

No. 13-019560-00000-0000

Fecha: 2013-02-01 17:13:30
Tra: 11 PATENTEIYII
Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Eve: 378 FASENACIONALI
Folios: 4



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION

TITULO: COMPUESTOS CON ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA CONTRA
CLOSTRIDIUM.

SOLICITANTE: ELANCO ANIMAL HEALTH IRELAND LIMITED

DIRECCIÓN: 70 Sir John Rogerson's Quay, Dublin, Irlanda.

APODERADO: CARLOS R. OLARTE

BOGOTÁ 01 de Febrero de 2013

P2013/000009

OLARTEMOURE

OLARTE MOURE & AS

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 13-019560-00000-0000

Fecha: 2013-02-01 17:13:30 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYI Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 4

PETITORIO - FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD

PATENTE PCT

ENTRADA EN FASE NACIONAL

P2013/000009

SOLICITUD DE:

1

☒

Patente de Invención.

☐

Patente de Modelo de Utilidad.

☒

Capítulo I.

☐

Capítulo II.

2

**SOLICITANTE
(71)**

Nombre: ELANCO ANIMAL HEALTH
IRELAND LIMITED

Dirección: 70 Sir John Rogerson's Quay,
Dublin, Irlanda.

Nacionalidad o Domicilio: Irlanda

Lugar de Constitución: Irlanda

Teléfono: _____

Fax: _____

E-mail: _____

IDENTIFICACIÓN

C.C.

☐

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual _____

Número _____

**REPRESENTANTE
O APODERADO**

Nombre: CARLOS R. OLARTE

Dirección: Carrera 5 No. 34-03 Bogotá

Teléfono: 601-7700 **Fax:** 601-7799

E-mail: office@olartemoure.com

IDENTIFICACIÓN

C.C.

☒

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual _____

Número 79.782.747Bta

TP 74.295

**INVENTOR (ES)
(72)**

Nombre: VER PAGINA ADJUNTA.

Dirección: VER PAGINA ADJUNTA.

Nacionalidad o Domicilio: VER PAGINA ADJUNTA.

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/EP2011/063434

Fecha

Agosto 04, 2011

Publicación Internacional No. WO 2012/017030 A1

Fecha

Febrero 09, 2012

6

**Título (54) COMPUESTOS CON ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA CONTRA
CLOSTRIDIUM.**

Clasificación Internacional (51) C07D 487/04; A61K 31/53; A61P 31/04.

Prioridad

SI ☒

NO ☐

(33) País de Origen

EP

(32) Fecha

Agosto 04, 2010

(31) Número de Solicitud

10171842.7

9

Comprobante de pago No. 13-

Fecha



ANEXOS



Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.



Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.



Poderes, si fuere el caso.



Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.



Declaraciones. Bajo la Regla 4.17 (ii) del PCT.



Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).



Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).



Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).



Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.



De ser el caso, copia del contrato de acceso.



De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.



De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.



Arte final 12 x 12.



De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.



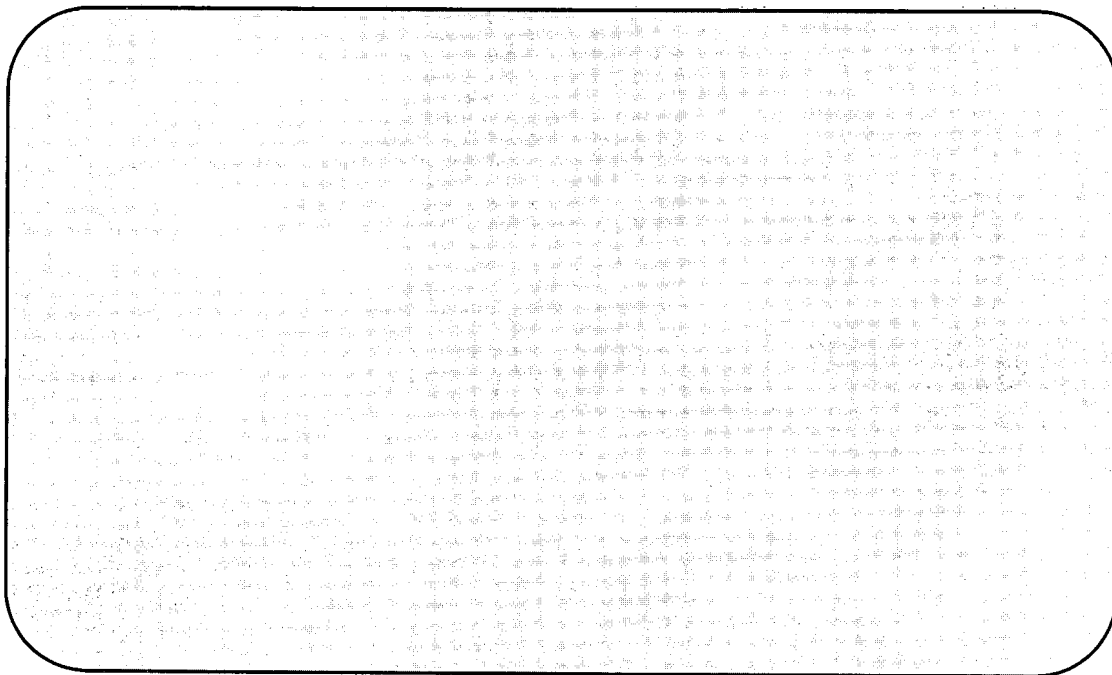
De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.



Otros. Búsqueda Internacional

11

FIGURA CARACTERÍSTICA:



12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: CARLOS R. OLARTE

FIRMA: 

C.C. 79.782.747 Btá T.P. 74.295

3

LISTA DE INVENTORES

PCT/EP2011/063434

Jerome Emile Georges GUILLEMONT

Johnson & Johnson

Pharmaceutical Research and Development

A division of Janssen-Cilag Campus de Maigremont BP615

F-27106 Val de Reuil Cedex

Francia

Nacionalidad: Francesa

Pierre Jean-Marie Bernard RABOISSON

TIBOTEC BVBA

Turnhoutseweg 30

2340 Beerse

Bélgica

Nacionalidad: Francesa

Nacer LOUNIS

TIBOTEC BVBA

Turnhoutseweg 30

2340 Beerse

Bélgica

Nacionalidad: Francesa

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -



RECIBO DE CAJA

No. 13 - 003045

Bogotá D.C., Enero 14 de 2013 - 09:56:54

RECIBIDO DE : OLARTE MOURE & ASOCIADOS NI 830.122.870

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	181303102	11/01/2013	2.000.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNIDITARIO	Vr. CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1. TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN	500.000.00	500.000.00
				\$500.000.00

SON: **QUINIENTOS MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 13-019560- -00000-0000

Fecha: 2013-02-01 17:13:30 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 4

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Enero 14 de 2013 - 09:56:55



No. 13-019560-00000-0000

Fecha: 2013-02-01 17:13:30 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 4

PATENTE DE INVENCION ☐

MODELO DE UTIL. ☐

☐	Indicación que se solicita una patente.
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Descripción de la invención
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)
Completa ☐	Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☒

MODELO DE UTILIDAD PCT ☐

Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

☐	Indicación que se solicita una PCT
☐	Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)
Completa ☒	Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

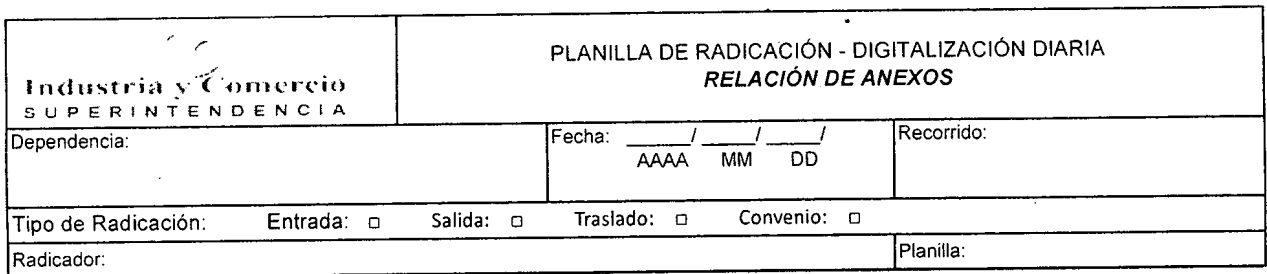
(Art. 119 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita Diseño industrial
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita un esquema de trazado
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica de un esquema de trazado
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐



ID	No. Radicación	Consecutivo	Item
1	13-19560		
2			
3	13-15617-0		
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			

<i>Item</i>	<i>Unidad de Conservación</i>
1	Bolsa
2	Caja
3	Libro
4	Sobre
5	Tomo
6	Otro
<i>Item</i>	<i>Soporte Documental</i>
7	CD
8	Disquete
9	DVD
10	Folleto
11	Foto
12	Periódico
13	Plano
14	Publicación Periódica
15	USB
10	Otro

Observaciones:

ANEXON (D)

VIII-2-1	Declaration: Entitlement to apply for and be granted a patent Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent (Rules 4.17(ii) and 51bis.1(a)(iii)), in a case where the declaration under Rule 4.17(iv) is not appropriate: Name (LAST, First)	In relation to the international application No. PCT/EP2011/063434 JANSSEN PHARMACEUTICA NV is entitled to apply for and be granted a patent by virtue of the following:
VIII-2-1(i v)		an assignment from GUILLEMONT, Jérôme, Emile, Georges to Janssen-Cilag, dated 23 August 2010 (23.08.2010)
VIII-2-1(i v)		an assignment from Janssen-Cilag to JANSSEN PHARMACEUTICA NV, dated 24 August 2010 (24.08.2010)
VIII-2-1(i v)		an assignment from RABOISSON, Pierre Jean-Marie Bernard to Tibotec BVBA, dated 15 September 2010 (15.09.2010)
VIII-2-1(i v)		an assignment from LOUNIS, Nacer to Tibotec BVBA, dated 14 September 2010 (14.09.2010)
VIII-2-1(i v)		an assignment from Tibotec BVBA to JANSSEN PHARMACEUTICA NV, dated 27 July 2011 (27.07.2011)



(51) International Patent Classification:

C07D 487/04 (2006.01) **A61P 31/04** (2006.01)
A61K 31/53 (2006.01)

(21) International Application Number:

PCT/EP2011/063434

(22) International Filing Date:

4 August 2011 (04.08.2011)

(25) Filing Language:

English

(26) Publication Language:

English

(30) Priority Data:

10171842.7 4 August 2010 (04.08.2010) EP

(71) **Applicant** (for all designated States except US): **ELANCO ANIMAL HEALTH IRELAND LIMITED** [IE/IE];
70 Sir John Rogerson's Quay, Dublin (IE).

(72) **Inventors; and**

(75) **Inventors/Applicants** (for US only): **GUILLEMONT, Jérôme, Emile, Georges** [FR/FR]; Johnson & Johnson, Pharmaceutical Research and Development, A division of Janssen-Cilag, Campus de Maigremont BP615, F-27106 Val de Reuil Cedex (FR). **RABOISSON, Pierre Jean-Marie Bernard** [FR/BE]; Tibotec BVBA, Turnhoutseweg 30, B-2340 Beerse (BE). **LOUNIS, Nacer** [FR/BE]; Tibotec Bvba, Turnhoutseweg 30, B-2340 Beerse (BE).

(74) **Common Representative:** **ELANCO ANIMAL HEALTH IRELAND LIMITED**; 70 Sir John Rogerson's Quay, Dublin (IE).

(81) **Designated States** (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) **Designated States** (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

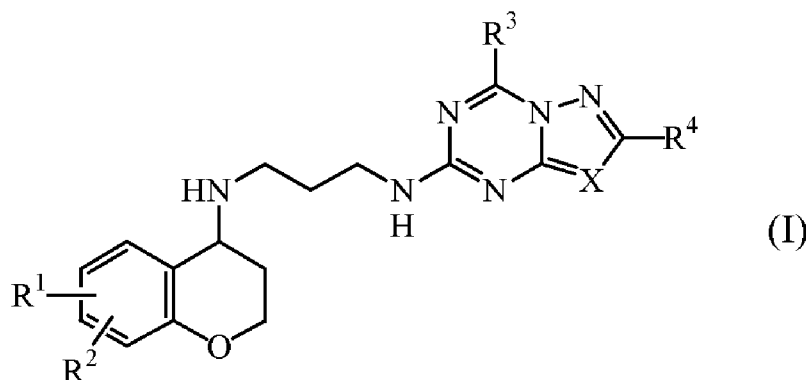
Declarations under Rule 4.17:

- as to applicant's entitlement to apply for and be granted a patent (Rule 4.17(ii))
- of inventorship (Rule 4.17(iv))

Published:

- with international search report (Art. 21(3))

(54) **Title:** COMPOUNDS WITH ANTIBACTERIAL ACTIVITY AGAINST CLOSTRIDIUM



(57) **Abstract:** The present invention is related to novel compounds of formula (I) having antibacterial activity against Clostridium bacteria, in particular Clostridium perfringens, pharmaceutical compositions comprising these compounds, and chemical processes for preparing these compounds.

COMPOUNDS WITH ANTIBACTERIAL ACTIVITY AGAINST CLOSTRIDIUM

The present invention is related to novel compounds of formula (I) having antibacterial
5 activity against *Clostridium* bacteria, in particular *Clostridium perfringens*,
pharmaceutical compositions comprising these compounds, and chemical processes for
preparing these compounds.

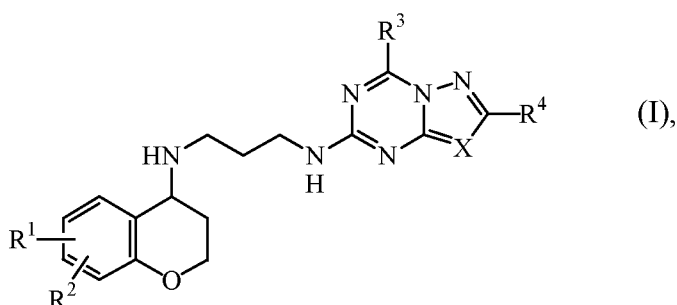
Clostridium is a genus of spore forming Gram-positive bacteria that grow under
10 anaerobic conditions comprising more than 100 species. There are four main species
responsible for diseases in humans and other warm-blooded animals : *C. botulinum* an
organism producing a toxin in food or wounds that causes botulism; *C. difficile* that can
cause pseudomembraneous colitis, toxic megacolon and antibiotic associated diarrheas;
C. tetani which is the causative organism of tetanus; and *C. perfringens*.

15 *C. perfringens* is ubiquitous in the environment and is found in soil, dust, raw
ingredients such as spices used in food processing, and in the intestines of humans and
animals. It produces over 15 different toxins and infections due to *C. perfringens* can
cause *C. perfringens* type A food poisoning, enterotoxemia, necrotizing enteritis, and
20 gas gangrene. In the poultry industry, *C. perfringens* infections can cause gut health
problems in broiler flocks with significant negative economical consequences. Since
the use of antibiotics in the food industry is highly regulated there is a need for
alternative antibacterial compounds.

25 WO-2008/039640 discloses the compound 5-[3-((R)(+)-6,8-dibromo-chroman-4-
ylamino)-propylamino]-4H-thieno[3,2-b]pyridine-7-one, which is also known as
REP3123, and its antibacterial activity against *Clostridium difficile*.

In vitro tests of the antibacterial activity of the REP3123 compound demonstrate that
30 said compound is active against bacteria of the *Clostridium* genus however REP3123
also has antibacterial activity against a wide variety of bacteria that are present in the
gut. Such a broad-spectrum antibacterial activity against Gram positive bacteria has a
negative effect on the gut flora. Hence there is a need for antibacterial compounds with
activity against bacteria of the *Clostridium* genus that have a narrow-spectrum activity
35 against Gram positive bacteria and concomitantly no negative effect on the gut flora.

The present invention relates to a compound of formula (I)



- 5 including any stereochemically isomeric form and tautomer thereof wherein
 R^1 and R^2 are each independently selected from hydrogen, halo, hydroxy, C_{1-6} alkyl,
polyhalo C_{1-6} alkyl, C_{1-6} alkyloxy, or polyhalo C_{1-6} alkyloxy;
 R^3 is hydroxy, amino, mono- or di(C_{1-4} alkyl)amino;
 R^4 is hydrogen or C_{1-4} alkyl;
10 X is nitrogen or CR^5 wherein R^5 is hydrogen, halo or C_{1-4} alkyl;
provided that when R^3 is hydroxy than X represents CH and R^4 represents hydrogen;
or a pharmaceutically acceptable acid addition salt thereof, or a solvate thereof.

15 The proviso is intended to exclude compounds that have little or no antibacterial activity
against bacteria of the *Clostridium* genus.

As used in the foregoing definitions :

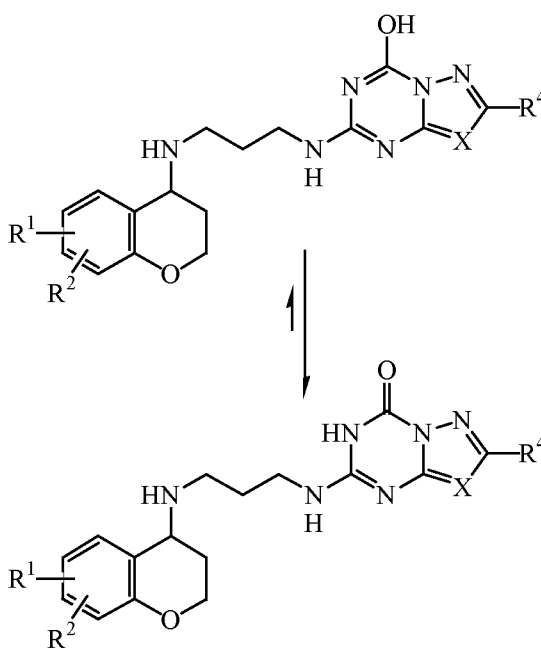
- halo is generic to fluoro, chloro, bromo and iodo;
- C_{1-4} alkyl defines straight and branched chain saturated hydrocarbon radicals having
20 from 1 to 4 carbon atoms such as, for example, methyl, ethyl, propyl, butyl, 1-methyl-
ethyl, 2-methylpropyl and the like;
- C_{1-6} alkyl is meant to include C_{1-4} alkyl and the higher homologues thereof having
5 or 6 carbon atoms, such as, for example, 2-methylbutyl, pentyl, hexyl and the like;
- polyhalo C_{1-6} alkyl is defined as polyhalosubstituted C_{1-6} alkyl, in particular C_{1-4} alkyl
25 (as hereinabove defined) substituted with 2 to 6 halogen atoms such as
difluoromethyl, trifluoromethyl, trifluoroethyl, and the like.

30 The term “stereochemically isomeric forms” as used hereinbefore defines all the
possible isomeric forms which the compounds of formula (I) may possess. Unless
otherwise mentioned or indicated, the chemical designation of compounds denotes the
mixture of all possible stereochemically isomeric forms, said mixtures containing all
diastereomers and enantiomers of the basic molecular structure. More in particular,
stereogenic centers may have the R- or S-configuration; substituents on bivalent cyclic

(partially) saturated radicals may have either the cis- or trans-configuration. Stereochemically isomeric forms of the compounds of formula (I) are obviously intended to be embraced within the scope of this invention.

- 5 The absolute stereochemical configuration of the compounds of formula (I) and of the intermediates used in their preparation may easily be determined by those skilled in the art while using well-known methods such as, for example, X-ray diffraction.

Some of the compounds of formula (I) may also exist in their tautomeric form. Such
10 forms although not explicitly indicated in the above formula are intended to be included within the scope of the present invention. For instance for compounds of formula (I) wherein R^3 represents hydroxy, the corresponding keto-form may be the mainly populated tautomer.



Furthermore, some compounds of formula (I) and some of the intermediates used in their preparation may exhibit polymorphism. It is to be understood that the present invention encompasses any polymorphic forms possessing properties useful in the
20 treatment of the conditions noted hereinabove.

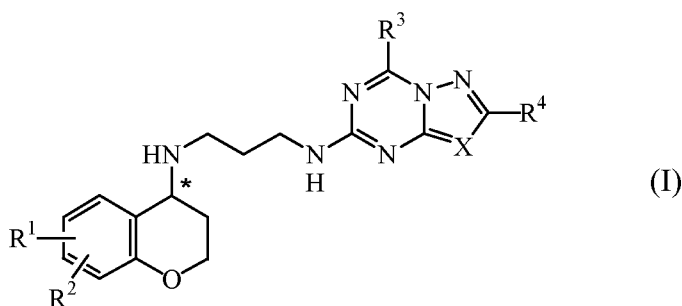
The pharmaceutically acceptable acid addition salts as mentioned hereinabove are meant to comprise the therapeutically active non-toxic acid addition salt forms that the compounds of formula (I) are able to form. These pharmaceutically acceptable acid
25 addition salts can conveniently be obtained by treating the base form with such

appropriate acid. Appropriate acids comprise, for example, inorganic acids such as hydrohalic acids, e.g. hydrochloric or hydrobromic acid, sulfuric, nitric, phosphoric and the like acids; or organic acids such as, for example, acetic, propanoic, hydroxyacetic, lactic, pyruvic, oxalic (*i.e.* ethanedioic), malonic, succinic (*i.e.* butanedioic acid), maleic, fumaric, malic, tartaric, citric, methanesulfonic, ethanesulfonic, benzenesulfonic, *p*-toluenesulfonic, cyclamic, salicylic, *p*-aminosalicylic, pamoic and the like acids.

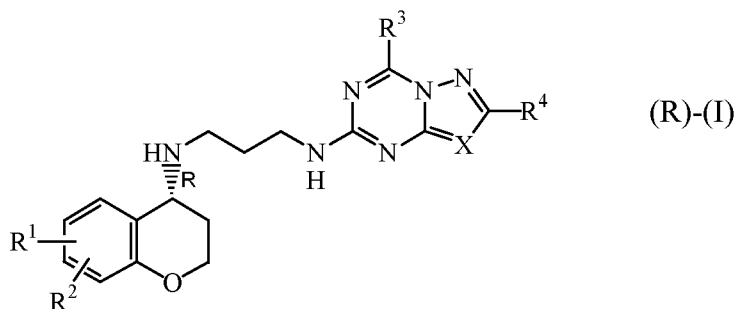
Conversely said salt forms can be converted by treatment with an appropriate base into the free base form.

The compounds of formula (I) may exist in both unsolvated and solvated forms. The term 'solvate' is used herein to describe a molecular association comprising a compound of the invention and one or more pharmaceutically acceptable solvent molecules, e.g. water or ethanol. The term 'hydrate' is used when said solvent is water.

The compounds of formula (I) have at least one asymmetric carbon atoms as illustrated below wherein the asymmetric carbon atoms are identified by a *.



In an embodiment the present invention relates to compounds of formula (R)-(I) which are defined as compounds of formula (I) having the (R)-configuration at the 4-position of the chromanyl moiety.



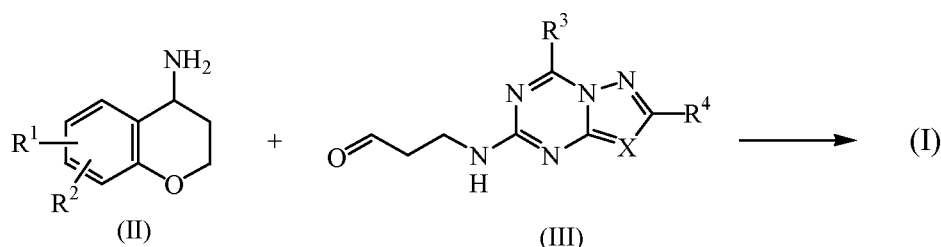
Interesting compounds of formula (I) are those compounds of formula (I) wherein one or more of the following restrictions apply :

- 5 a) R¹ and R² are each halo; or
b) R¹ and R² are each bromo and are located at the 6- and 8-position of the chromanyl moiety; or
c) R³ is hydroxy; or
d) R³ is amino; or
e) R³ is methylamino; or
f) R⁴ is hydrogen; or
10 g) R⁴ is methyl; or
h) X is nitrogen; or
i) X is CR⁵ wherein R⁵ represents hydrogen; or
j) X is CR⁵ wherein R⁵ represents halo, in particular chloro.
- 15 A first group of compounds are those compounds of formula (R)-(I) wherein R¹ and R² are each bromo and are located at the 6- and 8-position of the chromanyl moiety and wherein R³ represents hydroxy.

20 A second group of compounds are those compounds of formula (R)-(I) wherein X represents nitrogen, R¹ and R² are each bromo and are located at the 6- and 8-position of the chromanyl moiety and wherein R³ represents hydroxy.

A third group of compounds are those compounds of formula (R)-(I) wherein R¹ and R² are each bromo and are located at the 6- and 8-position of the chromanyl moiety and wherein R³ represents amino.

Compounds of formula (I) can be prepared by reductively *N*-alkylating an intermediate an intermediate of formula (II) with an intermediate of formula (III), following art-known reductive *N*-alkylation procedures.



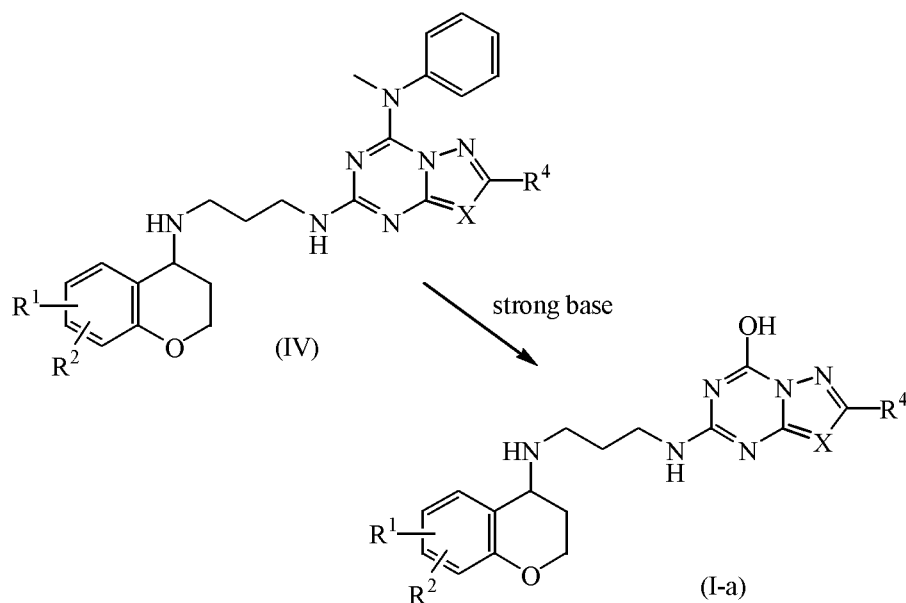
Said reductive *N*-alkylation can be performed in a reaction-inert solvent such as, for example, dichloromethane, THF, toluene or a mixture thereof, and in the presence of a
35 reducing agent such as, for example, a borohydride, e.g. sodium borohydride, sodium cyanoborohydride or triacetoxo borohydride. It may also be convenient to use hydrogen

as a reducing agent in combination with a suitable catalyst such as, for example, palladium-on-charcoal or platinum-on-charcoal. In case hydrogen is used as reducing agent, it may be advantageous to add a dehydrating agent to the reaction mixture such as, for example, aluminium *tert*-butoxide. In order to prevent the undesired further hydrogenation of certain functional groups in the reactants and the reaction products, it may also be advantageous to add an appropriate catalyst-poison to the reaction mixture, e.g., thiophene or quinoline-sulphur. To enhance the rate of the reaction, the temperature may be elevated in a range between room temperature and the reflux temperature of the reaction mixture and optionally the pressure of the hydrogen gas may be raised.

When compounds of formula (I) wherein R³ represents amino or mono-(C₁₋₄alkyl)-amino are prepared using the above described *N*-alkylation method, it may be appropriate to protect said amine functionality. Protecting groups for amine functionalities are art-known and are removed after the *N*-alkylation procedure.

Also compounds of formula (I) wherein R³ represents hydroxy can be prepared using the above described *N*-alkylation procedure whereby the hydroxy functionality is protected by art-known protecting groups.

Compounds of formula (I-a), defined as compounds of formula (I) wherein R³ represents hydroxy, can be prepared by hydrolysing intermediates of formula (IV) under basic conditions. Intermediates of formula (IV) can be prepared in accordance with the general *N*-alkylation procedure as described above.



The starting materials and some of the intermediates are known compounds and are commercially available or may be prepared according to conventional reaction procedures generally known in the art.

- 5 The compounds of formula (I) as prepared in the hereinabove described processes may be synthesized in the form of racemic mixtures of enantiomers which can be separated from one another following art-known resolution procedures. Those compounds of formula (I) that are obtained in racemic form may be converted into the corresponding diastereomeric salt forms by reaction with a suitable chiral acid. Said diastereomeric salt forms are subsequently separated, for example, by selective or fractional
10 crystallization and the enantiomers are liberated therefrom by alkali. An alternative manner of separating the enantiomeric forms of the compounds of formula (I) involves liquid chromatography using a chiral stationary phase. Said pure stereochemically isomeric forms may also be derived from the corresponding pure stereochemically isomeric forms of the appropriate starting materials, provided that the reaction occurs stereospecifically. Preferably if a specific stereoisomer is desired, said compound will be synthesized by stereospecific methods of preparation. These methods will advantageously employ enantiomerically pure starting materials.
- 20 The compounds of formula (I), including any stereochemically isomeric forms and tautomers thereof, and the pharmaceutically acceptable salts thereof possess antibacterial activity, in particular against bacteria of the *Clostridium* genus, more particularly *Clostridium perfringens*, as demonstrated in the Pharmacological Examples.
- 25 Therefore the present invention also relates to compounds of formula (I) for use as a medicine especially for use in the treatment of bacterial infections, in particular *Clostridium* based infections, more particularly *Clostridium perfringens* based infections. Subsequently the present compounds may be used for the manufacture of a medicine for treatment of bacterial infections, in particular *Clostridium* based
30 infections, more particularly *Clostridium perfringens* based infections.

- Further, the present invention provides a method of treatment of a bacterial infection, in particular *Clostridium* based infections, more particularly *Clostridium perfringens* based infections, in a warm-blooded subject which comprises administering to the
35 warm-blooded subject in need of such treatment a therapeutically effective amount of a compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

Clostridium perfringens based infections are e.g. *C. perfringens* type A food poisoning, enterotoxemia, necrotizing enteritis, and gas gangrene.

5 The term "treating" and "treatment", as used herein, refers to curative, palliative and prophylactic treatment, including reversing, alleviating, inhibiting the progress of, or preventing the disease, disorder or condition to which such term applies, or one or more symptoms of such disease, disorder or condition.

10 Warm-blooded animals as used throughout this text include both human and non-human animals such as farm animals (e.g. sheep, cattle, swine, goats or horses), domestic animals (e.g. dogs, cats, or caviar) as well as wild animals held in captivity and birds (e.g. poultry).

15 Additionally the present invention provides pharmaceutical compositions comprising at least one pharmaceutically acceptable carrier and a therapeutically effective amount of a compound of formula (I).

20 The term "therapeutically effective amount of a compound of formula (I)" as used herein, means that amount of compound of formula (I) that elicits the biological or medicinal response in the warm-blooded animal that is being sought by the physician or veterinarian, which includes alleviation of the symptoms of the condition being treated. The therapeutically effective amount can be determined using routine optimization techniques and is dependent upon the particular condition to be treated, the condition of the warm-blooded animal, the route of administration, the formulation, and the
25 judgment of the practitioner and other factors evident to those skilled in the art. A therapeutically effective amount may be achieved by multiple dosing.

30 Additionally the present invention provides pharmaceutical compositions comprising at least one pharmaceutically acceptable carrier and a therapeutically effective amount of a compound of formula (I).

35 For use in warm-blooded animals, including humans, the compounds of formula (I) can be administered alone, but will generally be administered in admixture with a pharmaceutically or veterinary acceptable diluent or carrier selected with regard to the intended route of administration and standard pharmaceutical practice. For example, they can be administered orally, including sublingually, in the form of tablets containing such excipients as starch or lactose, or in capsules or ovules either alone or in admixture with excipients, or in the form of elixirs, solutions or suspensions

- containing flavouring or colouring agents. The compounds of formula (I) could be incorporated into capsules, tablets or boluses for targeting the colon or duodenum via delayed dissolution of said capsules, tablets or boluses for a particular time following oral administration. The compounds of formula (I) can be injected parenterally, for example, intravenously, intramuscularly or subcutaneously. For parenteral administration, they are best used in the form of a sterile aqueous solution or suspension that may contain other substances, for example, enough salt or glucose to make the solution isotonic with blood. The compounds of formula (I) can be administered topically, in the form of sterile creams, gels, pour-on or spot-on formulations, suspensions, lotions, ointments, dusting powders, sprays, drug- incorporated dressings or via a skin patch. For example the compounds of formula (I) can be incorporated into a cream consisting of an aqueous or oily emulsion of polyethylene glycols or liquid paraffin, or they can be incorporated into an ointment consisting of a white wax soft paraffin base, or as hydrogel with cellulose or polyacrylate derivatives or other viscosity modifiers, or as a dry powder or liquid spray or aerosol with butane/propane, HFA or CFC propellants, or as a drug-incorporated dressing either as a tulle dressing, with white soft paraffin or polyethylene glycols impregnated gauze dressings or with hydrogel, hydrocolloid, alginate or film dressings. The compounds of formula (I) could also be administered intra-ocularly as an eye drop with appropriate buffers, viscosity modifiers (e.g. cellulose derivatives), preservatives (e.g. benzalkonium chloride (BZK)) and agents to adjust tenicity (e.g. sodium chloride). Such formulation techniques are well-known in the art. All such formulations may also contain appropriate stabilizers and preservatives.
- For veterinary use, compounds can be administered as a suitably acceptable formulation in accordance with normal veterinary practice and the veterinarian will determine the dosing regimen and route of administration which will be most appropriate for a particular animal.
- For topical application dip, spray, powder, dust, pour- on, spot-on, emulsifiable concentrate, jetting fluid, shampoos, collar, tag or harness may be used. Such formulations are prepared in a conventional manner in accordance with standard veterinary and pharmaceutical practice. Thus capsules, boluses or tablets may be prepared by mixing the active ingredient with a suitable finely divided diluent or carrier, additionally containing a disintegrating agent and/or binder such as starch, lactose, talc, or magnesium stearate. A drench formulation may be prepared by dispersing the active ingredients in an aqueous solution together with dispersing or

wetting agents and injectable formulations may be prepared in the form of a sterile solution or emulsion. Pour-on or spot-on formulations may be prepared by dissolving the active ingredients in an acceptable liquid carrier vehicle, such as butyl digol, liquid paraffin or non-volatile ester with or without addition of a volatile component such as isopropanol.

Alternatively, pour-on, spot-on or spray formulations can be prepared by encapsulation to leave a residue of active agent on the surface of the animal. These formulations will vary with regard to the weight of active compound depending on the species of host animal to be treated, the severity and type of infection and type and body weight of the host. The formulations comprising a compound of formula (I) may be administered continuously, particularly for prophylaxis by known methods.

As an alternative the combinations may be administered with the animal feedstuff and for this purpose a concentrated feed additive or premix may be prepared for mixing with the normal animal feed.

For human use the compounds of formula (I) are administered as a pharmaceutically acceptable formulation in accordance with normal medical practice.

Those skilled in the treatment of bacterial infections, in particular *Clostridium* infections, will easily determine the therapeutically effective amount of a compound of formula (I) from the test results presented hereinafter. In general it is contemplated that a therapeutically effective dose will be from about 0.1 mg/kg to about 20 mg/kg of body weight, more preferably from about 1 mg/kg to about 10 mg/kg of body weight of the warm-blooded animal to be treated. It may be appropriate to administer the therapeutically effective dose in the form of two or more sub-doses at appropriate intervals throughout the day.

The exact dosage and frequency of administration depends on the particular compound of formula (I) used, the particular condition being treated, the severity of the condition being treated, the age, weight and general physical condition of the particular warm-blooded animal as well as the other medication, the warm-blooded may be taking, as is well known to those skilled in the art. Furthermore, said effective daily amount may be lowered or increased depending on the response of the treated animal and/or depending on the evaluation of the physician or veterinarian prescribing the compounds of the instant invention. The effective daily amount ranges mentioned hereinabove are therefore only guidelines.

Experimental part

- “DMF” is defined as N,N-dimethylformamide, “CH₂Cl₂” is defined as dichloromethane, “MeOH” is defined as methanol, “EtOH” is defined as ethanol,
- 5 “TEA” is defined as triethylamine, “DPPA” is defined as phosphorazidic acid diphenyl ester, “DBU” is defined as 2,3,4,6,7,8,9,10-octahydro- pyrimido[1,2-a]azepine, “NaBH(OAc)₃” is defined as sodium triacetoxyborohydride, “MgSO₄” is defined as magnesium sulfate, “POCl₃” is defined as phosphoric trichloride, “Na₂SO₃” is defined as sodium sulfite, “CH₃NH₂” is defined as methanamine, “NaHCO₃” is defined as
- 10 sodium bicarbonate, “CHCl₃” is defined as trichloromethane, “Na₂SO₄” is defined as sodium sulfate, “NH₄OH” is defined as ammonium hydroxide, “H₂SO₄” is defined as sulfuric acid, “NCS” is defined as 1-chloro-2,5-pyrrolidinedione, “NaOH” is defined as sodium hydroxide and “THF” is defined as tetrahydrofuran.
- 15 For a number of compounds, melting points (mp.) were determined with a WRS-2A melting point apparatus that was purchased from Shanghai Precision and Scientific Instrument Co. Ltd. Melting points were measured with a linear heating up rate of 0.2 - 5.0 °C/minute. The reported values are melt ranges. The maximum temperature was 300°C.

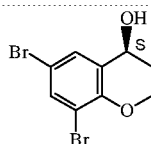
20

¹H NMR

- For a number of compounds, ¹H NMR spectra were recorded on a Bruker DPX-300, or on a Bruker DPX-400 spectrometer with standard pulse sequences, operating at 300 MHz and 400 MHz respectively, using CHLOROFORM-*d* (deuterated chloroform, CDCl₃) or DMSO-*d*₆ (deuterated DMSO, dimethyl-*d*₆ sulfoxide) as solvents.
- 25 Chemical shifts (δ) are reported in parts per million (ppm) relative to tetramethylsilane (TMS), which was used as internal standard.

A. Synthesis of the intermediates30 Example A.1

a) Preparation of

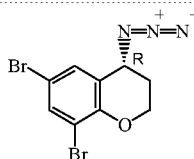


intermediate (1)

Formic acid (81 g) was added dropwise at 0°C to TEA (1040 mmol). After stirring for 10 minutes, 6,8-dibromo-2,3-dihydro-4H-1-benzopyran-4-one (261 mmol) was added to the reaction mixture, followed by intermediate (14) (0.5 mmol) and DMF (300 ml) at 25°C. After the addition, the reaction mixture was stirred at 40°C for 24 hours. Thin

layer chromatography (petroleum ether/ethyl acetate = 5/1) showed that the reaction was finished. The reaction mixture was quenched by the addition of water (1000 ml) at 0°C. The resulting reaction mixture was extracted with ethyl acetate (three times 1000 ml). The organic phase was washed with brine (500 ml), dried over Na₂SO₄ and concentrated to give the crude product. The crude product was washed with *tert*-butyl methyl ether to give 78 g of intermediate (1).

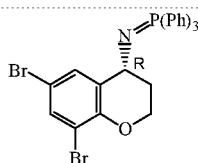
b) Preparation of



intermediate (2)

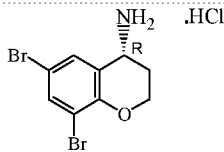
To a stirred solution of intermediate (1) (253 mmol) in THF (2000 ml) was added DPPA (334 mmol) at 25°C. After stirring for 15 minutes at 25°C, DBU (691 mmol) was added at 0°C. After the addition, the reaction mixture was stirred at room temperature for 12 hours. Thin layer chromatography (petroleum ether/ ethyl acetate = 10:1) showed that the starting material was consumed completely. The reaction mixture was treated with water (1000 ml) and extracted with ethyl acetate (three times 1000 ml). The organic phase was washed with brine (1000 ml), dried over Na₂SO₄ and concentrated to give the crude product. The crude product was purified by silica gel chromatography (petroleum ether/ethyl acetate = 50/1) to give 60.3 g of intermediate (2).

c) Preparation of



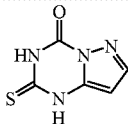
intermediate (3)

Triphenylphosphine (362 mmol) was added to the mixture of intermediate (2) (181 mmol) in H₂O (80 ml) and THF (800 ml) at 25°C. After the addition, the reaction mixture was stirred at 25°C for 1 hour. Thin layer chromatography (petroleum ether/ethyl acetate = 5/1) showed that the reaction was finished. The reaction mixture was concentrated and the residue was portioned between ethyl acetate (1000 ml) and H₂O (1000 ml). After separated, the aqueous phase was extracted with ethyl acetate (500 ml). The organic phase was washed with brine (1000 ml), dried over Na₂SO₄ and concentrated to give 150 g of intermediate (3).

d) Preparation of		intermediate (4)
-------------------	---	------------------

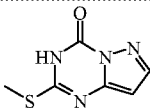
- NH₄OH (180 ml) was added to the solution of intermediate (3) (181 mmol) in EtOH (1500 ml) at 0°C. The resulting reaction mixture was heated under reflux for 3 hours. Thin layer chromatography (CH₂Cl₂/MeOH = 10/1) showed that the reaction was finished. The reaction mixture was evaporated to remove EtOH and the residue was
- 5 acidified by the addition of 6N HCl to pH = 2. The resulting mixture was filtered and the resulting solid was washed with ethyl acetate (500 ml) to give 40 g of intermediate (4).

Example A.2

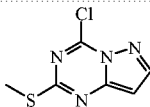
a) Preparation of		intermediate (5)
-------------------	---	------------------

- 10 A mixture of N-[(1H-pyrazol-3-ylamino)thioxomethyl]-carbamic acid ethyl ester (514 mmol) in 2N aqueous NaOH (565 mmol) was stirred at 15°C for 3 hours. Then the mixture was acidified with 2N H₂SO₄. The precipitate was filtered, washed with water (1000 ml) and *tert*-butyl methylether (500 ml). The resulting solid was dried under vacuum to give the product as a white solid, yielding 78 g of intermediate (5).

15

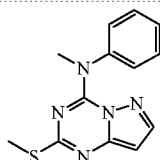
b) Preparation of		intermediate (6)
-------------------	---	------------------

- To a stirred suspension of intermediate (5) (464 mmol, 1 equivalent) in EtOH (1600ml) was added dropwise aqueous 2N NaOH solution (480 ml, 2 equivalents), followed by iodomethane (511 mmol, 1.1 equivalents) at 0°C. After addition, the mixture was stirred at 15°C for 2 hours. Thin Layer Chromatography (CH₂Cl₂/MeOH = 10/1)
- 20 showed the reaction was completed. The precipitate was filtered and then suspended in water (800 ml) and then acidified by 2N H₂SO₄. The suspension was stirred at 0°C for 5 minutes. The precipitate was filtered and washed by cold water (900 ml). The resulting solid was dried in vacuum to yield 75 g of intermediate (6) as a white solid.

c) Preparation of		intermediate (7)
-------------------	---	------------------

A mixture of intermediate (6) (374 mmol), *N,N*-dimethyl-4-pyridinamine (1.31 mmol) in POCl₃ (1500 ml) was heated to reflux for 2 hours at 100°C. After cooling to room temperature, the excess of POCl₃ was removed under vacuum and the resulting residue was dried for 2 hours. The crude product was used directly for next step without further purification, yielding 240 g of intermediate (7).

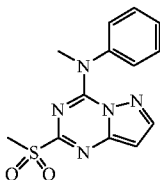
d) Preparation of



intermediate (8)

Intermediate (7) (374 mmol) was dissolved in dry CH₂Cl₂ (2000 ml), then *N*-methylbenzenamine (285 ml) and TEA (355 ml) were added dropwise at 0°C. After stirring for 10 minutes, the mixture was allowed to warm up to room temperature and stirred overnight. Thin Layer Chromatography (CH₂Cl₂/MeOH = 10/1) showed the reaction was complete. The reaction mixture was washed with water (600 ml) and brine (300 ml). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and concentrated to give the crude product, which was further washed by EtOH to give 82 g of intermediate (8).

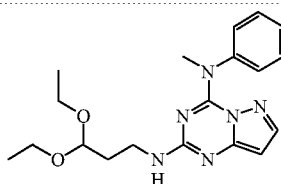
e) Preparation of



intermediate (9)

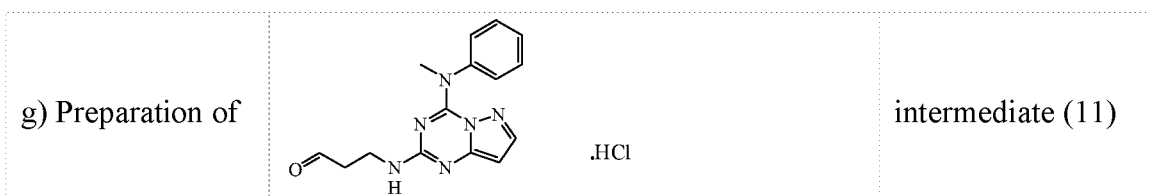
To a stirred solution of intermediate (8) (303 mmol) in CH₂Cl₂ (2000 ml) was added 3-chloroperoxybenzoic acid (1059 mmol) at 0°C in portions. After the addition, the reaction mixture was stirred at 0°C for 1 hour and then at 15°C for 2 hours. Thin Layer Chromatography (petroleum ether/ethyl acetate = 5/1) showed that the reaction was completed. The reaction mixture was washed by saturated Na₂SO₃ aqueous (four times with 600 ml) and then saturated NaHCO₃ aqueous was added until pH = 7. The aqueous layer was extracted by CH₂Cl₂ (500 ml). The combined organic phases were washed with brine (800 ml), dried over Na₂SO₄ and concentrated to give the crude product. The crude product was washed by tert-butyl methylether (three times with 500 ml) to give 87 g of intermediate (9).

f) Preparation of



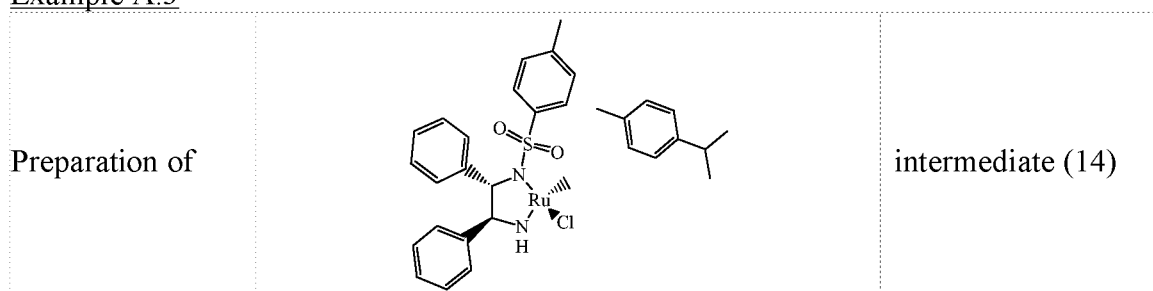
intermediate (10)

To a stirred solution of intermediate (9) (287 mmol) in CHCl_3 (2000 ml) was added 3,3-diethoxy-1-propanamine (474 mmol) at 0°C in portions. After the addition, the reaction mixture was stirred at 0°C for 1 hour and then at 15°C for 2 hours. Thin Layer Chromatography (petroleum ether/ethyl acetate = 5/1) showed that the reaction was completed. The reaction mixture was washed by saturated Na_2SO_3 aqueous (four times with 600 ml) and then saturated NaHCO_3 aqueous was added until $\text{pH} = 7$. The aqueous layer was extracted by CH_2Cl_2 (500 ml). The combined organic phases were washed with brine (800 ml), dried over Na_2SO_4 and concentrated to give the crude product. The crude product was washed by *tert*-butyl methylether (three times 500 ml) to give 87 g of intermediate (10) (mp. $100.8 - 103.8^\circ\text{C}$).



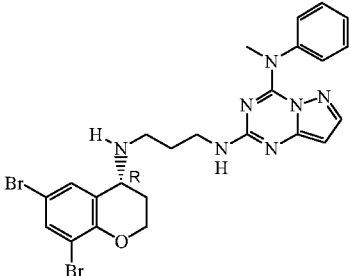
12N HCl (7.5 ml) was added to the solution of intermediate (10) (81 mmol) in THF (450 ml) below 20°C . After stirring for 5 minutes, the reaction mixture was stirred at 20°C for 1 hour. Thin Layer Chromatography ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 20/1$) showed that the reaction was complete. Ethyl acetate (500 ml) was added. The reaction mixture was stirred for 30 minutes. The precipitate was filtered, washed with ethyl acetate and dried in vacuum to give 32 g of intermediate (11).

Example A.3

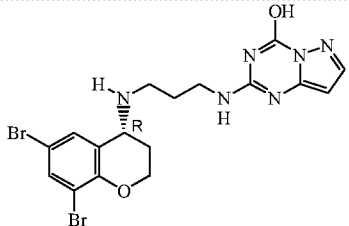


A mixture of *N*-[(1*S*,2*S*)-2-amino-1,2-diphenylethyl]-4-methyl-benzenesulfonamide (2.13 mmol), dichloro(*p*-cymene)ruthenium(II) dimer (2.13 mmol) and TEA (0.6 ml) in 2-propanol (21 ml) was stirred at 80°C for 1 hour. After cooling to 20°C , the organic solution was concentrated under vacuum. The resulting solid was washed with water (10 ml) and dried under reduce pressure to give the crude product, which was further re-crystallized from methanol to give 0.37 g of the product as a bright orange solid intermediate (14).

B. Preparation of the final compoundsExample B.1

a) Preparation of		intermediate (12)
-------------------	--	-------------------

TEA (210.6 mmol) was added to the solution of intermediate (11) (81 mmol) and intermediate (4) (81 mmol). After stirring for 1 hour, NaBH(OAc)₃ (113 mmol) was added. The reaction mixture was stirred at 20°C for 2 hours. Thin Layer Chromatography (CH₂Cl₂/MeOH = 10/1) showed that the reaction was complete. The mixture was diluted with ethyl acetate (1000 ml) and further washed by saturated NaHCO₃ aqueous solution (twice 500 ml). The organic layer was dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated to give 55 g crude product of intermediate (12) as a colorless oil which was used in the next step without further purification.

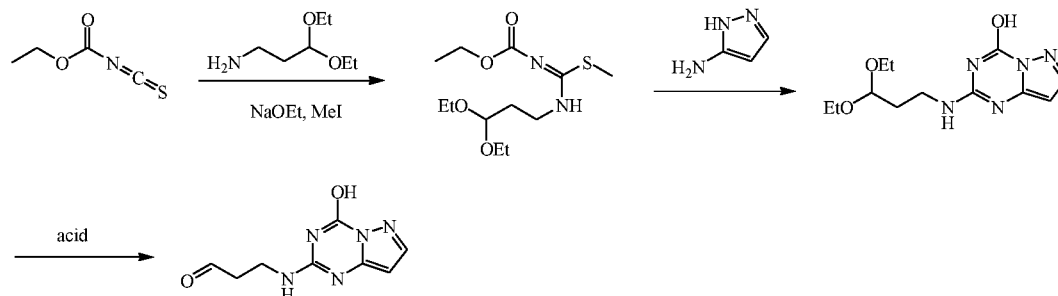
b) Preparation of		compound (1)
-------------------	--	--------------

To a stirred solution of intermediate (12) (6 mmol) in EtOH (100 ml) was added 5N NaOH (12 ml) dropwise at 0°C. After addition, the reaction mixture was heated to reflux for 3 hours at 85°C. Thin Layer Chromatography (CH₂Cl₂/MeOH = 10/1) showed that the reaction was complete. EtOH was removed under reduced pressure and the residue was neutralized with saturated aqueous citric acid to pH = 7. The mixture was added to a solution of water (50 ml) and ethyl acetate (100 ml). The precipitate was filtered, washed with acetonitrile (three times 50 ml) and dried in vacuum to give 1.8 g of compound (1).

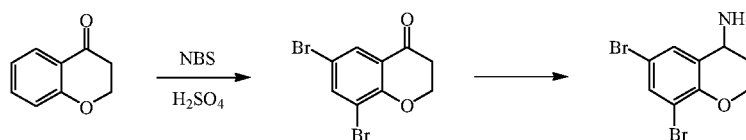
Compound (5) was prepared using the same procedure by reacting intermediate (11) with (R)-6,8-dichloro-chroman-4-ylamine.

An alternative method for the preparation of compound (1) is depicted below.

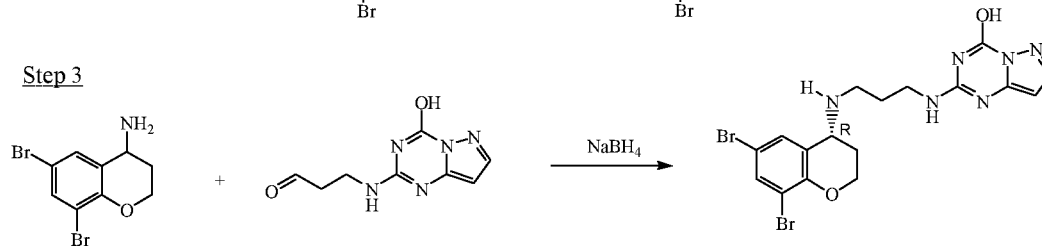
Step 1



Step 2



Step 3



5 Example B.2

Preparation of	 .HCl	compound (2)
----------------	----------	--------------

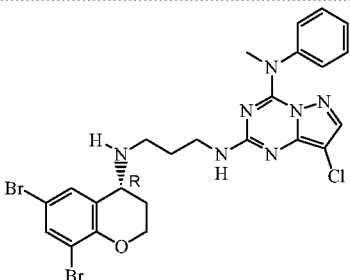
4M HCl in dioxane (30 ml) was added to the solution of compound (1) (3.6 mmol) in MeOH (10 ml) at 20°C. The mixture was stirred for 3 hours at 20°C. The solvent was removed under reduced pressure. The residue was dried in vacuum, yielding 1.62 g of compound (2) (mp. : 234.6 - 235.6°C). Optical Rotation : $[\alpha]_{589}^{20} = +10.67$, 8.77 mg/ml, methanol.

10

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.86 - 2.07 (m, 2 H) 2.14 - 2.28 (m, 1 H) 2.30 - 2.44 (m, 1 H) 3.04 (br. s., 1 H) 3.17 (br. s., 1 H) 3.36 - 3.43 (m, 2 H) 4.34 - 4.43 (m, 1 H) 4.43 - 4.52 (m, 1 H) 4.52 - 4.60 (m, 1 H) 5.88 (d, $J=2.0$ Hz, 1 H) 7.11 (t, $J=5.4$ Hz, 1 H) 7.78 (d, $J=1.6$ Hz, 1 H) 7.81 - 7.89 (m, 2 H) 9.21 (br. s., 1 H) 9.32 (br. s., 1 H)

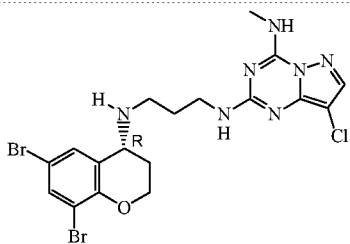
15

Example B.3

a) Preparation of		intermediate (13)
-------------------	--	-------------------

A solution of intermediate (12) (10.2 mmol) in DMF (300 ml) was stirred at 80°C for 5 minutes. NCS (20.4 mmol) was added to the mixture under nitrogen atmosphere and the reaction was stirred for 3 hours. Then DMF was removed under reduced pressure.

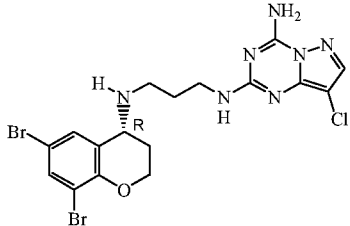
- 5 The residue was washed with *tert*-butyl methyl ether (three times 50 ml) and filtered. The solid was dried under reduced pressure, yielding 2.8 g of intermediate (13).

b) Preparation of		compound (3)
-------------------	---	--------------

Intermediate (13) (0.97 mmol) and 2M CH₃NH₂ in THF (5 ml) was added to anhydrous EtOH (5 ml) at 20°C. The mixture was stirred at 150°C under microwave for 4 hours.

- 10 EtOH was removed under reduced pressure. The residue was purified with preparative high performance liquid chromatography (column : YMC, 250 x 20 mm, mobile phase: 20-50% CH₃CN(0.075% v/v CF₃COOH), flow rate : 25 ml/min, finished time : 15 minutes). The desired fraction was collected and evaporated. The aqueous solution was neutralized to pH = 7 and concentrated. The solid was filtered and washed by water
- 15 (three times 30 ml), yielding 0.065 g of compound (3) (mp. : 108.8 – 118.6°C).

Example B.4

Preparation of		compound (4)
----------------	--	--------------

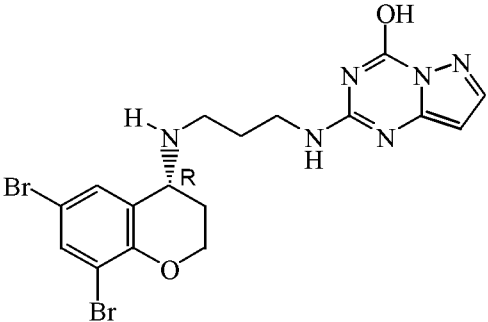
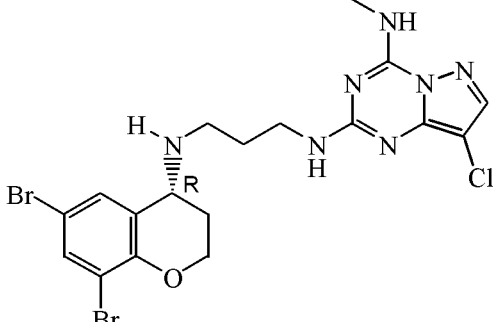
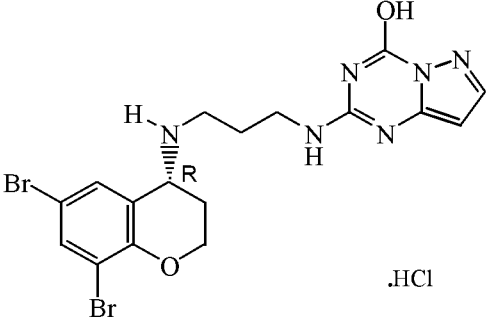
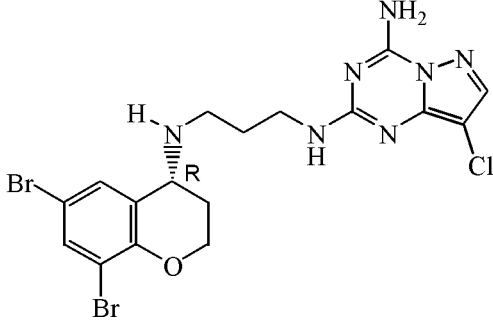
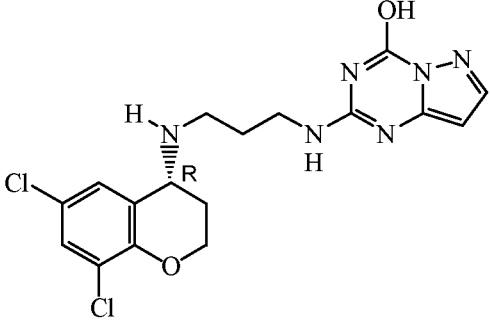
A mixture of intermediate (13) (0.97 mmol) and 2M NH₃ in MeOH (10 ml) was stirred at 125°C under microwave for 3 hours. The mixture was concentrated under reduced pressure. The residue was purified with preparative high performance liquid

chromatography (column: YMC, 250 x 20 mm, mobile phase : 30-60% CH₃CN (0.075% v/v CF₃COOH), flow rate : 25 ml/min, finished time : 15 minutes). The desired fraction was collected and evaporated. The aqueous solution was neutralized to pH = 7 and concentrated. The resulting solid was filtrated and further washed by water
 5 (three times 30 ml). The product was dried under high vacuum, yielding 0.09 g of compound (4) (mp. : 78.7 – 94.1°C).

Table 1 lists the compounds that were prepared according to one of the above Examples.

10

Table 1 :

	
Co. No. 1; Ex. B.1	Co. No. 3; Ex. B.3
	
Co. No. 2; Ex. B.2; .HCl	Co. No. 4; Ex. B.4
	
Co. No. 5; Ex. B.1	

C. Analytical PartC.1. LC-MS General procedure AGeneral procedure A

The HPLC measurement was performed using an Agilent 1100 module comprising a pump, a diode-array detector (DAD) (wavelength used 220 nm), a column heater and a column as specified in the respective methods below. Flow from the column was split to a Agilent MSD Series G1946C and G1956A. MS detector was configured with API-ES (atmospheric pressure electrospray ionization). Mass spectra were acquired by scanning from 100 to 1000. The capillary needle voltage was 2500 V for positive ionization mode and 3000 V for negative ionization mode. Fragmentation voltage was 50 V. Drying gas temperature was maintained at 350°C at a flow of 10 l/min.

Method 1

In addition to general procedure A: Reversed phase HPLC was carried out on a YMC-Pack ODS-AQ, 50x2.0 mm 5µm column with a flow rate of 0.8 ml/min. Two mobile phases (mobile phase A: water with 0.1 % TFA; mobile phase B : acetonitrile with 0.05 % TFA) were used. First, 100 % A was hold for 1 minute. Then a gradient was applied to 40 % A and 60 % B in 4 minutes and hold for 2.5 minutes. Typical injection volumes of 2 µl were used. Oven temperature was 50°C. (MS polarity: positive)

Method 2

In addition to general procedure A: Reversed phase HPLC was carried out on a YMC-Pack ODS-AQ, 50x2.0 mm 5µm column with a flow rate of 0.8 ml/min. Two mobile phases (mobile phase A: water with 0.1 % TFA; mobile phase B : acetonitrile with 0.05 % TFA) were used. First, 90 % A and 10 % B was hold for 0.8 minutes. Then a gradient was applied to 20 % A and 80 % B in 3.7 minutes and hold for 3 minutes. Typical injection volumes of 2 µl were used. Oven temperature was 50°C. (MS polarity: positive)

Table 2: Analytical data - Retention time (R_t in minutes), $(MH)^+$ peak (of the free base), LC-MS procedure and melting points (m.p. is defined as melting point).

Co. Nr.	R_t	$(MH)^+$	LC-MS Procedure
1	4.16	499.0	1
2	4	468.9	1
3	3.39	545.9	2

Co. Nr.	R _t	(MH) ⁺	LC-MS Procedure
4	3.25	531.9	2

D. Pharmacological examples

D.1.1 *In-vitro* method for testing compounds against *C. perfringens*.

Flat-bottom, sterile 96-well plastic microtiter plates were filled with 100 µl of Brain heart infusion broth medium. Subsequently, stock solutions (100 x final test concentration) of compounds were added in 2 µl volumes to a series of wells so as to allow evaluation of their effects on bacterial growth. Untreated control samples with and without inoculum were included in each microtiter plate. Approximately 50000 CFU per well of *Clostridium perfringens* (strain 56), in a volume of 100 µl in Brain heart infusion broth medium, was added to the wells. The cultures were incubated at 37°C for 24 hours in an anaerobic jar. The optical density (OD) was read in a computer-controlled spectrophotometer (Envision) at a wavelength of 540 nm. The percentage growth inhibition achieved by the compounds was calculated according to standard methods and expressed as IC₉₀ (µg/ml) which defines the 90 % inhibitory concentration for bacterial growth.

D.1.2. *In-vitro* method for testing compounds for anti-bacterial activity against strain *C. difficile*.

Flat-bottom, sterile 96-well plastic microtiter plates were filled with 100 µl of Reinforced Clostridial broth medium. Subsequently, stock solutions (100 x final test concentration) of compounds were added in 2 µl volumes to a series of wells so as to allow evaluation of their effects on bacterial growth. Untreated control samples with and without inoculum were included in each microtiter plate. Approximately 50000 CFU per well of *Clostridium difficile* (ATCC9689), in a volume of 100 µl in Reinforced Clostridial broth medium, was added to the wells. The cultures were incubated at 37°C for 48 hours in an anaerobic jar. The OD was read in a computer-controlled spectrophotometer (Thermomax) at a wavelength of 570 nm. The percentage growth inhibition achieved by the compounds was calculated according to standard methods and expressed as IC₉₀ (µg/ml) which defines the 90 % inhibitory concentration for bacterial growth.

Results for D.1.1 and D.1.2 :

REP3123 displayed a good activity against both *C. perfringens* and *C. difficile* showing IC₉₀ of 0.25 and 0.5-1 µg/ml, respectively.

- 5 Compound (2) of the present invention displayed good activity against both *C. perfringens* and *C. difficile* showing IC₉₀ of 0.5 and 2 µg/ml, respectively.

D.1.3. In-vitro method for testing compounds against several bacteria

- 10 Flat-bottom, sterile 96-well plastic microtiter plates were filled with 100 µl of broth medium. Subsequently, stock solutions (100 x final test concentration) of compounds were added in 2 µl volumes to a series of wells so as to allow evaluation of their effects on bacterial growth. Untreated control samples with and without inoculum were included in each microtiter plate. Approximately 50000 CFU per well of bacteria in a volume of 100 µl broth medium, was added to the wells. The plates were incubated at 15 37°C. Minimal inhibition concentration was determined as the highest concentration with no visible growth and expressed as IC₉₀ (µg/ml) which defines the 90 % inhibitory concentration for bacterial growth.

Medium and incubation conditions :

- 20 *Staphylococcus aureus*, Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*: Mueller Hinton medium; incubation for 20-24 hours in aerobic conditions.
- Enterococcus faecalis*, *Streptococcus pneumonia* : Todd Hewitt medium; incubation for 25 20-24 hours in 5% CO₂.
- Mycobacterium smegmatis* : Mueller Hinton medium; incubation for 48 hours in aerobic conditions.
- Acinetobacter baumannii*: Nutrient broth; incubation for 20-24 hours in aerobic conditions
- 30 *Moraxella catarrhalis*: Brain heart Infusion medium; incubation for 20-24 hours in aerobic conditions.

Results for D.1.3:

- Both REP3123 and compound (2) of the present invention did not display any activity 35 against Gram negative bacteria. IC₉₀ of REP3123 were >32, >64, 16, > 78 and > 64 µg/ml against *E. coli*, *K. pneumoniae*, *M. cattarhalis*, *P. aeruginosa* and *A. baumannii*, respectively. IC₉₀ of compound (2) of the present invention were >31,

>64, 16, > 75 and > 64 µg/ml against *E. coli*, *K. pneumoniae*, *M. cattarhalis*, *P. aeruginosa* and *A. baumannii*, respectively.

REP3123 displayed good activities against all the Gram positive bacteria tested. IC₉₀ of
 5 REP3123 were <0.25, <0.25, <0.25, <0.25, 1, 0.12 and 0.12 µg/ml against *S. aureus*,
 Methicillin-Resistant *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. faecalis*, *S. pneumonia*, *B. subtilis*
 and *L. monocytogenes*, respectively.

Compound (2) of the present invention was not active against all the Gram positive
 bacteria tested except for *E. faecalis* and *L. monocytogenes*. However, the activity of
 10 Compound (2) of the present invention was still much lower against these 2
 microorganisms than that of REP3123. The IC₉₀ of Compound (2) of the present
 invention were 8-15, 7-13, 15, 1.5, >31, 4 and 2 µg/ml against *S. aureus*, Methicillin-
 Resistant *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. faecalis*, *S. pneumonia*, *B. subtilis* and *L.*
monocytogenes, respectively.

15 Both REP3123 and compound (2) of the present invention did not display any activity
 against *Mycobacterium smegmatis*. The IC₉₀ of REP3123 and compound (2) of the
 present invention against *M. smegmatis* were 6-8 and >31 µg/ml, respectively.

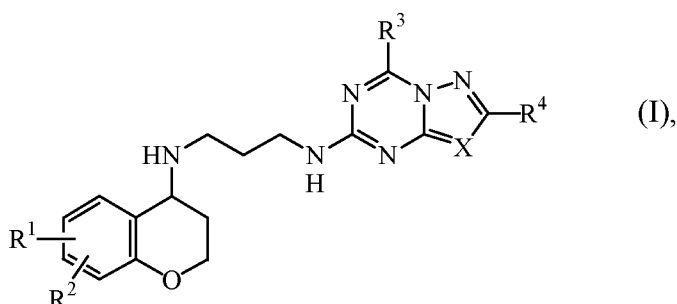
20 Table 3 : antibacterial activity of REP3123 and Compound (2) against Gram positive
 bacteria

Gram positive bacteria	REP3123	Compound (2)
<i>S. aureus</i>	<0.25 µg/ml	8-15 µg/ml
Methicillin-Resistant <i>S. aureus</i>	<0.25 µg/ml	7-13 µg/ml
<i>S. epidermidis</i>	<0.25 µg/ml	15 µg/ml
<i>E. faecalis</i>	<0.25 µg/ml	1.5 µg/ml
<i>S. pneumonia</i>	1 µg/ml	>31 µg/ml
<i>B. subtilis</i>	0.12 µg/ml	4 µg/ml
<i>L. monocytogenes</i>	0.12 µg/ml	2 µg/ml

25 The comparison between REP3123 and Compound (2) of the present invention clearly
 demonstrates the broad-spectrum activity of REP3123 against Gram positive bacteria
 over the narrow-spectrum activity of Compound (2).

Claims

1. A compound of formula (I)



5

including any stereochemically isomeric form and tautomer thereof wherein

R^1 and R^2 are each independently selected from hydrogen, halo, hydroxy,

C_{1-6} alkyl, polyhalo C_{1-6} alkyl, C_{1-6} alkyloxy, or polyhalo C_{1-6} alkyloxy;

10 R^3 is hydroxy, amino, mono- or di(C_{1-4} alkyl)amino;

R^4 is hydrogen or C_{1-4} alkyl;

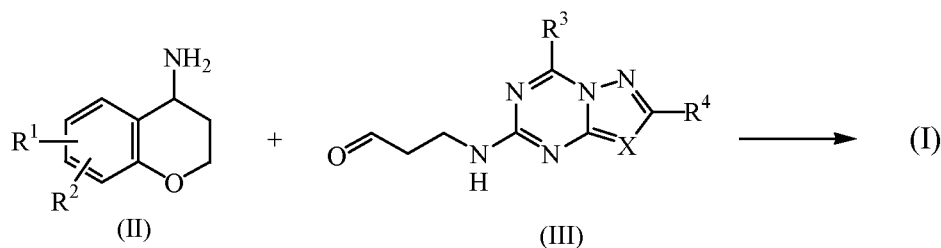
X is nitrogen or CR^5 wherein R^5 is hydrogen, halo or C_{1-4} alkyl;

provided that when R^3 is hydroxy than X represents CH and R^4 represents hydrogen;

15 or a pharmaceutically acceptable acid addition salt thereof, or a solvate thereof.

2. The compound as claimed in claim 1 having the (R)-configuration at the 4-position of the chromanyl moiety.
- 20 3. The compound as claimed in claim 2 wherein R^1 and R^2 are each halo.
4. The compound as claimed in claim 3 wherein R^1 and R^2 are each bromo and are located at the 6- and 8-position of the chromanyl moiety and wherein R^3 represents hydroxy.
- 25 5. The compound as claimed in claim 4 wherein X represents nitrogen.
6. The compound as claimed in claim 3 wherein R^1 and R^2 are each bromo and are located at the 6- and 8-position of the chromanyl moiety and wherein R^3 represents amino.
- 30 7. A pharmaceutical composition comprising a pharmaceutically acceptable carrier and a therapeutically active amount of a compound according to any of claims 1 to 6.

8. A process for preparing a pharmaceutical composition according to claim 7 wherein a therapeutically active amount of a compound according to any one of claims 1 to 6 is intimately mixed with a pharmaceutically acceptable carrier.
9. A compound according to any one of claims 1 to 6 for use as a medicine.
10. The compound as claimed in any one of claims 1 to 6 for use in the treatment of bacterial infections.
11. The compound as claimed in claim 10 for use in the treatment of *Clostridium* based infections.
12. A process for preparing a compound of formula (I) wherein
- a) an intermediate compound of formula (II) is N-alkylated with an intermediate of formula (III), whereby the substituents R¹, R², R³, R⁴ and X are as defined in claim 1,



- or b) compounds of formula (I) are converted into each other following art-known transformation reactions; or if desired; a compound of formula (I) is converted into a pharmaceutically acceptable acid addition salt, or conversely, an acid addition salt of a compound of formula (I) is converted into a free base form with alkali; and, if desired, preparing stereochemically isomeric forms thereof.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2011/063434

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07D487/04 A61K31/53 A61P31/04
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C07D A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2008/039640 A2 (REPLIDYNE INC [US]; GUILLES JOSEPH [US]; SUN XICHENG [US]; JANJIC NEBOJ) 3 April 2008 (2008-04-03) the whole document see in particular Table 1 on pages 7-10 and examples 1-19	1-12
A	WO 2008/039639 A2 (REPLIDYNE INC [US]; GUILLES JOSEPH [US]; SUN XICHENG [US]; JANJIC NEBOJ) 3 April 2008 (2008-04-03) the whole document see in particular examples 1-18 ----- -/-	1-12



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

16 September 2011

Date of mailing of the international search report

29/09/2011

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Papathoma, Sofia

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2011/063434

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JARVEST R L ET AL: "Optimisation of aryl substitution leading to potent methionyl tRNA synthetase inhibitors with excellent gram-positive antibacterial activity.", BIOORGANIC AND MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, vol. 13, no. 4, 24 February 2003 (2003-02-24), pages 665-668, XP002611993, ISSN: 0960-894X the whole document see in particular Table 3 -----	1-12
A	WO 2008/039642 A2 (REPLIDYNE INC [US]; GUILLES JOSEPH [US]; SUN XICHENG [US]; JANJIC NEBOJ) 3 April 2008 (2008-04-03) the whole document see in particular formulae (V) (on page 12) and (VII) (on page 13) -----	1-12
A	JARVEST R L ET AL: "Definition of the heterocyclic pharmacophore of bacterial methionyl tRNA synthetase inhibitors: potent antibacterially active non-quinolone analogues", BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, PERGAMON, ELSEVIER SCIENCE, GB, vol. 14, no. 15, 19 June 2004 (2004-06-19), pages 3937-3941, XP002354551, ISSN: 0960-894X, DOI: DOI:10.1016/J.BMCL.2004.05.070 the whole document see in particular Tables 2, 4 and 5 -----	1-12
A	LUBBERS T ET AL: "Design, synthesis, and structure-activity relationship studies of ATP analogues as DNA gyrase inhibitors", BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, PERGAMON, ELSEVIER SCIENCE, GB, vol. 10, no. 8, 1 April 2000 (2000-04-01), pages 821-826, XP004203504, ISSN: 0960-894X, DOI: DOI:10.1016/S0960-894X(00)00109-8 the whole document page 824, left-hand column, paragraph 4th; table 1; compounds 6b, 6c ----- -/--	1-12

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2011/063434

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	VU CHI B ET AL: "Novel diamino derivatives of [1,2,4]triazolo[1,5-a][1,3,5]triazine as potent and selective adenosine A(2a) receptor antagonists", JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 48, no. 6, March 2005 (2005-03), pages 2009-2018, XP002611994, ISSN: 0022-2623 the whole document see in particular abstract and Table 1 -----	1-12

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2011/063434

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2008039640 A2	03-04-2008	AU 2007300290 A1	03-04-2008
		CA 2664588 A1	03-04-2008
		CN 101652140 A	17-02-2010
		EP 2091536 A2	26-08-2009
		JP 2010504986 A	18-02-2010
WO 2008039639 A2	03-04-2008	EP 2094714 A2	02-09-2009
		JP 2010504985 A	18-02-2010
WO 2008039642 A2	03-04-2008	US 2009163536 A1	25-06-2009

COMPUESTOS CON ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA CONTRA *CLOSTRIDIUM***CAMPO DE LA INVENCION**

La presente invención se refiere a nuevos
5 compuestos de fórmula (I) que tienen actividad antibacteriana
contra la bacteria *Clostridium*, en particular *Clostridium*
perfringens, composiciones farmacéuticas que comprenden estos
compuestos, y procesos químicos para preparar estos
compuestos.

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Clostridium es un género de espora que forma
bacterias Gram-positivas que crecen bajo condiciones
anaeróbicas que comprenden más de 100 especies. Existen
15 cuatro especies principales responsables por enfermedades en
humanos y otros animales de sangre caliente: *C. botulinum* un
organismo que produce una toxina en alimentos o heridas que
causa botulismo; *C. difficile* que puede causar colitis
pseudomembranosa, megacolon tóxico y diarreas asociadas con
20 antibióticos; *C. tetani* el cual es el organismo causativo del
tétanos; y *C. perfringens*.

C. perfringens es ubicuo en el ambiente y se
encuentra en suelo, polvo, ingredientes en bruto tales como
especies usadas en procesamiento de alimentos, y en los
25 intestinos de humanos y animales. Produce más de 15

diferentes toxinas e infecciones debido a *C. perfringens* pueden causar envenenamiento de alimento, enterotoxemia, enteritis necrotizante y gangrena de gas por *C. perfringens* tipo A. En la industria de las aves de corral, las infecciones por *C. perfringens* pueden causar problemas de salud intestinal en pollos de engorda con consecuencias económicas negativas significantes. Puesto que el uso de antibióticos en la industria de alimentos es altamente regulado existe una necesidad de compuestos antibacterianos alternativos.

El documento WO-2008/039640 describe el compuesto 5-[3-((R)(+)-6,8-dibromo-croman-4-ilamino)-propilamino]-4H-tieno[3,2-b]piridin-7-ona, el cual es también conocido como REP3123, y su actividad antibacteriana contra *Clostridium difficile*.

Pruebas *in vitro* de la actividad antibacteriana del compuesto REP3123 demuestran que el compuesto es activo contra la bacteria del género *Clostridium* sin embargo REP3123 también tiene actividad antibacteriana contra una amplia variedad de bacterias que están presentes en el intestino. Tal actividad antibacteriana de amplio espectro contra bacterias Gram positivas tiene un efecto negativo en la flora intestinal. Aquí, existe una necesidad de compuestos antibacterianos con actividad contra la bacteria del género *Clostridium* que tiene una actividad de espectro estrecho

contra la bacteria Gram positiva y concomitantemente ningún efecto negativo en la flora intestinal.

5

10

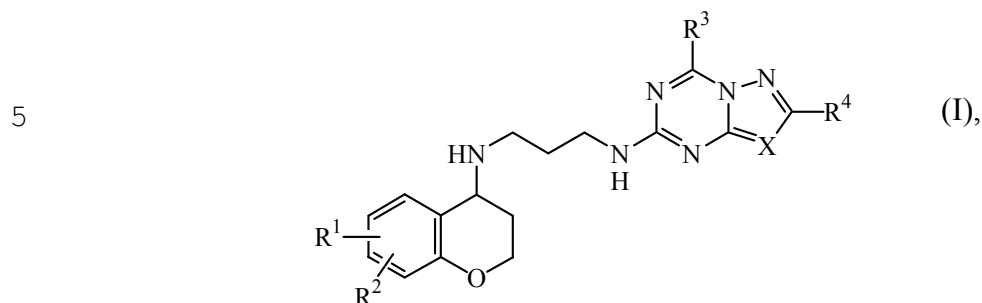
15

20

25

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La presente invención relates a un compuesto de fórmula (I)



que incluye cualquier forma estereoquímicamente isomérica y tautómero del mismo en donde

R^1 y R^2 son cada uno seleccionados independientemente de hidrógeno, halo, hidroxilo, alquilo C_{1-6} , polihaloalquilo C_{1-6} , alquilo C_{1-6} , o polihaloalquilo C_{1-6} ;

R^3 es hidroxilo, amino, mono- o di(alquilo C_{1-4}) amino;

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

X es nitrógeno o CR^5 en donde R^5 es hidrógeno, halo o alquilo C_{1-4} ;

siempre que cuando R^3 es hidroxilo entonces X representa CH y R^4 representa hidrógeno;

20 o una sal de adición de ácido del mismo farmacéuticamente aceptable, o un solvato del mismo.

Esta provisión está propuesta para excluir compuestos que tienen poca o ninguna actividad antibacteriana contra la bacteria del género *Clostridium*.

25 Como se usa en las definiciones precedentes:

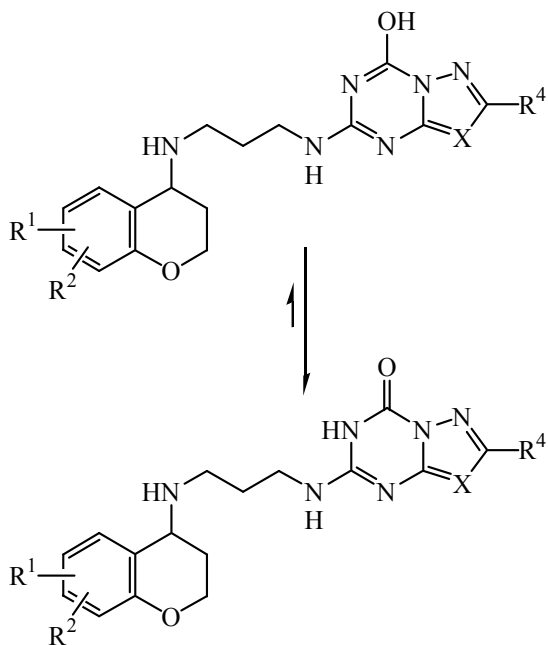
- halo es genérico a flúor, cloro, bromo y yodo;
- alquilo C_{1-4} define radicales hidrocarburo saturados de cadena recta y ramificada que tienen de 1 a 4 átomos de carbono tales como, por ejemplo, metilo, etilo, propilo, butilo, 1-metiletilo, 2-metilpropilo y similares;
- alquilo C_{1-6} significa incluir alquilo C_{1-4} y los homólogos superiores del mismo que tienen 5 ó 6 átomos de carbono, tales como, por ejemplo, 2-metilbutilo, pentilo, hexilo y similares;
- polihaloalquilo C_{1-6} es definido como poli haloalquilo C_{1-6} sustituido, en particular alquilo C_{1-4} (como se define aquí anteriormente) sustituido con 2 a 6 átomos de halógeno tales como difluorometilo, trifluorometilo, trifluoroetilo, y similares.

El término "formas estereoquímicamente isoméricas" como se usa aquí anteriormente define todas las formas isoméricas posibles las cuales el compuesto de fórmula (I) puede poseer. A menos que se mencione o indique de otro modo, la designación química de compuestos denota la mezcla de todas las formas estereoquímicamente isoméricas posibles, tales mezclas que contienen todos los diastereómeros y enantiómeros de la estructura molecular básica. Más en particular, los centros estereogénicos pueden tener la configuración R- o S-; sustituyentes en radicales saturados bivalentes cíclicos (parcialmente) pueden tener ya sea la

configuración cis- o trans-. Formas estereoquímicamente isoméricas de los compuestos de fórmula (I) son obviamente propuestos para ser abarcados dentro del alcance de esta invención.

5 La configuración estereoquímica absoluta de los compuestos de fórmula (I) y de los intermediarios usados en su preparación puede ser fácilmente determinada por aquellos expertos en la técnica mientras usan métodos bien conocidos tales como, por ejemplo, difracción de rayos-X.

10 Algunos de los compuestos de fórmula (I) también pueden existir en su forma tautomérica. Tales formas aunque no se indican explícitamente en la fórmula anterior están propuestas para ser incluidas dentro del alcance de la presente invención. Por ejemplo para compuestos de fórmula
 15 (I) en donde R^3 representa hidroxí, la forma ceto correspondiente puede ser el tautómero principalmente poblado.



Además, algunos compuestos de fórmula (I) y algunos de los intermediarios usados en su preparación pueden exhibir polimorfismo. Se entiende que la presente invención abarca algunas formas polimórficas que poseen propiedades útiles en el tratamiento de las condiciones observadas aquí anteriormente.

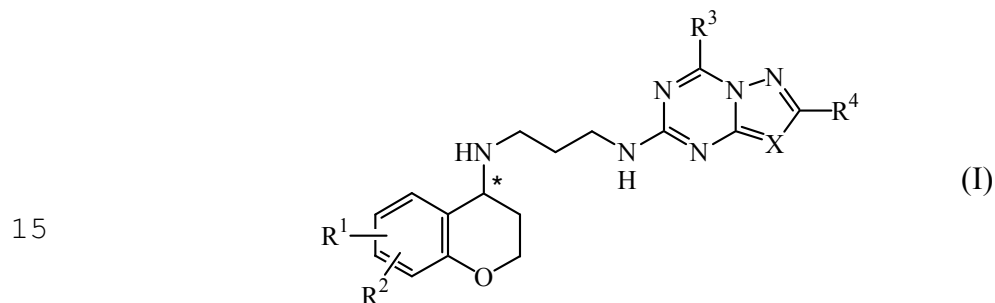
Las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables como se menciona aquí anteriormente están significando comprender las formas de sal de adición de ácido no tóxicas farmacéuticamente activas que los compuestos de fórmula (I) son capaces de formar. Estas sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables pueden convenientemente ser obtenidas tratando la forma de base con tal ácido apropiado. Ácidos apropiados comprenden, por ejemplo, ácidos inorgánicos tales como ácidos hidrohálicos, por ejemplo, ácido clorhídrico o bromhídrico, sulfúrico, nítrico, fosfórico y ácidos similares; o ácidos orgánicos tales como, por ejemplo, acético, propanoico, hidroxiaacético, láctico, pirúvico, oxálico, (es decir, etandioico), malónico, succínico (es decir, ácido butan-dioico), maleico, fumárico, málico, tartárico, cítrico, metansulfónico, etansulfónico, bencensulfónico, *p*-toluensulfónico, ciclámico, salicílico, *p*-aminosalicílico, pamoico y ácidos similares.

Contrariamente las formas de sal pueden ser convertidas por tratamiento con una base apropiada en la

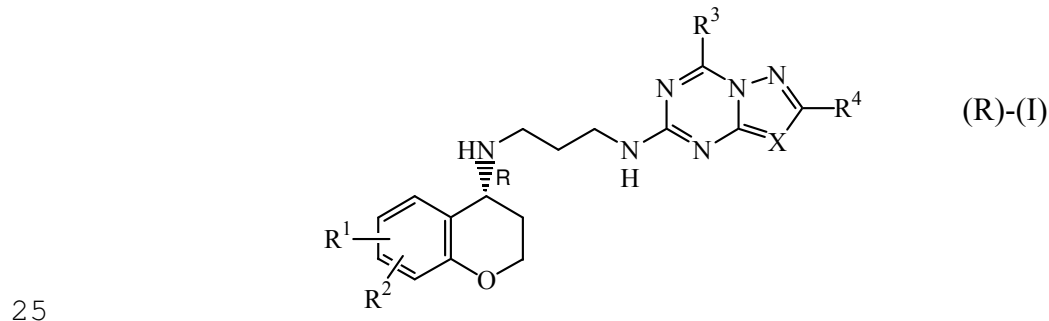
forma de base libre.

Los compuestos de fórmula (I) pueden existir en formas solvatadas y no solvatadas. El término 'solvato' se usa en la presente para describir una asociación molecular que comprende un compuesto de la invención y una o más moléculas de solvente farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, agua o etanol. El término 'hidrato' se usa cuando el solvente es agua.

Los compuestos de fórmula (I) tienen al menos un átomo de carbono asimétrico como se ilustra abajo en donde los átomos de carbono asimétricos son identificados por un *.



En una modalidad la presente invención se refiere a compuestos de fórmula (R)-(I) los cuales son definidos como compuestos de fórmula (I) que tienen la configuración (R) en la posición-4 de la porción cromanilo.



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

- a) R^1 y R^2 son cada uno halo; o
- 5 b) R^1 y R^2 son cada uno bromo y están localizados en la posición-6 y 8 de la porción cromanilo; o
- c) R^3 es hidroxilo; o
- d) R^3 es amino; o
- e) R^3 es metilamino; o
- 10 f) R^4 es hidrógeno; o
- g) R^4 es metilo; o
- h) X es nitrógeno; o
- i) X es CR^5 en donde R^5 representa hidrógeno; o
- j) X es CR^5 en donde R^5 representa halo, en
- 15 particular cloro.

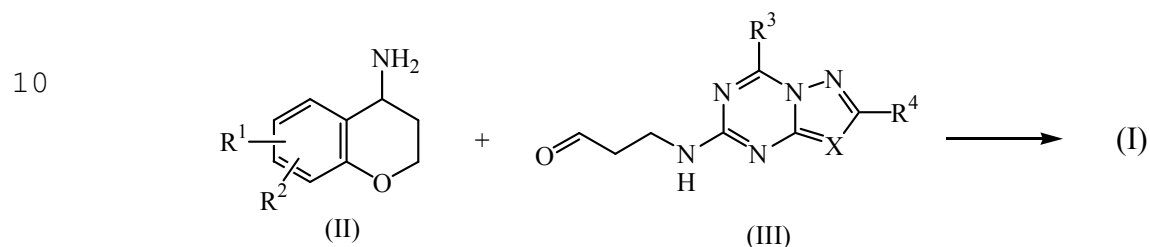
Un primer grupo de compuestos son aquellos compuestos de fórmula (R)-(I) en donde R^1 y R^2 son cada uno bromo y están localizados en la posición 6 y 8 de la porción cromanilo y en donde R^3 representa hidroxilo.

- 20 Un segundo grupo de compuestos son aquellos compuestos de fórmula (R)-(I) en donde X representa nitrógeno, R^1 y R^2 son cada uno bromo y están localizados en la posición 6 y 8 de la porción cromanilo y en donde R^3 representa hidroxilo.

- 25 Un tercer grupo de compuestos son aquellos

compuestos de fórmula (R)-(I) en donde R^1 y R^2 son cada uno bromo y están localizados en la posición 6 y 8 de la porción cromanilo y en donde R^3 representa amino.

Compuestos de fórmula (I) pueden ser preparados reductivamente *N*-alquilando un intermediario de fórmula formula (II) con un intermediario de fórmula (III), siguiendo procedimientos de *N*-alquilación reductiva conocidos en la técnica.



Tal *N*-alquilación reductiva puede ser realizada en un solvente de reacción-inerte tal como, por ejemplo, diclorometano, THF, tolueno o una mezcla de los mismos, y en la presencia de un agente reductor tal como, por ejemplo, un borohidruro, por ejemplo borohidruro de sodio, cianoborohidruro de sodio o triacetoxiborohidruro. También puede ser conveniente usar hidrógeno como un agente reductor en combinación con un catalizador adecuado tal como, por ejemplo, paladio en carbono, platino en carbono. En tal caso el hidrógeno es usado como un agente reductor, puede ser ventajoso agregar un agente deshidratante a la mezcla de reacción tal como, por ejemplo, *terc*-butóxido de aluminio.

15

20

25

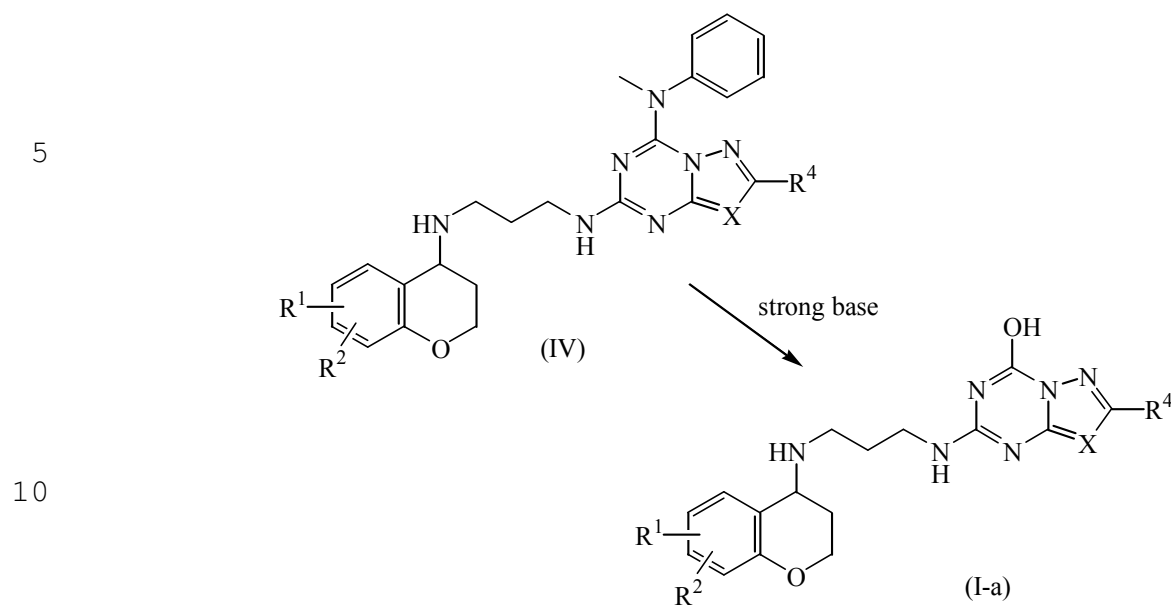
Para prevenir la hidrogenación adicional indeseada de ciertos grupos funcionales en los reactivos y los productos de reacción, puede ser ventajoso agregar un veneno de catalizador apropiado a la mezcla de reacción, por ejemplo, 5 tiofeno o quinolin-azufre. Para mejorar la velocidad de la reacción, la temperatura puede ser elevada en un intervalo entre temperatura ambiental y la temperatura de reflujo de la mezcla de reacción y opcionalmente la presión del gas de hidrógeno puede ser elevada.

10 Cuando los compuestos de fórmula (I) en donde R^3 representa amino o mono-(alquilo C_{1-4})-amino son preparados usando el método de *N*-alquilación descrito anteriormente, puede ser apropiado proteger tal funcionalidad amina. Los grupos protectores para funcionalidades amina son conocidos 15 en la técnica y son removidos después del procedimiento de *N*-alquilación.

También los compuestos de fórmula (I) en donde R^3 representa hidroxí pueden ser preparados usando el procedimiento de *N*-alquilación descrito anteriormente con 20 ello la funcionalidad hidroxí es protegida por grupos protectores conocidos en la técnica.

Compuestos de fórmula (I-a), definidos como compuestos de fórmula (I) en donde R^3 representa hidroxí, pueden ser preparados hidrolizando intermediarios de fórmula 25 (IV) bajo condiciones básicas. Intermediarios de fórmula (IV)

pueden ser preparados de conformidad con el procedimiento de N-alquilación general como se describe anteriormente.



base fuerte

15 Los materiales de partida y algunos de los intermediarios son compuestos conocidos y son comercialmente disponibles o pueden ser preparados de conformidad con procedimientos de reacción convencionales en general conocidos en la técnica.

20 Los compuestos de fórmula (I) como se preparan en los procesos descritos aquí anteriormente pueden ser sintetizados en la forma de mezclas racémicas de enantiómeros los cuales pueden ser separados de entre sí siguiendo procedimientos de resolución conocidos en la técnica. Estos

25 compuestos de fórmula (I) que se obtienen en forma racémica

pueden ser convertidos en las formas de sal diastereoméricas correspondientes por reacción con un ácido quiral adecuado. Tales formas de sal diastereoméricas son subsecuentemente separadas, por ejemplo, por cristalización selectiva o fraccional y los enantiómeros son liberados de estos por álcalis. Una manera alternativa de separar las formas enantioméricas de los compuestos de fórmula (I) involucra cromatografía líquida usando una fase estacionaria quiral. Tales formas estereoquímicamente isoméricas puras también pueden ser derivadas de las formas estereoquímicamente isoméricas puras correspondientes de los materiales de partida apropiados, siempre que la reacción ocurra estereoespecíficamente. Preferiblemente si se desea un estereoisómero específico, el compuesto será sintetizado por métodos de preparación estereoespecíficos. Estos métodos emplearán ventajosamente materiales de partida enantioméricamente puros.

Los compuestos de fórmula (I), que incluyen cualesquiera formas estereoquímicamente isoméricas y tautómeros de los mismos, y las sales de los mismos farmacéuticamente aceptables poseen actividad antibacteriana, en particular contra bacterias del género *Clostridium*, más particularmente *Clostridium perfringens*, como se demuestra en los Ejemplos Farmacológicos.

Por lo tanto la presente invención también se

refiere a compuestos de fórmula (I) para uso como una medicina específicamente para uso en el tratamiento de infecciones bacterianas, en particular infecciones a base de *Clostridium*, más particularmente infecciones a base de *Clostridium perfringens*. Subsecuentemente los presentes compuestos pueden ser usados para la manufactura de una medicina para tratamiento de infecciones bacterianas, en particular infecciones a base de *Clostridium*, más particularmente infecciones a base de *Clostridium perfringens*.

Además, la presente invención proporciona un método de tratamiento de una infección bacteriana, en particular infecciones a base de *Clostridium*, más particularmente infecciones a base de *Clostridium perfringens*, en un sujeto de sangre caliente el cual comprende administrar a un sujeto de sangre caliente en necesidad de tal tratamiento una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula (I) o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

Infecciones a base de *Clostridium perfringens* son por ejemplo, envenenamiento de alimento, enterotoxemia, enteritis necrotizante y gangrena de gas por *C. perfringens* tipo A.

El término "tratar" y "tratamiento", como se usa en la presente, se refiere a tratamiento curativo, paliativo y profiláctico, que incluye revertir, aliviar, inhibir el

progreso de, o prevenir la enfermedad, trastorno o condición en la cual el término aplica, o uno o más síntomas de tal enfermedad, trastorno o condición.

Animales de sangre caliente como se usa a través de este texto incluyen animales tanto humanos como no humanos tales como animales de granja (por ejemplo, ovejas, vacas, cerdos, cabras o caballos), animales domésticos (por ejemplo, perros, gatos o cobayos) así como también animales silvestres mantenidos en cautiverio y aves (por ejemplo, aves de corral).

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

El término "cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula (I)" como se usa en la presente, significa tal cantidad del compuesto de fórmula (I) que estimula la respuesta biológica o médica en el animal de sangre caliente que está siendo buscado por el especialista o veterinario, el cual incluye alivio de los síntomas de la condición a ser tratada. La cantidad terapéuticamente efectiva puede ser determinada usando técnicas de optimización de rutina y es dependiente de la condición particular a ser tratada, la condición del animal de sangre caliente, la ruta de administración, la formulación y el

juicio del practicante y otros factores evidentes para aquellos expertos en la técnica. Una cantidad terapéuticamente efectiva se puede lograr por dosificaciones múltiples.

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

 Para uso en animales de sangre caliente, que
10 incluyen humanos, los compuestos de fórmula (I) pueden ser administrados solos, pero en general serán administrados en mezcla con un diluyente o portador farmacéuticamente o veterinario aceptable seleccionado con respecto a la ruta propuesta de administración y práctica farmacéutica estándar.
15 Por ejemplo, pueden ser administrados oralmente, que incluyen sublingualmente, en la forma de tabletas que contienen tales excipientes como almidón o lactosa, o en cápsulas u óvulos ya sea solos o en mezcla con excipientes, o en la forma de elíxires, soluciones o suspensiones que contienen agentes
20 saborizantes o colorantes. Los compuestos de fórmula (I) pueden ser incorporados en cápsulas, tabletas o bolos dirigidos al colon o duodeno vía disolución retardada de las cápsulas, tabletas o bolo por un tiempo particular después de la administración oral. Los compuestos de fórmula (I) pueden
25 ser inyectados parenteralmente, por ejemplo,

intravenosamente, intramuscularmente o subcutáneamente. Para administración parenteral, son mejor usados en la forma de una solución o suspensión estéril acuosa que puede contener otras sustancias, por ejemplo, suficiente sal o glucosa para
5 hacer la solución isotónica con la sangre. Los compuestos de fórmula (I) pueden ser administrados tópicamente, en la forma de cremas estériles, geles, formulaciones vertidas o aplicadas, suspensiones, lociones, ungüentos, polvos de espolvoreo, atomizadores, vendajes incorporados con fármacos
10 o vía un parche para piel. Por ejemplo, los compuestos de fórmula (I) pueden ser incorporados en una crema que consiste de una emulsión acuosa o aceitosa de polietilenglicoles o parafina líquida, o pueden ser incorporados en un ungüento que consiste de una base de para fina blanda de cera blanca,
15 o como hidrogel con celulosa o derivados de poliacrilato u otros modificadores de la viscosidad, o como polvo de espolvoreo o atomizador líquido o aerosol con butano/propano, propulsores de HFA o CFC, o como un vendaje de fármaco incorporado ya sea como un vendaje de tul, con parafina
20 blanda blanca o vendajes de gasa impregnados con polietilenglicoles o con hidrogel, hidrocoloides, alginato o vendajes de película. Los compuestos de fórmula (I) pueden también ser administrados intra-ocularmente como una gota para los ojos con amortiguadores apropiados, modificadores de
25 la viscosidad (por ejemplo, derivados de celulosa),

preservativos (por ejemplo, cloruro de benzalconio (BZK)) y agentes para ajustar la tonicidad (por ejemplo, cloruro de sodio). Tales técnicas de formulación son bien conocidas en el arte. Todas de tales formulaciones pueden contener también
5 estabilizadores y preservativos apropiados.

Para uso veterinario, los compuestos pueden ser administrados como una formulación adecuadamente aceptable de conformidad con la práctica veterinaria normal y el veterinario determinará el régimen de dosificación y ruta de
10 administración la cual será más apropiada para un animal particular.

Para inmersiones de aplicación tópica, atomizador, polvo, espolvoreos, vertidos, untados, concentrados emulsificables, fluidos de chorro, champús, collarines,
15 etiquetas o arneses pueden ser usados. Tales formulaciones son preparadas en una manera convencional de conformidad con práctica veterinaria y farmacéutica estándar. De este modo, cápsulas, bolos o tabletas pueden ser preparados mezclando el ingrediente activo con un diluyente o portador finamente
20 dividido adecuado, que contiene adicionalmente un agente desintegrante y/o aglutinante tal como almidón, lactosa, talco o estearato de magnesio. Una formulación de lavado puede ser preparada dispersando los ingredientes activos en una solución acuosa junto con agentes dispersantes o
25 humectantes y pueden ser preparadas formulaciones inyectables

en la forma de una solución o emulsión estéril. Formulaciones vertidas o untadas pueden ser preparadas disolviendo los ingredientes activos en un vehículo portador líquido aceptable, tal como butildigol, parafina líquida o éster no volátil con o sin adición de un componente volátil tal como isopropanol.

Alternativamente, formulaciones vertidas, untadas o rociadas pueden ser preparadas por encapsulación para dejar un residuo de agente activo en la superficie del animal. Estas formulaciones variarán con respecto al peso del compuesto activo dependiendo de las especies del animal hospedero a ser tratado, la severidad y tipo de infección y tipo y peso corporal del hospedero. Las formulaciones que comprenden un compuesto de fórmula (I) pueden ser administradas continuamente, particularmente por profilaxis por métodos conocidos.

Como una alternativa las combinaciones pueden ser administradas con el producto alimenticio animal y para este propósito un aditivo de alimento concentrado o premezcla puede ser preparado para mezclarlo con el forraje animal normal.

Para uso humano los compuestos de fórmula (I) son administrados como una formulación farmacéuticamente aceptable de conformidad con la práctica médica normal.

Aquellos expertos en el tratamiento de infecciones

bacterianas, en particular infecciones por *Clostridium*, fácilmente determinarán la cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula (I) a partir de los resultados de prueba presentados aquí posteriormente. En general se
5 contempla que una dosis terapéuticamente efectiva será desde aproximadamente 0.1 mg/kg hasta aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal, más preferiblemente desde aproximadamente 1 mg/kg hasta aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal del animal de sangre caliente a ser tratado. Puede ser apropiado
10 administrar la dosis terapéuticamente efectiva en la forma de dos o más sub-dosis a intervalos apropiados durante el día.

La dosificación exacta y frecuencia de administración depende del compuesto particular de fórmula (I) usado, la condición particular a ser tratada, la
15 severidad de la condición a ser tratada, la edad, peso y condición física general del animal de sangre caliente particular así como también la otra medicación, la sangre caliente puede ser tomada, como es bien conocido por aquellos expertos en la técnica. Además, la cantidad diaria efectiva
20 puede ser disminuida o incrementada dependiendo de la respuesta del animal tratado y/o dependiendo de la evaluación del especialista o veterinario que prescribe los compuestos de la presente invención. Los intervalos de cantidad diaria efectiva mencionados aquí anteriormente son por lo tanto
25 solamente lineamientos.

Parte Experimentales

"DMF" es definido como N,N-dimetilformamida, "CH₂Cl₂" es definido como diclorometano, "MeOH" es definido como metanol, "EtOH" es definido como etanol, "TEA" es
5 definido como trietilamina, "DPPA" es definido como éster difanilo del ácido fosforazídico, "DBU" es definido como 2,3,4,6,7,8,9,10-octahidro-pirimido[1,2-a]azepina, "NaBH(OAc)₃" es definido como triacetoxiborohidruro de sodio, "MgSO₄" es definido como sulfato de magnesio, "POCl₃" es
10 definido como tricloruro fosfórico, "Na₂SO₃" es definido como sulfito de sodio, "CH₃NH₂" es definido como metanamina, "NaHCO₃" es definido como bicarbonato de sodio, "CHCl₃" es definido como triclorometano, "Na₂SO₄" es definido como sulfato de sodio, "NH₄OH" es definido como hidróxido de
15 amonio, "H₂SO₄" es definido como ácido sulfúrico, "NCS" es definido como 1-cloro-2,5-pirrolidindiona, "NaOH" es definido como hidróxido de sodio y "THF" es definido como tetrahidrofurano.

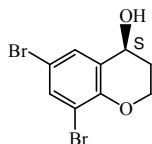
Para un número de compuestos, se determinaron
20 puntos de fusión (pf) con un aparato de punto de fusión WRS-2A que se adquirió de Shanghai Precision y Scientific Instrument Co. Ltd. Los puntos de fusión se midieron con una velocidad de calentamiento lineal hasta de 0.2 - 5.0 °C/minuto. Los valores reportados son intervalos de fusión.
25 La temperatura máxima fue 300°C.

^1H NMR

Para un número de compuestos, se registraron los espectros de ^1H NMR en un espectrómetro Bruker DPX-300, o en uno Bruker DPX-400 con secuencias de pulso estándar, que opera a 300 MHz y 400 MHz respectivamente, usando CLOROFORMO- d (cloroformo deuterado, CDCl_3) o DMSO- d_6 (DMSO deuterado, sulfóxido de dimetil- d_6) como solventes. Los cambios químicos (δ) son reportados en partes por millón (ppm) con relación a tetrametilsilano (TMS), el cual se usó como estándar interno.

A. Síntesis de los intermediariosEjemplo A.1

a) Preparación de



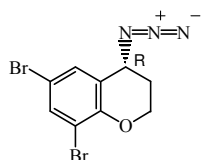
intermediario (1)

Ácido fórmico (81 g) se agregó por goteo a 0°C a TEA (1040 mmol). Después de agitar por 10 minutos, 6,8-dibromo-2,3-dihidro-4H-1-benzopirano-4-ona (261 mmol) se agregó a la mezcla de reacción, seguido por el intermediario (14) (0.5 mmol) y DMF (300 ml) a 25°C . Después de la adición, la mezcla de reacción se agitó a 40°C por 24 horas. La cromatografía de capa delgada (éter de petróleo/acetato de etilo = 5/1) mostró que la reacción se terminó. La mezcla de reacción se apagó por la adición de agua (1000 ml) a 0°C . La mezcla de reacción resultante se extrajo con acetato de etilo

(tres veces 1000 ml). La fase orgánica se lavó con salmuera (500 ml), se secó sobre Na_2SO_4 y concentró para dar el producto crudo. El producto crudo se lavó con *terc*-butilmetiléter para dar 78 g del intermediario (1).

5

b) Preparación de



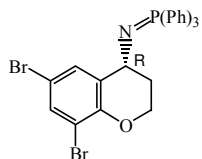
intermediario (2)

10 A una solución agitada del intermediario (1) (253 mmol) en THF (2000 ml) se agregó DPPA (334 mmol) a 25°C. Después de agitar por 15 minutos a 25°C, DBU (691 mmol) se agregó a 0°C. Después de la adición, la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente por 12 horas. La cromatografía

15 de capa delgada (éter de petróleo/acetato de etilo = 10:1) mostró que el material de partida se consumió completamente. La mezcla de reacción se trató con agua (1000 ml) y extrajo con acetato de etilo (tres veces 1000 ml). La fase orgánica se lavó con salmuera (1000 ml), se secó sobre Na_2SO_4 y

20 concentró para dar el producto crudo. El producto crudo se purificó por cromatografía en gel de sílice (éter de petróleo/acetato de etilo = 50/1) para dar 60.3 g del intermediario (2).

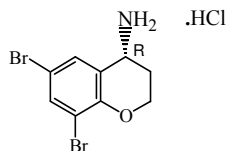
c) Preparación
de



intermediario (3)

5 Se agregó trifenilfosfina (362 mmol) a la mezcla
del intermediario (2) (181 mmol) en H₂O (80 ml) y THF
(800 ml) a 25°C. Después de la adición, la mezcla de reacción
se agitó a 25°C por 1 hora. La cromatografía de capa delgada
(éter de petróleo/acetato de etilo = 5/1) mostró que la
10 reacción se terminó. La mezcla de reacción se concentró y el
residuo se dividió entre acetato de etilo (1000 ml) y H₂O
(1000 ml). Después de separada, la fase acuosa se extrajo con
acetato de etilo (500 ml). La fase orgánica se lavó con
salmuera (1000 ml), se secó sobre Na₂SO₄ y concentró para dar
15 150 g del intermediario (3).

d) Preparación de



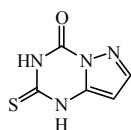
intermediario (4)

20 NH₄OH (180 ml) se agregó a la solución del
intermediario (3) (181 mmol) en EtOH (1500 ml) a 0°C. La
mezcla de reacción resultante se calentó bajo reflujo por 3
horas. La cromatografía de capa delgada (CH₂Cl₂/MeOH =10/1)
mostró que la reacción se terminó. La mezcla de reacción se
25 evaporó para remover EtOH y el residuo se acidificó por la

adición de HCl 6N a pH = 2. La mezcla resultante se filtró y el sólido resultante se lavó con acetato de etilo (500 ml) para dar 40 g del intermediario (4).

5 Ejemplo A.2

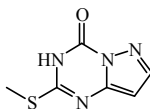
a) Preparación de



intermediario (5)

Una mezcla de éster etílico del ácido N-[(1H-
10 pirazol-3-ilamino)tioxometil]-carbámico (514 mmol) en NaOH
acuoso 2N (565 mmol) se agitó a 15°C por 3 horas. Después, la
mezcla se acidificó con H₂SO₄ 2N. Lo precipitado se filtró, se
lavó con agua (1000 ml) y *terc*-butil metiléter (500 ml). El
sólido resultante se secó bajo vacío para dar el producto
15 como un sólido blanco, proporcionando 78 g del intermediario
(5).

b) Preparación de

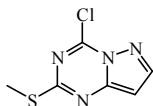


intermediario (6)

20 A una suspensión agitada del intermediario (5)
(464 mmol, 1 equivalente) en EtOH (1600ml) se agregó por
goteo solución acuosa de NaOH 2N (480 ml, 2 equivalentes),
seguido por yodometano (511 mmol, 1.1 equivalentes) a 0°C.
Después de la adición, la mezcla se agitó a 15°C por 2 horas.
25 La cromatografía de capa delgada (CH₂Cl₂/MeOH = 10/1) mostró

que la reacción se completó. Lo precipitado se filtró y después suspendió en agua (800 ml) y después acidificó por H_2SO_4 2N. La suspensión se agitó a 0°C por 5 minutos. Lo precipitado se filtró y se lavó por agua fría (900 ml). El sólido resultante se secó en vacío para proporcionar 75 g del intermediario (6) como un sólido blanco.

c) Preparación de



intermediario (7)

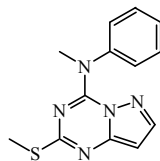
10

Una mezcla del intermediario (6) (374 mmol), *N,N*-dimetil-4-piridinamina (1.31 mmol) en POCl_3 (1500 ml) se calentó a reflujo por 2 horas a 100°C . Después de enfriar a temperatura ambiente, el exceso de POCl_3 se removi6 bajo vacío y el residuo resultante se secó por 2 horas. El producto crudo se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional, proporcionando 240 g del intermediario (7).

15

20

d) Preparación de



intermediario (8)

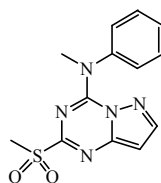
El intermediario (7) (374 mmol) se disolvió en CH_2Cl_2 seco (2000 ml), después se agregaron *N*-metilbencenamina (285 ml) y TEA (355 ml) por goteo a 0°C . Después

25

de agitar por 10 minutos, la mezcla se dejó calentar hasta temperatura ambiente y agitó durante la noche. La cromatografía de capa delgada ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 10/1$) mostró que la reacción fue completa. La mezcla de reacción se lavó con
 5 agua (600 ml) y salmuera (300 ml). La capa orgánica se secó sobre MgSO_4 , filtró y concentró para dar el producto crudo, el cual además se lavó por EtOH para dar 82 g del intermediario (8).

10

e) Preparación de

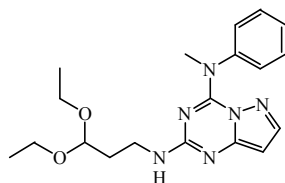


intermediario (9)

A una solución agitada del intermediario (8) (303
 15 mmol) en CH_2Cl_2 (2000 ml) se agregó ácido 3-cloroperoxibenzoico (1059 mmol) a 0°C en porciones. Después de la adición, la mezcla de reacción se agitó a 0°C por 1 hora y después a 15°C por 2 horas. La cromatografía de capa delgada (éter de petróleo/acetato de etilo= 5/1) mostró que
 20 la reacción fue completa. La mezcla de reacción se lavó por Na_2SO_3 acuoso saturado (cuatro veces con 600 ml) y después se agregó NaHCO_3 acuoso saturado hasta $\text{pH} = 7$. La capa acuosa se extrajo por CH_2Cl_2 (500 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (800 ml), se secaron sobre Na_2SO_4 y
 25 concentraron para dar el producto crudo. El producto crudo se

lavó por *terc*-butil metiléter (tres veces con 500 ml) para dar 87 g del intermediario (9).

5 f) Preparación de



intermediario (10)

A una solución agitada del intermediario (9) (287 mmol) en CHCl_3 (2000 ml) se agregó 3,3-dietoxi-1-propanamina (474 mmol) a 0°C en porciones. Después de la adición, la
 10 mezcla de reacción se agitó a 0°C por 1 hora y después a 15°C por 2 horas. La cromatografía de capa delgada (éter de petróleo/acetato de etilo= 5/1) mostró que la reacción fue completa. La mezcla de reacción se lavó por Na_2SO_3 acuoso saturado (cuatro veces con 600 ml) y después se agregó NaHCO_3
 15 acuoso saturado hasta $\text{pH} = 7$. La capa acuosa se extrajo por CH_2Cl_2 (500 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (800 ml), se secaron sobre Na_2SO_4 y concentraron para dar el producto crudo. El producto crudo se lavó por *terc*-butil metiléter (tres veces 500 ml) para dar 87 g del
 20 intermediario (10) (pf. $100.8 - 103.8^\circ\text{C}$).

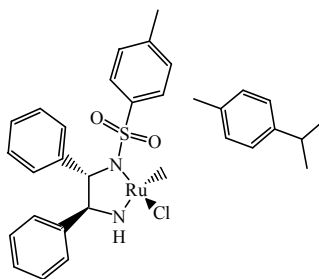
g) Preparación de	 $\cdot\text{HCl}$	intermediario (11)
-------------------	-----------------------	--------------------

25 HCl 12N (7.5 ml) se agregó a la solución del

intermediario (10) (81 mmol) en THF (450 ml) por debajo de 20°C. Después de agitar por 5 minutos, la mezcla de reacción se agitó a 20°C por 1 hora. La cromatografía de capa delgada ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 20/1$) mostró que la reacción se completó. Se
 5 agregó acetato de etilo (500 ml). La mezcla de reacción se agitó por 30 minutos. Lo precipitado se filtró, se lavó con acetato de etilo y se secó en vacío para dar 32 g del intermediario (11).

10 Ejemplo A.3

Preparación de



intermediario (14)

15

Una mezcla de *N*-[(1*S*,2*S*)-2-amino-1,2-difeniletíl]-4-metil-bencensulfonamida (2.13 mmol), dímero de dicloro(*p*-cimen)rutenio(II) (2.13 mmol) y TEA (0.6 ml) en 2-propanol (21 ml) se agitó a 80°C por 1 hora. Después de enfriar a
 20 20°C, la solución orgánica se concentró bajo vacío. El sólido resultante se lavó con agua (10 ml) y secó bajo presión reducida para dar el producto crudo, el cual además se re-cristalizó de metanol para dar 0.37 g of el producto como un intermediario (14) sólido anaranjado brillante.

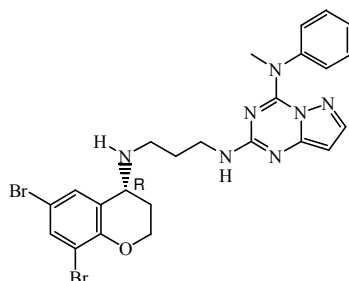
25

B. Preparación de los compuestos finales

Ejemplo B.1

5

a) Preparación de

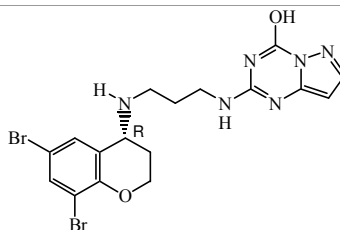


intermediario (12)

Se agregó TEA (210.6 mmol) a la solución del
 10 intermediario (11) (81 mmol) e intermediario (4) (81 mmol).
 Después de agitar por 1 hora, se agregó $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (113
 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 20°C por 2 horas. La
 cromatografía de capa delgada ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 10/1$) mostró que
 la reacción se completó. La mezcla se diluyó con acetato de
 15 etilo (1000 ml) y además se lavó por solución de NaHCO_3
 acuosa saturada (dos veces 500 ml). La capa orgánica se secó
 sobre Na_2SO_4 , filtró y concentró para dar 55 g de producto
 crudo del intermediario (12) como un aceite incoloro el cual
 se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

20

b) Preparación de



compuesto (1)

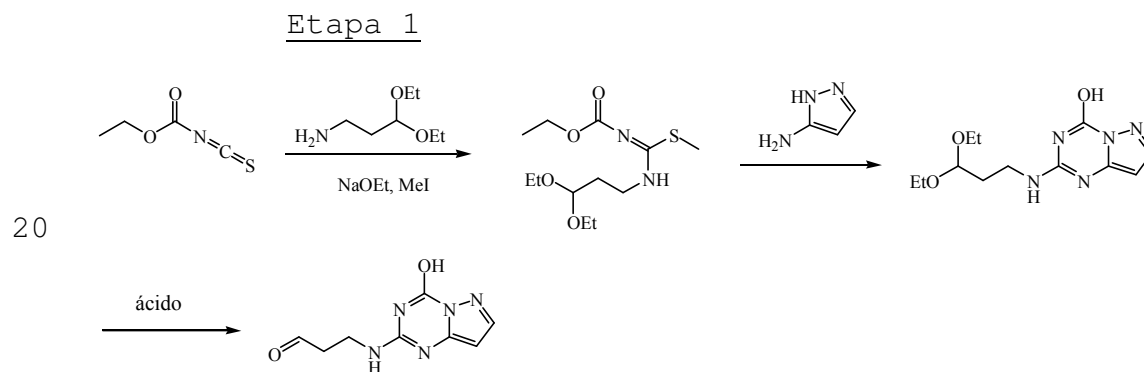
25

A una solución agitada del intermediario (12) (6

mmol) En EtOH (100 ml) se agregó NaOH 5N (12 ml) por goteo a 0°C. Después de la adición, la mezcla de reacción se calentó a reflujo por 3 horas a 85°C. La cromatografía de capa delgada ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 10/1$) mostró que la reacción se completó. EtOH se removi6 bajo presión reducida y el residuo se neutraliz6 con 6cido c6trico acuoso saturado a pH = 7. La mezcla se agreg6 a una soluci6n de agua (50 ml) y acetato de etilo (100 ml). Lo precipitado se filtr6, se lav6 con acetonitrilo (tres veces 50 ml) y sec6 en vac6o para dar 1.8 g de compuesto (1).

El compuesto (5) se prepar6 usando el mismo procedimiento haciendo reaccionar el intermediario (11) con (R)-6,8-dicloro-croman-4-ilamina.

Un m6todo alternativo para la preparaci6n del compuesto (1) se representa abajo.



O=C1OC(=O)c2ccccc2O1>NBS, H2SO4>BrC1=C(Br)C(=O)OC(=O)c2ccccc2O1>>NC1=C(Br)C(=O)OC(=O)c2ccccc2O1

10

BrC1=CC=C2C(=C1)OC(=C2)C[C@H](N)CCCNc3nc(O)n4ccn34.Cl

compuesto (2)

Se agregó 4M HCl en dioxano (30 ml) a la solución del compuesto (1) (3.6 mmol) en MeOH (10 ml) a 20°C. La mezcla se agitó por 3 horas a 20°C. El solvente se removió bajo presión reducida. El residuo se secó en vacío, proporcionando 1.62 g del compuesto (2) (pf.: 234.6 - 235.6°C). Rotación óptica: $[\alpha]_{589}^{20} = +10.67$, 8.77 mg/ml, metanol.

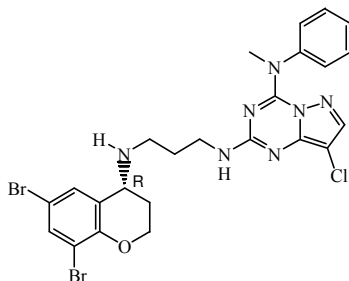
¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 1.86 – 2.07 (m, 2 H)
2.14 – 2.28 (m, 1 H) 2.30 – 2.44 (m, 1 H) 3.04 (br. s., 1 H)
3.17 (br. s., 1 H) 3.36 – 3.43 (m, 2 H) 4.34 – 4.43 (m, 1 H)
25 4.43 – 4.52 (m, 1 H) 4.52 – 4.60 (m, 1 H) 5.88 (d, *J*=2.0 Hz,

1 H) 7.11 (t, $J=5.4$ Hz, 1 H) 7.78 (d, $J=1.6$ Hz, 1 H) 7.81 -
7.89 (m, 2 H) 9.21 (br. s., 1 H) 9.32 (br. s., 1 H)

Ejemplo B.3

5

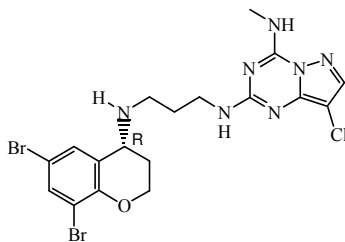
a) Preparación de



intermediario (13)

10 Una solución del intermediario (12) (10.2 mmol) en
DMF (300 ml) se agitó a 80°C por 5 minutos. NCS (20.4 mmol)
se agregó a la mezcla bajo atmósfera de nitrógeno y la
reacción se agitó por 3 horas. Después DMF se removió bajo
presión reducida. El residuo se lavó con *terc*-butilmetiléter
15 (tres veces 50 ml) y filtró. El sólido se secó bajo presión
reducida, proporcionando 2.8 g del intermediario (13).

b) Preparación de



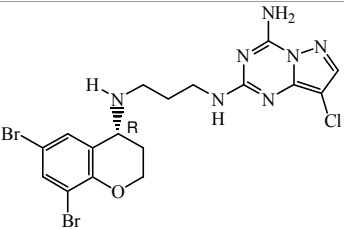
compuesto (3)

20

El intermediario (13) (0.97 mmol) y CH_3NH_2 2M en
THF (5 ml) se agregó a EtOH (5 ml) anhidro a 20°C. La mezcla
se agitó a 150°C bajo microondas por 4 horas. EtOH se removió
25 bajo presión reducida. El residuo se purificó con

cromatografía líquida de alta resolución preparativa (columna: YMC, 250 x 20 mm, fase móvil: 20-50% CH₃CN (0.075% v/v CF₃COOH), velocidad de flujo: 25 ml/min, tiempo de terminado: 15 minutos). La fracción deseada se recolectó y evaporó. La solución acuosa se neutralizó a pH = 7 y concentró. El sólido se filtró y se lavó por agua (tres veces 30 ml), proporcionando 0.065 g del compuesto (3) (pf.: 108.8 - 118.6°C).

10 Ejemplo B.4

Preparación de		compuesto (4)
----------------	---	---------------

15 Una mezcla del intermediario (13) (0.97 mmol) y NH₃ 2M en MeOH (10 ml) se agitó a 125°C bajo microondas por 3 horas. La mezcla se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó con cromatografía líquida de alta resolución preparativa (columna: YMC, 250 x 20 mm, fase móvil: 30-60% CH₃CN (0.075% v/v CF₃COOH), velocidad de flujo: 25 ml/min, tiempo de terminado: 15 minutos). La fracción deseada se recolectó y evaporó. La solución acuosa se neutralizó a pH = 7 y concentró. El sólido resultante se
20 filtró y además se lavó por agua (tres veces 30 ml). El
25

producto se secó bajo alto vacío, proporcionando 0.09 g del compuesto (4) (pf.: 78.7 – 94.1°C).

La Tabla lista los compuestos que fueron preparados de conformidad con uno de los Ejemplos anteriores.

Tabla 1:

10	 Co. No. 1; Ej. B.1	 Co. No. 3; Ej. B.3
15	 Co. No. 2; Ej. B.2; .HCl	 Co. No. 4; Ej. B.4
20	 Co. No. 5; Ej. B.1	
25		

C. Parte Analítica

C.1. Procedimiento General A de LC-MS

Procedimiento General A

La medición de HPLC se realizó usando un módulo
5 1100 que comprende una bomba, un detector de arreglo de diodo
(DAD) (longitud de onda usada 220 nm), un calentador de
columna y una columna como se especifica en los métodos
respectivos abajo. El flujo de la columna se dividió a un
Agilent MSD Series G1946C y G1956A. Se configuró el detector
10 de MS con API-ES (ionización de electrospray a presión
atmosférica). Se adquirieron los espectros de masa por
barrido de 100 a 1000. El voltaje de aguja capilar fue 2500 V
para modo de ionización positiva y 3000 V para modo de
ionización negativa. El voltaje de fragmentación fue 50 V. La
15 temperatura del gas secante se mantuvo a 350°C a un flujo de
10 l/min.

Método 1

En adición al procedimiento general A: Se llevó a
20 cabo HPLC de fase inversa en una columna YMC-Pack ODS-AQ,
50x2.0 mm 5µm con una velocidad de flujo de 0.8 ml/min. Se
usaron dos fases móviles (fase móvil A: agua con 0.1% de TFA;
fase móvil B: acetonitrilo con 0.05% de TFA). Primero, 100% A
se mantuvo por 1 minuto. Después se aplicó un gradiente a 40%
25 A y 60% B en 4 minutos y mantuvo por 2.5 minutos. Se usaron

volúmenes de inyección típicos de 2 μ l. La temperatura del horno fue 50°C. (Polaridad de MS: positiva).

Método 2

5 En adición al procedimiento general A: Se llevó a cabo HPLC de fase inversa en una columna YMC-Pack ODS-AQ, 50x2.0 mm 5 μ m con una velocidad de flujo de 0.8 ml/min. Se usaron dos fases móviles (fase móvil A: agua con 0.1% de TFA; fase móvil B: acetonitrilo con 0.05% de TFA). Primero, 90% de A y 10% de B se mantuvo por 0.8 minutos. Después se aplicó un gradiente a 20% de A y 80% de B en 3.7 minutos y mantuvo por 3 minutos. Se usaron volúmenes de inyección típicos de 2 μ l. La temperatura del horno fue 50°C. (Polaridad de MS: positiva).

15

Tabla 2: Datos analíticos - Tiempo de retención (R_t en minutos), (MH)⁺ pico (de la base libre), procedimiento de LC-MS y puntos de fusión (p.f. es definido como punto de fusión).

20

Co. Nr.	R_t	(MH) ⁺	Procedimiento de LC-MS
1	4.16	499.0	1
2	4	468.9	1
3	3.39	545.9	2
4	3.25	531.9	2

25

D. Ejemplos farmacológicos

D.1.1 Método *in-vitro* para compuestos de prueba contra *C. perfringens*.

Placas microtituladoras de plástico de 96 cavidades
5 estériles, de fondo plano se llenaron con 100 µl de medio de
caldo de infusión de corazón y cerebro. Subsecuentemente,
soluciones base (100 x concentración de prueba final) de los
compuestos se agregaron en 2 µl volúmenes a una serie de
cavidades para así permitir la evaluación de sus efectos en
10 crecimiento bacteriano. Las muestras de control no tratadas
con y sin inóculo se incluyeron en cada placa
microtituladora. Aproximadamente 50000 CFU por cavidad de
Clostridium perfringens (cepa 56), en un volumen de 100 µl en
un medio de caldo de infusión de corazón y cerebro, se
15 agregaron a las cavidades. Los cultivos se incubaron a 37°C
por 24 horas en una jarra anaeróbica. La densidad óptica (OD)
se leyó en un espectrofotómetro controlado por ordenador
(Envision) a una longitud de onda de 540 nm. El porcentaje de
inhibición de crecimiento logrado por los compuestos se
20 calculó de conformidad con métodos estándares y expresó como
IC₉₀ (µg/ml) el cual define el 90% de concentración inhibidora
para crecimiento bacteriano.

D.1.2. Método *in-vitro* para probar compuestos por actividad anti-bacteriana contra la cepa de *C. difficile*.

Placas microtituladoras de plástico de 96 cavidades estériles, de fondo plano se llenaron con 100 µl de medio de caldo Costridial reforzado. Subsecuentemente, soluciones base (100 x concentración de prueba final) de los compuestos se agregaron en 2 µl volúmenes a una serie de cavidades para así permitir la evaluación de sus efectos en crecimiento bacteriano. Las muestras de control no tratadas con y sin inoculo se incluyeron en cada placa microtituladora. Aproximadamente 50000 CFU por cavidad de *Clostridium difficile* (ATCC9689), en un volumen de 100 µl en medio de caldo Costridial reforzado, se agregaron a las cavidades. Los cultivos se incubaron a 37°C por 48 horas en una jarra anaeróbica. La OD se leyó en un espectrofotómetro controlado por ordenador (Thermomax) a una longitud de onda de 570 nm. El porcentaje de inhibición de crecimiento logrado por los compuestos se calculó de conformidad con métodos estándares y expresó como IC₉₀ (µg/ml) el cual define el 90% de concentración inhibidora para crecimiento bacteriano.

Resultados para D.1.1 y D.1.2:

REP3123 exhibió una buena actividad contra tanto *C. perfringens* como *C. difficile* mostrando IC₉₀ de 0.25 y 0.5-1 µg/ml, respectivamente.

El compuesto (2) de la presente invención exhibió buena actividad contra tanto *C. perfringens* como *C. difficile* mostrando IC₉₀ de 0.5 y 2 µg/ml, respectivamente.

5 D.1.3. Método *in-vitro* método para probar
compuestos contra varias bacterias

Placas microtituladoras de plástico de 96 cavidades estériles, de fondo plano se llenaron con 100 µl de medio de caldo. Subsecuentemente, soluciones base (100 x concentración
 10 de prueba final) de los compuestos se agregaron en 2 µl volúmenes a una serie de cavidades para así permitir la evaluación de sus efectos en crecimiento bacteriano. Las muestras de control no tratadas con y sin inóculo se incluyeron en cada placa microtituladora. Aproximadamente
 15 50000 CFU por cavidad de bacteria en un volumen de 100 µl de medio de caldo, se agregaron a las cavidades. Las placas se incubaron a 37°C. Se determinó la concentración de inhibición mínima como la concentración más alta con crecimiento no visible y expresó como IC₉₀ (µg/ml) el cual define el 90% de
 20 concentración inhibidora para crecimiento bacteriano.

Medio y condiciones de incubación:

Staphylococcus aureus, *Staphylococcus aureus*
 Resistente a meticilina, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus*
 25 *subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*,

Klebsiella pneumoniae, *Listeria monocytogenes*: medio Mueller Hinton; incubación por 20-24 horas en condiciones aeróbicas.

Enterococcus faecalis, *Streptococcus pneumoniae*: Medio Todd Hewitt; incubación por 20-24 horas en 5% de CO₂.

5 *Mycobacterium smegmatis*: Medio Mueller Hinton; incubación por 48 horas en condiciones aeróbicas.

Acinetobacter baumannii: Caldo Nutriente; incubación por 20-24 horas en condiciones aeróbicas

10 *Moraxella catarrhalis*: Medio de Infusión de corazón y cerebro; incubación por 20-24 horas en condiciones aeróbicas.

Resultados para D.1.3:

15 Tanto REP3123 como el compuesto (2) de la presente invención no exhibieron alguna actividad contra la bacteria Gram negativa. Las IC₉₀ de REP3123 fueron >32, >64, 16, > 78 y > 64 µg/ml contra *E. coli*, *K. pneumoniae*, *M. cattarhalis*, *P. aeruginosa* y *A. baumannii*, respectivamente. Las IC₉₀ del compuesto (2) de la presente invención fueron >31, >64, 16, > 20 75 y > 64 µg/ml contra *E. coli*, *K. pneumoniae*, *M. cattarhalis*, *P. aeruginosa* y *A. baumannii*, respectivamente.

25 REP3123 exhibió buenas actividades contra todas las bacterias Gram positivas probadas. Las IC₉₀ de REP3123 fueron <0.25, <0.25, <0.25, <0.25, 1, 0.12 y 0.12 µg/ml contra *S. aureus*, *S. aureus* resistente a meticilina, *S. epidermidis*, *E.*

faecalis, *S. pneumonia*, *B. subtilis* y *L. monocytogenes*, respectivamente.

El compuesto (2) de la presente invención no fue activo contra todas las bacterias Gram positivas probadas excepto para *E. faecalis* y *L. monocytogenes*. Sin embargo, la actividad del compuesto (2) de la presente invención fue todavía muy inferior contra estos 2 microorganismos que aquella de REP3123. Las IC₉₀ del compuesto (2) de la presente invención fueron 8-15, 7-13, 15, 1.5, >31, 4 y 2 µg/ml contra *S. aureus*, *S. aureus* resistente a meticilina, *S. epidermidis*, *E. faecalis*, *S. pneumonia*, *B. subtilis* y *L. monocytogenes*, respectivamente.

Tanto REP3123 como el compuesto (2) de la presente invención no exhibieron alguna actividad contra *Mycobacterium smegmatis*. Las IC₉₀ de REP3123 y el compuesto (2) de la presente invención contra *M. smegmatis* fueron 6-8 y >31 µg/ml, respectivamente.

Tabla 3: Actividad antibacteriana de REP3123 y Compuesto (2) contra la bacteria Gram positiva

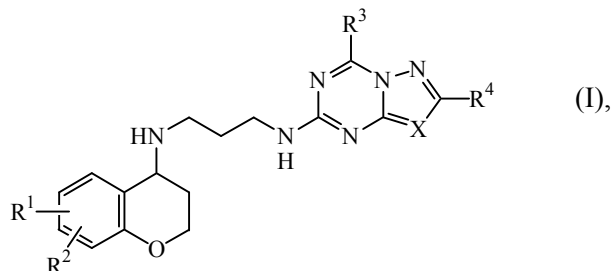
Bacteria Gram positiva	REP3123	Compuesto (2)
<i>S. aureus</i>	<0.25 µg/ml	8-15 µg/ml
<i>S. aureus</i> resistente a metecilina	<0.25 µg/ml	7-13 µg/ml
<i>S. epidermidis</i>	<0.25 µg/ml	15 µg/ml
<i>E. faecalis</i>	<0.25 µg/ml	1.5 µg/ml
<i>S. pneumonia</i>	1 µg/ml	>31 µg/ml
<i>B. subtilis</i>	0.12 µg/ml	4 µg/ml
<i>L. monocytogenes</i>	0.12 µg/ml	2 µg/ml

La comparación entre REP3123 y el Compuesto (2) de la presente invención claramente demuestra la actividad de amplio espectro de REP3123 contra la bacteria Gram positiva sobre la actividad de estrecho espectro compuesto (2).

REIVINDICACIONES

Habiéndose descrito la invención como antecede, se reclama como propiedad lo contenido en las siguientes.

5 1. Un compuesto de fórmula (I)



10 que incluye cualquier forma estereoquímicamente isomérica y tautómero del mismo caracterizado porque

R^1 y R^2 son cada uno seleccionados independientemente de hidrógeno, halo, hidroxilo, alquilo C_{1-6} , polihaloalquilo C_{1-6} , alquilo C_{1-6} , o polihaloalquilo C_{1-6} ;

15 R^3 es hidroxilo, amino, mono- o di(alquilo C_{1-4}) amino;

R^4 es hidrógeno o alquilo C_{1-4} ;

X es nitrógeno o CR^5 en donde R^5 es hidrógeno, halo o alquilo C_{1-4} ;

20 siempre que cuando R^3 es hidroxilo entonces X representa CH y R^4 representa hidrógeno;

o una sal de adición de ácido del mismo farmacéuticamente aceptable, o un solvato del mismo.

25 2. El compuesto como se reivindica de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque tienen la configuración (R) en la posición-4 de la porción cromanilo.

3. El compuesto como se reivindica de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado porque R^1 y R^2 son cada uno halo.

4. El compuesto como se reivindica de conformidad con la reivindicación 3, caracterizado porque R^1 y R^2 son cada uno bromo y están localizados en la posición 6 y 8 de la porción cromanilo y en donde R^3 representa hidroxil.

5. El compuesto como se reivindica de conformidad con la reivindicación 4, caracterizado porque X representa nitrógeno.

6. El compuesto como se reivindica de conformidad con la reivindicación 3, caracterizado porque R^1 y R^2 son cada uno bromo y están localizados en la posición 6 y 8 de la porción cromanilo y en donde R^3 representa amino.

7. Una composición farmacéutica caracterizada porque comprende un portador farmacéuticamente aceptable y una cantidad terapéuticamente activa de un compuesto de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6.

8. Un proceso para preparar una composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 7, caracterizado porque una cantidad terapéuticamente activa de un compuesto de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 es íntimamente mezclado con un portador farmacéuticamente aceptable.

9. Un compuesto de conformidad con cualquiera de

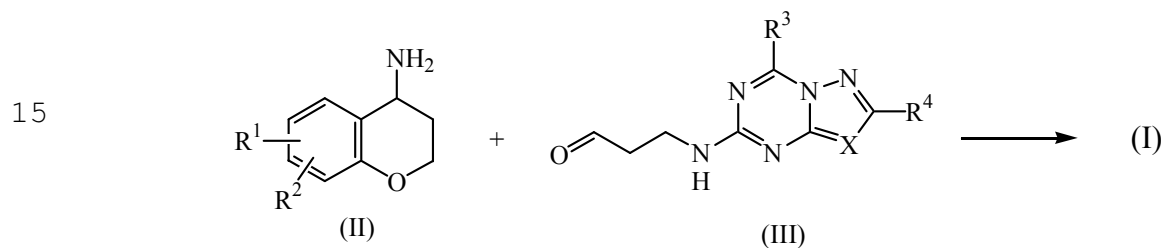
las reivindicaciones 1 a 6, para uso como una medicina.

10. El compuesto como se reivindica de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para uso en el tratamiento de infecciones bacterianas.

5 11. El compuesto como se reivindica de conformidad con la reivindicación 10, para uso en el tratamiento de infecciones a base de *Clostridium*.

12. Un proceso para preparar un compuesto de fórmula (I) caracterizado porque

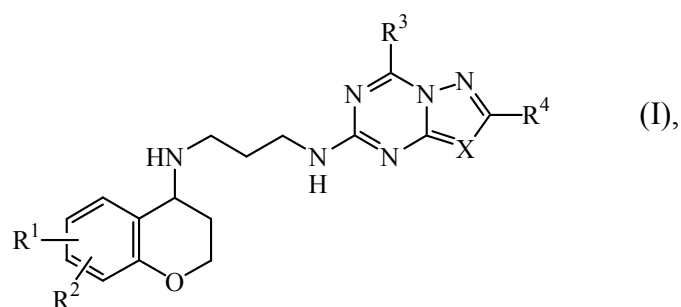
10 a) un compuesto intermediario de formula (II) es N-alquilado con un intermediario de fórmula (III), de este modo los sustituyentes R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y X son como se definen en la reivindicación 1,



o b) compuestos de fórmula (I) son convertidos en cada uno de los otros siguiendo reacciones de transformación conocidas en la técnica; o si se desea; un compuesto de fórmula (I) es convertido en una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable, o contrariamente, una sal de adición de ácido de un compuesto de fórmula (I) es convertida en una forma de base libre con álcali; y, si se desea,
 25 preparar formas estereoquímicamente isoméricas del mismo.

RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a nuevos compuestos de fórmula (I) que tienen actividad antibacteriana contra la bacteria *Clostridium*, en particular *Clostridium perfringens*, composiciones farmacéuticas que comprenden estos compuestos, y procesos químicos para preparar estos compuestos.



From the INTERNATIONAL BUREAU

PCTNOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

To:

ELANCO ANIMAL HEALTH IRELAND LIMITED
70 Sir John Rogerson's Quay
Dublin
IRLANDE

Date of mailing (day/month/year) 14 November 2011 (14.11.2011)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference TIP0225PCT	
International application No. PCT/EP2011/063434	International filing date (day/month/year) 04 August 2011 (04.08.2011)

1. The following indications appeared on record concerning:		
☒ the applicant	☐ the inventor	☐ the agent
☐ the common representative		
Name and Address JANSSEN PHARMACEUTICA NV Turnhoutseweg 30 B-2340 Beerse Belgium	State of Nationality BE	State of Residence BE
	Telephone No. +32 14 60 33 55	
	Facsimile No. +32 14 60 54 91	
	E-mail address tvpatents@its.jnj.com	
2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:		
☒ the person	☐ the name	☐ the address
☐ the nationality		
☐ the residence		
Name and Address ELANCO ANIMAL HEALTH IRELAND LIMITED 70 Sir John Rogerson's Quay Dublin Ireland	State of Nationality IE	State of Residence IE
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	E-mail address ☐ Notifications by e-mail authorized	
3. Further observations, if necessary:		
4. A copy of this notification has been sent to:		
☒ the receiving Office	☐ the International Preliminary Examining Authority	
☐ the International Searching Authority	☐ the designated Offices concerned	
☐ the Authority(ies) specified for supplementary search	☐ the elected Offices concerned	
	☐ other:	

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Gaspais Stephane
Facsimile No. +41 22 338 89 75	e-mail pt05.pct@wipo.int Telephone No. +41 22 338 74 05

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference TIP0225PCT	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/EP2011/063434	International filing date (<i>day/month/year</i>) 04/08/2011	(Earliest) Priority Date (<i>day/month/year</i>) 04/08/2010
Applicant JANSSEN PHARMACEUTICA NV		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 6 sheets.

☒ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

a. With regard to the **language**, the international search was carried out on the basis of:

- ☒ the international application in the language in which it was filed
- ☐ a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))

b. ☐ This international search report has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43.6**bis**(a)).

c. ☐ With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☐ **Certain claims were found unsearchable** (See Box No. II)

3. ☐ **Unity of invention is lacking** (see Box No III)

4. With regard to the **title**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
- ☐ the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the **abstract**,

- ☐ the text is approved as submitted by the applicant
- ☒ the text has been established, according to Rule 38.2(b), by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority

6. With regard to the **drawings**,

- a. the figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No. _____
- ☐ as suggested by the applicant
- ☐ as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure
- ☐ as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention
- b. ☐ none of the figures is to be published with the abstract

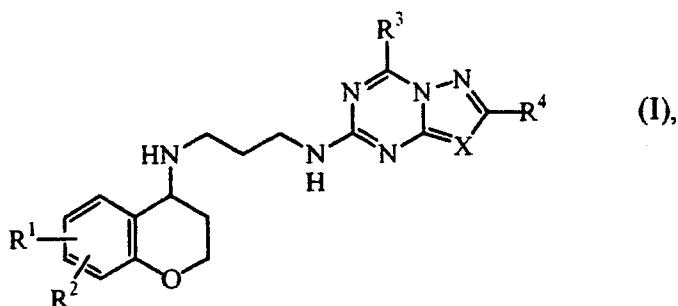
Box No. IV Text of the abstract (Continuation of item 5 of the first sheet)

ABSTRACT~~COMPOUNDS WITH ANTIBACTERIAL ACTIVITY AGAINST CLOSTRIDIUM~~

5

The present invention is related to novel compounds of formula (I) having antibacterial activity against *Clostridium* bacteria, in particular *Clostridium perfringens*, *Clostridium* pharmaceutical compositions comprising these compounds, and chemical processes for preparing these compounds.

10



(I),

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2011/063434

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C07D487/04 A61K31/53 A61P31/04
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07D A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2008/039640 A2 (REPLIDYNE INC [US]; GUILLES JOSEPH [US]; SUN XICHENG [US]; JANJIC NEBOJ) 3 April 2008 (2008-04-03) the whole document see in particular Table 1 on pages 7-10 and examples 1-19	1-12
A	WO 2008/039639 A2 (REPLIDYNE INC [US]; GUILLES JOSEPH [US]; SUN XICHENG [US]; JANJIC NEBOJ) 3 April 2008 (2008-04-03) the whole document see in particular examples 1-18 ----- -/-	1-12



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

16 September 2011

Date of mailing of the international search report

29/09/2011

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Papathoma, Sofia

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2011/063434

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JARVEST R L ET AL: "Optimisation of aryl substitution leading to potent methionyl tRNA synthetase inhibitors with excellent gram-positive antibacterial activity.", BIOORGANIC AND MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, vol. 13, no. 4, 24 February 2003 (2003-02-24), pages 665-668, XP002611993, ISSN: 0960-894X the whole document see in particular Table 3 -----	1-12
A	WO 2008/039642 A2 (REPLIDYNE INC [US]; GUILLES JOSEPH [US]; SUN XICHENG [US]; JANJIC NEBOJ) 3 April 2008 (2008-04-03) the whole document see in particular formulae (V) (on page 12) and (VII) (on page 13) -----	1-12
A	JARVEST R L ET AL: "Definition of the heterocyclic pharmacophore of bacterial methionyl tRNA synthetase inhibitors: potent antibacterially active non-quinolone analogues", BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, PERGAMON, ELSEVIER SCIENCE, GB, vol. 14, no. 15, 19 June 2004 (2004-06-19), pages 3937-3941, XP002354551, ISSN: 0960-894X, DOI: DOI:10.1016/J.BMCL.2004.05.070 the whole document see in particular Tables 2, 4 and 5 -----	1-12
A	LUBBERS T ET AL: "Design, synthesis, and structure-activity relationship studies of ATP analogues as DNA gyrase inhibitors", BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, PERGAMON, ELSEVIER SCIENCE, GB, vol. 10, no. 8, 1 April 2000 (2000-04-01), pages 821-826, XP004203504, ISSN: 0960-894X, DOI: DOI:10.1016/S0960-894X(00)00109-8 the whole document page 824, left-hand column, paragraph 4th; table 1; compounds 6b, 6c ----- -/--	1-12

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2011/063434

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	VU CHI B ET AL: "Novel diamino derivatives of [1,2,4]triazolo[1,5-a][1,3,5]triazine as potent and selective adenosine A(2a) receptor antagonists", JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 48, no. 6, March 2005 (2005-03), pages 2009-2018, XP002611994, ISSN: 0022-2623 the whole document see in particular abstract and Table 1 -----	1-12

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2011/063434

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2008039640	A2	03-04-2008	AU 2007300290 A1 03-04-2008
		CA 2664588 A1 03-04-2008	
		CN 101652140 A 17-02-2010	
		EP 2091536 A2 26-08-2009	
		JP 2010504986 A 18-02-2010	
WO 2008039639	A2	03-04-2008	EP 2094714 A2 02-09-2009
			JP 2010504985 A 18-02-2010
WO 2008039642	A2	03-04-2008	US 2009163536 A1 25-06-2009