



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 313 423**

51 Int. Cl.:
C07K 7/06 (2006.01)
A61K 38/08 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **05796321 .7**
96 Fecha de presentación : **08.10.2005**
97 Número de publicación de la solicitud: **1809654**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **25.07.2007**

54 Título: **Nonadepsipéptidos sustituidos con heterociclilo.**

30 Prioridad: **20.10.2004 DE 10 2004 051 024**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.03.2009

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.03.2009

73 Titular/es: **AiCuris GmbH & Co. KG.**
Friedrich-Ebert-Strasse 475
42117 Wuppertal, DE

72 Inventor/es: **Von Nussbaum, Franz;**
Brunner, Nina;
Endermann, Rainer;
Fürstner, Chantal;
Hartmann, Elke;
Ragot, Jacques;
Schiffer, Guido;
Schuhmacher, Joachim;
Svenstrup, Niels;
Telser, Joachim;
Anlauf, Sonja y
Brüning, Michael-Alexander

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).

DESCRIPCIÓN

Nonadepsipéptidos sustituidos con heterociclilo.

5 La invención se refiere a nonadepsipéptidos y a procedimientos para su preparación, así como a su uso para preparar fármacos para el tratamiento y/o la profilaxis de enfermedades, especialmente enfermedades infecciosas bacterianas.

10 La pared celular bacteriana se sintetiza mediante una serie de enzimas (biosíntesis de paredes celulares) y es esencial para la supervivencia o la reproducción de microorganismos. La estructura de esta macromolécula, al igual que las proteínas que participan en su síntesis, se conserva fuertemente dentro de las bacterias. Debido a su naturaleza esencial y uniformidad, la biosíntesis de paredes celulares es un punto de ataque ideal para nuevos antibióticos (D.W.Green, The bacterial cell wall as a source of antibacterial targets, Expert Opin. Ther. Targets, 2002, 6, 1-19).

15 La vancomicina y las penicilinas son inhibidores de la biosíntesis de paredes celulares bacterianas y representan ejemplos satisfactorios de la potencia antibiótica de este principio de acción. Se utilizan desde hace varias décadas clínicamente para el tratamiento de infecciones bacterianas, sobre todo con patógenos Gram-positivos. Debido a la creciente aparición de gérmenes resistentes, por ejemplo, estafilococos resistentes a meticilina, neumococos resistentes a penicilina y enterococos resistentes a vancomicina (F. Baquero, Gram-positive resistance: challenge for the development of new antibiotics, J. Antimicrob. Chemother., 1997, 39, suplemento A:1-6; A.P. Johnson, D.M. Livermore, G.S. Tillotson, Antimicrobial susceptibility of Gram-positive bacteria: what's current, what's anticipated?, J. Hosp. Infect., 2001, (49), suplemento A: 3-11), así como recientemente también por primera vez estafilococos resistentes a vancomicina (B. Goldrick, First reported case of VRSA in the United States, Am. J. Nurs., 2002, 102, 17), estas sustancias pierden cada vez más su eficacia terapéutica.

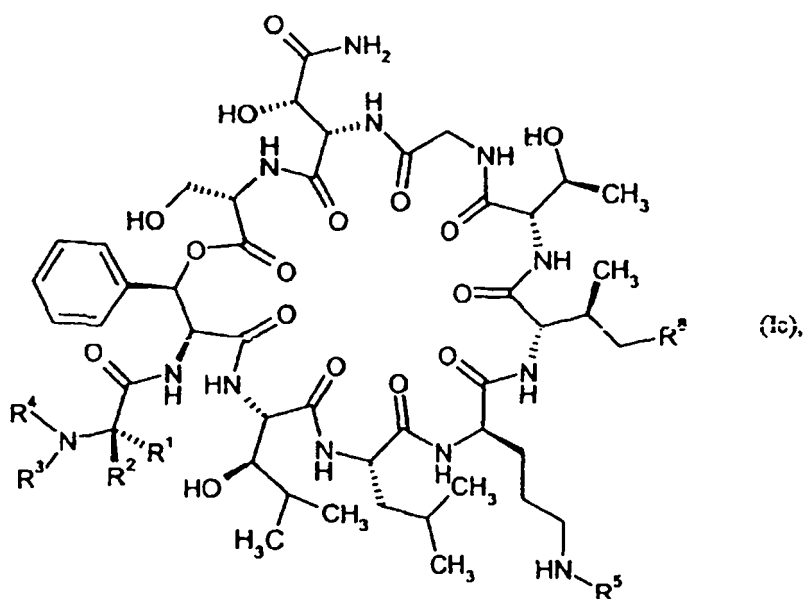
25 La presente invención describe una nueva clase de inhibidores de la biosíntesis de paredes celulares sin resistencias cruzadas a clases de antibióticos conocidos.

30 La sustancia natural lisobactina y algunos derivados se describen como antibacterianamente eficaces en el documento US 4.754.018. El aislamiento y la eficacia antibacteriana de lisobactina también se describen en los documentos EP-A 196 042 y JP 01132600. El documento WO04/099239 describe derivados de lisobactina con eficacia antibacteriana.

35 La acción antibacteriana de lisobactina y katanosina A se describe además en O'Sullivan, J. y col., J. Antibiot. 1988, 41, 1740 - 1744, Bonner, D. P. y col., J. Antibiot. 1988, 41, 1745 - 1751, Shoji, J. y col., J. Antibiot. 1988, 41, 713 - 718 Tymiak, A. A. y col., J. Org. Chem. 1989, 54, 1149 - 1157 y Egner, B.J. y col., Tetrahedron 1997, 53, 14021 - 14030.

40 Un objetivo de la presente invención es poner a disposición compuestos alternativos con acción antibacteriana comparable o mejorada y mejor tolerancia, por ejemplo, menor nefrotoxicidad, para el tratamiento de enfermedades bacterianas en el hombre y en animales.

Objeto de la invención son compuestos de fórmula



ES 2 313 423 T3

en la que

R¹ significa hidrógeno, alquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆ o arilo C₆-C₁₀,

5 en los que alquilo, alqueno, cicloalquilo y arilo pueden estar sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados independientemente entre sí del grupo constituido por halógeno, hidroxilo, amino, ciano, trimetilsililo, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, benciloxi, cicloalquilo C₃-C₆, arilo C₆-C₁₀, heterociclilo de 5 a 7 miembros, heteroarilo de 5 a 10 miembros, alquil C₁-C₆-amino, aril C₆-C₁₀-amino, alquil C₁-C₆-carbonilamino, aril C₆-C₁₀-carbonilamino, alquil C₁-C₆-carbonilo, alcoxi C₁-C₆-carbonilo, aril C₆-C₁₀-carbonilo y benciloxicarbonilamino,

10 en los que cicloalquilo, arilo, heterociclilo y heteroarilo pueden estar sustituidos por su parte con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados independientemente entre sí del grupo constituido por halógeno, hidroxilo, amino, ciano, nitro, trifluorometilo, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, fenilo y heterociclilo de 5 a 7 miembros,

15 R² significa hidrógeno o alquilo C₁-C₄,

R³ significa alquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, heterociclilo de 5 a 7 miembros, arilo C₆-C₁₀, heteroarilo de 5 ó 6 miembros, alquil C₁-C₆-carbonilo, alcoxi C₁-C₆-carbonilo, cicloalquil C₃-C₆-carbonilo, heterociclicarbonilo de 5 a 7 miembros, aril C₆-C₁₀-carbonilo, heteroarilcarbonilo de 5 ó 6 miembros o alquil C₁-C₆-aminocarbonilo,

20 en los que alquilo, cicloalquilo, heterociclilo, arilo, heteroarilo, alcoxycarbonilo, cicloalquilcarbonilo, heterociclicarbonilo, arilcarbonilo, heteroarilcarbonilo y alquilaminocarbonilo pueden estar sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados independientemente entre sí del grupo constituido por halógeno, hidroxilo, amino, alquil C₁-C₆-amino y fenilo, y

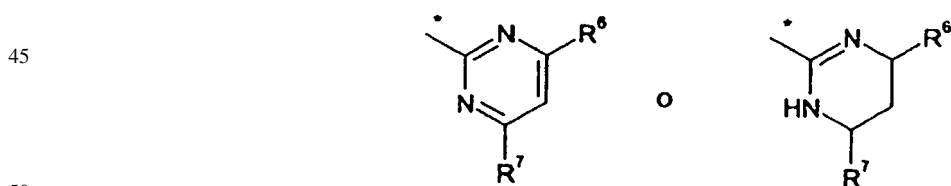
25 en los que alquilcarbonilo está sustituido con un sustituyente amino o alquil C₁-C₆-amino, y

30 en los que alquilcarbonilo puede estar sustituido con otros 0, 1 ó 2 sustituyentes seleccionados independientemente entre sí del grupo constituido por halógeno, hidroxilo, trimetilsililo, alcoxi C₁-C₆, alquil C₁-C₆-tio, benciloxi, cicloalquilo C₃-C₆, fenilo, naftilo, heteroarilo de 5 a 10 miembros, alquil C₁-C₆-carbonilamino, alcoxi C₁-C₆-carbonilamino, aril C₆-C₁₀-carbonilamino, aril C₆-C₁₀-carboniloxi, benciloxicarbonilo y benciloxicarbonilamino,

35 en los que fenilo y heteroarilo pueden estar sustituidos por su parte con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados independientemente entre sí del grupo constituido por halógeno, hidroxilo, nitro, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆ y fenilo,

40 R⁴ significa hidrógeno, alquilo C₁-C₄, ciclopropilo o ciclopropilmetilo,

R⁵ significa un grupo de fórmula



50 en la que

* significa el sitio de unión al átomo de nitrógeno,

55 R⁶ y R⁷, independientemente entre sí, significan alquilo C₁-C₆ o trifluorometilo,

R⁸ significa hidrógeno o metilo,

60 y sus sales, sus solvatos y los solvatos de sus sales.

65 Compuestos según la invención son los compuestos de fórmula (I) y (Ic) y sus sales, solvatos y solvatos de las sales, los compuestos comprendidos por las fórmulas (I) y (Ic) de las fórmulas mencionadas a continuación y sus sales, solvatos y solvatos de las sales, así como los compuestos mencionados a continuación como ejemplos de realización comprendidos por la fórmula (I) y (Ic) y sus sales, solvatos y solvatos de las sales, en tanto que en el caso de los compuestos mencionados a continuación comprendidos por la fórmula (I) y (Ic) ya no se trate de sales, solvatos y solvatos de las sales.

ES 2 313 423 T3

Los compuestos según la invención pueden existir en función de su estructura en formas estereoisómeras (enantiómeros, diastereómeros). Por tanto, la invención se refiere a los enantiómeros o diastereómeros y sus mezclas respectivas. A partir de tales mezclas de enantiómeros y/o diastereómeros pueden aislarse de manera conocida los constituyentes estereoisoméricamente uniformes.

Si los compuestos según la invención pueden presentarse en formas tautómeras, la presente invención comprende todas las formas tautómeras.

Como *sales* se prefieren en el marco de la presente invención sales fisiológicamente inocuas de los compuestos según la invención. Pero también están comprendidas sales que por sí mismas no son adecuadas para aplicaciones farmacéuticas pero pueden usarse, por ejemplo, para el aislamiento o la purificación de los compuestos según la invención o sales mixtas.

Sales fisiológicamente inocuas de los compuestos según la invención comprenden sales de adición de ácido de ácidos minerales, ácidos carboxílicos y ácidos sulfónicos, por ejemplo sales de ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido toluenosulfónico, ácido benzenosulfónico, ácido naftalendisulfónico, ácido acético, ácido trifluoroacético, ácido propiónico, ácido láctico, ácido tartárico, ácido málico, ácido cítrico, ácido fumárico, ácido maleico y ácido benzoico.

Sales fisiológicamente inocuas de los compuestos según la invención también comprenden sales de sales habituales, como a modo de ejemplo y preferiblemente sales de metales alcalinos (por ejemplo, sales de sodio y potasio), sales alcalinotérreas (por ejemplo, sales de calcio y magnesio) y sales de amonio derivadas de amoníaco o aminas orgánicas con 1 a 16 átomos de C, como a modo de ejemplo y preferiblemente etilamina, dietilamina, trietilamina, etildisopropilamina, monoetanolamina, dietanolamina, trietanolamina, dicitclohexilamina, dimetilaminoetanol, procaína, dibencilamina, *N*-metilmorfolina, arginina, lisina, etilendiamina y *N*-metilpiperidina.

Se denominan *solvatos* en el marco de la invención a aquellas formas de los compuestos según la invención que forman un complejo en estado sólido o líquido mediante coordinación con moléculas de disolvente. Hidratos son una forma especial de solvatos en los que la coordinación se realiza con agua.

En el marco de la presente invención, los sustituyentes tienen, mientras que no se especifique lo contrario, el siguiente significado:

Alquilo por sí mismo y “*alc*” y “*alquil*” en *alcoxi*, *alquilamino*, *alquiltio*, *alquilcarbonilo*, *alcoxycarbonilo*, *alquilaminocarbonilo*, *alquilcarbonilamino* y *alcoxycarbonilamino* representa un resto alquilo lineal o ramificado con generalmente 1 a 6, preferiblemente 1 a 4, con especial preferencia 1 a 3, átomos de carbono, a modo de ejemplo y preferiblemente representa metilo, etilo, *n*-propilo, isopropilo, *terc*-butilo, 2,2-dimetilprop-1-ilo, 2,2-dimetilbut-1-ilo, *n*-pentilo y *n*-hexilo.

Alcoxi representa a modo de ejemplo y preferiblemente metoxi etoxi, *n*-propoxi, isopropoxi, *terc*-butoxi, *n*-pentoxi y *n*-hexoxi.

Alquiltio representa a modo de ejemplo y preferiblemente metiltio, etiltio, *n*-propiltio, isopropiltio, *terc*-butiltio, *n*-pentiltio y *n*-hexiltio.

Alquenilo representa un resto alquenilo de cadena lineal o ramificado con 2 a 6 átomos de carbono. Se prefiere un resto alquenilo de cadena lineal o ramificado con 2 a 4, con especial preferencia con 2 a 3, átomos de carbono. Por ejemplo y preferiblemente son de mencionar: vinilo, alilo, *n*-prop-1-en-1-ilo, *n*-but-2-en-1-ilo, 2-metilprop-1-en-1-ilo y 2-metilprop-2-en-1-ilo.

Alquilamino representa un resto alquilamino con uno o dos sustituyentes alquilo (seleccionados independientemente entre sí), a modo de ejemplo y preferiblemente representa metilamino, etilamino, *n*-propilamino, isopropilamino, *terc*-butilamino, *n*-pentilamino, *n*-hexilamino, *N,N*-dimetilamino, *N,N*-dietilamino, *N*-etil-*N*-metilamino, *N*-metil-*N*-*n*-propilamino, *N*-isopropil-*N*-*n*-propilamino, *N-terc*-butil-*N*-metilamino, *N*-etil-*N*-*n*-pentilamino y *N*-*n*-hexil-*N*-metilamino. Alquil C₁-C₃-amino representa, por ejemplo, un resto monoalquilamino con 1 a 3 átomos de carbono o representa un resto dialquilamino con respectivamente 1 a 3 átomos de carbono por sustituyente alquilo.

Arilamino representa un sustituyente arilo unido mediante un grupo amino estando unido al grupo amino dado el caso otro sustituyente, como por ejemplo arilo o alquilo, a modo de ejemplo y preferiblemente representa fenilamino, naftilamino, fenilmetilamino o difenilamino.

Alquilcarbonilo representa a modo de ejemplo y preferiblemente metilcarbonilo, etilcarbonilo, *n*-propilcarbonilo, isopropilcarbonilo, *terc*-butilcarbonilo, *n*-pentilcarbonilo y *n*-hexilcarbonilo.

Alcoxycarbonilo representa a modo de ejemplo y preferiblemente metoxycarbonilo, etoxycarbonilo, *n*-propoxycarbonilo, isopropoxycarbonilo, *terc*-butoxycarbonilo, *n*-pentoxycarbonilo y *n*-hexoxycarbonilo.

ES 2 313 423 T3

Alcoxycarbonilamino representa a modo de ejemplo y preferiblemente metoxycarbonilamino, etoxycarbonilamino, n-propoxycarbonilamino, isopropoxycarbonilamino, *terc*-butoxycarbonilamino, n-pentoxycarbonilamino y n-hexoxycarbonilamino.

5 *Cicloalquilcarbonilo* representa un sustituyente cicloalquilo unido mediante un grupo carbonilo, a modo de ejemplo y preferiblemente representa ciclopropilcarbonilo, ciclobutilcarbonilo, ciclopentilcarbonilo y ciclohexilcarbonilo.

Heterociclicarbonilo representa un sustituyente heterociclilo unido mediante un grupo carbonilo, a modo de ejemplo y preferiblemente representa tetrahidrofuranilcarbonilo, pirrolidinilcarbonilo, pirrolinilcarbonilo, piperidinilcarbonilo, tetrahidropiranilcarbonilo, piperazinilcarbonilo, morfolinilcarbonilo y perhidroazepinilcarbonilo.

Arilcarbonilo representa un sustituyente arilo unido mediante un grupo carbonilo, a modo de ejemplo y preferiblemente representa fenilcarbonilo, naftilcarbonilo y fenantrenilcarbonilo.

15 *Heteroarilcarbonilo* representa un sustituyente heteroarilo unido mediante un grupo carbonilo, a modo de ejemplo y preferiblemente representa tienilcarbonilo, furilcarbonilo, pirrolilcarbonilo, tiazolilcarbonilo, oxazolilcarbonilo, imidazolilcarbonilo, piridilcarbonilo, pirimidilcarbonilo, piridazinilcarbonilo, indolilcarbonilo, indazolilcarbonilo, benzofuranilcarbonilo, benzotiofenilcarbonilo, quinolinilcarbonilo e isoquinolinilcarbonilo.

20 *Alquilcarbonilamino* representa a modo de ejemplo y preferiblemente metilcarbonilamino, etilcarbonilamino, n-propilcarbonilamino, isopropilcarbonilamino, *terc*-butilcarbonilamino, n-pentilcarbonilamino y n-hexilcarbonilamino.

Arilcarbonilamino representa a modo de ejemplo y preferiblemente fenilcarbonilamino, naftilcarbonilamino y fenantrenilcarbonilamino.

25 *Arilcarboniloxi* representa a modo de ejemplo y preferiblemente fenilcarboniloxi, naftilcarboniloxi y fenantrenilcarboniloxi.

30 *Alquilaminocarbonilo* representa un resto alquilaminocarbonilo con uno o dos sustituyentes alquilo (seleccionados independientemente entre sí), a modo de ejemplo y preferiblemente representa metilaminocarbonilo, etilaminocarbonilo, n-propilaminocarbonilo, isopropilaminocarbonilo, *terc*-butilaminocarbonilo, n-pentilaminocarbonilo, n-hexilaminocarbonilo, *N,N*-dimetilaminocarbonilo, *N,N*-dietilaminocarbonilo, *N*-etil-*N*-metilaminocarbonilo, *N*-metil-*N*-propilaminocarbonilo, *N*-isopropil-*N*-propilaminocarbonilo, *N-terc*-butil-*N*-metilaminocarbonilo, *N*-etil-*N*-pentilaminocarbonilo y *N*-n-hexil-*N*-metilaminocarbonilo. Alquil C₁-C₃-aminocarbonilo representa, por ejemplo, un resto monoalquilaminocarbonilo con 1 a 3 átomos de carbono o representa un resto dialquilaminocarbonilo con respectivamente 1 a 3 átomos de carbono por sustituyente alquilo.

40 *Cicloalquilo* representa un grupo cicloalquilo con generalmente 3 a 6 átomos de carbono, a modo de ejemplo y preferiblemente representa ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo.

Arilo representa un resto carbocíclico aromático mono a tricíclico con generalmente 6 a 14 átomos de carbono; a modo de ejemplo y preferiblemente representa fenilo, naftilo y fenantrenilo.

45 *Heterociclilo* representa un resto heterocíclico mono o policíclico, preferiblemente mono o bicíclico, con generalmente 5 a 7 átomos de anillo y hasta 3, preferiblemente hasta 2 heteroátomos y/o heterogrupos de la serie N, O, S, SO, SO₂. Los restos heterociclilo pueden estar saturados o parcialmente insaturados. Se prefieren restos heterociclilo saturados monocíclicos de 5 a 7 miembros con hasta dos heteroátomos de la serie O, N y S, como a modo de ejemplo y preferiblemente tetrahidrofuranilo, pirrolidinilo, pirrolinilo, piperidinilo, tetrahidropiranilo, piperazinilo, morfolinilo y perhidroazepinilo.

50 *Heteroarilo* representa un resto aromático, mono o bicíclico con generalmente 5 a 10, preferiblemente 5 a 6 átomos de anillo y hasta 5, preferiblemente hasta 4 heteroátomos de la serie S, O y N, a modo de ejemplo y preferiblemente representa tienilo, furilo, pirrolilo, tiazolilo, oxazolilo, imidazolilo, piridilo, pirimidilo, piridazinilo, indolilo, indazolilo, benzofuranilo, benzotiofenilo, quinolinilo e isoquinolinilo.

55 *Halógeno* representa flúor, cloro, bromo y yodo, preferiblemente flúor y cloro.

Descripción de las figuras

60 Fig. 1: RMN ¹H de trifluoroacetato de *N*^{ω.6},*N*^{ω'.6}-(pent[2]en[2]il[4]iliden)-lisobactina (*d*₅-piridina, 500 MHz).

Fig. 2: espectro de EM-MALDI/EM (iones positivos, ión precursor *m/z* 1340,8) de trifluoroacetato de *N*^{ω.6},*N*^{ω'.6}-(pent[2]en[2]il[4]iliden)-lisobactina.

65 Fig. 3: fragmentos del espectro de EM-MALDI/EM (iones positivos, ión precursor *m/z* 1340,8) de trifluoroacetato de *N*^{ω.6},*N*^{ω'.6}-(pent[2]en[2]il[4]iliden)-lisobactina.

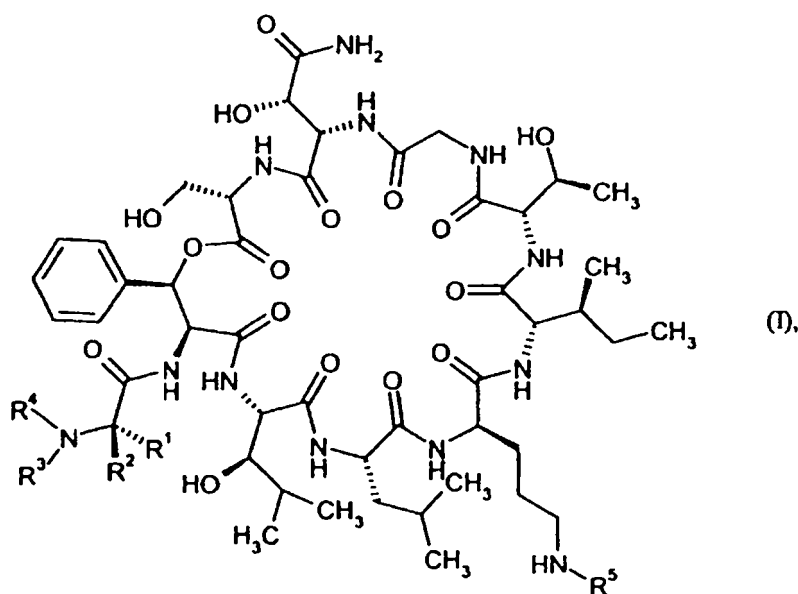
Fig. 4: espectro de EM-MALDI (iones positivos) de trifluoroacetato de $N^{\omega,6},N^{\omega',6}$ -(pent[2]en[2]il[4]iliden)-lisobactina de anillo hidrolíticamente abierto.

Fig. 5: espectro de EM-MALDI/EM (iones positivos, ión precursor m/z 1358,8) de trifluoroacetato de $N^{\omega,6},N^{\omega',6}$ -(pent[2]en[2]il[4]iliden)-lisobactina de anillo hidrolíticamente abierto.

Fig. 6: fragmentos del espectro de EM-MALDI/EM (iones positivos, ión precursor m/z 1358,8) de trifluoroacetato de $N^{\omega,6},N^{\omega',6}$ -(pent[2]en[2]il[4]iliden)-lisobactina de anillo hidrolíticamente abierto.

Fig. 7: RMN ^1H de trifluoroacetato de $N^{\omega,6},N^{\omega',6}$ -(pentano[2,4]diil)-lisobactina (d_5 -piridina, 500 MHz).

En el marco de la presente invención se prefieren compuestos de fórmula



en la que

R^1 significa hidrógeno, alquilo C_1-C_6 , alqueno C_2-C_6 , cicloalquilo C_3-C_6 o arilo C_6-C_{10} ,

en los que alquilo, alqueno, cicloalquilo y arilo pueden estar sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados independientemente entre sí del grupo constituido por halógeno, hidroxilo, amino, ciano, trimetilsililo, alquilo C_1-C_6 , alcoxi C_1-C_6 , benciloxi, cicloalquilo C_3-C_6 , arilo C_6-C_{10} , heterociclilo de 5 a 7 miembros, heteroarilo de 5 a 10 miembros, alquil C_1-C_6 -amino, aril C_6-C_{10} -amino, alquil C_1-C_6 -carbonilamino, aril C_6-C_{10} -carbonilamino, alquil C_1-C_6 -carbonilo, alcoxi C_1-C_6 -carbonilo, aril C_6-C_{10} -carbonilo y benciloxicarbonilamino,

en los que cicloalquilo, arilo, heterociclilo y heteroarilo pueden estar sustituidos por su parte con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados independientemente entre sí del grupo constituido por halógeno, hidroxilo, amino, ciano, nitro, trifluorometilo, alquilo C_1-C_6 , alcoxi C_1-C_6 , fenilo y heterociclilo de 5 a 7 miembros,

R^2 significa hidrógeno o alquilo C_1-C_4 ,

R^3 significa alquilo C_1-C_6 , cicloalquilo C_3-C_6 , heterociclilo de 5 a 7 miembros, arilo C_6-C_{10} , heteroarilo de 5 ó 6 miembros, alquil C_1-C_6 -carbonilo, alcoxi C_1-C_6 -carbonilo, cicloalquil C_3-C_6 -carbonilo, heterociclilcarbonilo de 5 a 7 miembros, aril C_6-C_{10} -carbonilo, heteroarilcarbonilo de 5 ó 6 miembros o alquil C_1-C_6 -aminocarbonilo,

en los que alquilo, cicloalquilo, heterociclilo, arilo, heteroarilo, alcocarbonilo, cicloalquilcarbonilo, heterociclilcarbonilo, arilcarbonilo, heteroarilcarbonilo y alquilaminocarbonilo pueden estar sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados independientemente entre sí del grupo constituido por halógeno, hidroxilo, amino, alquil C_1-C_6 -amino y fenilo, y

en los que alquilcarbonilo está sustituido con un sustituyente amino o alquil C_1-C_6 -amino, y

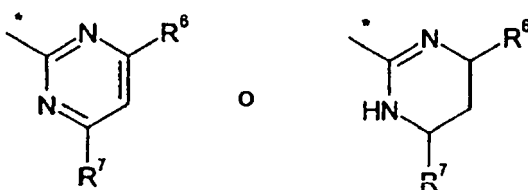
ES 2 313 423 T3

en los que alquilcarbonilo puede estar sustituido con otros 0, 1 ó 2 sustituyentes seleccionados independientemente entre sí del grupo constituido por halógeno, hidroxilo, trimetilsililo, alcoxi C₁-C₆, alquil C₁-C₆-tio, benciloxi, cicloalquilo C₃-C₆, fenilo, naftilo, heteroarilo de 5 a 10 miembros, alquil C₁-C₆-carbonilamino, alcoxi C₁-C₆-carbonilamino, aril C₆-C₁₀-carbonilamino, aril C₆-C₁₀-carboniloxi, benciloxicarbonilo y benciloxicarbonilamino,

en los que fenilo y heteroarilo pueden estar sustituidos por su parte con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados independientemente entre sí del grupo constituido por halógeno, hidroxilo, nitro, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆ y fenilo,

R⁴ significa hidrógeno, alquilo C₁-C₄, ciclopropilo o ciclopropilmetilo,

R⁵ significa un grupo de fórmula



en la que

* significa el sitio de unión al átomo de nitrógeno,

R⁶ y R⁷, independientemente entre sí, significan alquilo C₁-C₆ o trifluorometilo,

y sus sales, sus solvatos y los solvatos de sus sales.

También se prefieren compuestos de fórmula (I) en la que

R¹ significa 2-metilprop-1-ilo, 2,2-dimetilprop-1-ilo, 2,2-dimetilbut-1-ilo, 1-trimetilsililmetilo, 2-trimetilsililet-1-ilo, 1-hidroxil-2-metilprop-1-ilo, 1-hidroxil-2,2-dimetilprop-1-ilo, 1-hidroxil-2,2-dimetilbut-1-ilo, 1-hidroxil-2-etil-2-metilbut-1-ilo, 1-hidroxil-2,2-dietilbut-1-ilo, fenilmetilo, 1-hidroxil-1-fenilmetilo, 2-piridilmetilo o 3-piridilmetilo,

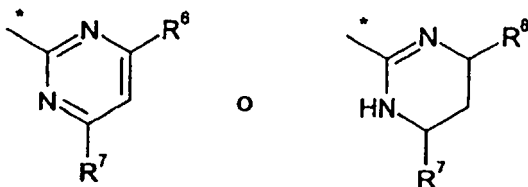
en los que 2-piridilmetilo o 3-piridilmetilo pueden estar sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados independientemente entre sí del grupo constituido por hidroxilo, amino, trifluorometilo, metilo, metoxi y morfolinilo,

R² significa hidrógeno,

R³ significa 1-amino-3-metilbut-1-ilcarbonilo, 1-amino-3,3-dimetilbut-1-ilcarbonilo o 1-amino-2-trimetilsililet-1-ilcarbonilo,

R⁴ significa hidrógeno,

R⁵ significa un grupo de fórmula



en la que

* significa el sitio de unión al átomo de nitrógeno,

R⁶ y R⁷, independientemente entre sí, significan alquilo C₁-C₆ o trifluorometilo,

y sus sales, sus solvatos y los solvatos de sus sales.

ES 2 313 423 T3

También se prefieren compuestos de fórmula (I) en la que

R¹ significa 2,2-dimetilprop-1-ilo, 1-trimetilsililmetilo o 3-piridilmetilo,

5 en los que 3-piridilmetilo puede estar sustituido con un sustituyente trifluorometilo,

R² significa hidrógeno,

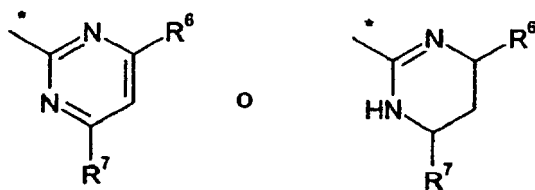
R³ significa 1-amino-3,3-dimetilbut-1-ilcarbonilo o 1-amino-2-trimetilsililet-1-ilcarbonilo,

10

R⁴ significa hidrógeno,

R⁵ significa un grupo de fórmula

15



25

en la que

* significa el sitio de unión al átomo de nitrógeno,

30

R⁶ y R⁷, independientemente entre sí, significan alquilo C₁-C₆ o trifluorometilo,

y sus sales, sus solvatos y los solvatos de sus sales.

35

También se prefieren compuestos de fórmula (I) en la que

R¹ significa 2-metilprop-1-ilo,

R² significa hidrógeno,

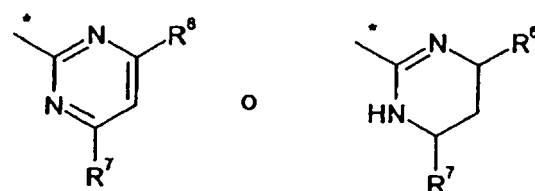
40

R³ significa 1-amino-3-metilbut-1-ilcarbonilo,

R⁴ significa hidrógeno,

R⁵ significa un grupo de fórmula

45



55

en la que

* significa el sitio de unión al átomo de nitrógeno,

60

R⁶ y R⁷ significan, independientemente entre sí, alquilo C₁-C₆,

y sus sales, sus solvatos y los solvatos de sus sales.

65

ES 2 313 423 T3

También se prefieren compuestos de fórmula (I) en la que

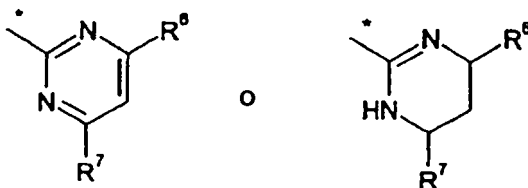
R¹ significa 2,2-dimetilprop-1-ilo,

R² significa hidrógeno,

R³ significa 1-amino-3,3-dimetilbut-1-ilcarbonilo,

R⁴ significa hidrógeno,

R⁵ significa un grupo de fórmula



en la que

* significa el sitio de unión al átomo de nitrógeno,

R⁶ y R⁷ significan, independientemente entre sí, alquilo C₁-C₆,

y sus sales, sus solvatos y los solvatos de sus sales.

También se prefieren compuestos de fórmula (I) en la que

R¹ significa 2-metilprop-1-ilo, 2,2-dimetilprop-1-ilo, 2,2-dimetilbut-1-ilo, 2-trimetilsililet-1-ilo, 1-hidroxi-2-metilprop-1-ilo, 1-hidroxi-2,2-dimetilprop-1-ilo, 1-hidroxi-2,2-dimetilbut-1-ilo, 1-hidroxi-2-etil-2-metilbut-1-ilo, 1-hidroxi-2,2-dietilbut-1-ilo, fenilmetilo, 1-hidroxi-1-fenilmetilo, 2-piridilmetilo o 3-piridilmetilo,

en los que 2-piridilmetilo o 3-piridilmetilo pueden estar sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados independientemente entre sí del grupo constituido por hidroxilo, amino, trifluorometilo, metilo, metoxi y morfolinilo.

También se prefieren compuestos de fórmula (I) en la que el estereocentro procedente de un aminoácido en R³ tiene la configuración D.

También se prefieren compuestos de fórmula (I) en la que R¹ significa 2,2-dimetilprop-1-ilo y R² hidrógeno.

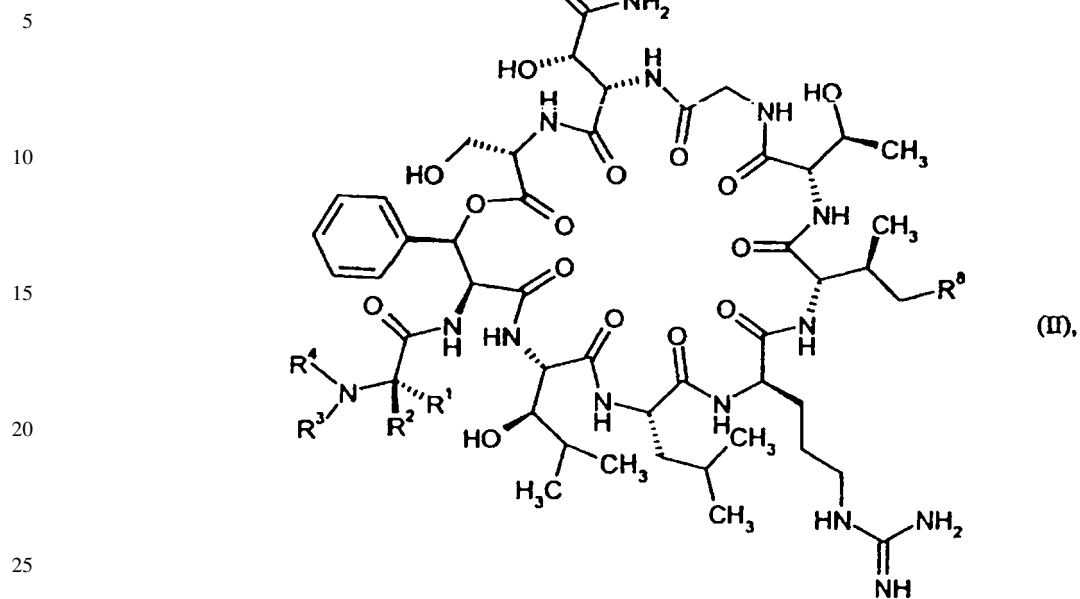
También se prefieren compuestos de fórmula (I) en la que R³ significa 1-amino-3,3-dimetilbut-1-ilcarbonilo y R⁴ hidrógeno.

Las definiciones de restos especificadas por separado en las respectivas combinaciones o combinaciones preferidas de restos también se sustituyen discrecionalmente por definiciones de restos de otra combinación independientemente de las combinaciones especificadas respectivas de los restos.

También se prefieren muy especialmente combinaciones de dos o varios de los intervalos preferidos anteriormente mencionados.

Además, es objeto de la invención un procedimiento para preparar los compuestos de fórmulas (Ic) haciendo reaccionar según el procedimiento

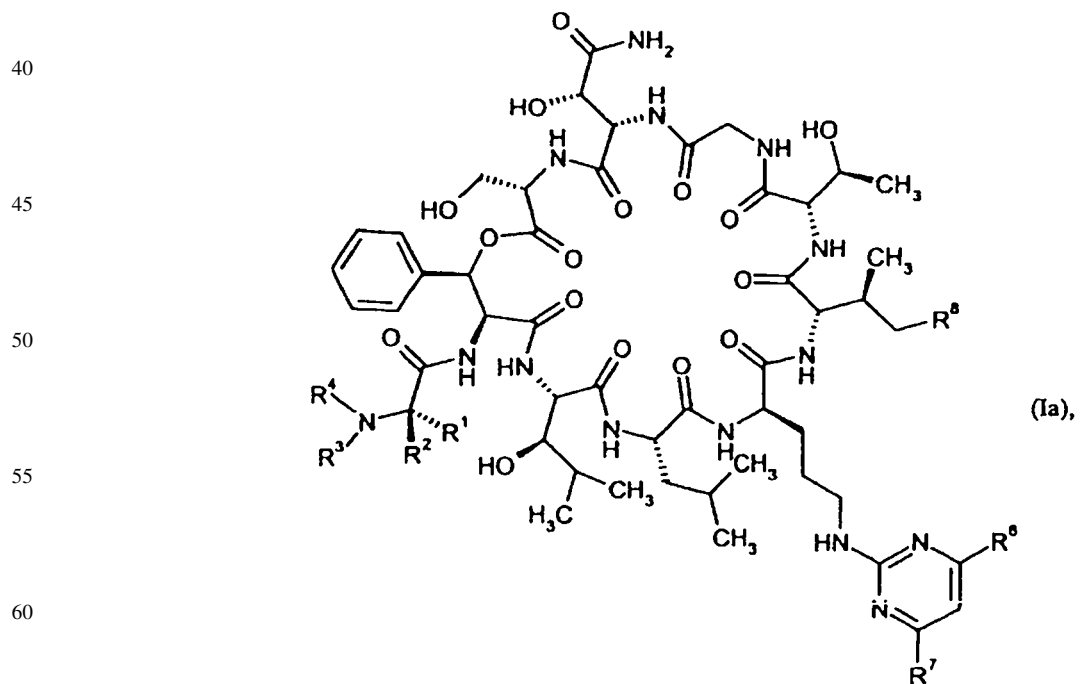
[A] compuestos de fórmula



en la que R¹, R², R³, R⁴ y R⁸ tienen el significado anteriormente especificado, con compuestos de fórmula



en la que R⁶ y R⁷ tienen el significado anteriormente especificado, para dar compuestos de fórmula



en la que R¹, R², R³, R⁴, R⁶, R⁷ y R⁸ tienen el significado anteriormente especificado,

o

[B] compuestos de fórmula (Ia) con un agente reductor para dar compuestos de fórmula

5

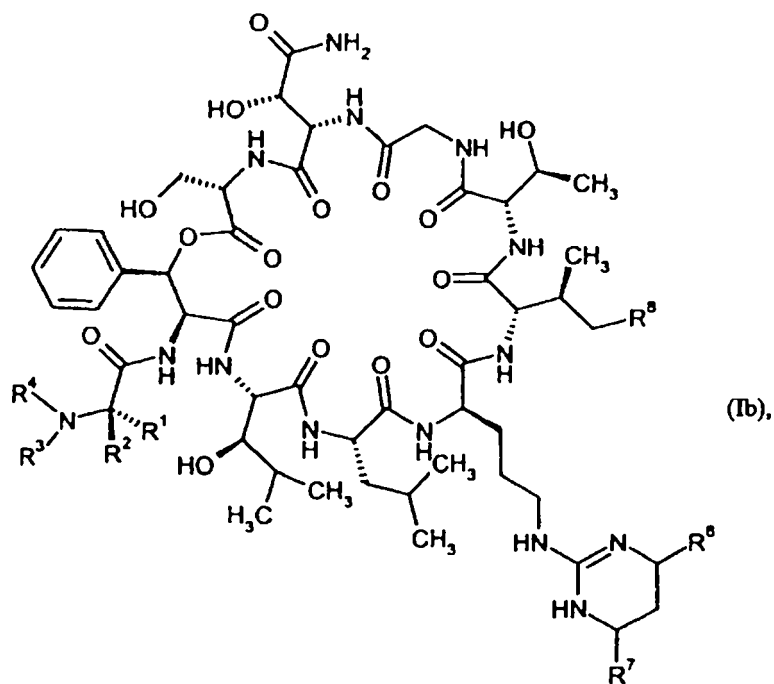
10

15

20

25

30



en la que R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^6 , R^7 y R^8 tienen el significado anteriormente especificado.

Los compuestos de fórmula (Ic) están constituidos por los compuestos de fórmulas (Ia) y (Ib).

35

Los grupos amino libres en los restos R^1 , R^2 , R^3 y R^4 se protegen antes de la reacción, dado el caso según los procedimientos conocidos para el experto, por ejemplo, con un grupo protector Boc o un grupo protector Z que se disocia de nuevo después de la reacción.

40

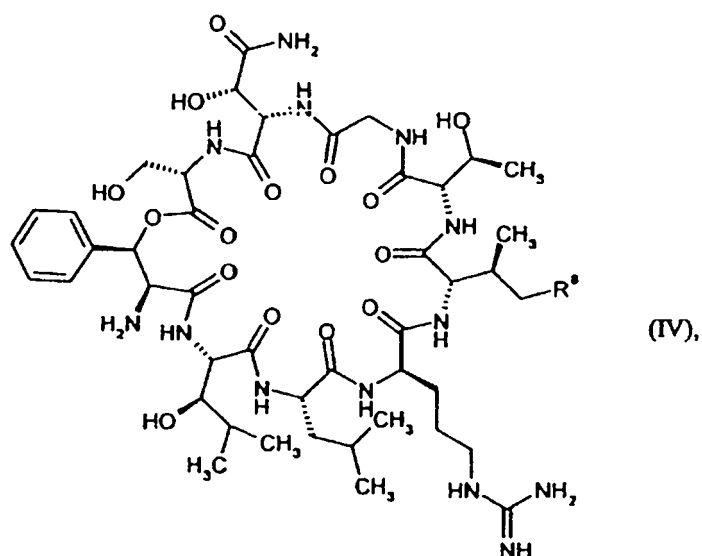
Los compuestos de fórmula (II) son conocidos o pueden prepararse haciendo reaccionar el compuesto de fórmula

45

50

55

60

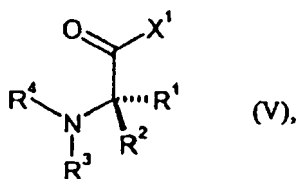


65

en la que

R^8 tiene el significado anteriormente especificado,

con compuestos de fórmula



en la que

15 R^1 , R^2 , R^3 y R^4 tienen el significado anteriormente especificado, y

X^1 significa halógeno, preferiblemente bromo, cloro o flúor, o hidroxilo.

20 En el caso en que X^1 represente halógeno, la reacción se realiza en general en disolventes inertes, dado el caso en presencia de una base, preferiblemente en un intervalo de temperatura de -30°C a 150°C a presión normal.

Disolventes inertes son, por ejemplo, tetrahidrofurano, cloruro de metileno, acetonitrilo, piridina, dioxano o dimetilformamida. Como disolventes inertes se prefieren tetrahidrofurano o cloruro de metileno.

25 Bases son, por ejemplo, trietilamina, diisopropiletilamina o *N*-metilmorfolina, se prefiere diisopropiletilamina.

En el caso en que X^1 represente hidroxilo, la reacción se realiza en general en disolventes inertes, en presencia de un reactivo de deshidratación, dado el caso en presencia de una base, preferiblemente en un intervalo de temperatura de -30°C a 50°C a presión normal.

Disolventes inertes son, por ejemplo, hidrocarburos halogenados como diclorometano o triclorometano, hidrocarburo como benceno, nitrometano, dioxano, dimetilformamida o acetonitrilo. Igualmente es posible utilizar mezclas de disolventes. Se prefiere especialmente diclorometano o dimetilformamida.

35 Como reactivos de deshidratación son adecuados en este caso, por ejemplo, carbodiimidas, como por ejemplo *N,N'*-dietil-, *N,N'*-dipropil-, *N,N'*-diisopropil-, *N,N'*-d ciclohexilcarbodiimida, clorhidrato de *N*-(3-dimetilaminoisopropil)-*N'*-etilcarbodiimida (EDC), *N*-ciclohexilcarbodiimida-*N'*-propiloximetil-poliestireno (carbodiimida de PS) o compuestos de carbonilo como carbonildiimidazol, o compuestos de 1,2-oxazolio como 3-sulfato de 2-etil-5-fenil-1,2-oxazolio o perclorato de 2-*tert*-butil-5-metil-isoxazolio, o compuestos de acilamino como 2-etoxi-1-etoxicarbonil-1,2-dihidroquinolina, o anhídrido de ácido propanofosfónico, o cloroforniato de isobutilo, o cloruro de bis-(2-oxo-3-oxazolidinil)-fosforilo o hexafluorofosfato de benzotriazoliloxi-tri(dimetilamino)fosfonio, o hexafluorofosfato de *O*-(benzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio (HBTU), tetrafluoroborato de 2-(2-oxo-1-(2H)-piridil)-1,1,3,3-tetrametiluronio (TPTU) o hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio (HATU), o 1-hidroxibenzotriazol (HOBt), o hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxitris(dimetilamino)-fosfonio (BOP), o *N*-hidroxisuccinimida, o mezclas de estos, con bases.

45 Bases son, por ejemplo, carbonatos alcalinos, como por ejemplo carbonato de sodio o potasio, o hidrogenocarbonato, o bases orgánicas como trialkilaminas, por ejemplo trietilamina, *N*-metilmorfolina, *N*-metilpiperidina, 4-dimetilaminopiridina o diisopropiletilamina.

50 La condensación se realiza preferiblemente con HATU o con EDC en presencia de HOBt.

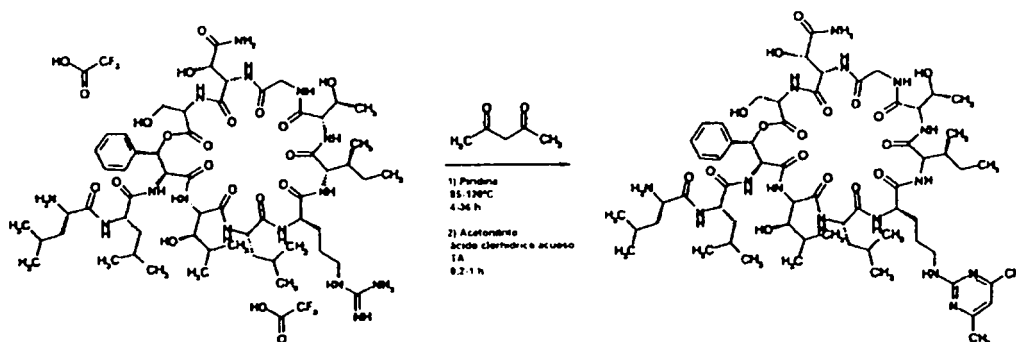
55 Los compuestos de fórmula (V) llevan, dado el caso, grupos protectores, de manera que en estos casos a la reacción de compuestos de fórmula (IV) con compuestos de fórmula (V) le sigue una disociación de los grupos protectores con, por ejemplo, ácido trifluoroacético según los procedimientos conocidos para el experto.

El compuesto de fórmula (IV) puede sintetizarse mediante doble degradación de Edman a partir de lisobactina (ejemplo 1A).

60 Los compuestos de fórmulas (III) y (V) son conocidos o pueden sintetizarse según procedimientos conocidos a partir de los productos de partida correspondientes.

La preparación de los compuestos según la invención puede ilustrarse mediante el siguiente esquema de síntesis.

Esquema de síntesis



Los compuestos según la invención muestran un valioso espectro de acción farmacológico imprevisible. Muestran una acción antibacteriana.

Por tanto, son adecuados para uso para la preparación de un fármaco para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones bacterianas en el hombre y en animales.

Los compuestos según la invención destacan por una nefrotoxicidad más baja en comparación con lisobactina.

Los nonadepsipéptidos descritos actúan como inhibidores de la biosíntesis de paredes celulares bacterianas.

Las preparaciones según la invención son especialmente eficaces contra bacterias y microorganismos similares a bacterias. Por tanto, son especialmente muy adecuadas para la profilaxis y la quimioterapia de infecciones locales y sistémicas en la medicina humana y la veterinaria que se producen por estos patógenos.

Fundamentalmente, las preparaciones según la invención pueden usarse contra todas las bacterias y microorganismos similares a bacterias que están en posesiones de una pared celular bacteriana (sáculo de mureína) o los sistemas enzimáticos correspondientes, por ejemplo mediante los siguientes patógenos o mediante mezclas de los siguientes patógenos:

Cocos Gram-negativos (*Neisseria gonorrhoeae*), así como bacilos Gram-negativos como Enterobacteriaceae, por ejemplo, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Citrobacter* (*C. freundii*, *C. diversus*), *Salmonella* y *Shigella*; además de *Enterobacter* (*E. aerogenes*, *E. agglomerans*), *Hafnia*, *Serratia* (*S. marcescens*), *Providencia*, *Yersinia*, así como el género *Acinetobacter*, *Branhamella* y *Chlamydia*. Además, el espectro antibacteriano comprende bacterias estrictamente anaerobias, como por ejemplo *Bacteroides fragilis*, representantes del género *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, así como el género *Clostridium*; además micobacterias, por ejemplo *M. tuberculosis*. Los compuestos según la invención muestran una acción especialmente marcada contra cocos Gram-positivos, por ejemplo, estafilococos (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. carnosus*), enterococos (*E. faecalis*, *E. faecium*) y estreptococos (*S. agalactiae*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*).

La lista anterior de patógenos sólo es a modo de ejemplo y de ninguna manera debe interpretarse de forma limitante. Como enfermedades que pueden ser provocadas por los patógenos mencionados o infecciones mixtas y que pueden ser evitadas, mejoradas o curadas por las preparaciones según la invención son de mencionar, por ejemplo:

Enfermedades infecciosas en el hombre como, por ejemplo, infecciones de las vías urinarias complicadas y no complicadas, infecciones de la piel y superficiales no complicadas, infecciones de la piel y las partes blandas complicadas, inflamación pulmonar adquirida en el hospital y ambulante, neumonías nosocomiales, exacerbaciones agudas e infecciones bacterianas secundarias de la bronquitis crónica, otitis media aguda, sinusitis aguda, faringitis estreptocócica, meningitis bacteriana, uretritis/cervicitis gonocócica y no gonocócica no complicada, prostatitis aguda, endocarditis, infecciones intraabdominales no complicadas y complicadas, infecciones ginecológicas, enfermedad inflamatoria pélvica, vaginosis bacteriana, osteomielitis aguda y crónica, artritis bacteriana aguda, terapia empírica en pacientes con neutropenia febril, otras bacteremias, infecciones MRSA, diarrea infecciosa aguda, infecciones por *Helicobacter pylori*, infecciones posoperatorias, infecciones odontogénicas, infecciones oftalmológicas, infecciones posoperatorias (incluido absceso periproctal, infecciones de heridas, infecciones biliares, mastitis y apendicitis aguda), fibrosis quística y bronquiectasia.

Además de en el hombre, también pueden tratarse infecciones bacterianas en otras especies. A modo de ejemplo son de mencionar:

ES 2 313 423 T3

Cerdo: diarrea, enterotoxemia, septicemia, disentería, salmonelosis, síndrome de metritis-mastitis-agalaxia, mastitis;

Rumiantes (vacuno, oveja, cabra): diarrea, septicemia, bronconeumonía, salmonelosis, pasteurelisis, infecciones genitales;

Caballo: bronconeumonías, enfermedad articular, infecciones puerperales y pospuerperales, salmonelosis;

Perro y gato: bronconeumonía, diarrea, dermatitis, otitis, infecciones de las vías urinarias, prostatitis;

Aves (pollo, pavo, codorniz, paloma, pájaros ornamentales y otros): infecciones por *E. coli*, enfermedades respiratorias crónicas, salmonelosis, pasteurelisis, psitacosis.

Igualmente pueden tratarse enfermedades bacterianas durante la cría y la explotación de peces de consumo y ornamentales ampliándose el espectro antibacteriano más allá de los patógenos previamente mencionados a otros patógenos como, por ejemplo, Pasteurella, Brucella, Campylobacter, Listeria, Erysipelothris, corinebacterias, Borellia, Treponema, Nocardia, Rickettsia, Yersinia.

Otro objeto de la presente invención es el uso de los compuestos según la invención para preparar un fármaco para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones bacterianas. Otro objeto de la presente invención son fármacos que contienen al menos un compuesto según la invención y al menos uno o varios otros principios activos, especialmente para el tratamiento y/o la profilaxis de las enfermedades anteriormente mencionadas. Principios activos de combinación preferidos son compuestos que actúan antibacterianamente que tienen otro espectro de acción, especialmente espectro de acción complementario, y/o son sinergistas respecto a los compuestos según la invención.

Los compuestos según la invención pueden actuar sistémicamente y/o localmente. Para este fin pueden administrarse de forma adecuada como, por ejemplo, por vía oral, parenteral, pulmonar, nasal, sublingual, lingual, bucal, rectal, dérmica, transdérmica, conjuntiva, ótica o como injerto o implante.

Para estas vías de administración, los compuestos según la invención pueden administrarse en formas de administración adecuadas.

Para la administración por vía oral son adecuadas formas de administración que funcionan según el estado de la técnica que liberan los compuestos según la invención de forma rápida y/o modificada, que contienen los compuestos según la invención en forma cristalina y/o amorfa y/o disuelta, como por ejemplo comprimidos (comprimidos sin recubrir o recubiertos, por ejemplo con recubrimientos resistentes a los jugos gástricos o que se disuelven de forma retardada o insolubles, que controlan la liberación del compuesto según la invención), comprimidos o películas/oblas que se desintegran rápidamente en la cavidad bucal, películas/liofilizados, cápsulas (por ejemplo cápsulas de gelatina dura o blanda), comprimidos recubiertos de azúcar, gránulos, pellas, polvos, emulsiones, suspensiones, aerosoles o disoluciones.

La administración parenteral puede producirse evitando una etapa de resorción (por ejemplo, intravenosa, intraarterial, intracárdica, intraespinal o intralumbal) o incluyendo una resorción (por ejemplo, intramuscular, subcutánea, intracutánea, percutánea o intraperitoneal). Para la administración parenteral son adecuadas como formas de administración, entre otras, preparaciones para inyección e infusión en forma de disoluciones, suspensiones, emulsiones, liofilizados o polvos estériles.

Para las otras vías de administración son adecuadas, por ejemplo, formas farmacéuticas para inhalación (entre otras inhaladores de polvo, nebulizadores), gotas, disoluciones, aerosoles nasales; comprimidos, películas/oblas o cápsulas que van a administrarse por vía lingual, sublingual o bucal, supositorios, preparaciones para el oído o los ojos, cápsulas vaginales, suspensiones acuosas (lociones, mezclas para agitar), suspensiones lipófilas, pomadas, cremas, sistemas terapéuticos transdérmicos (como por ejemplo parches), leche, pastas, espumas, polvos para extender sobre la piel, implantes o prótesis endovasculares.

Los compuestos según la invención pueden convertirse en las formas de administración citadas. Esto puede producirse de una manera conocida en sí mediante mezclado con coadyuvantes inertes, no tóxicos, farmacéuticamente adecuados. Entre estos coadyuvantes figuran, entre otros, vehículos (por ejemplo celulosa microcristalina, lactosa, manitol), disolventes (por ejemplo polietilenglicoles líquidos), emulgentes y dispersantes o humectantes (por ejemplo dodecilsulfato de sodio, oleato de polioxisorbitano), aglutinantes (por ejemplo polivinilpirrolidona), polímeros sintéticos y naturales (por ejemplo albúmina), estabilizadores (por ejemplo antioxidantes, como por ejemplo ácido ascórbico), tintes (por ejemplo pigmentos inorgánicos como, por ejemplo, óxidos de hierro) y correctores del sabor y/o el olor.

Otro objeto de la presente invención son fármacos que contienen al menos un compuesto según la invención, normalmente junto con uno o varios coadyuvantes inertes, no tóxicos, farmacéuticamente adecuados, así como su uso para los fines anteriormente mencionados.

ES 2 313 423 T3

En general, en la administración por vía intravenosa ha demostrado ser ventajoso administrar cantidades de aproximadamente 0,001 a 100 mg/kg, preferiblemente aproximadamente 0,1 a 10 mg/kg de peso corporal para lograr resultados eficaces, y en la administración por vía oral la dosificación asciende a aproximadamente de 0,01 a 50 mg/kg, preferiblemente 0,5 a 10 mg/kg de peso corporal.

5 No obstante, dado el caso puede ser necesario apartarse de las cantidades mencionadas y concretamente en función del peso corporal, vía de administración, comportamiento individual frente al principio activo, modo de preparación y momento o intervalo en el que o con el que se realiza la administración. Así, en algunos casos puede ser suficiente arreglárselas con menos de la cantidad mínima previamente mencionada, mientras que en otros casos debe superarse el
10 límite superior mencionado. En caso de administración de cantidades más grandes puede ser recomendable distribuirse ésta en varias administraciones individuales durante el día.

Los datos en porcentaje en las siguientes pruebas y ejemplos son, siempre y cuando no se especifique lo contrario, porcentajes en peso; las partes son partes en peso. Las relaciones de disolventes, relaciones de dilución y datos de
15 concentración de disoluciones líquido/líquido se refieren respectivamente al volumen.

A. Ejemplos

Abreviaturas

20	Gen.	general
	área	superficie (del pico)
25	calc.	calculado
	BHI	infusión de cerebro y corazón (Brain Heart Infusion)
	Boc	<i>tert</i> -butiloxicarbonilo
30	a	señal ancha (en espectros de RMN)
	ej.	ejemplo
35	d	doblete (en espectros de RMN)
	CCF	cromatografía en capa fina
	DCI	ionización química directa (en EM)
40	DCM	diclorometano
	DIEA	<i>N,N</i> -diisopropiletilamina
45	DMSO	dimetilsulfóxido
	DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
	d. t.	del teórico
50	EDC	1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (también EDCI)
	EDCxHCl	clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida
55	EE	acetato de etilo (éster etílico de ácido acético)
	EI	ionización por impacto electrónico (en EM)
	ESI	ionización por electropulverización (en EM)
60	Pf.	punto de fusión
	hall.	hallado
65	sat.	saturado
	h	hora

ES 2 313 423 T3

	HATU	hexafluorofosfato de <i>O</i> -(7-azabenzotriazol-1-il)- <i>N,N,N',N'</i> -tetrametiluronio
	HOBt	1-hidroxibenzotriazol
5	HPLC	cromatografía líquida de alta presión, de alta resolución
	HR	High Resolution (alta resolución)
	a. v.	a vacío
10	conc.	concentrado
	LC-EM	espectroscopía de masas acoplada a cromatografía de líquidos
15	LDA	diisopropilamida de litio
	m	middle (medio) (en espectros de UV e IR)
	m	multiplete (en espectros de RMN)
20	MALDI	desorción/ionización láser asistida por matriz
	CIM	concentración inhibitoria mínima
25	min	minuto/minutos
	MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina
	EM	espectroscopía de masas
30	NCCLS	Comité Nacional para Estándares de Laboratorio Clínico
	neg.	negativa NMM <i>N</i> -metilmorfolina
35	RMN	resonancia magnética nuclear (nuclear magnetic resonance)
	p.a.	para análisis
	Pd-C	paladio sobre carbón
40	pos.	positiva
	porc.	en porcentaje
	cuant.	cuantitativo
45	RP-HPLC	HPLC en fase inversa
	TA	temperatura ambiente
50	R _t	tiempo de retención (en HPLC)
	s	strong (fuerte) (en espectros de UV e IR)
	s	singlete (en espectros de RMN)
55	TBTU	tetrafluoroborato de <i>O</i> -(benzotriazol-1-il)- <i>N,N,N',N'</i> -tetrametiluronio
	TCTU	tetrafluoroborato de <i>O</i> -(1H-6-clorobenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio
60	TFA	ácido trifluoroacético
	TFE	2,2,2-trifluoroetanol
	THF	tetrahidrofurano
65	TOF	tiempo de vuelo (time of flight)

ES 2 313 423 T3

UV	ultravioleta
Vis	visible
5 VRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a vancomicina
w	weak (débil) (en espectros de UV e IR)
Z, Cbz	benciloxicarbonilo

10

Bibliografía

Para la nomenclatura de los péptidos y ciclodepsipéptidos véase:

15

1. A Guide to IUPAC Nomenclature of Organic Compounds (*Recommendations 1993*), 1993, Blackwell Scientific publications.

20

2. Nomenclature and symbolism for amino acids and peptides. *Recommendations 1983*. IUPAC-IUB Joint Commission on Biochemical Nomenclature, UK. *Biochemical Journal* 1984, 219, 345-373. Así como la bibliografía citada.

25

3. Para la nomenclatura de los derivados de nonadepsipéptidos que se derivatizan en las cadenas laterales de aminoácidos se usa el sistema de prefijos de la IUPAC para acceder a los sitios de derivatización respectivos (IUPAC, Nomenclature and Symbolism for amino Acids and Peptides, Names and Symbols for Derivatives of Named Peptides, Section 3AA-22, *Recommendations 1983-1992*). Así por ejemplo, *N^{ω,6}*-acetil-lisobactina designa una lisobactina acetilada en el aminoácido 6 (calculado a partir del extremo *N* del depsipéptido, es decir, en este caso D-Arg), especialmente en el átomo de nitrógeno extremo.

30

Procedimientos generales de LC-EM, HR-EM, HPLC y cromatografía en gel

35

Procedimiento 1 (HPLC): tipo de instrumento de HPLC: HP 1100 Series; UV DAD; columna: Zorbax Eclipse XBD-C8 (Agilent), 150 mm x 4,6 mm, 5 μ m; eluyente A: 5 ml de HClO₄/l de agua, eluyente B: acetonitrilo; gradiente: 0-1 min 10% de B, 1-4 min 10-90% de B, 4-5 min 90% de B; flujo: 2,0 ml/min; horno: 30°C; detección UV: 210 y 254 nm.

40

Procedimiento 2 (HPLC): columna: Kromasil RP-18, 60 mm x 2 mm, 3,5 μ m; eluyente A: 5 ml de HClO₄/l de agua, eluyente B: acetonitrilo; gradiente: 0 min 2% de B, 0,5 min 2% de B, 4,5 min 90% de B, 9 min 90% de B; flujo: 0,75 ml/min; horno: 30°C; detección UV: 210 nm.

45

Procedimiento 3 (LC-EM): tipo de instrumento de ES: Micromass ZQ; tipo de instrumento de HPLC: HP 1100 Series; UV DAD; columna: Phenomenex Synergi 2 μ Hydro-RP Mercury 20 mm x 4 mm; eluyente A: 1 l de agua + 0,5 ml de ácido fórmico al 50%, eluyente B: 1 l de acetonitrilo + 0,5 ml de ácido fórmico al 50%; gradiente: 0,0 min 90% de A \rightarrow 2,5 min 30% de A \rightarrow 3,0 min 5% de A \rightarrow 4,5 min 5% de A; flujo: 0,0 min 1 ml/min, 2,5 min/3,0 min/4,5 min 2 ml/min; horno: 50°C; detección UV: 210 nm.

50

Procedimiento 4 (HPLC): columna: Kromasil RP-18, 250 mm x 4 mm, 5 μ m; eluyente A: 5 ml de HClO₄/l de agua, eluyente B: acetonitrilo; gradiente: 0 min 5% de B, 10 min 95% de B; flujo: 1 ml/min; horno: 40°C; detección UV: 210 nm.

55

Procedimiento 5 (HPLC): columna: Kromasil RP-18, 250 mm x 4 mm, 5 μ m; eluyente A: 2 ml de HClO₄/l de agua, eluyente B: acetonitrilo; isocrático: 45% de B, 55% de A; flujo: 1 ml/min; horno: 40°C; detección UV: 210 nm.

Procedimiento 6 (cromatografía en gel en Sephadex LH-20): la cromatografía en gel se realiza sin presión en Sephadex LH-20 (empresa Pharmacia). Se fracciona según la actividad de LTV (detector de UV para 254 nm, empresa Knauer) (colector de fracciones ISCO Foxi 200). Dimensiones de la columna: 32 x 7 cm (escala de medición 1000-100 μ mol); 30 x 4 cm (escala de medición 100-10 μ mol); 25 x 2 cm (escala de medición 10-1 μ mol).

60

Procedimiento 7 (HPLC preparativa): instrumento: Gilson Abimed HPLC; detector de UV 210 nm; sistema de bombeo binario; columna: Reprosil ODS-3, 5 μ m, 250 x 20 mm; eluyente A: ácido trifluoroacético al 0,2% en agua, eluyente B: acetonitrilo; velocidad de flujo: 25 ml/min; temperatura de la columna 40°C; 0-12 min 35% de B.

65

Procedimiento 8 (LC-EM): tipo de instrumento de EM: Micromass ZQ; tipo de instrumento de HPLC: HP 1100 Series; UV DAD; columna: Phenomenex Synergi 2 μ Hydro-RP Mercury 20 mm x 4 mm; eluyente A: 1 l de agua + 0,5 ml de ácido fórmico al 50%, eluyente B: 1 l de acetonitrilo + 0,5 ml ácido fórmico al 50%; gradiente: 0,0 min 90% de A \rightarrow 2,5 min 30% de A \rightarrow 3,0 min 5% de A \rightarrow 4,5 min 5% de A; flujo: 0,0 min 1 ml/min, 2,5 min/3,0 min/4,5 min 2 ml/min; horno: 50°C; detección UV: 210 nm.

ES 2 313 423 T3

Procedimiento 9 (HPLC): tipo de instrumento de HPLC: HP 1050 Series; UV DAD 1100 Series; columna Symmetry-Prep™C₁₈, empresa Waters, 50 x 2,1 mm, 3,5 μm; eluyente A: agua/ácido trifluoroacético al 0,05%, eluyente B: acetonitrilo; gradiente: 0-9 min 0-100% de B, 9-11 min 100% de B, 11-12 min 100-0% de B, a continuación regeneración de la columna de cromatografía. Horno: 40°C, flujo: 0,4 ml/min, detección UV: 210 nm.

Procedimiento 10 (EM-FT-ICR-HR): las mediciones de precisión de la masa se realizan en un espectrómetro de masas de resonancia ión-ciclotrón con transformada de Fourier Apex II de alta resolución (Bruker Daltonik GmbH, Bremen) que está equipado con un imán de 7 Teslas, una fuente de iones por electropulverización externa y un sistema de datos XMASS basado en Unix. La resolución de la masa asciende aproximadamente a 40.000 (50% de definición de valle).

Procedimiento 11 (HPLC preparativa): instrumento: Gilson Abimed HPLC; detector de UV 210 nm; sistema de bombeo binario; columna: Kromasil C-18, 5 μm, 100 Å, 250 x 20 mm; eluyente A: ácido trifluoroacético al 0,2% en agua, eluyente B: acetonitrilo; velocidad de flujo: 25 ml/min; 0 min 20% de B, rampa 0-15 min 80% de B, rampa, 15-15,1 min 20% de B, 15,1-20 min 20% de B. Para sustancias protegidas con *N*-butoxicarbonilo, el ácido trifluoroacético se sustituye en el eluyente fundamentalmente por ácido acético al 0,05%.

Procedimiento 12 (LC-EM): tipo de instrumento de EM: Micromass ZQ; tipo de instrumento de HPLC: Waters Alliance 2790; columna: Grom-Sil 120 ODS-4 HE 50 x 2 mm, 3,0 μm; eluyente A: agua + 500 μl de ácido fórmico al 50%/1; eluyente B: acetonitrilo + 500 μl de ácido fórmico al 50%/1; gradiente: 0,0 min 0% de B → 0,2 min 0% de B → 2,9 min 70% de B → 3,1 min 90% de B → 4,5 min 90% de B; horno: 45°C; flujo: 0,8 ml/min; detección UV: 210 nm.

Procedimiento 13 (EM-TOF-HR-ESI): los espectros de EM-TOF-HR-ESI se miden con un espectrómetro de masas Micromass-LCT (capilar 3,2 KV, cono 42 V, fuente: 120°C). Las muestras se inyectan con una bomba de jeringa (Harvard Apparatus). Se usa leucina-encefalina como patrón.

Procedimiento 14 (HPLC preparativa): instrumento: Gilson Abimed HPLC; detector de UV 210 nm; sistema de bombeo binario; columna: Nucleodur C18 Gravity, empresa Macherey-Nagel, 5 μm; 250 x 40 mm; flujo: 15-45 ml/min; eluyente A: agua/ácido trifluoroacético al 0,1%, eluyente B: acetonitrilo; gradiente: 0-12 min 10% de B, 12-20 min 10-35% de B, 20-25 min 35-40% de B, 25-35 min 40% de B, 35-45 min 40-50% de B, 45-50 min 50-60% de B 100% de B, 50-60 min 60-100% de B, 60-75 min 100% de B, a continuación regeneración de la columna de cromatografía.

Procedimiento 15 (EM-MALDI): las investigaciones de EM-MALDI/EM se realizan en un 4700 Proteomics Analyzer (Applied Biosystems, Framingham, MA, EE.UU.) que está equipado con óptica de iones TOF/TOF y láser de Nd:YAG de 200 Hz (355 nm). Los iones cuasimoleculares se aceleran en la fuente de iones con 8 kV, se seleccionan con un deflector eléctrico (MS1) y se impactan en una celda de impacto, que está dispuesta entre MS1 y MS2, con átomos de argón. Los iones de fragmentos formados se aceleran posteriormente con 15 kV y se caracterizan con el segundo analizador de masas de tiempo de vuelo (MS2).

Procedimiento 16 (LC-EM): tipo de instrumento MS: Micromass ZQ; tipo de instrumento de HPLC: Waters Alliance 2790; columna: Grom-Sil 120 ODS-4 HE 50 mm x 2 mm, 3,0 μm; eluyente B: acetonitrilo + ácido fórmico al 0,05%, eluyente A: agua + ácido fórmico al 0,05%; gradiente: 0,0 min 5% de B → 2,0 min 40% de B → 4,5 min 90% de B → 5,5 min 90% de B; horno: 45°C; flujo: 0,0 min 0,75 ml/min → 4,5 min 0,75 ml/min → 5,5 min 1,25 ml/min; detección UV: 210 nm.

Procedimiento 17 (HPLC preparativa): instrumento: Gilson Abimed HPLC; detector de UV 210 nm; sistema de bombeo binario; columna: Nucleodur C₁₈ Gravity, empresa Macherey-Nagel, 5 μm; 250 x 21 mm; flujo: 20 ml/min; eluyente A: agua/ácido acético al 0,25-0,5%, eluyente B: acetonitrilo; gradiente: 0-3 min 5% de B, 3-30 min 5-100% de B, 30-38 min 100% de B, a continuación regeneración de la columna de cromatografía.

Procedimiento 18 (RMN, análisis cuantitativo de TFA/contenidos absolutos): se pesan una sustancia orgánica que contiene flúor disuelta y una sustancia de calibrado (por ejemplo, 1,4-dibromotetrafluorobenceno), se añade un disolvente adecuado y a continuación se registra un espectro de RMN ¹⁹F de la muestra (376 MHz). Del espectro de RMN se determinan las integrales necesarias de la sustancia de prueba y de la sustancia de calibrado. A partir de esto se determina el contenido de flúor (o TFA).

Procedimiento 19 (EM-MALDI): las investigaciones de EM-MALDI/EM se realizan en un 4700 Proteomics Analyzer (Applied Biosystems, Framingham, MA, EE.UU.) que está equipado con óptica de iones TOF/TOF y láser de Nd:YAG de 200 Hz (355 nm). Los iones cuasimoleculares se aceleran en la fuente de iones con 8 kV, se seleccionan con un deflector eléctrico (MS1) y se impactan en una celda de impacto, que está dispuesta entre MS1 y MS2, con átomos de argón. Los iones de fragmentos formados se aceleran posteriormente con 15 kV y se caracterizan con el segundo analizador de masas de tiempo de vuelo (MS2).

Procedimiento 20 (EM-FT-ICR-HR): las mediciones de precisión de la masa se realizan en un espectrómetro de masas de resonancia ión-ciclotrón con transformada de Fourier Apex II de alta resolución (Bruker Daltonik GmbH,

ES 2 313 423 T3

Bremen) que está equipado con un imán de 7 Teslas, una fuente de iones por electropulverización externa y un sistema de datos XMASS basado en Unix. La resolución de la masa asciende aproximadamente a 40.000 (50% de definición de valle).

5 *Procedimiento 21 (HPLC preparativa):* instrumento: Gilson Abimed HPLC; detector de UV 210 nm; sistema de bombeo binario; columna: Reprosil ODS-A, 5 μm , 250 x 20 mm; eluyente A: ácido trifluoroacético al 0,2% en agua, eluyente B: acetonitrilo; velocidad de flujo: 25 ml/min; temperatura de la columna 40°C; 0-10 min 20% de B, 10-15 min 80% de B.

10 *Procedimientos generales de trabajo*

Procedimiento general de trabajo 1 (preparación hidrolítica de muestras para EM-MALDI)

15 El depsipéptido que va a abrirse (por ejemplo, lisobactina, 0,05 μmol) se mezcla inicialmente en un microvial con un tampón de borato-ácido clorhídrico (empresa Merck) pH 8 (250 μl). Se deja reposar durante la noche, se mezcla con ácido acético (100 μl) y la muestra se liofiliza. El producto bruto se investiga sin más etapas de purificación mediante secuenciación por EM-MALDI.

Procedimiento general de trabajo 2 (Edman^{0,5} y ^{1,5})

20 A una disolución del péptido libre del extremo N (0,3 mmol) en piridina seca (30 ml) se añade gota a gota isotiocianato de fenilo bajo atmósfera de gas protector argón (50 mmol). La mezcla de reacción se agita a 37°C (aproximadamente 1 h) hasta que el control analítico por HPLC (procedimiento 13) muestra suficiente conversión (>95%). La mezcla de reacción se concentra a vacío con control de temperatura (<40°C) y luego se liofiliza.

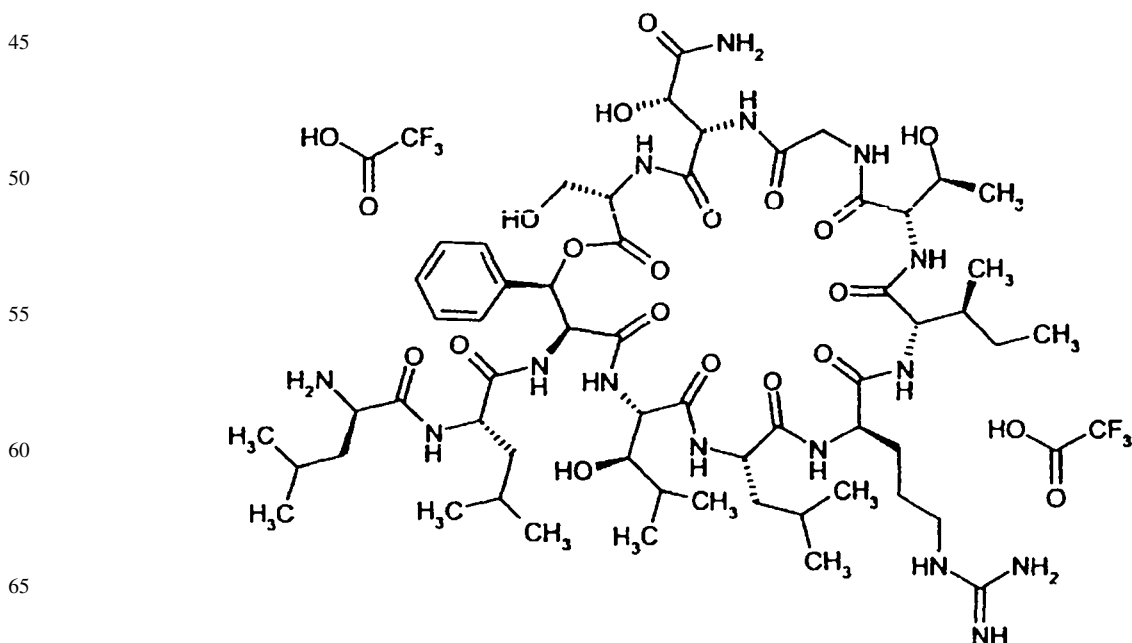
Procedimiento general de trabajo 3 (Edman^{1,0} y ^{2,0})

25 Bajo atmósfera de gas protector argón, la tiourea de péptido (0,2 mmol) se mezcla como sólido con agitación vigorosa con ácido trifluoroacético seco y luego se agita a 40°C (aproximadamente 20 min) hasta que el control analítico por HPLC muestra suficiente conversión (>95%). La mezcla de reacción se concentra rápidamente a vacío a temperatura ambiente (control de temperatura). Para liberar el producto bruto de más ácido trifluoroacético, el producto bruto se recoge en diclorometano y se libera de nuevo a vacío del disolvente. Este proceso se repite varias veces con tolueno (dos veces) y con diclorometano (dos veces). Finalmente se liofiliza el producto bruto.

35 *Compuestos de partida*

Ejemplo 1A

40 *Bistrifluoroacetato de D-leucil-N¹-{[(3S,6S,12S,15S,18R,21S,24S,27S,28R)-6-[(1S)-2-amino-1-hidroxi-2-oxoetil]-18-(3-{[amino(imino)metil]amino}propil)-12-[(1S)-1-hidroxi-etil]-3-(hidroximetil)-24-[(1R)-1-hidroxi-2-metilpropil]-21-isobutil-15-[(1S)-1-metilpropil]-2,5,8,11,14,17,20,23,26-nonaoxo-28-fenil-1-oxa-4,7,10,13,16,19,22,25-octazaciclooctacosan-27-il]-L-leucinamida (lisobactina)*



ES 2 313 423 T3

Fermentación

Medio de cultivo

5 *YM*: agar de levadura-malta: D-glucosa (4 g/l), extracto de levadura (4 g/l), extracto de malta (10 g/l), 1 litro de agua con Lewatit. Antes de la esterilización (20 minutos a 121°C) se ajusta el pH a 7,2.

HPM: manitol (5,4 g/l), extracto de levadura (5 g/l), peptona de carne (3 g/l).

10 *Conserva de trabajo*: la cepa liofilizada (ATCC 53042) se cultiva en 50 ml de medio YM.

Fermentación en matraz: se inoculan 150 ml de medio YM o 100 ml de medio HPM en un matraz Erlenmeyer de 1 l con 2 ml de la conserva de trabajo y se dejan crecer durante 30-48 horas a 28°C en un agitador a 240 rpm.

15 *Fermentación de 30 l*: 300 ml de la fermentación en matraz (medio HPM) se usan para inocular una disolución de medio nutriente de 30 l estéril (1 ml de Antifoam SAG 5693/l). Este cultivo se deja crecer durante 21 horas a 28°C, 300 rpm y una aireación con aire estéril de 0,3 vvm. El pH se mantiene constante con ácido clorhídrico 1 M a pH = 7,2. En total, durante el tiempo de cultivo se añaden 880 ml de ácido clorhídrico 1 M.

20 *Cultivo principal (200 l)*: se inoculan 15 x 150 ml de medio YM en matraces Erlenmeyer de 1 l con 2 ml de la conserva de trabajo y se dejan crecer a 28°C durante 48 horas y 240 rpm en el agitador. 2250 ml de este cultivo se usan para inocular una disolución de medio nutriente de 200 l estéril (YM) (1 ml de Antifoam SAG 5693/l) y se dejan crecer durante 18,5 horas a 28°C, 150 rpm y una aireación con aire estéril de 0,3 vvm.

25 Para controlar el desarrollo de la fermentación, cada hora se sacan muestras (50 ml). 2 ml de este caldo de cultivo se mezclan con 1 ml de metanol (ácido trifluoroacético al 0,5%) y se filtran a través de un filtro de 0,45 µm. 30 µl de esta suspensión se analizan mediante HPLC (procedimiento 1 y procedimiento 2).

Después de 18,5 horas, el caldo de cultivo del cultivo principal se separa a 17000 rpm en sobrenadante y sedimento.

30

Aislamiento

35 *El sobrenadante* (183 l) se ajusta a pH 6,5-7 con ácido trifluoroacético concentrado o solución cáustica y se aplica a una columna Lewapol (OC 1064, contenido de 60 l). A continuación se eluye con agua pura, agua/metanol 1:1 y a continuación con metanol puro (con ácido trifluoroacético al 0,1%). Esta fase orgánica se concentra a vacío hasta dar un resto acuoso restante de 11,5 l.

40 La fase acuosa restante se une a gel de sílice C₁₈ y se separa (MPLC, Biotage Flash 75, 75 x 30 cm, KP-C18-WP, 15-20 µm, flujo: 30 ml; eluyente: acetonitrilo/agua con ácido trifluoroacético al 0,1%; gradiente: 10%, 15% y 40% de acetonitrilo). La fase de 40% de acetonitrilo, que contiene la cantidad principal del ejemplo 1A, se concentra a vacío y a continuación se liofiliza (13 g). Esta mezcla de sólidos se separa inicialmente en porciones de 1,2 g en una HPLC preparativa (procedimiento 3), a continuación mediante filtración en gel en Sephadex LH-20 (5 x 70 cm, acetonitrilo/agua 1:1, respectivamente con ácido trifluoroacético al 0,05%) y otra HPLC preparativa (procedimiento 4).

45

Este proceso proporciona 2250 mg del ejemplo 1A.

50 *El sedimento* se recoge en 4 l de acetona/agua 4:1, se mezcla con 2 kg de Celite, se ajusta a pH = 6 con ácido trifluoroacético, se agita y se centrifuga. El disolvente se concentra a vacío y el residuo se liofiliza. El liofilizado obtenido (89,9 g) se recoge en metanol, se filtra, se concentra y se separa en gel de sílice (procedimiento 5). El ejemplo 1A se purifica después mediante filtración en gel (Sephadex LH-20, 5 x 68 cm, agua/acetonitrilo 9:1 (con ácido trifluoroacético al 0,05%), flujo: 2,7 ml/min. Tamaño de fracciones 13,5 ml) para dar la sustancia pura.

55 Este proceso proporciona 447 mg del ejemplo 1A.

HPLC (procedimiento 1): R_t = 6,19 min

EM (ESIpos): m/z = 1277 (M+H)⁺

60

65 RMN ¹H (500,13 MHz, d₆-DMSO): δ = 0,75 (d, 3H), 0,78 (d, 6H), 0,80 (t, 3H), 0,82 (d, 3H), 0,90 (d, 3H), 0,91 (d, 3H), 0,92 (d, 3H), 0,95 (d, 3H), 0,96 (d, 3H), 1,05 (m, 1H), 1,19 (d, 3H), 1,25 (m, 2H), 1,50 (m, 4H), 1,51 (m, 2H), 1,55 (m, 1H), 1,61 (m, 1H), 1,65 (m, 1H), 1,84 (m, 1H), 1,85 (m, 1H), 1,86 (m, 1H), 1,89 (m, 1H), 1,95 (m, 1H), 2,75 (m, 2H), 3,40 (m, 1H), 3,52 (m, 2H), 3,53 (dd, 1H), 3,64 (m, 2H), 3,66 (m, 1H), 3,68 (dd, 1H), 3,73 (m, 2H), 4,00 (dd, 1H), 4,02 (a, 1H), 4,13 (a, 1H), 4,32 (dd, 1H), 4,39 (t, 1H), 4,55 (m, 1H), 4,75 (dd, 1H), 5,19 (t, 1H), 5,29 (d, 1H), 5,30 (a, 1H), 5,58 (m, 2H), 6,68 (m, 3H), 6,89 (d, 1H), 6,93 (m, 3H), 6,94 (a, 1H), 6,98 (d, 1H), 7,12 (a, 1H), 7,20 (a, 2H), 7,23 (m, 2H), 7,42 (m, 2H), 7,54 (d, 1H), 7,58 (d, 1H), 8,32 (a, 1H), 9,18 (a, 1H), 9,20 (m, 2H), 9,50 (a, 1H).

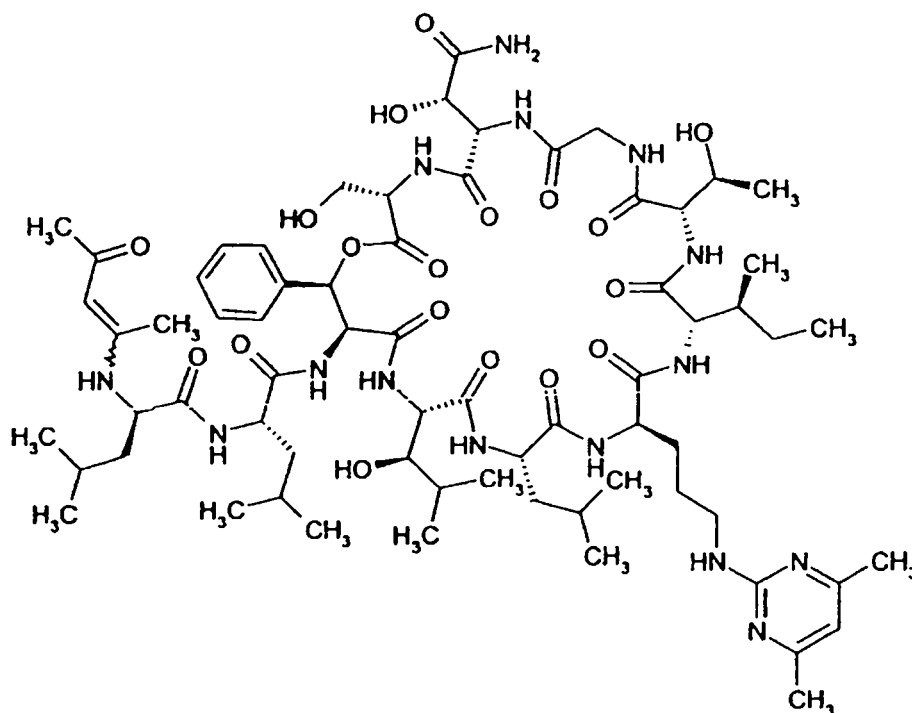
ES 2 313 423 T3

RMN ^{13}C (125,77 MHz, d_6 -DMSO): $\delta = 10,3, 15,3, 19,0, 19,2, 19,6, 20,0, 20,9, 22,0, 22,4, 23,0, 23,2, 24,3, 24,4, 25,0, 25,4, 26,0, 27,8, 30,9, 35,4, 39,5, 40,8, 40,9, 41,6, 44,1, 51,5, 52,7, 55,9, 56,2, 56,4, 57,9, 58,8, 60,2, 61,1, 62,6, 70,1, 71,6, 71,7, 75,5, 128,1, 128,6, 136,7, 156,8, 168,2, 170,1, 170,4, 171,2, 171,5, 171,9, 172,2, 172,4, 173,7.$

5 La asignación de las señales se realizó según la asignación descrita en la bibliografía (T. Kato, H. Hino, Y. Terui, *J. Antibiot.*, **1988**, 61, 719-725).

Ejemplo 2A

10 $N^{2,1}$ -[1-metil-3-oxobut-1-en-1-il]- $N^{7,\omega},N^{7,\omega'}$ -(pent[2]en[2]il[4]iliden)-lisobactina



45 En un recipiente de reacción resistente a la presión (tamaño: 1 ml) se añaden a una disolución de bistrifluoroacetato de lisobactina (15 mg, 0,01 mmol) en piridina (0,4 ml) tamiz molecular en polvo (4 Angstrom, 10 mg) y 2,4-pentanodiona (200 equivalentes, 0,2 ml, 2,0 mmol). La mezcla de reacción se calienta inicialmente durante 4 h hasta 80°C y luego hasta 90°C hasta que el cromatograma de HPLC muestre conversión completa (aproximadamente 12 h). La mezcla de reacción se filtra todavía caliente a través de una frita de vidrio (tamaño de poro 2), se concentra a vacío y se seca a alto vacío (12 h). El residuo se purifica mediante HPLC preparativa (por ejemplo procedimiento 17 sin TFA). Como producto se obtiene un sólido (8 mg, 54% d. t.).

50 LC-EM (procedimiento 16): $R_t = 3,43$ min;

EM (ESIpos.): m/z (%) = 712 (100) $[\text{M} + 2\text{H}]^{2+}$.

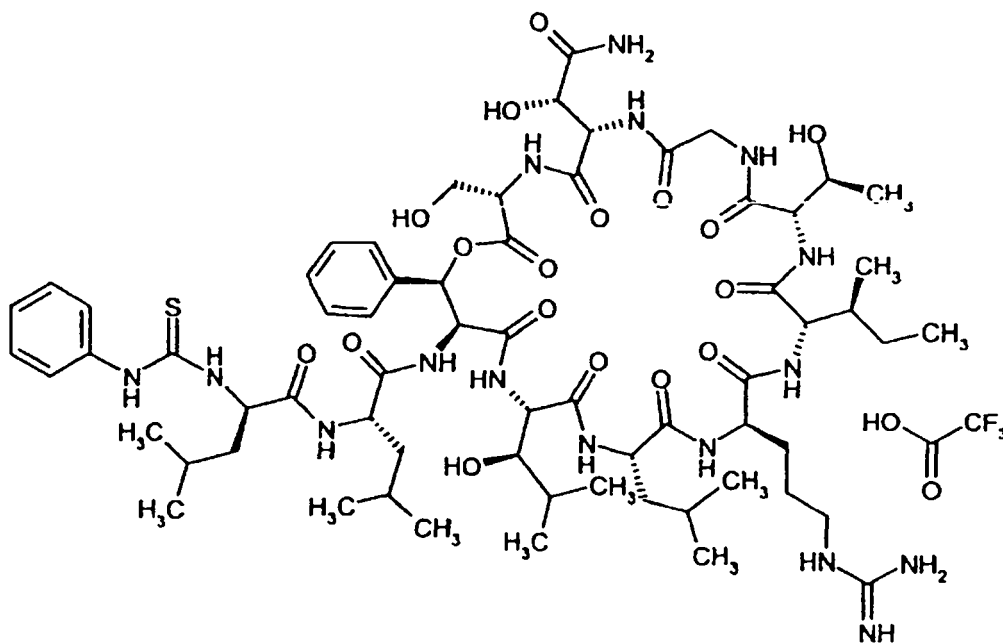
55 EM (ESIneg.): m/z (%) = 710 (100) $[\text{M} - 2\text{H}]^{2-}$.

ES 2 313 423 T3

Ejemplo 3A

Monotrifluoroacetato de N-(anilincarbonotioil)-D-leucil-N¹-(3S,16S,12S,18R,21S,24S,27S,28R)-6-[(1S)-2-amino-1-hidroxi-2-oxoetil]-18-(3-[[amino(imino)metil]amino]propil)12-[(1S)-1-hidroxi-2-oxoetil]-3-(hidroximetil)-24-[(1R)-1-hidroxi-2-metilpropil]-21-isobutil-15-[(1S)-1-metilpropil]-2,5,8,11,14,17,20,23,26-nonaixo-28-fenil-1-oxa-4,7,10,13,16,19,22,25-octaazaciclooctacosan-27-il]-L-leucinamida

{Monotrifluoroacetato de N-(anilincarbonotioil)lisobactina}



Se hace reaccionar bistrifluoroacetato de lisobactina (500 mg, 0,33 mmol) (ejemplo 1A) según el procedimiento general de trabajo 2. Se obtienen 600 mg (cuant.) de producto, que puede seguir haciéndose reaccionar sin purificar.

Para la posterior purificación, el producto bruto puede cromatografiarse en gel (procedimiento 6; metanol/ácido acético al 0,1%). Las fracciones que contienen producto se concentran a vacío a temperatura ambiente y luego se liofilizan. Se obtiene el producto en 80% de rendimiento.

HPLC/UV-Vis (procedimiento 13): $R_t = 6,84$ min,

$\lambda_{\text{máx}}$ (cualitativo) = 220 nm (s), 248 (m), 269 (m).

LC-EM (procedimiento 11): $R_t = 2,64$ min;

EM (ESIpos.): m/z (%) = 706,5 (50) $[M + 2H]^{2+}$, 1412 (20) $[M + H]^+$;

LC-EM (procedimiento 12): $R_t = 4,95$ min;

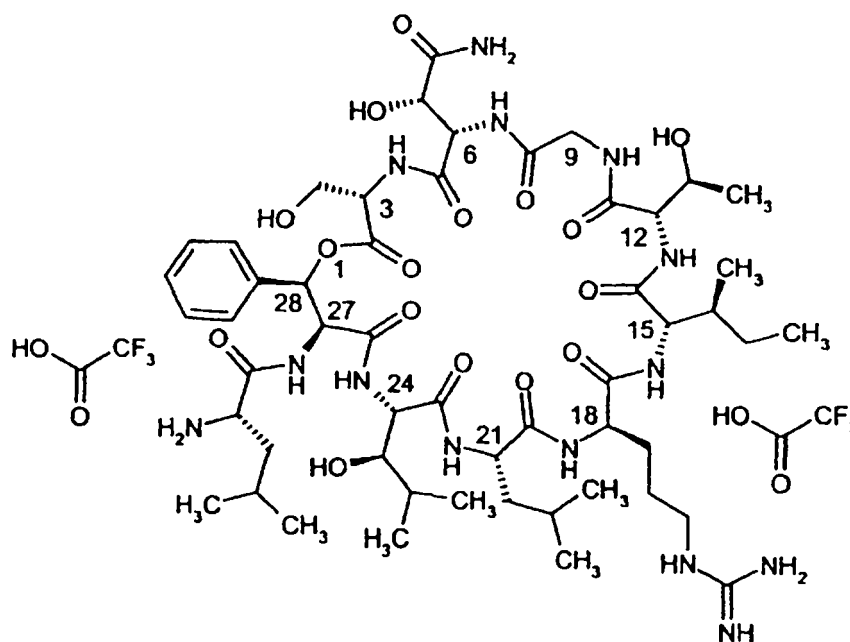
EM (ESIpos.): m/z (%) = 1412 (100) $[M + H]^+$.

ES 2 313 423 T3

Ejemplo 4A

Bistrifluoroacetato de N¹-{(3S,6S,12S,15S,18R,21S,24S,27S,28R)-6-[(1S)-2-amino-1-hidroxi-2-oxoetil]-18-(3-[[amino(imino)metil]amino]propil)-12-[(1S)-1-hidroxi-2-oxoetil]-3-(hidroxi-metil)-24-[(1R)-1-hidroxi-2-metilpropil]-21-isobutil-15-[(1S)-1-metilpropil]-2,5,8,11,14,17,20,23,26-nonaoxo-28-fenil-1-oxa-4,7,10,13,16,19,22,25-octazaciclooctacosan-27-il)-L-leucinamida

{Bistrifluoroacetato de des-D-leucil-lisobactina}



Se hace reaccionar tiourea (ejemplo 3A) (300 mg, 0,2 mmol) según el procedimiento general de trabajo 3. El producto bruto se cromatografía en gel (procedimiento 6; metanol/ácido acético al 0,25%) y a continuación se purifica de forma fina mediante HPLC preparativa (procedimiento 8). Se obtienen 147 mg (65% d. t.) de producto.

HPLC/UV-Vis (procedimiento 13): $R_t = 4,96$ min,

$\lambda_{\text{máx}}$ (cualitativo) = 220 nm (s), 255-270 (w).

LC-EM (procedimiento 12): $R_t = 3,84$ min;

EM (ESIpos.): m/z (%) = 582,4 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1164 (20) $[M + H]^+$.

EM-FT-ICR-HR (procedimiento 20):

$C_{52}H_{88}N_{14}O_{16} [M + 2H]^{2+}$ calc. 582,32459, hall. 582,32460;

$C_{52}H_{87}N_{14}NaO_{16} [M + H + Na]^{2+}$ calc. 593,31556, hall. 593,31564.

Para la determinación de la secuencia de aminoácidos, una muestra analítica del producto se hidroliza según el procedimiento general de trabajo 1.

EM-MALDI (procedimiento 19): m/z (%) = 1181,7 (100) $[M + H]^+$.

Procedimiento de preparación alternativo a mayor escala

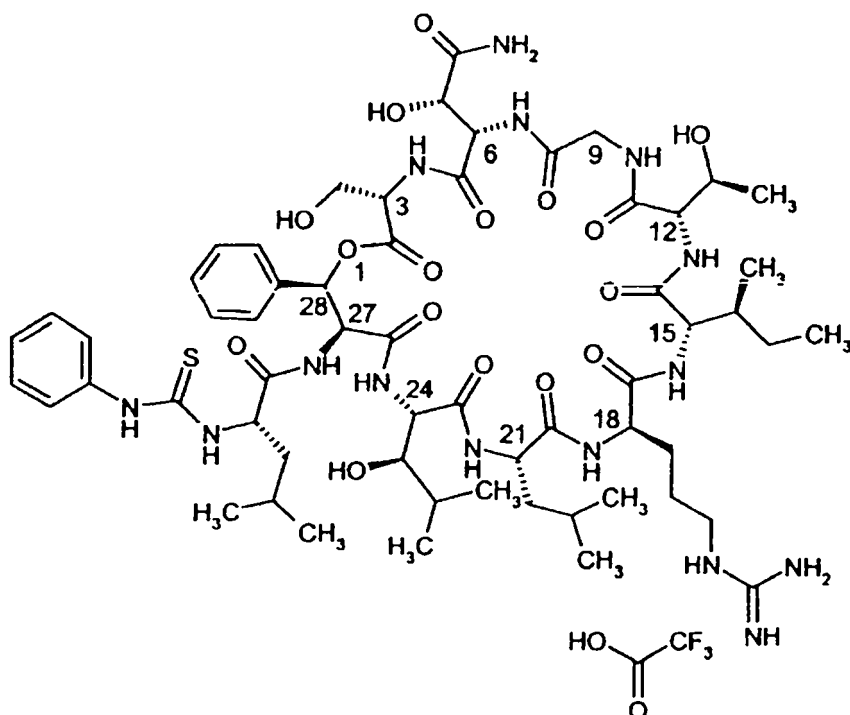
El ejemplo 1A (6,47 g, 4,30 mmol) se disuelve bajo atmósfera de argón en piridina (90 ml). Luego se añade isotiocianato de fenilo (1,16 g, 8,60 mmol, 2 equivalentes) y la mezcla de reacción se agita a 37°C durante 1 h. A continuación, el disolvente se elimina por destilación en rotavapor y el residuo se seca durante la noche en el vacío de una bomba de aceite. Se obtiene el producto intermedio del ejemplo 2A con un rendimiento bruto de 6,60 g. El producto intermedio se sigue haciendo reaccionar sin purificación. Además, el ejemplo 3A (6,60 g) se disuelve bajo

ES 2 313 423 T3

atmósfera de argón en ácido trifluoroacético (107 ml) y se agita 30 min a temperatura ambiente. La disolución se concentra luego en el rotavapor a vacío, se seca por poco tiempo en el vacío de la bomba de aceite, se recoge en éter metil-*terc*-butílico (250 ml) y se agita vigorosamente hasta que se forme un sólido amorfo pulverulento. Éste se separa por filtración con vacío y se lava con éter metil-*terc*-butílico (200 ml), luego se vuelve a lavar más con diclorometano (dos veces 100 ml). El sólido se transfiere a un matraz y se seca a vacío de bomba de aceite. Se obtiene el ejemplo 4A con un rendimiento bruto de 6,0 g (cuant.). El producto se hace reaccionar sin más purificación.

Ejemplo 5A

Monotrifluoroacetato de N²-(anilincarbonotioil)-N¹-{(3S,6S,12S,15S,18R,21S,24S,27S,28R)-6-[(1S)-2-amino-1-hidroxi-2-oxoetil]-18-(3-{[amino(imino)metil]amino}propil)-12-[(1S)-1-hidroxi-2-oxoetil]-3-(hidroximetil)-24-[(1R)-1-hidroxi-2-metilpropil]-21-isobutil-15-[(1S)-1-metilpropil]-2,5,8,11,14,17,20,23,26-nonaoxo-28-fenil-1-oxa-4,7,10,13,16,19,22,25-octazaciclooctacosan-27-il)-L-leucinamida



Se hace reaccionar bistrifluoroacetato de des-D-leucil-lisobactina (ejemplo 4A, 255 mg, 0,18 mmol) según el procedimiento general de trabajo 2. Se obtienen 322 mg (cuant.) de producto, que puede seguir haciéndose reaccionar sin purificar:

Para la posterior purificación, el producto bruto puede cromatografiarse en gel (procedimiento 6; metanol/ácido acético al 0,1%). Las fracciones que contienen producto se concentran a vacío a temperatura ambiente y luego se liofilizan.

HPLC/UV-Vis (procedimiento 13): $R_t = 6,56$ min,

$\lambda_{\text{máx}}$ (cualitativo) = 220 nm (s), 245 (m), 268 (m).

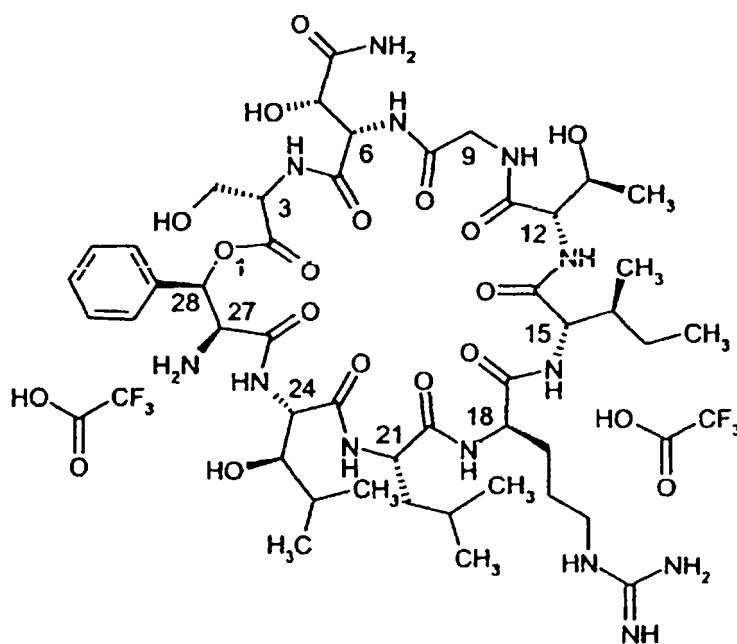
LC-EM (procedimiento 12): $R_t = 4,85$ min;

EM (ESIpos.): m/z (%) = 1299 (100) $[M + H]^+$.

Ejemplo 6A

Bistrifluoroacetato de (2S)-2-[(3S,6S,12S,15S,18R,21S,24S,27S,28R)-27-amino-18-(3-[[amino(imino)metil]amino]-propil)-12-[(1S)-1-hidroxietil]-3-(hidroximetil)-24-[(1R)-1-hidroxi-2-metilpropil]-21-isobutil-15-[(1S)-1-metilpropil]-2,5,8,11,14,17,20,23,26-nonaoxo-28-fenil-1-oxa-4,7,10,13,16,19,22,25-octazaciclooctacosan-6-il]-2-hidroxietanamida

{Bistrifluoroacetato de des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina}



Se hace reaccionar tiourea (ejemplo 5A, 66 mg, 34 μ mol) según el procedimiento general de trabajo 3. El producto bruto puede purificarse previamente mediante una rápida cromatografía en gel (procedimiento 6; metanol/ácido acético al 0,25%). La HPLC preparativa (procedimiento 8 o procedimiento 9 seguido de posterior doble transaminación del producto de cromatografía mediante adición de TFA (100 μ mol)) proporciona 45 mg (75% d. t.) de producto.

HPLC/UV-Vis (procedimiento 13): $R_t = 4,71$ min,

$\lambda_{\text{máx}}$ (cualitativo) = 220 nm (s), 255-270 (w).

LC-EM (procedimiento 11): $R_t = 1,65$ min;

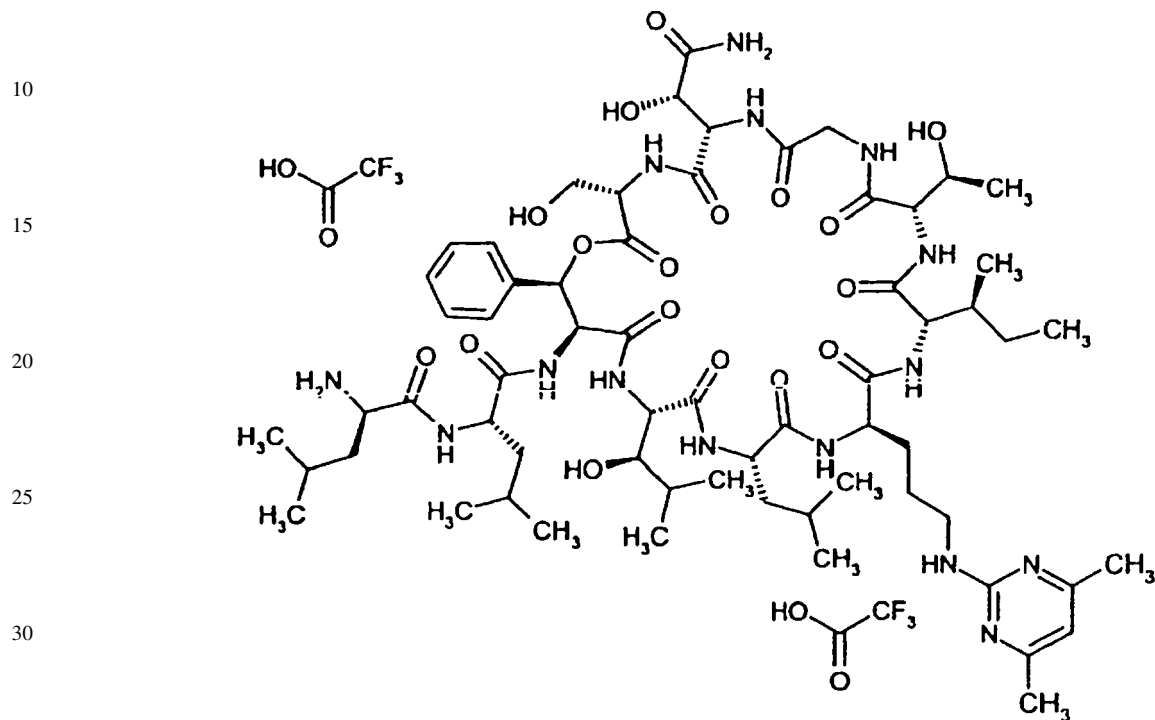
EM (ESIpos.): m/z (%) = 526 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1051 (15) $[M + H]^+$.

Procedimiento de preparación alternativo a mayor escala

El compuesto del ejemplo 4A (6,47 g, 4,30 mmol) se disuelve bajo atmósfera de argón en piridina (92 ml). Luego se añade isotiocianato de fenilo (8,75 g, 64,68 mmol, 15 equivalentes) y la mezcla de reacción se agita a 37°C durante 1 h. A continuación, el disolvente se elimina por destilación en rotavapor y el residuo se seca durante la noche a vacío de bomba de aceite. Se obtiene el ejemplo 5A con un rendimiento bruto de 6,0 g. El producto intermedio se sigue haciendo reaccionar sin purificación. Además, el ejemplo 5A bruto se disuelve bajo atmósfera de argón en ácido trifluoroacético (82 ml) y se agita 30 min a temperatura ambiente. La disolución se concentra luego en rotavapor a vacío, se seca por poco tiempo a vacío de bomba de aceite, se recoge en éter metil-*terc*-butílico (250 ml) y se agita vigorosamente hasta que se forme un sólido amorfo pulverulento. Éste se elimina por filtración con vacío y se lava con más éter metil-*terc*-butílico (200 ml), luego se vuelve a lavar más con dos partes cada una de 100 ml de diclorometano. El sólido se transfiere a un matraz y se seca a vacío de bomba de aceite. Se obtiene el compuesto del título con un rendimiento bruto de 5,4 g (cuant.). El producto se sigue purificando mediante HPLC preparativa (procedimiento 21). Se obtienen 1,79 g del compuesto del título (32% d. t.).

Ejemplos de realización

Ejemplo 1

5 *Trifluoroacetato de N^{ω,6},N^{ω',6'}-(pent[2]en[2]il[4]iliden)-lisobactina*

35 En un matraz de tres bocas equipado con condensador de reflujo se añaden a una disolución de bistrifluoroacetato de lisobactina (2,0 g, 0,8 mmol) en piridina (55 ml) tamiz molecular en polvo (4 Angstrom, 0,5 g) y 2,4-pentanodiona (40 equivalentes, 3,3 ml, 32,1 mmol). La mezcla de reacción se calienta inicialmente durante 3,5 h hasta 85°C y luego hasta 110°C hasta que el cromatograma de HPLC muestre conversión completa (aproximadamente 4-8 h). La mezcla de reacción se filtra todavía caliente a través de una frita de vidrio (tamaño de poro 2), se concentra a vacío y se seca a alto vacío (12 h). El residuo (1,9 g) se recoge en una mezcla de acetonitrilo (30 ml) y ácido clorhídrico acuoso 0,5 N (40 ml) y se agita a temperatura ambiente hasta que el cromatograma de HPLC muestre conversión completa (aproximadamente 0,4 h). La mezcla de reacción se concentra a vacío, se congela y se liofiliza. El producto de disociación se purifica mediante cromatografía en gel (procedimiento 6, eluyente metanol/ácido acético 99/1) obteniéndose 1,5 g de producto bruto que a continuación se purifica de forma fina mediante HPLC preparativa (procedimiento 7). Se obtienen 536 mg (46% d. t.) de producto.

EPLC/UV-Vis (procedimiento 9): $R_t = 5,9$ min,

$\lambda_{\text{máx}}$ (cualitativo) = 220 nm (s), 310 (s).

LC-EM (procedimiento 8): $R_t = 1,45$ min;

EM (ESIpos.): m/z (%) = 671 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1341 (10) $[M + H]^+$.

EM (ESIneg.): m/z (%) = 669 (80), 1339 (50) $[M - H]^-$, 1385 $[M - H + HCO_2H]^-$.

EM-FT-ICR-HR (procedimiento 10): $C_{63}H_{103}N_{15}O_{17}$ $[M + 2H]^{2+}$ calc. 670,88227, hall. 670,88169

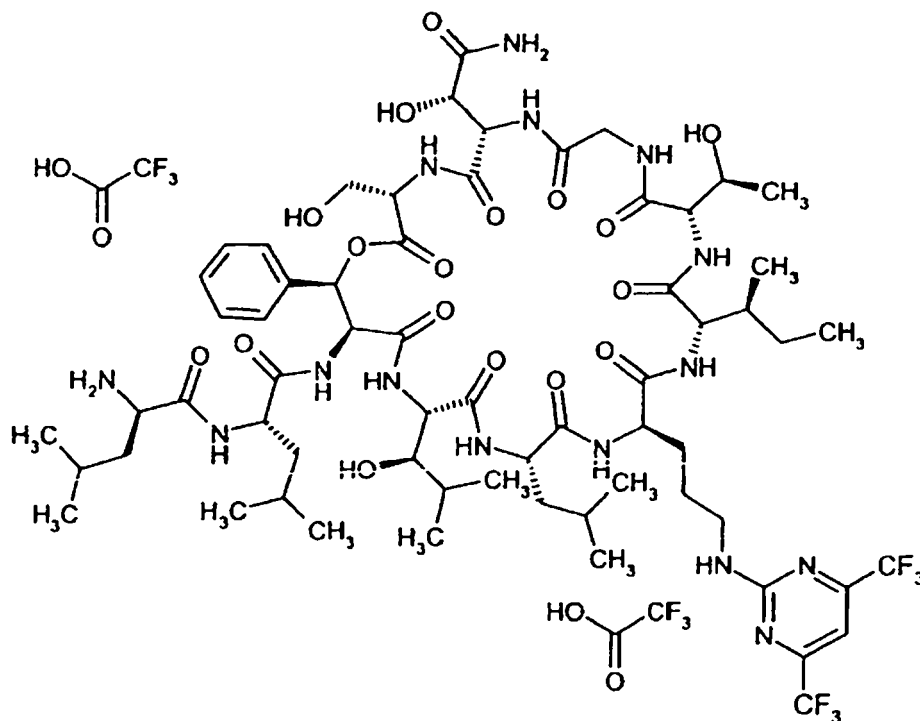
EM-TOF-HR-ESI (procedimiento 13): $C_{63}H_{102}N_{15}O_{17}$ $[M + H]^+$ calc. 1340,7578, hall. 1340,7552;

Para la determinación de secuencias de aminoácidos, una muestra analítica del producto se hidroliza según el procedimiento general de trabajo 1.

EM-MALDI (procedimiento 15): m/z (%) = 1358,8 (100) $[M + H]^+$.

El contenido de TFA se determina mediante RMN ^{19}F (procedimiento 18; sustancia de calibrado 1,4-dibromotetrafluorobenceno): calc. 14,5% en peso de TFA, hall. 13,8% en peso de TFA.

Ejemplo 2

N^{ω,6},N^{ω',6'}-(1,1,1,5,5,5-hexafluoro-pent[2]en[2]il[4]iliden)-lisobactina

En un matraz de tres bocas equipado con condensador de reflujo se añaden a una disolución de bistrifluoroacetato de lisobactina (10,0 mg, 0,05 mmol) en piridina (5 ml) tamiz molecular en polvo (4 Angstrom, 0,05 g) y 1,1,1,5,5,5-hexafluoro-2,4-pentanodiona (10 equivalentes, 70 μ l, 480 μ mol). La mezcla de reacción se calienta inicialmente durante 48 h hasta 85°C y luego hasta 95°C hasta que el cromatograma de HPLC muestre conversión completa (aproximadamente 12 h). La mezcla de reacción se filtra todavía caliente a través de una frita de vidrio (tamaño de poro 2), se concentra a vacío y se seca a alto vacío (12 h). El residuo se recoge en una mezcla de acetonitrilo (3 ml) y ácido clorhídrico acuoso 0,5 N (4 ml) y se agita a temperatura ambiente hasta que el cromatograma de HPLC muestre conversión completa (aproximadamente 0,5 h). La mezcla de reacción se concentra a vacío, se congela y se liofiliza. El producto de disociación se purifica mediante cromatografía en gel (procedimiento 11). Se obtienen 3,5 mg (4,6% d. t.) de producto.

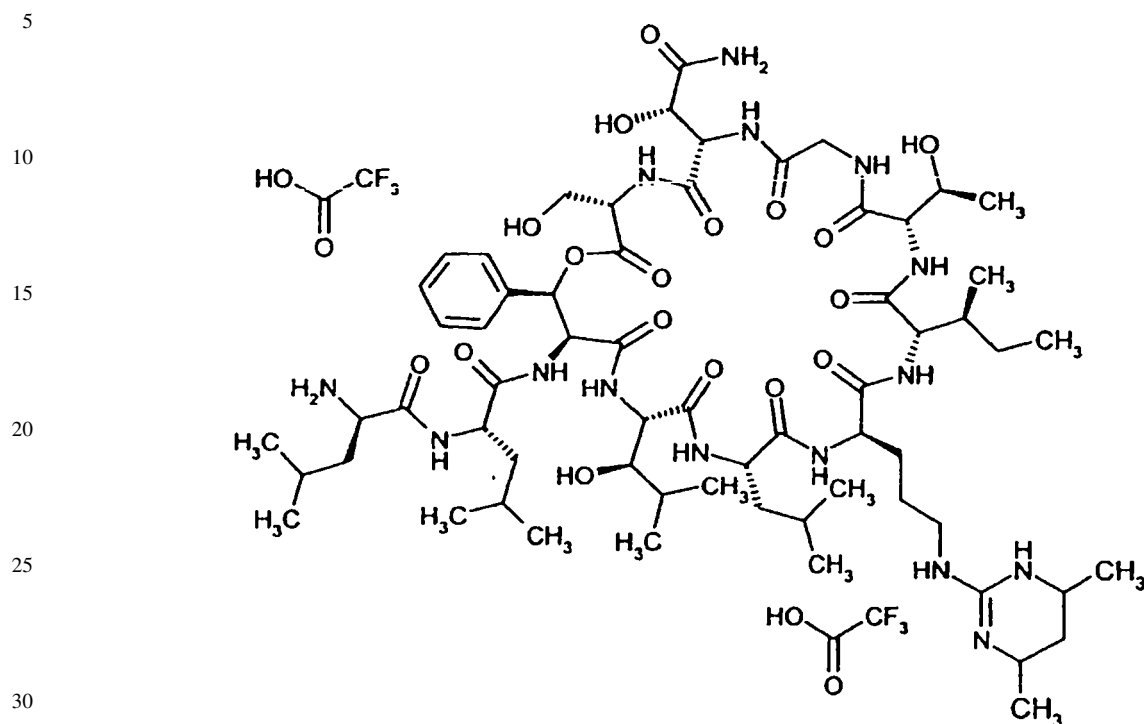
LC-EM (procedimiento 12): $R_t = 2,68$ min;

EM (ESIpos.): m/z (%) = 725 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1449 (20) $[M + H]^+$.

EM (ESIneg.): m/z (%) = 687 (50), 1447 (100) $[M - H]^-$, 1493 (15) $[M - H + HCO_2H]^-$.

EM-FT-ICR-HR (procedimiento 10): $C_6H_9F_6N_{15}O_{17}$ $[M + 2H]^{2+}$ calc. 724,85400, hall. 724,85427

Ejemplo 3

N^{ω,6}-N^{ω',6}-(Pentano[2,4]diil)-lisobactina

35 Una mezcla de trifluoroacetato de *N^{ω,6},N^{ω',6}-(pent[2]en[2]il[4]iliden)-lisobactina* (205 mg, 0,14 mmol), 2-propanol (10 ml), agua (10 ml), paladio sobre carbón (10%, 100 mg) y ácido clorhídrico concentrado (1,8 ml) se hidrogena a presión normal y temperatura ambiente. La hidrogenación se interrumpe cuando el cromatograma de HPLC muestra conversión completa (aproximadamente 24 h). La mezcla de reacción se filtra a través de Celite (lavándose varias veces con 2-propanol) y a continuación se concentra a vacío. El producto bruto se purifica mediante HPLC preparativa (procedimiento 14) y se liofiliza. Se obtiene como producto un sólido (52 mg, 25% d. t.).

40 HPLC/UV-Vis (procedimiento 9): $R_t = 6,0$ min,

$\lambda_{\text{máx}}$ (cualitativo) = 220 nm (s), 260 (m).

45 LC-EM (procedimiento 8): $R_t = 1,59$ min;

EM (ESIpos.): m/z (%) = 673 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1345 (10) $[M + H]^+$.

EM (ESIneg.): m/z (%) = 671 (80) $[M - 2H]^{2-}$, 1343 (40) $[M - H]^-$, 1390 (100) $[M - H + HCO_2H]^-$

50 EM-TOF-HR-ESI (procedimiento 13): $C_{63}H_{106}N_{15}O_{17}$ $[M + H]^+$ calc. 1344,7891, hall. 1344,7867

B. Evaluación de la actividad fisiológica

55 La actividad *in vitro* de los compuestos según la invención puede mostrarse en los siguientes ensayos:

Determinación de la concentración inhibitoria mínima (CIM)

60 La CIM se determina en la prueba de dilución de líquido según las normas del NCCLS. Los cultivos durante la noche de *Staphylococcus aureus* 133, *Enterococcus faecalis* 27159, *E. faecium* 4147 y *Streptococcus pneumoniae* G9a se incuban con las sustancias de prueba descritas en una serie de dilución 1:2. La determinación de la CIM se realiza con un número de células de 10^5 gérmenes por ml en medio IsoSensitest (empresa Difco, Irvine/EE.UU.), con excepción de *S. pneumoniae* que se prueba en caldo BHI (empresa Difco, Irvine/EE.UU.) con 10% de suero bovino a un número de células de 10^6 gérmenes por ml. Los cultivos se incuban a 37°C durante 18-24 horas, *S. pneumoniae* en presencia de 10% de CO_2 .

65

ES 2 313 423 T3

La menor concentración de sustancia en cada caso a la que ya no se produce crecimiento bacteriano visible se define como la CIM. Los valores de CIM se especifican en $\mu\text{g/ml}$.

En la tabla A se reproducen datos de actividad *in vitro* representativa de los compuestos según la invención:

TABLA A

Ejemplo nº	MIC <i>S. aureus</i> 133	MIC <i>S. pneumoniae</i>	MIC <i>E. faecalis</i> IGB 27159
3	0,5	0,5	2

La idoneidad de los compuestos según la invención para el tratamiento de infecciones bacterianas puede mostrarse en el siguiente modelo animal:

Infección sistémica con Staphylococcus aureus 133

Se cultivan células de *S. aureus* 133 durante la noche en caldo BHI (empresa Oxoid, Nueva York/EE.UU.). El cultivo durante la noche se diluye 1:100 en caldo BHI fresco y se incuba durante 3 horas. Las células que luego se encuentran en la fase de crecimiento logarítmico se separan por centrifugación y se lavan dos veces con solución salina fisiológica tamponada. Luego se ajusta fotométricamente una suspensión celular en solución salina con una extinción de 50 unidades. Después de una etapa de dilución (1:15), esta suspensión se mezcla 1:1 con una disolución de mucina al 10%. De esta disolución de infección se administran intraperitonealmente 0,25 ml/20 g de ratón (correspondientemente 1×10^6 gérmenes/ratón). La terapia se realiza intraperitonealmente o por vía intravenosa 30 minutos después de la infección. Para el experimento de infección se usan ratones hembra CFW1. La supervivencia de los animales se registra durante 6 días.

Las propiedades de los compuestos según la invención en cuanto a la tolerancia renal pueden mostrarse en el siguiente modelo animal:

Modelo de ratón para determinar efectos nefrotóxicos

Los efectos secundarios nefrotóxicos de los nonadepsipéptidos se analizan mediante investigaciones histopatológicas de los riñones en ratones y/o ratas después de administración múltiple de una determinada dosificación. Para esto, 5-6 animales se tratan diariamente o por vía intravenosa (i.v.) o intraperitonealmente (i.p.) con sustancias que se disuelven en disolución acuosa o con adición de Solutol. Los efectos tóxicos para los riñones se determinan mediante evaluación con microscopio óptico de secciones de riñones en parafina teñidas con hematoxilina y eosina (H&E). Opcionalmente se realiza una reacción de ácido peryódico de Schiff ("Periodic-Acid Schiff") (PAS) para visualizar mejor las glicoproteínas. Los efectos nefrotóxicos se establecen semicuantitativamente para cada animal como grados de gravedad de la basofilia y degeneración/regeneración tubulares que se producen (grados de gravedad: 0 = sin efecto; 1 = efecto mínimo; 2 = ligero efecto; 3 = efecto moderado; 4 = lesiones graves). El grado de gravedad promedio de la degeneración/regeneración tubular, así como la incidencia (número de animales afectados) se calcula por grupo de animales o derivado. También se citan cambios en los riñones que van más allá de esto como dilatación tubular, así como necrosis y acumulación de material necrótico.

C. Ejemplos de realización de composiciones farmacéuticas

Los compuestos según la invención pueden convertirse de la siguiente manera en preparaciones farmacéuticas:

Comprimidos

Composición

100 mg del compuesto del ejemplo 1, 50 mg de lactosa (monohidratada), 50 mg de almidón de maíz (nativo), 10 mg de polivinilpirrolidona (PVP 25) (empresa BASF, Ludwigshafen, Alemania) y 2 mg de estearato de magnesio.

Peso del comprimido 212 mg. Diámetro 8 mm, radio de curvatura 12 mm.

Preparación

La mezcla de principio activo, lactosa y almidón se granula en agua con una disolución al 5% (m/m) de PVP. El gránulo se mezcla después del secado con el estearato de magnesio durante 5 min. Esta mezcla se comprime con una prensa de comprimidos habitual (véase anteriormente la forma de los comprimidos). Como valor de consigna para la compresión se usa una fuerza de compresión de 15 kN.

ES 2 313 423 T3

Suspensión que puede administrarse por vía oral

Composición

5 1000 mg del compuesto del ejemplo 1, 1000 mg de etanol (96%), 400 mg de Rhodigel (goma xantana de la empresa FMC, Pensilvania, EE.UU.) y 99 g de agua.

Una monodosis de 100 mg del compuesto según la invención se corresponde con 10 ml de suspensión oral.

10 *Preparación*

El Rhodigel se suspende en etanol, el principio activo se añade a la suspensión. Con agitación se realiza la adición del agua. Hasta terminar el hinchamiento del Rhodigel se agitan aproximadamente 6 h.

15 *Disolución que puede administrarse por vía intravenosa*

Composición

20 100-200 mg del compuesto del ejemplo 1, 15 g de polietilenglicol 400 y 250 g de agua para fines de inyección.

Preparación

25 El compuesto del ejemplo 1 se disuelve junto con polietilenglicol 400 en el agua con agitación. La disolución se esteriliza por filtración (diámetro de poro 0,22 μm) y se envasa en condiciones asépticas en botellas de infusión esterilizadas por calor. Éstas se cierran con tapones de infusión y tapas rebordadas.

30

35

40

45

50

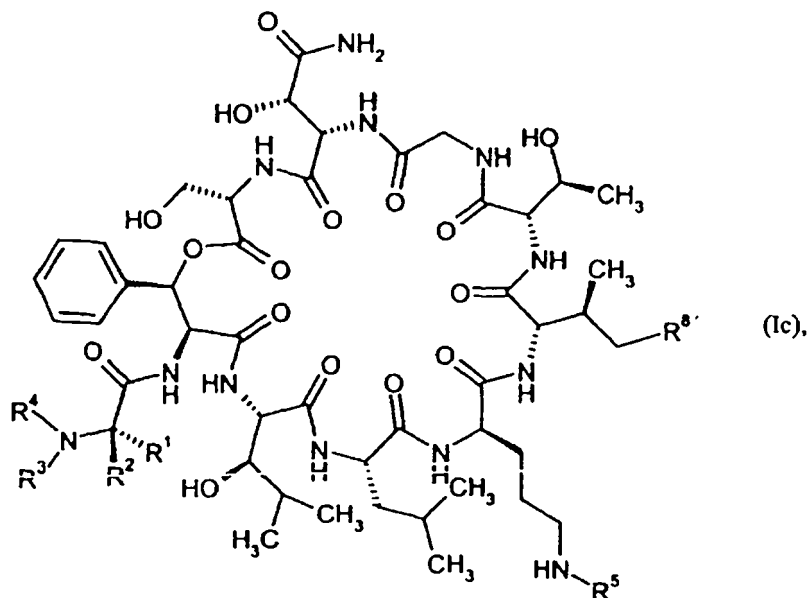
55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula



en la que

R¹ significa hidrógeno, alquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆ o arilo C₆-C₁₀,

en los que alquilo, alqueno, cicloalquilo y arilo pueden estar sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados independientemente entre sí del grupo constituido por halógeno, hidroxilo, amino, ciano, trimetilsililo, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, benciloxi, cicloalquilo C₃-C₆, arilo C₆-C₁₀, heterociclilo de 5 a 7 miembros, heteroarilo de 5 a 10 miembros, alquil C₁-C₆-amino, aril C₆-C₁₀-amino, alquil C₁-C₆-carbonilamino, aril C₆-C₁₀-carbonilamino, alquil C₁-C₆-carbonilo, alcoxi C₁-C₆-carbonilo, aril C₆-C₁₀-carbonilo y benciloxicarbonilamino,

en los que cicloalquilo, arilo, heterociclilo y heteroarilo pueden estar sustituidos por su parte con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados independientemente entre sí del grupo constituido por halógeno, hidroxilo, amino, ciano, nitro, trifluorometilo, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, fenilo y heterociclilo de 5 a 7 miembros,

R² significa hidrógeno o alquilo C₁-C₄,

R³ significa alquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, heterociclilo de 5 a 7 miembros, arilo C₆-C₁₀, heteroarilo de 5 ó 6 miembros, alquil C₁-C₆-carbonilo, alcoxi C₁-C₆-carbonilo, cicloalquil C₃-C₆-carbonilo, heterociclicarbonilo de 5 a 7 miembros, aril C₆-C₁₀-carbonilo, heteroarilcarbonilo de 5 ó 6 miembros o alquil C₁-C₆-aminocarbonilo,

en los que alquilo, cicloalquilo, heterociclilo, arilo, heteroarilo, alcoxycarbonilo, cicloalquilcarbonilo, heterociclicarbonilo, arilcarbonilo, heteroarilcarbonilo y alquilaminocarbonilo pueden estar sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados independientemente entre sí del grupo constituido por halógeno, hidroxilo, amino, alquil C₁-C₆-amino y fenilo, y

en los que alquilcarbonilo está sustituido con un sustituyente amino o alquil C₁-C₆-amino, y

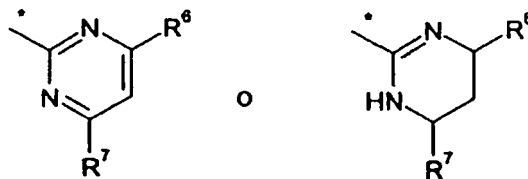
en los que alquilcarbonilo puede estar sustituido con otros 0, 1 ó 2 sustituyentes seleccionados independientemente entre sí del grupo constituido por halógeno, hidroxilo, trimetilsililo, alcoxi C₁-C₆, alquil C₁-C₆-tio, benciloxi, cicloalquilo C₃-C₆, fenilo, naftilo, heteroarilo de 5 a 10 miembros, alquil C₁-C₆-carbonilamino, alcoxi C₁-C₆-carbonilamino, aril C₆-C₁₀-carbonilamino, aril C₆-C₁₀-carboniloxi, benciloxicarbonilo y benciloxicarbonilamino,

en los que fenilo y heteroarilo pueden estar sustituidos por su parte con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados independientemente entre sí del grupo constituido por halógeno, hidroxilo, nitro, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆ y fenilo,

R⁴ significa hidrógeno, alquilo C₁-C₄, ciclopropilo o ciclopropilmetilo,

ES 2 313 423 T3

R⁵ significa un grupo de fórmula



10 en la que

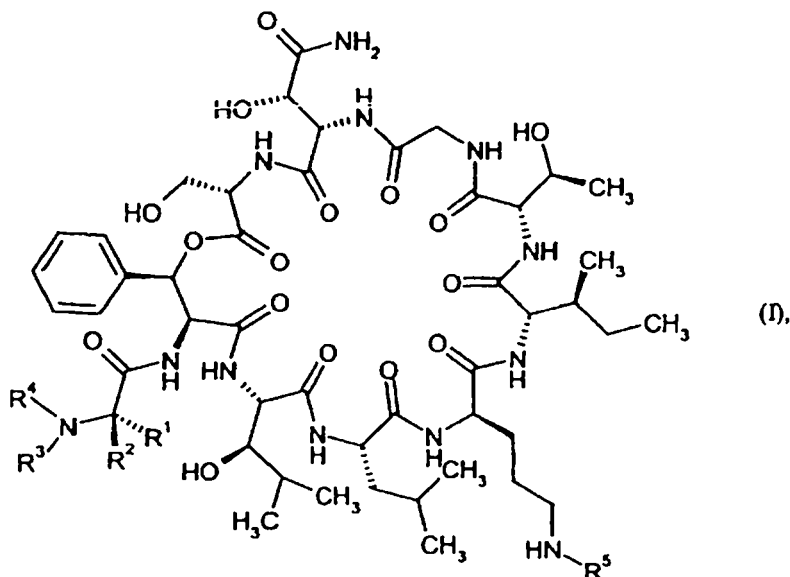
* significa el sitio de unión al átomo de nitrógeno,

15 R⁶ y R⁷ significan, independientemente entre sí, alquilo C₁-C₆ o trifluorometilo,

R⁸ significa hidrógeno o metilo,

20 o una de sus sales, sus solvatos o los solvatos de sus sales.

2. Compuesto según la reivindicación 1, **caracterizado** porque se corresponde con la fórmula



en la que

50 R¹ significa hidrógeno, alquilo C₁-C₆, alqueno C₁-C₆, cicloalquilo C₃-C₆ o arilo C₆-C₁₀,

en los que alquilo, alqueno, cicloalquilo y arilo pueden estar sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados independientemente entre sí del grupo constituido por halógeno, hidroxilo, amino, ciano, trimetilsililo, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, benciloxi, cicloalquilo C₃-C₆, arilo C₆-C₁₀, heterociclilo de 5 a 7 miembros, heteroarilo de 5 a 10 miembros, alquil C₁-C₆-amino, aril C₆-C₁₀-amino, alquil C₁-C₆-carbonilamino, aril C₆-C₁₀-carbonilamino, alquil C₁-C₆-carbonilo, alcoxi C₁-C₆-carbonilo, aril C₆-C₁₀-carbonilo y benciloxicarbonilamino,

55 en los que cicloalquilo, arilo, heterociclilo y heteroarilo pueden estar sustituidos por su parte con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados independientemente entre sí del grupo constituido por halógeno, hidroxilo, amino, ciano, nitro, trifluorometilo, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, fenilo y heterociclilo de 5 a 7 miembros,

60 R² significa hidrógeno o alquilo C₁-C₄,

65 R³ significa alquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, heterociclilo de 5 a 7 miembros, arilo C₆-C₁₀, heteroarilo de 5 ó 6 miembros, alquil C₁-C₆-carbonilo, alcoxi C₁-C₆-carbonilo, cicloalquil C₃-C₆-carbonilo, heterociclilcarbonilo de 5 a 7 miembros, aril C₆-C₁₀-carbonilo, heteroarilcarbonilo de 5 ó 6 miembros o alquil C₁-C₆-aminocarbonilo,

en los que alquilo, cicloalquilo, heterociclilo, arilo, heteroarilo, alcocarbonilo, cicloalquilcarbonilo, heterociclilcarbonilo, arilcarbonilo, heteroarilcarbonilo y alquilaminocarbonilo pueden estar sustituidos con 0, 1, 2 ó 3

ES 2 313 423 T3

sustituyentes seleccionados independientemente entre sí del grupo constituido por halógeno, hidroxilo, amino, alquilo C₁-C₆-amino y fenilo, y

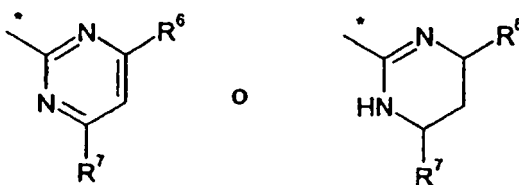
en los que alquilcarbonilo está sustituido con un sustituyente amino o alquilo C₁-C₆-amino, y

en los que alquilcarbonilo puede estar sustituido con otros 0, 1 ó 2 sustituyentes seleccionados independientemente entre sí del grupo constituido por halógeno, hidroxilo, trimetilsililo, alcoxi C₁-C₆, alquilo C₁-C₆-tio, benciloxi, cicloalquilo C₃-C₆, fenilo, naftilo, heteroarilo de 5 a 10 miembros, alquilo C₁-C₆-carbonilamino, alcoxi C₁-C₆-carbonilamino, aril C₆-C₁₀-carbonilamino, aril C₆-C₁₀-carboniloxi, benciloxicarbonilo y benciloxicarbonilamino,

en los que fenilo y heteroarilo pueden estar sustituidos por su parte con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados independientemente entre sí del grupo constituido por halógeno, hidroxilo, nitro, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆ y fenilo,

R¹ significa hidrógeno, alquilo C₁-C₄, ciclopropilo o ciclopropilmetilo,

R⁵ significa un grupo de fórmula



en la que

* significa el sitio de unión al átomo de nitrógeno,

R⁶ y R⁷ significan, independientemente entre sí, alquilo C₁-C₆ o trifluorometilo,

o una de sus sales, sus solvatos o los solvatos de sus sales.

3. Compuesto según la reivindicación 2, **caracterizado** porque

R¹ significa 2-metilprop-1-ilo, 2,2-dimetilprop-1-ilo, 2,2-dimetilbut-1-ilo, 1-trimetilsililmetilo, 2-trimetilsililet-1-ilo, 1-hidroxi-2-metilprop-1-ilo, 1-hidroxi-2,2-dimetilprop-1-ilo, 1-hidroxi-2,2-dimetilbut-1-ilo, 1-hidroxi-2-etil-2-metilbut-1-ilo, 1-hidroxi-2,2-dietilbut-1-ilo, fenilmetilo, 1-hidroxi-1-fenilmetilo, 2-piridilmetilo o 3-piridilmetilo,

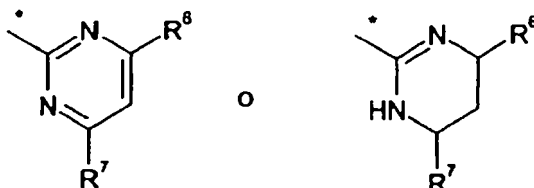
en los que 2-piridilmetilo o 3-piridilmetilo pueden estar sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados independientemente entre sí del grupo constituido por hidroxilo, amino, trifluorometilo, metilo, metoxi y morfolinilo,

R² significa hidrógeno,

R³ significa 1-amino-3-metilbut-1-ilcarbonilo, 1-amino-3,3-dimetilbut-1-ilcarbonilo o 1-amino-2-trimetilsililet-1-ilcarbonilo,

R⁴ significa hidrógeno,

R⁵ significa un grupo de fórmula



en la que

* significa el sitio de unión al átomo de nitrógeno,

R⁶ y R⁷ significan, independientemente entre sí, alquilo C₁-C₆ o trifluorometilo,

ES 2 313 423 T3

o una de sus sales, sus solvatos o los solvatos de sus sales.

4. Compuesto según una de las reivindicaciones 2 ó 3, **caracterizado** porque

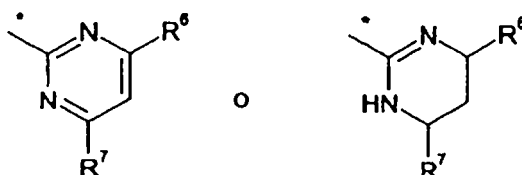
R¹ significa 2-metilprop-1-ilo,

R² significa hidrógeno,

R³ significa 1-amino-3-metilbut-1-ilcarbonilo,

R⁴ significa hidrógeno,

R⁵ significa un grupo de fórmula



en la que

* significa el sitio de unión al átomo de nitrógeno,

R⁶ y R⁷ significan, independientemente entre sí, alquilo C₁-C₆,

o una de sus sales, sus solvatos o los solvatos de sus sales.

5. Compuesto según una de las reivindicaciones 2 ó 3, **caracterizado** porque

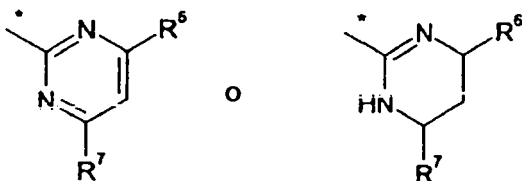
R¹ significa 2,2-dimetilprop-1-ilo,

R² significa hidrógeno,

R³ significa 1-amino-3,3-dimetilbut-1-ilcarbonilo,

R⁴ significa hidrógeno,

R⁵ significa un grupo de fórmula



en la que

* significa el sitio de unión al átomo de nitrógeno,

R⁵ y R⁷ significan, independientemente entre sí, alquilo C₁-C₆,

o una de sus sales, sus solvatos o los solvatos de sus sales.

6. Compuesto según una de las reivindicaciones 2 ó 3, **caracterizado** porque

R¹ significa 2,2-dimetilprop-1-ilo, 1-trimetilsililmetilo o 3-piridilmetilo,

en los que 3-piridilmetilo puede estar sustituido con un sustituyente trifluorometilo,

ES 2 313 423 T3

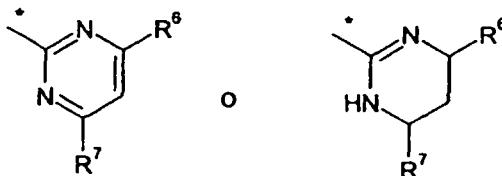
R² significa hidrógeno,

R³ significa 1-amino-3,3-dimetilbut-1-ilcarbonilo o 1-amino-2-trimetilsililet-1-ilcarbonilo,

5 R⁴ significa hidrógeno,

R⁵ significa un grupo de fórmula

10



15

en la que

20

* significa el sitio de unión al átomo de nitrógeno,

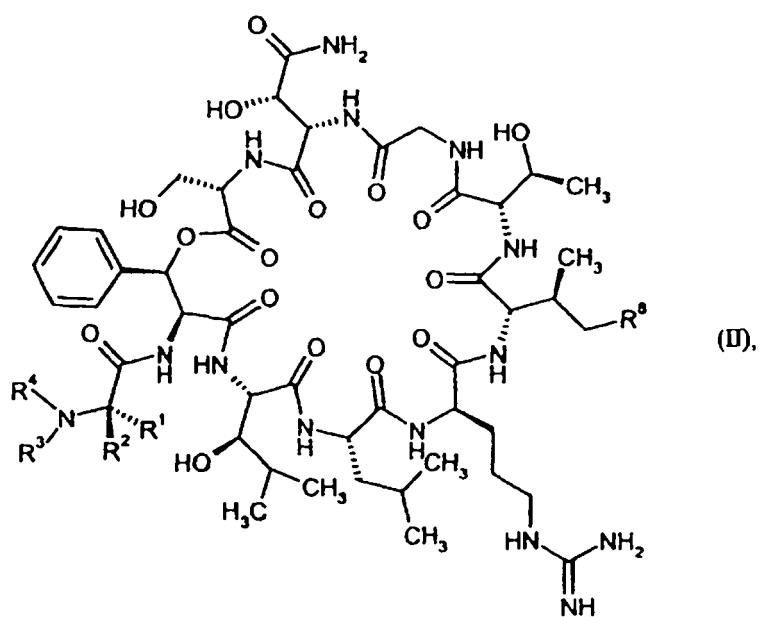
R⁶ y R⁷ significan, independientemente entre sí, alquilo C₁-C₆ o trifluorometilo,

o una de sus sales, sus solvatos o los solvatos de sus sales.

25

7. Procedimiento para preparar un compuesto de fórmula (Ic) según la reivindicación 1, **caracterizado** porque según el procedimiento [A] un compuesto de fórmula

30



35

40

45

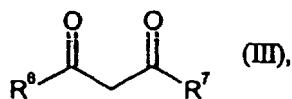
50

55

en la que R¹, R², R³, R⁴ y R⁸ tienen el significado especificado en la reivindicación 1,

se hace reaccionar con un compuesto de fórmula

60



65

en la que R⁶ y R⁷ tienen el significado especificado en la reivindicación 1, para dar un compuesto de fórmula

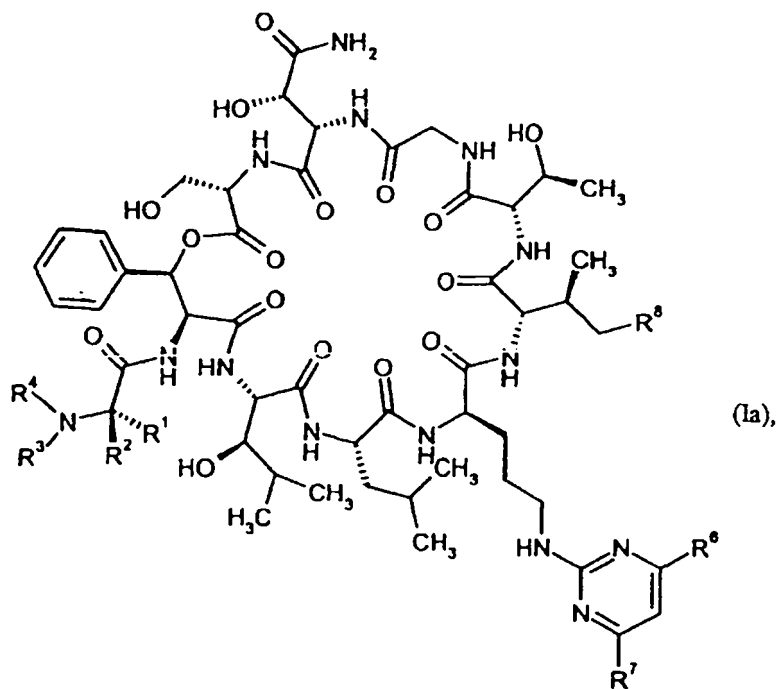
5

10

15

20

25



30

en la que R¹, R², R³, W, R⁶, R⁷ y R⁸ tienen el significado especificado en la reivindicación 1,

o

según el procedimiento [B] un compuesto de fórmula (Ia) se hace reaccionar con un agente reductor para dar un compuesto de fórmula

35

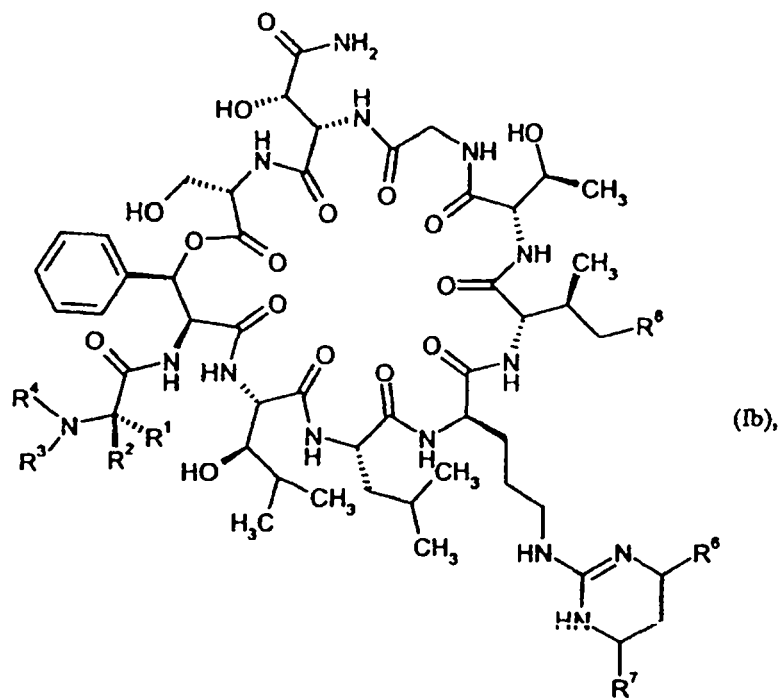
40

45

50

55

60



65

en la que R¹, R², R³, R⁴, R⁶, R⁷ y R⁸ tienen el significado especificado en la reivindicación 1.

8. Compuesto según una de las reivindicaciones 1 a 6 para el tratamiento y/o la profilaxis de enfermedades.

ES 2 313 423 T3

9. Uso de un compuesto según una de las reivindicaciones 1 a 6 para preparar un fármaco para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones bacterianas.

5 10. Fármaco que contiene un compuesto según una de las reivindicaciones 1 a 6 en combinación con un coadyuvante inerte, no tóxico farmacéuticamente adecuado.

11. Fármaco según la reivindicación 10 para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones bacterianas.

10 12. Uso de una cantidad antibacterianamente eficaz de al menos un compuesto según una de las reivindicaciones 1 a 6, de un fármaco según la reivindicación 10 o de un fármaco obtenido según la reivindicación 9 para preparar un fármaco para combatir infecciones bacterianas en el hombre y en animales.

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

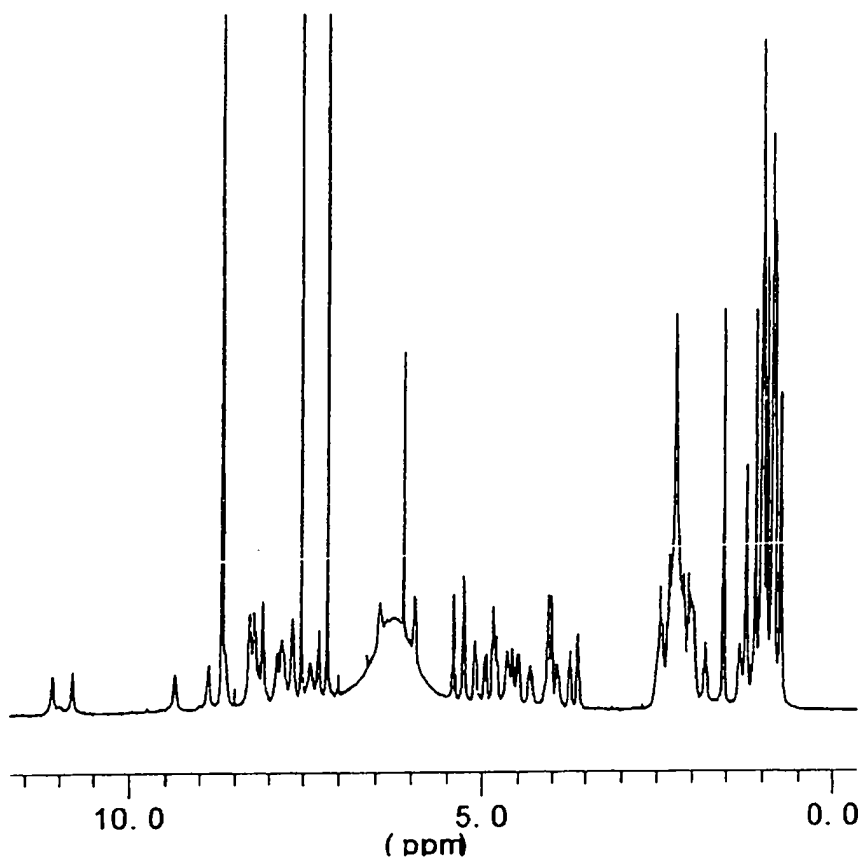


Fig. 1

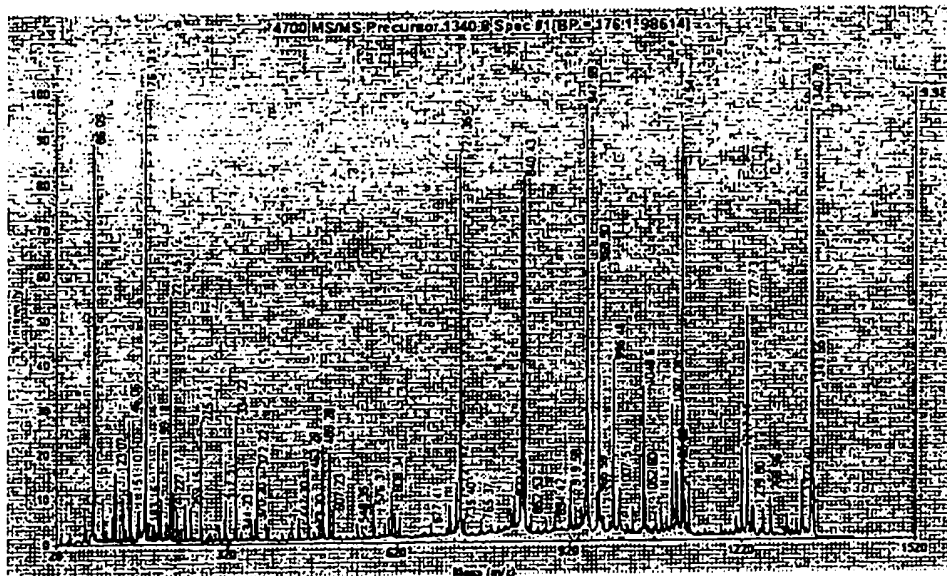


Fig. 2

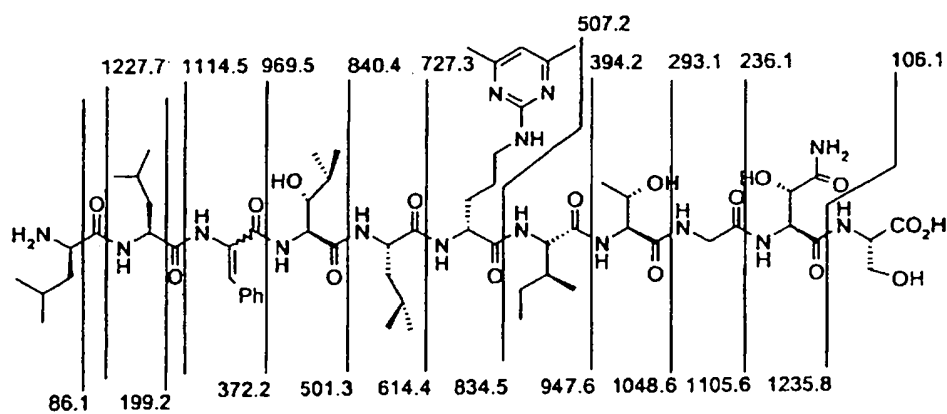


Fig. 3

ES 2 313 423 T3

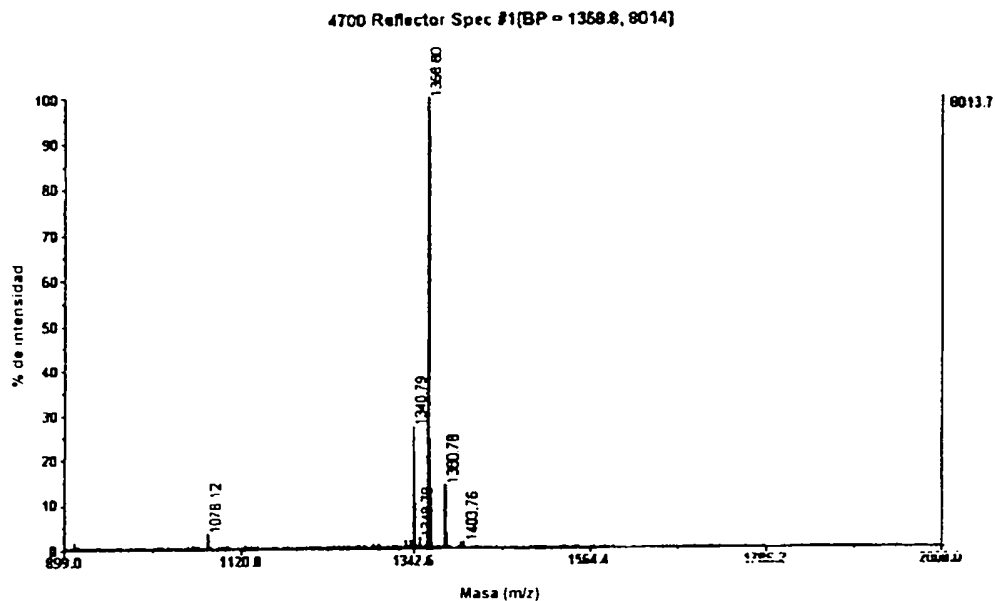


Fig. 4

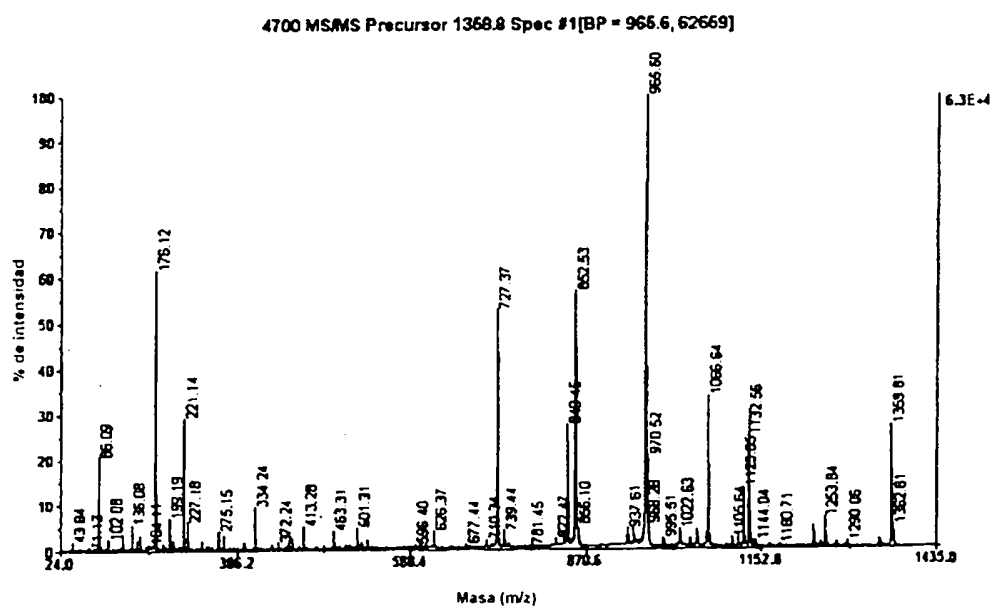


Fig. 5

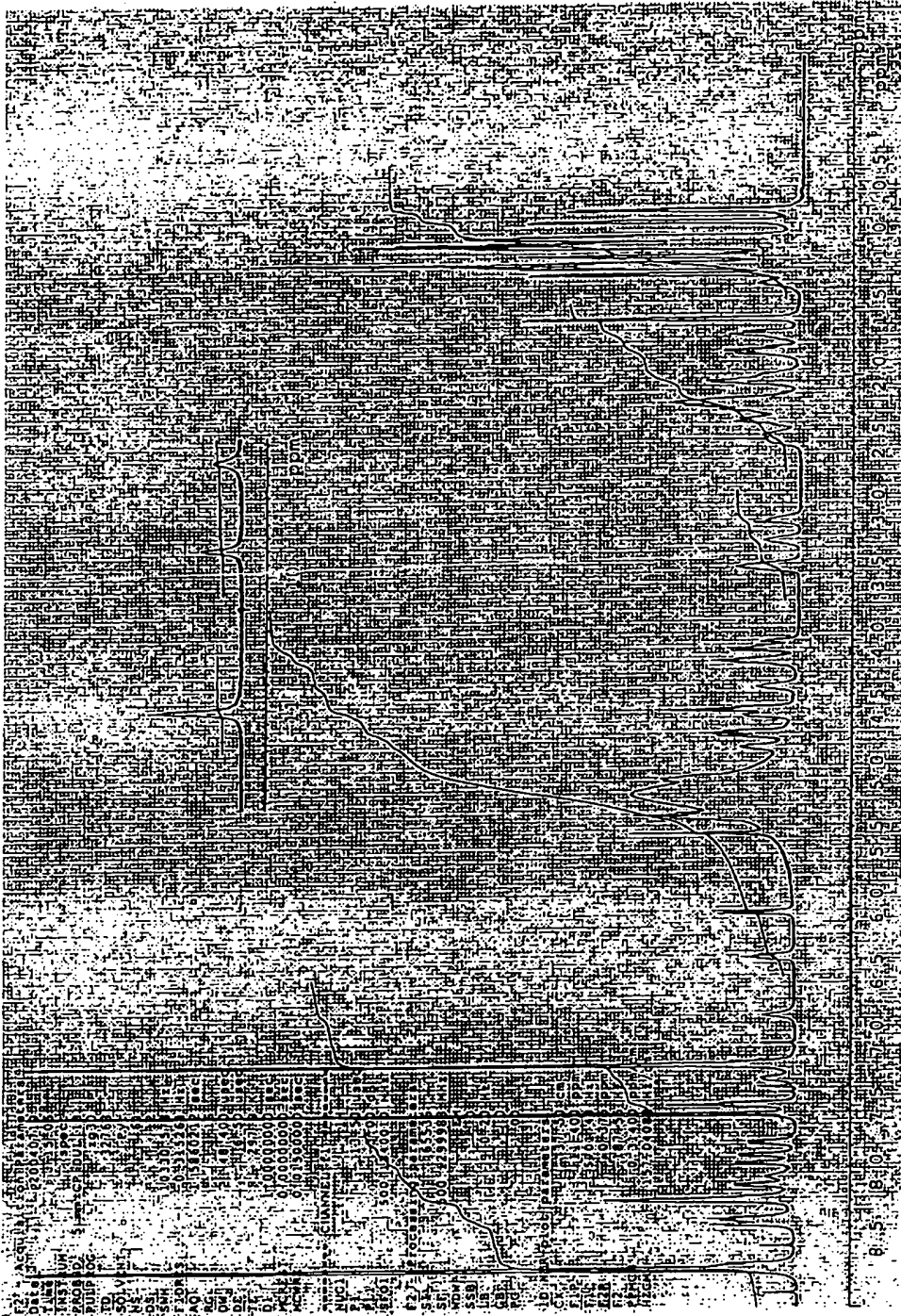


Fig. 7