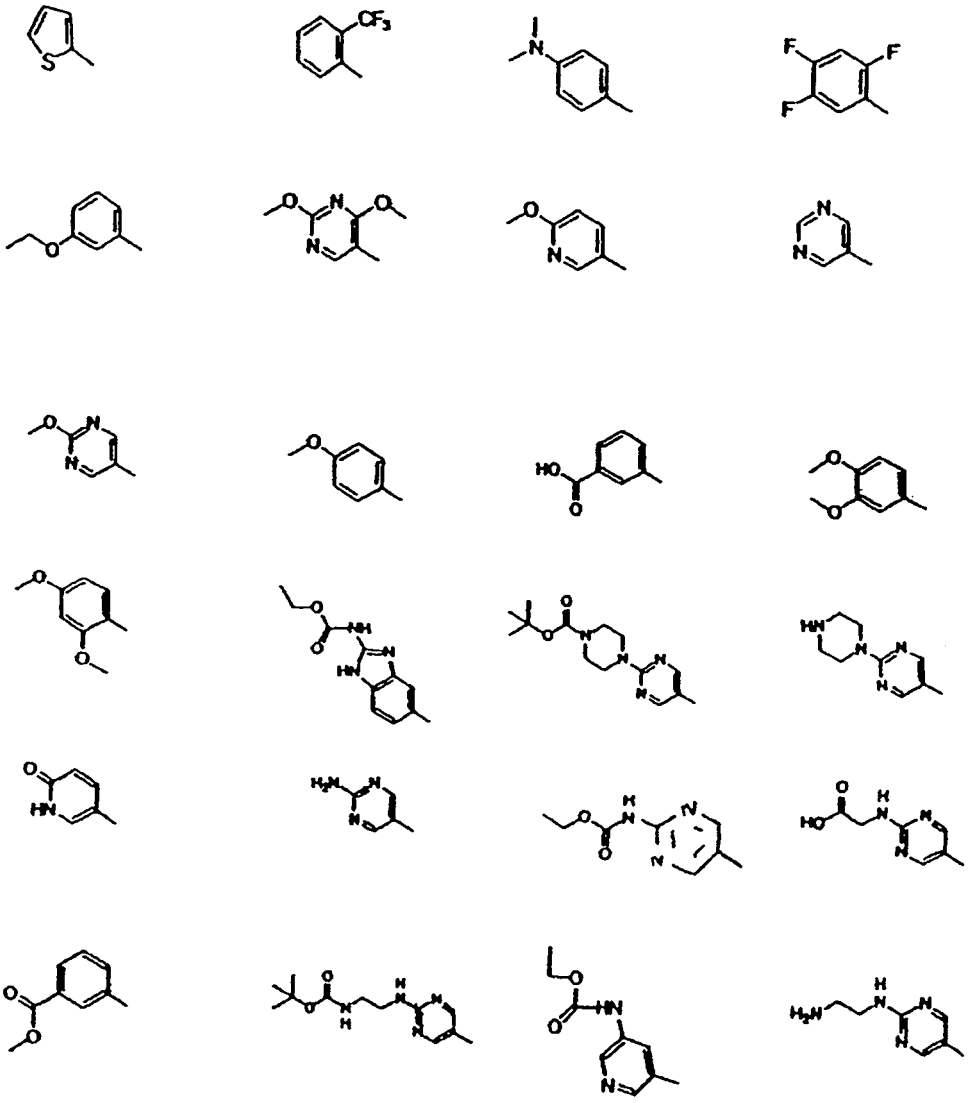
R^2 es hidrógeno,

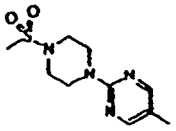
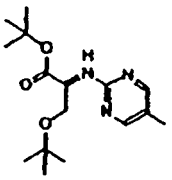
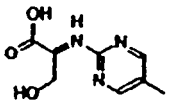
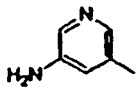
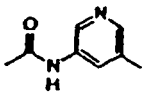
en la que, cuando Z es O,

R^1 es fenilo, R^3 es hidrógeno y R^5 es $CO_2CH_2CH_3$,

cuando Z es N-R^4,

R^3 es hidrógeno, R^5 es $CO_2CH_2CH_3$ y R^1 es un grupo seleccionado entre fenilo y 2-, 3- o 4-piridina,



cuando Z es N-R^4 y R^3 es bromuro o C_3H_7, R^5 es $CO_2CH_2CH_3$ y R^1 es fenilo;

cuando Z es N-R^4 y R^3 es bromuro, R^5 es $CO_2CH_2CH_3$ y R^1 es 3-piridina;

cuando Z es N-R^4, R^3 es hidrógeno, R^1 es fenilo, R^5 es CO_2CH_3 o CO_2CH_2-C≡CH

para su uso en el tratamiento de una infección bacteriana.

Tal como se usan en el presente documento, se aplicarán las siguientes definiciones, a no ser que se indique lo contrario. Además, a no ser que se indique lo contrario, los radicales de los grupos funcionales se seleccionan de forma independiente.

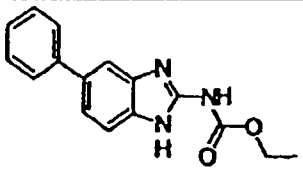
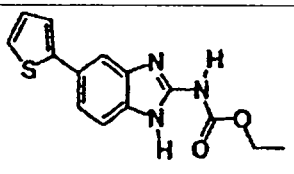
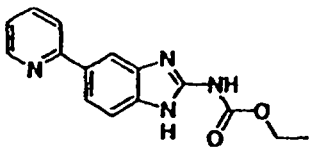
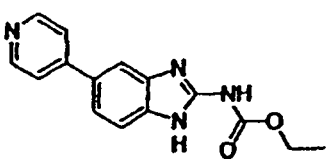
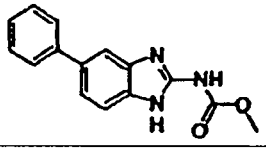
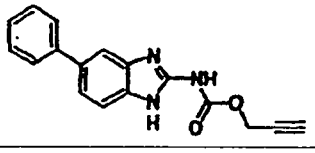
Una combinación de sustituyentes o variables es permisible únicamente si tal combinación resulta en un compuesto estable o químicamente viable. Un compuesto estable o compuesto químicamente viable es aquel que no se ve alterado de forma sustancial cuando se guarda a una temperatura de 40ºC o menos, en ausencia de humedad o de otras situaciones químicamente reactivas, durante al menos una semana.

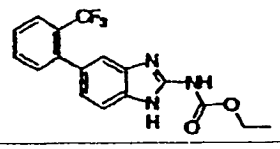
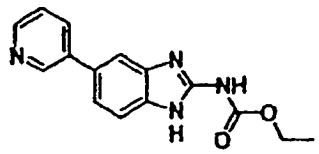
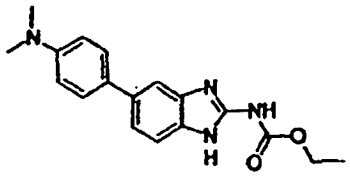
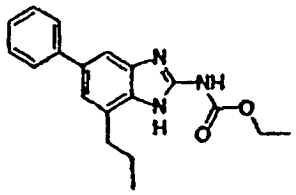
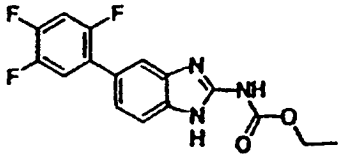
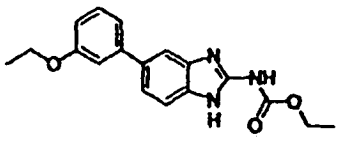
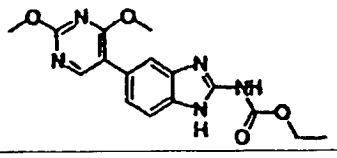
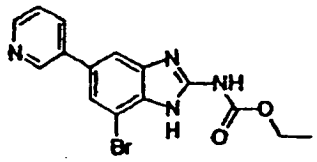
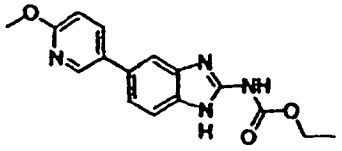
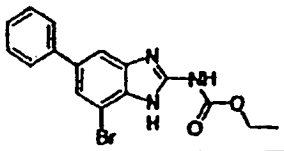
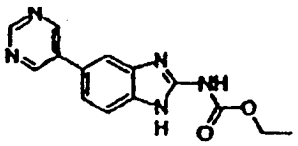
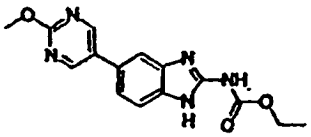
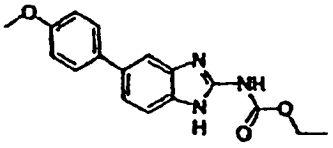
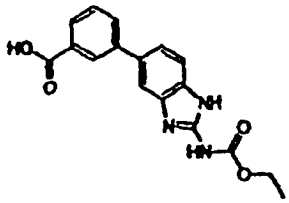
Será evidente para una persona versada en la técnica que ciertos compuestos de esta invención pueden existir en formas tautoméricas, estando todas las formas tautoméricas tales de la invención dentro del ámbito de la invención.

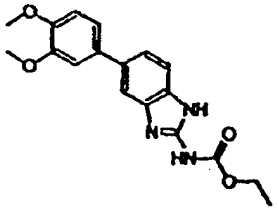
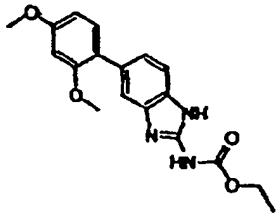
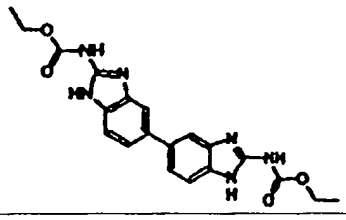
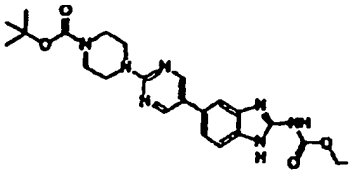
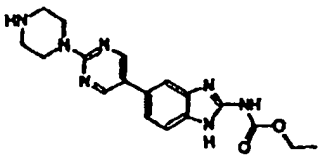
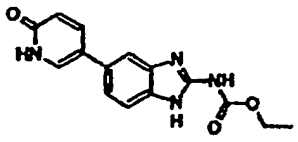
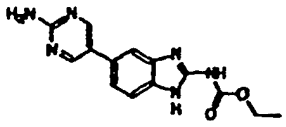
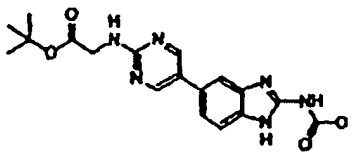
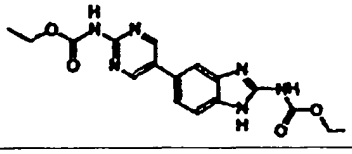
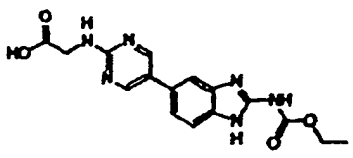
A no ser que se afirme lo contrario, las estructuras representadas en el presente documento se pretende que incluyan también todas las formas estereoquímicas de la estructura, es decir, las configuraciones R y S de cada centro asimétrico. Por lo tanto, los isómeros esteroquímicos únicos, al igual que las mezclas enantioméricas y diasteroméricas de los presentes compuestos están dentro del ámbito de la invención. A no ser que se afirme lo contrario, las estructuras representadas en el presente documento se pretende que incluyan compuestos que difieren únicamente en la presenta de uno o más átomos enriquecidos de forma isotópica. Por ejemplo, los compuestos que tienen las presentes estructuras salvo en la sustitución de un hidrógeno por un deuterio o un tritio, o la sustitución de un carbono con un carbono enriquecido con ^{13}C o ^{14}C, están dentro del ámbito de la presente invención.

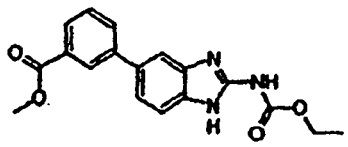
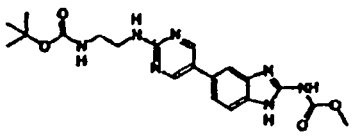
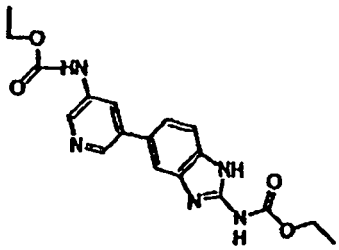
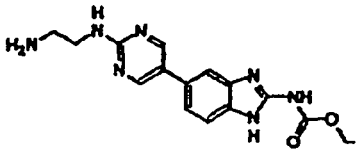
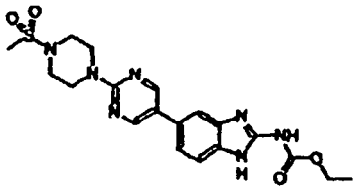
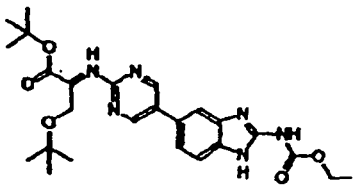
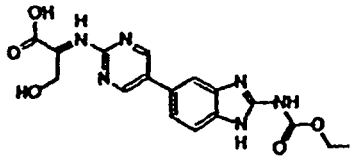
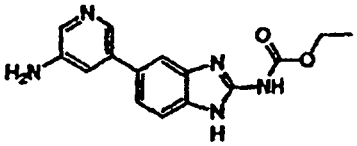
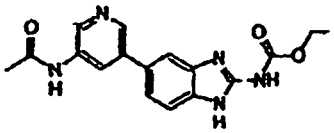
Los compuestos seleccionados de la fórmula I se presentan a continuación en la Tabla 1.

TABLA 1

Nº Ia-	Estructura	Nº Ia-	Estructura
1		2	
3		4	
7		8	

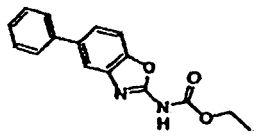
Nº Ia-	Estructura	Nº Ia-	Estructura
9		10	
11		12	
13		14	
15		16	
17		18	
19			
21		22	
23		24	

Nº Ia-	Estructura	Nº Ia-	Estructura
		26	
27			
67			
69		70	
71		72	
		76	
77			
		80	

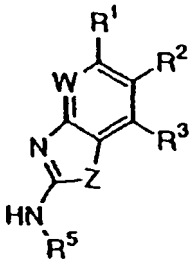
Nº Ia-	Estructura	Nº Ia-	Estructura
81			
		86	
87		88	
91			
93		94	
115			
122			

Se muestra un compuesto seleccionado de la fórmula I en la Tabla 2 a continuación.

TABLA 2

Nº Ib-	Estructura
1	

Otra realización de esta invención tiene que ver con un compuesto de la fórmula:



I

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que

Z es N-R^4 u O

W es CR^a

R^a es hidrógeno

R^4 es hidrógeno

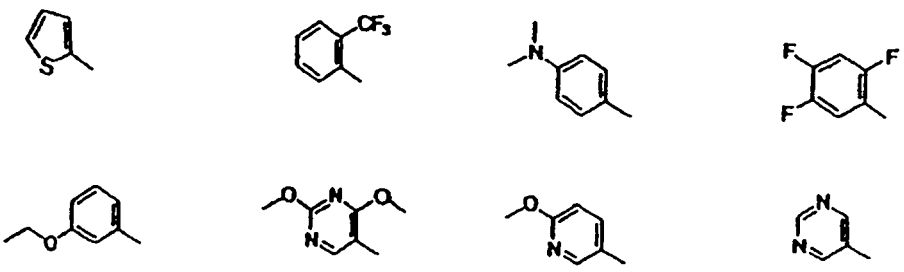
R^2 es hidrógeno,

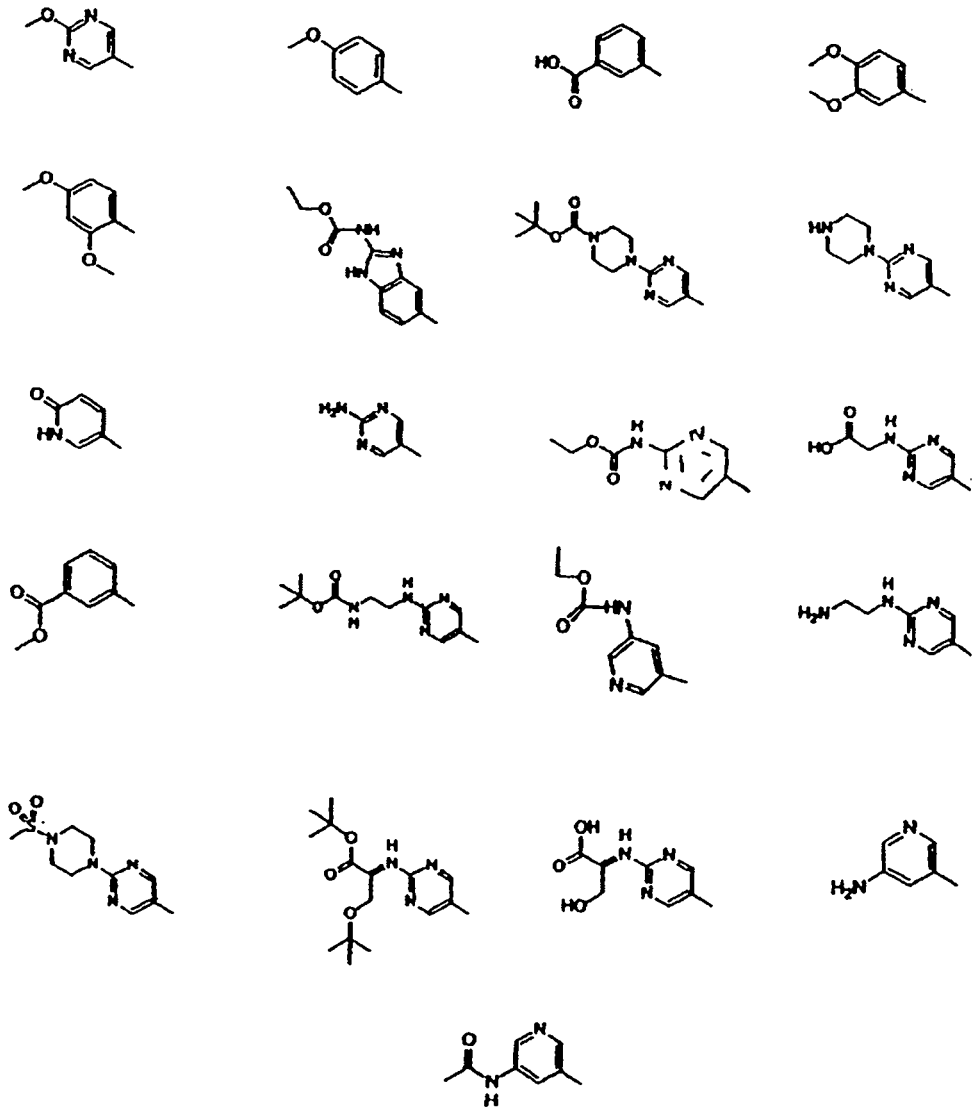
en la que, cuando Z es O,

R^1 es fenilo, R^3 es hidrógeno y R^5 es $CO_2CH_2CH_3$,

cuando Z es N-R^4,

R^3 es hidrógeno, R^5 es $CO_2CH_2CH_3$ y R^1 es un grupo seleccionado entre fenilo y 2-, 3- o 4-piridina,





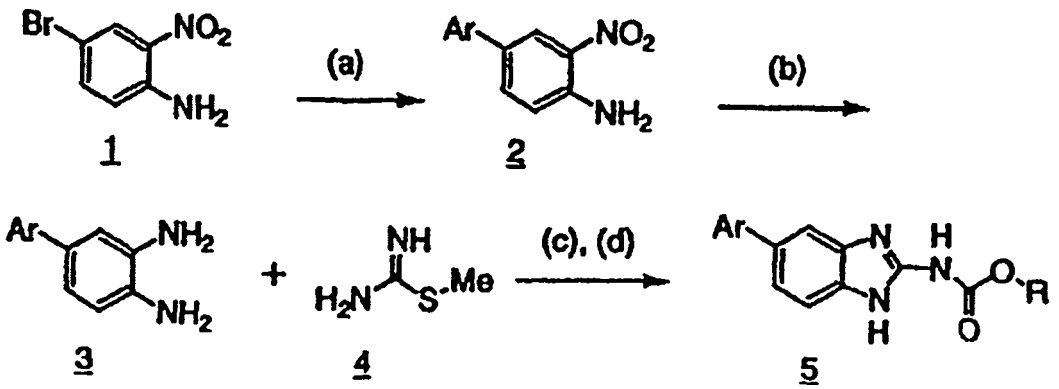
cuando Z es N-R^4 y R^3 es bromuro o C_3H_7, R^5 es $CO_2CH_2CH_3$ y R^1 es fenilo;

cuando Z es N-R^4 y R^3 es bromuro, R^5 es $CO_2CH_2CH_3$ y R^1 es 3-piridina;

cuando Z es N-R^4, R^3 es hidrógeno, R^1 es fenilo, R^5 es CO_2CH_3 o CO_2CH_2-C≡CH.

Los compuestos de la presente invención pueden ser preparados en general mediante los procedimientos conocidos a las personas versadas en la técnica para compuestos análogos, tal como se ilustra mediante los Esquemas generales I a VII, mostrados a continuación. Los detalles de las condiciones usadas para preparar estos compuestos se presentan en los Ejemplos.

Esquema I



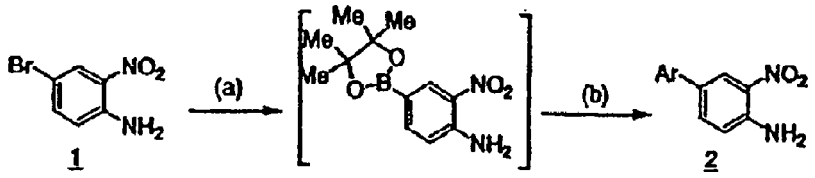
Reactivos y condiciones: (a) Ácido Ar-borónico, $PdCl_2$(dppf), K_3PO_4, DMF, 95ºC, 18 horas; (b) 275,79 kPa H_2, 10% Pd/C, EtOAc; (c) ROCOC1, NaOH, H_2O, 0ºC; (d) p-TsOH, ROH, reflujo, 1 hora.

Se preparan los compuestos 2 tratando una solución de 4-bromo-2-nitroanilina (1) en DMF con ácido arilborónico (1,2 equivalentes), fosfato potásico (1,3 equivalentes) y dicloro-(difenilfosfinoferroceno)paladio (0,1 equivalente). La mezcla resultante es calentada a 95ºC durante 18 horas, después enfriada a temperatura ambiente y diluida con acetato de etilo. El producto crudo es aislado mediante tratamiento acuoso y luego concentrado al vacío. El concentrado se purifica mediante cromatografía de gel de sílice para obtener 2. Una amplia variedad de sustituciones en el anillo arilo es susceptible a esta reacción. Los ejemplos de grupos arilo adecuados sustituidos y sin sustituir incluyen los presentados en la Tabla 1 más arriba.

El compuesto 3 se prepara tratando una solución de 2 en acetato de etilo con un 10% de paladio en carbono (0,1 g/mmol), y la suspensión resultante es hidrogenada a 275,79 kPa mientras se agita a temperatura ambiente durante 2 horas. El catalizador es eliminado mediante filtración, y el filtrado es concentrado al vacío para dar 3.

Los compuestos de la fórmula 5 son preparados preparando en primer lugar una solución de 2-metil-2-tiopseudourea (4,1 equivalentes) y alquilcloroformato (2 equivalentes) en agua a 0ºC. A esta solución se añade gota a gota un hidróxido sódico acuoso al 25% durante 1 hora hasta que el pH se estabilice a 8. A continuación, se añade ácido acético para lograr un pH de 5, y luego se añaden trihidrato de acetato sódico (1 equivalente) y una solución de 3 (1 equivalente) en ROH. Se añade ácido *p*-toluensulfónico (cantidad catalítica) y la mezcla resultante es calentada a reflujo durante 1 hora. La mezcla de la reacción se enfría entonces a temperatura ambiente y se diluye con acetato de etilo. Tras el tratamiento acuoso, el producto crudo es purificado mediante HPLC preparativa para dar 5.

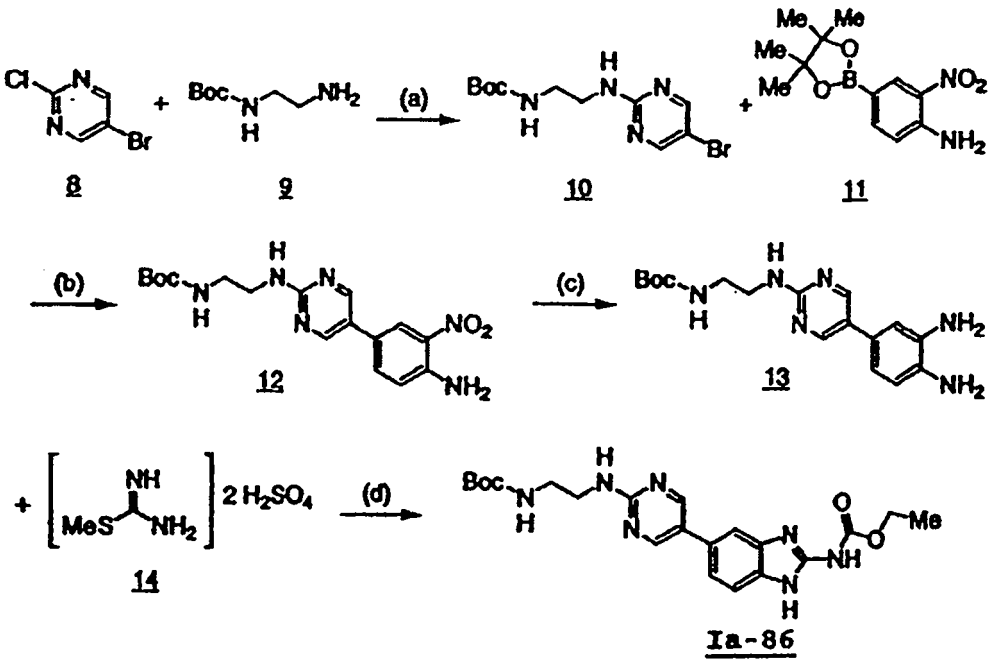
Esquema II



Reactivos y condiciones: (a) bis(pinacolato)diboro, KOAc, $PdCl_2$(dppf), DMSO, 80ºC; (b) ArBr, K_3PO_4, PdCl2 (dppf), DMSO, 95ºC.

El esquema II anterior muestra un procedimiento alternativo para preparar el compuesto 2. El material 1 de partida (1 equivalente) es combinado con bis(pinacolato)diboro (1,2 equivalentes), $PdCl_2$(dppf) (0,1 equivalente) y KOAc (3 equivalentes) en DMSO, y la mezcla resultante se caliente a 80ºC durante 18 horas. La mezcla de la reacción es enfriada a temperatura ambiente y después se añade bromuro de arilo (1,1 equivalentes), seguido por la adición adicional de K_3PO_4 (3 equivalentes) y $PdCl_2$(dppf) (0,1 equivalente). La mezcla resultante es calentada a 95ºC durante otras 72 horas y luego se deja enfriar a temperatura ambiente. La purificación mediante cromatografía da el compuesto 2.

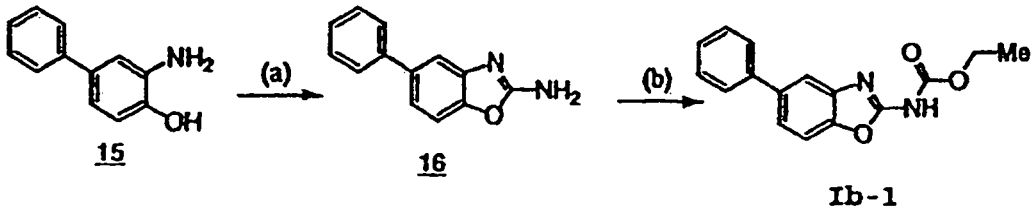
Esquema IV



Reactivos y condiciones: (a) EtOH, 80ºC, 4 horas; b) $PdCl_2$(dppf), K_3PO_4, 95ºC, 48 horas; (c) Pd/C, ArBr, H_2, 344,74 kPa, 6 horas; (d) 2-metil-2-tiopseudourea (14), EtOCOC1, 80ºC, 18 horas.

Usando la preparación del compuesto número Ia-86 para ilustrar, el Esquema IV anterior muestra un procedimiento general que puede ser seguido para preparar compuestos de la fórmula I. El compuesto 10 se prepara a partir de 5-bromo-2-cloropirimidina (8) y N-Boc-etilendiamina (9) calentando una mezcla de 8 y 9 en etanol a 80ºC durante 4 horas. El compuesto 12 se prepara a partir de 10 y 11 conforme a un procedimiento descrito en el Esquema II. El compuesto 12 se usa para preparar Ia-86 por medio de los pasos (c) y (d) conforme a los pasos (b) y (c) del Esquema I.

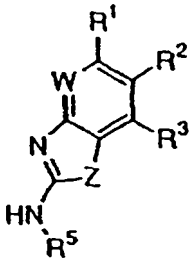
Esquema V



Reactivos y condiciones: (a) BrCN, THF, MeOH, agua, temperatura ambiente; (b) EtOCOC1, piridina.

Usando la preparación del compuesto número Ib-1 para ilustrar, el Esquema V anterior muestra un procedimiento general que puede ser empleado para preparar compuestos de la fórmula I. El compuesto 16 se prepara calentando 15 con bromuro de cianógeno en acetonitrilo a temperatura ambiente durante la noche. El tratamiento acuoso da 16. El compuesto Ib-1 se prepara tratando 16 con etilcloroformato en piridina.

Conforme a otra realización, la presente invención proporciona un procedimiento para disminuir la cantidad de bacterias en una muestra biológica *ex vivo*. Este procedimiento comprende el paso de poner en contacto dicha muestra biológica con un compuesto de la fórmula I:



I

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que

Z es N-R^4 u O

W es CR^a

R^a es hidrógeno

R^4 es hidrógeno

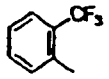
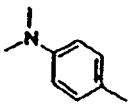
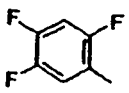
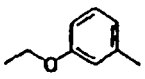
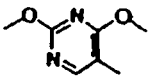
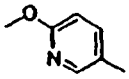
R^2 es hidrógeno,

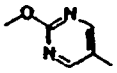
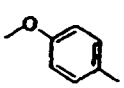
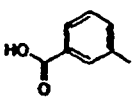
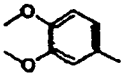
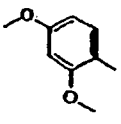
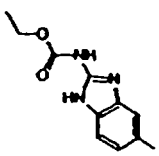
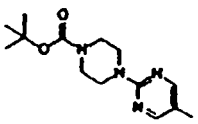
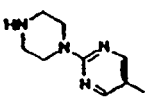
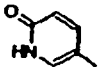
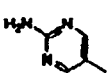
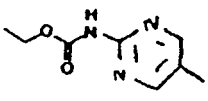
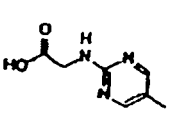
en la que, cuando Z es O,

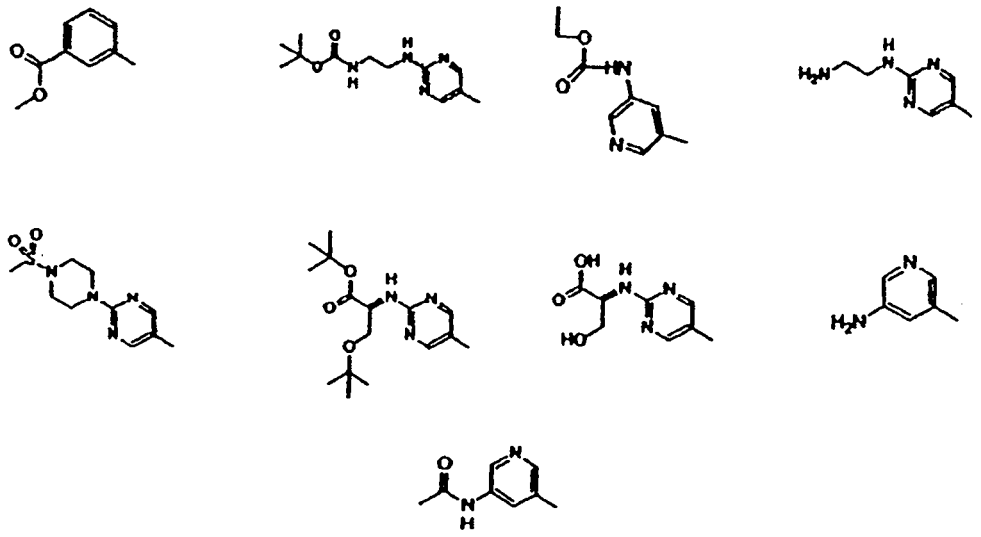
R^1 es fenilo, R^3 es hidrógeno y R^5 es $CO_2CH_2CH_3$,

cuando Z es N-R^4,

R^3 es hidrógeno, R^5 es $CO_2CH_2CH_3$ y R^1 es un grupo seleccionado entre fenilo y 2-, 3- o 4-piridina,



cuando Z es N-R^4 y R^3 es bromuro o C_3H_7, R^5 es $CO_2CH_2CH_3$ y R^1 es fenilo;

cuando Z es N-R^4 y R^3 es bromuro, R^5 es $CO_2CH_2CH_3$ y R^1 es 3-piridina;

cuando Z es N-R^4, R^3 es hidrógeno, R^1 es fenilo, R^5 es CO_2CH_3 o CO_2CH_2-C≡CH

La expresión "muestra biológica", tal como se usa en el presente documento, incluye cultivos celulares o extractos de los mismos; material de biopsia obtenido de un mamífero, o extractos del mismo; y sangre, saliva, orina, heces, semen, lágrimas u otros fluidos corporales o extractos de los mismos.

Una realización preferida comprende poner en contacto dicha muestra biológica *ex vivo* con un compuesto enumerado ya sea en la Tabla 1 o en la 2. A continuación se describen composiciones farmacéuticas útiles para tales procedimientos o usos.

Los compuestos de la presente invención son inhibidores potentes de la girasa, según se determina mediante un ensayo enzimático. También se ha demostrado que estos compuestos tienen actividad antimicrobiana en un ensayo de susceptibilidad antimicrobiana. Los detalles de las condiciones empleadas tanto para el ensayo enzimático como para la susceptibilidad antimicrobiana se presentan en los Ejemplos más abajo.

Los inhibidores de la girasa de la presente invención, o las sales farmacéuticas de los mismos, pueden ser formulados en composiciones farmacéuticas para su administración a animales o a seres humanos. Estas composiciones farmacéuticas efectivas para tratar o prevenir una infección bacteriana que comprenden un inhibidor de la girasa en una cantidad suficiente para disminuir de forma mensurable la cantidad de bacterias y un vehículo farmacéuticamente aceptable son otra realización de la presente invención. La expresión "disminuir de forma mensurable la cantidad de bacterias", tal como se usa en el presente documento, significa un cambio mensurable en el número de bacterias entre una muestra que contiene dicho inhibidor y una muestra que contiene únicamente bacterias.

Se conocen agente que aumentan la susceptibilidad de los organismos bacterianos a los antibióticos. Por ejemplo, la patente de Estados Unidos nº 5.523.288, la patente de Estados Unidos nº 5.783.561 y la patente de Estados Unidos nº 6.140.306 describen procedimientos de uso de proteínas de potenciación bactericida/permeabilidad (BPI) para aumentar la susceptibilidad a los antibióticos de las bacterias grampositivas y gramnegativas. Los agentes que aumentan la permeabilidad de la membrana exterior de los organismos bacterianos han sido descritos por Vaara, M. en Microbiological Reviews (1992) pp. 395-411, y la sensibilización de las bacterias gramnegativas ha sido descrita por Tsubery, H. *et al*, en J. Med. Chem. (2000) pp. 3085-3092.

Otra realización preferida de la presente invención está relacionada con un compuesto, como se ha descrito más arriba, para su uso en el tratamiento de una infección bacteriana en un mamífero en necesidad del mismo, pero que además comprende un agente que aumenta la susceptibilidad de los organismos bacterianos a los antibióticos.

Conforme a otra realización preferida, la invención proporciona un procedimiento, como se ha descrito más arriba, para disminuir la cantidad de bacterias en una muestra biológica *ex vivo*, pero que además comprende el paso de poner en contacto dicha muestra biológica con un agente que aumenta la susceptibilidad de los organismos bacterianos a los antibióticos.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención serán útiles generalmente para controlar infecciones bacterianas *in vivo*. Ejemplos de organismos bacterianos que pueden ser controlados mediante las composiciones y los procedimientos de la presente invención incluyen los organismos siguientes: *Streptococcus pneumoniae, Streptococcus pyrogenes*, *Enterococcus fecalis, Enterococcus faecium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter sps. Proteus sps. Pseudomonas aeruginosa, E. coli, Serratia marcesens, Staphylococcus aureus, Coag. Neg. Staph, Haemophilus infuenzae*, *Bacillus anthracis*. *Mycoplasma pneumoniae* y *Staphylococcus epidermitidis*. Por lo tanto, la composición resultará útil para controlar, tratar o reducir el avance, la severidad o los efectos de infecciones nosocomiales o no nosocomiales. Ejemplos de usos nosocomiales incluyen las infecciones del tracto urinario, la neumonía, las infecciones de heridas quirúrgicas y la bacteriemia. Ejemplos de usos no nosocomiales incluyen las infecciones del tracto urinario, la neumonía, la prostatitis, las infecciones de la piel y los tejidos blandos, las infecciones intraabdominales y la terapia de pacientes neutropénicos febriles.

Una sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto de la presente invención es cualquiera que, tras la administración a un paciente, sea capaz de proporcionar, ya sea directa o indirectamente, un compuesto de esta invención. Sales particularmente favorecidas son las que aumentan la biodisponibilidad de los compuestos de la presente invención cuando tales compuestos son administrados a un mamífero (por ejemplo, permitiendo que un compuesto administrado por vía oral sea absorbido con más facilidad en la sangre) o las que potencian la distribución del compuesto madre a un compartimento biológico (por ejemplo, el cerebro o el sistema linfático) con respecto a la especie madre.

Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la presente invención incluyen las sales metálicas.

Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la presente invención incluyen las derivadas de ácidos y bases inorgánicos y orgánicos farmacéuticamente aceptables. Ejemplos de sales ácidas adecuadas incluyen el acetato, el adipato, el alginato, el aspartato, el benzoato, el bencensulfonato, el bisulfato, el butirato, el citrato, el canforato, el canforsulfonato, el ciclopentanopropionato, el digluconato, el dodecilsulfato, el etanosulfonato, el formato, el fumarato, el glucoheptanoato, el glicerofosfato, el glicolato, el hemisulfato, el heptanoato, el hexanoato, el hidrocloruro, el hidrobromuro, el hidroyoduro, el 2-hidroxietanosulfonato, el lactato, el maleato, el malonato, el metanosulfonato, el 2-naftalenosulfonato, el nicotinato, el nitrato, el palmoato, el pectinato, el persulfato, el 3-fenilpropionato, el fosfato, el picrato, el pivalato, el propionato, el salicilato, el succinato, el sulfato, el tartrato, el tiocianato, el tosilato y el undecanoato. Otros ácidos, como el oxálico, aunque no son en sí mismos farmacéuticamente aceptables, pueden ser empleados en la preparación de sales útiles como intermediarias en la obtención de los compuestos de la invención y de sus sales de adición ácida aceptables.

Las sales derivadas de bases apropiadas incluyen los metales alcalinos (por ejemplo, el sodio y el potasio), los metales alcalinos térreos (por ejemplo, el magnesio), el amoniaco y las sales de N+(alquilo C_{1-4})$_4$. La presente invención también contempla la cuaternización de cualquier grupo que contenga nitrógeno de los compuestos dados a conocer en el presente documento. Los productos solubles en agua o en aceite o dispersables pueden ser obtenidos por tal cuaternización.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención comprenden un compuesto de la fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Tales agentes incluyen un antibiótico, un agente antiinflamatorio, un inhibidor de metaloproteasas de matriz, un inhibidor de lipoxigenasas, un antagonista de la citoquina, un inmunosupresor, un agente anticancerígeno, un agente antiviral, una citoquina, un factor del crecimiento, un inmunomodulador, una prostaglandina o un compuesto de hiperproliferación antivascular.

La expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable" se refiere a un vehículo no tóxico que pueda ser administrado a un paciente, junto con un compuesto de la presente invención, y que no destruya la actividad farmacológica del mismo.

Los vehículos farmacéuticamente aceptables que pueden ser usados en las composiciones farmacéuticas de la presente invención incluyen los intercambiadores de iones, la alúmina, el estearato de aluminio, la lecitina, las proteínas séricas, como la albúmina sérica humana, las sustancias tampón como los fosfatos, la glicina, el ácido sórbico, el sorbato potásico, las mezclas parciales de glicéridos de los ácidos grasos saturados de origen vegetal, el agua, las sales o los electrolitos, como el sulfato de protamina, el fosfato ácido disódico, el fosfato ácido potásico, el cloruro sódico, las sales de cinc, la sílice coloidal, el trisilicato de magnesio, la pirrolidona de polivinilo, las sustancias de base celulósica, el glicol de polietileno, la carboximetilcelulosa de sodio, los poliacrilatos, las ceras, los polímeros en bloque de polietileno-polioxipropileno, la lanolina anhidra y los sistemas autoemulsionantes de administración de fármacos (SEDDS) como el α-tocoferol, el polietilenglicol-1000 succinato u otras matrices poliméricas de distribución similares.

La expresión "cantidad farmacéuticamente efectiva" se refiere a una cantidad efectiva en el tratamiento o la mejora de una infección bacteriana en un paciente. La expresión "cantidad profilácticamente efectiva" se refiere a una cantidad efectiva en la prevención o en la aminoración de una infección bacteriana en un paciente.

Dependiendo de la condición particular o del estado de la enfermedad que deban tratarse o prevenirse, pueden administrarse, junto con los inhibidores de la presente invención, agentes terapéuticos adicionales que se administren normalmente para tratar o prevenir esa condición. Tales agentes terapéuticos incluyen un antibiótico, un agente antiinflamatorio, un inhibidor de metaloproteasas de matriz, un inhibidor de lipoxigenasas, un antagonista de la cito-

quina, un inmunosupresor, un agente anticancerígeno, un agente antiviral, una citoquina, un factor del crecimiento, un inmunomodulador, una prostaglandina o un compuesto de hiperproliferación antivascular.

Los compuestos de la presente invención pueden ser empleados de una manera convencional para controlar niveles de infecciones bacterianas *in vivo* y para tratar enfermedades o reducir el avance o la severidad de los efectos que están mediados por bacterias. Tales usos, sus niveles de dosificación y sus requerimientos pueden ser seleccionados por las personas con un dominio normal de la técnica a partir de los procedimientos y las técnicas disponibles.

Por ejemplo, un compuesto de la presente invención puede combinarse con un adyuvante farmacéuticamente aceptable para su administración a un paciente que padezca una infección o una enfermedad bacterianas de una manera farmacéuticamente aceptable y en una cantidad efectiva para aminorar la severidad de esa infección o esa enfermedad.

De modo alternativo, los compuestos de la presente invención pueden ser usados en composiciones y usados para tratar o proteger a individuos contra infecciones o enfermedades bacterianas durante lapsos prolongados. Los compuestos pueden ser empleados en tales composiciones ya sea solos o conjuntamente con otros compuestos de la presente invención de una manera coherente con la utilización convencional de los inhibidores de enzimas en las composiciones farmacéuticas. Por ejemplo, un compuesto de la presente invención puede combinarse con adyuvantes farmacéuticamente aceptables empleados convencionalmente en vacunas y administrados en cantidades profilácticamente efectivas para proteger individuos durante lapsos prolongados contra las infecciones o las enfermedades bacterianas.

Los compuestos de la fórmula I pueden ser también administrados conjuntamente con otros antibióticos para aumentar el efecto de la terapia o la profilaxis contra diversas infecciones bacterianas. Cuando los compuestos de la presente invención son administrados en terapias de combinación con otros agentes, pueden ser administrados al paciente de forma subsiguiente o concurrente. Alternativamente, las composiciones farmacéuticas o profilácticas conforme a la presente invención comprenden una combinación de un compuesto de la fórmula I y de otro agente terapéutico o profiláctico.

Los agentes terapéuticos adicionales descritos más arriba pueden ser administrados por separado, como parte de un régimen de dosis múltiple, de la composición que contiene el inhibidor. Alternativamente, estos agentes puede ser parte de una única vía de administración, mezclados con el inhibidor en una única composición.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden ser administradas de forma oral, parenteral, mediante un nebulizador de inhalación, por vía tópica, rectal, nasal, bucal, vaginal o mediante un depósito implantado. Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden contener cualquier excipiente, adyuvante o vehículo no tóxico farmacéuticamente aceptable convencional. En algunos casos, el pH de la formulación puede ajustarse con ácidos, bases o tampones farmacéuticamente aceptables para potenciar la estabilidad del compuesto formulado o de su vía de distribución. El término parenteral, tal como se usa en el presente documento, incluye la inyección o las técnicas de infusión subcutáneas, intracutáneas, intravenosas, intramusculares, intraarticulares, intrasinoviales, intraesternales, intratecales, intralesionales e intracraneales.

Las composiciones farmacéuticas pueden tener la forma de una preparación inyectable estéril, por ejemplo, como una suspensión inyectable estéril acuosa u oleaginosa. Esta suspensión puede estar formulado conforme a técnicas conocidas en la técnica usando agentes dispersantes o humectantes adecuados (como, por ejemplo, Tween 80) y agentes de suspensión. La preparación inyectable estéril puede ser también una solución o una suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente no tóxico parenteralmente aceptable como, por ejemplo, una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos o disolventes aceptables que pueden ser empleados figuran el manitol, el agua, la solución de Ringer y una solución isotónica de cloruro sódico. Además, convencionalmente se emplean aceites estériles fijos como disolvente o medio de suspensión. Con este fin, puede emplearse cualquier aceite fijo suave, incluidos los mono- y diglicéridos sintéticos. Los ácidos grasos, como el ácido oleico y sus derivados glicéridos, son útiles en la preparación de inyectables, igual que los aceites naturales farmacéuticamente aceptables, como el aceite de oliva o el aceite de ricino, especialmente en sus versiones polioxietiladas. Estas soluciones o suspensiones de aceites pueden contener también un diluyente o dispersante alcohólico de cadena larga, como los descritos en Pharmacopeia Helvetica, o en un alcohol similar.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden ser administradas oralmente en cualquier forma de dosificación oralmente aceptable, incluyendo cápsulas, tabletas y suspensiones y soluciones acuosas. En el caso de las tabletas para uso oral, los vehículos que se emplean comúnmente incluyen la lactosa y el almidón de maíz. También se añaden habitualmente agentes lubricantes, como el estearato de magnesio. Para la administración oral en forma de cápsula, los diluyentes útiles incluyen la lactosa y el almidón de maíz seco. Cuando las suspensiones y las soluciones acuosas y el glicol de propileno son administrados oralmente, el ingrediente activo se combina con agentes emulsionantes y de suspensión. Si se desea, pueden añadirse ciertos agentes edulcorantes y/o saborizantes y/o colorantes.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden ser administradas también en forma de supositorios para la administración rectal. Estas composiciones pueden ser preparadas mezclando un compuesto de la presente invención con un excipiente adecuado no irritante que sea sólido a temperatura ambiente, pero líquido a la temperatura rectal y que, por lo tanto, se funda en el recto para liberar los componentes activos. Tales materiales incluyen la manteca de cacao, la cera de abejas y los glicoles de polietileno.

La administración tópica de las composiciones farmacéuticas de la presente invención resulta especialmente útil cuando el tratamiento deseado compromete zonas u órganos fácilmente accesibles mediante la aplicación tópica. Para la aplicación tópica a la piel, la composición farmacéutica debería estar formulada con un ungüento adecuado que contenga los componentes activos suspendidos o disueltos en un vehículo. Los vehículos para la administración tópica del compuesto de la presente invención incluyen el aceite mineral, el petróleo líquido, el petróleo blanco, el glicol de propileno, el compuesto de polioxietileno y polioxipropileno, la cera emulsionante y el agua. Alternativamente, la composición farmacéutica puede estar formulada con una loción o una crema adecuadas que contengan el compuesto activo suspendido o disuelto en un vehículo. Los vehículos adecuados incluyen el aceite mineral, el monoestearato de sorbitán, el polisorbato 60, la cera de ésteres de cetilo, el alcohol de cetearilo, el 2-octildodecanol, el alcohol de bencilo y el agua. Las composiciones farmacéuticas de la presente invención también pueden ser aplicadas de forma tópica al tracto intestinal inferior mediante una formulación de supositorios rectales o en una formulación adecuada de enema. Los parches transdérmicos de administración tópica también están incluidos en la presente invención.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden ser administradas mediante aerosol o inhalación nasales. Tales composiciones se preparan según técnicas bien conocidas en la técnica de la formulación farmacéutica y pueden ser preparadas como soluciones en suero fisiológico, empleando alcohol de bencilo u otros conservantes adecuados, promotores de la absorción para potenciar la biodisponibilidad, fluorocarbonos y/u otros agentes solubilizantes o dispersantes conocidos en la técnica.

Niveles de dosificación de entre 0,01 y 100 mg/kg de peso corporal por día, preferentemente de entre 0,5 y 75 mg/kg de peso corporal por día, y más preferentemente de entre 1 y 50 mg/kg de peso corporal por día del compuesto del ingrediente activo son útiles en una monoterapia para la prevención y el tratamiento de infecciones bacterianas causadas por bacterias como el *Streptococcus pneumoniae,* el *Streptococcus pyrogenes*, el *Enterococcus fecalis,* el *Enterococcus faecium*, la *Klebsiella pneumoniae*, el *Enterobacter sps. Proteus sps. Pseudomonas aeruginosa, E. coli, Serratia marcesens, S. aureus* y *Coag. Neg. Staph*.

Típicamente, las composiciones farmacéuticas de la presente invención se administrarán de 1 a 5 veces por día o, de modo alternativo, como una infusión continua. O, alternativamente, las composiciones de la presente invención pueden ser administradas en una formulación pulsátil. Tal administración puede ser empleada como terapia crónica o aguda. La cantidad de ingrediente activo que puede ser combinada con los materiales vehiculares para producir una presentación de dosis única variará dependiendo del huésped tratado y del modo particular de administración. Una preparación típica contendrá del 5% al 95% del compuesto activo (p/p). Preferentemente, tales preparaciones contiene entre aproximadamente el 20% y aproximadamente el 80% del compuesto activo.

Cuando las composiciones de la presente invención comprenden una combinación de un compuesto de la fórmula I y uno o más agentes terapéuticos o profilácticos adicionales, tanto el compuesto como el agente adicional deberían estar presentes a niveles de dosis de entre el 10% y el 80% de la dosificación normalmente administrada en un régimen monoterapéutico.

Tras la mejora del estado de un paciente, puede administrarse, si es necesario, una dosis de mantenimiento de un compuesto, una composición o una combinación de la presente invención. Subsiguientemente, pueden reducirse la dosificación o la frecuencia de administración, o ambas, en función de los síntomas, hasta un nivel en el cual se mantenga la mejoría del estado. Cuando los síntomas se hayan aliviado hasta el nivel deseado, debería cesar el tratamiento. Sin embargo, los pacientes pueden requerir un tratamiento intermitente prolongado tras cualquier síntoma de recaída o de enfermedad.

Como apreciará el experto en la técnica, pueden requerirse dosis inferiores o más elevadas que las citadas más arriba. La dosificación específica y los regímenes de tratamiento para cualquier paciente concreto dependerán de una variedad de factores, incluidos la actividad del compuesto específico empleado, la edad, el peso corporal, el estado general de salud, el sexo, la dieta, el tiempo administración, la tasa de excreción, la combinación de fármacos, la severidad y el curso de la enfermedad, así como de la disposición del paciente ante la enfermedad y del juicio del médico que lo atiende.

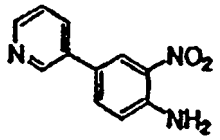
El término “paciente”, tal como se usa en el presente documento, significa un animal, preferentemente un mamífero, y más preferentemente un ser humano.

Los compuestos de la presente invención son también útiles como reactivos comerciales que se enlazan de forma efectiva a la enzima girasa B. Como reactivos comerciales, los compuestos de la presente invención, y sus derivados, pueden ser usados para bloquear la actividad de la girasa B en los ensayos bioquímicos o celulares de la girasa B o de sus homólogos o pueden ser derivados para enlazarse con una resina estable como un sustrato ligado para las aplicaciones de cromatografía de afinidad.

Para que la presente invención pueda ser comprendida más plenamente, se presentan los ejemplos siguientes. Estos ejemplos son únicamente para fines ilustrativos.

Ejemplos

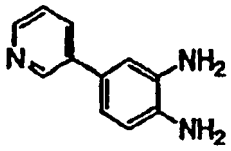
Ejemplo 1



2

4-(piridin-3-il)-2-nitroanilina (2): A una solución de 4-bromo-2-nitroanilina (217 mg, 1 mmol) en DMF (6 mL) se añadieron ácido 3-piridinborónico (148 mg, 1,2 mmol), fosfato de potasio (276 mg, 1,3 mmol) y dicloro-(difenilfosfin-ferroceno)paladio (75 mg, 0,1 mmol). La mezcla resultante fue calentada a 95ºC durante 18 horas, después enfriada a temperatura ambiente y diluida con acetato de etilo (80 mL). La solución resultante fue lavada sucesivamente con bicarbonato sódico acuoso saturado, agua y salmuera, secada sobre sulfato de magnesio y luego concentrada al vacío. El concentrado fue purificado mediante cromatografía [Gel de sílice, acetato de etilo: hexanos (1:3)→(1:2)] para dar el compuesto 2 (117 mg, 54%). ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 8,8 (d, 1H), 8,55 (m, 1H), 8,35 (d, 1H), 7,85 (dd, 1H), 7,65 (dd, 1H), 7,35 (m, 1H), 6,95 (d, 1H), 6,25 (br s, 2H).

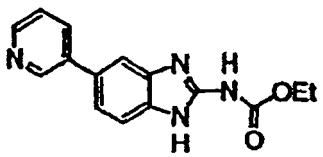
Ejemplo 2



3

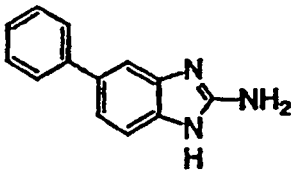
4-piridin-3-il-benceno-1,2-diamina (3): A una solución del compuesto 2 (117 mg, 0,54 mmol) en acetato de etilo (13 mL) se añadió un 10% de paladio sobre carbono (51 mg). La suspensión resultante fue puesta en un aparato de hidrogenación Parr bajo 275,79 kPa de gas hidrógeno mientras se agitaba a temperatura ambiente durante 2 horas. El catalizador fue eliminado por filtración y el filtrado concentrado al vacío para dar el compuesto 2 (115 mg, producción cuantitativa). ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 8,8 (m, 1H), 8,45 (m, 1H), 7,75 (m, 1H), 7,25 (m, 1H), 6,95 (m, 2H), 6,80 (m, 1H), 3,25 (br s, 4H).

Ejemplo 3



Éster etílico del ácido (5-piridin-3-il-1H-benzoimidazol-2-il)-carbámico (Ia-11): A una solución de 2-metil-2-tiopseudourea (151 mg, 0,54 mmol) y etilcloroformato (0,103 mL, 1,08 mmol) en agua (2 mL) a 0ºC se añadió gota a gota hidróxido sódico acuoso durante 1 hora hasta que el pH se estabilizó a 8. A continuación se añadió suficiente ácido acético para lograr un pH de 5, después se añadieron acetato de sodio trihidratado (74 mg, 0,54 mmol) y una solución de 2 (0,54 mmol) en etanol (3 mL). Se añadió una cantidad catalítica de ácido p-toluensulfónico, y la mezcla resultante fue calentada a reflujo durante 1 hora. La mezcla de la reacción se enfrió a continuación a temperatura ambiente y fue diluida con acetato de etilo (50 mL). La solución orgánica fue lavada con NaOH acuoso, agua y salmuera, y luego secada sobre sulfato de magnesio y concentrada al vacío. El producto crudo fue purificado mediante HPLC preparativa para dar el compuesto Ia-11. ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 9,1 (s, 1H), 8,75 (d, 1H), 8,5 (d, 1H), 7,9 (s, 1H), 7,8 (m, 1H), 7,65 (m, 2H), 4,3 (q, 2H), 1,3 (t, 3H). (M+1) 283.

Ejemplo 4

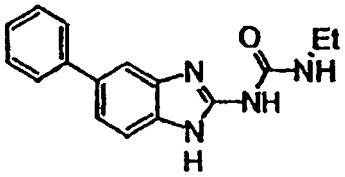


7

5-fenil-1H-bezoimidazol-2-ilamina (7): A una solución de bifenil-3,4-diamina (0,99 mmol) en THF:MeOH:agua (5 mL : 10 mL : 10 mL) se añadió bromuro de cianógeno (solución 5M en acetonitrilo, 1,06 mmol). La mezcla resultante fue removida a temperatura ambiente durante la noche. La reacción fue particionada entre EtOAc e hidróxido sódico acuoso y la capa acuosa reextraída con EtOAc. Los extractos combinados de EtOAc fueron lavados con agua y salmuera, secados sobre $MgSO_2$, luego concentrados al vacío para dar 7 (147 mg, 71%) como un sólido blanco grisáceo.

Ejemplo 5

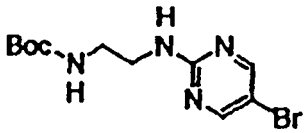
(Referencia)



Ia-84

1-etil-3-(5-fenil-18-benzoimidazol-2-il)-urea (Ia-84): A una solución de 7 (40 mg, 0,19 mmol) en THF (1 mL) se añadió isocianato de etilo (27 mL, 0,34 mmol) como una solución en THF (0,5 mL). La reacción fue calentada a reflujo durante la noche, y después concentrada al vacío. El producto crudo fue purificado mediante HPLC preparativa para dar Ia-84.

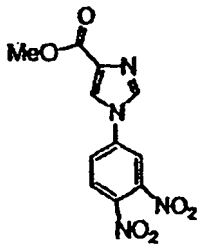
Ejemplo 6



10

Éster tert-butílico de ácido [2-(5-bromo-pirimidin-2-ilamino)-etil]-carbámico (10): Se calentó una mezcla de 5-bromo-2cloropirimidina (500 mg), N-Boc-etilendiamina (496 mg) y trietilamina (1 mL) en etanol (10 mL) a 80ºC durante 4 horas. A continuación, la reacción se concentró al vacío y el residuo fue purificado mediante HPLC preparativa (hexanos : EtOAc; 60 : 40) para dar el compuesto 10 (700 mg) como un sólido blanco.

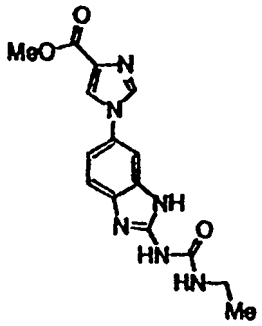
Ejemplo comparativo 7



19

Éster metílico de ácido 1-(3,4-dinitro-fenil)-1H-imidazol-4-carboxílico (19): A una solución en remoción a 0ºC de 1,2-dinitro-4-fluorobenceno (325 mg, 1,74 mmol) y metil-4-imidazolcarboxilato (200 mg, 1,59 mmol) en THF (5 mL) se añadió NaH (70 mg, 1,74 mmol) en una porción. La mezcla resultante se removió a 0ºC durante 3 horas, luego diluida con tolueno y acidulado con 6N HCl. Las fases se separaron y la fase acuosa se lavó con tolueno, se enfrió a 0ºC y se basificó con NH_4OH concentrado. Se añadió acetato de etilo y la mezcla resultante fue removida hasta que todos los sólidos fueron disueltos. Se separaron las fases, la fase orgánica fue lavada con salmuera, secada sobre Na_2SO_4, filtrada y concentrada al vacío. La mezcla de regioisómeros se separó y se purificó mediante cromatografía de destello (gel de sílice, gradiente de 5%-->20% de etanol/acetato de etilo) para dar el aducto deseado 19 (225 mg, 48%) como un sólido blanco grisáceo. ^{1}H NMR (500 MHz, dmso d6): 8,41 (1H, d); 8,13 (1H, d); 7,5 (1H, broad s); 7,28 (1H, s); 7,02 (1H, d); 3,80 (3H, s).

Ejemplo comparativo 8

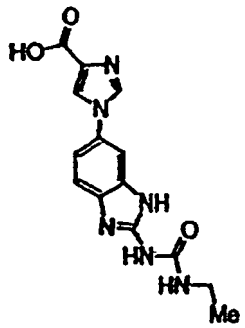


Ia-156

Éster metílico de ácido 1-[2-(3-etil-ureido)-3H-benzoimidazol-5-il]-H-imidazol-4-carboxílico (Ia-156): Se puso una mezcla de 19 (225 mg, 0,770 mmol) y 10% de Pd-C (cantidad catalítica) en MeOH (10 mL) bajo 310,26 kPa de H_2 (Agitador Parr) durante la noche. La mezcla fue filtrada, concentrada al vacío, rediluida con MeCN y MeOH (5 mL/5 mL) y tratada con bromuro de cianógeno (168 mg, 1,54 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla resultante fue removida durante 4 horas (con formación de precipitado), luego apagada mediante la adición de 7N NH_3-MeOH. El crudo de la reacción fue concentrado al vacío y directamente cromatografiado por destello (gel de sílice, gradiente de 10%-->35% de 7N NH_3-MeOH/CH_2Cl_2) para dar aminobenzimidazol puro como un sólido blanco.

El aminobenzimidazol purificado fue diluido en DMSO (1 mL), tratado con exceso de isocianato de etilo (0,5 mL) y calentado a 80ºC durante 3 horas. La reacción se enfrió a temperatura ambiente, se removió el exceso de isocianato de etilo al vacío, sometida a aceotropía con MeOH (tres veces), diluida con MeOH (5 mL), tratada con NH_4OH (2 mL) y calentada a 80ºC durante 3 horas. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se concentró al vacío, se diluyó con agua/salmuera 1/1 y se extrajo dos veces con acetato de etilo/etanol 4/1. Los extractos orgánicos combinados fueron secados sobre Na_2SO_4, filtrados, concentrados al vacío y cromatografiados por destello (gel de sílice, gradiente de 5%-->30% de 2N NH_3-EtOH/CH_2Cl_2) para dar el producto deseado Ia-156 contaminado con urea de etilo. El sólido fue triturado con agua y filtrado para dar Ia-156 puro (115 mg, 41% en cuatro pasos) como un sólido blanco. ^{1}H NMR (500 MHz, dmso-d6): 11,81 (1H, br s); 9,94 (1H, br d); 8,32 (1H, br d); 8,26 (1H, br d); 7,5-8 (1H, br d); 7,48 (1H, m); 7,28 (1H, d); 7,12 (1H, br d); 3,78 (3H, s); 3,20 (2H, dq); 1,12 (3H, t).

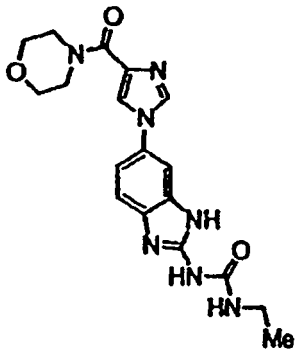
Ejemplo comparativo 9



Ia-157

Ácido 1-[2-(3-etil-ureido)-3H-benzoimidazol-5-il]-1H-imidazol-4-carboxílico ácido 1-[2-(etil-ureido)-3H-benzoimidazol-5-il]-1H-imidazol-4-carboxílico (Ia-157): Una solución de Ia-156 (95 mg, 0,289 mmol) en 6N HCl (2 mL) fue sometida a reflujo durante 6 horas. A continuación, la solución fue enfriada a temperatura ambiente, concentrada al vacío y sometida a aceotropía secuencialmente con MeOH (dos veces) y con acetona (dos veces). Los sólidos resultantes se suspendieron en acetona, se filtraron y se lavaron con acetona, seguida de hexanos para dar Ia-157 (115 mg, 100%) como un sólido blanco. ^{1}H NMR (500 MHz, dmso-d6): 8,77 (1H, m); 8,52 (1H, m); 7,79 (1H, s); 7,72 (1H, m); 7,65 (2H; m); 5,6-4,0 (2H, br s); 3,20 (2H, dt); 1,11 (3H, t).

Ejemplo comparativo 10



Ia-170

Se trató una solución de Ia-157 (20 mg, 0,051 mmol) y morfolina (0,050 mL, sobrante) en DMF (1 mL) con PyBrop (20 mg, sobrante) a temperatura ambiente. La mezcla resultante fue removida durante la noche, y después diluida con acetato de etilo : etanol 4:1, lavada con salmuera : agua 1:1 (cinco veces), secada sobre Na_2SO_4, filtrada y cromatografiada por destello (gel de sílice, gradiente de 5%-->20% de 2N NH_3-EtOH/CH_2Cl_2) para dar Ia-170 (13 mg, 72%) como un sólido blanco. LRMS: 384,5 (M + H).

Ejemplo 11

Preparamos otros compuestos de la fórmula I mediante procedimientos sustancialmente similares a los descritos en los anteriores Ejemplos 1-6 y a los ilustrados en los Esquemas I, II, IV y V. Los datos de caracterización para estos compuestos se resumen abajo en la Tabla 3 e incluyen datos de espectrometría de masas (como M+1) y datos ^{1}H NMR.

Los datos ^{1}H NMR se resumen a continuación en la Tabla 3, donde "S" indica que hay datos ^{1}H NMR disponibles y que se descubrió que eran coherentes con la estructura. Los números compuestos se corresponden con los números de los compuestos enumerados en la Tabla 1.

TABLA 3

Datos de caracterización para compuestos seleccionados

Nº Ia-	M+1	^{1}H NMR	Nº Ia-	M+1	^{1}H NMR
1	282	S	2	288	S
3	283	S	4	283	S
			7	268	S
8	292	-	9	350	S
			11	283	S
12	325	S	13	324	S
14	336	S	15	326	S
16	344	S	17	361	S
18	313	S	19	360	S
			21	284	S
22	314	S	23	312	S
24	326	S	26	342	S
67	409	S	69	468	S
70	368	S	71	299	S
72	299	S			
76	413	S	77	371	-
80	357	S	81	340	S
			86	442	S
87	370	S	88	342	-
91	446	S			
93	499	S	94	387	S
			115	298	S
122	340	S			

Ejemplo 12

Ensayo de la ATPasa de la girasa

La actividad de hidrólisis del ATP con la girasa del ADN fue medida asociando la producción de ADP mediante piruvato quinasa/lactato dehidrogenasa a la oxidación de NADH. Este procedimiento ha sido descrito previamente (Tamura y Gellert, 1990, J. Biol. Chem., 265, 21342).

Los ensayos de ATPasa se llevan a cabo a 30ºC en soluciones tampón que contiene 100 mM TRIS pH 7,6, 1,5 mM $MgCl_2$, 150 mM KCl. El sistema de asociación contiene (concentraciones finales) 2,5 mM de piruvato de fosfenol, 200 mM de nicotinamida adenina dinucleótido (NADH), 1 mM DTT, 30 ug/ml de piruvato quinasa y 10 ug/ml de lactato hidrogenasa. Se añaden 4,0 de enzima nanomolar (subunidad de Gyr A2B2 de 374 kDa de *Staphylococcus aureus*) y una solución de DMSO del inhibidor a una concentración final del 4% y se deja que la mezcla de la reacción sea incubada durante 10 minutos a 30ºC. A continuación, la reacción se inicia mediante la adición de ATP a una concentración final de 0,9 mM y se mide la velocidad de desaparición de la NADH a 340 nanómetros a lo largo de 10 minutos. Los valores porcentuales de inhibición son determinados a partir de la velocidad en función de los perfiles de concentración y se presentan como la media de valores duplicados.

La Tabla 4 muestra los resultados de la actividad de la inhibición porcentual de compuestos seleccionados de la presente invención en el ensayo de inhibición de la girasa a una concentración de 10 mM. Los números de los compuestos se corresponden con los números de los compuestos de la Tabla 1. Los compuestos que tienen una actividad designada como "A" proporcionaron un valor de inhibición porcentual por debajo del 50%; los compuestos que tienen una actividad designada como "B" proporcionaron un valor de inhibición porcentual entre el 50 y el 75%; y los compuestos que tienen una actividad designada como "C" proporcionaron un valor de inhibición porcentual mayor del 75%.

TABLA 4

Actividad inhibidora de la girasa de los compuestos seleccionados

Nº Ia-	Actividad	Nº Ia-	Actividad
1	B	1	B
3	B	4	C
		7	A
8	A	9	A
		11	C
12	B	13	A
14	B	15	B
16	C	17	C
18	C	19	C
		21	C
22	C	23	C
24	C	26	B
69	B	70	C
71	A	72	C
		76	C
77	C		
		80	C
81	B		
86	C	87	C
88	C		
		91	A
		93	C
94	C	97	A
115	A	122	C

Ejemplo 13

Ensayo de susceptibilidad en medios líquidos

Los compuestos de la presente invención también fueron sometidos a ensayo para detectar su actividad antimicrobiana mediante un ensayo de susceptibilidad en medios líquidos. Tales ensayos se llevaron a cabo dentro de las directrices del documento más reciente de NCCLS que gobierna tales prácticas: "M7-A5 Methods for dilution An-

timicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically; Approved Standard-Fifth Edition (2000)". Otras publicaciones como "Antibiotics in Laboratory Medicine" (editado por V. Lorian, Publishers William and Wilkins, 1996) presentan técnicas prácticas esenciales en los ensayos de antibióticos en los laboratorios. Esencialmente, varias colonias bacterianas diferenciadas (de 3 a 7) procedentes de una placa recién rayada fueron transferidas a un medio apropiado de caldo de cultivo rico como el MHB, complementado, cuando era apropiado, para organismos más exigentes. Esto se cultivó durante la noche hasta una densidad elevada, seguido por una disolución por 1 o 2 mil partes para dar una densidad de inoculación de entre 5×10^5 y 5×10^6 de CFU por mL. De forma alternativa, las colonias recién recogidas pueden ser incubadas a 37ºC durante aproximadamente 4 a 8 horas hasta que el cultivo iguale o supere una turbidez de un estándar de 0,5 McFarland (aproximadamente $1,5 \times 10^8$ células por mL) y se diluyen para dar las mismas CFU por mL que más arriba. En un procedimiento más conveniente, el inóculo se preparó usando un dispositivo mecánico disponible comercialmente (el sistema BBL PROMPT), que conlleva tocar cinco colonias directamente con una varilla que contiene surcos en cuadrícula en su parte inferior, seguido por la suspensión de las bacterias en un volumen apropiado de suero fisiológico. La disolución a la densidad celular apropiada del inóculo se realizó a partir de esta suspensión celular. El caldo usado para el ensayo consiste en MHB complementado con 50 mg por L de Ca^{2+} y 25 mg por L de Mg^{2+}. Se confeccionaron paneles estándar de disolución para el control de antibióticos y se almacenaron, como en el estándar NCCLS M7-A5, estando típicamente el intervalo de disolución en los 128 mg por mL a los 0,015 μg por mL (mediante una disolución doble en serie). Los compuestos del ensayo fueron disueltos y diluidos de forma directa para la experimentación en el mismo día, usándose los mismos intervalos, o similares, de concentración que más arriba. Los compuestos y los controles del ensayo fueron distribuidos en una placa de pocillos múltiples, y se añadieron bacterias de prueba, de modo que la inoculación final fue de aproximadamente 5×10^4 CFU por pocillo, y el volumen final fue de 100 mL. Las placas fueron incubadas a 35ºC durante la noche (de 16 a 20 horas) y comprobadas ocularmente para detectar su turbidez o cuantificadas con un lector de placas de pocillos múltiples. La concentración inhibidora mínima (MIC) de punto final es la concentración más baja del fármaco en la que el microorganismo objeto del ensayo no se desarrolla. Tales determinaciones fueron también comparadas con las tablas apropiadas contenidas en las dos publicaciones citadas más arriba para garantizar que el intervalo de la actividad antibacteriana esté dentro del intervalo aceptable para este ensayo estandarizado.

La Tabla 5 muestra los resultados del ensayo de MIC para compuestos seleccionados de la presente invención. Los números de los compuestos se corresponden con los números de los compuestos de la Tabla 1. Los compuestos que tienen una actividad designada como "A" proporcionaron una MIC de menos de 10 mg/mL; los compuestos que tienen una actividad designada como "B" proporcionaron una MIC de entre 10 y 40 mg/mL; los compuestos que tienen una actividad designada como "C" proporcionaron una MIC de más de 40 mg/mL.

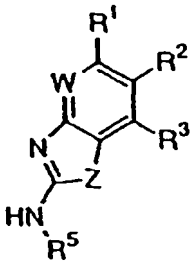
TABLA 5

Valores de MIC de un compuesto seleccionado

Nº Ia-	Actividad	Nº Ia-	Actividad
122	C		

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento *ex vivo* para disminuir la cantidad de bacterias en una muestra biológica *ex vivo* que comprende el paso de poner en contacto dicha muestra biológica con un compuesto de la fórmula I:



I

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que

Z es N-R^4 u O

W es CR^a

R^a es hidrógeno

R^4 es hidrógeno

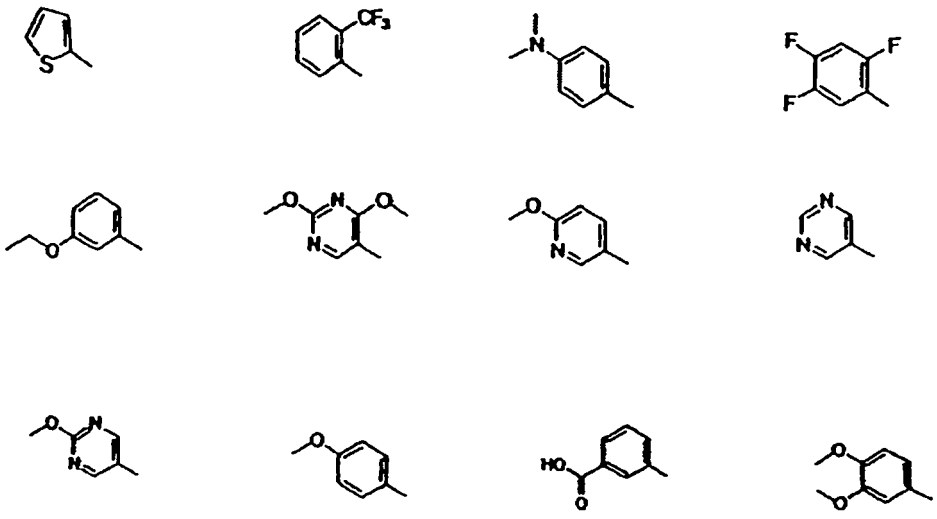
R^2 es hidrógeno,

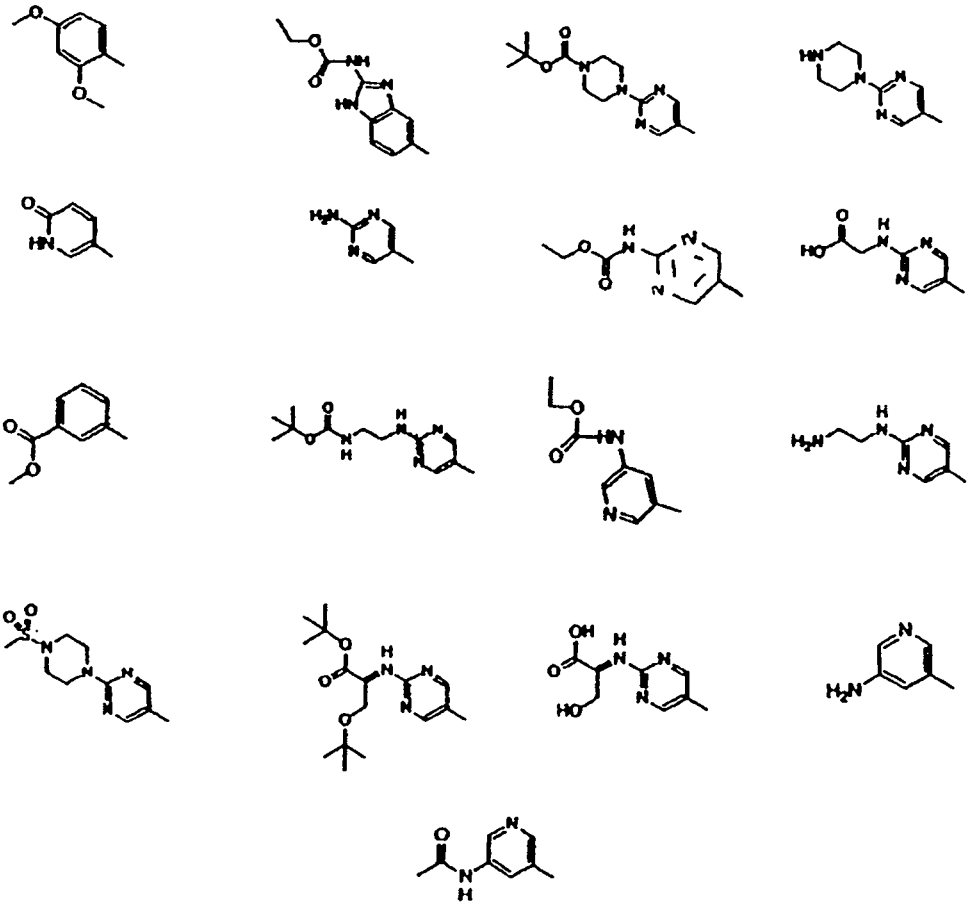
en la que, cuando Z es O,

R^1 es fenilo, R^3 es hidrógeno y R^5 es $CO_2CH_2CH_3$,

cuando Z es N-R^4,

R^3 es hidrógeno, R^5 es $CO_2CH_2CH_3$ y R^1 es un grupo seleccionado entre fenilo y 2-, 3- o 4-piridina,





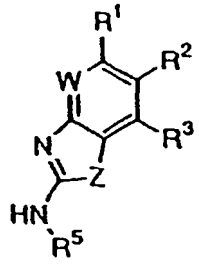
cuando Z es N-R^4 y R^3 es bromuro o C_3H_7, R^5 es $CO_2CH_2CH_3$ y R^1 es fenilo;

cuando Z es N-R^4 y R^3 es bromuro, R^5 es $CO_2CH_2CH_3$ y R^1 es 3-piridina;

cuando Z es N-R^4, R^3 es hidrógeno, R^1 es fenilo, R^5 es CO_2CH_3 o CO_2CH_2-C≡CH.

2. El procedimiento conforme a la reivindicación 1 que comprende además el paso de poner en contacto dicha muestra biológica con un agente que aumenta la susceptibilidad de los organismos bacterianos a los antibióticos.

3. Un compuesto de la fórmula I:



I

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que

Z es N-R^4 u O

W es CR^a

R^a es hidrógeno

R^4 es hidrógeno

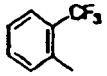
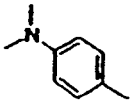
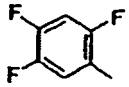
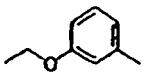
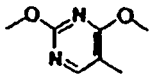
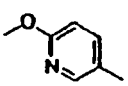
R^2 es hidrógeno,

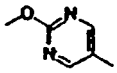
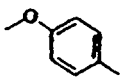
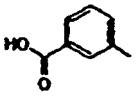
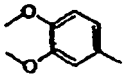
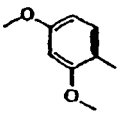
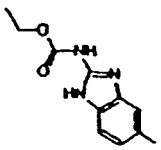
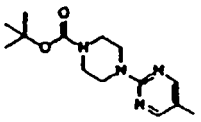
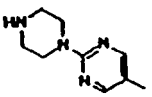
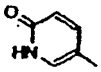
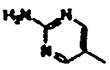
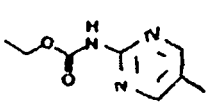
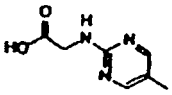
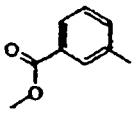
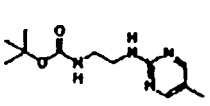
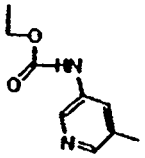
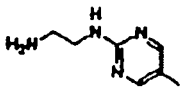
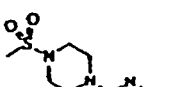
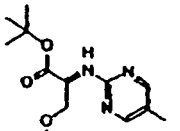
en la que, cuando Z es O,

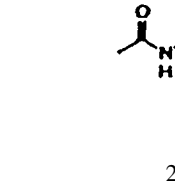
R^1 es fenilo, R^3 es hidrógeno y R^5 es $CO_2CH_2CH_3$,

cuando Z es N-R^4,

R^3 es hidrógeno, R^5 es $CO_2CH_2CH_3$ y R^1 es un grupo seleccionado entre fenilo y 2-, 3- o 4-piridina,



cuando Z es N-R^4 y R^3 es bromuro o C_3H_7, R^5 es $CO_2CH_2CH_3$ y R^1 es fenilo;

cuando Z es N-R^4 y R^3 es bromuro, R^5 es $CO_2CH_2CH_3$ y R^1 es 3-piridina;

cuando Z es N-R^4, R^3 es hidrógeno, R^1 es fenilo, R^5 es CO_2CH_3 o CO_2CH_2-C≡CH

para su uso en el tratamiento de una infección bacteriana.

4. El compuesto para el uso conforme a la reivindicación 3, en el que la enfermedad en los mamíferos es aliviada mediante la administración de un inhibidor de la girasa.

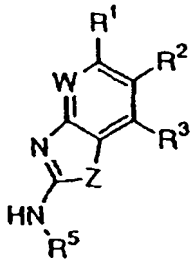
5. El compuesto para el uso conforme a la reivindicación 3, en el que la infección bacteriana a tratar está **caracterizada** por la presencia de uno o más de los siguientes: *Streptococcus pneumoniae, Streptococcus pyrogenes, Enterococcus fecalis, Enterococcus faecium, Klebsiella pneumoniae, Enterobacter sps. Proteus sps. Pseudomonas aeruginosa, E. coli, Serratia marcesens, S. aureus* o *Coag. Neg. Staph*.

6. El compuesto para el uso conforme a la reivindicación 3, en el que la infección bacteriana a tratar está seleccionada entre una o más de las siguientes: infecciones del tracto urinario, neumonía, prostatitis, infecciones de la piel y de los tejidos blandos, infecciones intraabdominales o infecciones de pacientes neutropénicos febriles.

7. El compuesto para el uso conforme a la reivindicación 3 que además comprende un agente terapéutico adicional ya sea como parte de una administración de dosis múltiple junto con dicho compuesto o como una administración como dosis separada.

8. El compuesto para el uso conforme a la reivindicación 3 que además comprende un agente que aumenta la susceptibilidad de los organismos bacterianos a los antibióticos.

9. Un compuesto de la fórmula I:



I

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que

Z es N-R^4 u O

W es CR^a

R^a es hidrógeno

R^4 es hidrógeno

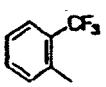
R^2 es hidrógeno,

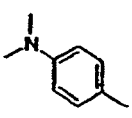
en la que, cuando Z es O,

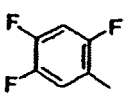
R^1 es fenilo, R^3 es hidrógeno y R^5 es $CO_2CH_2CH_3$,

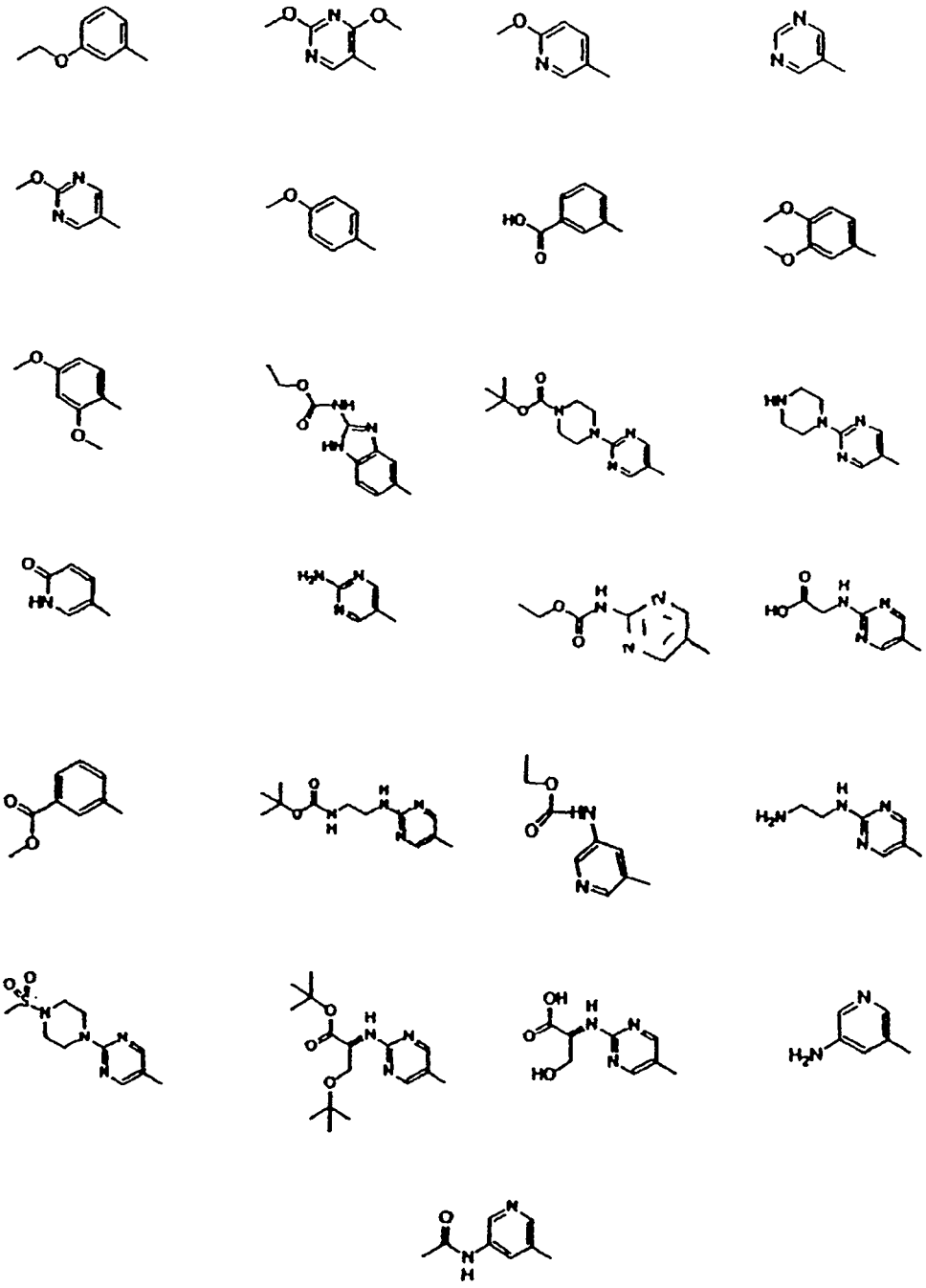
cuando Z es N-R^4,

R^3 es hidrógeno, R^5 es $CO_2CH_2CH_3$ y R^1 es un grupo seleccionado entre fenilo y 2-, 3- o 4-piridina,







cuando Z es N-R^4 y R^3 es bromuro o C_3H_7, R^5 es $CO_2CH_2CH_3$ y R^1 es fenilo;

cuando Z es N-R^4 y R^3 es bromuro, R^5 es $CO_2CH_2CH_3$ y R^1 es 3-piridina;

cuando Z es N-R^4, R^3 es hidrógeno, R^1 es fenilo, R^5 es CO_2CH_3 o CO_2CH_2-C≡CH.

10. Una composición que comprende un compuesto conforme a la reivindicación 9 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

11. La composición conforme a la reivindicación 10, en el que dicho compuesto está formulado de una forma farmacéuticamente aceptable para su administración a un paciente.

12. La composición conforme a las reivindicaciones 10 u 11 que comprende además un antibiótico, un agente antiinflamatorio, un inhibidor de metaloproteasas de matriz, un inhibidor de lipoxigenasas, un antagonista de la cito-

quina, un inmunosupresor, un agente anticancerígeno, un agente antiviral, una citoquina, un factor del crecimiento, un inmunomodulador, una prostaglandina o un compuesto de hiperproliferación antivascular.

13. La composición conforme a las reivindicaciones 10 u 11 que comprende además un agente que aumenta la susceptibilidad de los organismos bacterianos a los antibióticos.