

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

SIC

DELEGATURA PROPIEDAD INDUSTRIAL

DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

PCT

21. EXPEDIENTE No.

07-44380

54. TITULO: NONADEPSIPÉPTIDOS ACILADOS COMO DERIVADOS DE
LISOACTINA

51. CLASIFICACION INTERNACIONAL: C 07K 11/02; C07K 5/06; A61P 31/04

A 61 K 31/15

71. SOLICITANTE: AiCuris GMBH & Co. KG

DOMICILIO: WUPPERTAL, ALEMANIA

74. APODERADO: MAURICIO PATIÑO BONNET

22. SANTAFE DE BOGOTA, D.C.: 04 DE MAYO DE 2007

55

Inv. 95-06-2007

Foto
Cristian

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL

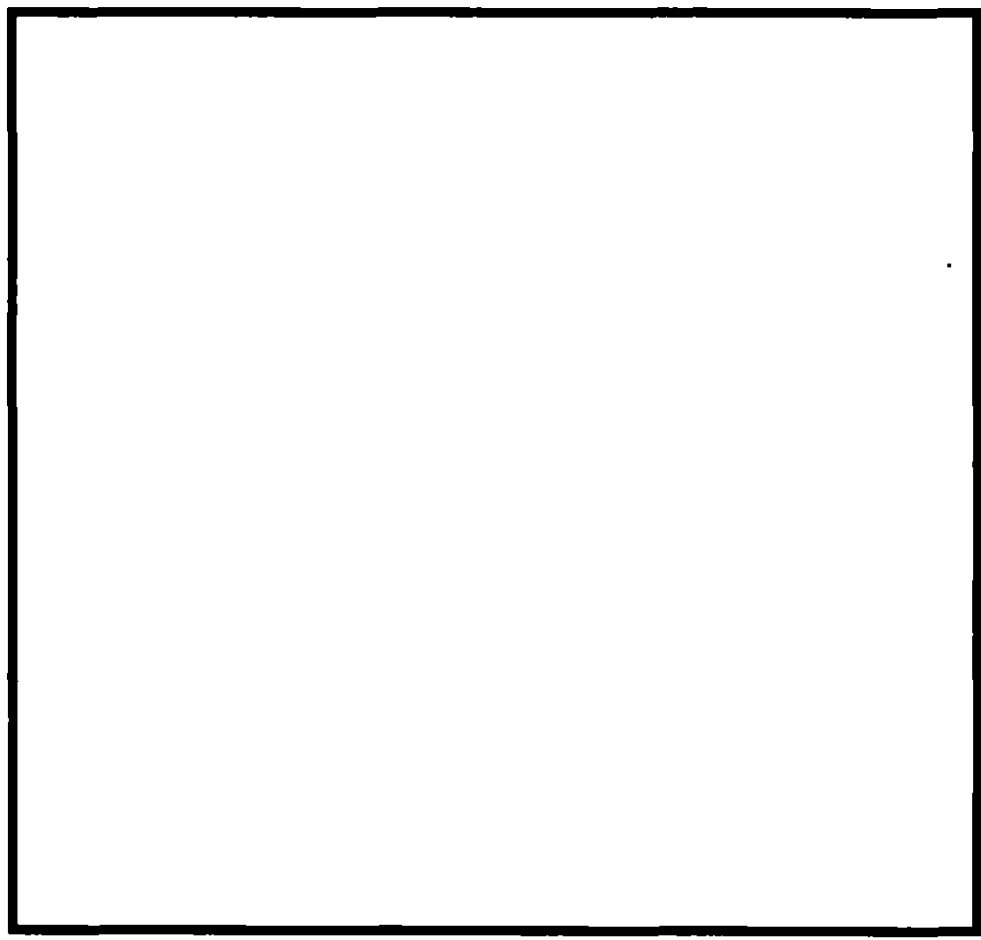
① SOLICITUD DE:			
☒ Patente de Invención.		☐ Patente de Modelo de Utilidad.	
☒ Capítulo I.		☐ Capítulo II.	
② SOLICITANTE (71)	Nombre: AiCuris GMBH & Co. KG Dirección: Friederich-Ebert-Strasse 475, 42117 Wuppertal, Alemania. Nacionalidad o Domicilio: Wuppertal, Alemania. Lugar de Constitución: Wuppertal, Alemania. Teléfono: Fax: E-mail:		IDENTIFICACION C.C. ☐ NIT ☐ C.E. ☐ Otro ☐ Cual Número
③ REPRESENTANTE O APODERADO	Nombre: MAURICIO PATIÑO BONNET Dirección: Carrera 9ª No. 74-08 – Of. 305 Teléfono: 3268600 Fax: 3268610 E-mail: mpatino@prietocarrizosa.com.co		IDENTIFICACION C.C. ☒ NIT ☐ C.E. ☐ Otro ☒ Número <u>2.878.023</u> TP <u>5903</u>
④ INVENTOR(ES) (72)	Nombre: Franz Von Nussbaum Dirección: Friedenstrasse 75, 40219 Düsseldorf, Alemania Nacionalidad o Domicilio: Alemana		
⑤ PCT (86) Solicitud Internacional No. PCT/EP2005/011363 Fecha 22/10/2005 Publicación Internacional No. WO 2006/048139 A1 Fecha 11/05/2006			
⑥ Título (54) NONADEPSIPÉPTIDOS ACILADOS COMO DERIVADOS DE LISOBACTINA			
⑦ Clasificación Internacional (51) C 07K 11/02; C07K 5/06; A61P 31/04			
⑧ PRIORIDAD: SI X NO ☐	(33) Pais de Origen Alemania	(32) Fecha 5/11/2004	(31) Numero de Solicitud DE 10 2004 053 407.1
⑨ Comprobante de pago No. _____ Fecha _____			
Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario , ver reverso de esta página.			

2

ANEXOS

- X Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud
- ☐ Documento que acredite 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
- X Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- X 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 12x12.
- ☐ 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.
- X De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.
- X Otros

(11) FIGURA CARACTERISTICA



(12) Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: MAURICIO PATIÑO BONNET

FIRMA: Mauricio Patiño
Número 11.342.699 TP 73.583

INVENTORES
(continuación formulario)

Nina Brunner
Dahlhauser Strasse 103
45279 Essen, Alemania
Nacionalidad Alemana



Rainer Endermann
In den Birken 152a
42113 Wuppertal, Alemania
Nacionalidad Alemana



Chantal Fürstner
Arnoldstrasse 33
45478 Mülheim an der Ruhr, Alemania
Nacionalidad Suiza



Elke Hartmann
Holunderweg 97
42111 Wuppertal, Alemania
Nacionalidad Alemana



Holger Paulsen
Warrington Platz 13
40721 Hilden, Alemania
Nacionalidad Alemana



Jacques Ragot
Steinweg 28b
40625 Düsseldorf, Alemania
Nacionalidad Francesa



Guido Schiffer
Neuer Triebel 91
42111 Wuppertal, Alemania
Nacionalidad Alemana



Joachim Schuhmacher
Lipkenskothen 31
42113 Wuppertal, Alemania
Nacionalidad Alemana



Niels Svenstrup
In der Heide 81
42553 Velbert, Alemania
Nacionalidad Danesa
Joachim Telser
Wolfskaul 3
51061 Köln, Alemania
Nacionalidad Alemana



Sonja Anlauf
Funckstrasse 63
42115 Wuppertal, Alemania
Nacionalidad Alemana

Michael-Alexander Brüning
Am Springbruch 7
13469 Berlin, Alemania
Nacionalidad Alemana

4

Otros Anexos que se acompañan a la solicitud

Formulario correspondiente a la solicitud Internacional, con su traducción correspondiente al castellano.

Copia Formulario PCT/IB/304 correspondiente a la notificación relativa al envío o transmisión del documento de prioridad con su traducción al castellano.

Copia de la publicación Internacional, con su traducción al castellano.

Copia Formulario PCT/IB/306 correspondiente a la notificación de registro de una modificación en cuanto al nombre y domicilio del solicitante de BAYER HEALTHCARE AG a ACURIS GMBH & CO. KG.

Copia Formulario PCT/IB/301 correspondiente a la notificación de recibo de copia registrada.

Copia Formulario PCT/IB/306 correspondiente a la notificación de registro de una modificación en cuanto al nuevo domicilio del solicitante AICURIS GMBH & CO.KG.

Copia Formulario PCT/ISA/210 correspondiente al informe de búsqueda Internacional, con su traducción al castellano.

Copia Formulario PCT/ISA/220 correspondiente a la notificación de envío del informe de búsqueda internacional y del informe escrito del organismo de búsqueda internacional o de la declaración, con su traducción al castellano.

Copia Formulario PCT/ISA/237 correspondiente a informe escrito del organismo de búsqueda internacional, con su traducción al castellano.

Cargo: Moeller & Co 6
Solicitudes de Patente
REF: 60914

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 07-044380-00000-0000

Fecha: 2007-05-04 15:38.47 Dep. 2020 NUECREACIONE
Tra. 11 PATENTEIYII Ene: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 193

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 07 - 34,910
FECHA : MAYO 4 DE 2007

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
TO GUTIERREZ CARRIZO	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	66415051	04/05/2007	482,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	482,000.00
		TOTAL :	\$ 482,000.00

SON: CUATROCIENTOS OCHENTA Y DOS MIL PESOS

RESPONSABLE : 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

BHC041327-WO
SOLICITUD PCT

Original (para PRESENTACIÓN)

0	A completar por la oficina de presentación	PCT/EP 2005/011363 (sellado)
0-1	Referencia Internacional	
0-2	Fecha de presentación Internacional	(22.10.2005) 22 OCT 2005 (sellados)
0-3	Nombre del Organismo de presentación y "Solicitud Internacional PCT"	OFICINA DE PATENTES EUROPEA (sellado) SOLICITUD INTERNACIONAL PCT (sellado)
0-4	Formulario PCT/RO/101 Solicitud PCT	PCT-SAFE (EASY mode)
0-4-1	Elaborada utilizando	Versión 3.50 (actualización 0002.170)
0-5	Requerimiento	
	El firmante solicita que la presente solicitud internacional sea considerada según el Tratado de Cooperación en Materia de Patentes	
0-6	Organismo de Presentación (Seleccionado por el solicitante)	Oficina de Patentes Europea (EPO) (RO/EP)
0-7	Referencia del solicitante o del agente	BHC041327-WO
I	Título de la invención	NONADEPSIPEPTIDOS II ACILADOS
II	Solicitante	
II-1	Esta persona es	Solo solicitante
II-2	Solicitante para	Todos los estados designados excepto US
II-4	Nombre	BAYER HEALTHCARE AG
II-5	Dirección	51368 Leverkusen Alemania
II-6	Nacionalidad (país)	DE
II-7	Residencia (país)	DE
II-8	Teléfono N°	0214 30 71186
II-9	Telefax N°	0214 30 53482
III-1	Solicitante y/o inventor	
III-1-1	Esta persona es	Solicitante e inventor
III-1-2	Solicitante para	Solo US
III-1-4	Nombre (APELLIDO, Nombre)	VON NUSSBAUM, Franz
III-1-5	Dirección	Friedenstr. 75 40129 Düsseldorf Alemania
III-1-6	Nacionalidad (país)	DE
III-1-7	Residencia (país)	DE
III-2	Solicitante y/o inventor	
III-2-1	Esta persona es	Solicitante e inventor
III-2-2	Solicitante para	Solo US
III-2-4	Nombre (APELLIDO, Nombre)	BRUNNER, Nina
III-2-5	Dirección	Dahlhaus Str. 13 45279 Essen Alemania
III-2-6	Nacionalidad (país)	DE
III-2-7	Residencia (país)	DE
III-3	Solicitante y/o inventor	
III-3-1	Esta persona es	Solicitante e inventor
III-3-2	Solicitante para	Solo US
III-3-4	Nombre (APELLIDO, Nombre)	ENDERMANN, Rainer
III-3-5	Dirección	In den Birken 152 A 42113 Wuppertal Alemania
III-3-6	Nacionalidad (país)	DE
III-3-7	Residencia (país)	DE

BHC041327-WO
SOLICITUD PCT

Original (para PRESENTACIÓN)

III-4	Solicitante y/o inventor	
III-4-1	Esta persona es	Solicitante e inventor
III-4-2	Solicitante para	Solo US
III-4-4	Nombre (APELLIDO, Nombre)	FÜRSTNER, Chantal
III-4-5	Dirección	Arnoldsstr. 33 45478 Mülheim/Ruhr Alemania
III-4-6	Nacionalidad (país)	CH
III-4-7	Residencia (país)	DE
III-5	Solicitante y/o inventor	
III-5-1	Esta persona es	Solicitante e inventor
III-5-2	Solicitante para	Solo US
III-5-4	Nombre (APELLIDO, Nombre)	HARTMANN, Elke
III-5-5	Dirección	Holunderweg 97 42111 Wuppertal Alemania
III-5-6	Nacionalidad (país)	DE
III-5-7	Residencia (país)	DE
III-6	Solicitante y/o inventor	
III-6-1	Esta persona es	Solicitante e inventor
III-6-2	Solicitante para	Solo US
III-6-4	Nombre (APELLIDO, Nombre)	PAULSEN, Holger
III-6-5	Dirección	Warrington Platz 13 40721 Hilden Alemania
III-6-6	Nacionalidad (país)	DE
III-6-7	Residencia (país)	DE
III-7	Solicitante y/o inventor	
III-7-1	Esta persona es	Solicitante e inventor
III-7-2	Solicitante para	Solo US
III-7-4	Nombre (APELLIDO, Nombre)	RAGOT, Jacques
III-7-5	Dirección	Steinweg 268 40626 Düsseldorf Alemania
III-7-6	Nacionalidad (país)	FR
III-7-7	Residencia (país)	DE
III-8	Solicitante y/o inventor	
III-8-1	Esta persona es	Solicitante e inventor
III-8-2	Solicitante para	Solo US
III-8-4	Nombre (APELLIDO, Nombre)	SCHIFFER, Guido
III-8-5	Dirección	Neuer Thiebel 81 42111 Wuppertal Alemania
III-8-6	Nacionalidad (país)	DE
III-8-7	Residencia (país)	DE
III-9	Solicitante y/o inventor	
III-9-1	Esta persona es	Solicitante e inventor
III-9-2	Solicitante para	Solo US
III-9-4	Nombre (APELLIDO, Nombre)	SCHUMACHER, Joachim
III-9-5	Dirección	Am Ringelbusch 12b 42113 Wuppertal Alemania
III-9-6	Nacionalidad (país)	DE
III-9-7	Residencia (país)	DE
III-10	Solicitante y/o inventor	
III-10-1	Esta persona es	Solicitante e inventor
III-10-2	Solicitante para	Solo US
III-10-4	Nombre (APELLIDO, Nombre)	SVENSTRUP, Niels
III-10-5	Dirección	In der Heide 81 42553 Velbert Alemania
III-10-6	Nacionalidad (país)	DK
III-10-7	Residencia (país)	DE

9^a

BHC041327-WO
SOLICITUD PCT

Original (para PRESENTACIÓN)

III-11	Solicitante y/o Inventor	
III-11-1	Esta persona es	<i>Solicitante e inventor</i>
III-11-2	Solicitante para	<i>Solo US</i>
III-11-4	Nombre (APELLIDO, Nombre)	<i>TELSER, Joachim</i>
III-11-5	Dirección	<i>Wolfskeul 3 51061 Colonia Alemania</i>
III-11-6	Nacionalidad (país)	<i>DE</i>
III-11-7	Residencia (país)	<i>DE</i>
III-12	Solicitante y/o Inventor	
III-12-1	Esta persona es	<i>Solicitante e inventor</i>
III-12-2	Solicitante para	<i>Solo US</i>
III-12-4	Nombre (APELLIDO, Nombre)	<i>ANLAUF, Sonia</i>
III-12-5	Dirección	<i>Finckart. 63 42115 Wuppertal Alemania</i>
III-12-6	Nacionalidad (país)	<i>DE</i>
III-12-7	Residencia (país)	<i>DE</i>
III-13	Solicitante y/o Inventor	
III-13-1	Esta persona es	<i>Solicitante e inventor</i>
III-13-2	Solicitante para	<i>Solo US</i>
III-13-4	Nombre (APELLIDO, Nombre)	<i>BRÜNNING Michael-Alexander</i>
III-13-5	Dirección	<i>Vohwinkel Feld 69 42327 Wuppertal Alemania</i>
III-13-6	Nacionalidad (país)	<i>DE</i>
III-13-7	Residencia (país)	<i>DE</i>
IV-1	Agente, representante común o dirección postal separada	
	La persona indicada abajo es/ha sido designada para tramitar ante los organismos competentes en el siguiente carácter	<i>Representante común</i>
IV-1-1	Nombre	<i>BAYER HEALTHCARE AG</i>
IV-1-2	Dirección	<i>Law and Patents Patents and Licensing 51368 Leverkusen Alemania</i>
IV-1-3	Teléfono Nº	<i>0214 30 71186</i>
IV-1-4	Telefax Nº	<i>0240 30 53482</i>
V	DESIGNACIONES	
V-1	La presentación de esta solicitud constituye, según la regla 4.9(a), la designación de todos los países signatarios vinculados por el PCT a la fecha de la presentación internacional, para el otorgamiento de todo tipo de protección disponible y, donde corresponde, para el otorgamiento de las patentes nacional y regional.	
VI-1	Reivindicación de prioridad de una solicitud nacional anterior	
VI-1-1	Fecha de presentación	<i>05 de noviembre de 2004 (05.11.2004)</i>
VI-1-2	Número	<i>10 2004 053407.1</i>
VI-1-3	Estado	<i>DE</i>
VII-1	Organismo de Búsqueda Internacional seleccionado	<i>Oficina de Patentes Europeas (EPO) (ISA/EP)</i>

10¹⁰

BHC041327-WO
SOLICITUD PCT

Original (para PRESENTACIÓN)

VIII	Declaraciones	Cantidad de declaraciones	
VIII-1	Declaración acerca de la identidad del inventor	-	
VIII-2	Declaración acerca del derecho del solicitante de solicitar y obtener una patente a la fecha de la solicitud internacional	-	
VIII-3	Declaración acerca del derecho del solicitante de reivindicar la prioridad de una solicitud anterior a la fecha de la solicitud internacional	-	
VIII-4	Declaración de inventor (solo ante la designación de los Estados Unidos de América)	-	
VIII-5	Declaración acerca de revelaciones inofensivas o de excepciones por carencia de novedad	-	
IX	Listado de verificación	Cantidad de hojas	Dato(s) electrónico(s) adjunto(s)
IX-1	Solicitud (incluida la hoja de declaraciones)	7	✓
IX-2	Descripción	59	-
IX-3	Reivindicaciones	4	-
IX-4	Resumen	1	✓
IX-5	Ilustración(iones)	0	-
IX-7	TOTAL	71	
	Antecedentes adjuntos	Antecedente(s) en papel adjuntos	Dato(s) electrónico(s) adjunto(s)
IX-8	Hoja para el cálculo de tasas	✓	-
IX-9	Original de un poder separado	✓	-
IX-13	Documento(s) de prioridad	Documento(s) VI-I	-
IX-17	Soporte de datos PCT-SAFE	-	✓
IX-19	Número de la figura de las ilustraciones a publicar con el resumen		
IX-20	Idioma de presentación de la solicitud internacional	Alemán	
X-1	Firma del solicitante, del agente o del representante común	(Firmado)	(Firmado)
X-1-1	Nombre	p.p. Dr. Wandke-Ergüden	p.a. Dr. Burkert
X-1-2	Nombre del firmante	BAYER HEALTHCARE AG	
X-1-3	Carácter		

PARA USO EXCLUSIVO DE LA OFICINA RECEPTORA

10-1	Fecha de ingreso real de esta solicitud internacional	(22.10.2005) 22 OCT 2005 (sellados)
10-2	Ilustración(iones)	
10-2-1	Ingresadas	
10-2-2	No ingresadas	
10-3	Fecha de ingreso modificada como consecuencia de documentos o Ilustración(iones) para completar esta solicitud internacional Ingresados posteriormente pero en término	
10-4	Fecha de ingreso en término de la corrección según el artículo PCT 11(2)	
10-5	Organismo de búsqueda internacional	ISA/EP
10-6	Envío del ejemplar de la búsqueda postergado hasta el pago de la tasa de búsqueda	

PARA USO EXCLUSIVO DE LA OFICINA INTERNACIONAL

11-1	Fecha de ingreso del ejemplar del legajo en la Oficina Internacional	
------	--	--

BHC041327-WO

1/7

PCT-ANTRAG

Original (für EINREICHUNG)

0	Vom Anmeldeamt auszufüllen	
0-1	Internationales Aktenzeichen	PCT/EP 2005 / 0 1 1 3 6 3
0-2	Internationales Anmeldedatum	22 OCT 2005 (22 -10- 2005)
0-3	Name des Anmeldeamts und "PCT International Application"	EUROPEAN PATENT OFFICE PCT INTERNATIONAL APPLICATION
0-4	Formular PCT/RO/101 PCT-Antrag	
0-4-1	erstellt mit	PCT-SAFE [EASY mode] Version 3.50 (Build 0002.170)
0-5	Antragsersuchen Der Unterzeichnete beantragt, daß die vorliegende internationale Anmeldung nach dem Vertrag über die Internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens behandelt wird	
0-6	(Vom Anmelder gewähltes) Anmeldeamt	Europäisches Patentamt (EPA) (RO/EP)
0-7	Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts	BHC041327-WO
I	Bezeichnung der Erfindung	ACYLIERTE NONADEPSIPEPTIDE II
II	Anmelder	
II-1	Diese Person ist	nur Anmelder
II-2	Anmelder für	Alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US
II-4	Name	BAYER HEALTHCARE AG
II-5	Anschrift	51368 Leverkusen Deutschland
II-6	Staatsangehörigkeit (Staat)	DE
II-7	Sitz/Wohnsitz (Staat)	DE
II-8	Telefonnr.	0214 30 71166
II-9	Telefaxnr.	0214 30 53482
III-1	Anmelder und/oder Erfinder	
III-1-1	Diese Person ist	Anmelder und Erfinder
III-1-2	Anmelder für	Nur US
III-1-4	Name (FAMILIENNAME, Vorname)	VON NUSSBAUM, Franz
III-1-5	Anschrift	Friedenstr. 75 40219 Düsseldorf Deutschland
III-1-6	Staatsangehörigkeit (Staat)	DE
III-1-7	Sitz/Wohnsitz (Staat)	DE

12

BHC041327-WO

2/7

PCT-ANTRAG

Original (für EINREICHUNG)

III-2	Anmelder und/oder Erfinder	
III-2-1	Diese Person ist	Anmelder und Erfinder
III-2-2	Anmelder für	Nur US
III-2-4	Name (FAMILIENNAME, Vorname)	BRUNNER, Nina
III-2-5	Anschrift	Dahlhauser Str. 103 45279 Essen Deutschland
III-2-6	Staatsangehörigkeit (Staat)	DE
III-2-7	Sitz/Wohnsitz (Staat)	DE
III-3	Anmelder und/oder Erfinder	
III-3-1	Diese Person ist	Anmelder und Erfinder
III-3-2	Anmelder für	Nur US
III-3-4	Name (FAMILIENNAME, Vorname)	ENDERMANN, Rainer
III-3-5	Anschrift	In den Birken 152 A 42113 Wuppertal Deutschland
III-3-6	Staatsangehörigkeit (Staat)	DE
III-3-7	Sitz/Wohnsitz (Staat)	DE
III-4	Anmelder und/oder Erfinder	
III-4-1	Diese Person ist	Anmelder und Erfinder
III-4-2	Anmelder für	Nur US
III-4-4	Name (FAMILIENNAME, Vorname)	FÜRSTNER, Chantal
III-4-5	Anschrift	Arnoldstr. 33 45478 Mülheim/Ruhr Deutschland
III-4-6	Staatsangehörigkeit (Staat)	CH
III-4-7	Sitz/Wohnsitz (Staat)	DE
III-5	Anmelder und/oder Erfinder	
III-5-1	Diese Person ist	Anmelder und Erfinder
III-5-2	Anmelder für	Nur US
III-5-4	Name (FAMILIENNAME, Vorname)	HARTMANN, Elke
III-5-5	Anschrift	Holunderweg 97 42111 Wuppertal Deutschland
III-5-6	Staatsangehörigkeit (Staat)	DE
III-5-7	Sitz/Wohnsitz (Staat)	DE

BHC041327-WO

3/7

PCT-ANTRAG

Original (für EINREICHUNG)

III-6	Anmelder und/oder Erfinder	
III-6-1	Diese Person ist	Anmelder und Erfinder
III-6-2	Anmelder für	Nur US
III-6-4	Name (FAMILIENNAME, Vorname)	PAULSEN, Holger
III-6-5	Anschrift	Warrington Platz 13 40721 Hilden Deutschland
III-6-6	Staatsangehörigkeit (Staat)	DE
III-6-7	Sitz/Wohnsitz (Staat)	DE
III-7	Anmelder und/oder Erfinder	
III-7-1	Diese Person ist	Anmelder und Erfinder
III-7-2	Anmelder für	Nur US
III-7-4	Name (FAMILIENNAME, Vorname)	RAGOT, Jacques
III-7-5	Anschrift	Steinweg 268 40625 Düsseldorf Deutschland
III-7-6	Staatsangehörigkeit (Staat)	FR
III-7-7	Sitz/Wohnsitz (Staat)	DE
III-8	Anmelder und/oder Erfinder	
III-8-1	Diese Person ist	Anmelder und Erfinder
III-8-2	Anmelder für	Nur US
III-8-4	Name (FAMILIENNAME, Vorname)	SCHIFFER, Guido
III-8-5	Anschrift	Neuer Triebel 91 42111 Wuppertal Deutschland
III-8-6	Staatsangehörigkeit (Staat)	DE
III-8-7	Sitz/Wohnsitz (Staat)	DE
III-9	Anmelder und/oder Erfinder	
III-9-1	Diese Person ist	Anmelder und Erfinder
III-9-2	Anmelder für	Nur US
III-9-4	Name (FAMILIENNAME, Vorname)	SCHUHMACHER, Joachim
III-9-5	Anschrift	Am Ringelbusch 12b 42113 Wuppertal Deutschland
III-9-6	Staatsangehörigkeit (Staat)	DE
III-9-7	Sitz/Wohnsitz (Staat)	DE

BHC041327-WO

4/7

PCT-ANTRAG

Original (für EINREICHUNG)

III-10	Anmelder und/oder Erfinder	
III-10-1	Diese Person ist	Anmelder und Erfinder
III-10-2	Anmelder für	Nur US
III-10-4	Name (FAMILIENNAME, Vorname)	SVENSTRUP, Niels
III-10-5	Anschrift	In der Heide 81 42553 Velbert Deutschland
III-10-6	Staatsangehörigkeit (Staat)	DK
III-10-7	Sitz/Wohnsitz (Staat)	DE
III-11	Anmelder und/oder Erfinder	
III-11-1	Diese Person ist	Anmelder und Erfinder
III-11-2	Anmelder für	Nur US
III-11-4	Name (FAMILIENNAME, Vorname)	TELSER, Joachim
III-11-5	Anschrift	Wolfskaul 3 51061 Köln Deutschland
III-11-6	Staatsangehörigkeit (Staat)	DE
III-11-7	Sitz/Wohnsitz (Staat)	DE
III-12	Anmelder und/oder Erfinder	
III-12-1	Diese Person ist	Anmelder und Erfinder
III-12-2	Anmelder für	Nur US
III-12-4	Name (FAMILIENNAME, Vorname)	ANLAUF, Sonja
III-12-5	Anschrift	Funckstr. 63 42115 Wuppertal Deutschland
III-12-6	Staatsangehörigkeit (Staat)	DE
III-12-7	Sitz/Wohnsitz (Staat)	DE
III-13	Anmelder und/oder Erfinder	
III-13-1	Diese Person ist	Anmelder und Erfinder
III-13-2	Anmelder für	Nur US
III-13-4	Name (FAMILIENNAME, Vorname)	BRÜNING, Michael-Alexander
III-13-5	Anschrift	Vohwinkeler Feld 69 42327 Wuppertal Deutschland
III-13-6	Staatsangehörigkeit (Staat)	DE
III-13-7	Sitz/Wohnsitz (Staat)	DE

BHC041327-WO

5/7

PCT-ANTRAG

Original (für EINREICHUNG)

IV-1	Anwalt oder gemeinsamer Vertreter oder besondere Zustellanschrift Die unten bezeichnete Person ist/wird hiermit bestellt, um für den (die) Anmelder vor den zuständigen internationalen Behörden zu handeln, und zwar in folgender Eigenschaft:	gemeinsamer Vertreter	
IV-1-1	Name	BAYER HEALTHCARE AG	
IV-1-2	Anschrift	Law and Patents Patents and Licensing 51368 Leverkusen Deutschland	
IV-1-3	Telefonnr.	0214 30 71166	
IV-1-4	Telefaxnr.	0214 30 53482	
V	BESTIMMUNGEN		
V-1	Die Einreichung dieses Antrags umfasst gemäß Regel 4.9 Absatz a die Bestimmung aller Vertragsstaaten, für die der PCT am internationalen Anmeldedatum verbindlich ist, und, insofern verfügbar, für jede Art von Schutzrecht und sowohl für ein regionales als auch für ein nationales Patent		
VI-1	Priorität einer früheren nationalen Anmeldung beansprucht		
VI-1-1	Anmeldedatum	05. November 2004 (05.11.2004)	
VI-1-2	Nummer	102004053407.1	
VI-1-3	Staat	DE	
VII-1	Gewählte internationale Recherchenbehörde	Europäisches Patentamt (EPA) (ISA/EP)	
VIII	Erklärungen	Anzahl der Erklärungen	
VIII-1	Erklärung hinsichtlich der Identität des Erfinders	-	
VIII-2	Erklärung hinsichtlich der Berechtigung des Anmelders, zum Zeitpunkt des internationalen Anmeldedatums, ein Patent zu beantragen und zu erhalten	-	
VIII-3	Erklärung hinsichtlich der Berechtigung des Anmelders, zum Zeitpunkt des internationalen Anmeldedatums, die Priorität einer früheren Anmeldung zu beanspruchen	-	
VIII-4	Erfindererklärung (nur im Hinblick auf die Bestimmung der Vereinigten Staaten von Amerika)	-	
VIII-5	Erklärung hinsichtlich unschädlicher Offenbarungen oder Ausnahmen von der Neuheitschädlichkeit	-	

BHC041327-WO

6/7

PCT-ANTRAG

Original (für EINREICHUNG)

IX	Kontrollliste	Anzahl der Blätter	Elektronische Datei(en) beigelegt
IX-1	Antrag (inklusive Erklärungsblätter)	7	✓
IX-2	Beschreibung	59	-
IX-3	Ansprüche	4	-
IX-4	Zusammenfassung	1	✓
IX-5	Zeichnung(en)	0	-
IX-7	INSGESAMT	71	
	Beigelegte Unterlagen	Unterlage(n) in Papierform beigelegt	Elektronische Datei(en) beigelegt
IX-8	Blatt für die Gebührenberechnung	✓	-
IX-8	Original einer gesonderten Vollmacht	✓	-
IX-13	Prioritätsbeleg(e)	Unterlage(n) VI-1	-
IX-17	PCT-SAFE Dokumentträger	-	✓
IX-19	Nr. der Abb. der Zeichn., die mit der Zusammenf. veröffentlicht werden soll		
IX-20	Sprache der int. Anmeldung	Deutsch	
X-1	Unterschrift des Anmelders, des Anwalts oder des Gemeinsamen Vertreters	 i.V. Dr. Handke-Englender ppa. Dr. Burkert	
X-1-1	Name (FAMILIENNAME, Vorname)	BAYER HEALTHCARE AG	
X-1-2	Name der unterzeichnenden Person		
X-1-3	Eigenschaft		

VOM ANMELDEAMT AUSZUFÜLLEN

10-1	Datum des tatsächlichen Eingangs dieser internationalen Anmeldung	(22. 10. 05)	22 OCT 2005
10-2	Zeichnung(en):		
10-2-1	Eingegangen		
10-2-2	Nicht eingegangen		
10-3	Geändertes Eingangsdatum aufgrund nachträglich, jedoch fristgerecht eingeg. Unterlage(n) oder Zeichnung(en) zur Vervollständigung dieser int. Anmeldung		
10-4	Datum des fristgerechten Eingangs der Berichtigung nach PCT Artikel 11(2)		
10-5	Internationale Recherchenbehörde	ISA/EP	
10-6	Übermittlung des Recherchenexemplars bis zur Zahlung der Recherchengebühr aufgeschoben		

17

BHC041327-WO

7/7

PCT-ANTRAG

Original (für EINREICHUNG)

VOM INTERNATIONALEN BÜRO AUSZUFÜLLEN

11-1	Datum des Eingangs des Aktensexemplars beim Internationalen Büro	
------	--	--

19

TRATADO DE COOPERACIÓN INTERNACIONAL
EN MATERIA DE PATENTES

PCT

Notificación de Recepción de
Copia Registrada

(Regla PCT 24.2(a))

De la OFICINA INTERNACIONAL

A: BAYER HEALTHCARE AG
Law and Patents
Patents and Licensing
51368 Leverkusen
Alemania

Fecha de envío (día/mes/año): 17 de noviembre de 2005 (17.11.2005)	NOTIFICACIÓN IMPORTANTE
Referencia del solicitante o del agente: BHC041327-WO	Solicitud Internacional N°: PCT/EP 2005/011363

Se notifica al solicitante por este medio que la Oficina Internacional ha recibido la copia registrada de la Solicitud Internacional, como se detalla abajo.

Nombre(s) del(los) solicitante(s) y países para los cuales son solicitudes
BAYER HEALTHCARE AG (para todos los países designados excepto US)
VON NUSSBAUM, Franz et al. (para US)

Fecha de recepción 22 de octubre de 2005 (22.10.2005)
Fecha de prioridad reivindicada 05 de noviembre de 2004 (05.11.2004)

Fecha de recepción de la copia registrada por La Oficina Internacional 11 de noviembre de 2005 (11.11.2005)

Lista de Oficinas designadas:

AP: BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW
EA: AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM
EP: AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR
OA: BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GO, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG
Nacionales: AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

La Oficina Internacional de WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Ginebra 20, Suiza	Funcionario autorizado: Patrick VILLECHAISE (Fax 338 8970)
Fax/mil N°: (41-22) 338.89.70 Formulario PCT/IB/301 (enero 2004)	Teléfono N°: (41 22) 338 8395

PATENT COOPERATION TREATY

J. Hennrich

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION OF RECEIPT OF
RECORD COPY

(PCT Rule 24.2(a))

To:

BAYER HEALTHCARE AG
Law and Patents
Patents and Licensing
51368 Leverkusen
Germany

23. Nov. 2005
EINGANG

Date of mailing (day/month/year) 17 November 2005 (17.11.2005)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference BHC041327-WO	International application No. PCT/EP2005/011363

The applicant is hereby notified that the International Bureau has received the record copy of the International application as detailed below.

Name(s) of the applicant(s) and State(s) for which they are applicants:

BAYER HEALTHCARE AG (for all designated States except US)
VON NUSSBAUM, Franz et al (for US)

International filing date : 22 October 2005 (22.10.2005)
Priority date(s) claimed : 05 November 2004 (05.11.2004)
Date of receipt of the record copy by the International Bureau : 11 November 2005 (11.11.2005)
List of designated Offices :

AP : BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW
EA : AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM
EP : AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR
OA : BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG
National : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No. (41-22) 338.89.70	Authorized officer: Patrick VILLECHAISE (Fax 338 8970) Telephone No. (41-22) 338 8395
--	---

20

PCT/EP 2005/004482

TRATADO DE COOPERACIÓN INTERNACIONAL
EN MATERIA DE PATENTES

De la OFICINA INTERNACIONAL

PCT Notificación concerniente al envío o transmisión del Documento de prioridad (Instrucciones Administrativas PCT, sección 411)		A: BAYER HEALTHCARE AG <i>Law and Patents Patents and Licensing 51368 Leverkusen Alemania</i>									
Fecha de envío (día/mes/año): 03 de marzo de 2006 (03.03.2006)											
Referencia del solicitante o del agente: <i>no disponible</i> BHC041327-WO		NOTIFICACIÓN IMPORTANTE									
Solicitud Internacional Nº: PCT/EP 2005/011363		Fecha de presentación (día/mes/año): 22 de octubre de 2005 (22.10.2005)									
Fecha de publicación Internacional (día/mes/año):		Fecha de prioridad (día/mes/año): 05 de noviembre de 2004 (05.11.2004)									
Solicitante: BAYES HEALTHCARE AG et al.											
1. Por medio de este formulario, que reemplaza cualquier notificación concerniente a envío o transmisión de documentos de prioridad realizada previamente, se notifica al solicitante de la fecha de recepción por la Oficina Internacional del(los) documento(s) que se refieren a la(s) solicitud(es) anterior(es) cuya prioridad es reclamada. En tanto no aparezca un asterisco próximo a la fecha de recepción o las letras "NR" en la columna derecha, el documento de prioridad concerniente ha sido enviado o transmitido al Organismo Internacional, en cumplimiento de la PCT 17.1(a) o (b). 2. (si corresponde) Las letras "NR" que aparecen en la columna derecha denotan un documento de prioridad que, a la fecha de envío de este formulario, aún no ha sido recibido por la Oficina Internacional según la regla 17.1 (a) o (b). Cuando, según la regla 17.1(a), el documento de prioridad debe ser enviado por el solicitante a la Oficina receptora o al Organismo Internacional pero el solicitante no realizó el envío del documento de prioridad en el plazo correspondiente a tal regla, el solicitante debe dirigir su atención a la regla 17.1(c), la que establece que ninguna Oficina designada no debe hacer caso omiso de la reivindicación de prioridad concerniente antes de dar al solicitante una oportunidad, antes de entrar en la fase nacional, de suministrar el documento de prioridad dentro de un plazo razonable con las circunstancias. 3. (si corresponde) Un asterisco que aparece próximo a la fecha de recepción, en la columna de la derecha, denota un documento de prioridad enviado o transmitido a la Oficina Internacional que no cumple con la regla 17.1(a) o (b) (el documento de prioridad fue recibido después del plazo prescrito en la regla 17.1(a) o el requerimiento de preparar y transmitir el documento de prioridad fue suministrado a la Oficina receptora luego del plazo aplicable según la regla 17.1(b). Sin embargo, en tanto el documento de prioridad no es suministrado en concordancia con la regla 17.1(a) o (b), el Organismo Internacional no transmitirá un copia del documento a las oficinas designadas, para su consideración. En caso de que la Oficina designada no acepte tal copia como documento de prioridad, la regla 17.1(c), establece que un organismo no designado debe pasar por alto la reivindicación de prioridad antes de dar al solicitante una oportunidad, al entrar en la fase nacional, de suministrar el documento de prioridad en un plazo razonable con las circunstancias. <table><tr><td><u>Fecha de Prioridad</u></td><td><u>Solicitud de Prioridad</u></td><td><u>País u Oficina Regional u Oficina receptora del PCT</u></td><td><u>Fecha de Recepción del Documento de Prioridad</u></td></tr><tr><td>05 de noviembre de 2004 (05.11.2004)</td><td>10 2004 053407.1</td><td>DE</td><td>22 de febrero de 2006 (22.02.2006)</td></tr></table>				<u>Fecha de Prioridad</u>	<u>Solicitud de Prioridad</u>	<u>País u Oficina Regional u Oficina receptora del PCT</u>	<u>Fecha de Recepción del Documento de Prioridad</u>	05 de noviembre de 2004 (05.11.2004)	10 2004 053407.1	DE	22 de febrero de 2006 (22.02.2006)
<u>Fecha de Prioridad</u>	<u>Solicitud de Prioridad</u>	<u>País u Oficina Regional u Oficina receptora del PCT</u>	<u>Fecha de Recepción del Documento de Prioridad</u>								
05 de noviembre de 2004 (05.11.2004)	10 2004 053407.1	DE	22 de febrero de 2006 (22.02.2006)								
La Oficina Internacional de WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Ginebra 20, Suiza Facsimil Nº: (41-22) 338 82.70 Formulario PCT/IB/304 (octubre 2003)		Funcionario autorizado: Carlos Roy – Gijbertus Beijer Facsimil Nº +41-22 740 14 35 Teléfono Nº: +41-22 338 95 61									

CRP/W4F2

AUSI

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION CONCERNING
SUBMISSION OR TRANSMITTAL
OF PRIORITY DOCUMENT

(PCT Administrative Instructions, Section 411)

Date of mailing (day month year) 03 March 2006 (03.03.2006)	Bayern AG Bayer Business Services Law and Patents	To: Dr. Konrad Eijcken BAYER HEALTHCARE AG Law and Patents Patents and Licensing 51388 Leverkusen ALLEMAGNE
Applicant's or agent's file reference BHC041327-WO	21. März 2006	IMPORTANT NOTIFICATION
International application No. PCT/EP2005/011363	EINGANG	International filing date (day month year) 22 October 2005 (22.10.2005)
International publication date (day month year) Not yet published		Priority date (day month year) 05 November 2004 (05.11.2004)
Applicant BAYER HEALTHCARE AG et al		

1. By means of this Form, which replaces any previously issued notification concerning submission or transmittal of priority documents, the applicant is hereby notified of the date of receipt by the International Bureau of the priority document(s) relating to all earlier application(s) whose priority is claimed. Unless otherwise indicated by the letters "NR" in the right-hand column or by an asterisk appearing next to a date of receipt, the priority document concerned was submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b).
2. (If applicable) The letters "NR" appearing in the right-hand column denote a priority document which, on the date of mailing of this Form, had not yet been received by the International Bureau under Rule 17.1(a) or (b). Where, under Rule 17.1(a), the priority document must be submitted by the applicant to the receiving Office or the International Bureau, but the applicant fails to submit the priority document within the applicable time limit under that Rule, the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.
3. (If applicable) An asterisk (*) appearing next to a date of receipt, in the right-hand column, denotes a priority document submitted or transmitted to the International Bureau but not in compliance with Rule 17.1(a) or (b) (the priority document was received after the time limit prescribed in Rule 17.1(a) or the request to prepare and transmit the priority document was submitted to the receiving Office after the applicable time limit under Rule 17.1(b)). Even though the priority document was not furnished in compliance with Rule 17.1(a) or (b), the International Bureau will nevertheless transmit a copy of the document to the designated Offices for their consideration. In case such a copy is not accepted by the designated Office as the priority document, Rule 17.1(c) provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

Priority date	Priority application No.	Country or regional Office or PCT receiving Office	Date of receipt of priority document
05 November 2004 (05.11.2004)	10 2004 053 407.1	DE	22 February 2006 (22.02.2006)

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No. +41 22 338 82 70

Authorized officer

Carlos Roy - Gijbertus Beijer

Facsimile No. +41 22 740 14 35

Telephone No. +41 22 338 95 61

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
11. Mai 2006 (11.05.2006)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2006/048139 A1

(51) Internationale Patentklassifikation:
C07K 11/02 (2006.01) A61P 31/04 (2006.01)
C07K 5/04 (2006.01)

(DE) TELSER, Joachim [DE/DE]; Wolfskan 3, 51061
Köln (DE) ANLAUF, Sonja [DE/DE]; Funckstr. 63,
42115 Wuppertal (DE) BRÜNING, Michael-Alexander
[DE/DE]; Vohwinkel Feld 69, 42327 Wuppertal (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2005/011363

(74) Gemeinsamer Vertreter: BAYER HEALTHCARE AG;
Law and Patents, Patents and Licensing, 51368 Leverkusen
(DE).

(23) Internationales Anmeldedatum:
22. Oktober 2005 (22.10.2005)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AB, AG, AL,
AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,
CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES,
FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE,
KG, KM, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY,
MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO,
NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK,
SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ,
VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
10 2004 053 407.1
5. November 2004 (05.11.2004) DE

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW,
GH, GM, KB, LS, MW, MZ, NA, SD, SI, SZ, TZ, UG,
ZM, ZW), ozeanisches (AM, AZ, BY, EG, KZ, MD, RU,
TJ, TM), europäischen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK,
EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC,
NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CR, CG,
CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): BAYER HEALTHCARE AG [DE/DE]; 51368 Le-
verkusen (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): VON NUSSBAUM,
Franz [DE/DE]; Friedenstr. 75, 40219 Düsseldorf (DE).
BRUNNEL, Nina [DE/DE]; Dahlmann Str. 103, 45279
Essen (DE). ENDERMANN, Rainer [DE/DE]; In den
Birken 152 A, 42113 Wuppertal (DE). FÜRSTNER,
Chantal [CH/DE]; Arnoldstr. 33, 45478 Mülheim/Ruhr
(DE). HARTMANN, Elke [DE/DE]; Holunderweg 97,
42111 Wuppertal (DE). PAULSEN, Holger [DE/DE];
Warrington Platz 13, 40721 Hilden (DE). RAGOT,
Jacques [FR/DE]; Steinweg 268, 40625 Düsseldorf (DE).
SCHIFFER, Guido [DE/DE]; Neuer Triebel 91, 42111
Wuppertal (DE). SCHUHMACHER, Joachim [DE/DE];
Am Ringelbusch 12b, 42113 Wuppertal (DE). SVEN-
STRUP, Niels [DK/DE]; In der Heide 81, 42553 Velbert

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Ab-
kürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Co-
des and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der
PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: ACYLATED NONADEPSIPEPTIDES USED AS LYSOBACTIN DERIVATIVES

(54) Bezeichnung: ACYLIBERTH NONADEPSIPEPTIDE ALS LYSOBACTINDERIVATE

(57) Abstract: The invention relates to nonadepsipeptides (lysoactin derivatives), methods for the production thereof, and the use thereof for producing medicaments used for treating and/or preventing diseases, especially bacterial infectious diseases. Said novel lysoactin derivatives distinguish themselves from the natural substance by the N-terminal peptide chain which comprises a 3-(3-pyridyl)-alanyl radical.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft Nonadepsipeptide (Lysoactin-Derivate) und Verfahren zu ihrer Herstellung sowie ihre Verwendung zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Krankheiten, insbesondere bakteriellen Infektionskrankheiten. Die neuen Lysoactin-Derivate unterscheiden sich vom Naturstoff durch die N-terminalen Peptidkette, die einen 3-(3-pyridyl)-alanyl-Rest umfasst.

WO 2006/048139 A1

23

- 1 -

- (12) **Publicación de la solicitud internacional bajo PCT**
(19) **Organización Mundial de Propiedad Intelectual**
Oficina Internacional
(43) **Fecha de publicación internacional : 11 de mayo de 2006 (11.05.2006)**
5 (10) **Número de publicación internacional: WO 2006/048139 A1**
-
- (51) **Clasificación internacional de patentes:**
C07K 11/02 (2006.01) A61P 31/04 (2006.01)
C07K 5/06 (2006.01)
- 10 (21) **Número de solicitud internacional: PCT/EP2005/011363**
(22) **Fecha de presentación internacional: 22 de octubre de 2005 (22.10.2005)**
(25) **Idioma de la presentación: alemán**
(26) **Idioma de la publicación: alemán**
(30) **Antecedentes de prioridad:**
15 10 2004 053 407.1 de 5 noviembre de 2004 (05.11.2004) DE
(71) **Solicitante (para todos los estados designados con excepción de US):**
BAYER HEALTHCARE AG [DE/DE]; 51368 Leverkusen (DE).
(72) **Inventores; y**
(75) **Inventor/Solicitante (solamente para US): VON NUSSBAUM, Franz**
20 **[DE/DE]; Friedenstrasse 75, 40219 Düsseldorf (DE). BRUNNER, Nina**
[DE/DE]; Dahlhauser Strasse 103, 45279 Essen (DE). ENDERMANN,
Rainer [DE/DE]; In den Birken 152 A, 42113 Wuppertal (DE). FÜRSTNER,
Chantal [CH/DE]; Arnoldstrasse 33, 45478 Mülheim/Ruhr (DE).
HARTMANN, Elke [DE/DE]; Holunderweg 97, 42111 Wuppertal (DE).
25 **PAULSEN, Holger [DE/DE]; Warrington Platz 13, 40721 Hilden (DE).**
RAGOT, Jacques [FR/DE]; Steinweg 268, 40625 Düsseldorf (DE).
SCHIFFER, Guido [DE/DE]; Neuer Triebel 91, 42111 Wuppertal (DE).
SCHUHMACHER, Joachim [DE/DE]; Am Ringelbusch 12b, 42113
Wuppertal (DE). SVENSTRUP, Niels [DK/DE]; In der Heide 81, 42553
30 **Velbert (DE). TELSER, Joachim [DE/DE]; Wolfskaul 3, 51061 Köln (DE).**
ANLAUF, Sonja [DE/DE]; Funckstrasse 63, 42115 Wuppertal (DE).
BRÜNING, Michael-Alexander [DE/DE]; Vohwinkeler Feld 69, 42327
Wuppertal (DE).
- (74) **representante en común: BAYER HEALTHCARE AG; Law and Patents,**
35 **Patents and Licensing, 51368 Leverkusen (DE).**
- (81) **Estados designados (en la medida en que no se indique lo contrario, para**
cada tipo de protección nacional disponible): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ,
BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM,
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP,

24

KE, KG, KM, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

5 (84) **Estados designados** (en la medida en que no se indique lo contrario, para cada tipo de protección regional disponible): Patente ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Patente euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), Patente europea (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, 10 NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), Patente OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publicado:

- con el informe de búsqueda internacional

15

Véanse las explicaciones („Guidance Notes on Codes an Abbreviations”) al comienzo de cada edición regular de la Gaceta-PCT para la explicación del código de dos dígitos y de las otras abreviaturas

20

(54) **Título:** Nonadepsipéptidos acilados como derivados de lisobactina

(57) **Resumen**

25

La invención se refiere a nonadepsipéptidos (derivado de lisobactina) y a procedimientos para su preparación, así como a su uso para la preparación de medicamentos para el tratamiento y/o la profilaxis de enfermedades, especialmente enfermedades infecciosas bacterianas. Los nuevos derivados de lisobactina se 30 diferencian de la sustancia natural por la cadena de péptidos terminales N que abarcan un resto de 3-(piridil-3)-alanil.

35

TRATADO DE COOPERACIÓN INTERNACIONAL EN MATERIA DE PATENTES

De la OFICINA INTERNACIONAL

PCT

Notificación de registro de una modificación

(regla PCT 92bis.1 e
Instrucciones Administrativas, sección 422)

A:

BAYER HEALTHCARE AG
Law and Patents
Patents and Licensing
51368 Leverkusen
Alemania

Fecha de envío (día/mes/año):

19 de mayo de 2006 (19.05.2006)

Referencia del solicitante o del agente:

1043^{MF}-CB

Solicitud Internacional N°:

PCT/EP 2005/011383

NOTIFICACIÓN IMPORTANTE

Fecha de presentación (día/mes/año):

22 de octubre de 2005 (22.10.2005)

1. Las siguientes indicaciones aparecen en los registros concernientes a:

☒ el solicitante☐ el inventor☐ el agente☐ el representante común

Nombre y dirección:

BAYER HEALTHCARE AG
51368 Leverkusen
Alemania

País de
Nacionalidad
DE

País de
Residencia
DE

Teléfono N°:
0214 30 71166

Facsimil N°:
0214 30 53482

Telex N°:

2. La Oficina Internacional notifica por este medio al solicitante que se registró la siguiente modificación, concerniente a:

☒ la persona☐ el nombre☐ el domicilio☐ la nacionalidad☐ la residencia

Nombre y dirección:

AICURIS GMBH & CO. KG
Aprather Weg 18a
D-52117 Wuppertal
Alemania

País de
Nacionalidad
DE

País de
Residencia
DE

Teléfono N°:

Facsimil N°:

Telex N°:

3. Otras observaciones, si son necesarias:

5. Se envía una copia de esta notificación a:

☒ la Oficina receptora☒ las Oficinas concernientes designadas☐ el Organismo de Búsqueda Internacional☐ las Oficinas concernientes seleccionadas☐ el Organismo de Examen Preliminar Internacional☐ otros:

La Oficina Internacional de WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Suiza

Funcionario autorizado:

M. Sangera

Facsimil N°: (41-22) 338.89.70

Teléfono N°: (41-22) 338 8151

Formulario PCT/IB/306 (mayo 1994)

006948313

Copy for the designated Office (DO/EP)

PATENT COOPERATION TREATY

PCT/EP2005/011363

31

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE

(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

BAYER HEALTHCARE AG
Law and Patents
Patents and Licensing
51368 Leverkusen
Germany

Date of mailing (day/month/year) 19 May 2006 (19.05.2006)	
Applicant's or agent's file reference 1043A-MF/CB	IMPORTANT NOTIFICATION
International application No. PCT/EP2005/011363	International filing date (day/month/year) 22 October 2005 (22.10.2005)

1. The following indications appeared on record concerning:

☒ the applicant	☐ the inventor	☐ the agent	☐ the common representative
---	---------------------------------------	------------------------------------	--

Name and Address BAYER HEALTHCARE AG 51368 Leverkusen Germany	State of Nationality DE	State of Residence DE
	Telephone No. 0214 30 71166	
	Facsimile No. 0214 30 53482	
	Teleprinter No.	

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 AICURIS GMBH & CO.KG Aprather Weg 18a D-52117 Wuppertal Germany	State of Nationality DE	State of Residence DE
	Telephone No. 7	
	Facsimile No.	
	Teleprinter No.	

EPO-DE
28.05.2006
TEAM 14

3. Further observations, if necessary:

4. A copy of this notification has been sent to:

☒ the receiving Office	☒ the designated Offices concerned
☐ the International Searching Authority	☐ the elected Offices concerned
☐ the International Preliminary Examining Authority	☐ other:

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No. (41-22) 338.88.70	Authorized officer M. Sangare Telephone No. (41-22) 338 8151
--	--

TRATADO DE COOPERACIÓN INTERNACIONAL EN MATERIA DE PATENTES

VERSIÓN CORREGIDA (sellado)

De la OFICINA INTERNACIONAL

PCT

Notificación de registro de una modificación

(regla PCT 92bis.1 e
Instrucciones Administrativas, sección 422)

A:

WITTE, Alexander
WITTE, WELLER & PARTNER
Rotebühlstr. 121
70178 Stuttgart
Alemania

Fecha de envío (día/mes/año):

25 de agosto de 2006 (25.08.2006)

Referencia del solicitante o del agente:

1043A-MF-CB [1049P029WO (manuscrito)]

Solicitud Internacional N°:

PCT/EP 2005/011363

NOTIFICACIÓN IMPORTANTE

Fecha de presentación (día/mes/año):

22 de octubre de 2005 (22.10.2005)

1. Las siguientes indicaciones aparecen en los registros concernientes a:

☒ el solicitante ☐ el inventor ☐ el agente ☐ el representante común

Nombre y dirección:

AICURIS GMBH & CO. KG
Aprather Weg 18a
D-52117 Wuppertal
Alemania

País de
Nacionalidad
DE

País de
Residencia
DE

Teléfono N°:

Facsímil N°:

Telex N°:

2. La Oficina Internacional notifica por este medio al solicitante que se registró la siguiente modificación, concerniente a:

☐ la persona ☐ el nombre ☒ el domicilio ☐ la nacionalidad ☐ la residencia

Nombre y dirección:

AICURIS GMBH & CO. KG
Aprather Weg 18a
42117 Wuppertal
Alemania

País de
Nacionalidad
DE

País de
Residencia
DE

Teléfono N°:

Facsímil N°:

Telex N°:

3. Otras observaciones, si son necesarias:

4. Se envía una copia de esta notificación a:

☒ la Oficina receptora ☒ las Oficinas concernientes designadas
☐ el Organismo de Búsqueda Internacional ☐ las Oficinas concernientes seleccionadas
☐ el Organismo de Examen Preliminar Internacional ☐ otros:

La Oficina Internacional de WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Suiza

Funcionario autorizado:

Silvia STENDER (Fax 338 8970)

Facsímil N°: (41-22) 338.88.70

Teléfono N°: (41-22) 338 8928

Formulario PCT/IB/306 (marzo 1994)

006974197

PATENT COOPERATION TREATY

CORRECTED
PCT
VERSION
NOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE

(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

WITTE, Alexander;
WITTE, WELER & PARTNER
Rotebühlstr. 121
70178 Stuttgart
Germany

01. Sep. 2006

Frist:

Modent:

Date of mailing (day/month/year) 25 August 2006 (25.08.2006)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference 1043A-MF/CB <i>1043P02960</i>	
International application No. PCT/EP2005/011363	International filing date (day/month/year) 22 October 2005 (22.10.2005)

1. The following indications appeared on record concerning:

☒ the applicant ☐ the inventor ☐ the agent ☐ the common representative

Name and Address

AICURIS GMBH & CO.KG
Aprather Weg 18a
D-52117 Wuppertal
Germany

State of Nationality

DE

State of Residence

DE

Telephone No.

Facsimile No.

Teleprinter No.

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

AICURIS GMBH & CO.KG
Aprather Weg 18a
42117 Wuppertal
Germany

State of Nationality

DE

State of Residence

DE

Telephone No.

Facsimile No.

Teleprinter No.

3. Further observations, if necessary:

4. A copy of this notification has been sent to:

☒ the receiving Office ☒ the designated Offices concerned
☐ the International Searching Authority ☐ the elected Offices concerned
☐ the International Preliminary Examining Authority ☐ other:

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No. (41-22) 338.89.70

Authorized officer

Silvie STENDER (Fax 338 8970)

Telephone No. (41-22) 338 8928

29

**TRATADO DE COOPERACIÓN INTERNACIONAL
EN MATERIA DE PATENTES**

**PCT
Informe de Búsqueda Internacional**

(Artículo PCT 18, así como reglas PCT 43 y 44)

Referencia del solicitante o del agente BHC041327-WO	PROCEDER Ver notificación formulario PCT/ISA/220, así como, en tanto corresponda, el punto 5.abajo	
Referencia Internacional PCT/EP 2005/011363	Fecha de presentación Internacional 22.10.2005	Fecha de prioridad (la más antigua) (día/mes/año) 05.11.2004
*Solicitante BAYER HEALTHCARE AG		

Este Informe de Búsqueda Internacional fue elaborado por el Organismo de Búsqueda Internacional y, de acuerdo con el artículo 18, es enviado al solicitante. Se envía una copia a la Oficina Internacional.

Este informe de búsqueda Internacional comprende, en total, 9 hojas.

- ☒ Además se adjunta una copia de cada uno de los antecedentes del estado de la técnica mencionados en este informe

1. Fundamentos del Informe

- a. Con respecto al idioma, la búsqueda internacional fue llevada a cabo sobre la base de la solicitud internacional en el idioma en que fue llevada a cabo, en tanto no se indique otra cosa en este punto

☐ una traducción de la solicitud internacional al _____, que es el idioma de una traducción suministrada a los fines de la búsqueda Internacional (regla 23.1 (b)).

- b. ☐ Con respecto a los nucleótidos y/o aminoácidos revelados en la solicitud Internacional, ver campo N° 1

2. ☒ Determinadas reivindicaciones no eran investigables (ver campo II).

3. ☐ La invención carece de uniformidad (ver campo III).

4. Con respecto al título,

☐ se aprueba el texto presentado por el solicitante.

☒ el texto fue establecido por el organismo como sigue:

NONADEPSIPÉPTIDOS ACILADOS COMO DERIVADOS DE L-ISOBACTINA

5. Con respecto al resumen,

☐ se aprueba el texto presentado por el solicitante.

☒ el texto fue establecido por el organismo, de acuerdo con la regla 38.2 b), en la versión indicada en el campo IV. El solicitante puede presentar una posición ante el organismo durante el transcurso de un mes a partir de la fecha de envío de este Informe de Búsqueda Internacional.

6. Con respecto a las ilustraciones

- a. Con el resumen se debe publicar la siguiente figura de Las Ilustraciones: figura N° _____.

☐ sugerida por el solicitante.

☐ seleccionada por el organismo, dado que el mismo solicitante no sugiere ninguna figura.

☐ seleccionada por el organismo, dado que esta figura caracteriza mejor la invención.

- b. ☐ con el resumen no se publica ninguna de las ilustraciones

30

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Referencia Internacional

PCT/EP 2005/011363

Campo IV: Texto del resumen (continuación del ítem 5 de hoja 1)

La invención se refiere a un nonapéptido (derivado de lisobactina) y a un procedimiento para su elaboración, así como a su uso en la confección de un medicamento para el tratamiento de y/o profilaxis de enfermedades, en particular, enfermedades infecciosas bacterianas.

Los nuevos derivados de lisobactina se diferencian del material natural en la cadena peptídica N-terminal, que comprende un residuo 3-(3-piridil)-alanilo.

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Referencia Internacional

PCT/EP 2005/011363

Campo II: Observaciones acerca de porque determinadas reivindicaciones no eran investigables (continuación del ítem 2 de la hoja 1)

Este Informe de Búsqueda Internacional no fue realizado con respecto a algunas reivindicaciones, según el artículo 17(2)(a), por las siguientes razones:

1. ☒ Reivindicaciones Nº:
porque se refieren a objetos que no requieren ser investigados por este Organismo, a saber:

A pesar de que las reivindicación 11 está referida a un método de tratamiento del cuerpo humano/animal, la búsqueda se llevó a cabo y estuvo basada sobre los efectos alegados del compuesto/composición.
2. ☐ Reivindicaciones Nº:
porque se refieren a partes de la Solicitud Internacional que no cumplen con los requisitos prescritos en una extensión que no permite llevar a cabo una búsqueda internacional, específicamente:
3. ☐ Reivindicaciones Nº:
porque son reivindicaciones dependientes y no están desarrolladas en concordancia con la segunda y la tercera frase de la regla 6.4(a).

Campo III: Observaciones por falta de uniformidad de la invención (continuación del ítem 3 de la hoja 1)

Este Organismo de Búsqueda Internacional encontró invenciones múltiples en esta solicitud internacional, a saber:

1. ☐ Como todas las tasas adicionales requeridas fueron abonadas en término por el solicitante, este Informe de Búsqueda Internacional cubre todas las reivindicaciones investigables.
2. ☐ Como todas las reivindicaciones investigables pueden ser investigadas sin un esfuerzo que justifique una tasa adicional, este Organismo no solicita ningún pago o tasa adicional.
3. ☐ Como solo algunas de las tasas adicionales fueron abonadas en término por el solicitante, este Informe de Búsqueda Internacional cubre solo aquellas reivindicaciones para las cuales fueron abonadas las tasas, específicamente, las reivindicaciones Nº:
4. ☐ Ninguna de las tasas adicionales requeridas fue abonada en término por el solicitante. En consecuencia, este Informe de Búsqueda Internacional está restringido a la invención mencionada inicialmente en las reivindicaciones; la misma está cubierta por las reivindicaciones Nº:

Observaciones sobre protestas

- ☐ Las tasas adicionales fueron acompañadas por la protesta del solicitante
- ☐ Las tasas adicionales no fueron acompañadas por ninguna protesta.

32

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL		Referencia Internacional PCT/EP 2005/011363
A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD C07K11/02 C07K5/06 A61P31/04		
Según la clasificación internacional de patentes (IPK) o la clasificación internacional la IPK		
B. ÁMBITOS INVESTIGADOS Material mínimo investigado (Sistema de clasificación y símbolos de clasificación) C07K		
Publicaciones investigadas pero no pertenecientes al material mínimo investigado, en tanto pertenezcan al ámbito investigado		
Banco electrónico de datos consultado durante la búsqueda internacional (nombre del banco de datos y expresiones de búsqueda eventualmente empleadas) EPO-Internal, WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data, BEILSTEIN Data,		
C. ANTECEDENTES CONSIDERADOS RELEVANTES		
Categoría	Denominación de la publicación, así como, de ser requerido, indicación de los pasajes relevantes	Con referencia a reivindicación N°
X, P	WO 2004/099239 A (BAYER HEALTHCARE AG; VON NUSSBAUM, FRANZ; BRUNNER, NINA; ANLAUF, SONJA) 18 de noviembre de 2004 (2004.11.18) mencionado en la solicitud página 1, renglón 33 - página 2, renglón 3 reivindicaciones 1, 11; ejemplos 69, 97; tabla A	1-11
A	PALOMO C ET AL: "A concise synthesis of α -amino acid N-carboxy anhydrides of (2S,3S)-beta-substituted serines" TETRAHEDRON LETTERS, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, Bd. 42, N° 51 17 de diciembre de 2001 (2001.12.17), pp. 8955-8957 XP004323292 ISSN: 0040-4039 página 8955, columna izquierda, renglón 1 - columna derecha, renglón 2 -----//-----	1-11
☒ Otras publicaciones están listadas en la continuación del campo C		☒ Ver familia de patentes en el anexo
"A" Categorías particulares indicadas en publicaciones que definen el estado general de la técnica pero no considerada como particularmente importante "B" documento anterior pero publicado recién o después de la fecha de presentación internacional "L" publicación adecuada para hacer aparecer como dudosa una reivindicación de prioridad, o mediante la cual debe ser considerada la fecha de divulgación de otra publicación mencionada en el informe de búsqueda o que es indicada por otra razón particular (como realizada) "O" publicación que se refiere a una revelación oral, a una utilización, a una exposición o a otras disposiciones "P" publicación realizada antes de la fecha de presentación internacional pero luego de la fecha de prioridad reivindicada	"T" publicaciones posteriores a las difundidas en la fecha de presentación internacional o de la fecha de prioridad y que no colisionan con la solicitud, sino que solo están indicadas para mayor entendimiento del principio fundamental de la invención o de la teoría sobre la cual se basa "X" publicación de particular importancia: la invención reivindicada no puede ser considerada, solo como consecuencia de esta publicación, como novedosa o apoyarse en una actividad inventiva "Y" publicación de particular importancia: la invención reivindicada no puede ser considerada como apoyada en una actividad inventiva cuando puede ser relacionada con una o varias otras publicaciones de esta categoría y tal relación es notoria para un especialista "Z" publicación que es miembro de la misma familia	
Fecha de finalización de la búsqueda internacional 03 de enero de 2006		Fecha de envío del Informe de Búsqueda Internacional 16.01.2006
Nombre y Código Postal de ISA European Patent Office - P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel.: (+31-70) 340-2040; Tx: 31 651 epo nl Fax: (+31-70) 340-3018		Funcionario Apoderado Fausti, S

INF RME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Referencia Internacional

PCT/EP 2005/011363

C. (continuación) ANTECEDENTES CONSIDERADOS RELEVANTES		
Categoría	Denominación de la publicación, así como, de ser requerido, indicación de los pasajes relevantes	Con referencia a reivindicación Nº
A	EGNER B J ET AL: "Monitoring the Solid Phase Synthesis of Analogues of Lysobactin and the Ketansins using <i>in situ</i> MALDI-TOF MS" TETRAEDRON, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS. AMSTERDAM, NL. Bd. 53, Nº 41, 13 de octubre de 1997 (1997.10.13), pp. 14021-14030, XP004106274 ISSN: 0040-40220 página 14021, renglón 18 - página 14022, renglón 6; figura 1	1-11

34

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL				Referencia Internacional	
Detalle de publicaciones que pertenecen a la misma familia de patentes				PCT/EP 2005/011363	
Documentos de Patente citados en el Informe de Búsqueda	Fecha de la publicación	Miembros de la familia de patentes		Fecha de la publicación	
WO 2004099239 A	18.11.2004	DE 10320781 A1		25.11.2004	
		US 2005075281 A1		07.04.2005	

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts BHC041327-WO	WEITERES VORGEHEN	siehe Formblatt PCT/ISA/220 sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5
Internationales Aktenzeichen PCT/EP2005/011363	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 22/10/2005	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 05/11/2004
Anmelder BAYER HEALTHCARE AG		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 6 Blätter.

☒ Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

1. Grundlage des Berichts

- a. Hinsichtlich der Sprache ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

☐ Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.

- b. ☐ Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz siehe Feld Nr. 1.

2. ☒ Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen (siehe Feld II).

3. ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld III).

4. Hinsichtlich der Bezeichnung der Erfindung

☐ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☒ wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

ACYLIERTE NONADEPSIPEPTIDE ALS LYSOBACTINDERIVATE

5. Hinsichtlich der Zusammenfassung

☐ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☒ wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld Nr. IV angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Hinsichtlich der Zeichnungen

- a. Ist folgende Abbildung der Zeichnungen mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. _____

☐ wie vom Anmelder vorgeschlagen

☐ wie von der Behörde ausgewählt, weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.

☐ wie von der Behörde ausgewählt, weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.

- b. ☐ wird keine der Abbildungen mit der Zusammenfassung veröffentlicht.

36

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2005/011363

Feld Nr. IV Wortlaut der Zusammenfassung (Fortsetzung von Punkt 5 auf Blatt 1)

Die Erfindung betrifft Nonadepsipeptide (Lysobactin-Derivate) und Verfahren zu ihrer Herstellung sowie ihre Verwendung zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Krankheiten, insbesondere bakteriellen Infektionskrankheiten.

Die neuen Lysobactin-Derivate unterscheiden sich vom Naturstoff durch die N-terminale Peptidkette, die einen 3-(3-pyridyl)-alanyl-Rest umfasst.

Feld II Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☒ Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
Obwohl Anspruch 11 sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen Körpers beziehen, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.
2. ☐ Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
3. ☐ Ansprüche Nr.
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld III Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. ☐ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. ☐ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- ☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
- ☐ Die Zahlung zusätzlicher Recherchegebühren erfolgte ohne Widerspruch.

A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

C07K11/02 C07K5/06 A61P31/04

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchiertes Mindestprüfprofil (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

C07K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfprofil gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data, BEILSTEIN Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Bez. Anspruch Nr.
X, P	WO 2004/099239 A (BAYER HEALTHCARE AG; VON NUSSBAUM, FRANZ; BRUNNER, NINA; ANLAUF, SONJA) 18. November 2004 (2004-11-18) in der Anmeldung erwähnt Seite 1, Zeile 33 - Seite 2, Zeile 3; Ansprüche 1,11; Beispiele 69,97; Tabelle A	1-11
A	PALOMO C ET AL: "A concise synthesis of alpha-amino acid N-carboxy anhydrides of (2S,3S)-beta-substituted serines" TETRAHEDRON LETTERS, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, Bd. 42, Nr. 51, 17. Dezember 2001 (2001-12-17), Seiten 8955-8957, XP004323292 ISSN: 0040-4039 Seite 8955, linke Spalte, Zeile 1 - rechte Spalte, Zeile 2 ----- -/-	1-11

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen:

- *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht inwiderspricht, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung: die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung: die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

Z Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

3. Januar 2006

Abschließdatum des internationalen Recherchenberichts

16/01/2006

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5618 Patentamt 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Beauftragter

Fausti, S

C.(Fortsetzung) ALS WESSENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Beiz. Anspruch Nr.
A	EGNER B J ET AL: "Monitoring the Solid Phase Synthesis of Analogues of Lysobactin and the Katanosins using in situ MALDI-TOF MS" TETRAHEDRON, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, NL, Bd. 53, Nr. 41, 13. Oktober 1997 (1997-10-13), Seiten 14021-14030, XP004106274 ISSN: 0040-4020 Seite 14021, Zeile 18 - Seite 14022, Zeile 6; Abbildung 1 -----	1-11

TRATADO DE COOPERACIÓN INTERNACIONAL EN MATERIA DE PATENTES

Remite: EL ORGANISMO DE BÚSQUEDA
INTERNACIONAL

PCT

A BAYER HEALTHCARE AG <i>Law and Patents</i> <i>Patents and Licensing</i> <i>51368 Leverkusen</i> ALEMANIA	NOTIFICACIÓN DE ENVÍO DEL INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL Y DEL INFORME ESCRITO DEL ORGANISMO DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL O DE LA DECLARACIÓN (regla PCT Nº 44.1)
Referencia del Solicitante o Agente BHC041327-WO	Fecha de envío (día/mes/año) 16.01.2006
Referencia Internacional PCTEPS 2005/011363	Fecha de Presentación Internacional (día/mes/año) 22.10.2005
Solicitante BAYER HEALTHCARE AG	

- ☒ Se notifica al solicitante de la confección del Informe de Búsqueda Internacional y de la opinión escrita del organismo de búsqueda internacional y de que se los envía adjunto a la presente.

Presentación de modificaciones y una declaración, según artículo 19:
 El solicitante puede modificar por su propia voluntad las reivindicaciones de la solicitud internacional (ver regla 46):

¿Hasta cuando se pueden presentar las modificaciones?
 El plazo para la presentación de tales modificaciones es usualmente de dos meses a partir del envío del Informe de Búsqueda Internacional; otros detalles se pueden obtener de las instrucciones de la hoja adjunta.

¿Dónde se deben presentar las modificaciones?
 Directamente en la Oficina Internacional de la WIPO, 34, CHEMIN des Colombettes, CH-1211 Ginebra 20, Suiza, Telefax Nº: (41-22) 740.14.35

 Instrucciones más detalladas se pueden obtener en las Instrucciones de la hoja adjunta.
- ☐ Se notifica al solicitante de que no se confecciona un Informe de Búsqueda Internacional y de que, según el artículo 17(2)a, se adjunta la declaración a la presente.
- ☐ Acerca de la objeción contra el pago de una tasa adicional (tasas adicionales) según la regla 40.2, se notifica al solicitante que
- ☐ la objeción y la resolución han sido enviadas desde aquí a la Oficina Internacional, junto con su solicitud de envío del texto, así como el requerimiento del solicitante a los organismos designados de impulsar la objeción y la resolución,
- ☐ No existe todavía ninguna resolución acerca de la objeción; el solicitante será informado en cuanto se tome una resolución.
- Recordatorios:**
 Brevemente tras el transcurso de 18 meses a partir de la fecha de prioridad la Oficina Internacional publicará la solicitud internacional. Si el solicitante quiere impedir o postergar la publicación, debe presentar en la Oficina Internacional, según la regla 90^{ter}.1 a 90^{ter}.3, antes de concluir las preparaciones técnicas para la publicación internacional, una declaración acerca del desistimiento de la solicitud internacional o de la reivindicación de prioridad.
 El solicitante puede presentar en la Oficina Internacional una posición informal acerca del informe escrito del Organismo de Búsqueda Internacional. La Oficina Internacional remita una copia de esta posición a todos los organismos designados en tanto no esté o recién hubiera sido confeccionado un Examen Preliminar Internacional. Tal posición también se haría pública, pero solo después de transcurrir 30 meses a partir de la fecha de prioridad.
 Cuando el solicitante desea postergar en hasta 30 meses (en algunos organismos hasta más) a partir de la fecha de prioridad el ingreso en la fase nacional, debe presentar una solicitud de Examen Preliminar Internacional dentro de los 18 meses a partir de la fecha de prioridad; de otra manera, para ingresar en la etapa de la fase nacional, el solicitante debe llevar a cabo, dentro de los 20 meses a partir de la fecha de prioridad, las gestiones prescritas por estos organismos.
 En otros organismos designados también es válido el plazo de 30 meses (o algún plazo más largo) cuando no se presenta tal solicitud en el plazo de 18 meses.
 Ver anexo del formulario PCT/IB/301. Indicaciones precisas de los plazos válidos en los organismos individuales se exhiben en *PCT Applicant's Guide*, Volumen II, capítulo nacional, así como el sitio de Internet de WIPO.

Nombre y Dirección Postal del Organismo de Búsqueda Internacional Oficina de Patentes Europeas, P.B. 5616 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx: 31 851 epo nl Fax: (+31-70) 340-3016	Funcionario Apoderado Stefan Bröll
---	--

A2
42

INSTRUCCIONES PARA EL FORMULARIO PCT/ISA/220

Estas instrucciones son indicaciones básicas para la presentación de modificaciones según el artículo 19. Estas observaciones se basan sobre los requisitos del Tratado de Cooperación Internacional en Materia de Patentes (PCT), del reglamento de aplicación y de las normas administrativas del mismo. Ante diferencias entre estas observaciones y los textos mencionados anteriormente son decisivos los últimos. Otros detalles se pueden obtener en el Manual PCT para solicitantes, una publicación de la WIPO.

Las expresiones "artículo", "regla" y "párrafo" empleados en estas instrucciones se refieren siempre a las disposiciones del Tratado PCT, al reglamento de aplicación PCT o a las normas administrativas PCT.

INSTRUCCIONES PARA MODIFICACIONES SEGÚN ARTÍCULO 19

Luego de recibir el Informe de Búsqueda Internacional, el solicitante tiene la posibilidad de modificar una vez las reivindicaciones de la solicitud internacional. Sin embargo, se debe hacer notar que, dado que todas las partes de la solicitud internacional (reivindicaciones, descripción y figuras) pueden ser modificados durante el Examen Preliminar Internacional, no existe usualmente la necesidad de presentar modificaciones de las reivindicaciones según el artículo 19, excepto cuando el solicitante desea la publicación de estas reivindicaciones o presenta algún otro motivo para la modificación de las reivindicaciones de su publicación internacional, por ejemplo, a los fines de una protección provisoria. También se debe tomar en consideración que una protección provisoria se puede obtener solo en algunos estados.

¿Que partes de una solicitud internacional pueden ser modificadas?

En el marco del artículo 19 solo pueden ser modificadas las reivindicaciones.

En la fase internacional, según el artículo 34, las reivindicaciones también pueden ser modificadas (o nuevamente modificadas) ante el organismo encargado del examen preliminar internacional. Según el artículo 34, la descripción y las figuras solo pueden ser modificadas ante el organismo encargado del Examen Preliminar Internacional.

Al ingresar en la fase nacional, según el artículo 28 o, en casos dados, el artículo 41, pueden ser modificadas todas las partes de la solicitud internacional.

¿Hasta cuando se pueden presentar modificaciones?

Dentro de los dos meses a partir del envío del informe de búsqueda internacional o dentro de dieciséis meses a partir de la fecha de prioridad, según el plazo que venza más tarde. No obstante, las modificaciones son consideradas como válidas cuando son enviadas a la Oficina Internacional luego del plazo establecido pero antes de la conclusión de las preparaciones técnicas para la publicación internacional (regla 46.1).

¿Dónde no se deben presentar las modificaciones?

Las modificaciones solo pueden ser presentadas ante la Oficina Internacional y no en la Oficina de Ingreso o en el organismo de búsquedas internacionales (regla 46.2).

En caso de presentarse o haber presentado una solicitud de Examen Preliminar Internacional, ver abajo.

¿En que forma pueden ser llevadas a cabo modificaciones?

Una modificación puede proceder en la versión presentada mediante la eliminación de una o varias reivindicaciones, mediante el agregado de una o varias reivindicaciones nuevas o mediante modificaciones del texto de una o varias reivindicaciones.

Se debe presentar una hoja de reemplazo por cada hoja de reivindicaciones que, como consecuencia de una o varias modificaciones, se diferencia de la presentada originalmente.

Todas las reivindicaciones que aparecen una hoja de reemplazo deben estar numeradas con cifras arábigas. Así, cuando se elimina una reivindicación, las demás no deben ser numeradas nuevamente. En el caso de una nueva numeración, las reivindicaciones deben ser numeradas en forma sucesiva (normas administrativas, ítem 205b)).

Las modificaciones deben estar redactadas en el idioma en que fue publicada la solicitud internacional.

¿Qué documentos deben acompañar a las modificaciones?

Escrito adjunto (ítem 205b)):

Las modificaciones se deben presentar con un escrito adjunto.

El escrito adjunto no se publica junto con la solicitud internacional y las reivindicaciones modificadas. No se debe confundir con "aclaración según artículo 19(1)" (Ver abajo, "aclaración según artículo 19(1)").

El escrito adjunto puede estar redactado, a elección del solicitante, en idioma inglés o francés. En solicitudes internacionales vertidas en idioma inglés, el escrito adjunto debe estar redactado asimismo en idioma inglés y en las solicitudes internacionales redactadas en idioma francés en idioma francés.

INSTRUCCIONES PARA EL FORMULARIO PCT/ISA/220 (continuación)

En el escrito adjunto deben estar indicadas las diferencias existentes entre las reivindicaciones de la versión presentada y las reivindicaciones modificadas. Así, para cada reivindicación de la solicitud internacional deben estar indicadas (indicaciones equivalentes para reivindicaciones distintas pueden estar aunadas), en particular, si:

- i) la reivindicación no está modificada;
- ii) la reivindicación fue eliminada;
- iii) la reivindicación es nueva;
- iv) la reivindicación reemplaza a una o a varias reivindicaciones de la versión presentada;
- v) la reivindicación se origina en la división de una reivindicación de la versión presentada;

A continuación se indican ejemplos de cómo se deben aclarar modificaciones en el escrito adjunto:

- 1- [cuando en lugar de 48 reivindicaciones originales, luego de la modificación de algunas reivindicaciones existen 51 reivindicaciones]:
"Las reivindicaciones 1 a 29, 31, 32, 34, 35, 37 a 48 son reemplazadas por reivindicaciones modificadas con la misma numeración; las reivindicaciones 30, 33 y 36 quedan sin modificar; las reivindicaciones 49 a 51 están agregadas."
- 2- [cuando en lugar de 15 reivindicaciones originales, luego de la modificación de todas las reivindicaciones existen 11 reivindicaciones]:
"Las reivindicaciones modificadas 1 a 11 están en lugar de las reivindicaciones 1 a 15"
- 3- [cuando originalmente existen 14 reivindicaciones y las modificaciones consisten en la eliminación de algunas reivindicaciones y el agregado de nuevas reivindicaciones]:
"Las reivindicaciones 1 a 6 y 14 están sin modificar; las reivindicaciones 7 a 13 son eliminadas; se agregan nuevas reivindicaciones 15, 16 y 17. "O": se eliminan las reivindicaciones 7 a 13; se agregan nuevas reivindicaciones 15, 16 y 17; todas las demás reivindicaciones quedan sin modificar."
- 4- [cuando se llevan a cabo distintos tipos de modificaciones]:
"Reivindicaciones 1 a 10 sin modificar; reivindicaciones 11 a 13, 18 y 19 eliminadas; reivindicaciones 14, 15 y 16 reemplazadas por la nueva reivindicación 14; reivindicación 17 dividida en las nuevas reivindicaciones 15, 16 y 17. nuevas reivindicaciones 20 y 21 agregadas."

"Declaración según artículo 19(1)" (Regla 46.4)

A las modificaciones se puede agregar una declaración mediante la cual se explican las modificaciones y se exponen sus consecuencias sobre la descripción y los dibujos (los que, según el artículo 19(1), no pueden ser modificados).

La declaración se publica junto con la solicitud internacional y las reivindicaciones modificadas.

La misma debe estar redactada en el idioma en que se publica la solicitud internacional.

La misma debe ser breve y no comprender más de 500 palabras cuando está redactada o traducida al idioma inglés.

La declaración no se debe confundir con el escrito adjunto que indica las diferencias existentes entre las reivindicaciones de la versión original y las reivindicaciones modificadas, y no reemplaza al último. Se la debe presentar en una hoja separada y caracterizar como tal en el título, con preferencia, mediante las palabras "Aclaración según artículo 29(1)".

La declaración no debe contener manifestaciones desmerecedoras acerca del informe de búsqueda internacional o del significado de las publicaciones mencionadas en este informe. Solo se puede hacer referencia a publicaciones indicadas en el informe de búsqueda internacional que se relacionan con una reivindicación determinada, en el contexto de una modificación de esta reivindicación.

Consecuencias de una solicitud de examen preliminar internacional ya presentada

Cuando en el momento de la presentación de modificaciones según el artículo 19 ya se presentó una solicitud de examen preliminar internacional, el solicitante debería presentar al mismo tiempo, en su propio interés, junto con la presentación de las modificaciones ante la Oficina Internacional, una copia de las modificaciones ante el organismo encargado del examen preliminar internacional (ver regla 62.2 a), primera frase).

Consecuencias de las modificaciones con respecto a la traducción de la solicitud internacional al ingresar en la fase nacional

Se hace notar al solicitante que, al ingresar en la fase nacional, posible o adicionalmente a la traducción de las reivindicaciones en la versión original, se debe enviar una traducción de las reivindicaciones modificadas según el artículo 19 a los organismos designados / seleccionados.

Otros detalles acerca de las exigencias del organismo designado / seleccionado, buscar en el tomo II del manual PCT para solicitantes.

44

DR. HENDKE-E. 19.06

BHC West Haven

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

Absender: INTERNATIONALE RECHERCHENBEHÖRDE

PCT

An
BAYER HEALTHCARE AG
Law & Patents
Patents and Licensing
D-51368 Leverkusen
GERMANY

Bayer AG
Law & Patents
Law and Patents
17. Jan. 2006
EINGANG

MITTEILUNG ÜBER DIE ÜBERMITTLUNG DES
INTERNATIONALEN RECHERCHENBERICHTS
UND DES SCHRIFTLICHEN BESCHEIDS DER
INTERNATIONALEN RECHERCHENBEHÖRDE
ODER DER ERKLÄRUNG

(Regel 44.1 PCT)

Absenddatum (Tag/Monat/Jahr) 16/01/2006	
Aktenzzeichen des Anmelders oder Anwalts BHC041327-WO	WEITERES VORGEHEN siehe Punkte 1 und 4 unten
Internationales Aktenzzeichen PCT/EP2005/011363	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 22/10/2005
Anmelder BAYER HEALTHCARE AG	

1.
☒

Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß der Internationale Recherchenbericht und der schriftliche Bescheid der Internationalen Recherchenbehörde erstellt wurden und ihm hiermit übermittelt werden.
Einreichung von Änderungen und einer Erklärung nach Artikel 19:
Der Anmelder kann auf eigenen Wunsch die Ansprüche der Internationalen Anmeldung ändern (siehe Regel 46):
Bis wann sind Änderungen einzureichen?
Die Frist zur Einreichung solcher Änderungen beträgt üblicherweise zwei Monate ab der Übermittlung des internationalen Recherchenberichts.
Wo sind Änderungen einzureichen?
Unmittelbar beim Internationalen Büro der WIPO, 34, chemin des Colombettes, CH-1211 Genf 20, Telefaxnr.: (41-22) 338.82.70
Nähere Hinweise sind den Anmerkungen auf dem Beiblatt zu entnehmen.

2.
☐

Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß kein internationaler Recherchenbericht erstellt wird und daß ihm hiermit die Erklärung nach Artikel 17 (2) a) sowie der schriftliche Bescheid der Internationalen Recherchenbehörde übermittelt werden.

3.
☐

Hinsichtlich des Widerspruchs gegen die Entrichtung einer zusätzlichen Gebühr (zusätzlicher Gebühren) nach Regel 40.2 wird dem Anmelder mitgeteilt, daß
☐
der Widerspruch und die Entscheidung hierüber zusammen mit seinem Antrag auf Übermittlung des Wortlauts sowohl des Widerspruchs als auch der Entscheidung hierüber an die Bestimmungsämter dem Internationalen Büro übermittelt worden sind.
☐
noch keine Entscheidung über den Widerspruch vorliegt; der Anmelder wird benachrichtigt, sobald eine Entscheidung getroffen wurde.

4.
Zur Erinnerung:

Kurz nach Ablauf von 18 Monaten seit dem Prioritätsdatum wird die Internationale Anmeldung vom Internationalen Büro veröffentlicht. Will der Anmelder die Veröffentlichung verhindern oder auf einen späteren Zeitpunkt verschieben, so muß gemäß Regel 90^{ter}.1 bzw. 90^{ter}.3 vor Abschluß der technischen Vorbereitungen für die internationale Veröffentlichung eine Erklärung über die Zurücknahme der internationalen Anmeldung oder des Prioritätsanspruchs beim Internationalen Büro eingehen. Der Anmelder kann beim Internationalen Büro eine informelle Stellungnahme zum schriftlichen Bescheid der Internationalen Recherchenbehörde einreichen. Das Internationale Büro sendet allen Bestimmungsämtern eine Kopie dieser Stellungnahme, sofern nicht ein internationaler vorläufiger Prüfungsbericht erstellt worden ist bzw. gerade erstellt wird. Eine solche Stellungnahme würde auch der Öffentlichkeit zugänglich gemacht, allerdings erst nach Ablauf von 30 Monaten seit dem Prioritätsdatum. In bezug auf einige Bestimmungsämter ist innerhalb von 19 Monaten seit dem Prioritätsdatum ein Antrag auf internationale vorläufige Prüfung einzureichen, wenn der Anmelder den Eintritt in die nationale Phase verschieben und erst 30 Monaten nach dem Prioritätsdatum (in manchen Ämtern sogar noch später) vornehmen möchte; ansonsten muß der Anmelder innerhalb von 20 Monaten seit dem Prioritätsdatum die für den Eintritt in die nationale Phase vor diesen Bestimmungsämtern vorgeschriebenen Handlungen vornehmen.
Bei anderen Bestimmungsämtern gilt die Frist von 30 Monaten (oder eine etwaige längere Frist) auch dann, wenn innerhalb von 19 Monaten kein solcher Antrag eingereicht wird.
Siehe Anhang zu Formblatt PCTAB/301. Genaue Angaben zu den jeweils geltenden Fristen in den einzelnen Ämtern enthält der PCT-Leitfaden für Anmelder, Band II, Nationale Kapitel sowie die Website der WIPO.

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde  Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL-2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040 Fax: (+31-70) 340-3018	Bevollmächtigter Beauftragter Stefan Brell
--	---

ANMERKUNGEN ZU FORMBLATT PCT/ISA/220

Diese Anmerkungen sollen grundlegende Hinweise zur Einreichung von Änderungen gemäß Artikel 19 geben. Diesen Anmerkungen liegen die Erfordernisse des Vertrags über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens (PCT), der Ausführungsordnung und der Verwaltungsrichtlinien zu diesem Vertrag zugrunde. Bei Abweichungen zwischen diesen Anmerkungen und obengenannten Texten sind letztere maßgebend. Nähere Einzelheiten sind dem PCT-Leitfaden für Anmelder, einer Veröffentlichung der WIPO, zu entnehmen. Die in diesen Anmerkungen verwendeten Begriffe "Artikel", "Regel" und "Abschnitt" beziehen sich jeweils auf die Bestimmungen des PCT-Vertrags, der PCT-Ausführungsordnung bzw. der PCT-Verwaltungsrichtlinien.

HINWEISE ZU ÄNDERUNGEN GEMÄSS ARTIKEL 19

Nach Erhalt des internationalen Recherchenberichts hat der Anmelder die Möglichkeit, einmal die Ansprüche der internationalen Anmeldung zu ändern. Es ist jedoch zu betonen, daß, da alle Teile der internationalen Anmeldung (Ansprüche, Beschreibung und Zeichnungen) während des internationalen vorläufigen Prüfungsverfahrens geändert werden können, normalerweise keine Notwendigkeit besteht, Änderungen der Ansprüche nach Artikel 19 einzureichen, außer wenn der Anmelder z.B. zum Zwecke eines vorläufigen Schutzes die Veröffentlichung dieser Ansprüche wünscht oder ein anderer Grund für eine Änderung der Ansprüche vor ihrer internationalen Veröffentlichung vorliegt. Weiterhin ist zu beachten, daß ein vorläufiger Schutz nur in einigen Staaten erhältlich ist.

Welche Teile der internationalen Anmeldung können geändert werden?

Im Rahmen von Artikel 19 können nur die Ansprüche geändert werden.

In der internationalen Phase können die Ansprüche auch nach Artikel 34 vor der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde geändert (oder nochmals geändert) werden. Die Beschreibung und die Zeichnungen können nur nach Artikel 34 vor der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde geändert werden.

Beim Eintritt in die nationale Phase können alle Teile der internationalen Anmeldung nach Artikel 28 oder gegebenenfalls Artikel 41 geändert werden.

Bis wann sind Änderungen einzureichen?

Innerhalb von zwei Monaten ab der Übermittlung des internationalen Recherchenberichts oder innerhalb von sechzehn Monaten ab dem Prioritätsdatum, je nachdem, welche Frist später abläuft. Die Änderungen gelten jedoch als rechtzeitig eingereicht, wenn sie dem internationalen Büro nach Ablauf der maßgebenden Frist, aber noch vor Abschluß der technischen Vorbereitungen für die internationale Veröffentlichung (Regel 46.1) zugehen.

Wo sind die Änderungen nicht einzureichen?

Die Änderungen können nur beim internationalen Büro, nicht aber beim Anmeldeamt oder der internationalen Recherchenbehörde eingereicht werden (Regel 46.2).

Falls ein Antrag auf internationale vorläufige Prüfung eingereicht wurde/wird, siehe unten.

In welcher Form können Änderungen erfolgen?

Eine Änderung kann erfolgen durch Streichung eines oder mehrerer ganzer Ansprüche, durch Hinzufügung eines oder mehrerer neuer Ansprüche oder durch Änderung des Wortlauts eines oder mehrerer Ansprüche in der eingereichten Fassung.

Für jedes Anspruchsblatt, das sich aufgrund einer oder mehrerer Änderungen von dem ursprünglich eingereichten Blatt unterscheidet, ist ein Ersatzblatt einzureichen.

Alle Ansprüche, die auf einem Ersatzblatt erscheinen, sind mit arabischen Ziffern zu nummerieren. Wird ein Anspruch gestrichen, so brauchen, die anderen Ansprüche nicht neu nummeriert zu werden. Im Fall einer Neunummerierung sind die Ansprüche fortlaufend zu nummerieren (Verwaltungsrichtlinien, Abschnitt 205 b)).

Die Änderungen sind in der Sprache abzufassen, in der die internationale Anmeldung veröffentlicht wird.

Welche Unterlagen sind den Änderungen beizufügen?

Begleitschreiben (Abschnitt 205 b)):

Die Änderungen sind mit einem Begleitschreiben einzureichen.

Das Begleitschreiben wird nicht zusammen mit der internationalen Anmeldung und den geänderten Ansprüchen veröffentlicht. Es ist nicht zu verwechseln mit der "Erklärung nach Artikel 19(1)" (siehe unten, "Erklärung nach Artikel 19 (1)").

Das Begleitschreiben ist nach Wahl des Anmelders in englischer oder französischer Sprache abzufassen. Bei englischsprachigen internationalen Anmeldungen ist das Begleitschreiben aber ebenfalls in englischer, bei französischsprachigen internationalen Anmeldungen in französischer Sprache abzufassen.

46

ANMERKUNGEN ZU FORMBLATT PCT/ISA/220 (Fortsetzung)

Im Begleitschreiben sind die Unterschiede zwischen den Ansprüchen in der eingereichten Fassung und den geänderten Ansprüchen anzugeben. So ist insbesondere zu jedem Anspruch in der internationalen Anmeldung anzugeben (gleichlautende Angaben zu verschiedenen Ansprüchen können zusammengefaßt werden), ob

- i) der Anspruch unverändert ist;
- ii) der Anspruch gestrichen worden ist;
- iii) der Anspruch neu ist;
- iv) der Anspruch einen oder mehrere Ansprüche in der eingereichten Fassung ersetzt;
- v) der Anspruch auf die Teilung eines Anspruchs in der eingereichten Fassung zurückzuführen ist.

In folgenden sind Beispiele angegeben, wie Änderungen im Begleitschreiben zu erläutern sind:

1. [Wenn anstelle von ursprünglich 48 Ansprüchen nach der Änderung einiger Ansprüche 51 Ansprüche existieren]:
"Die Ansprüche 1 bis 29, 31, 32, 34, 35, 37 bis 48 werden durch geänderte Ansprüche gleicher Numerierung ersetzt; Ansprüche 30, 33 und 36 unverändert; neue Ansprüche 49 bis 51 hinzugefügt."
2. [Wenn anstelle von ursprünglich 15 Ansprüchen nach der Änderung aller Ansprüche 11 Ansprüche existieren]:
"Geänderte Ansprüche 1 bis 11 treten an die Stelle der Ansprüche 1 bis 15."
3. [Wenn ursprünglich 14 Ansprüche existierten und die Änderungen darin bestehen, daß einige Ansprüche gestrichen werden und neue Ansprüche hinzugefügt werden]:
"Ansprüche 1 bis 6 und 14 unverändert; Ansprüche 7 bis 13 gestrichen; neue Ansprüche 15, 16 und 17 hinzugefügt. 'Oder' Ansprüche 7 bis 13 gestrichen; neue Ansprüche 15, 16 und 17 hinzugefügt; alle übrigen Ansprüche unverändert."
4. [Wenn verschiedene Arten von Änderungen durchgeführt werden]:
"Ansprüche 1-10 unverändert; Ansprüche 11 bis 13, 16 und 19 gestrichen; Ansprüche 14, 15 und 16 durch geänderten Anspruch 14 ersetzt; Anspruch 17 in geänderte Ansprüche 15, 16 und 17 unterteilt; neue Ansprüche 20 und 21 hinzugefügt."

"Erklärung nach Artikel 19(1)" (Regel 46.4)

Den Änderungen kann eine Erklärung beigefügt werden, mit der die Änderungen erläutert und ihre Auswirkungen auf die Beschreibung und die Zeichnungen dargestellt werden (die nicht nach Artikel 19 (1) geändert werden können).

Die Erklärung wird zusammen mit der internationalen Anmeldung und den geänderten Ansprüchen veröffentlicht.

Sie ist in der Sprache abzufassen, in der die internationale Anmeldung veröffentlicht wird.

Sie muß kurz gehalten sein und darf, wenn in englischer Sprache abgefaßt oder ins Englische übersetzt, nicht mehr als 500 Wörter umfassen.

Die Erklärung ist nicht zu verwechseln mit dem Begleitschreiben, das auf die Unterschiede zwischen den Ansprüchen in der eingereichten Fassung und den geänderten Ansprüchen hinweist, und ersetzt letzteres nicht. Sie ist auf einem gesonderten Blatt einzureichen und in der Überschrift als solche zu kennzeichnen, vorzugsweise mit den Worten "Erklärung nach Artikel 19 (1)".

Die Erklärung darf keine herabsetzenden Äußerungen über den internationalen Recherchenbericht oder die Bedeutung von in dem Bericht angeführten Veröffentlichungen enthalten. Sie darf auf im internationalen Recherchenbericht angeführte Veröffentlichungen, die sich auf einen bestimmten Anspruch beziehen, nur im Zusammenhang mit einer Änderung dieses Anspruchs Bezug nehmen.

Auswirkungen eines bereits gestellten Antrags auf internationale vorläufige Prüfung

Ist zum Zeitpunkt der Einreichung von Änderungen nach Artikel 19 bereits ein Antrag auf internationale vorläufige Prüfung gestellt worden, so sollte der Anmelder in seinem Interesse gleichzeitig mit der Einreichung der Änderungen beim Internationalen Büro auch eine Kopie der Änderungen bei der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde einreichen (siehe Regel 62.2 a), erster Satz).

Auswirkungen von Änderungen hinsichtlich der Übersetzung der internationalen Anmeldung beim Eintritt in die nationale Phase

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, daß bei Eintritt in die nationale Phase möglicherweise anstatt oder zusätzlich zu der Übersetzung der Ansprüche in der eingereichten Fassung eine Übersetzung der nach Artikel 19 geänderten Ansprüche an die bestimmten/ausgewählten Ämter zu übermitteln ist.

Nähere Einzelheiten über die Erfordernisse jedes bestimmten/ausgewählten Amtes sind Band II des PCT-Leitfadens für Anmelder zu entnehmen.

TRATADO DE COOPERACIÓN INTERNACIONAL EN MATERIA DE PATENTES

Del ORGANISMO DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

PCT

A ver formulario PCT/ISA/220		INFORME ESCRITO DEL ORGANISMO DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL (regla PCT Nº 43bis.1)	
		Fecha de envío (día/mes/año) ver formulario PCT/ISA/210 (hoja 2)	
Referencia del Solicitante o Agente ver formulario PCT/ISA/220		PROCEDER Ver abajo, punto 2	
Referencia Internacional PCT/EP 2005/011383	Fecha de Presentación Internacional (día/mes/año) 22.10.2005	Fecha de Prioridad (día/mes/año) 05.11.2004	
Clasificación Internacional de Patentes (IPK) o clasificación nacional e IPK C07K11/02, C07K5/08, A61P31/04			
Solicitante BAYER HEALTHCARE AG			

- Este informe contiene indicaciones acerca de los siguientes puntos:
 - ☒ Campo Nº I Fundamento del informe
 - ☒ Campo Nº II Prioridad
 - ☒ Campo Nº III No realización de dictamen alguno sobre novedad, actividad inventiva y aplicabilidad industrial
 - ☐ Campo Nº IV Falta de uniformidad de la invención
 - ☒ Campo Nº V Declaración fundada según regla PCT 43bis.1(a)(i) con respecto a la novedad, la actividad inventiva y la aplicabilidad industrial; documentos y declaraciones destinadas a apoyar esta resolución.
 - ☒ Campo Nº VI Documentos específicos expuestos
 - ☒ Campo Nº VII Falencias específicas de la solicitud internacional
 - ☒ Campo Nº VIII Observaciones específicas a la solicitud internacional
- PROCEDER**

Quando se solicita un Examen Preliminar Internacional, este Informe es válido como informe escrito del organismo encargado de la búsqueda internacional ("IPEA"); esto no es así cuando, según la regla 68.1bis(b), el solicitante elige otro organismo distinto a este como IPEA y el IPEA elegido informó a la Oficina Internacional que los informes escritos de este organismo de búsqueda internacional no serán reconocidos.

Quando este informe es válido como informe escrito de IPEA, tal como está previsto arriba, el solicitante es intimado a presentar ante IPEA una posición por escrito, y cuando corresponde, modificaciones, en el plazo de 3 meses a partir de la fecha en la que fue remitido el formulario PCT/ISA/220 o en el plazo de 22 meses a partir de la fecha de prioridad, según el plazo que venza más tarde.

Para otras opciones, ver formulario PCT/ISA/220.
- Para otros detalles, ver las instrucciones del formulario PCT/ISA/220.

Nombre y Dirección Postal del ISA Oficina de Patentes Europeas D-80298 Munich Tel.: +49 89 23699 - 0; Tx: 523658 apmu d Fax: +49 89 23699 - 4485	Funcionario Apoderado Fausti, S Tel: +49 89 23699-7396
--	--

Formulario PCT/ISA/237 (castellano) (enero 2004)

48

INFORME ESCRITO DEL
ORGANISMO DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Referencia Internacional
PCT/EP 2006/011383

Campo Nº I	Fundamento del Informe
1.	Con respecto al idioma, el Informe fue confeccionado sobre la base de la solicitud internacional en el idioma en que fue presentada, en tanto en este punto no se indique otra cosa. ☐ El informe está basado sobre una traducción del idioma original al siguiente idioma, el que se trata del idioma de la traducción presentada a los efectos de la búsqueda internacional (según las reglas 12.3 y 23.1 b)).
1.	Con respecto al idioma, el informe fue confeccionado, basado sobre la solicitud internacional, en el idioma en que fue presentada, en tanto en este punto no se indique otra cosa. ☐ El informe está basado sobre una traducción del idioma original al siguiente idioma, el que se trata del idioma de la traducción presentada a los efectos de la búsqueda internacional (según las reglas 12.3 y 23.1 b)).
2.	Con respecto a la secuencia de nucleótidos y/o aminoácidos revelada en la solicitud internacional y requerida para la invención reivindicada, el Informe fue confeccionado sobre la siguiente base: a. Tipo de material ☐ listado de secuencias ☐ tablas del listado de secuencias b. Forma del material ☐ en forma escrita ☐ en forma legible por computadora c. Momento de la presentación ☐ comprendido en la presentación internacional tal como fue presentada ☐ presentado, junto con la solicitud internacional, en forma legible por computadora ☐ suministrado posteriormente ante el organismo a los efectos de la búsqueda
3.	☐ Habiendo presentado más de una versión o copia de un protocolo de secuencias y/o la tabla correspondiente se deben presentar adicionalmente las declaraciones requeridas de que la información de las copias presentadas posteriormente o adicionales coincide con la versión original de la solicitud o que no la supera.
4.	Observaciones adicionales

Campo Nº II	Prioridad
1.	☐ No se consideró la validez de la reivindicación de prioridad porque el Organismo de Búsqueda Internacional no estaba en posesión de una copia de la solicitud anterior cuya prioridad era reivindicada o, cuando es requerida, de una traducción de tal solicitud anterior. No obstante, este informe fue confeccionado asumiendo que la fecha relevante es la fecha de prioridad reivindicada (reglas 43b/a.1 y 84.1).
2.	☐ Este informe fue confeccionado como si no hubiera sido reivindicada una prioridad, porque la reivindicación de prioridad fue encontrada inválida (reglas 43b/a.1 y 84.1). En consecuencia, a los propósitos de este Informe, se considera como la fecha relevante la fecha de presentación internacional indicada arriba.
3.	Observaciones adicionales, si son necesarias: ver hoja adjunta

**INFORME ESCRITO DEL
ORGANISMO DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL**

Referencia Internacional
PCT/EP 2005/011363

Campo Nº III **No confección de un informe con respecto a la novedad, la actividad inventiva y la aplicabilidad Industrial**

La cuestión acerca de si la invención reivindicada parece ser novedosa, involucra actividad inventiva (no obvia) o es aplicable industrialmente no fue examinada con respecto a:

- ☐ toda la solicitud internacional
- ☒ reivindicación Nº 11 (con respecto a la aplicabilidad industrial)

porque

- ☒ las mencionadas solicitud internacional completa o reivindicaciones Nº 11 se refieren al siguiente objeto, el que no requiere un examen preliminar internacional (especificar):

ver hoja adjunta

- ☐ la descripción, reivindicaciones o ilustraciones (indicar elementos particulares abajo) o las mencionadas reivindicaciones Nº son tan poco claras que no se puede confeccionar un informe coherente (especificar):
- ☐ las reivindicaciones o las mencionadas reivindicaciones Nº está apoyadas tan inadecuadamente por la descripción que no se puede confeccionar un informe coherente.
- ☐ no se confeccionó ningún informe de búsqueda para toda la solicitud o para las mencionadas reivindicaciones Nº 1-8, 17-22 (todas parcialmente).
- ☐ el listado de secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos no cumple con el estándar provisto para ello en el Anexo C de las Instrucciones Administrativas, porque:
 - la forma escrita ☐ no fue suministrada
 - ☐ no cumple con el estándar
 - la forma legible por computadora ☐ no fue suministrada
 - ☐ no cumple con el estándar
- ☐ las tablas relacionadas con el listado de secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos, al está forma legible por computadora, no cumple con los requerimientos técnicos provistos por el Anexo C-bis de las Instrucciones Administrativas.
- ☐ para otros detalles, ver hoja adjunta

50

INF RME ESCRITO DEL
ORGANISMO DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Referencia Internacional
PCT/EP 2005/011363

Campo Nº V Resolución fundada según regla PCT 43b/s.1(a)(i) con respecto a la novedad, la actividad inventiva y la aplicabilidad industrial; documentos y declaraciones destinadas a apoyar esta resolución

1. Resolución
- | | | | |
|--------------------------|----|-------------------|------|
| Novedad | SI | Reivindicaciones: | 1-11 |
| | No | Reivindicaciones: | - |
| Actividad inventiva | SI | Reivindicaciones: | 1-11 |
| | No | Reivindicaciones: | - |
| Aplicabilidad industrial | SI | Reivindicaciones: | 1-10 |
| | No | Reivindicaciones: | - |
2. Documentos y declaraciones:
- ver hoja adjunta

Campo Nº VI Documentos específicos presentados

1. Documentos específicos publicados (reglas 43b/s.1 y 70.10)
- y/o
2. revelaciones no escritas (reglas 43b/s.1 y 70.9)
- ver formulario 210

Campo Nº VII Carencias específicas de la solicitud internacional

Se comprobó que la solicitud internacional presenta las siguientes carencias de forma o de contenido:

ver hoja adjunta

Campo Nº VIII Observaciones específicas sobre la solicitud internacional

Se observa lo siguiente acerca de la claridad de las reivindicaciones, la descripción o las ilustraciones, o de la cuestión de si las reivindicaciones están apoyadas en todo su alcance por la descripción:

ver hoja adjunta

51 ✓

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

Absender: INTERNATIONALE RECHERCHENBEHÖRDE

An:

siehe Formular PCT/ISA/220

PCT

SCHRIFTLICHER BESCHEID DER
INTERNATIONALEN
RECHERCHENBEHÖRDE
(Regel 43bis.1 PCT)

Absenddatum

(Tag/Monat/Jahr) siehe Formular PCT/ISA/210 (Blatt 2)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts
siehe Formular PCT/ISA/220

WEITERES VORGEHEN
siehe Punkt 2 unten

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2005/011363

Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr)
22.10.2005

Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr)
05.11.2004

Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK
C07K11/02, C07K5/06, A61P31/04

Anmelder

BAYER HEALTHCARE AG

1. Dieser Bescheid enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- ☒ Feld Nr. I Grundlage des Bescheids
- ☒ Feld Nr. II Priorität
- ☒ Feld Nr. III Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- ☐ Feld Nr. IV Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- ☒ Feld Nr. V Begründete Feststellung nach Regel 43bis.1(a)(i) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit: Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- ☒ Feld Nr. VI Bestimmte angeführte Unterlagen
- ☒ Feld Nr. VII Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- ☒ Feld Nr. VIII Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

2. WEITERES VORGEHEN

Wird ein Antrag auf Internationale vorläufige Prüfung gestellt, so gilt dieser Bescheid als schriftlicher Bescheid der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde ("IPEA"); dies trifft nicht zu, wenn der Anmelder eine andere Behörde als diese als IPEA wählt und die gewählte IPEA dem Internationalen Büro nach Regel 56.1bis b) mitgeteilt hat, daß schriftliche Bescheide dieser Internationalen Recherchenbehörde nicht anerkannt werden.

Wenn dieser Bescheid wie oben vorgesehen als schriftlicher Bescheid der IPEA gilt, so ist der Anmelder aufgefordert, bei der IPEA vor Ablauf von 3 Monaten ab dem Tag, an dem das Formblatt PCT/ISA/220 abgesandt wurde oder vor Ablauf von 22 Monaten ab dem Prioritätsdatum, je nachdem, welche Frist später abläuft, eine schriftliche Stellungnahme und, wo dies angebracht ist, Änderungen einzureichen.

Weitere Optionen siehe Formblatt PCT/ISA/220.

3. Nähere Einzelheiten siehe die Anmerkungen zu Formblatt PCT/ISA/220.

Name und Postanschrift der mit der internationalen
Recherchenbehörde



Europäisches Patentamt
D-80286 München
Tel. +49 89 2399-0 Tx: 523656 epmu d
Fax: +49 89 2399-4465

Bevollmächtigter Bediensteter

Faustl, S

Tel. +49 89 2399-7389



Feld Nr. I Grundlage des Bescheids

1. Hinsichtlich der Sprache ist der Bescheid auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache erstellt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.
 - ☐ Der Bescheid ist auf der Grundlage einer Übersetzung aus der Originalsprache in die folgende Sprache erstellt worden, bei der es sich um die Sprache der Übersetzung handelt, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (gemäß Regeln 12.3 und 23.1 b)).
2. Hinsichtlich der Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz, die in der internationalen Anmeldung offenbart wurde und für die beanspruchte Erfindung erforderlich ist, ist der Bescheid auf folgender Grundlage erstellt worden:
 - a. Art des Materials
 - ☐ Sequenzprotokoll
 - ☐ Tabelle(n) zum Sequenzprotokoll
 - b. Form des Materials
 - ☐ in schriftlicher Form
 - ☐ in computerlesbarer Form
 - c. Zeitpunkt der Einreichung
 - ☐ in der eingereichten internationalen Anmeldung enthalten
 - ☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht
 - ☐ bei der Behörde nachträglich für die Zwecke der Recherche eingereicht
3. ☐ Wurden mehr als eine Version oder Kopie eines Sequenzprotokolls und/oder einer dazugehörigen Tabelle eingereicht, so sind zusätzlich die erforderlichen Erklärungen, daß die Information in den nachgereichten oder zusätzlichen Kopien mit der Information in der Anmeldung in der eingereichten Fassung übereinstimmt bzw. nicht über sie hinausgeht, vorgelegt worden.
4. Zusätzliche Bemerkungen:

Feld Nr. II Priorität

1. ☒ Die Gültigkeit des Prioritätsanspruchs wurde nicht in Betracht gezogen, da die Internationale Recherchenbehörde über keine Abschrift der früheren Anmeldung oder, falls benötigt, Übersetzung der früheren Anmeldung verfügt. Dieser Bescheid wurde trotzdem unter der Annahme erstellt, dass der maßgebliche Zeitpunkt (Regeln 43bis.1 und 64.1) das beanspruchte Prioritätsdatum ist.
2. ☐ Dieser Bescheid ist ohne Berücksichtigung der beanspruchten Priorität erstellt worden, da sich der Prioritätsanspruch als ungültig erwiesen hat (Regeln 43bis.1 und 64.1). Für die Zwecke dieses Bescheids gilt daher das vorstehend genannte internationale Anmeldedatum als das maßgebliche Datum.
3. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

53 7

**SCHRIFTLICHER BESCHEID DER
INTERNATIONALEN RECHERCHEBEHÖRDE**

Internationales Aktenzeichen/
PCT/EP2005/011363 ✓

Feld Nr. III Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit

Folgende Teile der Anmeldung wurden nicht daraufhin geprüft, ob die beanspruchte Erfindung als neu, auf erfinderischer Tätigkeit beruhend (nicht offensichtlich) und gewerblich anwendbar anzusehen ist:

- ☐ die gesamte internationale Anmeldung,
- ☒ Ansprüche Nr. 11 (hinsichtlich der gewerblichen Anwendbarkeit - with respect to Industrial Applicability)

Begründung:

- ☒ Die gesamte internationale Anmeldung, bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. 11 beziehen sich auf den nachstehenden Gegenstand, für den keine internationale vorläufige Prüfung durchgeführt werden braucht (*genaue Angaben*):

siehe Beiblatt

- ☐ Die Beschreibung, die Ansprüche oder die Zeichnungen (*machen Sie bitte nachstehend genaue Angaben*) oder die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unklar, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte (*genaue Angaben*):
- ☐ Die Ansprüche bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unzureichend durch die Beschreibung gestützt, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte.
- ☐ für die gesamte Anmeldung oder für die obengenannten Ansprüche Nr. wurde kein internationaler Recherchenbericht erstellt.
- ☐ Das Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenzprotokoll entspricht nicht dem in Anhang C zu den Verwaltungsvorschriften vorgeschriebenen Standard, weil

die schriftliche Form	☐ nicht eingereicht wurde.
	☐ nicht dem Standard entspricht.
die computerlesbare Form	☐ nicht eingereicht wurde.
	☐ nicht dem Standard entspricht.
- ☐ Die Tabellen zum Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenzprotokoll, sofern sie nur in computerlesbarer Form vorliegen, entsprechen nicht den in Anhang C-bis zu den Verwaltungsvorschriften vorgeschriebenen technischen Anforderungen.
- ☐ Siehe Beiblatt für weitere Angaben.

54 SA

**SCHRIFTLICHER BESCHEID DER
INTERNATIONALEN RECHERCHEBEHÖRDE**

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2005/011363 /

**Feld Nr. V Begründete Feststellung nach Regel 43bis.1(a)(i) hinsichtlich der Neuheit, der
erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur
Stützung dieser Feststellung**

1. Feststellung

Neuheit	Ja: Ansprüche 1-11 Nein: Ansprüche -
Erfinderische Tätigkeit	Ja: Ansprüche 1-11 Nein: Ansprüche -
Gewerbliche Anwendbarkeit	Ja: Ansprüche: 1-10 Nein: Ansprüche: -

2. Unterlagen und Erklärungen:

siehe Beiblatt

Feld Nr. VI Bestimmte angeführte Unterlagen

- 1. Bestimmte veröffentlichte Unterlagen (Regeln 43bis.1 und 70.10)
und / oder
- 2. Nicht-schriftliche Offenbarungen (Regeln 43bis.1 und 70.9)
siehe Formular 210

Feld Nr. VII Bestimmte Mängel der Internationalen Anmeldung

Es wurde festgestellt, daß die Internationale Anmeldung nach Form oder Inhalt folgende Mängel aufweist:
siehe Beiblatt

Feld Nr. VIII Bestimmte Bemerkungen zur Internationalen Anmeldung

Zur Klarheit der Patentansprüche, der Beschreibung und der Zeichnungen oder zu der Frage, ob die Ansprüche in vollem Umfang durch die Beschreibung gestützt werden, ist folgendes zu bemerken:
siehe Beiblatt

**INFORME ESCRITO DEL
ORGANISMO DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL
(HOJA ADJUNTA)**

Solicitud Internacional
PCT/EP 2005/011383

Con respecto al ítem III

No realización de dictamen alguno sobre novedad, actividad inventiva y aplicabilidad industrial

N.1 La reivindicación 11 se refiere a un objeto que, según criterio de este Organismo, cae bajo la regla PCT 87.1(iv). Por ello no se confecciona ningún informe acerca de la aplicabilidad industrial del objeto de esta reivindicación (artículo PCT 34(4)a)(i)).

Con respecto al ítem V

Declaración fundada con respecto a la novedad, la actividad inventiva y la aplicabilidad industrial; documentos y declaraciones destinadas a apoyar esta resolución.

1. Documentos

Se hace referencia a los siguientes documentos:

D1: WO 2004/099239 A;
D2: Palomo C. et Al.: *Tetrahedron Letters* (2001) Bd. 42, N° 51, pp. 8955-8957
D3: Egner B. J. et Al.: *Tetrahedron* (1997) Bd. 53, N° 41, pp. 14021-14030

1.1 D1 da a conocer lisobactina y sus derivados antibacterianos, los que se destacan por una cadena peptídica N-terminal modificada y manifiestan una tolerancia mejorada (ver reivindicaciones 1, 11 y primer renglón de la página 2). El residuo 3-ter-butil-alanil-3-(3-piridil)-alanilo es una forma de realización preferida de la cadena peptídica N-terminal en lugar del dipéptido Leu-Leu de la sustancia natural (ver ejemplos 69 y 97).

1.2 D2 y D3 dan a conocer lisobactina y sus derivados sencillos para el ensayo de nuevos procedimientos de síntesis (ver: D2, primera columna de página 8955; D4, figura 1 y renglones 3-6 de página 14022).

2. APLICABILIDAD INDUSTRIAL (artículo PCT 33(4))

2.1 Para la evaluación acerca de la cuestión de si son aplicables industrialmente los objetos de la presente reivindicación 11 no existe un criterio unificado en los estados dignatarios del PCT. La patentabilidad puede depender también de la formulación de las reivindicaciones. La Oficina de Patentes Europea, por ejemplo, no reconoce como industrialmente aplicable el objeto de reivindicaciones destinado al uso de un compuesto en tratamientos medicinales, pero permite, no obstante, reivindicaciones de un compuesto novedoso para un primer uso en tratamientos medicinales y el uso de un compuesto de tal tipo en la manufactura de un medicamento destinado a un nuevo tratamiento medicinal.

2.2 Los objetos de las reivindicaciones 1-10 son aplicables industrialmente porque estas reivindicaciones se refieren a compuestos farmacéuticos, medicamentos y procedimientos para su elaboración.

3. NOVEDAD (artículo PCT 33(2)) y ACTIVIDAD INVENTIVA (artículo PCT 33(3))

3.1 Los documentos D2 y D3 (independientemente entre sí) pueden ser considerados como el estado de la técnica más cercano. Los compuestos de las reivindicaciones 1-11 se diferencian de la sustancia natural lisobactina en la cadena peptídica N-terminal, que comprende un residuo 3-(3-piridil)-alanilo en lugar de Leu (ver punto precedente 1.2). El estado de la técnica no revela ningún derivado de lisobactina con tal cadena peptídica N-terminal.

3.1^a El objeto de las reivindicaciones 1-11 es, por ello, novedoso.

3.2 El problema a resolver mediante la presente invención puede ser considerado entonces poner a disposición derivados de lisobactina con actividad antibacteriana y propiedades mejoradas.

**INFORME ESCRITO DEL
ORGANISMO DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL
(HOJA ADJUNTA)**

Solicitud Internacional
PCT/EP 2005/011363

- 3.3 La solución para este problema propuesta en las reivindicaciones 1-11 se refiere a la cadena peptídica N-terminal modificada por el residuo 3-(3-piridil)-alanilo. Esta solución descansa en una actividad inventiva porque conduce a una mejor tolerancia, a una mejor distribución en el cuerpo y a un aumento de la fracción libre sin disminuir la actividad bacteriana. El residuo 3-(3-piridil)-alanilo no fue propuesto en el estado de la técnica para modificar la cadena peptídica N-terminal de lisobactina. Las propiedades mejoradas del antibiótico no pueden ser derivadas del mismo.

**Con respecto al ítem VI
Documentos específicos presentados**

Documentos específicos publicados

Solicitud N° Patente N°	Fecha de publicación (día/mes/año)	Fecha de presentación (día/mes/año)	Fecha de prioridad (reivindicada correctamente) (día/mes/año)
WO 2004/099239	18.11.2004	27.04.2004	09.05.2003

**Con respecto al ítem VII
Carencias específicas de la solicitud Internacional**

- D.1 Contradiendo los requisitos de la regla PCT 5.1 a)ii), en la descripción no se alude al estado de la técnica pertinente revelado en D2 y D3 ni a estos documentos.

**Con respecto al ítem VIII
Observaciones específicas sobre la solicitud Internacional**

C. CLARIDAD (artículo PCT 6)

- C.1 Las reivindicaciones 7 y 8 fueron redactadas como reivindicaciones separadas independientes, pero parecen referirse a un mismo y único objeto. Por este motivo, las reivindicaciones no están redactadas concisamente, sin cumplir por lo tanto los requisitos del artículo PCT 6.

Zu Punkt III

Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit

- N.1 Anspruch 11 beziehen sich auf einen Gegenstand, der nach Auffassung dieser Behörde unter die Regel 67.1 (iv) PCT fällt. Daher wird über die gewerbliche Anwendbarkeit des Gegenstands dieses Anspruchs kein Gutachten erstellt (Artikel 34(4) a) (I) PCT).

Zu Punkt V

Begründete Feststellung hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. DOKUMENTE.

Es wird auf die folgenden Dokumente verwiesen:

D1: WO 2004/099239 A;

D2: Palomo C. et Al., *Tetrahedron Letters* (2001) Bd. 42, Nr. 51, Seiten 8955-8957;

D3: Egner B. J. et Al., *Tetrahedron* (1997) Bd. 53, Nr. 41, Seiten 14021-14030.

- 1.1 D1 offenbart Lysobactin und deren antibakterielle Derivate, die sich durch eine modifizierte N-terminale Peptidkette auszeichnen, und verbesserte Verträglichkeit zeigen (siehe Ansprüche 1, 11 und die erste Zeile auf Seite 2). Der Rest 3-ter-Butyl-alanyl-3-(3-pyridyl)-alanyl ist eine bevorzugte Ausführungsform der N-terminalen Peptidkette anstelle des Leu-Leu Dipeptids des Naturproduktes (siehe Beispiele 69 und 97).
- 1.2 D2 und D3 offenbaren Lysobactin und deren vereinfachte Derivate zur Überprüfung neuer synthetischen Verfahren (siehe: D2, die erste Spalte auf Seite 8955; D3, Abbildung 1 und Zeile 3-6 auf Seite 14022).

2. GEWERBLICHER ANWENDBARKEIT (Art. 33(4) PCT).

- 2.1 Für die Beurteilung der Frage, ob die Gegenstände des vorliegenden Anspruchs 11 gewerblich anwendbar ist, gibt es in den PCT-Vertragsstaaten keine einheitlichen Kriterien. Die Patentierbarkeit kann auch von der Formulierung der Ansprüche abhängen. Das EPA beispielsweise erkennt den Gegenstand von Ansprüchen, die auf die medizinische Anwendung einer Verbindung gerichtet sind, nicht als gewerblich anwendbar an; es können jedoch Ansprüche zugelassen werden, die auf eine bekannte Verbindung zur erstmaligen medizinischen Anwendung und die Verwendung einer solchen Verbindung zur Herstellung eines Arzneimittels für eine neue medizinische Anwendung gerichtet sind (siehe Ansprüche 6-8).
- 2.2 Die Gegenstände der Ansprüche 1-10 sind gewerblich anwendbar, weil diese Ansprüche sich auf pharmazeutische Verbindungen, Arzneimittel und Verfahren zu deren Herstellung beziehen.

3. NEUHEIT (Art. 33(2) PCT) und ERFINDERISCHE TÄTIGKEIT (Art. 33(3) PCT).

- 3.1 Die Dokumente D2 und D3 können (unabhängig von einander) als nächstliegender Stand der Technik angesehen werden. Die Verbindungen der Ansprüche 1-11 unterscheiden sich von dem Naturstoff Lysobactin durch die N-terminalen Peptidkette, die einen 3-(3-pyridyl)-alanyl-Rest statt Leu umfaßt (siehe obigen Punkt 1.2). Der Stand der Technik offenbart kein Lysobactinderivat mit einer solchen N-terminalen Peptidkette.
- 3.1^a Der Gegenstand aller Ansprüche 1-11 ist somit neu.
- 3.2 Die mit der vorliegenden Erfindung zu lösende Aufgabe kann somit darin angesehen werden, Lysobactinderivate mit antibakterieller Wirkung und besseren Eigenschaften bereitzustellen.
- 3.3 Die in den Ansprüchen 1-11 für diese Aufgabe vorgeschlagene Lösung bezieht sich auf die durch den 3-(3-pyridyl)-alanyl-Rest modifizierte N-terminale Peptidkette. Diese

59

**SCHRIFTLICHER BESCHEID
DER INTERNATIONALEN
RECHERCHEBEHÖRDE (BEIBLATT)**

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2005/011363 ✓

Lösung beruht auf einer erfinderischen Tätigkeit, weil sie zu besserer Verträglichkeit, Verteilung im Körper und einer Erhöhung der freien Fraktion ohne Minderung der antibakteriellen Wirkung führt. Der 3-(3-pyridyl)-alanyl-Rest wurde nicht im Stand der Technik zur Modifizierung der N-terminale Peptidkette von Lysobactin vorgeschlagen. Die verbesserten Eigenschaften des Antibiotikums können nicht davon abgeleitet werden.

Zu Punkt VI
Bestimmte angeführte Unterlagen

Bestimmte veröffentlichte Unterlagen

Anmelde Nr. Patent Nr.	Veröffentlichungsdatum (Tag/Monat/Jahr)	Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr)	Prioritätsdatum (zu Recht beansprucht) (Tag/Monat/Jahr)
WO 2004/099239	18.11.2004	27.04.2004	09.05.2003

Zu Punkt VII
Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung

D.1 Im Widerspruch zu den Erfordernissen der Regel 5.1 a) ii) PCT werden in der Beschreibung weder der in den Dokumenten D2 und D3 offenbarte einschlägige Stand der Technik noch diese Dokumente angegeben.

Zu Punkt VIII
Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

C. KLARHEIT (Art. 6 PCT).

C.1 Die Ansprüche 7 und 8 wurden zwar als getrennte, unabhängige Ansprüche

**SCHRIFTLICHER BESCHEID
DER INTERNATIONALEN
RECHERCHEBEHÖRDE (BEIBLATT)**

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2005/011363 ✓

abgefaßt, sie scheinen sich aber tatsächlich auf ein und denselben Gegenstand zu beziehen. Aus diesem Grund sind die Ansprüche nicht knapp gefaßt und erfüllen somit nicht die Erfordernisse des Artikels 6 PCT.

Nonadepsipéptidos acilados como derivados de lisobactina

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

La pared celular bacteriana se sintetiza por una serie de enzimas (biosíntesis de pared celular) y es esencial para la supervivencia o bien la propagación de microorganismos. La estructura de esta macromolécula, al igual que las proteínas participantes en su síntesis, está fuertemente conservada entre las bacterias. A causa de su naturaleza esencial y homogeneidad, la biosíntesis de pared celular es un punto de ataque ideal para nuevos antibióticos (D.W.Green, "The bacterial cell wall as a source of antibacterial targets", Expert Opin. Ther. Targets, 2002, 6, 1-19).

La vancomicina y penicilina son inhibidores de la biosíntesis de pared celular bacteriana y representan ejemplos exitosos de la potencia antibiótica de este principio activo. Se utilizan desde hace decenas de años en clínica para el tratamiento de infecciones bacterianas, ante todo con patógenos gram-positivos. Por la creciente aparición de gérmenes resistentes, por ejemplo, estafilococos resistentes a meticilina, neumococos resistentes a penicilina y enterococos resistentes a vancomicina (F. Baquero, "Gram-positive resistance: challenge for the development of new antibiotics", J. Antimicrob. Chemother., 1997, 39, Suppl A:1-6; A.P. Johnson, D.M. Livermore, G.S. Tillotson, "Antimicrobial susceptibility of Gram-positive bacteria: what's current, what's anticipated?", J. Hosp. Infect., 2001, (49), Supl A: 3-11), así como recientemente también por primera vez estafilococos resistentes a vancomicina (B. Goldrick, "First reported case of VRSA in the United States", Am. J. Nurs., 2002, 102, 17) estas sustancias pierden cada vez más su actividad terapéutica.

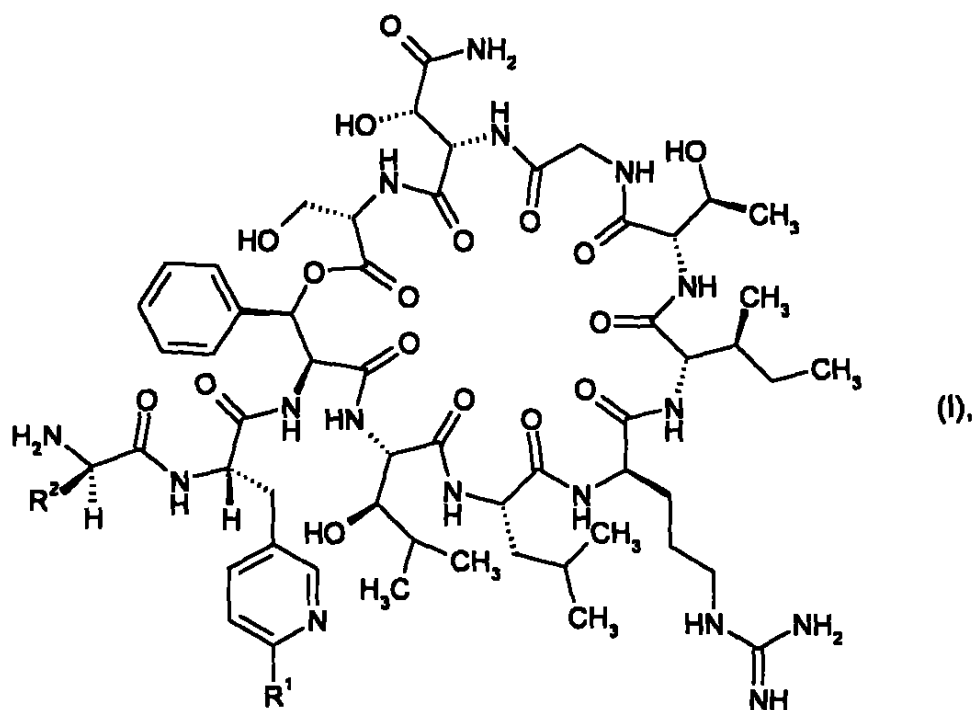
La presente invención describe una nueva clase de inhibidores de la biosíntesis de pared celular sin resistencia cruzada frente a las clases de antibióticos conocidos.

Se describe la sustancia natural lisobactina y algunos derivados como anti-
bacterianos activos en el documento US 4.754.018. Se describen también el ais-
lamiento y actividad antibacteriana de la lisobactina en los documentos EP-A-
196042 y JP 01132600. El documento WO04/099239 describe derivados de liso-
bactina con actividad antibacteriana.

Se describe adicionalmente la actividad antibacteriana de lisobactina y ca-
tanosina A en O'Sullivan, J. *et al.*, J. Antibiot. **1988**, 41, 1740 – 1744, Bonner, D.
P. *et al.*, J. Antibiot. **1988**, 41, 1745 – 1751, Shoji, J. *et al.*, J. Antibiot. **1988**, 41,
713 – 718 y Tymiak, A. A. *et al.*, J. Org. Chem. **1989**, 54, 1149 – 1157.

Es un cometido de la presente invención poner a disposición compuestos
alternativos con actividad antibacteriana comparable o mejorada, mejor tolerancia,
por ejemplo menor nefrotoxicidad, y mejor distribución en el cuerpo, es decir, me-
jores propiedades farmacocinéticas como, por ejemplo, aumento de la fracción
libre (f_u), para el tratamiento de enfermedades bacterianas en personas y anima-
les.

Son objeto de la invención compuestos de fórmula



en la que

R¹ significa hidrógeno y

R² significa 2,2-dimetil-1-butilo, 2-etil-2-metil-1-butilo, 2,2-dietil-1-butilo, 2,2-dimetil-1-pentilo o trimetilsililmetilo,

o

5 R¹ significa trifluorometilo y

R² significa 2,2-dimetil-1-propilo, 2,2-dimetil-1-butilo, 2-etil-2-metil-1-butilo, 2,2-dietil-1-butilo, 2,2-dimetil-1-pentilo o trimetilsililmetilo,

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

Son compuestos según la invención los compuestos de fórmula (I) y sus
10 sales, solvatos, solvatos de las sales y profármacos, los compuestos de las fórmulas citadas a continuación abarcados por la fórmula (I) y sus sales, solvatos, solvatos de las sales y profármacos, así como los compuestos citados a continuación como ejemplos de realización abarcados por la fórmula (I) y sus sales, solvatos, solvatos de las sales y profármacos, a menos que en los compuestos citados a
15 continuación abarcados por la fórmula (I), no se trate ya de sales, solvatos, solvatos de las sales y profármacos.

Los compuestos según la invención pueden existir, dependiendo de su estructura, en formas estereoisoméricas (enantiómeros, diastereómeros). La invención se refiere por tanto a los enantiómeros o diastereómeros o sus respectivas mezclas. A
20 partir de dichas mezclas de enantiómeros y/o diastereómeros pueden aislarse los componentes estereoisoméricos individuales de modo conocido.

En caso de que los compuestos según la invención puedan hallarse en formas tautoméricas, la presente invención abarca todas las formas tautoméricas.

Como sales, se prefieren en el marco de la presente invención sales fisiológicamente inocuas de los compuestos según la invención. Pero están también abar-
25 cadas sales que no son adecuadas para aplicaciones farmacéuticas por sí mismas, pero pueden usarse, por ejemplo, para el aislamiento o purificación de compuestos según la invención o sales mixtas. Por sal mixta en el marco de la presente invención se entiende una sal de adición que contiene dos o más ácidos o bien bases distintos
30 como, por ejemplo, una sal de trifluoroacetato-mesilato.

64

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

Las sales fisiológicamente inocuas de los compuestos según la invención abarcan también sales de bases habituales como, por ejemplo y preferiblemente, sales de metales alcalinos (por ejemplo sales de sodio y potasio), sales de metales alcalinotérreos (por ejemplo, sales de calcio y magnesio) y sales de amonio, derivadas de amoniaco o aminas orgánicas de 1 a 6 átomos de C como, por ejemplo y preferiblemente, etilamina, dietilamina, trietilamina, etildiisopropilamina, monoetanolamina, dietanolamina, trietanolamina, dicitclohexilamina, dimetilaminoetanol, procaína, dibencilamina, *N*-metilmorfolina, arginina, lisina, etilendiamina y *N*-metilpiperidina.

Como solvatos se designan en el marco de la invención aquellas formas de compuestos según la invención que forman un complejo en estado sólido o líquido mediante coordinación con moléculas de disolvente. Los hidratos son una forma especial de solvatos en los que la coordinación se realiza con agua.

20 Se prefieren compuestos de fórmula (I) en la que

R¹ significa hidrógeno y

R² significa 2,2-dimetil-1-butilo o trimetilsililmetilo,

o

R¹ significa trifluorometilo y

25 R² significa 2,2-dimetil-1-propilo, 2,2-dimetil-1-butilo o trimetilsililmetilo, y sus sales, sus solvatos y los solvatos de sus sales.

Se prefieren también compuestos de fórmula (I) en la que

R¹ significa hidrógeno y

30 R² significa 2,2-dimetil-1-butilo, 2-etil-2-metil-1-butilo, 2,2-dietil-1-butilo o trimetilsililmetilo,

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

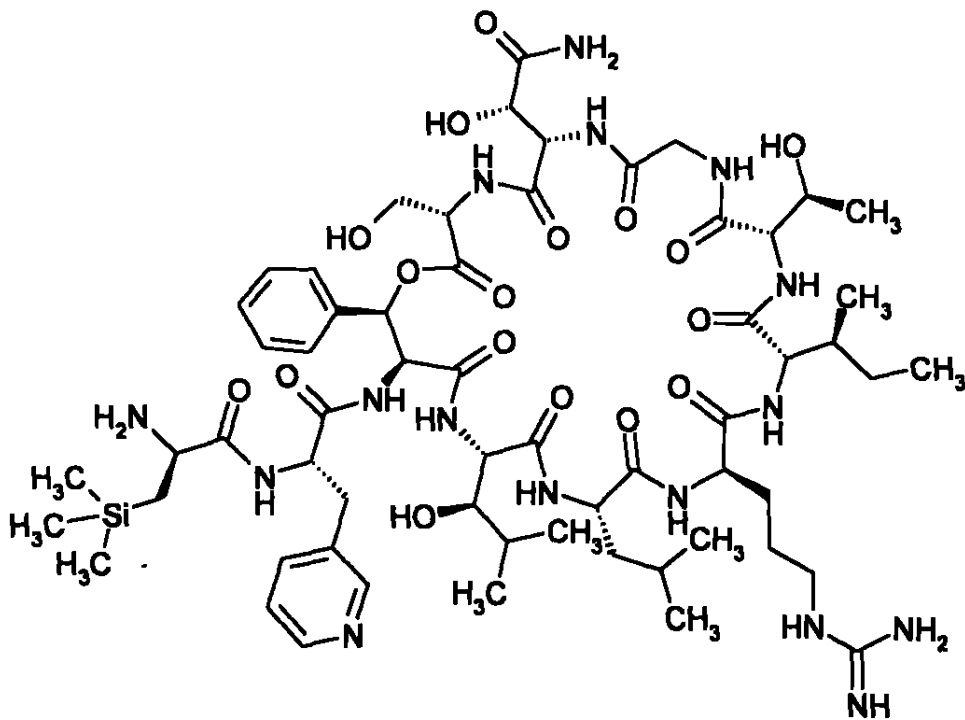
Se prefieren también compuestos de fórmula (I) en la que

R¹ significa hidrógeno y

R² significa 2,2-dimetil-1-butilo, 2-etil-2-metil-1-butilo, 2,2-dietil-1-butilo, 2,2-dimetil-1-pentilo o trimetilsililmetilo.

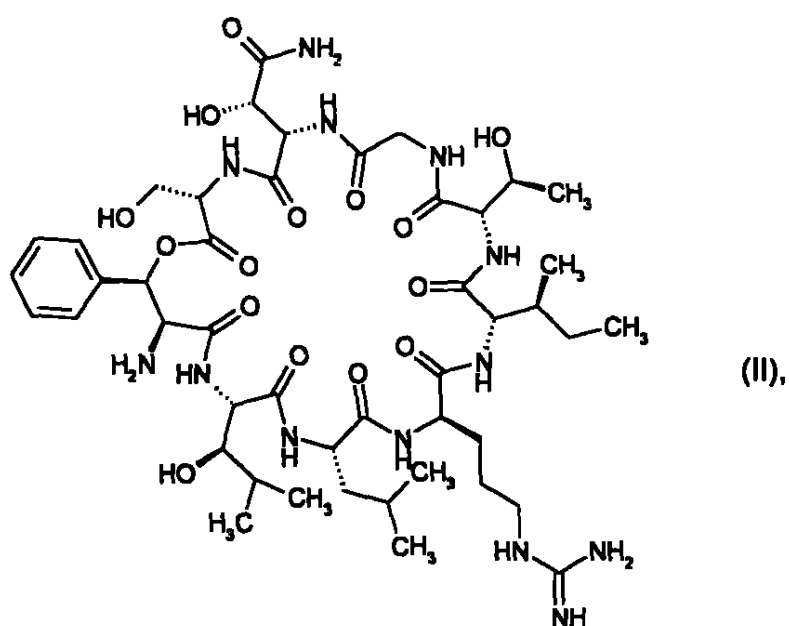
5

Se prefiere especialmente el compuesto 3-(trimetilsilil)-D-alanil-3-(piridin-3-il)-L-alanil-des-(1-D-leucil-2-L-leucil)isobactina

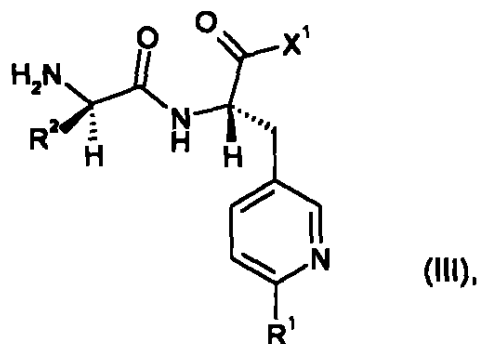


o una de sus sales, sus solvatos o los solvatos de sus sales.

10 Es además objeto de la invención un procedimiento para la preparación de compuestos de fórmulas (I), en el que el compuesto de fórmula



se hace reaccionar con compuestos de fórmula



en la que

5 R^1 y R^2 tienen el significado dado anteriormente, y

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

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

10 Son disolventes inertes, por ejemplo, tetrahidrofurano, cloruro de metileno, piridina, dioxano o dimetilformamida, se prefiere cloruro de metileno o dimetilformamida.

Son bases, por ejemplo, trietilamina, diisopropiletilamina o *N*-metilmorfolina, se prefiere diisopropiletilamina.

15 En caso de que X^1 represente hidroxilo, la reacción se realiza en general en

disolventes inertes en presencia de un reactivo deshidratante, eventualmente en presencia de una base, preferiblemente en un intervalo de temperatura de -30°C a 50°C a presión normal.

Son disolventes inertes, por ejemplo, hidrocarburos halogenados como di-
5 clorometano o triclorometano, hidrocarburos como benceno, nitrometano, dioxano, dimetilformamida o acetonitrilo. Es igualmente posible utilizar mezclas de disolventes. Se prefieren especialmente diclorometano o dimetilformamida.

Como reactivos deshidratantes son adecuados a este respecto, por ejemplo, carbodiimidas como, por ejemplo, *N,N'*-dietil-, *N,N'*-dipropil-, *N,N'*-diisopropil-,
10 *N,N'*-díciclohexilcarbodiimida, clorhidrato de *N*-(3-dimetilaminoisopropil)-*N'*-etilcarbodiimida (EDC), *N*-ciclohexilcarbodiimida-*N'*-propiloximetilpoliestireno (PS-carbodiimida) o compuestos de carbonilo como carbonildiimidazol, o compuestos de 1,2-oxazolio como 3-sulfato de 2-etil-5-fenil-1,2-oxazolio o perclorato de 2-*terc*-butil-5-metiloxazolio, o compuestos acilamino como 2-etoxi-1-etoxicarbonil-1,2-
15 dihidroquinolina, o anhídrido del ácido propanofosfónico, o cloroformiato de isobutilo, o cloruro de bis-(2-oxo-3-oxazolidinil)fosforilo o hexafluorofosfato de benzotriazoliloxitri(dimetilamino)fosfonio, o hexafluorofosfato de *O*-(benzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio (HBTU), tetrafluoroborato de 2-(2-oxo-1-(2H)-piridil)-1,1,3,3-tetrametiluronio (TPTU) o hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-
20 *N,N,N',N'*-tetrametiluronio (HATU), o 1-hidroxibenzotriazol (HOBt), o hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxitris(dimetilamino)fosfonio (BOP), o *N*-hidroxisuccinimida o mezclas de estos, con bases.

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

Preferiblemente, la condensación se lleva a cabo con HATU o con EDC en presencia de HOBt.

Los compuestos de fórmula (III) portan eventualmente grupos protectores,
30 de modo que en estos casos a la reacción del compuesto de fórmula (II) con com-

puestos de fórmula (III) le sigue una separación de los grupos protectores con ácido trifluoroacético según procedimientos conocidos por el experto.

La base libre de las sales de los compuestos de fórmula (I) puede obtenerse, por ejemplo, mediante adición de una base y posterior extracción, precipitación
5 o separación cromatográfica según procedimientos conocidos por el experto. Especialmente, mediante el uso de bases unidas a polímeros como, por ejemplo, hidrogenocarbonato unido a polímero.

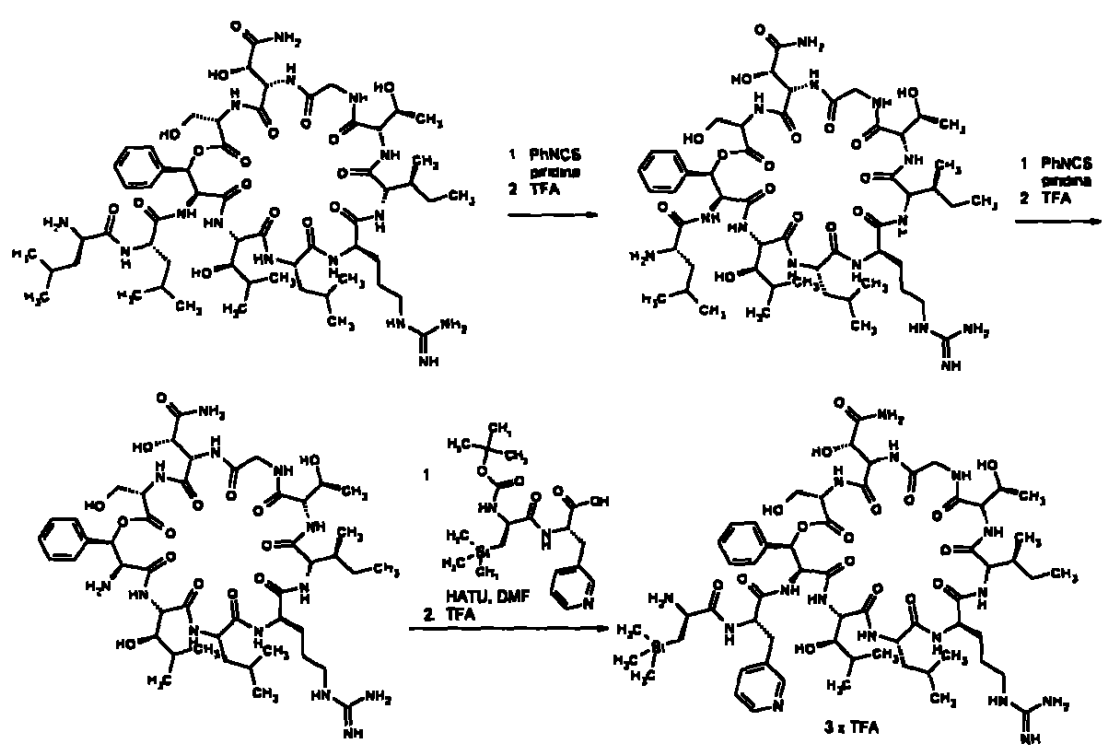
Es un objeto adicional de la invención un procedimiento para la preparación de compuestos de fórmula (I) o sus solvatos según la reivindicación 1, en el que
10 las sales de los compuestos o solvatos de las sales de los compuestos se transforman en los compuestos mediante la adición de una base.

El compuesto de fórmula (II) puede sintetizarse mediante degradación de Edman doble a partir de lisobactina (ejemplo 1A), como se describe en la parte experimental del ejemplo 2A.

15 Los compuestos de fórmula (III) son conocidos o pueden sintetizarse según procedimientos conocidos a partir de los correspondientes reactantes.

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

Esquema de síntesis:



Los compuestos según la invención muestran un espectro farmacológico y farmacocinético de acción valioso no previsible. Muestran una acción antibacteriana.

5 Son adecuados por tanto para uso como medicamentos para el tratamiento y/o la profilaxis de enfermedades en personas y animales.

Los compuestos según la invención se caracterizan por una nefrotoxicidad menor respecto a la de la lisobactina.

Los compuestos según la invención se caracterizan por una mejor farmacocinética respecto a la de la lisobactina. Muestran una mejor distribución en el cuerpo con una acción farmacológica igual o mejorada, lo que tiene como consecuencia una menor dosis terapéutica así como una ventana de tratamiento terapéutico más amplia.

15 Los compuestos según la invención tienen una mayor fracción libre (f_u) en el plasma que la lisobactina.

Los nonadepsipéptidos descritos actúan como inhibidores de la biosíntesis de la pared celular bacteriana.

Son especialmente activos los preparados según la invención frente a bac-

terias y microorganismos similares a bacterias. Por consiguiente, son especialmente buenos para la profilaxis y la quimioterapia de infecciones locales y sistémicas en medicina humana y animal producidas por estos patógenos.

Básicamente, los preparados según la invención pueden usarse contra todas las bacterias y microorganismos similares a bacterias que estén en posesión de una pared celular bacteriana (sáculo de mureína) o bien del sistema enzimático correspondiente, por ejemplo, mediante los siguientes patógenos o mediante mezclas de los siguientes patógenos:

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

La enumeración anterior de patógenos es únicamente ejemplar, y en modo alguno debe interpretarse como limitante. Como enfermedades causadas por los patógenos citados o infecciones mixtas y que pueden impedirse, mejorarse o curarse mediante los preparados según la invención, son de citar, por ejemplo:

Enfermedades infecciosas en personas como, por ejemplo, infecciones de las vías urinarias sin complicaciones y con complicaciones, infecciones dérmicas y superficiales sin complicaciones, infecciones dérmicas y de partes blandas con complicaciones, inflamación pulmonar adquirida en hospital y ambulatoria, neumonías nosocomiales, exacerbaciones agudas e infecciones bacterianas secunda-

71 21

rias de bronquitis crónica, otitis media aguda, sinusitis aguda, faringitis estreptocócica, meningitis bacteriana, uretritis/cervicitis gonocócica y no gonocócica sin complicaciones, prostatitis aguda, endocarditis, infecciones intraabdominales sin complicaciones y con complicaciones, infecciones ginecológicas, enfermedad inflamatoria pélvica, vaginosis bacteriana, osteomielitis aguda y crónica, artritis bacteriana aguda, terapia empírica en pacientes neutropénicos febriles, otras bacteremias, infecciones por MRSA, diarrea infecciosa aguda, infecciones por *Helicobacter pylori*, infecciones postoperatorias, infecciones odontogénicas, infecciones oftalmológicas, infecciones postoperatorias (incluyendo abscesos periproctales, infecciones de heridas, infecciones biliares, mastitis y apendicitis aguda), fibrosis quística y bronquiectasis.

Además de en personas, pueden tratarse infecciones bacterianas también en otras especies. Se citan como ejemplos:

cerdo: diarrea, enterotoxemia, sepsis, disentería, salmonelosis, síndrome de metritis-mastitis-agalactia, mastitis;

rumiantes (vaca, oveja, cabra): diarrea, sepsis, bronconeumonía, salmonelosis, pasteurellosis, infecciones genitales;

caballo: bronconeumonía, parálisis del potro, infecciones puerperales y postpuerperales, salmonelosis;

perros y gatos: bronconeumonía, diarrea, dermatitis, otitis, infecciones de las vías urinarias, prostatitis;

aves (gallina, pavo, codorniz, paloma, aves decorativas y otras): infecciones por *E. coli*, enfermedades crónicas de las vías respiratorias, salmonelosis, pasteurellosis, psitacosis.

Pueden tratarse igualmente enfermedades bacterianas en la cría y mantenimiento de peces útiles y decorativos, en los que el espectro antibacteriano se amplía de los patógenos citados anteriormente a otros patógenos como, por ejemplo, *Pasteurella*, *Brucella*, *Campylobacter*, *Listeria*, *Erysipelothrix*, *Corynebacterium*, *Borellia*, *Treponema*, *Nocardia*, *Rickettsia*, *Yersinia*.

Es otro objeto de la presente invención el uso de los compuestos según la

invención para el tratamiento y/o la profilaxis de enfermedades, especialmente de enfermedades infecciosas bacterianas.

Es otro objeto de la presente invención el uso de compuestos según la invención para el tratamiento y/o la profilaxis de enfermedades, especialmente de
5 las enfermedades anteriormente citadas.

Es otro objeto de la presente invención el uso de los compuestos según la invención para la preparación de un medicamento para el tratamiento y/o la profilaxis de enfermedades, especialmente de las enfermedades anteriormente citadas.

10 Se prefiere usar los compuestos según la invención para la preparación de medicamentos que son adecuados para la profilaxis y/o el tratamiento de enfermedades bacterianas.

Es otro objeto de la presente invención un procedimiento para el tratamiento y/o la profilaxis de enfermedades, especialmente de las enfermedades anteriormente citadas, usando una cantidad antibacterianamente eficaz de los compuestos según la invención.
15

Son objeto adicional de la presente invención medicamentos que contienen al menos un compuesto según la invención y al menos uno o varios principios activos adicionales, especialmente para el tratamiento y/o la profilaxis de las enfermedades anteriormente citadas. Los principios activos de combinación preferidos son compuestos de actividad antibacteriana que tienen un espectro de actividad distinto, especialmente un espectro de actividad complementario de y/o sinérgico con los compuestos según la invención.
20

Los compuestos según la invención pueden actuar sistémica y/o localmente. Con este fin, pueden administrarse de modo adecuado como, por ejemplo, oral, parenteral, pulmonar, nasal, sublingual, lingual, bucal, rectal, dérmico, transdérmico, conjuntival, ótico o como implante o bien prótesis endovascular.
25

Para estos modos de administración, pueden administrarse los compuestos según la invención en formas de administración adecuadas.

30 Para administración oral, son adecuadas formas de administración que

aportan los compuestos según la invención de forma rápida y/o modificada que funcionan según el estado de la técnica, que contienen los compuestos según la invención en forma cristalina y/o amorfa y/o disuelta como, por ejemplo, comprimidos (comprimidos no recubiertos o recubiertos, por ejemplo con recubrimientos
5 resistentes a los ácidos gástricos o recubrimientos de disolución retardada o insolubles que controlan la liberación del compuesto según la invención), comprimidos o películas/oblas de disgregación rápida en la cavidad bucal, películas/líofilizados, cápsulas (por ejemplo cápsulas de gelatina dura o blanda), grageas, gránulos, pellas, polvos, emulsiones, suspensiones, aerosoles o soluciones.

10 La administración parenteral puede tener lugar evitando una etapa de resorción (por ejemplo, intravenosa, intraarterial, intracardiaca, intraespinal o intralumbal) o incluyendo una resorción (por ejemplo, intramuscular, subcutánea, intracutánea, percutánea o intraperitoneal). Para la administración parenteral son adecuados como formas de administración, entre otros, preparados de inyección e
15 infusión en forma de soluciones, suspensiones, emulsiones, líofilizados o polvos estériles.

Para los demás modos de administración son adecuadas, por ejemplo, formas farmacéuticas de inhalación (entre otras, inhaladores de polvo, nebulizadores), gotas, soluciones y pulverizadores nasales; comprimidos, películas/oblas o
20 cápsulas de administración lingual, sublingual o bucal, supositorios, preparaciones oculares o auriculares, cápsulas vaginales, suspensiones acuosas (lociones, mezclas para agitar), suspensiones lipófilas, pomadas, cremas, sistemas terapéuticos transdérmicos (como por ejemplo emplastos), leches, pastas, espumas, polvos finos, implantes o prótesis endovasculares.

25 Los compuestos según la invención pueden transformarse en las formas de administración citadas. Esto puede realizarse de modo en sí conocido mediante mezclado con coadyuvantes inertes no tóxicos farmacéuticamente adecuados. Entre estos coadyuvantes se cuentan, en general, vehículos (por ejemplo celulosa microcristalina, lactosa, manitol), disolventes (por ejemplo polietilenglicoles líqui-
30 dos), emulsionantes y agentes dispersantes o humectantes (por ejemplo dodecil-

74 24

sulfato de sodio, oleato de polioxisorbitán), aglutinantes (por ejemplo polivinilpirrolidona), polímeros sintéticos y naturales (por ejemplo albúmina), estabilizantes (por ejemplo antioxidantes, por ejemplo ácido ascórbico), colorantes (por ejemplo pigmentos inorgánicos como, por ejemplo óxidos de hierro) y correctores del sabor y/u olor.

Son otro objeto de la presente invención medicamentos que contienen al menos un compuesto según la invención, habitualmente junto con uno o varios coadyuvantes inertes no tóxicos farmacéuticamente adecuados, así como su uso para los fines citados anteriormente.

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

A pesar de ello puede ser eventualmente necesario desviarse de las cantidades citadas, dependiendo por supuesto del peso corporal, modo de administración, comportamiento individual frente al principio activo, tipo de preparado y punto o intervalo temporal en el que se realiza la administración. Así, en algunos casos puede ser suficiente con menos de la cantidad mínima anteriormente citada, mientras que en otros casos deben superarse los límites superiores citados. En caso de administración de cantidades mayores, puede ser aconsejable distribuir éstas en varias tomas individuales a lo largo del día.

Los datos de porcentajes en los siguientes ensayos y ejemplos son porcentajes en peso, a menos que se indique otra cosa; las partes son partes en peso. Las relaciones de disolventes, relaciones de dilución y datos de concentración de soluciones líquido/líquido se refieren respectivamente al volumen.

A. Ejemplos

Abreviaturas

28

Gen	general
Área	superficie (de pico)
calc.	calculado
BHI	infusión de cerebro-corazón
Boc	<i>tert</i> -butiloxicarbonilo
A	señal amplia (en espectros de RMN)
Ej.	ejemplo
D	doblete (en espectros de RMN)
TLC	cromatografía en capa fina
DCI	ionización química directa (en EM)
DCM	diclorometano
DIEA	<i>N,N</i> -diisopropiletilamina
DMAP	4- <i>N,N</i> -dimetilaminopiridina
DMSO	dimetilsulfóxido
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
d. t.	del teórico
EDC	1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (también EDCI)
EDCxHCl	clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida
AcOEt	acetato de etilo
EI	ionización por choque de electrones (en EM)
ESI	ionización por electropulverización (en EM)
ESIneg	análisis aniónico en espectroscopía de masas ESI
ESIpos	análisis catiónico en espectroscopía de masas ESI
Pf.	punto de fusión
enc.	encontrado
sat.	saturado
H	hora(s)
HATU	Hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)- <i>N,N,N',N'</i> -tetrametiluronio

HOBt	1-Hidroxibenzotriazol
HPLC	cromatografía líquida de alta presión/alta resolución
AR	alta resolución (High Resolution)
a. v.	a vacío
conc.	concentrado
EM-CL	cromatografía líquida acoplada a espectroscopía de masas
LDA	diisopropilamido de litio
M	medio (en espectros UV y IR)
M	multiplete (en espectros de RMN)
MALDI	desorción/ionización láser auxiliada por matriz
CMI	concentración mínima inhibidora
Min	minuto/minutos
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina
EM	espectroscopía de masas
NCCLS	National Committee for Clinical Laboratory Standards
neg.	negativo
NMM	N-metilmorfolina
RMN	espectroscopía de resonancia nuclear (resonancia magnética nuclear)
p.a.	para análisis
Pd	paladio
Pd-C	paladio sobre carbono
pos.	positivo
%	porcentual
PTFE	politetrafluoretileno
cuant.	cuantitativo
HPLC-FI	HPLC en fase inversa
TA	temperatura ambiente

77*

T _R	tiempo de retención (en HPLC)
f	fuerte (en espectros UV e IR)
s	singlete (en espectros de RMN)
TBTU	tetrafluoroborato de O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio
TCTU	tetrafluoroborato de O-(1H-6-clorobenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio
TFA	ácido trifluoroacético
TFE	2,2,2-trifluoroetanol
THF	tetrahidrofurano
TOF	tiempo de vuelo (time of flight)
UV	ultravioleta
Vis	visible
VRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a vancomicina
d	débil (en espectros UV e IR)
ac.	acuoso(s)
Z, Cbz	benciloxicarbonilo

Bibliografía

Para la nomenclatura de los péptidos y ciclodepsipéptidos véanse:

1. A Guide to IUPAC Nomenclature of Organic Compounds (Recommendations 1993), 1993, Blackwell Scientific publications.
2. Nomenclature and symbolism for amino acids and peptides. Recommendations 1983. IUPAC-IUB Joint Commission on Biochemical Nomenclature, UK. *Biochemical Journal* 1984, 219, 345–373, así como la bibliografía citada.

10 Procedimientos generales de EM-CG, EM-LC, EM-AR, HPLC y cromatografía sobre gel

Procedimiento 1 (EM-AR-TOF): Se recogen los espectros *EM-AR-TOF-ESI+* con un aparato Micromass LCT (tensión capilar: 3,2 kV, tensión de cono: 42 V, tempe-

ratura de fuente: 120°C, temperatura de desolvatación: 280°C). Para ello, se usa una bomba de inyección (compañía Harvard Apparatus) para la alimentación de muestra. Como patrón sirve leucina-enkefalina (Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu).

Procedimiento 2 (HPLC preparativa): aparato: HPLC Gilson Abimed; detector UV a 210 nm; sistema binario de bomba; columna: Waters Symmetry-Prep™ C₁₈, 7 µm, 300 x 19 mm; eluyente A: 0,2% de ácido trifluoroacético en agua, eluyente B: acetonitrilo; caudal: 25 ml/min; temperatura de columna: TA; 0 min 20% de B, pendiente de 0-10 min 70% de B, pendiente de 10-10,1 min 20% de B, 15 min 20% de B.

Procedimiento 3 (cromatografía sobre gel en Sephadex LH-20): La cromatografía sobre gel se lleva a cabo sin presión en Sephadex LH-20 (compañía Pharmacia). Se fracciona según la actividad UV (detector UV para 254 nm, compañía Knauer) (recolector de fracciones ISCO Foxy 200). Dimensiones de columna: 32 x 7 cm (escala 1000–100 µmol); 30 x 4 cm (escala 100–10 µmol); 25 x 2 cm (escala 10–1 µmol). A las escalas 1 mmol a 11 mmol se usa una columna de dimensión 80 x 30 cm. En este caso, las fracciones se reúnen manualmente y sin detector de UV preconectado. La asignación de las fracciones se realiza mediante HPLC (procedimiento 9).

Procedimiento 4 (HPLC preparativa; Kromasil, ácido acético): aparato: HPLC Gilson Abimed; detector UV a 210 nm; sistema binario de bomba; columna: Kromasil-100A C₁₈, 5 µm; 250 x 20 mm; flujo: 25 ml/min; eluyente A: agua/0,25-0,5% de ácido acético, eluyente B: acetonitrilo; gradiente: 0-3 min 5% de B, 3-30 min 5-100% de B, 30-38 min 100% de B, a continuación regeneración de la columna cromatográfica.

Procedimiento 5 (EM-LC): Instrumento: Micromass Quattro LCZ con HPLC Agilent Serie 1100; columna: Phenomenex Synergi 2µ Hydro-RP Mercury 20 mm x 4 mm; eluyente A: 1 l de agua + 0,5 ml de ácido fórmico al 50%, eluyente B: 1 l de acetonitrilo + 0,5 ml de ácido fórmico al 50%; gradiente: 0,0 min 90% de A → 2,5 min 30% de A → 3,0 min 5% de A → 4,5 min 5% de A; flujo: 0,0 min 1 ml/min, 2,5 min/3,0 min/4,5 min 2 ml/min; estufa: 50°C; detección UV: 208- 400 nm.

29*

Procedimiento 6 (EM-LC): tipo de aparato de EM: Micromass ZQ; tipo de aparato de HPLC: Waters Alliance 2795; columna: Phenomenex Synergi 2 μ Hydro-RP Mercury 20 mm x 4 mm; eluyente A: 1 l de agua + 0,5 ml de ácido fórmico al 50%, eluyente B: 1 l de acetonitrilo + 0,5 ml de ácido fórmico al 50%; gradiente: 0,0 min 90% de A $\rightarrow$ 2,5 min 30% de A $\rightarrow$ 3,0 min 5% de A $\rightarrow$ 4,5 min 5% de A; flujo: 0,0 min 1 ml/min, 2,5 min/3,0 min/4,5 min 2 ml/min; estufa: 50°C; detección UV: 210 nm.

Procedimiento 7 (EM-LC): tipo de aparato de EM: Micromass ZQ; tipo de aparato de HPLC: HP 1100 Series; UV DAD; columna: Phenomenex Synergi 2 μ Hydro-RP Mercury 20 mm x 4 mm; eluyente A: 1 l de agua + 0,5 ml de ácido fórmico al 50%, eluyente B: 1 l de acetonitrilo + 0,5 ml de ácido fórmico al 50%; gradiente: 0,0 min 90% de A $\rightarrow$ 2,5 min 30% de A $\rightarrow$ 3,0 min 5% de A $\rightarrow$ 4,5 min 5% de A; flujo: 0,0 min 1 ml/min, 2,5 min/3,0 min/4,5 min. 2 ml/min; estufa: 50°C; detección UV: 210 nm.

Procedimiento 8 (HPLC analítica): tipo de aparato de HPLC: HP 1050 Series; UV DAD 1100 Series; columna: Kromasil C₁₈, 60 x 2 mm, 3,5 μ m; eluyente A: agua/0,5% de ácido perclórico, eluyente B: acetonitrilo; gradiente: 0–0,5 min 2% de B, 0,5–4,5 min 2–90% de B, 4,5–9,0 min 90% de B, 9,0–9,2 min 90–2% de B, 9,2–10,0 min 2% de B; flujo: 0,75 ml/min, estufa: 30°C, detección UV a 210 nm.

Procedimiento 9 (HPLC analítica, Agilent Zorbax C₈): aparato: Agilent 1100 con DAD (G1315B), bomba binaria (G1312A), automuestreador (G1313A), desgasificador de disolvente (G1379A) y termostato de columna (G1316A); columna: Agilent Zorbax Eclipse XDB-C8 4,6 x 150 x 5 mm; eluyente A: 0,05% de ácido perclórico al 70% en agua; eluyente B: acetonitrilo; gradiente: 0–1 min 10% de B, pendiente, 4–5 min 90% de B, pendiente, 5,5 min 10% de B; flujo: 2,00 ml/min; temperatura de columna: 30°C.

Procedimiento 10 (cromatografía sobre gel en Sephadex LH-20): Se lleva a cabo la cromatografía sobre gel en Sephadex LH-20 (compañía Pharmacia). Se fracciona según la actividad UV (detector UV para 254 nm, compañía Knauer) (recolector de fracciones ISCO Foxy 200). Dimensiones de columna: 32 x 7 cm (es-

cala 1000–100 μ mol); 30 x 4 cm (escala 100–10 μ mol); 25 x 2 cm (escala 10–1 μ mol).

Procedimiento 11 (HPLC preparativa Symmetry): aparato: HPLC Gilson Abimed; sistema binario de bomba: SymmetryPrepTM C₁₈, compañía Waters, 7 μ m; 5 300 mm x 19 mm; eluyente A: agua/0,2% de ácido trifluoroacético, eluyente B: acetonitrilo; gradiente: 0-10 min 15-65% de B, a continuación regeneración de la columna cromatográfica; flujo: 25 ml/min; detección UV a 210 nm.

Procedimiento 12 (HPLC preparativa Kromasil): aparato: HPLC Gilson Abimed; sistema binario de bomba; columna: Kromasil C₁₈, 5 μ m, 100 Å, 250 x 20 mm; elu- 10 yente A: 0,05% de ácido trifluoroacético en agua, eluyente B: 0,05% de ácido trifluoroacético en acetonitrilo; gradiente: 0-3 min 10% de B, pendiente, 30-38 min 90% de B, 38-45 min 10% de B; flujo: 20 ml/min; detección UV a 210 nm.

Procedimiento 13 (HPLC preparativa Waters Symmetry): aparato: HPLC Gilson Abimed; sistema binario de bomba; columna: Waters Symmetry-PrepTM C₁₈, 7 μ m, 15 300 x 19 mm; eluyente A: 0,05% de ácido trifluoroacético en agua, eluyente B: 0,05% de ácido trifluoroacético en acetonitrilo; gradiente: 0-3 min 10% de B, pendiente, 30-38 min 90% de B, 38-45 min 10% de B; flujo: 20 ml/min; detección UV a 210 nm.

Procedimiento 14 (HPLC preparativa): aparato: HPLC Gilson Abimed; sistema 20 binario de bomba; columna: Waters Symmetry-PrepTM C₁₈, 7 μ m, 300 x 19 mm; eluyente A: agua/0,2% de ácido trifluoroacético, eluyente B: acetonitrilo; gradiente: 0-10 min 25-65% de B, a continuación regeneración de la columna cromatográfica; flujo: 25 ml/min; detección UV a 210 nm.

Procedimiento 15 (HPLC quiral Daicel Chiralpak): HPLC Agilent 1100; columna: 25 Daicel Chiralpak AD-H 5 μ m; 250 x 20 mm; isocrático: 75% de *iso*-hexano, 25% de 2-propanol con 0,2% de ácido trifluoroacético y 1% de agua; flujo: 1,0 ml/min; estufa: 25°C; detector UV a 212 nm.

Procedimiento 16 (HPLC preparativa): aparato: HPLC Gilson Abimed; sistema binario de bomba; columna: YMC ODS-AQ 5 μ m, 250 x 30 mm; eluyente A: 0,05% 30 de ácido trifluoroacético en agua, eluyente B: 0,05% de ácido trifluoroacético en

acetonitrilo; gradiente: 0-3 min 10% de B, pendiente, 30-38 min 90% de B, 38-45 min 10% de B; flujo: 50 ml/min; detector UV a 210 nm.

Procedimiento 17 (EM-CG): Instrumento: Micromass GCT, GC6890; columna: Restek RTX-35MS, 30 m x 250 μ m x 0.25 μ m; gradiente: 60°C (mantener 0,30 min), 50°C/min $\rightarrow$ 120°C, 16°C/min $\rightarrow$ 250°C, 30°C/min $\rightarrow$ 300°C (mantener 1,7 min); flujo constante con helio: 0,88 ml/min; estufa: 60°C; entrada: 250°C.

Procedimiento 18 (HPLC): tipo de aparato HPLC: HP 1100 Series; columna UV DAD: Zorbax Eclipse XBD-C8 (Agilent), 150 mm x 4,6 mm, 5 μ m; eluyente A: 5 ml HClO₄/l agua, eluyente B: acetonitrilo; gradiente: 0-1 min 10% de B, 1-4 min 10-90% de B, 4-5 min 90% de B; flujo: 2,0 ml/min; estufa: 30°C; detección UV: 210 y 254 nm.

Procedimiento 19 (HPLC): columna: Kromasil RP-18, 60 mm x 2 mm, 3,5 μ m; eluyente A: 5 ml HClO₄/l agua, eluyente B: acetonitrilo; gradiente: 0 min 2% de B, 0,5 min 2% de B, 4,5 min 90% de B, 9 min 90% de B; flujo: 0,75 ml/min; estufa: 30°C; detección UV: 210 nm.

Procedimiento 20 (HPLC): columna: Kromasil RP-18, 250 mm x 4 mm, 5 μ m; eluyente A: 5 ml HClO₄/l agua, eluyente B: acetonitrilo; gradiente: 0 min 5% de B, 10 min 95% de B; flujo: 1 ml/min; estufa: 40°C; detección UV: 210 nm.

Procedimiento 21 (HPLC): columna: Kromasil RP-18, 250 mm x 4 mm, 5 μ m; eluyente A: 2 ml HClO₄/l agua, eluyente B: acetonitrilo; isocrático: 45% de B, 55% de A; flujo: 1 ml/min; estufa: 40°C; detección UV: 210 nm.

Procedimiento 22 (EM-LC): tipo de aparato de EM: Micromass ZQ; tipo de aparato de HPLC: HP 1100 Series; UV DAD; columna: Grom-Sil 120 ODS-4 HE 50 x 2 mm, 3,0 μ m; eluyente A: agua/0,025% de ácido fórmico/l, eluyente B: acetonitrilo/0,025% de ácido fórmico; gradiente: 0-2,9 min 0-70% de B, 2,9-3,1 min 70-90% de B, 3,1-4,5 min 70-90% de B; estufa: 50°C, flujo: 0,8 ml/min, detección UV: 210 nm.

Procedimiento 23 (HPLC): tipo de aparato de HPLC: HP 1050 Series; UV DAD 1100 Series; columna SymmetryPrep™C₁₈, compañía Waters, 50 x 2,1 mm, 3,5 μ m; eluyente A: agua/0,05% de ácido trifluoroacético, eluyente B: acetonitrilo;

gradiente: 0-9 min 0-100% de B, 9-11 min 100% de B, 11-12 min 100-0% de B, a continuación regeneración de la columna cromatográfica; estufa: 40°C, flujo: 0,4 ml/min, detección UV: 210 nm.

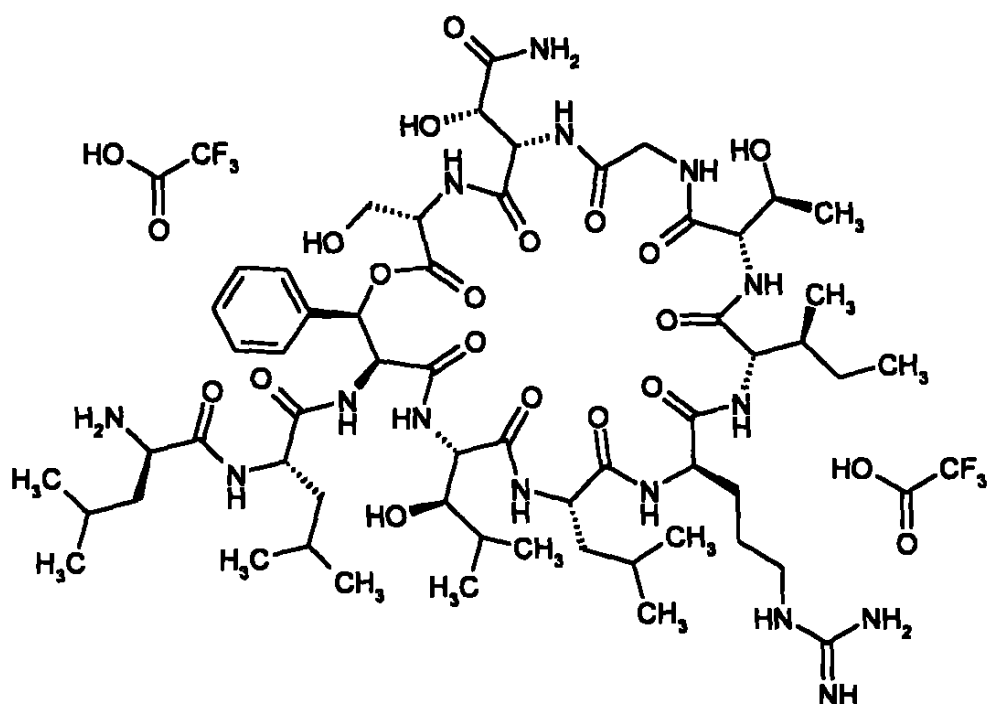
Procedimiento 24 (espectroscopía ^{19}F -RMN cuantitativa): Se disuelven
5 aproximadamente 10 mg pesados exactamente de sustancia de muestra y
aproximadamente 20 mg pesados exactamente de 1,4-dibromotetrafluorobenceno
en piridina, y se mide espectroscópicamente la ^{19}F -RMN. Se integran y comparan
 δ - 74 (TFA) y -132,0 (1,4-dibromotetrafluorobenceno). El contenido de TFA se da
en % de TFA de la masa de sustancia de muestra.

10 **Procedimiento 25 (cromatografía iónica):** Sistema de cromatografía iónica con
sistema supresor y detector de conductividad; precolumna: A SUPP 4/5 Guard,
columna de separación: A SUPP 5 4,0 x 250 mm; eluyente: carbonato de sodio 3,2
mM e hidrogenocarbonato de sodio 2,4 mM en agua; flujo: 0,7 ml/min. Se disuelve
la muestra en metanol (20% del volumen de muestra final), se trata con baño de
15 ultrasonidos durante 3 minutos y se rellena con agua. Se filtra la muestra a través
de un filtro de acetato de celulosa exento de iones (poro 0,45 μm) y se inyecta.
Cuantificación frente a patrones externos (0,5 mg/l - 10 mg/l).

Compuestos de partida

20 **Ejemplo 1A**

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



Fermentación:

Medio de cultivo:

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

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

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

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

15 Fermentación en 30 l: Se utilizan 300 ml de la fermentación en matraz (medio HPM) para inoculación en 30 l de una solución de medio nutriente estéril (1 ml de antiespumante SAG 5693/l). Se deja crecer este cultivo durante 21 horas a 28°C a 300 rpm y una ventilación con aire estéril de 0,3 vvm. Se mantiene constante el pH con ácido clorhídrico 1 M a pH = 7,2. En total, se alimentan durante el tiempo de cultivo 880 ml de ácido clorhídrico 1 M.

Cultivo principal (200 L): Se inoculan 15 x 150 ml de medio YM en matraces Er-

lenmeyer de 1 l con 2 ml de conserva de trabajo, y se dejan crecer a 28°C durante 48 horas y a 240 rpm en agitador. Se utilizan 2250 ml de este cultivo para inoculación en 200 l de una solución de medio nutriente estéril (YM) (1 ml de antiespumante SAG 5693/l) y se deja crecer durante 18,5 horas a 28°C, 150 rpm y una ventilación con aire estéril de 0,3 vvm.

Para el control del desarrollo de la fermentación, se toman muestras cada hora (50 ml). Se mezclan 2 ml de este caldo de cultivo con 1 ml de metanol (0,5% de ácido trifluoroacético) y se filtran a través de un filtro de 0,45 µm. Se analizan 30 µl de esta suspensión mediante HPLC (procedimiento 18 y procedimiento 19).

Después de 18,5 horas, se separa el caldo de cultivo del cultivo principal a 17.000 rpm en sobrenadante y sedimento.

Aislamiento:

Se ajusta el sobrenadante (183 l) con ácido trifluoroacético concentrado o lejía de sosa a pH 6,5-7, y se aplica sobre una columna Lewapol (OC 1064, 60 l de contenido). A continuación, se eluye con agua pura, agua/metanol 1:1 y a continuación con metanol puro (con 0,1% de ácido trifluoroacético). Se concentra esta fase orgánica a vacío hasta un resto acuoso restante de 11,5 l.

Se une la fase acuosa restante a gel de sílice C₁₈ y se separa (MPLC, Biotage Flash 75, 75 x 30 cm, KP-C18-WP, 15-20 µm, flujo: 30 ml; eluyente: acetonitrilo/agua con 0,1% de ácido trifluoroacético; gradiente: 10%, 15% y 40% de acetonitrilo). La fase de 40% de acetonitrilo, que contiene la cantidad principal de ejemplo 1A, se concentra a vacío y a continuación se liofiliza (aprox. 13 g). Se separa esta mezcla sólida en porciones de 1,2 g en primer lugar en una HPLC preparativa (procedimiento 7), a continuación mediante filtración en gel en Sephadex LH-20 (5 x 70 cm, acetonitrilo/agua 1:1, respectivamente con 0,05% de ácido trifluoroacético) y una HPLC preparativa adicional (procedimiento 20).

Este procedimiento proporciona 2250 mg del ejemplo 1A.

Se recoge el sedimento en 4 l de acetona/agua 4:1, se mezcla con 2 kg de Celite, se ajusta a pH= 6 con ácido trifluoroacético, se agita y se centrifuga. Se concentra el disolvente a vacío y se liofiliza el residuo. Se recoge el liofilizado ob-

tenido (89,9 g) en metanol, se separa por filtración, se concentra y se separa en gel de sílice (procedimiento 21). Se purifica después el ejemplo 1A mediante filtración en gel (Sephadex LH-20, 5 x 68 cm, agua/acetonitrilo 9:1 (con 0,05% de ácido trifluoroacético), flujo: 2,7 ml/min, tamaño de fracción: 13,5 ml) hasta una sustancia pura.

Este procedimiento proporciona 447 mg del ejemplo 1A.

HPLC (procedimiento 18): $T_R = 6,19$ min

EM (ESIpos): $m/z = 1277$ (M+H)⁺

¹H-RMN (500,13 MHz, d_6 -DMSO): $\delta = 0,75$ (d, 3H), 0,78 (d, 6H), 0,80 (t, 3H), 0,82 (d, 3H), 0,90 (d, 3H), 0,91 (d, 3H), 0,92 (d, 3H), 0,95 (d, 3H), 0,96 (d, 3H), 1,05 (m, 1H), 1,19 (d, 3H), 1,25 (m, 2H), 1,50 (m, 4H), 1,51 (m, 2H), 1,55 (m, 1H), 1,61 (m, 1H), 1,65 (m, 1H), 1,84 (m, 1H), 1,85 (m, 1H), 1,86 (m, 1H), 1,89 (m, 1H), 1,95 (m, 1H), 2,75 (m, 2H), 3,40 (m, 1H), 3,52 (m, 2H), 3,53 (dd, 1H), 3,64 (m, 2H), 3,66 (m, 1H), 3,68 (dd, 1H), 3,73 (m, 2H), 4,00 (dd, 1H), 4,02 (a, 1H), 4,13 (a, 1H), 4,32 (dd, 1H), 4,39 (t, 1H), 4,55 (m, 1H), 4,75 (dd, 1H), 5,19 (t, 1H), 5,29 (d, 1H), 5,30 (a, 1H), 5,58 (m, 2H), 6,68 (m, 3H), 6,89 (d, 1H), 6,93 (m, 3H), 6,94 (a, 1H), 6,98 (d, 1H), 7,12 (a, 1H), 7,20 (a, 2H), 7,23 (m, 2H), 7,42 (m, 2H), 7,54 (d, 1H), 7,58 (d, 1H), 8,32 (a, 1H), 9,18 (a, 1H), 9,20 (m, 2H), 9,50 (a, 1H).

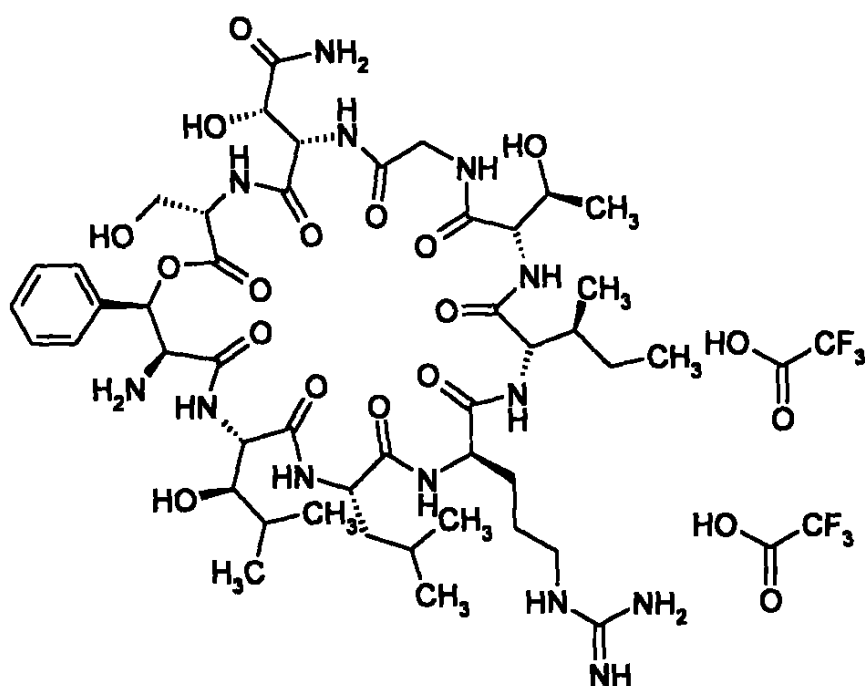
¹³C-RMN (125,77 MHz, d_6 -DMSO): $\delta = 10,3, 15,3, 19,0, 19,2, 19,6, 20,0, 20,9, 22,0, 22,4, 23,0, 23,2, 24,3, 24,4, 25,0, 25,4, 26,0, 27,8, 30,9, 35,4, 39,5, 40,8, 40,9, 41,6, 44,1, 51,5, 52,7, 55,9, 56,2, 56,4, 57,9, 58,8, 60,2, 61,1, 62,6, 70,1, 71,6, 71,7, 75,5, 128,1, 128,6, 136,7, 156,8, 168,2,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

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

Ejemplo 2A

Bis-trifluoroacetato de des-(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina (*producto de degradación de Edman*²⁰)

86



Se disuelve bistrifluoroacetato de lisobactina (60,0 g, 39,88 mmol) en piridina (840 ml) en atmósfera de argón. Después, se añade isotiocianato de fenilo (32,35 g, 239,28 mmol, 6 equivalentes) y se agita la mezcla de reacción a 37°C durante 7 h. A continuación, se separa por destilación el disolvente en rotavapor a 40°C de temperatura de baño. Se mezcla el residuo con metil-*tert*-butiléter (1400 ml) y se agita fuertemente durante 30 min. Después, se separa por filtración con succión a través de una frita de vidrio (porosidad 3, diámetro 13 cm). Se aísla el producto intermedio (producto de degradación de Edman^{6,5}) con un rendimiento
5
bruto de 72 g y se hace reaccionar sin procesamiento.

Para ello, se disuelve el producto bruto en ácido trifluoroacético (1026 ml) en atmósfera de argón y se agita durante 30 min a TA. Después, se concentra la solución en rotavapor a vacío a 20°C de temperatura de baño. Se recoge el residuo con metil-*tert*-butiléter (1400 ml) y se agita fuertemente hasta que se forma un sólido amorfo en forma de polvo. Se separa éste por filtración a vacío a través de una frita (porosidad 3, diámetro 18 cm). Se agita el sólido entonces con dietiléter (1400 ml) y se separa de nuevo por filtración. Se repite este procedimiento con 2 porciones de diclorometano (de 900 ml cada una). Se seca el producto bruto a vacío. Se obtienen 58 g de bistrifluoroacetato de des-(1-D-leucil)lisobactina bruto
15

37

(producto de degradación de Edman^{1,6}).

Se disuelve el producto bruto sin purificación adicional en piridina (1080 ml) en atmósfera de argón. Después, se añade isotiocianato de fenilo (107 g, 0,80 mol, 20 equivalentes) y se agita la mezcla de reacción a 37 a 40°C durante 7 horas. A continuación, se separa por destilación el disolvente en rotavapor a 40°C de temperatura de baño. Se mezcla el residuo con metil-terc-butiléter (1400 ml) y se agita fuertemente. Después, se separa por filtración con succión a través de una frita de vidrio (porosidad 3, diámetro 13 cm). Se alisa el producto intermedio (producto de degradación de Edman^{1,5}) con un rendimiento bruto de 65 g y, después del secado a vacío en bomba de aceite, se disuelve directamente en atmósfera de argón en ácido trifluoroacético (1240 ml) y se agita durante 30 min a TA. Después, se concentra la solución en rotavapor a vacío a 20°C de temperatura de baño. Se recoge el residuo con metil-terc-butiléter (1400 ml) y se agita hasta que se forma un sólido amorfo en forma de polvo. Se separa éste por filtración a vacío a través de una frita (porosidad 3, diámetro 18 cm). Se agita entonces en primer lugar el sólido con dietiléter (1400 ml), después con diclorometano (1400 ml), y se separa por filtración respectivamente. Se obtienen 55 g del producto bruto. Se purifica éste mediante HPLC preparativa (procedimiento 14). Se obtienen 28,55 g (56% d. t.) del compuesto del título.

HPLC/UV-Vis (procedimiento 23): $T_R = 4,71$ min,

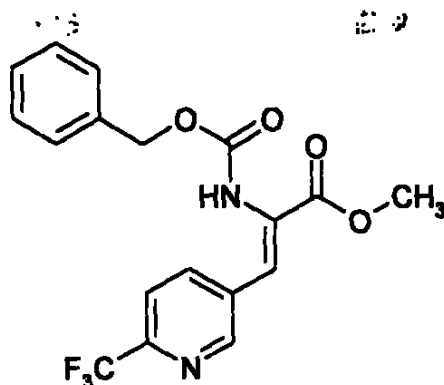
λ_{max} (cualitativo) = 220 nm (s), 255–270 (d).

EM-CL(procedimiento 22): $T_R = 1,65$ min;

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

Ejemplo 3A

Éster metílico del ácido (2Z)-2-([(benciloxi)carbonil]amino)-3-(6-trifluorometilpiridin-3-il)acrílico



Se disuelven en THF (70 ml) 6-trifluorometilpiridin-3-carbaldehído (4,85 g, 27,70 mmol) y $\{[(\text{benciloxi})\text{carbonil}]\text{amino}\}(\text{dimetoxifosforil})\text{acetato}$ de metilo (9,17 g, 27,70 mmol, 1,0 equivalentes) y se enfría a -70°C . Se añade lentamente
 5 gota a gota a -70°C *N,N,N,N*-tetrametilguanidina (6,38 g, 55,39 mmol, 6,95 ml, 2,0 equivalentes) y después se agita durante 4 h a -70°C , a continuación durante 12 h a TA. Se concentra la mezcla de reacción, después se agita con acetato de etilo (2 x 100 ml) frente a agua, se lavan las fases orgánicas combinadas con una solución saturada de sal común y se secan sobre sulfato de sodio. Después de
 10 concentración a vacío, se purifica por cromatografía el producto bruto (gel de sílice, eluyente: tolueno, después tolueno/acetato de etilo 10:1). Se obtienen 6,93 g (66% d. t.) del compuesto del título.

HPLC/UV-Vis (procedimiento 8): $T_R = 4,60$ min.

HPLC/UV-Vis (procedimiento 9): $T_R = 4,54$ min.

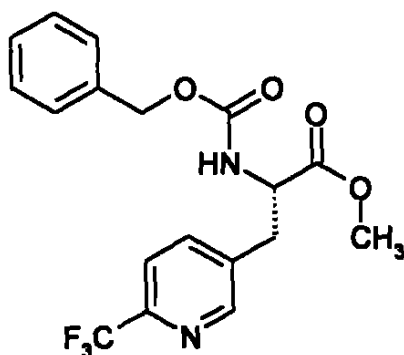
15 ^1H -RMN (400 MHz, d_6 -DMSO): $\delta = 3,74$ (s, 3H, OMe), 5,10 (s, 2H, CH_2), 7,27 (s, 1H, PirH), 7,33-7,38 (m, 5H, ArH), 7,94 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H, PirH), 8,27 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H, PirH), 8,93 (s, 1H, β -CH), 9,51 (s, 1H, NH).

EM-CL(procedimiento 7): $T_R = 2,44$ min; EM (ESIpos.): m/z (%) = 381 (100) $[\text{M} + \text{H}]^+$; EM (ESIneg.): m/z (%) = 379 (100) $[\text{M} - \text{H}]^-$.

20 EM-AR-TOF (procedimiento 1): $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4\text{F}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ calc. 381,1062, enc. 381,1065.

Ejemplo 4A

Éster metílico de *N*-[(benciloxi)carbonil]-3-(6-trifluorometilpiridin-3-il)-L-alanina



Se disuelve el compuesto del ejemplo 3A (10,15 g, 26,69 mmol) en metanol p.a. (100 ml). Se hace pasar argón con una cánula durante aproximadamente 5 min, después se añade triflato de (+)-1,2-bis-[(2*S*,5*S*)dietilfosfolano]-benceno(ciclooctadien)rodio (I) (289 mg, 400 μ mol, 0,015 equivalentes) Se hidrogena durante 12 h a 400 kPa de presión de hidrógeno y a TA. Después, se filtra a través de tierra de diatomeas (metanol) y se concentra el eluido. Se purifica por cromatografía el producto bruto (gel de sílice, eluyente: tolueno/acetato de etilo 5:1). Se obtienen 9,9 g (97% d. t.) del compuesto del título.

10 $[\alpha]_{\text{Na}}^{20} = -24^{\circ}$ ($c = 0,093$ en metanol).

HPLC/UV-Vis (procedimiento 8): $T_R = 4,50$ min.

HPLC/UV-Vis (procedimiento 9): $T_R = 4,49$ min.

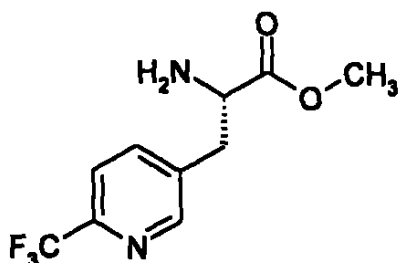
$^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, d_6 -DMSO): $\delta = 2,99$ (dd, $J = 3,5, 11,0$ Hz, 1H, β -CH), 3,22 (dd, $J = 3,5, 11,0$ Hz, 1H, β -CH), 3,66 (s, 3H, OMe), 4,40 (m, 1H, α -CH), 4,97
15 (s, 2H, CH_2), 7,23 (m, 2H), 7,29-7,33 (m, 3H), 7,83 (d, $J = 6,5$ Hz, 1H), 7,93-7,98 (m, 2H), 8,65 (s, 1H, NH).

EM-CL(procedimiento 7): $T_R = 2,40$ min; EM (ESIpos.): m/z (%) = 383 (100) $[\text{M} + \text{H}]^+$; EM (ESIneg.): m/z (%) = 273 (100), 381 (50) $[\text{M} - \text{H}]^-$.

EM-AR-TOF (procedimiento 1): $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4\text{F}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ calc. 383,1219, enc.
20 383,1223.

Ejemplo 5A

Éster metílico de 3-(6-trifluorometilpiridin-3-il)-L-alanina



Se disuelve el compuesto del ejemplo 4A (9,90 g, 25,89 mmol) en metanol (100 ml). Se hace pasar argón con una cánula durante aproximadamente 5 min, después se añade Pd sobre carbono (al 10%, 990 mg). Se hidrogena durante 12 h a 400 kPa de presión de hidrógeno y TA. Después, se filtra a través de tierra de diatomeas, se concentra y se seca a vacio de bomba de aceite. Rendimiento: 5,8 g (90% d. t.) del compuesto.

$[\alpha]^{19,9}_{Na} = +3^\circ$ ($c = 0,186$ en metanol).

HPLC/UV-Vis (procedimiento 8): $T_R = 3,34$ min.

HPLC/UV-Vis (procedimiento 9): $T_R = 3,22$ min.

IR ν_{max} (NaCl, cm^{-1}): 3415, 1734, 1339, 1136, 1087.

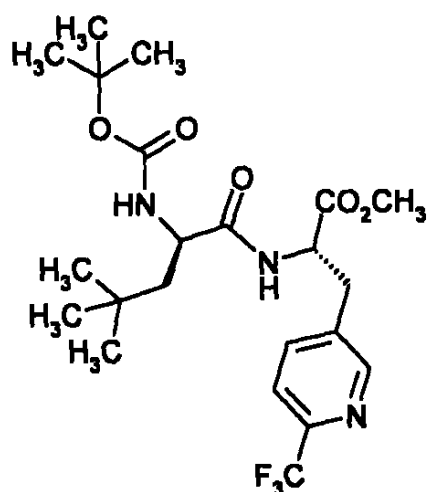
1H -RMN (500 MHz, d_6 -DMSO): $\delta = 2,85$ (dd, $J = 5,5, 13,5$ Hz, 1H, β -CH), 3,01 (dd, $J = 5,5, 13,5$ Hz, 1H, β -CH), 3,61 (s, 3H, OMe), 3,63-3,69 (m, 1H, α -CH), 7,82 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H), 7,93 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H), 8,61 (s, 1H).

EM-CL(procedimiento 7): $T_R = 1,74$ min; EM (ESIpos.): m/z (%) = 249 (100) $[M + H]^+$.

EM-AR-TOF (procedimiento 1): $C_{12}H_{15}N_3O_2F_3$ $[M + CH_3CN + H]^+$ calc. 290,1116, enc. 290,1122.

20 Ejemplo 6A

Éster metílico de *N*-(*terc*-butoxicarbonil)-3-(*terc*-butil)-D-alanil-3-(6-trifluorometilpiridin-3-il)-L-alanina



Se añaden lentamente a -30°C *N*-metilmorfolina (12,92 g, 14,04 mmol, 5 equivalentes) y HATU (9,71 g, 25,54 mmol, 1 equivalente) a una solución del compuesto del ejemplo 5A (6,34 g, 25,54 mmol) y *N*-(*tert*-butoxicarbonil)-3-*tert*-butil-D-alanina (6,27 g, 25,54 mmol, 1,0 equivalente) en DMF secada (240 ml). Se calienta lentamente la mezcla de reacción (aprox. 3 h) a TA, observándose una reacción completa mediante HPLC (procedimiento 9). Se añade dihidrogenofosfato de potasio (34,76 g, 255,44 mmol, 10 equivalentes) y se agita la mezcla de reacción durante 20 min, a continuación se filtra, se diluye con acetato de etilo y se lava con una solución acuosa saturada de hidrogenocarbonato de sodio (10 ml). Se seca la fase orgánica mediante sulfato de sodio, se filtra y se concentra. Se purifica el producto bruto mediante cromatografía ultrarrápida (gel de sílice, gradiente de ciclohexano/acetato de etilo 10:1 a 2:1), obteniéndose 9,74 g (73% d. t.) del compuesto del título.

15 $[\alpha]_{\text{Na}}^{18,9} = +7,0^{\circ}$ ($c = 0,044$ en metanol).

HPLC/UV-Vis (procedimiento 8): $T_R = 4,89$ min.

HPLC/UV-Vis (procedimiento 9): $T_R = 4,75$ min.

IR ν_{max} (NaCl, cm^{-1}): 2959, 1742, 1655, 1520, 1336, 1160, 1136, 1087, 1050, 1027.

20 ^1H -RMN (500 MHz, d_6 -DMSO): $\delta = 0,74$ (s, 9H, tBu), 0,97-1,00 (m, 1H, β -CH₂), 1,20-1,25 (m, 1H, β -CH₂), 1,35 (s, 9H, OtBu), 2,99-3,05 (m, 1H, β -CH₂), 3,23-3,26 (m, 1H, β -CH₂), 3,66 (s, 3H, OMe), 3,94 (m, 1H, α -CH), 4,60 (m, 1H,

92

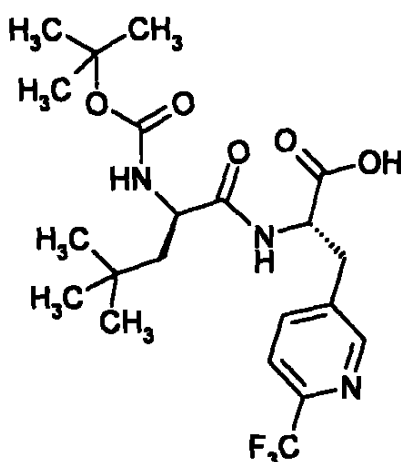
α -CH), 6,82 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H, NH), 7,78 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H, PirH), 7,94 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H, PirH), 8,34 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H, NH), 8,64 (s, 1H, PirH).

EM-CL(procedimiento 7): $T_R = 2,67$ min; EM (ESIpos.): m/z (%) = 476 (100), $[M + H]^+$; EM (ESIneg.): m/z (%) = 400 (80), 474 (40) $[M - H]^-$.

5 EM-AR-TOF (procedimiento 1): $C_{22}H_{33}N_3O_5F_3$ $[M + H]^+$ calc. 476,2372, enc. 476,2364.

Ejemplo 7A

N-*tert*-Butoxycarbonil-3-*tert*-butil-D-alanil-3-(6-trifluorometilpiridin-3-il)-L-alanina



10

Se añade a -20°C una solución de hidróxido de litio hidratado (1,16 g, 2,5 equivalentes, 48,37 mmol) en agua (20 ml) a una solución del compuesto del ejemplo 6A (9,2 g, 1,0 equivalentes, 19,35 mmol) en THF (360 ml) y agua (100 ml). Se calienta la mezcla de reacción (aprox. 1,5 h) a $+15^\circ\text{C}$, observándose una
 15 reacción completa mediante HPLC (procedimiento 9). Para el procesamiento, se añade dihidrogenofosfato de potasio (26,33 g, 10 equivalentes, 193,5 mmol) (aprox. pH 7). Se filtra la mezcla de reacción y se concentra a vacío. Se purifica el producto bruto mediante cromatografía sobre gel (procedimiento 10, fase móvil metanol/acetona 4:1), obteniéndose 4,72 g (53% d. t.) de producto.

20 $[\alpha]^{20}_{Na} = +51,3^\circ$ ($c = 0,402$ en metanol).

HPLC/UV-Vis (procedimiento 8): $T_R = 4,63$ min.

HPLC/UV-Vis (procedimiento 9): $T_R = 4,55$ min.

93

IR $\nu_{\max}$ (NaCl, cm^{-1}): 3305, 2959, 1663, 1519, 1336, 1173, 1134, 1086.

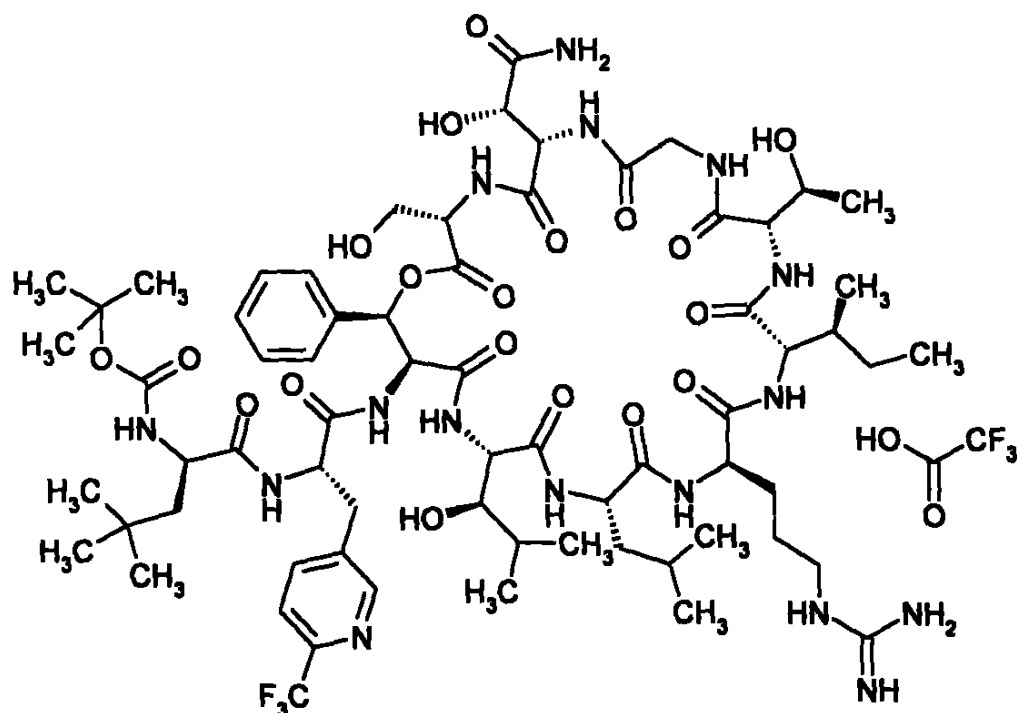
^1H -RMN (500 MHz, d_6 -DMSO): δ = 0,77 (s, 9H, tBu), 1,06-1,13 (m, 1H, β -CH₂), 1,23-1,26 (m, 1H, β -CH₂), 1,34 (s, 9H, OtBu), 3,01 (t_{ap}, J = 11,0 Hz, 1H, β -CH₂), 3,23 (d a, J = 11,0 Hz, 1H, β -CH₂), 3,94 (t, J = 8,0 Hz, 1H, α -CH), 4,42 (s a, 1H, α -CH), 6,90 (d, J = 8,5 Hz, 1H, NH), 7,74 (d, J = 7,5 Hz, 1H, PirH), 7,86 (d, J = 7,5 Hz, 1H, PirH), 8,00 (s a, 1H, NH), 8,56 (s, 1H, PirH).

EM-CL(procedimiento 7): T_R = 2,42 min; EM (ESIpos.): m/z (%) = 406 (100), 462 (85) $[M + H]^+$; EM (ESIneg.): m/z (%) = 460 (100) $[M - H]^-$.

EM-AR-TOF (procedimiento 1): $\text{C}_{21}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_5\text{F}_3$ $[M + H]^+$ calc. 462,2216, enc. 462,2203.

Ejemplo 8A

Trifluoroacetato de *N*-*terc*-butoxicarbonil-3-*terc*-butil-D-alanil-3-(6-trifluorometilpiridin-3-il)-L-alanil-des-(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina



15

Se añaden lentamente a -30°C *N*-metilmorfolina (2,77 g, 3,01 ml, 5 equivalentes, 27,38 mmol) y HATU (4,37 g, 2,1 equivalentes, 11,50 mmol) a una solución del compuesto del ejemplo 2A (7,00 g, 1,0 equivalentes, 5,48 mmol) y el ejemplo

7A (3,03 g, 1,2 equivalentes, 6,57 mmol) en DMF secada (119 ml). Se calienta lentamente la mezcla de reacción (aprox. 1 h) a TA, observándose una reacción completa mediante HPLC/UV-Vis (procedimiento 9). Se inactiva la reacción con dihidrogenofosfato de potasio (7,45 g, 10,0 equivalentes, 54,76 mmol). Se purifica la mezcla de reacción mediante cromatografía sobre gel (procedimiento 10, fase móvil metanol/acetona 4:1), obteniéndose 12,63 g (cuant.) de producto.

HPLC/UV-Vis (procedimiento 8): $T_R = 4,78$ min.

HPLC/UV-Vis (procedimiento 9): $T_R = 4,35$ min.

EM-CL(procedimiento 7): $T_R = 2,28$ min; EM (ESIpos.): m/z (%) = 697 (100) [M + 2H]²⁺, 1493 (15) [M + H]⁺; MS (ESIneg.): m/z (%) = 745 (100) [M - 2H]²⁻, 1491 (5) [M - H]⁻.

EM-AR-TOF (procedimiento 1): C₆₇H₁₀₄N₁₈O₁₉F₃ [M + H]⁺ calc. 1493,7616, enc. 1493,7594.

15 **Ejemplo 9A y ejemplo 10A**

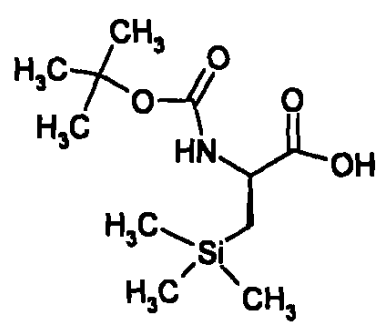
(2S)-N-(*terc*-Butoxicarbonil)-3-(trimetilsilil)alanina y (2R)-N-(*terc*-butoxicarbonil)-3-(trimetilsilil)alanina

Se realiza la síntesis según M. Merget, K. Günther, M. Bernd, E. Günther, R. Tacke, J. Organomet. Chem. 2001 **628**, 183–194. Se realiza la separación de los enantiómeros mediante HPLC preparativa en fase quiral: HPLC Gilson Abimed; columna: Daicel Chiralpak AD-H 5 µm; 250 x 20 mm; eluyente A: *iso*-hexano, eluyente B: 0,2% de ácido acético /1% de agua/2-propanol; isocrático; flujo: 15 ml/min; detector UV a 212 nm. La asignación de los isómeros se realiza mediante HPLC comparativa con una muestra auténtica de N-(*terc*-butoxicarbonil)-L-3-trimetilsililalanina (compuesto 2R, Mercachem AMR 39.260).

Ejemplo 9A

N-(*terc*-Butoxicarbonil)-D-3-trimetilsililalanina (compuesto 2S)

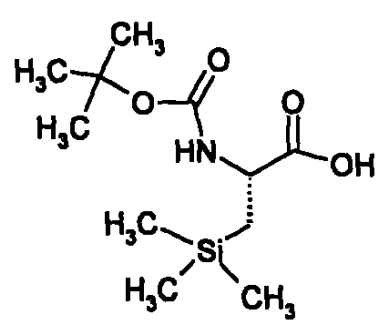
95
as



HPLC quiral (procedimiento 15): $T_R = 4,16$ min, e.e. > 99%.
 $[\alpha]_D^{20} = +1,1$ ($c = 0,83$ en metanol).

5 **Ejemplo 10A**

N-(*tert*-Butoxycarbonyl)-L-3-trimetilsililalanina (compuesto 2*R*)

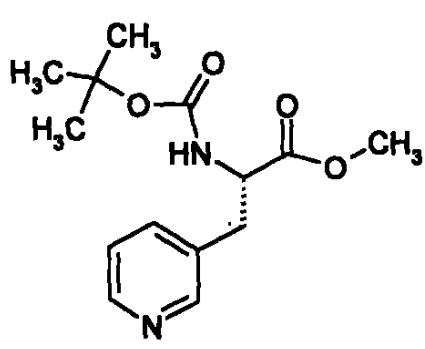


HPLC quiral (procedimiento 15): $T_R = 9,27$ min, e.e. > 99%.
 $[\alpha]_D^{20} = -1,6$ ($c = 0,66$ en metanol).

10

Ejemplo 11A

N-(*tert*-Butoxycarbonyl)-3-(piridin-3-il)-L-alaninato de metilo



La preparación se realiza análogamente a B. Neises, W. Steglich, Org.

15 Synth. 1985, 63, 183-187.

Se disuelve (2S)-N-(*tert*-butoxicarbonil)-3-(piridin-3-il)alanina (25,00 g, 93,88 mmol) en 300 ml de diclorometano en atmósfera de argón. Se añaden metanol (11,4 ml, 9,02 g, 281 mmol, 3 equivalentes) y un gránulo de DMAP. Después, se enfría la mezcla a 0°C y se añade EDC (19,80 g, 103 mmol, 1,1 equivalentes).
 5 Después de 5 min, se separa el baño de hielo y se deja agitar durante 1 h a TA. Después, se concentra a vacío, se mezcla el residuo con acetato de etilo y se extrae frente a una solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio. Se vuelve a extraer la fase acuosa una vez con acetato de etilo, después se lavan las fases orgánicas combinadas con ácido cítrico 0,5 M y a continuación otra vez con una
 10 solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio. Se seca la fase orgánica sobre sulfato de sodio, se filtra y se concentra a vacío. Queda un aceite transparente que cristaliza al secar a vacío de bomba de aceite. Rendimiento: 23,60 g (90% d.t.).

HPLC/UV-Vis (procedimiento 9): $T_R = 3,28$ min.

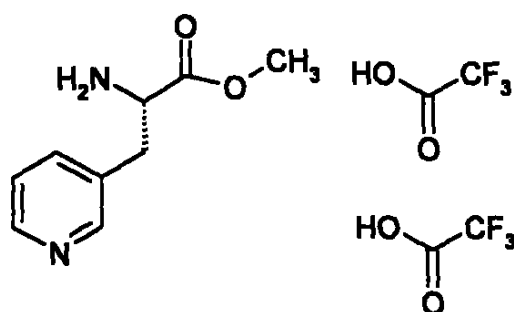
EM-CL(procedimiento 7): $T_R = 1,21$ min, EM (ESIpos.): m/z (%) = 281 (100)

15 $[M + H]^+$.

1H -RMN (400 MHz, d_6 -DMSO): $\delta = 1,30$ (s, 9H), 2,86 (m, 1H), 3,04 (m, 1H), 3,63 (s, 3H), 4,22 (m, 1H), 7,28 – 7,39 (m, 2H), 7,69 (d, 1H), 8,43 (m, 2H).

Ejemplo 12A

20 Bistrifluoroacetato éster metílico de 3-(piridin-3-il)-L-alanina



Se disuelve el compuesto del ejemplo 11A (11,8 g, 42,09 mmol) en ácido trifluoroacético en diclorometano (160 ml; solución al 30%) y se agita durante 30 min a TA. Después, se concentra a vacío. Se recoge el residuo en algo de agua y se
 25 liofiliza. Después, se mezcla el liofilizado con tolueno y se concentra a vacío. Fi-

nalmente, se seca hasta peso constante a vacío de bomba de aceite. Rendimiento: 17,15 g (cuant.).

HPLC/UV-Vis (procedimiento 9): $T_R = 0,88$ min.

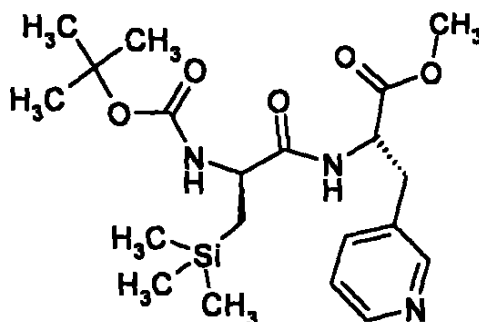
EM-CL(procedimiento 7): $T_R = 0,46$ min, EM (ESIpos.): m/z (%) = 181 (100)

5 $[M + H]^+$.

1H -RMN (400 MHz, d_6 -DMSO): $\delta = 2,79$ (dd, 1H), 2,92 (dd, 1H), 3,60 (s, 3H), 3,63 (m, 1H), 7,30 (m, 1H), 7,62 (d, 1H), 8,41 (m, 2H).

Ejemplo 13A

10 *N*-(*tert*-Butoxicarbonil)-3-(trimetilsilil)-D-alanil-3-(piridin-3-il)-L-alaninato de metilo



Se disuelven a 0°C en DMF (186 ml) el compuesto del ejemplo 9A (10,31 g, 39,4 mmol) y el compuesto del ejemplo 12A (16,10 g, 39,4 mmol, 1 equivalente). Después, se añaden *N*-metilmorfolina (17,34 ml, 16,00 g, 4 equivalentes) y HATU
 15 (22,49 g, 59,16 mmol, 1,5 equivalentes). Se agita la preparación durante 2 horas a TA. Se mezcla con *tert*-butilmetiléter y se lava con una solución saturada de carbonato de sodio. Se vuelve a extraer la fase acuosa una vez con *tert*-butilmetiléter, después se lavan las fases orgánicas combinadas con ácido cítrico acuoso 1 M, así como de nuevo con una solución saturada de carbonato de sodio,
 20 se seca sobre sulfato de sodio, se filtra y se concentra a vacío. Se filtra a través de gel de sílice (ciclohexano/acetato de etilo 2:1). Rendimiento: 14,1 g (84% d.t.).

HPLC/UV-Vis (procedimiento 9): $T_R = 3,91$ min.

EM-CL(procedimiento 7): $T_R = 1,90$ min, EM (ESIpos.): m/z (%) = 424 (100)

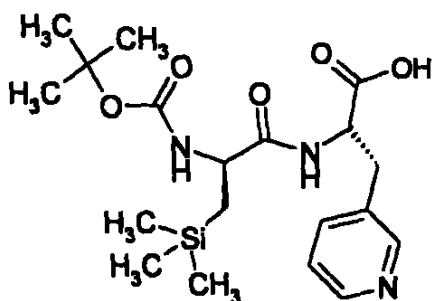
$[M + H]^+$.

25 1H -RMN (400 MHz, d_6 -DMSO): $\delta = -0,09$ (s, 9H), 0,56 – 0,75 (m, 2H), 1,47

(s, 9H), 2,90 (dd, 1H), 3,09 (dd, 1H), 3,62 (s, 3H), 3,98 (m, 1H), 4,49 (m, 1H), 6,68 (d, 1H), 7,26 (dd, 1H), 7,61 (m, 1H), 8,20 (d, 1H), 8,40 (m, 2H).

Ejemplo 14A

5 ***N*-(*tert*-Butoxicarbonil)-3-(trimetilsilil)-D-alanil-3-(piridin-3-il)-L-alanina**



Se suspende el compuesto del ejemplo 13A (7,4 g, 17,56 mmol) en THF/agua (6:4), se enfría a 0°C y se mezcla con hidróxido de litio monohidratado (1,47 g, 35,13 mmol, 2 equivalentes). Se deja agitar a 0°C. Después de 1 hora, se
10 añade otro equivalente (0,74 g) de hidróxido de litio monohidratado (0,74 g) y se agita durante otra hora. Se separa por destilación la mayoría del THF a vacío, se lava con dos porciones de metil-*tert*-butiléter y se ajusta después la fase acuosa a PH 4 mediante la adición de ácido cítrico. Precipita un sólido. Se extrae con tres porciones de acetato de etilo, disolviéndose el sólido. Se secan las fases orgánicas combinadas sobre sulfato de sodio, se filtran y se concentran. Se purifica el
15 producto bruto mediante cromatografía de gel (procedimiento 3, fase móvil: metanol). Rendimiento: 6,67 g (93% d. t.).

HPLC/UV-Vis (procedimiento 9): $T_R = 3,73$ min.

EM-CL(procedimiento 7): $T_R = 1,68$ min, EM (ESIpos.): m/z (%) = 410 (40)

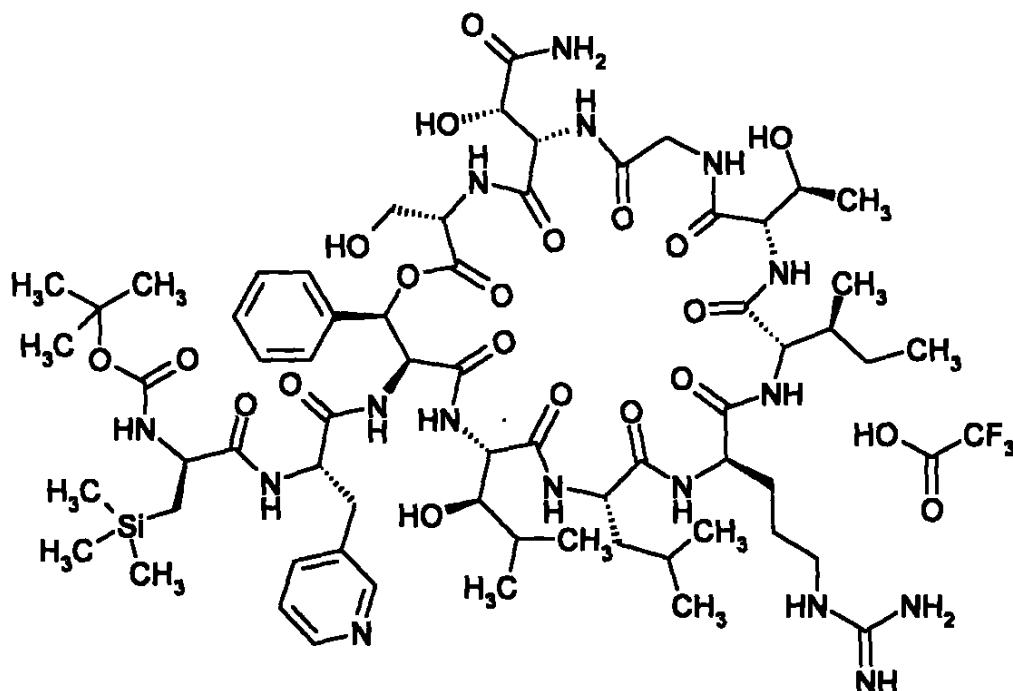
20 $[M + H]^+$.

1H -RMN (300 MHz, d_6 -DMSO): $\delta = -0,090$ (s, 9H), 0,56 – 0,75 (m, 2H), 1,35 (s, 9H), 2,90 (dd, 1H), 3,09 (dd, 1H), 3,98 (m, 1H), 4,41 (m, 1H), 6,70 (d, 1H), 7,26 (dd, 1H), 7,60 (m, 1H), 8,00 (d, 1H), 8,37 (m, 2H).

25 **Ejemplo 15A**

99

Trifluoroacetato de *N*-(*tert*-butoxicarbonil)-3-(trimetilsilil)-D-alanil-3-(piridin-3-il)-L-alanil-des-(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina



Se disuelven el compuesto del ejemplo 2A (3,00 g, 2,35 mmol) y el compuesto del ejemplo 14A (1,44 g, 3,52 mmol, 1,5 equivalentes) en DMF (50 ml) y se enfría a 0°C. Después, se añaden en primer lugar 4,7 ml (4,7 mmol, 2 equivalentes) de una solución de 4-metilmorfolina 1 M en DMF. A continuación, se añade inmediatamente HATU (1,52 g, 3,99 mmol, 1,7 equivalentes) y se agita durante 15 min a 0°C. Después, se añaden gota a gota otros 4,7 mL (4,7 mmol, 2 equivalentes) de la solución de 4-metilmorfolina 1 M en DMF. Se agita la preparación después durante 2 h a TA. Se purifica el producto bruto mediante cromatografía sobre gel (procedimiento 3). Se hace reaccionar más adelante el producto sin purificación fina. Rendimiento: 3,6 g (82% d. t.).

HPLC (procedimiento 9): $T_R = 3,90$ min.

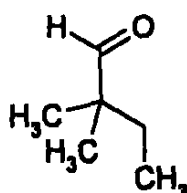
EM-CL(procedimiento 7): $T_R = 2,00$ min, EM (ESIpos.): m/z (%) = 721,8 (100) $[M + 2 H]^2+$; 1442,1 (5) $[M + H]^+$.

Procedimiento alternativo: Se disuelven en DMF (280 ml) el compuesto del ejemplo 2A (14,00 g, 10,95 mmol) y el compuesto del ejemplo 14A (5,38 g, 13,14 mmol, 1,2 equivalentes) en DMF (280 ml) y se enfría a -20°C. Después, se añaden *N*-

metilmorfolina (5,54 g, 6,02 ml, 5 equivalentes) y a continuación HATU (6,66 g, 17,52 mmol, 1,6 equivalentes). Se calienta lentamente la preparación a TA y se agita durante una noche (aprox. 16 h). Después, se añade dihidrogenofosfato de potasio (14,91 g, 10 equivalentes) con agitación y se sigue agitando durante 30 minutos. Se purifica por cromatografía sobre gel el producto bruto (procedimiento 3, fase móvil: metanol). Se hace reaccionar el producto más adelante sin purificación fina. Rendimiento: 14,35 g (61% d. t.).

Ejemplo 16A

10 2,2-Dimetil-1-butanal



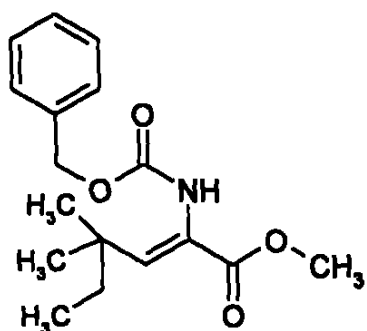
Se disuelve 2,2-dimetil-1-butanol (4,0 g, 39 mmol) en diclorometano (136 ml) y se mezcla con óxido de aluminio (7,98 g, 78 mmol, 2 equivalentes) y con clorocromato de piridinio (16,88 g, 78 mmol, 2 equivalentes). Se agita la preparación a TA durante 1 h y después se filtra a través de una capa de gel de sílice. Se concentra cuidadosamente el filtrado, y se destila el residuo a presión normal (punto de ebullición: 102°C (99 kPa)). Rendimiento: 2,97 g (75% d. t.).

EM-CG (procedimiento 17): $T_R = 2,21$ min, EM (ESIpos.): m/z (%) = 99,9 (5) [M]⁺;

20 ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 0,83 (t, 3H), 1,03 (s, 6H), 1,51 (c, 2H), 9,42 (s, 1H).

Ejemplo 17A

(2Z)-2-(((Benciloxi)carbonil)amino)-4,4-dimetilhex-2-enoato de metilo



Se disuelven en 50 ml de THF el compuesto del ejemplo 16A (2,55 g, 25,46 mmol) y {[[(benciloxi)carbonil]amino}(dimetoxifosforil)acetato de metilo (8,43 g, 25,46 mmol) y se enfría a 0°C. Se añade gota a gota *N,N,N',N'*-tetrametilguanidina, después se agita primero durante 15 min a 0°C y a continuación durante 5 días a TA. Se mezcla la preparación con aproximadamente 20 g de gel de sílice, se concentra y se purifica por cromatografía (gel de sílice Biotage 40M, ZIF-SIM, ciclohexano /acetato de etilo 87:13). Rendimiento: 1,20 g (13% d. t.).

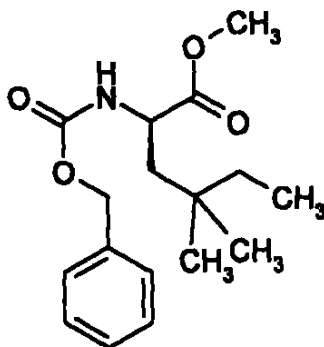
HPLC (procedimiento 9): $T_R = 3,71$ min.

EM (DCI): m/z (%) = 323,3 (100) $[M + NH_4]$.

1H -RMN (400 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 0,83$ (m, 3H), 1,13 (s, 6H), 1,49 (c, 2H), 3,75 (s a, 3H), 5,72 (s a, 1H), 6,58 (s a, 1H), 5,12 (s, 2H), 7,36 (m, 5H).

15 Ejemplo 18A

N-[(Benciloxi)carbonil]-4,4-dimetil-D-norleucinato de metilo



Se disuelve el compuesto del ejemplo 17A (1,2 g, producto bruto, 3,26 mmol) en etanol p.a. (60 ml). Se hace pasar argón con una cánula durante

aproximadamente 5 minutos, después se añade triflato de (+)-1,2-bis-[(2*R*,5*R*)di-
etilfosfolano]benceno(ciclooctadien)rodio (I) (28 mg, 0,04 mmol, 0,012 equivale-
nes) y se disuelve en baño de ultrasonidos. Se hidrogena durante 24 h a 300 kPa
de presión de hidrógeno y TA. Se concentra la preparación y se purifica por cro-
matografía (gel de sílice Biotage 25M, ciclohexano/acetato de etilo 9:1). Rendi-
5 miento: 920 mg (92% d. t.).

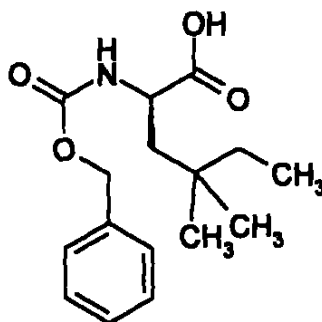
HPLC (procedimiento 9): $T_R = 4,96$ min.

EM-CL(procedimiento 7): $T_R = 2,76$ min; EM (ESIpos.): m/z (%) = 308 (25)
[M + H]⁺.

10 ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 0,80$ (t, 3H), 0,86 (s, 6H), 1,29 (c, 2H), 1,41
(dd, 1H), 1,73 (dd, 1H), 3,72 (s, 3H), 4,40 (m, 1H), 5,02 (d, 1H), 5,11 (m, 2H), 7,35
(m, 5H).

Ejemplo 19A

15 *N*-[(Benciloxi)carbonil]-4,4-dimetil-D-norleucina



Se disuelve el compuesto del ejemplo 18A (915 mg, 2,98 mmol) en THF (12
ml). Se enfría la solución a 0°C, después se añaden 3,7 ml (7,4 mmol, 2,5 equiva-
lentes) de una solución de hidróxido de litio hidratado 2 M en agua y se agita fuer-
temente durante 1 h. A continuación, se añade gota a gota ácido cítrico (1 M) has-
ta reacción ácida y se extrae la mezcla con acetato de etilo. Se seca el extracto
orgánico sobre sulfato de sodio, se concentra y se purifica por cromatografía (pro-
cedimiento 16). Rendimiento: 434 mg (50% d. t.).

HPLC (procedimiento 9): $T_R = 4,54$ min.

25 EM-CL(procedimiento 7): $T_R = 2,44$ min, EM (ESIpos.): m/z (%) = 294 (20)

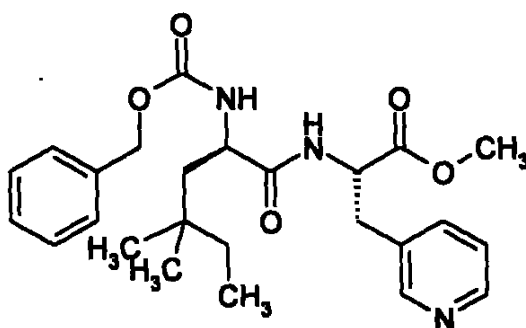
$[M + H]^+$.

$^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, d_6 -DMSO): δ = 0,80 (t, 3H), 0,83 (s, 6H), 1,21 (c, 2H), 1,53 (dd, 1H), 1,60 (dd, 1H), 3,99 (m, 1H), 5,02 (s, 2H), 7,35 (m, 5H), 7,58 (d, 2H), 12,52 (s a, 1H).

5

Ejemplo 20A

N-[(Benciloxi)carbonil]-4,4-dimetil-D-norleucil-3-(piridin-3-il)-L-alaninato de metilo



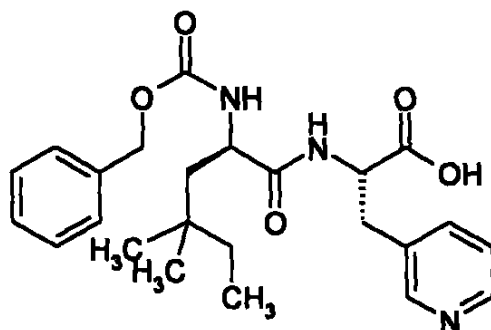
Se disuelven en DMF (5 ml) a 0°C el compuesto del ejemplo 19A (430 mg, 1,47 mmol) y el compuesto del ejemplo 12A (809 mg, 1,47 mmol, 1 equivalente), después se añaden 4-metilmorfolina (644 μl , 5,86 mmol, 4 equivalentes) y HATU (836 mg, 2,20 mmol, 1,5 equivalentes). Se agita la preparación durante 3 horas a TA. Se mezcla con acetato de etilo y se lava con una solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio. Se extrae la fase acuosa una vez con acetato de etilo, después se lavan las fases orgánicas combinadas con ácido cítrico acuoso 1 M, así como otra vez con una solución acuosa de hidrogenocarbonato de sodio, se secan sobre sulfato de sodio, se filtran y se concentran a vacío. Se purifica por cromatografía el residuo (procedimiento 16). Rendimiento: 496 mg (74% d. t.).

HPLC (procedimiento 9): T_R = 3,94 min.
EM-CL(procedimiento 7): T_R = 1,85 min; EM (ESIpos.): m/z (%) = 456 (100)
 $[M + H]^+$.

$^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, d_6 -DMSO): δ = 0,80 (m, 9H), 1,10 (m, 3H), 1,30 (dd, 1H), 2,91 (dd, 1H), 3,12 (dd, 1H), 3,30 (s, 3H), 4,02 (m, 1H), 4,51 (m, 1H), 5,01 (d, 1H), 5,06 (d, 1H), 7,22 (dd, 1H), 7,30 (m, 5H), 7,63 (m, 1H), 8,40 (m, 2H).

20

***N*-[(Benciloxi)carbonil]-4,4-dimetil-D-norleucil-3-(piridin-3-il)-L-alanina**



5 Se disuelve en THF (5 ml) el compuesto del ejemplo 20A (490 mg, 1,08 mmol). Se enfría la solución a 0°C, después se añaden 1,35 ml (2,7 mmol, 2,5 equivalentes) de una solución de hidróxido de litio monohidratado 2 M en agua y se agita fuertemente durante 1 h. Después, se añade gota a gota ácido cítrico (1 M en agua) hasta reacción ácida y se extrae la mezcla con acetato de etilo. Se seca
10 el extracto orgánico sobre sulfato de sodio y se concentra. Rendimiento: 484 mg (cuant.).

HPLC (procedimiento 9): $T_R = 3,76$ min.

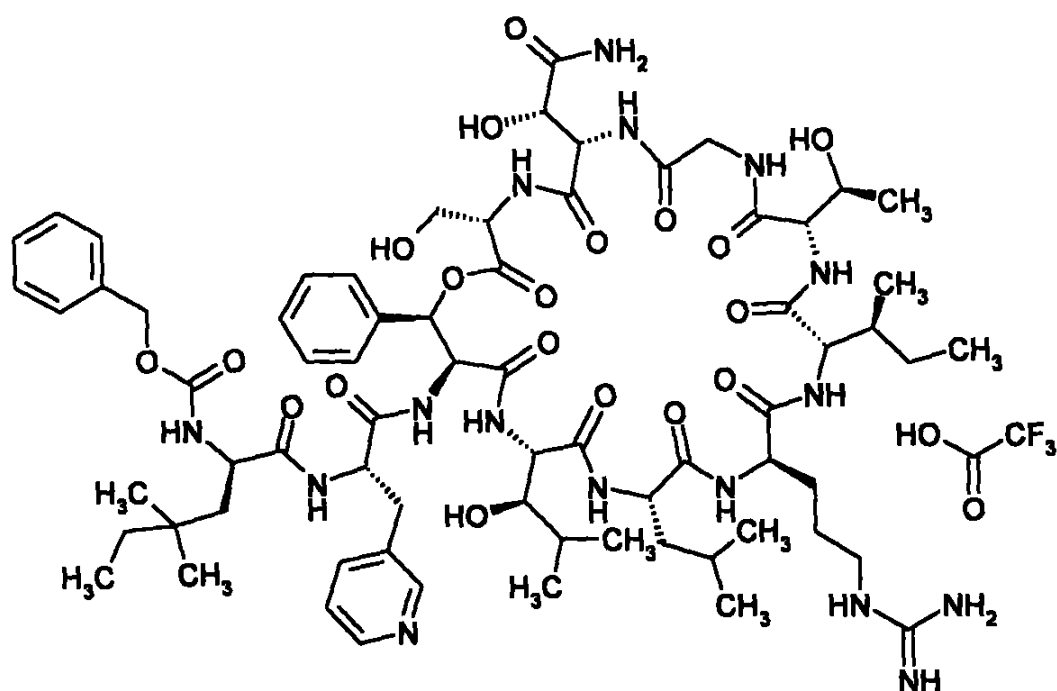
EM-CL(procedimiento 7): $T_R = 1,88$ min; EM (ESIpos.): m/z (%) = 442 (100)
 $[M + H]^+$.

15 ¹H-RMN (400 MHz, *d*₆-DMSO): δ = 0,70 (m, 9H), 1,14 (m, 3H), 1,30 (dd, 1H), 2,64 (d, 1H), 2,75 (d, 1H), 2,89 (dd, 1H), 3,11 (dd, 1H), 4,03 (m, 1H), 4,45 (m, 1H), 4,98 (d, 1H), 5,05 (d, 1H), 7,22 (dd, 1H), 7,30 (m, 5H), 7,61 (m, 1H), 8,40 (m, 2H).

20 Ejemplo 22A

Trifluoroacetato de N-[(benciloxi)carbonil]-4,4-dimetil-D-norleucil-3-(piridin-3-il)-L-alanil-des-(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina

125



Se disuelven en DMF (4 ml) el compuesto del ejemplo 2A (0,28 g, 0,22 mmol) y el compuesto del ejemplo 21A (148 mg, 0,33 mmol, 1,5 equivalentes) y se enfría a 0°C. Después, se añaden en primer lugar 0,47 ml (0,44 mmol, 2 equivalentes) de una solución de *N*-metilmorfolina 1 M en DMF. A continuación, se añaden inmediatamente HATU (141 mg, 0,37 mmol, 1,7 equivalentes) y se agita durante 15 min a 0°C. Después, se añaden gota a gota otros 0,44 ml (0,47 mmol, 2 equivalentes) de la solución de 4-metilmorfolina 1 M en DMF. Se agita después la preparación durante una noche a TA. Se purifica la preparación en Sephadex LH 20 (procedimiento 3, fase móvil: metanol). Se purifica el producto bruto mediante HPLC preparativa (procedimiento 13). Rendimiento: 149 mg (43% d. t.).

HPLC (procedimiento 9): $T_R = 3,93$ min.

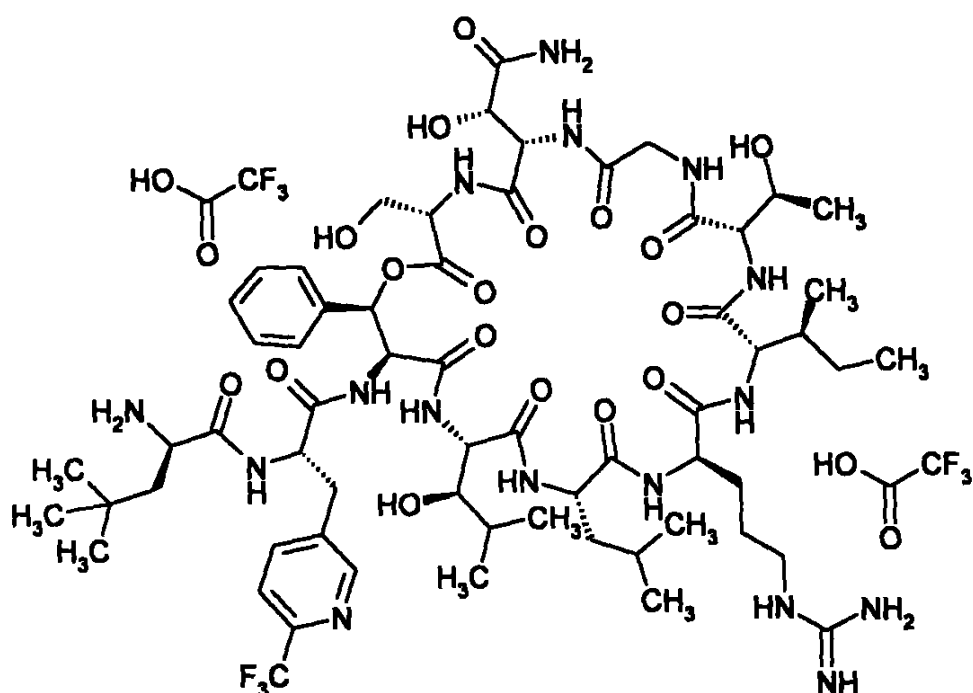
EM-CL(procedimiento 7): $T_R = 2,13$ min, EM (ESIpos.): m/z (%) = 737,4 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1473 (2) $[M + H]^+$.

15

Ejemplos de realización

Ejemplo 1

Bistrifluoroacetato de 3-*terc*-butil-D-alanil-3-(6-trifluorometilpiridin-3-il)-L-alanil-des-(1-D-leucil-2-L-leucil)isobactina



Se añade lentamente ácido trifluoroacético (150 ml) a una solución del compuesto del ejemplo 8A (10,3 g, 1,0 equivalentes, 4,48 mmol, producto bruto) en diclorometano (150 ml) a TA. Se agita la mezcla de reacción a TA (10 min), observándose una reacción completa mediante HPLC (procedimiento 9). Se concentra la mezcla de reacción en rotavapor y se purifica mediante HPLC preparativa (procedimiento 11), obteniéndose 3,48 g (48% d. t.) de producto.

HPLC/UV-Vis (procedimiento 8): $T_R = 4,03$ min.

HPLC/UV-Vis (procedimiento 9): $T_R = 3,64$ min.

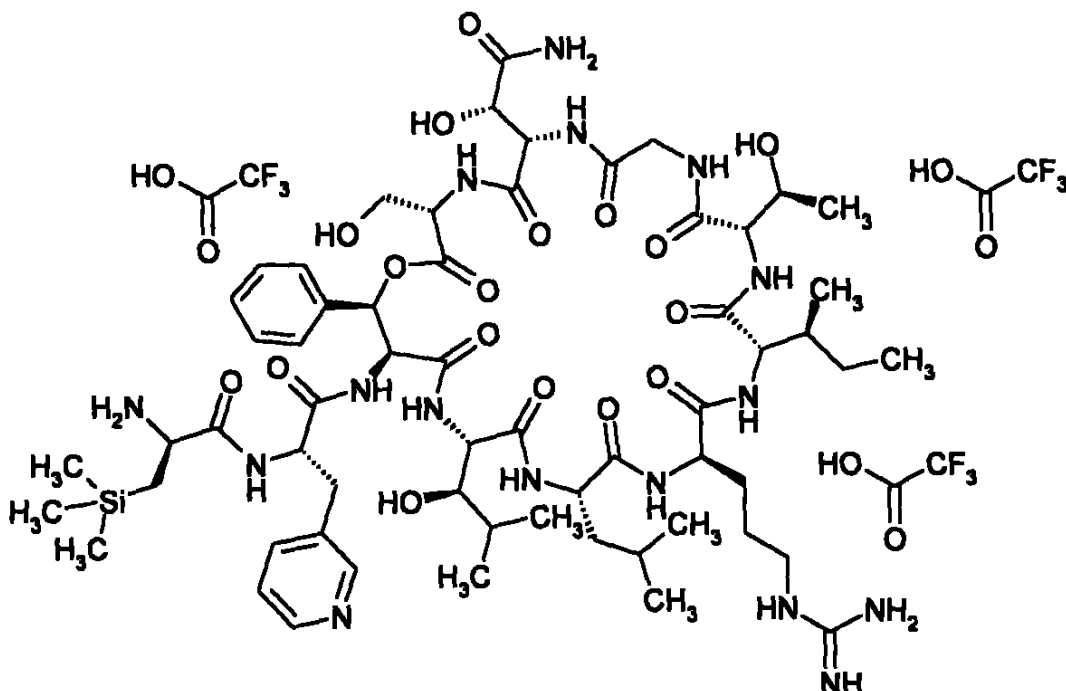
EM-CL(procedimiento 7): $T_R = 1,69$ min; EM (ESIpos.): m/z (%) = 697 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1393 (5) $[M + H]^+$; EM (ESIneg.): m/z (%) = 695 (100) $[M - 2H]^{2-}$, 1391 (20) $[M - H]^-$.

¹⁹F-RMN (400 MHz, *d*₅-piridina): $\delta = -67$ (Ar-CF₃), -74 (CF₃COOH), -132 (1,4-dibromotetrafluorobenceno como referencia). Contenido de TFA: 14,3% en peso.

EM-AR (procedimiento 1): C₆₂H₉₆N₁₆O₁₇F₃ $[M + H]^+$ calc. 1393,7091, enc. 1393,7119.

Ejemplo 2

Tris(trifluoroacetato) de 3-(trimetilsilil)-D-alanil-3-(piridin-3-il)-L-alanil-des-(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina



- 5 Se suspende el compuesto del ejemplo 15A (9,12 g, 4,93 mmol, producto bruto) en ácido trifluoroacético en diclorometano (65 ml, solución al 30%). Se agita la preparación a TA durante 20 min. Se separa por destilación el disolvente. Se seca el residuo a vacío de bomba de aceite y después se purifica por cromatografía (procedimiento 14). Rendimiento: 5,54 g (67% d. t.) HPLC (procedimiento 9): $T_R = 3,32$ min.

EM-CL(procedimiento 7): $T_R = 1,41$ min, EM (ESIpos.): m/z (%) = 671,7 (100) $[M + 2 H]^{2+}$.

EM-AR-TOF (procedimiento 1): $C_{80}H_{97}N_{16}O_{17}Si$ $[M + H]^+$ calc. 1341,6987, enc. 1341,7019.

- 15 1H -RMN (500 MHz, d_5 -piridina): $\delta = -0,172$ (s, 9H), 0,611 (d, $J = 6,9$ Hz, 3H), 0,881 (d, $J = 7,9$ Hz, 3H), 0,948 (d, $J = 6,3$ Hz, 3H), 0,954 – 0,997 (m, 6H), 1,135 (d, $J = 6,0$ Hz, 3H), 1,208 (m, 2H), 1,361 (d, $J = 5,4$ Hz, 3H), 1,439 (m, 1H), 1,497 (m, 1H), 1,953 (m, 2H), 2,04 (m, 1H), 2,154 (m, 3H), 2,372 (m, 3H), 3,111

108
[09]

(m, 1H), 3,266 (m, 1H), 3,563 (d, $J = 14,95$ Hz, 1H), 3,726 (dd, $J = 12,2, 14,95$ Hz, 1H), 3,840 (d, $J = 9,6$ Hz, 1H), 3,960 (m, 1H), 4,152 (m, 1H), 4,198 (m, 1H), 4,278 (m, 1H), 4,382 (m, 1H), 4,488 (m, 1H), 4,565 (dd, $J = 9,5, 9,6$ Hz, 1H), 4,628 (m, 1H), 4,630 (m, 1H), 4,779 (d, $J = 12,2$ Hz, 1H), 5,069 (m, 1H), 5,159 (dd, $J =$
5 9,3 Hz, 1H), 5,264 (m, 1H), 5,382 (s, 1H), 5,98 (d, $J = 9,9$ Hz, 1H), 6,351 (dd, $J =$
8,5 Hz, $J = 8,7$ Hz, 1H), 7,169 (m, 1H), 7,246 (m, 1H), 7,382 (d, $J = 9,9$ Hz, 1H),
7,512 (m, 2H), 7,583 – 7,614 (m, 2H), 7,728 (m, 2H), 7,90 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H),
8,126 (m, 3H), 8,341 (m, 1H), 8,576 (d, $J = 3,6$ Hz, 1H), 8,695 (m, 2H), 8,793 (m,
1H), 9,139 (s a, 1H), 9,715 (m, 1H), 10,957 (s a, 1H), 11,268 (s a, 1H).

10 ^{13}C -RMN (126 MHz, d_5 -piridina): $\delta = -1,8, 11,08, 15,84, 18,8, 18,8, 19,79,$
20,89, 20,93, 21,65, 23,38, 24,78, 26,57, 26,88, 28,80, 31,04, 34,06, 36,84, 40,95,
41,25, 44,38, 50,94, 52,82, 55,99, 56,10, 56,74, 58,40, 59,10, 60,34, 60,72, 62,33,
62,55, 70,72, 72,06, 75,58, 75,65, 123,66, 128,25, 128,95, 129,80, 132,39, 136,77,
137,18, 149,17, 158,11, 162,15, 162,41, 162,70, 162,96, 169,01, 169,69, 170,21,
15 172,57, 173,27, 173,44, 173,66, 174,07, 174,36, 175,34, 175,56.

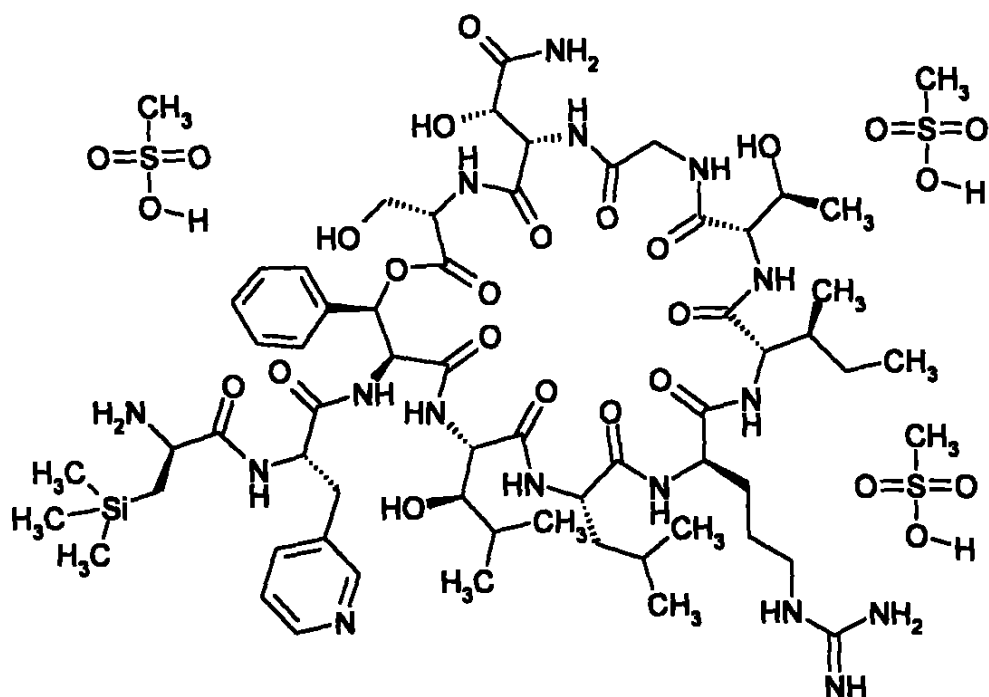
^{19}F -RMN (400 MHz, d_5 -piridina): $\delta = -74$ (CF_3COOH), -132 (1,4-
dibromotetrafluorobenceno como referencia). Contenido de TFA: 19,3% en peso.

La estructura se confirma mediante un análisis de estructura de rayos X de
monocristal.

20

Ejemplo 3

Trismetanosulfonato de 3-(trimetilsilil)-D-alanil-3-(piridin-3-il)-L-alanil-des-(1-D-
leucil-2-L-leucil)lisobactina



Se disuelve tris(trifluoroacetato) de 3-(trimetilsilil)-D-alanil-3-(piridin-3-il)-L-alanil-des-(1-D-leucil-2-L-leucil)isobactina (447 mg, 0,27 mmol) en 22 ml de agua. Se añade ácido metanosulfónico (al 70%). Se agita fuertemente la preparación y después se liofiliza. Se recoge el liofilizado con agua (3,4 ml) y se añade una solución de metanosulfonato de sodio al 70% (0,9 ml). Se agita durante 10 min a TA. Después, se centrifuga el producto. Se obtienen 472 mg de producto bruto.

Se suspenden en agua (5 ml) productos brutos reunidos de varias preparaciones (en total 1053 mg, 0,63 mmol) y se agita a TA durante 4 días. Se centrifuga de nuevo y se seca el sólido obtenido a vacío. Se obtienen 575 mg (55% d. t.) del producto.

HPLC (procedimiento 9): $T_R = 3,30$ min.

EM-CL(procedimiento 7): $T_R = 1,49$ min, EM (ESIpos.): m/z (%) = 671,8 (100) $[M + 2 H]^{2+}$, 1342,1 (5) $[M + H]^+$.

1H -RMN (500 MHz, d_5 -piridina): $\delta = -0,170$ (s, 9H), 0,702 (d, $J = 6,3$ Hz, 3H), 0,867 (d, $J = 6,1$ Hz, 3H), 0,972 (d, $J = 6,2$ Hz, 3H), 0,966 – 1,069 (m, 9H), 1,186 (d, $J = 6,5$ Hz, 3H), 1,315 (m, 2H), 1,448 – 1,501 (m, 6H), 2,010 (m, 1H), 2,084 (m, 3H), 2,180 – 2,365 (m, 4H), 2,540 (m, 1H), 3,082 (s, 9H), 3,166 (m, 1H),

110

3,325 (m, 1H), 3,623 (d, $J = 14,05$ Hz, 1H), 3,865 (dd, $J = 13,7, 14,05$ Hz, 1H),
3,967 – 3,986 (m, 2H), 4,257 (m, 1H), 4,339 (m, 2H), 4,410 (m, 1H), 4,566 (m, 1H),
4,591 – 4,686 (m, 2H), 4,75 (d, 1 H, $J = 12,1$ Hz, 1H), 4,859 (m, 1H), 5,086 (m,
1H), 5,229 (m, 1H), 5,348 (m, 1H), 5,375 (s, 1H) 6,02 (d, $J = 10,0$ Hz, 1H), 6,403
5 (m, 1H), 7,068 (d, $J = 9,8$ Hz, 1H), 7,222 (m, 3H), 7,544 (m, 3H), 7,625 (m, 1H),
7,681 (m, 1H), 7,830 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 7,921 (d, $J = 9,35$ Hz, 1H), 8,071 (m, 2H),
8,188 (s a, 1H), 8,285 (s a, 1H), 8,420 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 8,614 (d, $J = 4,0$ Hz,
1H), 8,701 (m, 1H), 8,874 (s a, 1H), 10,175 (m, 1H), 10,279 (m, 1H), 10,941 (s a,
1H).

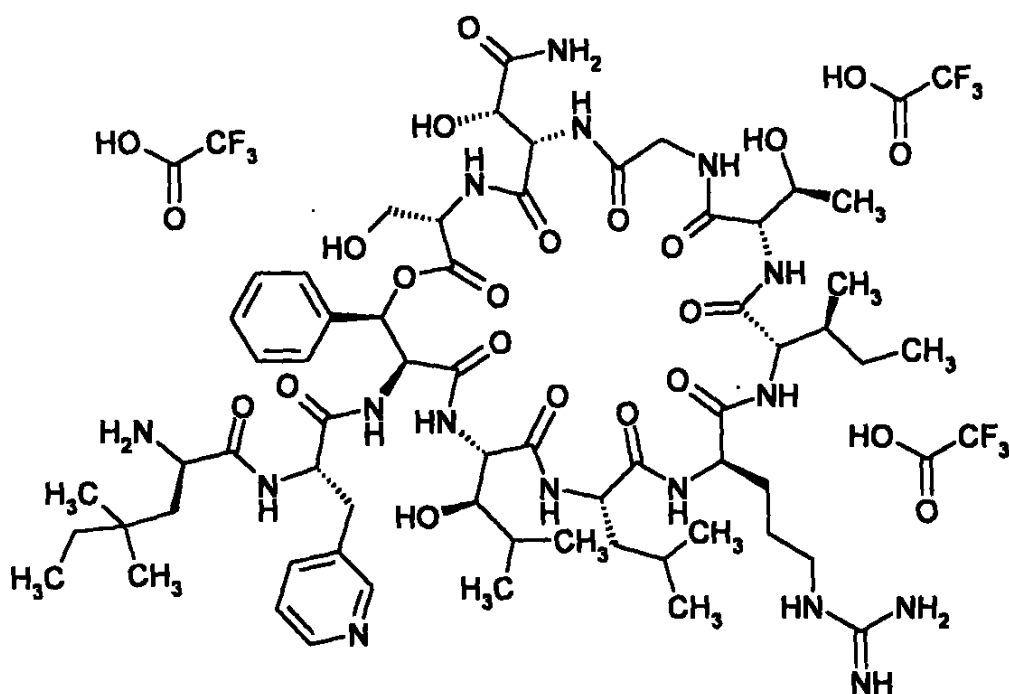
10 ^{19}F -RMN (piridina, 400 MHz, procedimiento 24): δ -74,0 (s, TFA, 0,20), -
132,0 (s, 1,4-dibromotetrafluorobenceno, 1000,0), TFA = 0,02% en peso.

Procedimiento alternativo: Se empaquetan 32 g de Dowex 1X8-400 (en forma de
HCl) en una columna (35 mm de diámetro). Se añaden aproximadamente 60 ml de
solución de hidróxido de sodio 1 M a la columna, seguidos de 60 ml de agua de
15 HPLC. Después, se acondiciona con 60 ml de ácido metanosulfónico 1 M y a con-
tinuación se lava con aproximadamente 100 ml de agua hasta reacción neutra del
eluido (Macherey & Nagel Tritest). Después, se disuelven 2,00 g (1,19 mmol) de
tristrifluoroacetato de 3-(trimetilsilil)-D-alanil-3-(piridin-3-il)-L-alanil-des-(1-D-leucil-2-
L-leucil)lisobactina (ejemplo 2) en 90 ml de agua, se añade la solución y se eluye
20 lentamente. Se lava la columna con aproximadamente 20 ml de agua. Se combi-
nan los eluidos que contienen producto, se someten a filtración fina (tamaño de
poro 0,20 μm) y se liofilizan. Se acondiciona de nuevo la columna y se vuelve a
usar. Se obtienen 1,79 g (1,10 mmol, 92% d. t.) del ejemplo 3 a partir de 2000 mg
(1,19 mmol) del ejemplo 2.

25

Ejemplo 4

Tristrifluoroaceato de 4,4-dimetil-D-norleucil-3-(piridin-3-il)-L-alanil-des-(1-D-leucil-2-
L-leucil)lisobactina



Se disuelve el compuesto del ejemplo 22A (149 mg, 0,09 mmol) en metanol que contiene 0,05% de ácido trifluoroacético (10 ml). Se añade paladio sobre carbono activo (al 10%; 20 mg), después se hidrogena un total de 2,5 h a TA y presión normal con hidrógeno. Se separa por filtración el producto bruto del catalizador y se concentra el filtrado. Se purifica por cromatografía el residuo (procedimiento 13). Rendimiento: 68 mg (46% d. t.).

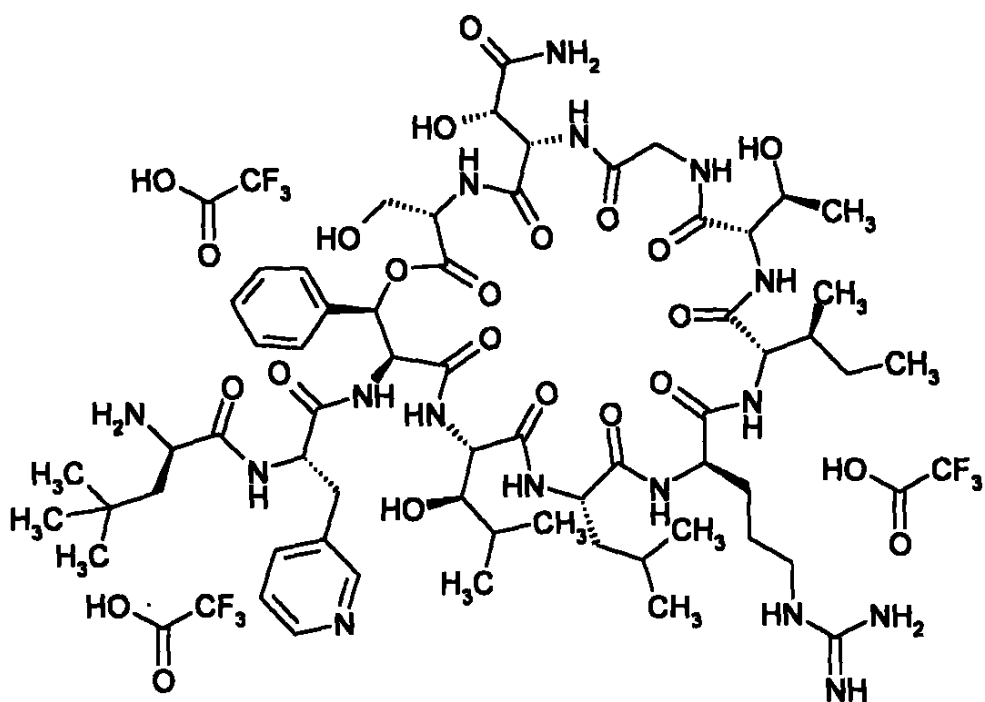
HPLC (procedimiento 9): $T_R \approx 3,29$ min.

EM-CL(procedimiento 7): $T_R \approx 1,49$ min, EM (ESIpos.): m/z (%) = 671,0 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1340 (5) $[M + H]^+$.

EM-AR-TOF (procedimiento 1): $C_{62}H_{98}N_{18}O_{17}$ $[M + H]^+$ calc. 1339,7369, enc. 1339,7368.

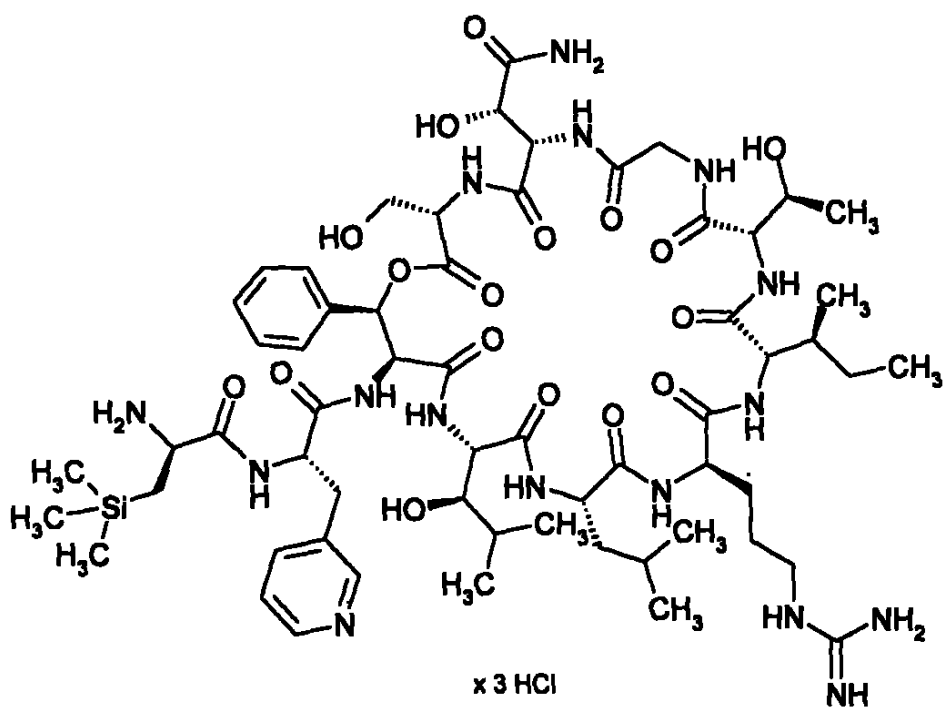
Ejemplo 5 (ejemplo comparativo)

15 Tris(trifluoroacetato) de 3-*terc*-butil-D-alanil-3-(piridin-3-il)-L-alanil-des-(1-D-leucil-2-L-leucil)isobactina



Ejemplo 6

Trisclorhidrato de (trimetilsilil)-D-alanil-3-(piridin-3-il)-L-alanil-des-(1-D-leucil-2-L-leucil)isobactina



Se empaquetan 32 g de Dowex 1X8-400 (en forma de HCl) en una columna

(35 mm de diámetro). Se añaden aproximadamente 60 ml de solución de hidróxido de sodio 1 M a la columna, seguidos de 60 ml de agua de HPLC. Después, se acondiciona con 60 ml de ácido clorhídrico 1 M y a continuación se lava con aproximadamente 100 ml de agua hasta reacción neutra del eluido. (Macherey & Nagel Tritest). Después, se disuelven 2,00 g (1,19 mmol) de tris(trifluoroacetato) de 3-(trimetilsilil)-D-alanil-3-(piridin-3-il)-L-alanil-des-(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina (ejemplo 2) en 90 ml de agua, se añade la solución y se eluye lentamente. Se lava la columna con aproximadamente 20 ml de agua. Se purifican los eluidos que contienen producto, se someten a filtración fina (tamaño de poro 0,20 μm) y se liofilizan. Se acondiciona de nuevo la columna y se vuelve a usar. Se obtienen 1,54 g (1,06 mmol, 89% d. t.) del ejemplo 6 a partir de 2.000 mg (1,19 mmol) del ejemplo 2.

HPLC (procedimiento 9): $T_R = 3,30$ min.

EM-CL(procedimiento 7): $T_R = 1,47$ min, EM (ESIpos.): m/z (%) = 671,5 (100) $[M+2 H]^2+$, 1341,4 (20), $[M+H]^+$.

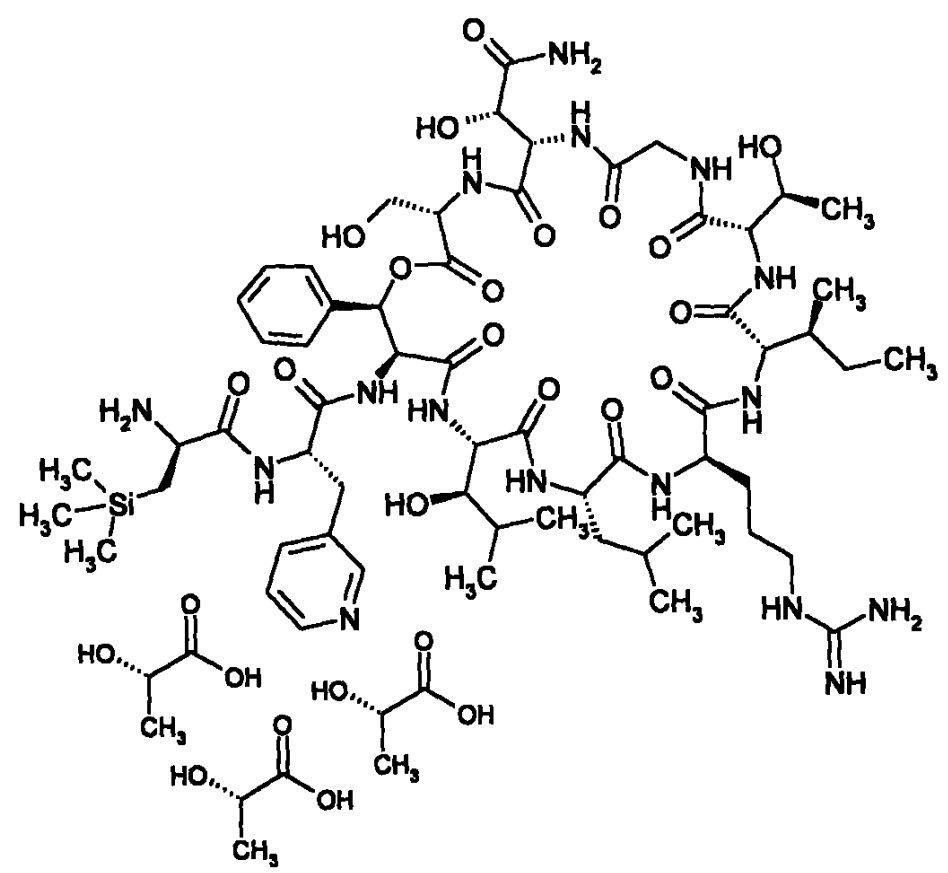
Cromatografía iónica (procedimiento 25): Cl^- (calc.) = 7,43 %, Cl^- enc. = 7,1 %; TFA (enc.) < 0,1 %.

^1H -RMN (500 MHz, d_5 -piridina) $\delta = -0,170$ (s, 9H), 0,580 (d, $J = 6,3$ Hz, 3H), 0,772 (d, $J = 5,7$ Hz, 3H), 0,920 (d, $J = 5,8$ Hz, 3H), 0,974 – 0,985 (m, 6H), 1,147 (d, $J = 6,4$ Hz, 3H), 1,250 – 1,358 (m, 2H), 1,411 (d, $J = 5,7$ Hz, 3H), 1,468 (m, 1H), 1,604 (m, 1H), 1,959 – 2,049 (m, 3H), 2,154 – 2,228 (m, 3H), 2,380 (m, 3H), 2,935 (m, 1H), 3,120 (m, 1H), 3,300 (m, 1H), 3,607 (d, $J = 14,9$ Hz, 1H), 3,762 (dd, $J = 14,7$ Hz, 1H), 3,882 (d, $J = 9,1$ Hz, 1H), 3,938 (m, 1H), 4,204 (m, 1H), 4,253 (m, 1H), 4,389 (m, 1H), 4,465 (m, 1H), 4,589 – 4,661 (m, 4H), 4,806 (d, $J = 12,1$ Hz, 1H), 5,027 (m, 1H), 5,202 (dd, $J = 9,4$ Hz, 1H), 5,289 (m, 1H), 5,390 (s, 1H), 6,000 (d, $J = 9,5$ Hz, 1H), 6,394 (dd, $J = 9,0$ Hz, 1H), 7,173 (m, 2H), 7,428 (m, 1H), 7,54 (d, $J = 7,0$ Hz, 1H), 7,664 – 7,973 (m, 3H), 7,767 (d, $J = 8,6$, 1H), 7,918 – 7,973 (m, 3H), 8,038 (s a, 2H), 8,098 (s a, 1H), 8,165 (s a, 1H), 8,253 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H), 8,582 (m, 1H), 8,684 (d, $J = 9,8$ Hz, 1H), 8,741 (s a, 1H), 8,782 (m, 1H), 9,928 (s a, 1H), 10,272 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H), 10,886 (s a, 1H), 11,135 (s a, 1H).

¹⁹F-RMN (piridina, 400 MHz, procedimiento 24): TFA < límite de determinación.

Ejemplo 7

- 5 Tris-L-lactato de (trimetilsilil)-D-alanil-3-(piridin-3-il)-L-alanil-des-(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina



- Se empaquetan 32 g de Dowex 1X8-400 (en forma de HCl) en una columna (35 mm de diámetro). Se añaden aproximadamente 60 ml de solución de hidróxido de sodio 1 M a la columna, seguidos de 60 ml de agua de HPLC. Después, se acondiciona con 60 ml de ácido láctico 1 M y a continuación se lava con aproximadamente 100 ml de agua hasta reacción neutra del eluido. (Macherey & Nagel Tritest). Después se disuelven 2,00 g (1,19 mmol) de tris(trifluoroacetato) de 3-(trimetilsilil)-D-alanil-3-(piridin-3-il)-L-alanil-des-(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina
- 15 (Ejemplo 2) en 90 ml de agua, se añade la solución y se eluye lentamente. Se lava la columna con aproximadamente 20 ml de agua. Se purifican los eluidos que con-

115

tienen producto, se someten a filtración fina (tamaño de poro 0,20 μm) y se liofilizan. Se acondiciona de nuevo la columna y se vuelve a usar. Se obtienen 1903 mg (1,18 mmol, 99% d. t.) del ejemplo 7 a partir de 2000 mg (1,19 mmol) del ejemplo 2.

5 HPLC (procedimiento 9): $T_R = 3,29$ min.

EM-CL(procedimiento 7): $T_R = 1,38$ min, EM (ESIpos.): m/z (%) = 671,7 (100) $[M+2 H]^+$, 1341,8 (20), $[M+H]^+$.

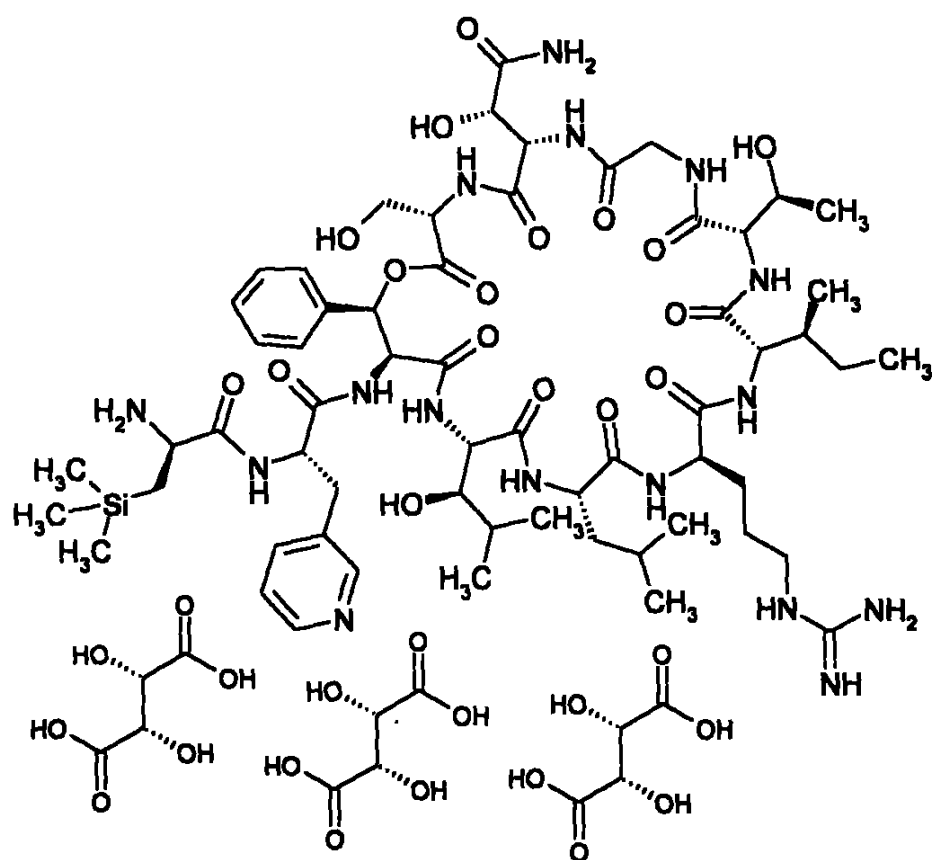
^1H -RMN (500 MHz, d_5 -piridina): $\delta = -0,170$ (s, 9H), 0,754 (d, $J = 6,3$ Hz, 3H), 0,836 (d, $J = 6,1$ Hz, 3H), 0,922 (d, $J = 6,2$ Hz, 3H), 0,922 – 0,957 (m, 6H),
10 1,054 (d, $J = 6,4$ Hz, 3H), 1,190 (m, 2H), 1,416 (d, $J = 5,8$ Hz, 3H), 1,439 – 1,662 (m, 4H), 1,529 (d, $J = 7,0$ Hz, 3H), 1,598 (d, $J = 6,5$ Hz, 3H), 1,669 (d, $J = 6,9$ Hz, 3H), 1,923 – 2,280 (m, 9H), 3,057 (m, 1H), 3,266 (m, 1H), 3,564 (d, $J = 14,5$ Hz, 1H), 3,761 (dd, $J = 13,7$ Hz, 1H), 3,840 (m, 1H), 4,049 (m, 1H), 4,109 (m, 1H), 4,164 (m, 1H), 4,202 (m, 1H), 4,410 (m, 1H), 4,484 (m, 1H), 4,616 (dd, $J = 6,7$,
15 13,6 Hz, 1H), 4,656 (m, 1H), 4,669 (dd, $J = 7,0$, 13,9 Hz, 1H), 4,780 (d, $J = 13,0$ Hz, 1H), 4,921 (m, 1H), 5,144 (dd, $J = 9,6$ Hz, 1H), 5,281 (m, 1H), 5,363 – 5,426 (m, 3H), 5,362 (s, 1H), 5,989 (d, $J = 9,8$ Hz, 1H), 6,323 (m, 1H), 7,122 (m, 1H), 7,180 (m, 1H), 7,381 (m, 1H), 7,596 (m, 1H), 7,671 – 7,925 (m, 6H), 8,036 (s a, 1H), 8,208 (m, 3H), 8,412 (m, 1H), 8,551 (d, $J = 3,6$ Hz, 1H), 8,714 (m, 2H),
20 8,794 (m, 1H), 10,298 (s a, 1H), 10,938 (s a, 1H).

^{19}F -RMN (piridina, 400 MHz, procedimiento 24): TFA < límite de determinación.

Ejemplo 8

25 Tris-D-tartrato de (trimetilsilil)-D-alanil-3-(piridin-3-il)-L-alanil-des-(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina

46
116



Acondicionamiento del intercambiador iónico: Se lavan 5 g de DOWEX 1X8 400 (sal de HCl) con lejía de sosa 1 M, hasta reacción alcalina del eluido. Después, se lava con 2 volúmenes de columna de agua y a continuación con ácido D-tartárico 1 M, hasta reacción ácida del eluido. Después, se lava con agua hasta que el eluido sea neutro (Macherey & Nagel Tritest).

Se disuelven después 100 mg (59 μ mol) del ejemplo 2 en 10 ml de agua y se aplican sobre la columna. A continuación, se lava con varias porciones de aproximadamente 10 ml de agua. Se disuelve el reactante sólo moderadamente y permanece parcialmente en la columna. Se combinan las fracciones de eluido que contienen producto y se liofilizan. Se obtienen 57 mg (31 μ mol, 52% d. t.) del producto. La integración del espectro de ^1H -RMN indica una estequiometría 1:3 para (trimetilsilil)-D-alanil-3-(piridin-3-il)-L-alanil-des-(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina : ácido D-tartárico.

HPLC (procedimiento 9): $T_R = 3,29$ min.

EM-CL(procedimiento 7): $T_R = 1,37$ min, EM (ESIpos.): m/z (%) = 671,7

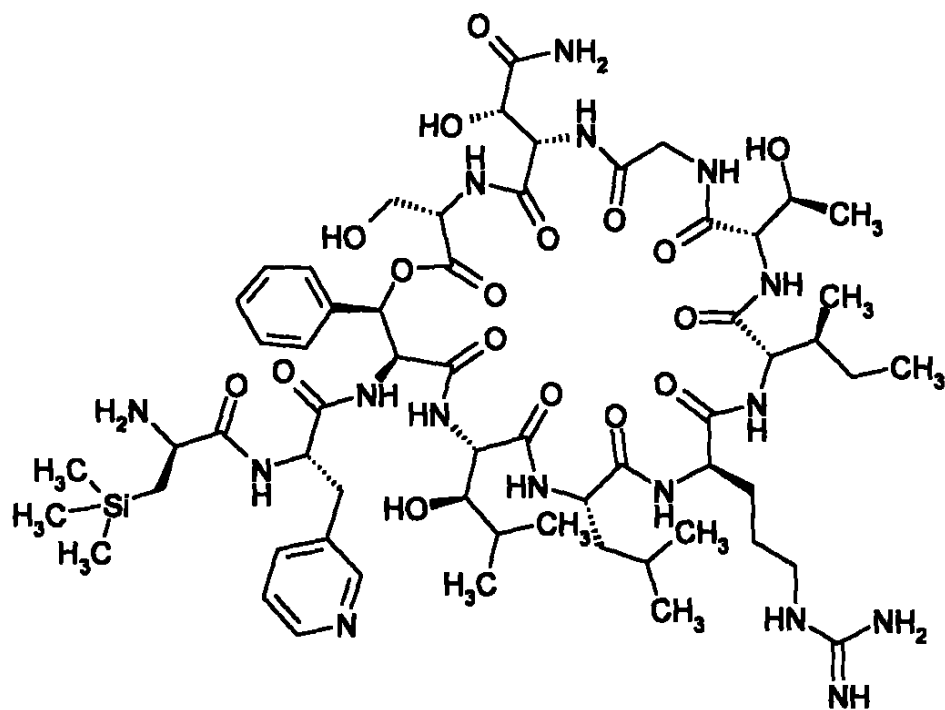
113

(100) $[M+2H]^{2+}$, 1341,9 (20), $[M+H]^+$.

1H -RMN (500 MHz, d_5 -piridina): δ = -0,172 (s, 9H), 0,597 (d, J = 6,3 Hz, 3H), 0,776 (d, J = 5,7 Hz, 3H), 0,924 (d, J = 5,8 Hz, 3H), 0,954 – 0,997 (m, 6H), 1,173 (d, J = 5,7 Hz, 3H), 1,303 (m, 2H), 1,434 (d, J = 5,7 Hz, 3H), 1,468 (m, 1H), 1,632 (m, 1H), 1,972 (m, 2H), 2,051 (1H, m), 2,174 (m, 3H), 2,402 (m, 3H), 3,129 (m, 1H), 3,305 (m, 1H), 3,602 (d, J = 15,2 Hz, 1H), 3,799 (dd, J = 14,6 Hz, 1H), 3,893 (d, J = 12,3 Hz, 1H), 3,967 (m, 1H), 4,228 (m, 1H), 4,276 (m, 1H), 4,409 (m, 1H), 4,468 (m, 1H), 4,578 – 4,669 (m, 4H), 4,791 (d, $J_{\alpha\beta}$ = 11,5 Hz, 1H), 5,044 (m, 1H), 5,226 (dd, J = 9,4 Hz, 1H), 5,190 (m, 1H), 5,362 (s, 1H), 5,417 (s, 6H), 5,997 (d, J = 9,7 Hz, 1H), 6,403 (dd, J = 8,9 Hz, 1H), 7,182 (m, 1H), 7,551 – 8,210 (m, 13H), 8,589 (d, J = 3,6 Hz, 1H), 8,711 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 8,782 (m, 2H), 9,902 (s a, 1H), 10,358 (m, 1H), 10,882 (s a, 1H), 11,093 (s a, 1H).

Elemplo 9

(Trimetilsilil)-D-alanil-3-(piridin-3-il)-L-alanil-des-(1-D-leucil-2-L-leucil)isobactina



Se empaqueta hidrogenocarbonato unido a polímero PL-HCO₃ (Polymer Labs, capacidad 1,8 mmol/g) en una columna. Para la reacción de 100 mg (59

μmol) del compuesto del ejemplo 2 se usan 396 mg (corresponde a 12 equivalentes de hidrogenocarbonato) de la resina. Se lava la resina con piridina. Después, se añade una solución del ejemplo 2 (100 mg, 59 μmol) en piridina (0,75 ml) a la columna y se eluye lentamente. Se lava la columna en primer lugar con piridina adicional (2 ml) y después con agua (aproximadamente 2 ml). Se combinan todos los eluidos y se concentran sin aporte de calor a vacío de bomba de aceite. Se disuelve el residuo de tipo vítreo en algunas gotas de agua y se liofiliza inmediatamente. Se obtiene el compuesto del título en forma de un polvo amorfo incoloro.

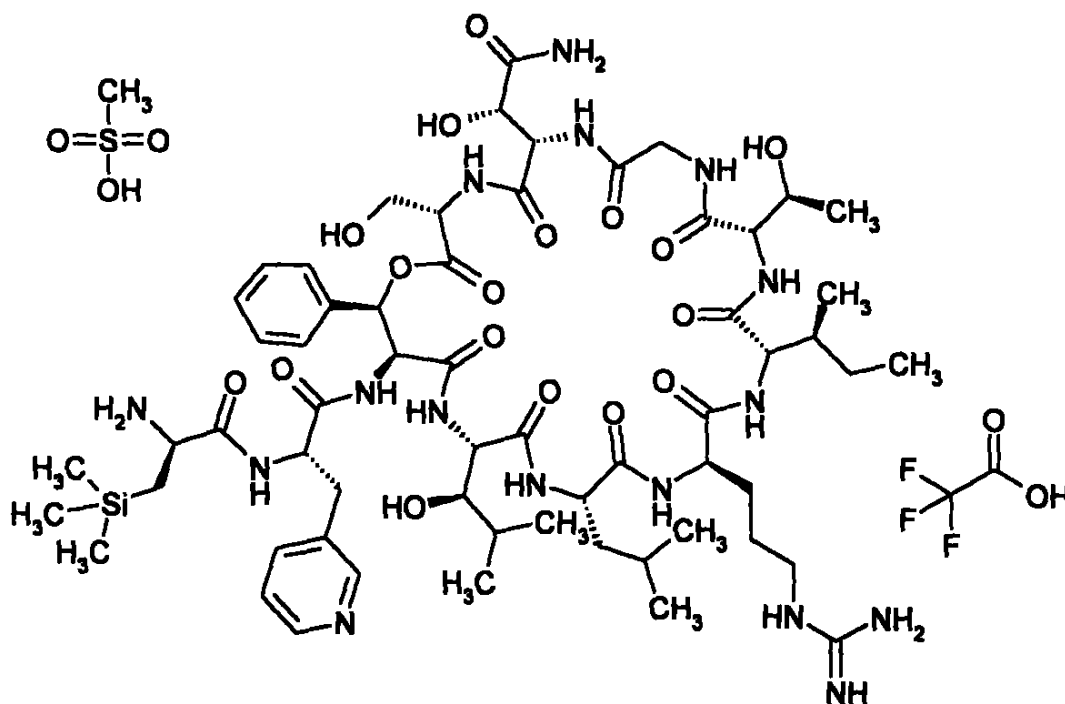
HPLC (procedimiento 9): $T_R = 3,30$ min.

EM-CL(procedimiento 7): $T_R = 1,49$ min, EM (ESIpos.): m/z (%) = 671,8 (100) $[M+2 H]^+$, 1341,9 (10), $[M+H]^+$, EM (ESIneg): m/z (%) = 669,9 (100) $[M-2 H]^-$, 1340,0 (100) $M-H$.

^{18}F -RMN (piridina, 400 MHz, procedimiento 24): TFA 2,9%.

15 Ejemplo 10

Mesilato-trifluoroacetato de (trimetilsilil)-D-alanil-3-(piridin-3-il)-L-alanil-des-(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina



119

Mediante recristalización del ejemplo 3 con agua impurificada con TFA a TA, puede obtenerse el compuesto del título en forma de sustancia cristalina (evaporación lenta de la solución).

EM-CL(procedimiento 6): $T_R = 1,41$ min, EM (ESIpos.): m/z (%) = 671,9 (100) $[M+2 H]^+$, 1342,1 (10), $[M+H]^+$, EM (ESIneg): m/z (%) = 669,9 (100) $[M-2 H]^+$, 1340,1 (80) $M-H$.

EM-AR-TOF (procedimiento 1): $C_{60}H_{97}N_{16}O_{17}Si$ $[M + H]^+$ calc. 1341,6982, enc. 1341,7006.

La estructura y la forma de sal se confirman mediante análisis de estructura de rayos X monocristalino.

B. Valoración de la actividad fisiológica

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

Determinación de la concentración mínima Inhibidora (CMI):

Se determina la CMI en un ensayo de dilución líquida según las directrices del NCCLS. Se incuban cultivos de una noche de *Staphylococcus aureus* 133, *Enterococcus faecalis* 27159, *E. faecium* 4147 y *Streptococcus pneumoniae* G9a con las sustancias de ensayo descritas en una serie de dilución 1:2. Se lleva a cabo la determinación de la CMI con un número de células de 10^5 gérmenes por ml de medio Isosensitest (compañía Difco, Irvine/EE.UU.) con excepción de *S. pneumoniae*, que se ensaya en caldo BHI (compañía Difco, Irvine/EE.UU.) con suero bovino al 10% a un número de células de 10^6 gérmenes por ml. Se incuban los cultivos a 37°C durante 18-24 horas, *S. pneumoniae* en presencia de 10% de CO_2 .

Se define como CMI la concentración de sustancia menor respectiva a la que no aparece ya crecimiento visible de bacterias. Los valores de CMI se dan en $\mu g/ml$.

Se reproducen los datos de actividad *in vitro* representativos y los datos de

f_u para los compuestos según la invención en la Tabla A:

Tabla A

Nº ejemplo	CMI <i>S. aureus</i> 133 [µg/ml]	CMI <i>S. pneumoniae</i> G9a [µg/ml]	CMI <i>E. faecium</i> L4001 [µg/ml]	CMI <i>E. faecalis</i> ICB 27159 [µg/ml]	f_u (rata) [%]
2	0,125	0,125	1	0,5	12,3
3	0,5	0,125	1	0,5	--
4	0,25	0,125	--	1	6,1
5	0,5	0,5	1	1	8,6
6	<0,063	<0,063	--	1	--
7	0,063	0,125	--	1	--
8	0,25	0,125	--	2	--
1 A	0,5	0,063	0,5	0,5	0,67

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

Infección sistémica con *Staphylococcus aureus* 133:

Se cultivan células de *S. aureus* 133 durante una noche en caldo BHI (com-
pañía Oxoid, Nueva York/EE.UU.). Se diluye el cultivo de una noche 1:100 en cal-
do BHI reciente y se incuba durante 3 horas. Las células, que se encuentran en-
tonces en fase de crecimiento logarítmico, se centrifugan y se lavan dos veces con
solución de sal común fisiológica tamponada. Después, se ajusta fotométricamen-
te una suspensión celular en solución de sal común a una extinción de 50 unida-
des. Después de una etapa de dilución (1:15), se mezcla esta suspensión 1:1 con
15 un solución de mucina al 10%. De esta solución de infección, se aplican 0,25
ml/20 g de ratón por vía intraperitoneal (correspondiente a 1×10^6 gérmenes/ratón).
La terapia se realiza por vía intraperitoneal o intravenosa 30 minutos después la

121

infección. Para el ensayo de infección, se usan ratones CFW1 hembra. Se registra la supervivencia de los animales durante 6 días.

Pueden mostrarse las propiedades de los compuestos según la invención con respecto a la tolerancia renal en el siguiente modelo animal:

5

Modelo de ratón para la determinación de efectos nefrotóxicos:

Se analizan los efectos nefrotóxicos secundarios de los nonadepsipéptidos mediante análisis histopatológicos de los riñones de ratones después de la toma múltiple de una dosificación determinada. Para ello, se tratan 5-6 animales por vía intravenosa (i.v.) o intraperitoneal (i.p.) con sustancias que se disuelven en solución acuosa o con la adición de soluto. Se determinan los efectos tóxicos renales mediante la valoración con microscopía óptica de cortes de parafina de los riñones teñidos con hematoxilina y eosina (H&E). Opcionalmente se lleva a cabo una reacción 'ácido de Schiff- y periódico' (PAS) para una mejor representación de las glicoproteínas. Se establecen los efectos nefrotóxicos semicuantitativamente para cada animal como el grado de gravedad de la basofilia tubular y degeneración/regeneración que aparece (grados de gravedad: 0 = sin efecto; 1 = efecto mínimo; 2 = efecto ligero; 3 = efecto moderado; 4 = lesiones graves). El grado de gravedad medio de la degeneración/regeneración así como la incidencia (número de animales afectados) se calcula por grupo de animales o derivado. Se indican igualmente modificaciones renales adicionales como dilatación tubular así como necrosis y agrupación de material necrótico.

Modelo de ratas para la determinación de efectos nefrotóxicos:

Se analizan los efectos nefrotóxicos secundarios de los nonadepsipéptidos mediante análisis histopatológicos de los riñones de ratas después de la toma múltiple de una dosificación determinada. Para ello, se tratan 5 animales diariamente por vía intravenosa (i.v.) con sustancias que se disuelven en solución salina o solución de lactato de Ringer. Se determinan los efectos tóxicos renales mediante la valoración con microscopía óptica de cortes de parafina de los riñones teñidos con

hematoxilina y eosina (H&E). Opcionalmente se lleva a cabo una reacción 'ácido de Schiff- y periódico' (PAS) para una mejor representación de las glicoproteínas. Se establecen los efectos nefrotóxicos semicuantitativamente para cada animal como el grado de gravedad de la basofilia tubular y degeneración/regeneración que aparece (grados de gravedad: 0 = sin efecto; 1 = efecto mínimo; 2 = efecto ligero; 3 = efecto moderado; 4 = lesiones graves). El grado de gravedad medio de la degeneración/regeneración así como la incidencia (número de animales afectados) se calcula por grupo de animales o derivado. Se indican igualmente modificaciones renales adicionales como dilatación tubular así como necrosis y agrupación de material necrótico.

Principio de determinación de la fracción libre mediante Transil:

El procedimiento aquí descrito para la determinación de la fracción libre (f_u) de una sustancia de ensayo se divide en dos partes:

- 15 a) Determinación de la relación de distribución de Transil®/tampón ($MA_{\text{tampón}}$) mediante incubación de la sustancia de ensayo en una dispersión de Transil®-tampón (pH 7,4) y posterior determinación de la concentración en la dispersión y en el sobrenadante de tampón.
- b) Determinación de la relación de distribución de Transil®/plasma (MA_{plasma}) mediante incubación de la sustancia de ensayo en una dispersión de Transil®-plasma y posterior determinación de la concentración en la dispersión y en el plasma.

El cociente de ambas relaciones de distribución proporciona la f_u .

En sustancias altamente unidas a proteína, se diluye generalmente el plasma con tampón fosfato isotónico (pH 7,4) y a continuación se suspende en Transil®. La determinación de la f_u' (fracción libre en plasma diluido) en esta solución de proteína diluida se realiza análogamente a la determinación de la f_u . La fracción libre en plasma no diluido se calcula a partir de la f_u' y del factor de dilución.

Compárese con este procedimiento también: Schuhmacher, Joachim; Kohlsdorfer, Christian; Buehner, Klaus; Brandenburger, Tim; Kruk, Renate, "High-

throughput determination of the free fraction of drugs strongly bound to plasma proteins." Journal of Pharmaceutical Sciences 2004, 93, 816-830.

Determinación de la afinidad de membrana de una sustancia de ensayo después de distribución entre Transil® y tampón (MA_{tampón}):

Se llevaron a cabo todas las incubaciones en matraces de vidrio adecuados, por ejemplo, viales de vidrio o probetas esmeriladas. Generalmente, el volumen total asciende a 0,5-5 ml, y el volumen de Transil® a 10-100 µl. En el caso de afinidades de membrana mayor de lo esperado, la dispersión de Transil® puede diluirse con tampón fosfato a pH 7,4, por ejemplo Dulbeccos PBS hasta 20 veces. El tampón fosfato a pH 7,4 se dispone en el matraz de incubación y se pipetea Transil® después de mezclado concienzudo. Se pipetea la sustancia de ensayo a una concentración, por ejemplo, de 200 ng/ml, n = 6. La proporción de disolvente orgánico debe ser ≤2%. Las preparaciones se incuban durante 30 min a temperatura ambiente, por ejemplo, en un Mini-Shaker con un ángulo de aproximadamente 45° aproximadamente a 400 rpm. Para la determinación del valor al 100%, se toma al menos una alícuota de, por ejemplo, 100 µl, el resto de la preparación se centrifuga aproximadamente durante 10 min aproximadamente a 1.800 g. Se toman de cada muestra al menos 2 alícuotas (por ejemplo, 100 µl) del sobrenadante para la determinación de la concentración.

Determinación del MA_{plasma} en plasma no diluido o diluido:

El volumen total de incubación y el volumen de Transil® añadido dependen de la fracción libre esperada. Generalmente, el volumen total asciende a 0,5 –1 ml, el volumen de Transil® a 10-100 µl. En caso de fracciones libres muy bajas, se diluye el plasma de la especie que se va a analizar con solución tampón isotónica, pH 7,4, por ejemplo 10 –400 veces, y a continuación se mezcla con Transil®. El resto del procedimiento adicional se realiza como se ha descrito anteriormente para la determinación de los valores de MA_{tampón}.

Principio de determinación de la fracción libre mediante ultrafiltración:

Se filtra el plasma de la especie a analizar a través de una membrana semipermeable. Se mide la concentración de sustancia en el filtrado y se calcula a partir de ella la fracción libre f_u . Se usa el Centrifree micropartition system de Millipore/Amicon. Las membranas de ultrafiltración tienen un tamaño de exclusión de 30.000 Da. La sustancia se dosifica a 1 ml de plasma con una concentración de aproximadamente 1 µg/ml. La proporción de disolvente debe ser < 2 %. Después de 30 minutos de incubación a temperatura ambiente, se pipetea el plasma en el sistema de ultrafiltración y se centrifuga durante 10 minutos a 1800 g. Se mide la concentración de sustancia en el ultrafiltrado (C_u ; concentración de sustancia no unida) y en el plasma antes de la centrifugación (C ; concentración de sustancia total). Se calcula la fracción libre según la fórmula: $f_u (\%) = C_u/C * 100$.

C. Ejemplos de realización para composiciones farmacéuticas

Los compuestos según la invención pueden transformarse en preparados farmacéuticos de la siguiente manera:

Comprimidos:

Composición:

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

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

Preparación:

Se granula la mezcla de principio activo, lactosa y almidón con una solución al 5% (m/m) de PVP en agua. Se mezcla el granulado con estearato de magnesio durante 5 minutos después de secar. Se comprime esta mezcla con una prensa de comprimidos habitual (para el formato de los comprimidos véase anteriormente).

Como valor normativo para la compresión se usa una fuerza de compresión de 15

kN.

Suspensión administrable por vía oral:

Composición:

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

Una monodosis de 100 mg de compuesto según la invención corresponde a 10 ml de suspensión oral.

10 **Preparación:**

Se suspende el Rhodigel en etanol, se añade el principio activo a la suspensión. Se realiza la adición del agua con agitación. Se agita hasta la terminación del hinchamiento del Rhodigel aproximadamente 6 h.

15 **Solución administrable por vía intravenosa:**

Composición:

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

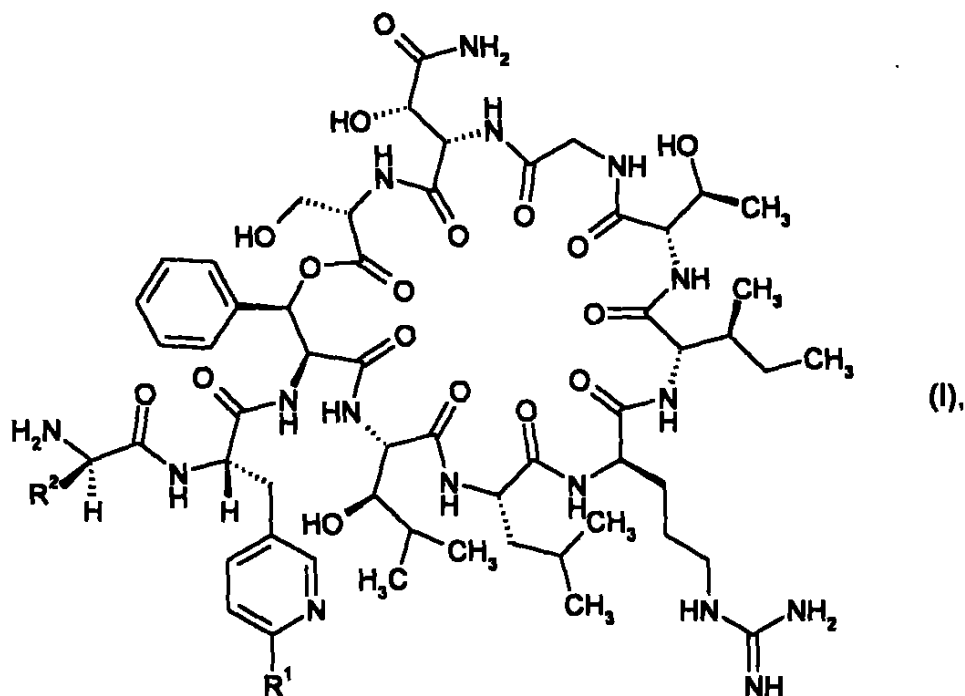
Preparación:

- 20 Se disuelve el compuesto del ejemplo 1 junto con polietilenglicol 400 en agua con agitación. Se esteriliza por filtración la solución (diámetro de poro 0,22 μ m) y se rellenan en condiciones asépticas frascos de infusión termoesterilizados. Se cierran estos con tapones de infusión y cápsulas con reborde.

126

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula



- 5 en la que

R¹ significa hidrógeno y

R² significa 2,2-dimetil-1-butilo, 2-etil-2-metil-1-butilo, 2,2-dietil-1-butilo, 2,2-dimetil-1-pentilo o trimetilsililmetilo,

o

- 10 R¹ significa trifluorometilo y

R² significa 2,2-dimetil-1-propilo, 2,2-dimetil-1-butilo, 2-etil-2-metil-1-butilo, 2,2-dietil-1-butilo, 2,2-dimetil-1-pentilo o trimetilsililmetilo,

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

- 15 2. Compuesto según la reivindicación 1, caracterizado porque

R¹ significa hidrógeno y

R² significa 2,2-dimetil-1-butilo o trimetilsililmetilo,

o

128

R¹ significa trifluorometilo y

R² significa 2,2-dimetil-1-propilo, 2,2-dimetil-1-butilo o trimetilsililmetilo.

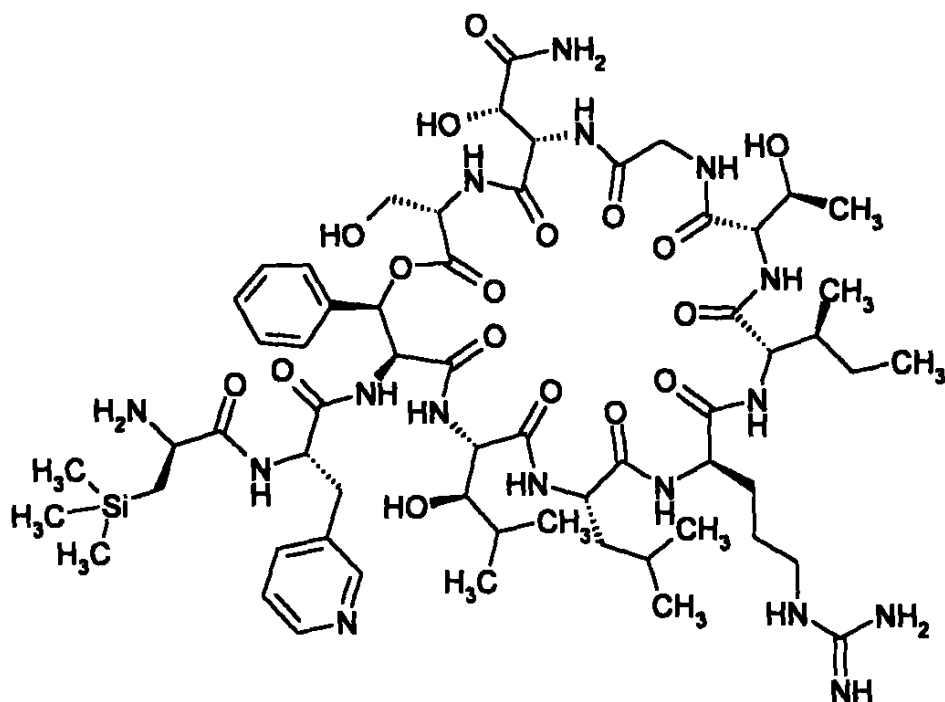
3. Compuesto según la reivindicación 1, caracterizado porque

5 R¹ significa hidrógeno y

R² significa 2,2-dimetil-1-butilo, 2-etil-2-metil-1-butilo, 2,2-dietil-1-butilo o trimetilsililmetilo.

4. Compuesto según la reivindicación 1 con la siguiente estructura 3-

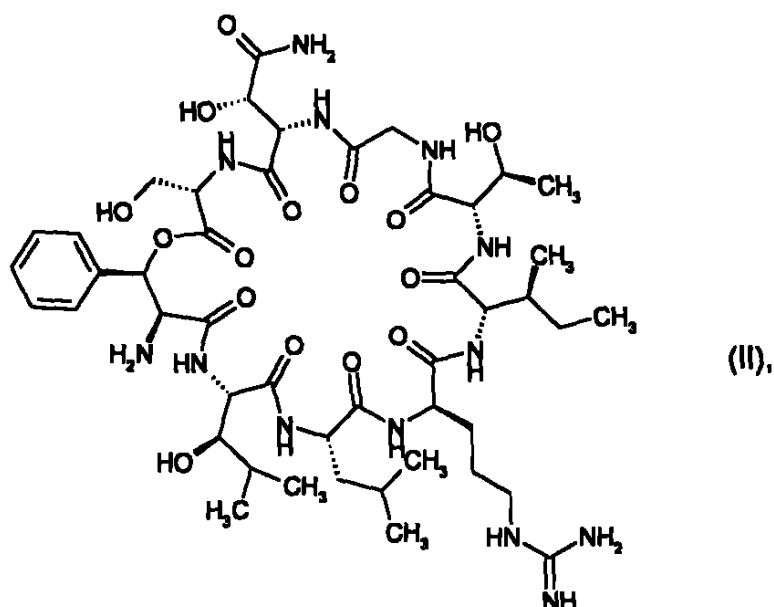
10 (trimetilsilil)-D-alanil-3-(piridin-3-il)-L-alanil-des-(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina



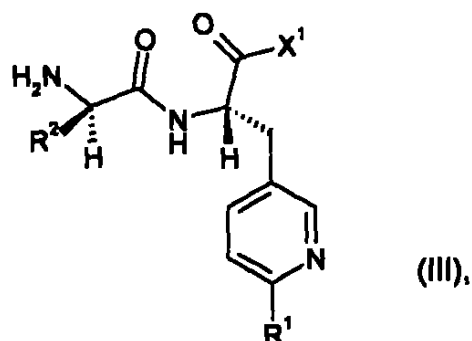
o una de sus sales, sus solvatos o los solvatos de sus sales.

5. Procedimiento para la preparación de un compuesto de fórmula (I)

15 según la reivindicación 1, caracterizado porque se hace reaccionar el compuesto de fórmula



con un compuesto de fórmula



en la que

- 5 R^1 y R^2 tienen el significado dado en la reivindicación 1, y
 X^1 significa halógeno, preferiblemente bromo, cloro o flúor, o hidroxilo.

6. Compuesto según una de las reivindicaciones 1 a 4 para el tratamiento y/o la profilaxis de enfermedades.

10

7. Uso de un compuesto según una de las reivindicaciones 1 a 4 para la preparación de un medicamento para el tratamiento y/o la profilaxis de enfermedades.

15

8. Uso de un compuesto según una de las reivindicaciones 1 a 4 para la

preparación de un medicamento para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones bacterianas.

5 9. Medicamento que contiene un compuesto según una de las reivindicaciones 1 a 4 en combinación con un coadyuvante inerte no tóxico farmacéuticamente adecuado.

 10. Medicamento según la reivindicación 9 para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones bacterianas.

10

 11. Procedimiento para combatir infecciones bacterianas en personas y animales mediante la administración de una cantidad antibacterianamente eficaz de al menos un compuesto según una de las reivindicaciones 1 a 4, un medicamento según la reivindicación 9 o un medicamento obtenido según la reivindicación 7 u 8.

15

Nonadepsipéptidos acilados como derivados de lisobactina**Resumen**

- 5 La invención se refiere a nonadepsipéptidos (derivado de lisobactina) y a procedimientos para su preparación, así como a su uso para la preparación de medicamentos para el tratamiento y/o la profilaxis de enfermedades, especialmente enfermedades infecciosas bacterianas. Los nuevos derivados de lisobactina se diferencian de la sustancia natural por la cadena de péptidos terminales N que
- 10 abarcen un resto de 3-(piridil-3)-alanil.

ACYLIERTE NONADEPSIPEPTIDE ALS LYSOBACTINDERIVATE

Die Erfindung betrifft Nonadepsipeptide und Verfahren zu ihrer Herstellung sowie ihre Verwendung zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Krankheiten, insbesondere bakteriellen Infektionskrankheiten.

- 5 Die bakterielle Zellwand wird durch eine Reihe von Enzymen synthetisiert (Zellwandbiosynthese) und ist essentiell für das Überleben bzw. die Vermehrung von Mikroorganismen. Die Struktur dieses Makromoleküls ebenso wie die an ihrer Synthese beteiligten Proteine sind innerhalb der Bakterien stark konserviert. Aufgrund ihrer essentiellen Natur und Einheitslichkeit ist die Zellwandbiosynthese ein idealer Angriffspunkt für neue Antibiotika (D.W.Green, The bacterial cell wall as
10 a source of antibacterial targets, *Expert Opin. Ther. Targets*, 2002, 6, 1-19).

- Vancomycin und Penicilline sind Inhibitoren der bakteriellen Zellwandbiosynthese und stellen erfolgreiche Beispiele für die antibiotische Potenz dieses Wirkprinzips dar. Sie werden seit mehreren Jahrzehnten in der Klinik zur Behandlung von bakteriellen Infektionen, vor allem mit Gram-positiven Erregern eingesetzt. Durch das wachsende Auftreten von resistenten Keimen, z.B.
15 Methicillin-resistenten Staphylokokken, Penicillin-resistenten Pneumokokken und Vancomycin-resistenten Enterokokken (F. Baquero, Gram-positive resistance: challenge for the development of new antibiotics, *J. Antimicrob. Chemother.*, 1997, 39, Suppl A:1-6; A.P. Johnson, D.M. Livermore, G.S. Tillotson, Antimicrobial susceptibility of Gram-positive bacteria: what's current, what's anticipated?, *J. Hosp. Infect.*, 2001, (49), Suppl A: 3-11) sowie jüngst auch erstmals Vancomycin-resistenten Staphylokokken (B. Goldrick, First reported case of VRSA in the United States, *Am. J. Nurs.*, 2002, 102, 17) verlieren diese Substanzen zunehmend ihre therapeutische Wirksamkeit.
20

Die vorliegende Erfindung beschreibt eine neue Klasse von Zellwandbiosynthese-Inhibitoren ohne Kreuzresistenzen zu bekannten Antibiotika-Klassen.

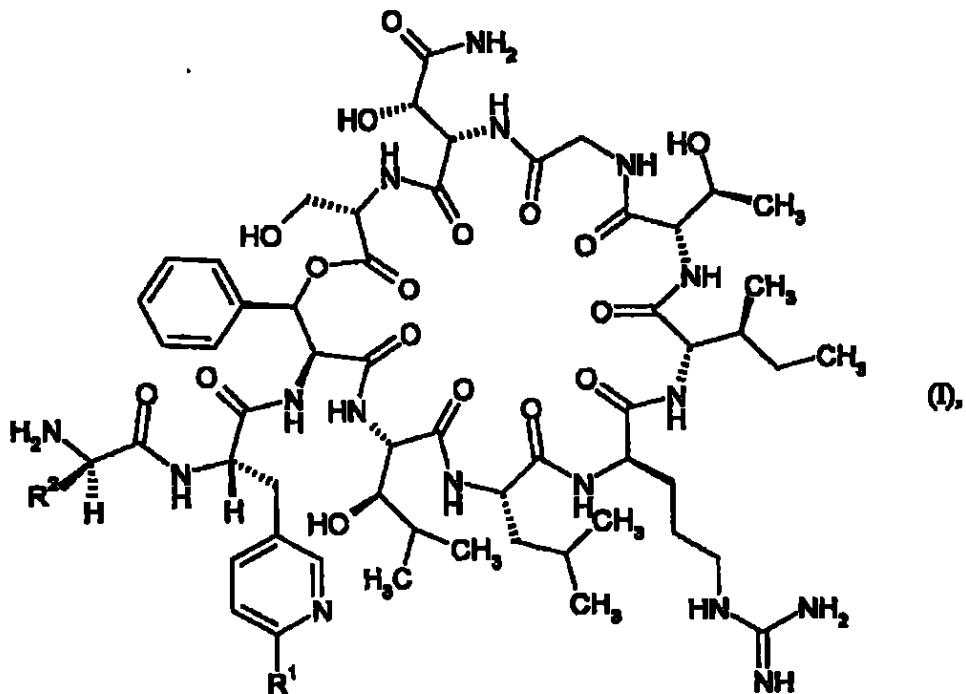
- Der Naturstoff Lysobactin und einige Derivate sind als antibakteriell wirksam beschrieben in US
25 4,754,018. Die Isolierung und antibakterielle Wirksamkeit von Lysobactin ist auch in EP-A-196 042 und JP 01132600 beschrieben. WO04/099239 beschreibt Derivate des Lysobactins mit antibakterieller Wirksamkeit.

- Die antibakterielle Wirkung von Lysobactin und Katanosin A wird weiterhin beschrieben in O'Sullivan, J. et al., *J. Antibiot.* 1988, 41, 1740 – 1744, Bonner, D. P. et al., *J. Antibiot.* 1988, 41,
30 1745 – 1751, Shoji, J. et al., *J. Antibiot.* 1988, 41, 713 – 718 und Tymliak, A. A. et al., *J. Org. Chem.* 1989, 54, 1149 – 1157.

132
132

- Eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es, alternative Verbindungen mit vergleichbarer oder verbesserter antibakterieller Wirkung, besserer Verträglichkeit, z. B. geringerer Nephrotoxizität, und besserer Verteilung im Körper, d. h. besseren pharmakokinetischen Eigenschaften, wie z. B. Erhöhung der freien Fraktion (f_a), zur Behandlung von bakteriellen Erkrankungen bei Menschen und Tieren zur Verfügung zu stellen.

Gegenstand der Erfindung sind Verbindungen der Formel



in welcher

R^1 Wasserstoff bedeutet und

- 10 R^2 2,2-Dimethylbut-1-yl, 2-Ethyl-2-methylbut-1-yl, 2,2-Diethyl-but-1-yl, 2,2-Dimethylpent-1-yl oder Trimethylsilylmethyl bedeutet,

oder

R^1 Trifluormethyl bedeutet und

- 15 R^2 2,2-Dimethylprop-1-yl, 2,2-Dimethylbut-1-yl, 2-Ethyl-2-methylbut-1-yl, 2,2-Diethyl-but-1-yl, 2,2-Dimethylpent-1-yl oder Trimethylsilylmethyl bedeutet,

und ihre Salze, ihre Solvate und die Solvate ihrer Salze.

Erfindungsgemäße Verbindungen sind die Verbindungen der Formel (I) und deren Salze, Solvate, Solvate der Salze und Prodrugs, die von Formel (I) umfassten Verbindungen der nachfolgend genannten Formeln und deren Salze, Solvate, Solvate der Salze und Prodrugs sowie die von Formel (I) umfassten, nachfolgend als Ausführungsbeispiele genannten Verbindungen und deren Salze, Solvate, Solvate der Salze und Prodrugs, soweit es sich bei den von Formel (I) umfassten, nachfolgend genannten Verbindungen nicht bereits um Salze, Solvate, Solvate der Salze und Prodrugs handelt.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können in Abhängigkeit von ihrer Struktur in stereoisomeren Formen (Enantiomere, Diastereomere) existieren. Die Erfindung betrifft deshalb die Enantiomeren oder Diastereomeren und ihre jeweiligen Mischungen. Aus solchen Mischungen von Enantiomeren und/oder Diastereomeren lassen sich die stereoisomer einheitlichen Bestandteile in bekannter Weise isolieren.

Solfern die erfindungsgemäßen Verbindungen in tautomeren Formen vorkommen können, umfasst die vorliegende Erfindung sämtliche tautomere Formen.

Als Salze sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung physiologisch unbedenkliche Salze der erfindungsgemäßen Verbindungen bevorzugt. Umfasst sind aber auch Salze, die für pharmazeutische Anwendungen selbst nicht geeignet sind aber beispielsweise für die Isolierung oder Reinigung der erfindungsgemäßen Verbindungen verwendet werden können oder Mischsalze. Unter Mischsalz wird im Rahmen der vorliegenden Erfindung ein Additionssalz verstanden, das zwei oder mehrere unterschiedliche Säuren bzw. Basen enthält, wie z. B. ein Trifluoracetat-Merylat-Salz.

Physiologisch unbedenkliche Salze der erfindungsgemäßen Verbindungen umfassen Säureadditionssalze von Mineralsäuren, Carbonsäuren und Sulfonsäuren, z.B. Salze der Chlorwasserstoffsäure, Bromwasserstoffsäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure, Methansulfonsäure, Ethansulfonsäure, Toluolsulfonsäure, Benzolsulfonsäure, Naphthalindisulfonsäure, Essigsäure, Trifluoressigsäure, Propionsäure, Milchsäure, Weinsäure, Äpfelsäure, Zitronensäure, Fumarsäure, Maleinsäure und Benzoesäure.

Physiologisch unbedenkliche Salze der erfindungsgemäßen Verbindungen umfassen auch Salze üblicher Basen, wie beispielhaft und vorzugsweise Alkalimetallsalze (z.B. Natrium- und Kaliumsalze), Erdalkalisalze (z.B. Calcium- und Magnesiumsalze) und Ammoniumsalze, abgeleitet von Ammoniak oder organischen Aminen mit 1 bis 16 C-Atomen, wie beispielhaft und vorzugsweise Ethylamin, Diethylamin, Triethylamin, Ethyldiisopropylamin, Monoethanolamin, Diethanolamin, Triethanolamin, Dicyclohexylamin, Dimethylaminoethanol, Procain, Dibenzylamin, N-Methylmorpholin, Arginin, Lysin, Ethylendiamin und N-Methylpiperidin.

134

Als Solvate werden im Rahmen der Erfindung solche Formen der erfindungsgemäßen Verbindungen bezeichnet, welche in festem oder flüssigem Zustand durch Koordination mit Lösungsmittelmolekülen einen Komplex bilden. Hydrate sind eine spezielle Form der Solvate, bei denen die Koordination mit Wasser erfolgt.

5 Bevorzugt sind Verbindungen der Formel (I), in welcher

R¹ Wasserstoff bedeutet und

R² 2,2-Dimethylbut-1-yl oder Trimethylsilylmethyl bedeutet,

oder

R¹ Trifluormethyl bedeutet und

10 R² 2,2-Dimethylprop-1-yl, 2,2-Dimethylbut-1-yl oder Trimethylsilylmethyl bedeutet,

und ihre Salze, ihre Solvate und die Solvate ihrer Salze.

Bevorzugt sind auch Verbindungen der Formel (I), in welcher

R¹ Wasserstoff bedeutet und

15 R² 2,2-Dimethylbut-1-yl, 2-Ethyl-2-methylbut-1-yl, 2,2-Diethyl-but-1-yl oder Trimethylsilylmethyl bedeutet,

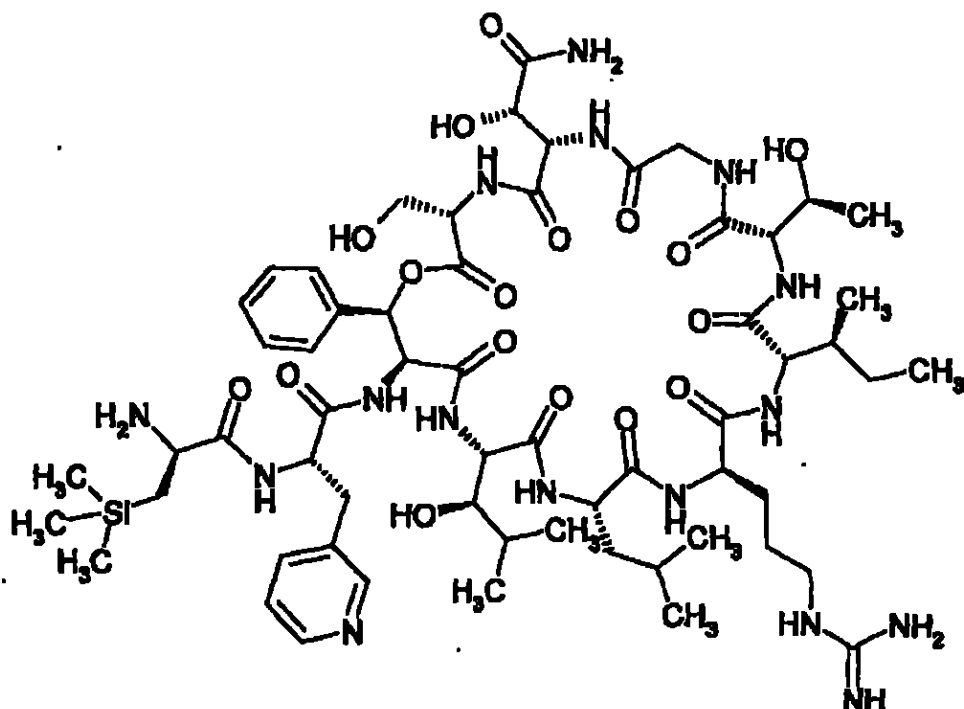
und ihre Salze, ihre Solvate und die Solvate ihrer Salze.

Bevorzugt sind auch Verbindungen der Formel (I), in welcher

R¹ Wasserstoff bedeutet und

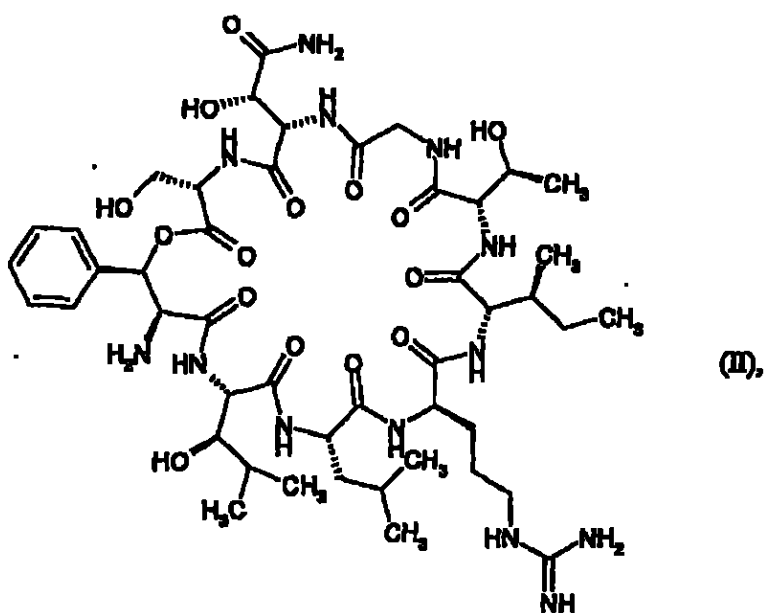
20 R² 2,2-Dimethylbut-1-yl, 2-Ethyl-2-methylbut-1-yl, 2,2-Diethyl-but-1-yl, 2,2-Dimethylpent-1-yl oder Trimethylsilylmethyl bedeutet.

Inbesondere bevorzugt ist die Verbindung 3-(Trimethylsilyl)-D-alanyl-3-(pyridin-3-yl)-L-alanyl-des(1-D-leucyl-2-L-leucyl)-lysobactin

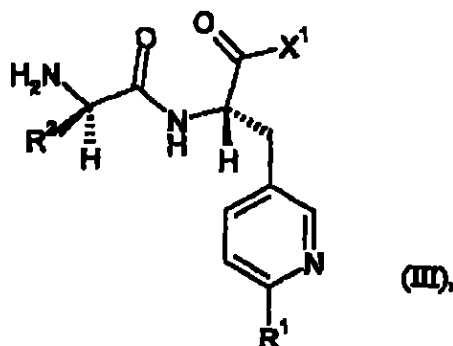


oder eines ihrer Salze, ihrer Solvate oder der Solvate ihrer Salze.

Gegenstand der Erfindung ist weiterhin ein Verfahren zur Herstellung der Verbindungen der Formeln (I), wobei die Verbindung der Formel



mit Verbindungen der Formel



in welcher

R^1 und R^2 die oben angegebene Bedeutung haben, und

X^1 Halogen, bevorzugt Brom, Chlor oder Fluor, oder Hydroxy bedeutet,

5 umgesetzt werden.

Falls X^1 für Halogen steht, erfolgt die Umsetzung im Allgemeinen in inerten Lösungsmitteln, gegebenenfalls in Gegenwart einer Base, bevorzugt in einem Temperaturbereich von -30°C bis 50°C bei Normaldruck.

10 Inerte Lösungsmittel sind beispielsweise Tetrahydrofuran, Methylenchlorid, Pyridin, Dioxan oder Dimethylformamid, bevorzugt ist Methylenchlorid oder Dimethylformamid.

Basen sind beispielsweise Triethylamin, Diisopropylethylamin oder *N*-Methylmorpholin, bevorzugt ist Diisopropylethylamin.

15 Falls X^1 für Hydroxy steht, erfolgt die Umsetzung im Allgemeinen in inerten Lösungsmitteln, in Gegenwart eines Dehydratisierungsreagenzes, gegebenenfalls in Gegenwart einer Base, bevorzugt in einem Temperaturbereich von -30°C bis 50°C bei Normaldruck.

Inerte Lösungsmittel sind beispielsweise Halogenkohlenwasserstoffe wie Dichlormethan oder Trichlormethan, Kohlenwasserstoff wie Benzol, Nitromethan, Dioxan, Dimethylformamid oder Acetonitril. Ebenso ist es möglich, Gemische der Lösungsmittel einzusetzen. Besonders bevorzugt ist Dichlormethan oder Dimethylformamid.

20 Als Dehydratisierungsreagenzien eignen sich hierbei beispielsweise Carbodiimide wie z.B. *N,N'*-Diethyl-, *N,N'*-Dipropyl-, *N,N'*-Diisopropyl-, *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimid, *N*-(3-Dimethylaminoisopropyl)-*N'*-ethylcarbodiimid-hydrochlorid (EDC), *N*-Cyclohexylcarbodiimid-*N'*-propyloxymethyl-Polystyrol (PS-Carbodiimid) oder Carbonylverbindungen wie Carbonyldiimid-

12A
(37

zol, oder 1,2-Oxazoliumverbindungen wie 2-Ethyl-5-phenyl-1,2-oxazolium-3-sulfat oder 2-*tert*-Butyl-5-methyl-isoxazolium-perchlorat, oder Acylaminoverbindungen wie 2-Ethoxy-1-ethoxycarbonyl-1,2-dihydrochinolin, oder Propanphosphonsäureanhydrid, oder Isobutylchloroformat, oder Bis-(2-oxo-3-oxazolidinyl)-phosphorylchlorid oder Benzotriazolyl-oxy-tri(dimethylamino)-phosphoniumhexafluorophosphat, oder *O*-(Benzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluroniumhexafluorophosphat (HBTU), 2-(2-Oxo-1-(2H)-pyridyl)-1,1,3,3-tetramethyluroniumtetrafluoroborat (TPTU) oder *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyl-uroniumhexafluorophosphat (HATU), oder 1-Hydroxybenzotriazol (HOBt), oder Benzotriazol-1-yloxytris(dimethylamino)-phosphoniumhexafluorophosphat (BOP), oder *N*-Hydroxysuccinimid, oder Mischungen aus diesen, mit Basen.

Basen sind beispielsweise Alkalicarbonate, wie z.B. Natrium- oder Kaliumcarbonat, oder -hydrogencarbonat, oder organische Basen wie Trialkylamine z.B. Triethylamin, *N*-Methylmorpholin, *N*-Methylpiperidin, 4-Dimethylaminopyridin oder Diisopropylethylamin.

Vorzugsweise wird die Kondensation mit HATU oder mit EDC in Gegenwart von HOBt durchgeführt.

Die Verbindungen der Formel (III) tragen gegebenenfalls Schutzgruppen, so dass sich in diesen Fällen der Umsetzung der Verbindung der Formel (II) mit Verbindungen der Formel (III) eine Abspaltung der Schutzgruppen mit Trifluoressigsäure nach dem Fachmann bekannten Methoden anschließt.

Die freie Base der Salze der Verbindungen der Formel (I) kann zum Beispiel durch Zusatz einer Base und anschließender Extraktion, Fällung oder chromatographischer Trennung der Verbindung nach dem Fachmann bekannten Verfahren erhalten werden. Insbesondere durch Verwendung polymergebundener Basen, wie zum Beispiel polymergebundenem Hydrogencarbonat.

Weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur Herstellung der Verbindungen der Formel (I) oder ihrer Solvate nach Anspruch 1, bei dem Salze der Verbindungen oder Solvate der Salze der Verbindungen durch Zusatz einer Base in die Verbindungen überführt werden.

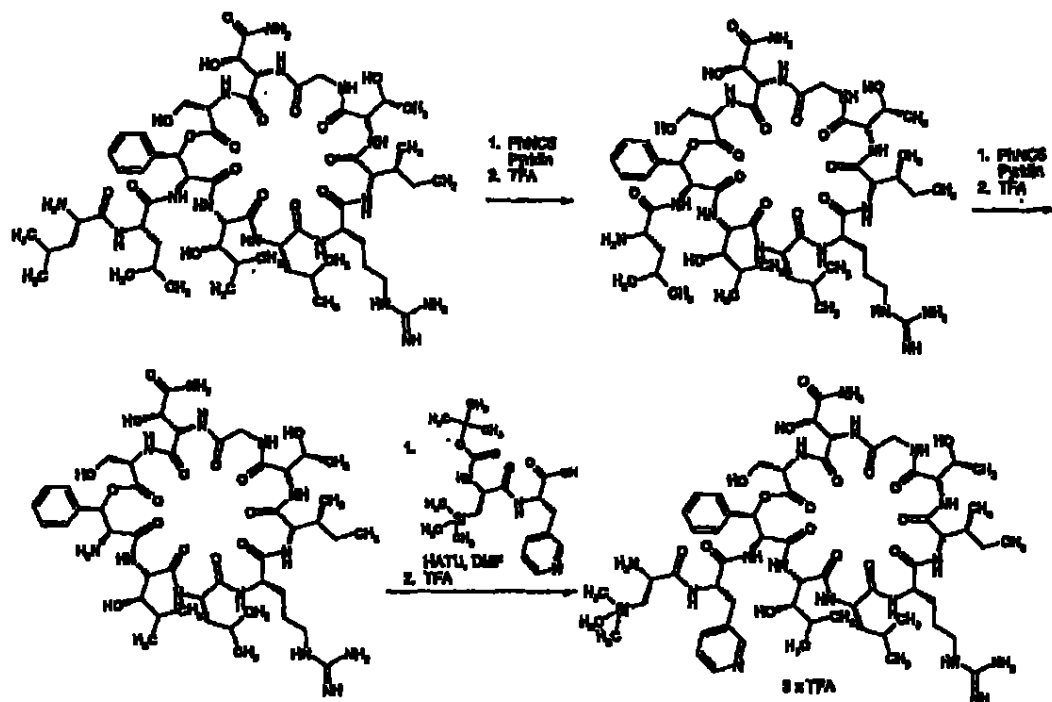
Die Verbindung der Formel (II) lässt sich durch doppelten Edmann-Abbau aus Lysobactin (Beispiel 1A) synthetisieren, wie im experimentellen Teil unter Beispiel 2A beschrieben.

Die Verbindungen der Formel (III) sind bekannt oder lassen sich nach bekannten Verfahren aus den entsprechenden Edukten synthetisieren.

Die Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen kann durch folgendes Syntheschema ver-

deutlich werden.

Syntheschema:



- 5 Die erfindungsgemäßen Verbindungen zeigen ein nicht vorhersehbares, wertvolles pharmakologisches und pharmakokinetisches Wirkspektrum. Sie zeigen eine antibakterielle Wirkung.

Sie eignen sich daher zur Verwendung als Arzneimittel zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Krankheiten bei Menschen und Tieren.

- 10 Die erfindungsgemäßen Verbindungen zeichnen sich durch eine geringere Nephrotoxizität gegenüber Lysobactin aus.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen zeichnen sich durch eine bessere Pharmakokinetik gegenüber Lysobactin aus. Sie zeigen bei gleicher oder verbesserter pharmakologischer Wirkung eine bessere Verteilung im Körper, was eine geringere therapeutische Dosis sowie ein breiteres therapeutisches Behandlungsfenster zur Folge hat.

- 15 Die erfindungsgemäßen Verbindungen haben eine höhere freie Fraktion (f_u) im Plasma als Lysobactin.

Die beschriebenen Nonadepsipeptide wirken als Inhibitoren der bakteriellen Zellwandbiosynthese.

Besonders wirksam sind die erfindungsgemäßen Zubereitungen gegen Bakterien und bakterienähnliche Mikroorganismen. Sie sind daher besonders gut zur Prophylaxe und Chemotherapie von lokalen und systemischen Infektionen in der Human- und Tiermedizin geeignet, die durch diese Erreger hervorgerufen werden.

- 5 Grundsätzlich können die erfindungsgemäßen Zubereitungen gegen alle Bakterien und bakterienähnlichen Mikroorganismen verwendet werden, die im Besitz einer bakteriellen Zellwand (Murein sacculus) bzw. den dazugehörigen Enzymsystemen sind, beispielsweise durch die folgenden Erreger oder durch Mischungen der folgenden Erreger:

- 10 Gram-negative Kokken (*Neisseria gonorrhoeae*) sowie Gram-negative Stäbchen wie Enterobacteriaceen, z.B. *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Citrobacter* (*C. freundii*, *C. diversus*), *Salmonella* und *Shigella*; ferner *Enterobacter* (*E. aerogenes*, *E. agglutrans*), *Hafnia*, *Serratia* (*S. marcescens*), *Providencia*, *Yersinia*, sowie die Gattung *Acinetobacter*, *Branhamella* und *Chlamydia*. Darüber hinaus umfasst das antibakterielle Spektrum strikt anaerobe Bakterien wie z.B. *Bacteroides fragilis*, Vertreter der Gattung *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*
- 15 sowie die Gattung *Clostridium*; ferner Mykobakterien, z.B. *M. tuberculosis*. Besonders ausgeprägte Wirkung zeigen die erfindungsgemäßen Verbindungen gegen Gram-positive Kokken, z.B. Staphylokokken (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. carnosus*), Enterokokken (*E. faecalis*, *E. faecium*) und Streptokokken (*S. agalactiae*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*).

- 20 Die obige Aufzählung von Erregern ist lediglich beispielhaft und keineswegs beschränkend aufzufassen. Als Krankheiten, die durch die genannten Erreger oder Mischinfektionen verursacht und durch die erfindungsgemäßen Zubereitungen verhindert, gebessert oder geheilt werden können, seien beispielsweise genannt:

- 25 Infektionskrankheiten beim Menschen wie z.B. unkomplizierte und komplizierte Harnwegsinfekte, unkomplizierte Haut- und Oberflächeninfektionen, komplizierte Haut- und Weichteilinfektionen, im Hospital und ambulant erworbene Lungenentzündung, nosokomiale Pneumonien, akute Exazerbationen und sekundäre bakterielle Infektionen der chronischen Bronchitis, akute Otitis media, akute Sinusitis, streptokokkale Pharyngitis, bakterielle Meningitis, unkomplizierte gonokokkale und nicht-gonokokkale Urethritis/Cervizitis, akute Prostatitis, Endocarditis, unkomplizierte und komplizierte intra-abdominale Infektionen, gynäkologische Infektionen, pelvische Entzündungs-
- 30 krankheit, bakterielle Vaginose, akute und chronische Osteomyelitis, akute bakterielle Arthritis, empirische Therapie in febrilen neutropenischen Patienten, desweiteren Bakteriämien, MRSA Infektionen, akute infektiöse Diarrhoe, *Helicobacter pylori* Infektionen, postoperative Infektionen, odontogene Infektionen, ophthalmologische Infektionen, postoperative Infektionen (inkl. periproktaler Abszess, Wundinfektionen, Galleninfektionen, Mastitis und akute Appendizitis), zytische

Fibrose und Bronchiectasia.

Außer beim Menschen können bakterielle Infektionen auch bei anderen Spezies behandelt werden. Beispielfhaft seien genannt:

Schwein: Diarrhoe, Enterotoxämie, Sepsis, Dysenterie, Salmonellose, Metritis-Mastitis-
5 Agalaktie-Syndrom, Mastitis;

Wiederkäuer (Rind, Schaf, Ziege): Diarrhoe, Sepsis, Bronchopneumonie, Salmonellose, Pasteurellose, Genitalinfektionen;

Pferd: Bronchopneumonien, Fohlensalmonelle, puerperale und postpuerperale Infektionen, Salmonellose;

10 Hund und Katze: Bronchopneumonie, Diarrhoe, Dermatitis, Otitis, Harnwegsinfekte, Prostatitis;

Geflügel (Huhn, Putz, Wachtel, Taube, Ziervogel und andere): *E. coli*-Infektionen, chronische Luftwegserkrankungen, Salmonellose, Pasteurellose, Psittakose.

Ebenso können bakterielle Erkrankungen bei der Aufzucht und Haltung von Nutz- und Zierfischen behandelt werden, wobei sich das antibakterielle Spektrum über die vorher genannten Erreger hinaus auf weitere Erreger wie z.B. Pasteurella, Brucella, Campylobacter, Listeria, Erysipelothrix,
15 Corynebakterien, Borellia, Treponema, Nocardia, Rickettsia, Yersinia, erweitert.

Weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist der Einsatz der erfindungsgemäßen Verbindungen zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Erkrankungen, insbesondere von bakteriellen Infektionskrankheiten.

20 Weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist die Verwendung der erfindungsgemäßen Verbindungen zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Erkrankungen, insbesondere der zuvor genannten Erkrankungen.

Weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist die Verwendung der erfindungsgemäßen Verbindungen zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Erkrankungen, insbesondere der zuvor genannten Erkrankungen.
25

Bevorzugt werden die erfindungsgemäßen Verbindungen zur Herstellung von Arzneimitteln verwendet, die zur Prophylaxe und/oder Behandlung von bakteriellen Erkrankungen geeignet sind.

Weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist ein Verfahren zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Erkrankungen, insbesondere der zuvor genannten Erkrankungen, unter Verwendung

einer antibakteriell wirksamen Menge der erfindungsgemäßen Verbindungen.

Weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Arzneimittel, enthaltend mindestens eine erfindungsgemäße Verbindung und mindestens einen oder mehrere weitere Wirkstoffe, insbesondere zur Behandlung und/oder Prophylaxe der zuvor genannten Erkrankungen. Bevorzugte Kombinationswirkstoffe sind antibakteriell wirkende Verbindungen, die ein anderes Wirkspektrum, insbesondere ergänzendes Wirkspektrum, haben und/oder synergistisch zu den erfindungsgemäßen Verbindungen sind.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können systemisch und/oder lokal wirken. Zu diesem Zweck können sie auf geeignete Weise appliziert werden, wie z.B. oral, parenteral, pulmonal, nasal, sublingual, lingual, buccal, rectal, dermal, transdermal, conjunctival, otisch oder als Implantat bzw. Stent.

Für diese Applikationswege können die erfindungsgemäßen Verbindungen in geeigneten Applikationsformen verabreicht werden.

Für die orale Applikation eignen sich nach dem Stand der Technik funktionierende schnell und/oder modifiziert die erfindungsgemäßen Verbindungen abgebende Applikationsformen, die die erfindungsgemäßen Verbindungen in kristalliner und/ oder amorphisierter und/oder gelöster Form enthalten, wie z.B. Tabletten (nichtüberzogene oder überzogene Tabletten, beispielsweise mit magensaftresistanten oder sich verzögert auflösenden oder unlöslichen Überzügen, die die Freisetzung der erfindungsgemäßen Verbindung kontrollieren), in der Mundhöhle schnell zerfallende Tabletten oder Filme/Oblaten, Filme/Lyophilisate, Kapseln (beispielsweise Hart- oder Weichgolatinekapseln), Dragees, Granulate, Pellets, Pulver, Emulsionen, Suspensionen, Aerosole oder Lösungen.

Die parenterale Applikation kann unter Umgehung eines Resorptionsschrittes geschehen (z.B. intravenös, intraarteriell, intrakardial, intraspinal oder intralumbal) oder unter Einschaltung einer Resorption (z.B. intramuskulär, subcutan, intracutan, percutan oder intraperitoneal). Für die parenterale Applikation eignen sich als Applikationsformen u.a. Injektions- und Infusionszubereitungen in Form von Lösungen, Suspensionen, Emulsionen, Lyophilisaten oder sterilen Pulvern.

Für die sonstigen Applikationswege eignen sich z.B. Inhalationsarzneiformen (u.a. Pulverinhalatoren, Nebulizer), Nasentropfen, -lösungen, -sprays; lingual, sublingual oder buccal zu applizierende Tabletten, Filme/Oblaten oder Kapseln, Suppositorien, Ohren- oder Augenpräparationen, Vaginalkapseln, wäßrige Suspensionen (Lotionen, Schüttelmixturen), lipophile Suspensionen, Salben, Cremes, transdermale therapeutische Systeme (wie beispielsweise Pflaster), Milch, Pasten,

142

Schäume, Streupuder, Implantate oder Stents.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können in die angeführten Applikationsformen überführt werden. Dies kann in an sich bekannter Weise durch Mischen mit inerten, nichttoxischen, pharmazeutisch geeigneten Hilfsstoffen geschehen. Zu diesen Hilfsstoffen zählen u.a. Trägerstoffe (beispielsweise mikrokristalline Cellulose, Laktose, Mannitol), Lösungsmittel (z.B. flüssige Polyethylenglycole), Emulgatoren und Dispergier- oder Netzmittel (beispielsweise Natriumdodecylsulfat, Polyoxyorbitanoles), Bindemittel (beispielsweise Polyvinylpyrrolidon), synthetische und natürliche Polymere (beispielsweise Albumin), Stabilisatoren (z.B. Antioxidantien wie beispielsweise Ascorbinsäure), Farbstoffe (z.B. anorganische Pigmente wie beispielsweise Eisenoxide) und Geschmacks- und / oder Geruchskorrigentien.

Weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Arzneimittel, die mindestens eine erfindungsgemäße Verbindung, üblicherweise zusammen mit einem oder mehreren inerten, nichttoxischen, pharmazeutisch geeigneten Hilfsstoffen enthalten, sowie deren Verwendung zu den zuvor genannten Zwecken.

Im Allgemeinen hat es sich als vorteilhaft erwiesen, bei intravenöser Applikation Mengen von etwa 0.001 bis 100 mg/kg, vorzugsweise etwa 0.1 bis 10 mg/kg Körpergewicht zur Erzielung wirksamer Ergebnisse zu verabreichen, und bei oraler Applikation beträgt die Dosierung etwa 0.01 bis 50 mg/kg, vorzugsweise 0.5 bis 10 mg/kg Körpergewicht.

Trotzdem kann es gegebenenfalls erforderlich sein, von den genannten Mengen abzuweichen, und zwar in Abhängigkeit von Körpergewicht, Applikationsweg, individuellem Verhalten gegenüber dem Wirkstoff, Art der Zubereitung und Zeitpunkt bzw. Intervall, zu welchem die Applikation erfolgt. So kann es in einigen Fällen ausreichend sein, mit weniger als der vorgenannten Mindestmenge auszukommen, während in anderen Fällen die genannte obere Grenze überschritten werden muss. Im Falle der Applikation größerer Mengen kann es empfehlenswert sein, diese in mehreren Einzelgaben über den Tag zu verteilen.

Die Prozentangaben in den folgenden Tests und Beispielen sind, sofern nicht anders angegeben, Gewichtsprozente; Teile sind Gewichtsteile. Lösungsmittelverhältnisse, Verdünnungsverhältnisse und Konzentrationsangaben von flüssig/flüssig-Lösungen beziehen sich jeweils auf das Volumen.

A. Beispiele.Abkürzungen

Allg.	Allgemein(e)
Area	(Peak)fläche
ber.	berechnet
BHI	Brain Heart Infusion
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl
br.	breites Signal (bei NMR-Spektren)
Bep.	Beispiel
d	Dublett (bei NMR-Spektren)
DC	Dünnschichtchromatographie
DCI	direkte chemische Ionisation (bei MS)
DCM	Dichlormethan
DIBA	<i>N,N</i> -Diisopropylethylamin
DMAP	4- <i>N,N</i> -Dimethylaminopyridin
DMSO	Dimethylsulfoxid
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
d. Th.	der Theorie
EDC	1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide (auch EDCI)
EDC·HCl	1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide-hydrochlorid
EE	Ethylacetat (Essigsäureethylester)
EI	Elektronenstoß-Ionisation (bei MS)
ESI	Elektrospray-Ionisation (bei MS)
ESI ^{neg}	Anionenscan bei der ESI-Massenspektroskopie
ESI ^{pos}	Kationenscan bei der ESI-Massenspektroskopie
Fp.	Schmelzpunkt
gef.	gefunden
ges.	gesättigt
h	Stunde
HATU	<i>O</i> -(7-Azabenzotriazol-1-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyluronium-hexafluorphosphat
HOBt	1-Hydroxybenzotriazol
HPLC	Hochdruck-, Hochleistungsflüssigchromatographie
HR	High Resolution (Hochauflösung)
i. V.	im Vakuum

konz.	Konzentriert
LC-MS	Flüssigchromatographie-gekoppelte Massenspektroskopie
LDA	Lithium-Diisopropylamid
m	middle (mittel) (bei UV- und IR-Spektren)
m	Multiplett (bei NMR-Spektren)
MALDI	Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization
MHK	Minimale Hemmkonzentration
min	Minute/Minuten
MRSA	Methicillin-resistenter <i>Staphylococcus aureus</i>
MS	Massenspektroskopie
NCCLS	National Committee for Clinical Laboratory Standards
neg.	negativ
NMM	N-Methylmorpholin
NMR	Kernresonanzspektroskopie (nuclear magnetic resonance)
p.a.	pro analysi
Pd	Palladium
Pd-C	Palladium auf Kohle
pos.	positiv
proz.	Prozentig
PTFE	Polytetrafluorethylen
quant.	quantitativ
RP-HPLC	Reverse Phase HPLC
RT	Raumtemperatur
R_t	Retentionszeit (bei HPLC)
s	strong (stark) (bei UV- und IR-Spektren)
s	Singulett (bei NMR-Spektren)
TBTU	O-(Benzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluronium-Tetrafluoroborat
TCTU	O-(1H-6-Chlorbenzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium-Tetrafluoroborat
TFA	Trifluoressigsäure
TFE	2,2,2-Trifluorethanol
THF	Tetrahydrofuran
TOF	Flugzeit (time of flight)
UV	Ultraviolett
Vis	sichtbar (visible)

VRSA	Vancomycin-resistenter <i>Staphylococcus aureus</i>
w	weak (schwach) (bei UV- und IR-Spektren)
wässr.	wässrige(r)
Z, Cbz	Benzoyloxycarbonyl

Literatur

Zur Nomenklatur der Peptide und Cyclodipeptide vergleiche:

1. A Guide to IUPAC Nomenclature of Organic Compounds (Recommendations 1993), 1993, Blackwell Scientific publications.
2. Nomenclature and symbolism for amino acids and peptides. Recommendations 1983. IUPAC-IUB Joint Commission on Biochemical Nomenclature, UK. *Biochemical Journal* 1984, 219, 345-373. Sowie zitierte Literatur.

Allgemeine Methoden GC-MS, LC-MS, HR-MS, HPLC und Gelchromatographie

- 10 Methode 1 (TOF-HR-MS): TOF-HR-MS-ESI+ Spektren werden mit einem Micromass LCT Gerät (Kapillarspannung: 3.2 KV, Cone-Spannung: 42 V, Quellentemperatur: 120°C, Desolvations-Temperatur: 280°C) aufgenommen. Hierzu wird eine Spritzenpumpe (Fa. Harvard Apparatus) für die Probenzuführung verwendet. Als Standard dient Leuoin-Enkephalin (Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu).

- 15 Methode 2 (präparative HPLC): Gerät: Gilson Abimed HPLC; UV-Detektor 210 nm; bidirek. Pumpensystem; Säule: Waters Symmetry-Prep™ C₁₈, 7 µm, 300 x 19 mm; Eluent A: 0.2% Trifluoressigsäure in Wasser, Eluent B: Acetonitril; Flussrate: 25 mL/min; Säulentemperatur RT; 0 min 20% B, Rampe 0-10 min 70% B, Rampe 10-10.1 min 20% B, 15 min 20% B.

- 20 Methode 3 (Gelchromatographie an Sephadex LH-20): Gelchromatographie wird ohne Druck an Sephadex LH-20 (Fa. Pharmacia) durchgeführt. Es wird nach UV-Aktivität (UV Detektor für 254 nm, Fa. Knauer) fraktioniert (Fraktionssammler ISCO Foxy 200). Säulendimensionen: 32 x 7 cm (1000-100 µmol Maßstab); 30 x 4 cm (100-10 µmol Maßstab); 25 x 2 cm (10-1 µmol Maßstab). Bei Maßstäben 1 mmol bis 11 mmol wird eine Säule der Dimension 80 x 30 cm verwendet. In diesem Fall werden die Fraktionen manuell und ohne vorgeschalteten UV-Detektor gesammelt. Die Zuordnung der Fraktionen erfolgt per HPLC (Methode 9).

- Methode 4 (präparative HPLC; Kromasil, Essigsäure):** Gerät: Gilson Abimed HPLC; UV Detektor 210 nm; binäres Pumpensystem; Säule: Kromasil-100A C₁₈, 5 µm; 250 x 20 mm; Fluss: 25 mL/min; Eluent A: Wasser/0.25-0.5% Essigsäure, Eluent B: Acetonitril; Gradient: 0-3 min 5% B, 3-30 min 5-100% B, 30-38 min 100% B, anschließend Regeneration der Chromatographiesäule.
- 5 **Methode 5 (LC-MS):** Instrument: Micromass Quattro LCZ mit HPLC Agilent Serie 1100; Säule: Phenomenex Synergi 2µ Hydro-RP Mercury 20 mm x 4 mm; Eluent A: 1 L Wasser + 0.5 mL 50%ige Ameisensäure, Eluent B: 1 L Acetonitril + 0.5 mL 50%ige Ameisensäure; Gradient: 0.0 min 90%A → 2.5 min 30%A → 3.0 min 5%A → 4.5 min 5%A; Fluss: 0.0 min 1 mL/min, 2.5 min/3.0 min/4.5 min 2 mL/min; Ofen: 50°C; UV-Detektion: 208- 400 nm.
- 10 **Methode 6 (LC-MS):** Gerätetyp MS: Micromass ZQ; Gerätetyp HPLC: Waters Alliance 2795; Säule: Phenomenex Synergi 2µ Hydro-RP Mercury 20 mm x 4 mm; Eluent A: 1 L Wasser + 0.5 mL 50%ige Ameisensäure, Eluent B: 1 L Acetonitril + 0.5 mL 50%ige Ameisensäure; Gradient: 0.0 min 90%A → 2.5 min 30%A → 3.0 min 5%A → 4.5 min 5%A; Fluss: 0.0 min 1 mL/min, 2.5 min/3.0 min/4.5 min 2 mL/min; Ofen: 50°C; UV-Detektion: 210 nm.
- 15 **Methode 7 (LC-MS):** Gerätetyp MS: Micromass ZQ; Gerätetyp HPLC: HP 1100 Series; UV DAD; Säule: Phenomenex Synergi 2µ Hydro-RP Mercury 20 mm x 4 mm; Eluent A: 1 L Wasser + 0.5 mL 50%ige Ameisensäure, Eluent B: 1 L Acetonitril + 0.5 mL 50%ige Ameisensäure; Gradient: 0.0 min 90%A → 2.5 min 30%A → 3.0 min 5%A → 4.5 min 5%A; Fluss: 0.0 min 1 mL/min, 2.5 min/3.0 min/4.5 min, 2 mL/min; Ofen: 50°C; UV-Detektion: 210 nm.
- 20 **Methode 8 (analytische HPLC):** Gerätetyp HPLC: HP 1050 Series; UV DAD 1100 Series; Säule: Kromasil C₁₈, 60 x 2 mm, 3.5 µm; Eluent A: Wasser/0.5% Perchlorsäure, Eluent B: Acetonitril; Gradient: 0-0.5 min 2%B, 0.5-4.5 min 2-90%B, 4.5-9.0 min 90%B, 9.0-9.2 min 90-2%B, 9.2-10.0 min 2%B; Fluss: 0.75 mL/min, Ofen: 30°C, UV-Detektion 210 nm.
- Methode 9 (analytische HPLC, Agilent Zorbax C₈):** Gerät: Agilent 1100 mit DAD (G1315B), binärer Pumpe (G1312A), Autosampler (G1313A), Lösemittel-Entgaser (G1379A) und Säulenthermostat (G1316A); Säule: Agilent Zorbax Eclipse XDB-C₈ 4.6 x 150 x 5 mm; Eluent A: 0.05% 70%ige Perchlorsäure in Wasser; Eluent B: Acetonitril; Gradient: 0-1 min 10%B, Rampe, 4-5 min 90%B, Rampe, 5.5 min 10%B; Fluss: 2.00 mL/min; Säulentemperatur: 30°C.
- 25 **Methode 10 (Gelchromatographie an Sephadex LH-20):** Gelchromatographie wird ohne Druck an Sephadex LH-20 (Fa. Pharmacia) durchgeführt. Es wird nach UV-Aktivität (UV Detektor für 254 nm, Fa. Knauer) fraktioniert (Fraktionssammler ISCO Foxy 200). Säulendimensionen: 32 x 7 cm (1000-100 µmol Maßstab); 30 x 4 cm (100-10 µmol Maßstab); 25 x 2 cm (10-1 µmol
- 30

Maßstab).

Methode 11 (präparative HPLC Symmetry): Gerät: Gilson Abimed HPLC; binäres Pumpensystem; Säule: SymmetryPrep™ C₁₈, Fa. Waters, 7 µm; 300 mm x 19 mm; Eluent A: Wasser/0.2% Trifluoressigsäure, Eluent B: Acetonitril; Gradient: 0-10 min 15-65%B, anschließend Regeneration der Chromatographiesäule; Fluss: 25 mL/min; UV-Detektion 210 nm.

Methode 12 (präparative HPLC Kromasil): Gerät: Gilson Abimed HPLC; binäres Pumpensystem; Säule: Kromasil C₁₈, 5 µm, 100 Å, 250 x 20 mm; Eluent A: 0.05% Trifluoressigsäure in Wasser, Eluent B: 0.05% Trifluoressigsäure in Acetonitril; Gradient: 0-3 min 10%B, Rampe, 30-38 min 90%B, 38-45 min 10%B; Fluss: 20 mL/min; UV-Detektion 210 nm.

Methode 13 (präparative HPLC Waters Symmetry): Gerät: Gilson Abimed HPLC; binäres Pumpensystem; Säule: Waters Symmetry-Prep™ C₁₈, 7 µm, 300 x 19 mm; Eluent A: 0.05% Trifluoressigsäure in Wasser, Eluent B: 0.05% Trifluoressigsäure in Acetonitril; Gradient: 0-3 min 10%B, Rampe, 30-38 min 90%B, 38-45 min 10%B; Fluss: 20 mL/min; UV-Detektion 210 nm.

Methode 14 (präparative HPLC): Gerät: Gilson Abimed HPLC; binäres Pumpensystem; Säule: Waters Symmetry-Prep™ C₁₈, 7 µm, 300 x 19 mm; Eluent A: Wasser/0.2% Trifluoressigsäure, Eluent B: Acetonitril; Gradient: 0-10 min 25-65%B, anschließend Regeneration der Chromatographiesäule; Fluss: 25 mL/min; UV-Detektion 210 nm.

Methode 15 (Chirale HPLC Daicel Chiralpak): Agilent 1100 HPLC; Säule: Daicel Chiralpak AD-H 5 µm; 250 x 20 mm; Isokratisch: 75% *iso*-Hexan, 25% 2-Propanol mit 0.2% Trifluoressigsäure und 1% Wasser; Fluss: 1.0 mL/min; Ofen: 25°C; UV-Detektor 212 nm.

Methode 16 (präparative HPLC): Gerät: Gilson Abimed HPLC; binäres Pumpensystem; Säule: YMC ODS-AQ 5 µm, 250 x 30 mm; Eluent A: 0.05% Trifluoressigsäure in Wasser, Eluent B: 0.05% Trifluoressigsäure in Acetonitril; Gradient: 0-3 min 10%B, Rampe, 30-38 min 90%B, 38-45 min 10%B; Fluss: 50 mL/min; UV-Detektor 210 nm.

Methode 17 (GC-MS): Instrument: Micromass GCT, GC6890; Säule: Restek RTX-35MS, 30 m x 250 µm x 0.25 µm; Gradient: 60°C (0.30 min halten), 50°C/min → 120°C, 16°C/min → 250°C, 30°C/min → 300°C (1.7 min halten); konstanter Fluss mit Helium: 0.38 mL/min; Ofen: 60°C; Inlet: 250°C.

Methode 18 (HPLC): Gerätotyp HPLC: HP 1100 Series; UV DAD Säule: Zorbax Eclipse XBD-C8 (Agilent), 150 mm x 4.6 mm, 5 µm; Eluent A: 5 mL HClO₄/l Wasser, Eluent B: Acetonitril;

Gradient: 0-1 min 10%B, 1-4 min 10-90%B, 4-5 min 90%B; Fluss: 2.0 mL/min; Ofen: 30°C; UV-Detektion: 210 und 254 nm.

Methode 19 (HPLC): Säule: Kromasil RP-18, 60 mm x 2 mm, 3.5 µm; Eluent A: 5 mL HClO₄/l Wasser, Eluent B: Acetonitril; Gradient: 0 min 2%B, 0.5 min 2%B, 4.5 min 90%B, 9 min 90%B; Fluss: 0.75 mL/min; Ofen: 30°C; UV-Detektion: 210 nm.

Methode 20 (HPLC): Säule: Kromasil RP-18, 250 mm x 4 mm, 5 µm; Eluent A: 5 mL HClO₄/l Wasser, Eluent B: Acetonitril; Gradient: 0 min 5%B, 10 min 95%B; Fluss: 1 mL/min; Ofen: 40°C; UV-Detektion: 210 nm.

Methode 21 (HPLC): Säule: Kromasil RP-18, 250 mm x 4 mm, 5 µm; Eluent A: 2 mL HClO₄/l Wasser, Eluent B: Acetonitril; Isokratisch: 45%B, 55%A; Fluss: 1 mL/min; Ofen: 40°C; UV-Detektion: 210 nm.

Methode 22 (LC-MS): Gerätotyp MS: Micromass ZQ; Gerätotyp HPLC: HP 1100 Series; UV DAD; Säule: Grom-Sil 120 ODS-4 HE 50 x 2 mm, 3.0 µm; Eluent A: Wasser/0.025% Ameisensäure/l, Eluent B: Acetonitril/0.025% Ameisensäure; Gradient: 0-2.9 min 0-70%B, 2.9-3.1 min 70-90%B, 3.1-4.5 min 70-90%B; Ofen: 50°C, Fluss: 0.8 mL/min, UV-Detektion: 210 nm.

Methode 23 (HPLC): Gerätotyp HPLC: HP 1050 Series; UV DAD 1100 Series; Säule Symmetry-PropTMC₁₈, Firma Waters, 50 x 2.1 mm, 3.5 µm; Eluent A: Wasser/0.05% Trifluoressigsäure, Eluent B: Acetonitril; Gradient: 0-9 min 0-100%B, 9-11 min 100%B, 11-12 min 100-0%B, anschließend Regeneration der Chromatographiesäule; Ofen: 40°C, Fluss: 0.4 mL/min, UV-Detektion: 210 nm.

Methode 24 (quantitative ¹⁹F-NMR-Spektroskopie): Ungefähr 10 mg genau eingewogene Probensubstanz und ungefähr 20 mg genau eingewogenes 1,4-Dibromtetrafluorbenzol werden in Pyridin gelöst und ¹⁹F-NMR-spektroskopisch vermessen. δ - 74 (TFA) und -132.0 (1,4-Dibromtetrafluorbenzol) werden integriert und verglichen. Der TFA-Gehalt wird in Prozent TFA der Masse der Probensubstanz angegeben.

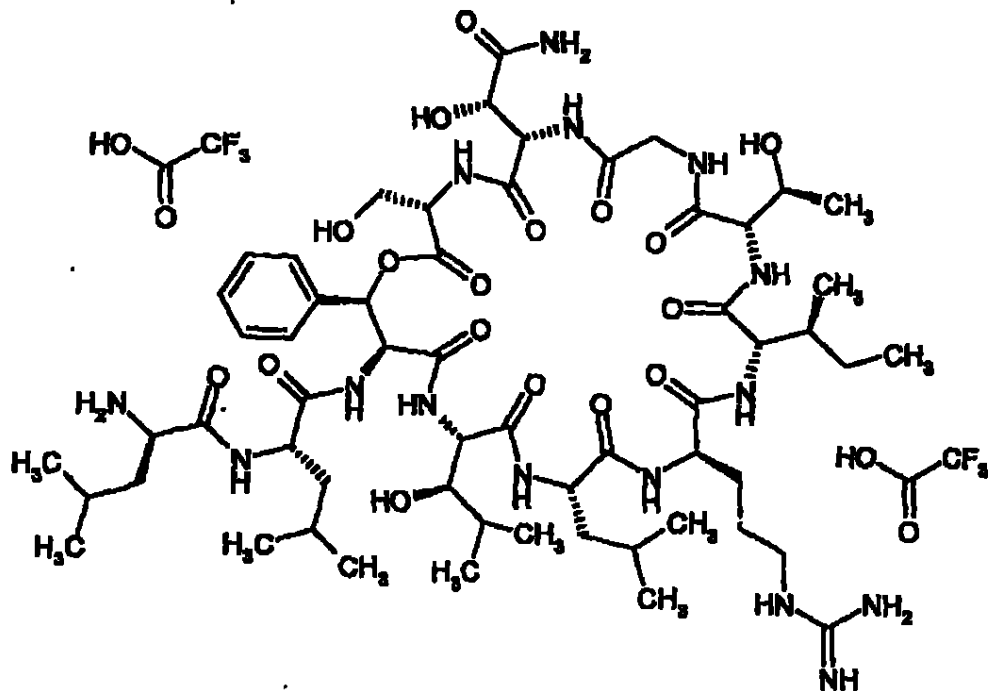
Methode 25 (Ionenchromatographie): Ionenchromatographie-System mit Suppressor-System und Leitfähigkeitsdetektor; Vorstufe: A SUPP 4/5 Guard, Trennsäule: A SUPP 5 4,0 x 250 mm; Eluent: 3.2 mM Natriumcarbonat und 2.4 mM Natriumhydrogencarbonat in Wasser; Fluss: 0.7 mL/min. Die Probe wird in Methanol (20% des finalen Probenvolumens) gelöst, im Ultraschallbad 3 min behandelt und mit Wasser aufgefüllt. Die Probe wird über ein ionenfreies Celluloseacetat-Filter (Por 0.45 µm) filtriert und injiziert. Quantifizierung gegen externe Standards (0.5 mg/L - 10 mg/L).

AngebotsverbindungenBeispiel 1A

D-Leucyl-N'-{(3*S*,6*S*,12*S*,15*S*,18*R*,21*S*,24*S*,27*S*,28*R*)-6-[(1*S*)-2-amino-1-hydroxy-2-oxoethyl]-18-(3-[[amino(imino)methyl]amino]propyl)-12-[(1*S*)-1-hydroxyethyl]-3-(hydroxymethyl)-24-[(1*R*)-1-hydroxy-2-methylpropyl]-21-isobutyl-15-[(1*S*)-1-methylpropyl]-2,5,8,11,14,17,20,23,26-nonaczo-

28-phenyl-1-oxa-4,7,10,13,16,19,22,25-octazaacyclooctacosan-27-yl)-L-leucinamid-bis(trifluor-

acetat (Lysobactin)

Fermentation:10 Kultur Medium:

YM: Hefe-Malz Agar: D-Glucose (4 g/l), Hefe Extrakt (4 g/l), Malz Extrakt (10 g/l), 1 Liter Leitung Wasser. Vor dem Sterilisieren (20 Minuten bei 121°C) wird der pH auf 7.2 eingestellt.

HPM: Mannit (5.4 g/l), Hefe Extrakt (5 g/l), Fleischpepton (3 g/l).

Arbeitskonserve: Der lyophilisierte Stamm (ATCC 53042) wird in 50 mL YM Medium angezogen.

15 Kolbenfermentation: 150 mL YM Medium oder 100 mL HPM Medium in einem 1 L Erlenmeyerkolben werden mit 2 mL der Arbeitskonserve beimpft und für 30-48 Stunden bei 28°C auf einem Schüttler bei 240 Upm wachsen gelassen.

30 L Fermentation: 300 mL der Kolbenfermentation (HPM Medium) werden zum Animpfen einer sterilen 30 L Nährmedienlösung verwendet (1 mL Antifoam SAG 5693/l). Diese Kultur wird für 21 Stunden bei 28°C, 300 Upm und einer Belüftung mit steriler Luft von 0.3 vvm wachsen gelassen. Der pH wird mit 1 M Salzsäure auf pH = 7.2 konstant gehalten. Insgesamt werden während der

5 Kultivierungszeit 880 mL 1 M Salzsäure zugeführt.

Hauptkultur (200 L): 15 x 150 mL YM Medium in 1 L Erlenmeyerkolben werden mit 2 mL der Arbeitskonserve beimpft und bei 28°C für 48 Stunden und 240 Upm auf dem Schüttler wachsen gelassen. 2250 mL dieser Kultur werden zum Beimpfen einer sterilen 200 L Nährmedienlösung (YM) verwendet (1 mL Antifoam SAG 5693/l) und für 18.5 Stunden bei 28°C, 150 Upm und einer

10 Belüftung mit steriler Luft von 0.3 vvm wachsen gelassen.

Zur Kontrolle des Fermentationsverlaufs werden stündlich Proben (50 mL) entnommen. 2 mL dieser Kulturbrühe werden mit 1 mL Methanol (0.5% Trifluoressigsäure) versetzt und über einen 0.45 µm Filter filtriert. 30 µl dieser Suspension werden mittels HPLC analysiert (Methode 18 und Methode 19).

15 Nach 18.5 Stunden wird die Kulturbrühe der Hauptkultur bei 17000 Upm in Überstand und Sediment getrennt.

Isolierung:

Der Überstand (183 L) wird mit konzentrierter Trifluoressigsäure bzw. Natronlauge auf pH 6.5-7 eingestellt und auf eine Lewapolsäule (OC 1064, 60 L Inhalt) aufgetragen. Anschließend wird mit

20 reinem Wasser, Wasser/Methanol 1:1 und anschließend mit reinem Methanol (mit 0.1% Trifluoressigsäure) eluiert. Diese organische Phase wird im Vakuum bis zu einem verbleibenden wässrigen Rest von 11.5 L eingeengt.

Die verbleibende wässrige Phase wird an Kieselgel C₁₈ gebunden und aufgetrennt (MPLC, Biotage Flash 75, 75 x 30 cm, KP-C18-WP, 15-20 µm, Fluss: 30 mL; Eluent: Acetonitril/ Wasser mit 0.1% Trifluoressigsäure; Gradient: 10%, 15% and 40% Acetonitril). Die 40% Acetonitril Phase, die die

25 Hauptmenge von Beispiel 1A enthält, wird im Vakuum eingeengt und anschließend lyophilisiert (ca. 13 g). Dieses Feststoffgemisch wird in 1.2 g Portionen zunächst an einer präparativen HPLC (Methode 7), anschließend durch Gelfiltration an Sephadex LH-20 (5 x 70 cm, Acetonitril/Wasser 1:1, jeweils mit 0.05% Trifluoressigsäure) und einer weiteren präparativen HPLC (Methode 20)

30 getrennt.

Dieser Prozess liefert 2250 mg Beispiel 1A.

Das Sediment wird in 4 L Aceton/Wasser 4:1 aufgenommen, mit 2 kg Celite versetzt, mit Trifluoroessigsäure auf pH = 6 eingestellt, ausgerührt und zentrifugiert. Das Lösungsmittel wird im Vakuum eingeeengt und der Rückstand gefriergetrocknet. Das erhaltene Lyophilisat (89.9 g) wird in Methanol aufgenommen, abfiltriert, eingeeengt und an Kieselgel (Methode 21) getrennt. Beispiel 1A wird danach per Gelfiltration (Sephadex LH-20, 5 x 68 cm, Wasser/Acetonitril 9:1 (mit 0.05% Trifluoroessigsäure), Fluss: 2.7 mL/min, Fraktionsgröße 13.5 mL) zur Reinsubstanz aufgereinigt.

Dieser Prozess liefert 447 mg Beispiel 1A.

HPLC (Methode 18): $R_t = 6.19$ min

MS (ESIpos): $m/z = 1277$ (M+H)⁺

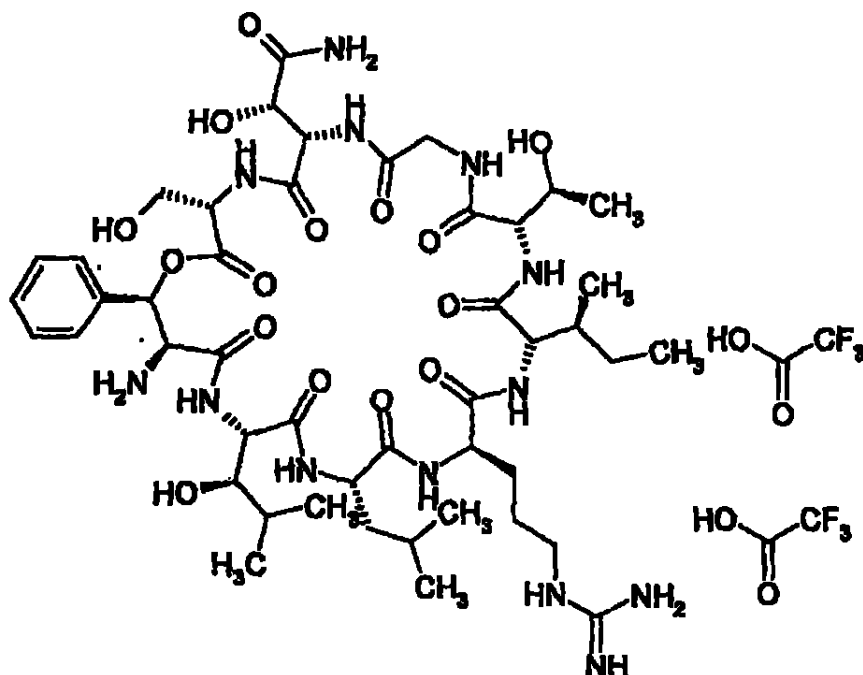
¹H-NMR (500.13 MHz, *d*₆-DMSO): $\delta = 0.75$ (d, 3H), 0.78 (d, 6H), 0.80 (t, 3H), 0.82 (d, 3H), 0.90 (d, 3H), 0.91 (d, 3H), 0.92 (d, 3H), 0.95 (d, 3H), 0.96 (d, 3H), 1.05 (m, 1H), 1.19 (d, 3H), 1.25 (m, 2H), 1.50 (m, 4H), 1.51 (m, 2H), 1.55 (m, 1H), 1.61 (m, 1H), 1.65 (m, 1H), 1.84 (m, 1H), 1.85 (m, 1H), 1.86 (m, 1H), 1.89 (m, 1H), 1.95 (m, 1H), 2.75 (m, 2H), 3.40 (m, 1H), 3.52 (m, 2H), 3.53 (dd, 1H), 3.64 (m, 2H), 3.66 (m, 1H), 3.68 (dd, 1H), 3.73 (m, 2H), 4.00 (dd, 1H), 4.02 (br., 1H), 4.13 (br., 1H), 4.32 (dd, 1H), 4.39 (t, 1H), 4.55 (m, 1H), 4.75 (dd, 1H), 5.19 (t, 1H), 5.29 (d, 1H), 5.30 (br., 1H), 5.58 (m, 2H), 6.68 (m, 3H), 6.89 (d, 1H), 6.93 (m, 3H), 6.94 (br., 1H), 6.98 (d, 1H), 7.12 (br., 1H), 7.20 (br., 2H), 7.23 (m, 2H), 7.42 (m, 2H), 7.54 (d, 1H), 7.58 (d, 1H), 8.32 (br., 1H), 9.18 (br., 1H), 9.20 (m, 2H), 9.50 (br., 1H).

¹³C-NMR (125.77 MHz, *d*₆-DMSO): $\delta = 10.3, 15.3, 19.0, 19.2, 19.6, 20.0, 20.9, 22.0, 22.4, 23.0, 23.2, 24.3, 24.4, 25.0, 25.4, 26.0, 27.8, 30.9, 35.4, 39.5, 40.8, 40.9, 41.6, 44.1, 51.5, 52.7, 55.9, 56.2, 56.4, 57.9, 58.8, 60.2, 61.1, 62.6, 70.1, 71.6, 71.7, 75.5, 128.1, 128.6, 136.7, 156.8, 168.2, 170.1, 170.4, 171.2, 171.5, 171.9, 172.2, 172.4, 173.7$.

Die Zuordnung der Signale erfolgte nach der in der Literatur beschriebenen Zuordnung (T. Kato, H. Hino, Y. Terui, *J. Antibiot.*, 1988, 61, 719-725).

25 Beispiel 2A

Des(1-D-leucyl-2-L-leucyl)-lysobactin-bis-trifluoacetat (*Edman*²⁰-Abbauprodukt)



Lysobactin-bis(trifluoroacetat) (60.0 g, 39.88 mmol) wird unter Argonatmosphäre in Pyridin (840 mL) gelöst. Dann wird Phenylisothiocyanat (32.35 g, 239.28 mmol, 6 Äquivalente) zugegeben und die Reaktionsmischung bei 37°C für 7 h gerührt. Anschließend wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer bei 40°C Badtemperatur abdestilliert. Der Rückstand wird mit Methyl-*tert*-butylether (1400 mL) versetzt und 30 min kräftig gerührt. Dann wird über eine Glasfritte (Porenweite 3, 13 cm Durchmesser) abgesaugt. Das Zwischenprodukt (Edman^{2,1}-Abbauprodukt) wird in einer Rohausbeute von 72 g isoliert und ohne Aufarbeitung weiter umgesetzt.

Dazu wird das Rohprodukt unter Argonatmosphäre in Trifluoressigsäure (1026 mL) gelöst und 30 min bei RT gerührt. Dann wird die Lösung am Rotationsverdampfer unter Vakuum bei 20°C Badtemperatur eingedunstet. Der Rückstand wird in Methyl-*tert*-butylether (1400 mL) aufgenommen und so lange kräftig gerührt, bis ein pulveriger amorpher Feststoff entstanden ist. Dieser wird mit Vakuum über eine Fritte (Porenweite 3, 18 cm Durchmesser) abfiltriert. Der Feststoff wird nun mit Diethylether (1400 mL) gerührt und erneut abfiltriert. Dieselbe Prozedur wird mit 2 Portionen Dichlormethan (je 900 mL) wiederholt. Das Rohprodukt wird im Vakuum getrocknet. Man erhält 58 g rohes Des(1-D-leucyl)-lysobactin-bis-trifluoroacetat (Edman^{1,8}-Abbauprodukt).

Das Rohprodukt wird ohne weitere Aufreinigung unter Argonatmosphäre in Pyridin (1080 mL) gelöst. Dann wird Phenylisothiocyanat (107 g, 0.80 mol, 20 Äquivalente) zugegeben und die Reaktionsmischung wird bei 37 bis 40°C für 7 h gerührt. Anschließend wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer bei 40°C Badtemperatur abdestilliert. Der Rückstand wird mit Methyl-*tert*-butylether (1400 mL) versetzt und kräftig gerührt. Dann wird über eine Glasfritte (Porenweite 3,

13 cm Durchmesser) abgesaugt. Das Zwischenprodukt (Edman¹³-Abbauprodukt) wird in einer Rohausbeute von 65 g isoliert und nach dem Trocknen im Ölpumpenvakuum direkt unter Argon-
 5 atmosphäre in Trifluoressigsäure (1240 mL) gelöst und 30 min bei RT gerührt. Dann wird die Lösung am Rotationsverdampfer unter Vakuum bei 20°C Badtemperatur eingeeengt. Der Rückstand wird in Methyl-*tert*-butylether (1400 mL) aufgenommen und so lange kräftig gerührt, bis ein pul-
 10 veriger amorpher Feststoff entstanden ist. Dieser wird mit Vakuum über eine Fritte (Porenweite 3, 18 cm Durchmesser) abfiltriert. Der Feststoff wird nun zunächst mit Diethylether (1400 mL), dann mit Dichlormethan (1400 mL) gerührt und jeweils abfiltriert. Man erhält 55 g des rohen Produktes. Dieses wird durch präparative HPLC (Methode 14) gereinigt. Man erhält 28.55 g (56% d. Th.) der
 10 Titelverbindung.

HPLC/UV-Vis (Methode 23): $R_t = 4.71$ min,

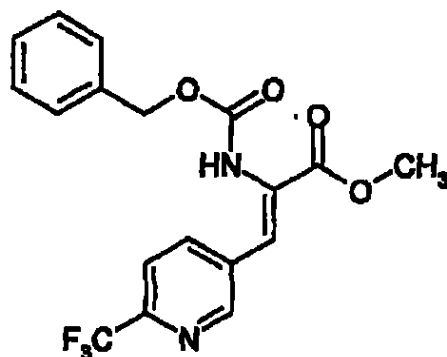
$\lambda_{\max}$ (qualitativ) = 220 nm (s), 255–270 nm (w).

LC-MS (Methode 22): $R_t = 1.65$ min;

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

15 Beispiel 3A

(2Z)-2-([(Benzyloxy)carboxyl]amino)-3-(6-trifluormethyl-pyridin-3-yl)-acrylsäuremethylester



6-Trifluormethyl-pyridin-3-carbaldehyd (4.85 g, 27.70 mmol) und Methyl-([(benzyloxy)carboxyl]-
 20 amino)(dimethoxyphosphoryl)acetat (9.17 g, 27.70 mmol, 1.0 Äquivalente) werden in THF (70 mL) gelöst und auf -70°C gekühlt. Bei -70°C wird *N,N,N,N*-Tetramethylguanidin (6.38 g, 55.39 mmol, 6.95 mL, 2.0 Äquivalente) langsam zutropft und dann 4 h bei -70°C, anschließend 12 h bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wird eingeeengt, dann wird mit Ethylacetat (2 x 100 mL) gegen Wasser ausgeschüttelt, die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Kochsalzlösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Einengen im Vakuum

wird das Rohprodukt chromatographiert (Kieselgel, Eluent: Toluol, dann Toluol/Ethylacetat 10:1). Es werden 6.93 g (66% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC/UV-Vis (Methode 8): $R_t = 4.60$ min.

HPLC/UV-Vis (Methode 9): $R_t = 4.54$ min.

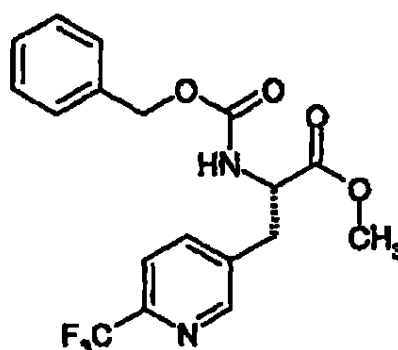
- 5 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO): $\delta = 3.74$ (s, 3H, OMe), 5.10 (s, 2H, CH_2), 7.27 (s, 1H, PyrH), 7.33-7.38 (m, 5H, ArH), 7.94 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, PyrH), 8.27 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, PyrH), 8.93 (s, 1H, β -CH), 9.51 (s, 1H, NH).

LC-MS (Methode 7): $R_t = 2.44$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 381 (100) $[\text{M} + \text{H}]^+$; MS (ESIneg.): m/z (%) = 379 (100) $[\text{M} - \text{H}]^-$.

- 10 HR-TOF-MS (Methode 1): $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_4\text{F}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ ber. 381.1062, gef. 381.1063.

Beispiel 4A

N-[(Benzyloxy)carbonyl]-3-(6-trifluormethyl-pyridin-3-yl)-L-alanin-methylester



- Die Verbindung aus Beispiel 3A (10.15 g, 26.69 mmol) wird in Methanol p.a. (100 mL) gelöst. Mit einer Kanüle wird etwa 5 min Argon hindurchgeleitet, dann wird (+)-1,2-Bis-[(2*S*,5*S*)diethylphospholano]benzen(cyclooctadien)rhodium(I)-Triflat (289 mg, 400 μmol , 0.015 Äquivalente) zugegeben. Es wird über 12 h bei 4 bar Wasserstoffdruck und RT hydriert. Dann wird es über Kieselgur filtriert (Methanol) und das Eluat eingedunstet. Das Rohprodukt wird chromatographiert (Kieselgel, Eluent: Toluol/Ethylacetat 5:1). Es werden 9.9 g (97% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

- 20 $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -24^\circ$ ($c = 0.093$ in Methanol).

HPLC/UV-Vis (Methode 8): $R_t = 4.50$ min.

HPLC/UV-Vis (Methode 9): $R_t = 4.49$ min.

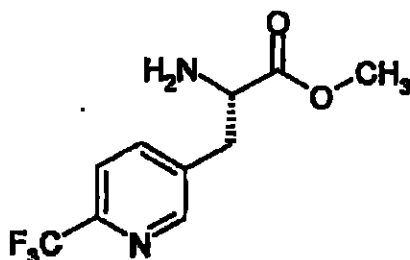
¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO): δ = 2.99 (dd, *J* = 3.5, 11.0 Hz, 1H, β -CH), 3.22 (dd, *J* = 3.5, 11.0 Hz, 1H, β -CH), 3.66 (s, 3H, OMe), 4.40 (m, 1H, α -CH), 4.97 (s, 2H, CH₂), 7.23 (m, 2H), 7.29-7.33 (m, 3H), 7.83 (d, *J* = 6.5 Hz, 1H), 7.93-7.98 (m, 2H), 8.65 (s, 1H, NH).

LC-MS (Methode 7): *R*_t = 2.40 min; MS (ESIpos.): *m/z* (%) = 383 (100) [M + H]⁺; MS (ESIneg.):
5 *m/z* (%) = 273 (100), 381 (50) [M - H]⁻.

HR-TOF-MS (Methode 1): C₁₉H₁₉N₂O₄F₃ [M + H]⁺ ber. 383.1219, gef. 383.1223.

Beispiel 5A

3-(6-Trifluormethyl-pyridin-3-yl)-L-alanin-methylester



10 Die Verbindung aus Beispiel 4A (9.90 g, 25.89 mmol) wird in Methanol (100 mL) gelöst. Mit einer Kanüle wird etwa 5 min Argon hindurchgeleitet, dann wird Pd auf Kohle (10%, 990 mg) zugegeben. Es wird über 12 h bei 4 bar Wasserstoffdruck und RT hydriert. Dann wird über Kieselsor filtriert, eingeengt und im Ölpumpenvakuum getrocknet. Ausbeute: 5.8 g (90% d. Th.) der Titelverbindung.

15 $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +3^\circ$ (*c* = 0.186 in Methanol).

HPLC/UV-Vis (Methode 8): *R*_t = 3.34 min.

HPLC/UV-Vis (Methode 9): *R*_t = 3.22 min.

IR ν_{max} (NaCl, cm⁻¹): 3415, 1734, 1339, 1136, 1087.

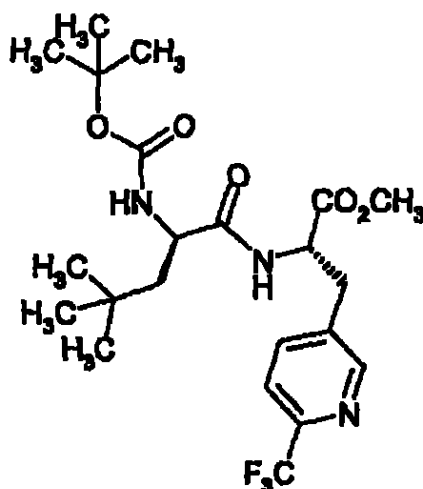
¹H-NMR (500 MHz, *d*₆-DMSO): δ = 2.85 (dd, *J* = 5.5, 13.5 Hz, 1H, β -CH), 3.01 (dd, *J* = 5.5, 13.5 Hz, 1H, β -CH), 3.61 (s, 3H, OMe), 3.63-3.69 (m, 1H, α -CH), 7.82 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.93 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 8.61 (s, 1H).

LC-MS (Methode 7): *R*_t = 1.74 min; MS (ESIpos.): *m/z* (%) = 249 (100) [M + H]⁺.

HR-TOF-MS (Methode 1): C₁₂H₁₃N₂O₂F₃ [M + CH₃CN + H]⁺ ber. 290.1116, gef. 290.1122.

Beispiel 6A

N-(*tert*-Butoxycarbonyl)-3-(*tert*-butyl)-D-alanyl-3-(6-trifluormethyl-pyridin-3-yl)-L-alanin-methylester



- 5 Zu einer Lösung der Verbindung aus Beispiel 5A (6.34 g, 25.54 mmol) und *N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-3-(*tert*-butyl)-D-alanin (6.27 g, 25.54 mmol, 1.0 Äquivalente) in trockenem DMF (240 mL) werden bei -30°C langsam *N*-Methylmorpholin (12.92 g, 127.72 mmol, 14.04 mL, 5 Äquivalente) und HATU (9.71 g, 25.54 mmol, 1 Äquivalente) gegeben. Das Reaktionsgemisch erwärmt sich langsam (ca. 3 h) auf RT, wobei vollständiger Umsatz mittels HPLC (Methode 9) beobachtet wird.
- 10 Kaliumdihydrogenphosphat (34.76 g, 255.44 mmol, 10 Äquivalente) wird zugegeben, und das Reaktionsgemisch wird 20 min gerührt, anschließend wird es filtriert, mit Ethylacetat verdünnt und mit gesättigter wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (10 mL) gewaschen. Die organische Phase wird mittels Natriumsulfat getrocknet, filtriert und eingedunstet. Das Rohprodukt wird mittels Flashchromatographie (Kieselgel, Gradient Cyclohexan/Ethylacetat 10:1 bis 2:1) auf-
- 15 gereinigt, wobei man 9.74 g (73% d. Th.) der Titelverbindung erhält.

$[\alpha]_{\text{Na}}^{19.9} = +7.0^{\circ}$ ($c = 0.044$ in Methanol).

HPLC/UV-Vis (Methode 8): $R_t = 4.89$ min.

HPLC/UV-Vis (Methode 9): $R_t = 4.75$ min.

IR ν_{max} (NaCl, cm^{-1}): 2959, 1742, 1655, 1520, 1336, 1160, 1136, 1087, 1050, 1027.

- 20 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, d_6 -DMSO): $\delta = 0.74$ (s, 9H, tBu), 0.97-1.00 (m, 1H, β -CH₂), 1.20-1.25 (m, 1H, β -CH₂), 1.35 (s, 9H, OtBu), 2.99-3.05 (m, 1H, β -CH₂), 3.23-3.26 (m, 1H, β -CH₂), 3.66 (s, 3H,

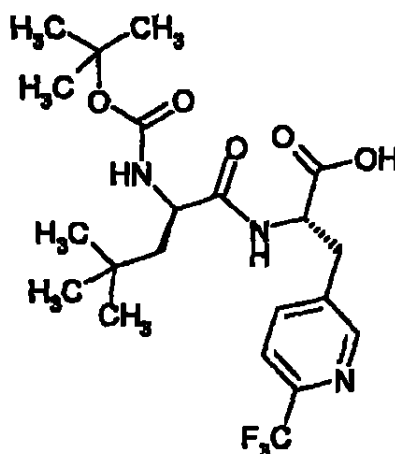
OMe), 3.94 (m, 1H, α -CH), 4.60 (m, 1H, α -CH), 6.82 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, NH), 7.78 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, PyrH), 7.94 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, PyrH), 8.34 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, NH), 8.64 (s, 1H, PyrH).

LC-MS (Methode 7): $R_t = 2.67$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 476 (100), $[M + H]^+$; MS (ESIneg.): m/z (%) = 400 (80), 474 (40) $[M - H]^-$.

- 5 HR-TOF-MS (Methode 1): $C_{22}H_{33}N_3O_3F_3$, $[M + H]^+$ ber. 476.2372, gef. 476.2364.

Beispiel 7A

N-tert-Butoxycarbonyl-3-tert-butyl-D-alanyl-3-(6-trifluormethyl-pyridin-3-yl)-L-alanin



- Zu einer Lösung der Verbindung aus Beispiel 6A (9.2 g, 1.0 Äquivalente, 19.35 mmol) in THF
 10 (360 mL) und Wasser (100 mL) wird bei -20°C eine Lösung von Lithiumhydroxid-hydrat (1.16 g, 2.5 Äquivalente, 48.37 mmol) in Wasser (20 mL) gegeben. Das Reaktionsgemisch erwärmt sich (ca. 1.5 h) auf $+15^\circ\text{C}$, wobei vollständiger Umsatz mittels HPLC (Methode 9) beobachtet wird. Zur Aufarbeitung wird Kaliumdihydrogenphosphat (26.33 g, 10 Äquivalente, 193.5 mmol) zugegeben (ca. pH 7). Das Reaktionsgemisch wird filtriert und im Vakuum aufkonzentriert. Das Rohprodukt
 15 wird mittels Gelchromatographie (Methode 10, Laufmittel Methanol/Aceton 4:1) aufgereinigt, wobei man 4.72 g (53% d. Th.) Produkt erhält.

$[\alpha]_D^{20} = +51.3^\circ$ ($c = 0.402$ in Methanol).

HPLC/UV-Vis (Methode 8): $R_t = 4.63$ min.

HPLC/UV-Vis (Methode 9): $R_t = 4.55$ min.

- 20 IR ν_{max} (NaCl, cm^{-1}): 3305, 2959, 1663, 1519, 1336, 1173, 1134, 1086.

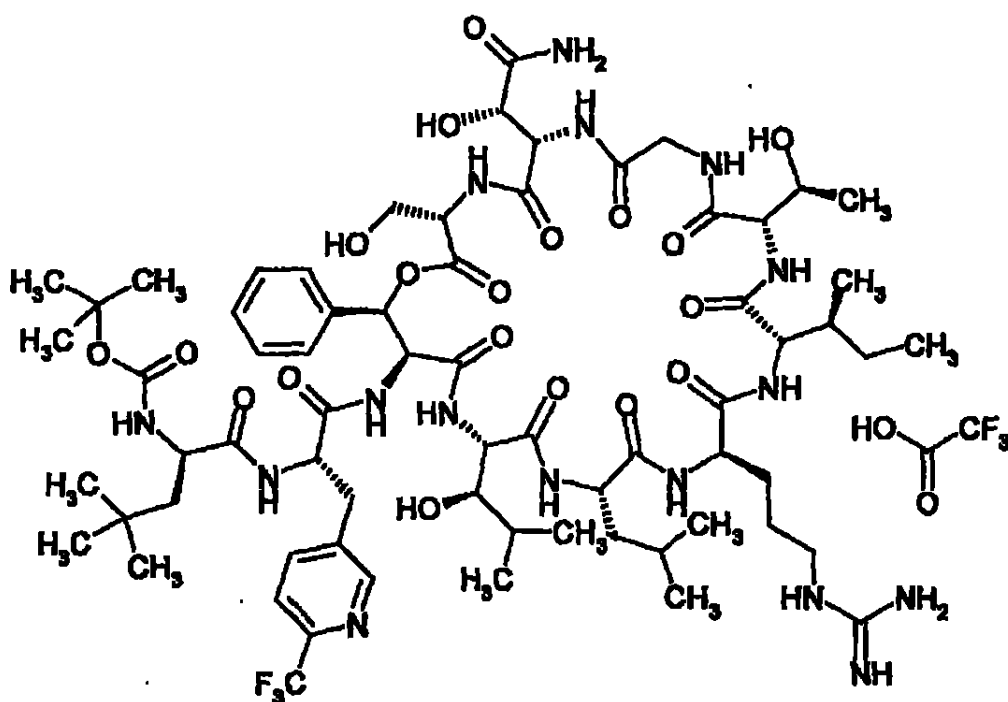
¹H-NMR (500 MHz, *d*₆-DMSO): δ = 0.77 (s, 9H, tBu), 1.06-1.13 (m, 1H, β-CH₂), 1.23-1.26 (m, 1H, β-CH₂), 1.34 (s, 9H, O₂tBu), 3.01 (t_{app}, *J* = 11.0 Hz, 1H, β-CH₂), 3.23 (br d, *J* = 11.0 Hz, 1H, β-CH₂), 3.94 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H, α-CH), 4.42 (br s, 1H, α-CH), 6.90 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H, NH), 7.74 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H, PyrH), 7.86 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H, PyrH), 8.00 (br s, 1H, NH), 8.56 (s, 1H, PyrH).

- 5 LC-MS (Methode 7): *R*_t = 2.42 min; MS (ESI_{pos}): *m/z* (%) = 406 (100), 462 (85) [*M* + *H*]⁺; MS (ESI_{neg}): *m/z* (%) = 460 (100) [*M* - *H*]⁻.

HR-TOF-MS (Methode 1): C₂₁H₃₁N₃O₅F₃ [*M* + *H*]⁺ ber. 462.2216, gef. 462.2203.

Beispiel 8A

- N*-*tert*-Butoxycarbonyl-3-*tert*-butyl-D-alanyl-3-(6-trifluormethyl-pyridin-3-yl)-L-alanyl-
10 des(1-D-leucyl-2-L-leucyl)lysobactin-trifluoacetat



- Zu einer Lösung der Verbindung aus Beispiel 2A (7.00 g, 1.0 Äquivalente, 5.48 mmol) und Beispiel 7A (3.03 g, 1.2 Äquivalente, 6.57 mmol) in trockenem DMF (119 mL) werden bei -30°C langsam *N*-Methylmorpholin (2.77 g, 3.01 mL, 5 Äquivalente, 27.38 mmol) und HATU (4.37 g, 2.1 Äquivalente, 11.50 mmol) gegeben. Das Reaktionsgemisch erwärmt sich langsam (ca. 1 h) auf RT, wobei vollständiger Umsatz mittels HPLC/UV-Vis (Methode 9) beobachtet wird. Die Reaktion wird mit Kaliumdihydrogenphosphat (7.45 g, 10.0 Äquivalente, 54.76 mmol) gequenchet. Das Reaktionsgemisch wird mittels Gelchromatographie (Methode 10, Laufmittel Methanol/Aceton 4:1) aufgereinigt, wobei man 12.63 g (quant.) Produkt erhält.

HPLC/UV-Vis (Methode 8): $R_t = 4.78$ min.

HPLC/UV-Vis (Methode 9): $R_t = 4.35$ min.

LC-MS (Methode 7): $R_t = 2.28$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 697 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1493 (15) $[M + H]^+$; MS (ESIneg.): m/z (%) = 745 (100) $[M - 2H]^{2-}$, 1491 (5) $[M - H]^-$.

5 HR-TOF-MS (Methode 1): $C_{27}H_{54}N_{16}O_{19}F_3$ $[M + H]^+$ ber. 1493.7616, gef. 1493.7594.

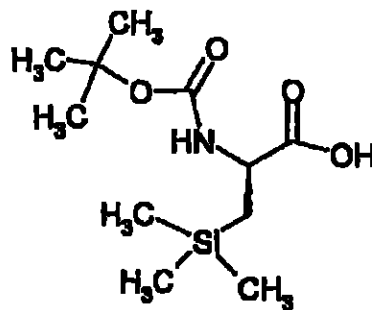
Beispiel 9A und Beispiel 10A

(2S)-N-(tert-Butoxycarbonyl)-3-(trimethylsilyl)alanin und (2R)-N-(tert-Butoxycarbonyl)-3-(trimethylsilyl)alanin

Die Synthese erfolgt nach M. Mergel, K. Günther, M. Bernd, E. Günther, R. Tacke, *J. Organomet. Chem.* 2001 628, 183–194. Die Trennung der Enantiomere erfolgt durch präparative HPLC an chiraler Phase: Gilson Abimed HPLC; Säule: Daicel Chiralpak AD-H 5 μm ; 250 x 20 mm; Eluent A: iso-Hexan, Eluent B: 0.2% Essigsäure/1% Wasser/2-Propanol; isokratisch; Fluss: 15 mL/min; UV-Detektor 212 nm. Die Zuordnung der Isomere erfolgt durch HPLC-Vergleich mit einer authentischen Probe von N-(tert-Butoxycarbonyl)-L-3-trimethylsilylalanin (2R Verbindung, Merckchem AMR 39.260).

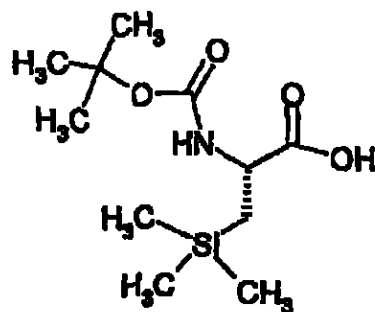
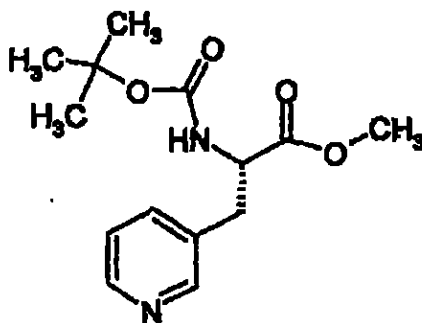
Beispiel 9A

N-(tert-Butoxycarbonyl)-D-3-trimethylsilylalanin (2S Verbindung)



Chirale HPLC (Methode 15): $R_t = 4.16$ min, e.e. > 99%.

20 $[\alpha]_D^{20} = +1.1$ ($c = 0.83$ in Methanol)

Beispiel 10A***N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-1-3-trimethylsilylalanin (2*R* Verbindung)**Chirale HPLC (Methode 15): $R_t \approx 9.27$ min, e.a. > 99%.5 $[\alpha]_D^{25} = -1.6$ ($c = 0.66$ in Methanol)**Beispiel 11A****Methyl-*N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-3-(pyridin-3-yl)-1-alaninat**Die Herstellung erfolgt analog B. Niles, W. Stöckh, *Org. Synth.* 1985, 63, 183-187.

- 10 (2*S*)-*N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-3-(pyridin-3-yl)alanin (25.00 g, 93.88 mmol) wird unter Argon in 300 mL Dichlormethan gelöst. Methanol (11.4 mL, 9.02 g, 281 mmol, 3 Äquivalente) und ein Körnchen DMAP werden hinzugefügt. Dann wird die Mischung auf 0°C gekühlt. EDC (19.80 g, 103 mmol, 1.1 Äquivalente) wird zugesetzt. Nach 5 min. entfernt man das Eisbad und lässt über 1 h bei RT rühren. Dann entg. man im Vakuum ein, versetzt den Rückstand mit Ethylacetat und
- 15 schüttelt gegen gesättigte Natriumhydrogencarbonatlösung ans. Die wässrige Phase wird einmal mit Ethylacetat nachextrahiert, dann werden die vereinigten organischen Phasen mit 0.5 M Citronensäure und anschließend nochmals mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und im Vakuum eingedunstet. Es

verbleibt ein klares Öl, das beim Trocknen im Ölpumpenvakuum kristallisiert. Ausbeute: 23.60 g (90% d. Th.).

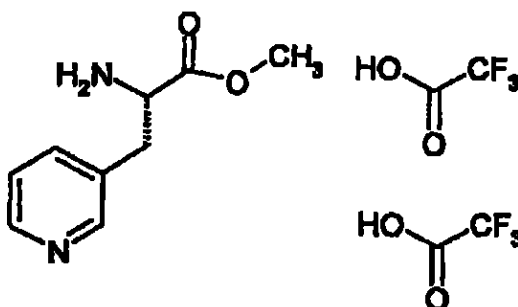
HPLC/UV-Vis (Methode 9): $R_t = 3.28$ min.

LC-MS (Methode 7): $R_t = 1.21$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 281 (100) $[M + H]^+$.

- 5 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO): $\delta = 1.30$ (s, 9H), 2.86 (m, 1H), 3.04 (m, 1H), 3.63 (s, 3H), 4.22 (m, 1H), 7.28 – 7.39 (m, 2H), 7.69 (d, 1H), 8.43 (m, 2H).

Beispiel 12A

3-(Pyridin-3-yl)-L-alanin-methylester-bistrifluoracetat

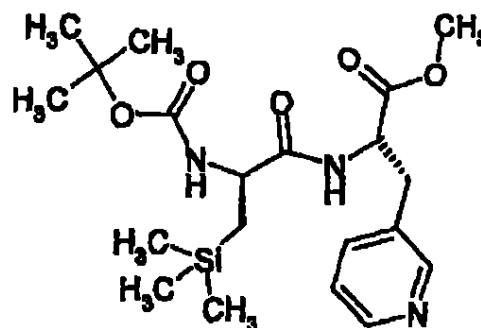


- 10 Die Verbindung aus Beispiel 11A (11.8 g, 42.09 mmol) wird in Trifluoressigsäure in Dichlormethan (160 mL; 30%ige Lösung) gelöst und 30 min. bei RT gerührt. Dann engt man im Vakuum ein. Der Rückstand wird in etwas Wasser aufgenommen und lyophilisiert. Dann wird das Lyophilisat mit Toluol versetzt und im Vakuum eingeeengt. Schließlich wird bis zur Gewichtskonstanz im Ölpumpenvakuum getrocknet. Ausbeute: 17.15 g (quant.).

- 15 HPLC/UV-Vis (Methode 9): $R_t = 0.88$ min.

LC-MS (Methode 7): $R_t = 0.46$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 181 (100) $[M + H]^+$.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO): $\delta = 2.79$ (dd, 1H), 2.92 (dd, 1H), 3.60 (s, 3H), 3.63 (m, 1H), 7.30 (m, 1H), 7.62 (d, 1H), 8.41 (m, 2H).

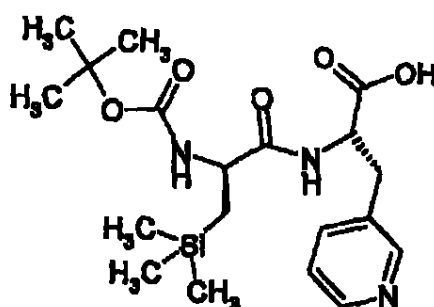
Beispiel 13A**Methyl-N-(tert-butoxycarbonyl)-3-(trimethylsilyl)-D-alanyl-3-(pyridin-3-yl)-L-alaninat**

- Die Verbindung aus Beispiel 9A (10.31 g, 39.4 mmol) und die Verbindung aus Beispiel 12A (16.10 g, 39.4 mmol, 1 Äquivalent) werden bei 0°C in DMF (186 mL) gelöst. Dann werden *N*-Methylmorpholin (17.34 mL, 16.00 g, 4 Äquivalente) und HATU (22.49 g, 59.16 mmol, 1.5 Äquivalente) zugesetzt. Der Ansatz wird zwei Stunden bei RT geführt. Man versetzt mit *tert*-Butylmethylether und wäscht mit gesättigter Natriumcarbonatlösung. Die wässrige Phase wird einmal mit *tert*-Butylmethylether nachextrahiert, dann werden die vereinigten organischen Phasen mit 1 M wässriger Citronensäure sowie abermals mit gesättigter Natriumcarbonatlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und im Vakuum eingeengt. Es wird über Kieselgel filtriert (Cyclohexan/Ethylacetat 2:1). Ausbeute: 14.1 g (84% d. Th.).

HPLC/UV-Vis (Methode 9): $R_t = 3.91$ min.LC-MS (Methode 7): $R_t = 1.90$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 424 (100) $[M + H]^+$.

- $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO): $\delta = -0.09$ (s, 9H), 0.56 – 0.75 (m, 2H), 1.47 (s, 9H), 2.90 (dd, 1H), 3.09 (dd, 1H), 3.62 (s, 3H), 3.98 (m, 1H), 4.49 (m, 1H), 6.68 (d, 1H), 7.26 (dd, 1H), 7.61 (m, 1H), 8.20 (d, 1H), 8.40 (m, 2H).

163

Beispiel 14A***N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-3-(trimethylsilyl)-D-alanyl-3-(pyridin-3-yl)-L-alanin**

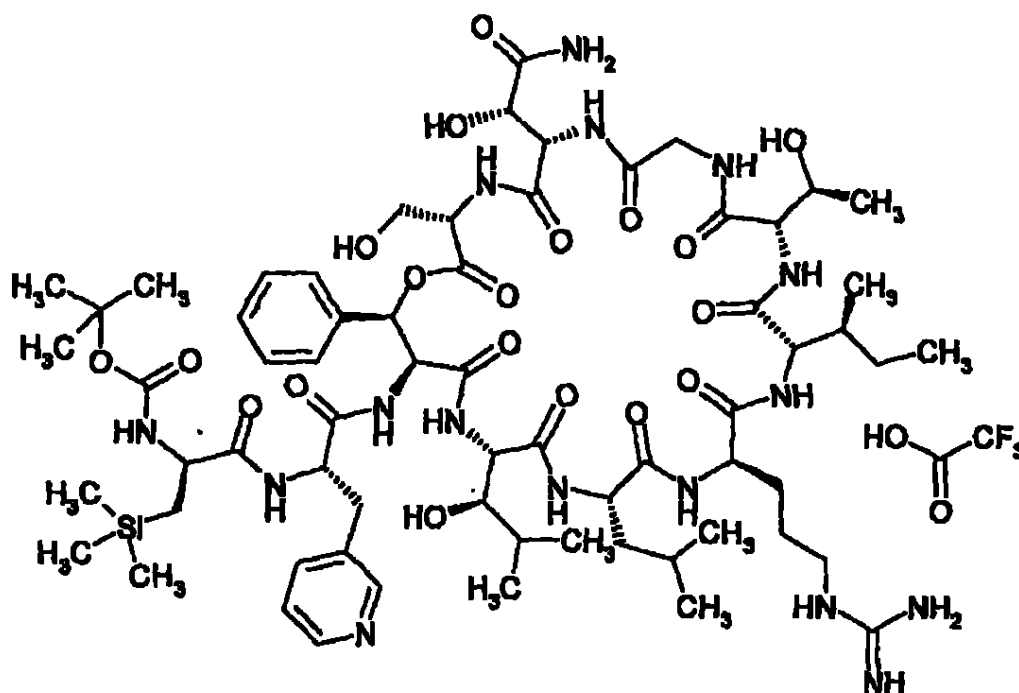
- Die Verbindung aus Beispiel 13A (7.4 g, 17.56 mmol) wird in THF/Wasser (6:4) aufgenommen, auf 0°C gekühlt und mit Lithiumhydroxid-Monohydrat (1.47 g, 35.13 mmol, 2 Äquivalente) versetzt. Man lässt bei 0°C rühren. Nach einer Stunde wird ein weiteres Äquivalent (0.74 g) Lithiumhydroxid-Monohydrat zugesetzt und eine weitere Stunde geführt. Man destilliert den Großteil des THF im Vakuum ab, wäscht mit zwei Portionen Methyl-*tert*-butylether und stellt dann die wässrige Phase durch Zusatz von Citronensäure auf pH 4. Ein Feststoff fällt aus. Es wird mit drei Portionen Ethylacetat extrahiert, wobei sich der Feststoff löst. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und eingeengt. Das Rohprodukt wird durch Gelchromatographie (Methode 3, Fließmittel: Methanol) gereinigt. Ausbeute: 6.67 g (93% d. Th.).

HPLC/UV-Vis (Methode 9): $R_t = 3.73$ min.LC-MS (Methode 7): $R_t = 1.68$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 410 (40) $[M + H]^+$.

- $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, d_6 -DMSO): $\delta = -0.090$ (s, 9H), 0.56 – 0.75 (m, 2H), 1.35 (s, 9H), 2.90 (dd, 1H), 3.09 (dd, 1H), 3.98 (m, 1H), 4.41 (m, 1H), 6.70 (d, 1H), 7.26 (dd, 1H), 7.60 (m, 1H), 8.00 (d, 1H), 8.37 (m, 2H).

164
164**Beispiel 14A**

N-(*tert*-Butoxycarbonyl)-3-(trimethylsilyl)-D-alanyl-3-(pyridin-3-yl)-L-alanyl-des(1-D-leucyl-2-L-leucyl)-lysobactin-trifluoroacetat



- 5 Die Verbindung aus Beispiel 2A (3.00 g, 2.35 mmol) und die Verbindung aus Beispiel 14A (1.44 g, 3.52 mmol, 1.5 Äquivalente) werden in DMF (50 mL) gelöst und auf 0°C gekühlt. Dann werden zunächst 4.7 mL (4.7 mmol, 2 Äquivalente) einer 1 M Lösung von 4-Methylmorpholin in DMF zugegeben. Anschließend wird sofort HATU (1.52 g, 3.99 mmol, 1.7 Äquivalente) zugegeben und 15 min bei 0°C gerührt. Dann werden weitere 4.7 mL (4.7 mmol, 2 Äquivalente) der 1 M Lösung
- 10 von 4-Methylmorpholin in DMF zutropft. Der Ansatz wird dann 2 h bei RT gerührt. Das Rohprodukt wird gelchromatographiert (Methode 3). Das Produkt wird ohne Feinreinigung weiter umgesetzt. Ausbeute: 3.6 g (82% d. Th.).

HPLC (Methode 9): $R_t = 3.90$ min.

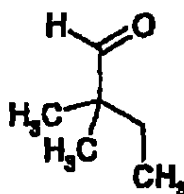
- LC-MS (Methode 7): $R_t = 2.00$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 721.8 (100) $[M + 2H]^{2+}$; 1442.1 (5)
- 15 $[M + H]^+$.

Alternatives Verfahren: Die Verbindung aus Beispiel 2A (14.00 g, 10.95 mmol) und die Verbindung aus Beispiel 14A (5.38 g, 13.14 mmol, 1.2 Äquivalente) werden in DMF (280 mL) gelöst und auf -20°C gekühlt. Dann wird N-Methylmorpholin (5.54 g, 6.02 mL, 5 Äquivalente) zugegeben und anschließend HATU (6.66 g, 17.52 mmol, 1.6 Äquivalente). Der Ansatz wird langsam auf RT

erwärmt und über Nacht (ca. 16 h) gerührt. Dann wird Kaliumdihydrogenphosphat (14.91 g, 10 Äquivalente) unter Rühren zugesetzt und 30 Minuten weitergerührt. Das Rohprodukt wird gelchromatographiert (Methode 3, Fließmittel: Methanol). Das Produkt wird ohne Feinreinigung weiter umgesetzt. Ausbeute: 14.35 g (61% d. Th.).

5 Beispiel 16A

2,2-Dimethyl-1-butanal



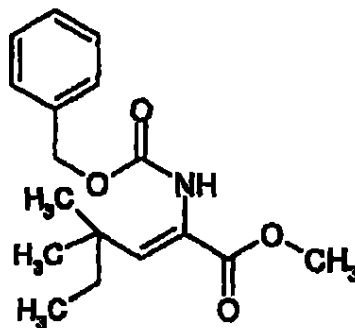
2,2-Dimethyl-1-butanol (4.0 g, 39 mmol) wird in Dichlormethan (136 mL) gelöst und mit Aluminiumoxid (7.98 g, 78 mmol, 2 Äquivalente) und mit Pyridiniumchlorochromat (16.88 g, 78 mmol, 2 Äquivalente) versetzt. Der Ansatz wird bei RT 1 h gerührt und dann über eine Schicht Kieselgel filtriert. Das Filtrat wird vorsichtig eingedunstet, und der Rückstand wird bei Normaldruck destilliert (Siedepunkt: 102°C (990 mbar)). Ausbeute: 2.97 g (75% d. Th.).

GC-MS (Methode 17): $R_t = 2.21$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 99.9 (5) $[M]^+$;

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 0.83 (t, 3H), 1.03 (s, 6H), 1.51 (q, 2H), 9.42 (s, 1H).

15 Beispiel 17A

Methyl-(2Z)-2-[[[(benzyloxy)carbonyl]amino]-4,4-dimethylhex-2-enat



Die Verbindung aus Beispiel 16A (2.55 g, 25.46 mmol) und Methyl-[[[(benzyloxy)carbonyl]-amino](dimethoxyphosphoryl)-acetat (8.43 g, 25.46 mmol) werden in 50 mL THF gelöst und auf 0°C gekühlt. N,N,N',N' -Tetramethylguanidin wird zugegeben, dann wird erst 15 min. bei 0°C und

anschließend 5 Tage bei RT geführt. Der Ansatz wird mit etwa 20 g Kieselgel versetzt, eingengt und chromatographiert (Kieselgel Biotage 40M, ZIF-SIM, Cyclohexan /Ethylacetat 87:13). Ausbeute: 1.20 g (13% d. Th.).

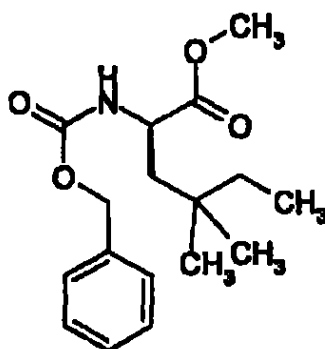
HPLC (Methode 9): $R_t = 3.71$ min.

5 MS (DCI): m/z (%) = 323.3 (100) $[M + NH_4]^+$.

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 0.83 (m, 3H), 1.13 (s, 6H), 1.49 (q, 2H), 3.75 (br s, 3H), 5.72 (br s, 1H), 6.58 (br s, 1H), 5.12 (s, 2H), 7.36 (m, 5H).

Beispiel 18A

Methyl-*N*-[(benzyloxy)carbonyl]-4,4-dimethyl-D-norleucinat



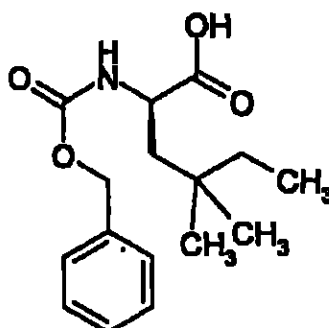
10

Die Verbindung aus Beispiel 17A (1.2 g, Rohprodukt, 3.26 mmol) wird in Ethanol p.a. (60 mL) gelöst. Mit einer Kanüle wird etwa 5 min Argon hindurchgeleitet, dann wird (+)-1,2-Bis-[(2*R*,5*R*)-diethylphospholano]benzen(cyclooctadien)rhodium(I)-Triflat (28 mg, 0.04 mmol, 0.012 Äquivalente) zugegeben und im Ultraschallbad gelöst. Es wird über 24 h bei 3 bar Wasserstoffdruck und
15 RT hydriert. Der Ansatz wird eingengt und chromatographiert (Kieselgel Biotage 25M, Cyclohexan/Ethylacetat 9:1). Ausbeute: 920 mg (92% d. Th.).

HPLC (Methode 9): $R_t = 4.96$ min.

LC-MS (Methode 7): $R_t = 2.76$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 308 (25) $[M + H]^+$.

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 0.80 (t, 3H), 0.86 (s, 6H), 1.29 (q, 2H), 1.41 (dd, 1H), 1.73 (dd, 1H), 3.72 (s, 3H), 4.40 (m, 1H), 5.02 (d, 1H), 5.11 (m, 2H), 7.35 (m, 5H).
20

Beispiel 19A***N*-(Benzyloxy)carbonyl]-4,4-dimethyl-D-norleucin**

In THF (12 mL) wird die Verbindung aus Beispiel 18A (915 mg, 2.98 mmol) gelöst. Die Lösung wird auf 0°C gekühlt, dann werden 3.7 mL (7.4 mmol, 2.5 Äquivalente) einer 2 M Lösung von Lithiumhydroxid-Monohydrat in Wasser zugegeben und 1 h kräftig gerührt. Anschließend wird Citronensäure (1 M) bis zur sauren Reaktion zutropft und das Gemisch mit Ethylacetat extrahiert. Der organische Extrakt wird über Natriumsulfat getrocknet, eingedunstet und chromatographiert (Methode 16). Ausbeute: 434 mg (50% d. Th.).

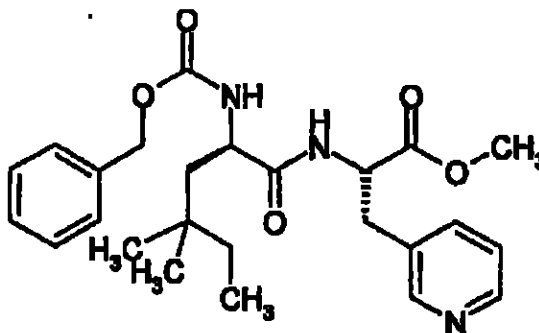
10 HPLC (Methode 9): $R_t = 4.54$ min.

LC-MS (Methode 7): $R_t = 2.44$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 294 (20) $[M + H]^+$.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO): $\delta = 0.80$ (t, 3H), 0.83 (s, 6H), 1.21 (q, 2H), 1.53 (dd, 1H), 1.60 (dd, 1H), 3.99 (m, 1H), 5.02 (s, 2H), 7.35 (m, 5H), 7.58 (d, 2H), 12.52 (br s, 1H).

Beispiel 20A

15 Methyl-*N*-(benzyloxy)carbonyl]-4,4-dimethyl-D-norleucyl-3-(pyridin-3-yl)-L-alaninat



Die Verbindung aus Beispiel 19A (430 mg, 1.47 mmol) und die Verbindung aus Beispiel 12A (809 mg, 1.47 mmol, 1 Äquivalent) werden bei 0°C in DMF (5 mL) gelöst, dann werden 4-

Methylmorpholin (644 μ l, 5.86 mmol, 4 Äquivalente) und HATU (836 mg, 2.20 mmol, 1.5 Äquivalente) zugesetzt. Der Ansatz wird drei Stunden bei RT geführt. Man versetzt mit Ethylacetat und wäscht mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung. Die wässrige Phase wird einmal mit Ethylacetat extrahiert, dann werden die vereinigten organischen Phasen mit 1 M wässriger Citronensäure sowie abermals mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und im Vakuum eingedunstet. Der Rückstand wird chromatographiert (Methode 16). Ausbeute: 496 mg (74% d. Th.).

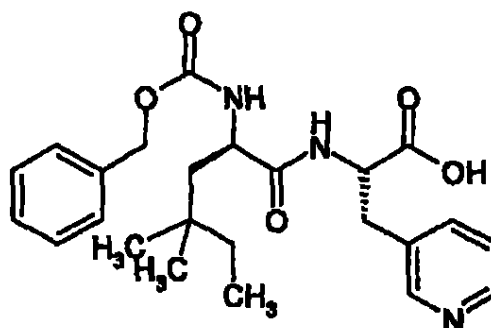
HPLC (Methode 9): R_t = 3.94 min.

LC-MS (Methode 7): R_t = 1.85 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 456 (100) $[M + H]^+$.

¹H-NMR (300 MHz, d_6 -DMSO): δ = 0.80 (m, 9H), 1.10 (m, 3H), 1.30 (dd, 1H), 2.91 (dd, 1H), 3.12 (dd, 1H), 3.30 (s, 3H), 4.02 (m, 1H), 4.51 (m, 1H), 5.01 (d, 1H), 5.06 (d, 1H), 7.22 (dd, 1H), 7.30 (m, 5H), 7.63 (m, 1H), 8.40 (m, 2H).

Beispiel 21A

N-(Benzyloxy)carboxyl-4,4-dimethyl-D-norleucyl-3-(pyridin-3-yl)-L-alanin



15

In THF (5 mL) wird die Verbindung aus Beispiel 20A (490 mg, 1.08 mmol) gelöst. Die Lösung wird auf 0°C gekühlt, dann werden 1.35 mL (2.7 mmol, 2.5 Äquivalente) einer 2 M Lösung von Lithiumhydroxid-Monohydrat in Wasser zugegeben und 1 h kräftig geführt. Dann wird Citronensäure (1 M in Wasser) bis zur sauren Reaktion zugegeben und das Gemisch mit Ethylacetat extrahiert. Der organische Extrakt wird über Natriumsulfat getrocknet und eingedunstet. Ausbeute: 484 mg (quant.).

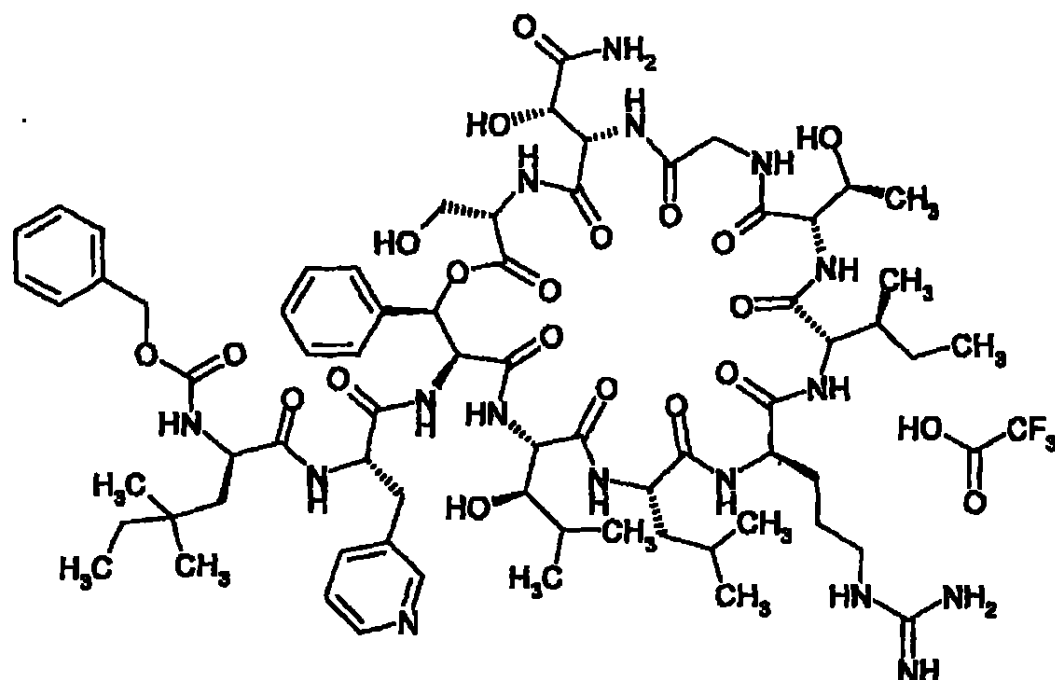
HPLC (Methode 9): R_t = 3.76 min.

LC-MS (Methode 7): R_t = 1.88 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 442 (100) $[M + H]^+$.

¹H-NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO): δ = 0.70 (m, 9H), 1.14 (m, 3H), 1.30 (dd, 1H), 2.64 (d, 1H), 2.75 (d, 1H), 2.89 (dd, 1H), 3.11 (dd, 1H), 4.03 (m, 1H), 4.45 (m, 1H), 4.98 (d, 1H), 5.05 (d, 1H), 7.22 (dd, 1H), 7.30 (m, 5H), 7.61 (m, 1H), 8.40 (m, 2H).

Beispiel 22A

- 5 *N*-[(Benzyloxy)carbonyl]-4,4-dimethyl-D-norleucyl-3-(pyridin-3-yl)-L-alanyl-des(1-D-leucyl-2-L-leucyl)-lysobaactin-trifluoroacetat



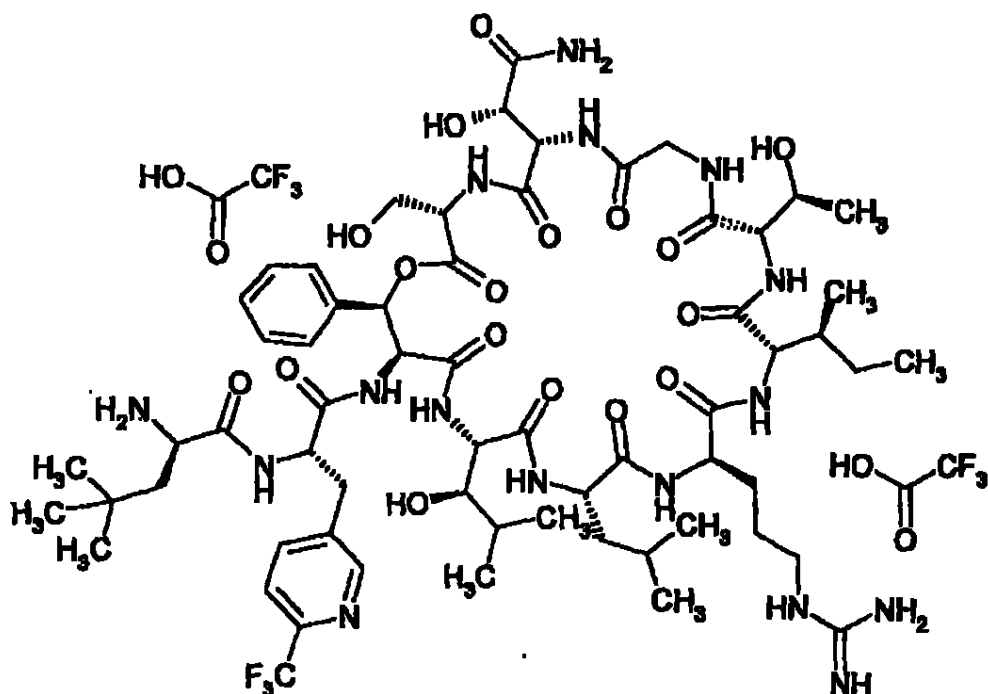
- Die Verbindung aus Beispiel 2A (0.28 g, 0.22 mmol) und die Verbindung aus Beispiel 21A (148 mg, 0.33 mmol, 1.5 Äquivalente) werden in DMF (4 mL) gelöst und auf 0°C gekühlt. Dann werden
- 10 zunächst 0.47 mL (0.44 mmol, 2 Äquivalente) einer 1 M Lösung von *N*-Methylmorpholin in DMF zugegeben. Anschließend wird sofort HATU (141 mg, 0.37 mmol, 1.7 Äquivalente) zugegeben und 15 min bei 0°C gerührt. Dann werden weitere 0.44 mL (0.47 mmol, 2 Äquivalente) der 1 M Lösung von 4-Methylmorpholin in DMF zusetzt. Der Ansatz wird dann über Nacht bei RT gerührt. Der Ansatz wird an Sephadex LH 20 gereinigt (Methode 3, Fließmittel: Methanol). Das
- 15 Rohprodukt wird mittels präparativer HPLC (Methode 13) aufgereinigt. Ausbeute: 149 mg (43% d. Th.).

HPLC (Methode 9): $R_t = 3.93$ min.

LC-MS (Methode 7): $R_t = 2.13$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 737.4 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1473 (2) $[M + H]^+$.

AusführungsbeispieleBeispiel 1

3-*tert*-Butyl-D-alanyl-3-(6-trifluormethyl-pyridin-3-yl)-L-alanyl-des(1-D-leucyl-2-L-leucyl)-lysobactin-bistrifluoroacetat



5

Zu einer Lösung der Verbindung aus Beispiel 8A (10.3 g, 1.0 Äquivalente, 4.48 mmol, Rohprodukt) in Dichlormethan (150 mL) wird bei RT langsam Trifluoressigsäure (150 mL) zuge tropft. Das Reaktionsgemisch wird bei RT gerührt (10 min), wobei vollständiger Umsatz mittels HPLC (Methode 9) beobachtet wird. Das Reaktionsgemisch wird am Rotationsverdampfer eingezogen und mittels präparativer HPLC (Methode 11) aufgereinigt, wobei man 3.48 g (48% d. Th.) Produkt erhält.

10

HPLC/UV-Vis (Methode 8): $R_t = 4.03$ min.

HPLC/UV-Vis (Methode 9): $R_t = 3.64$ min.

LC-MS (Methode 7): $R_t = 1.69$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 697 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1393 (5) $[M + H]^+$; MS (ESIneg.): m/z (%) = 695 (100) $[M - 2H]^{2-}$, 1391 (20) $[M - H]^-$.

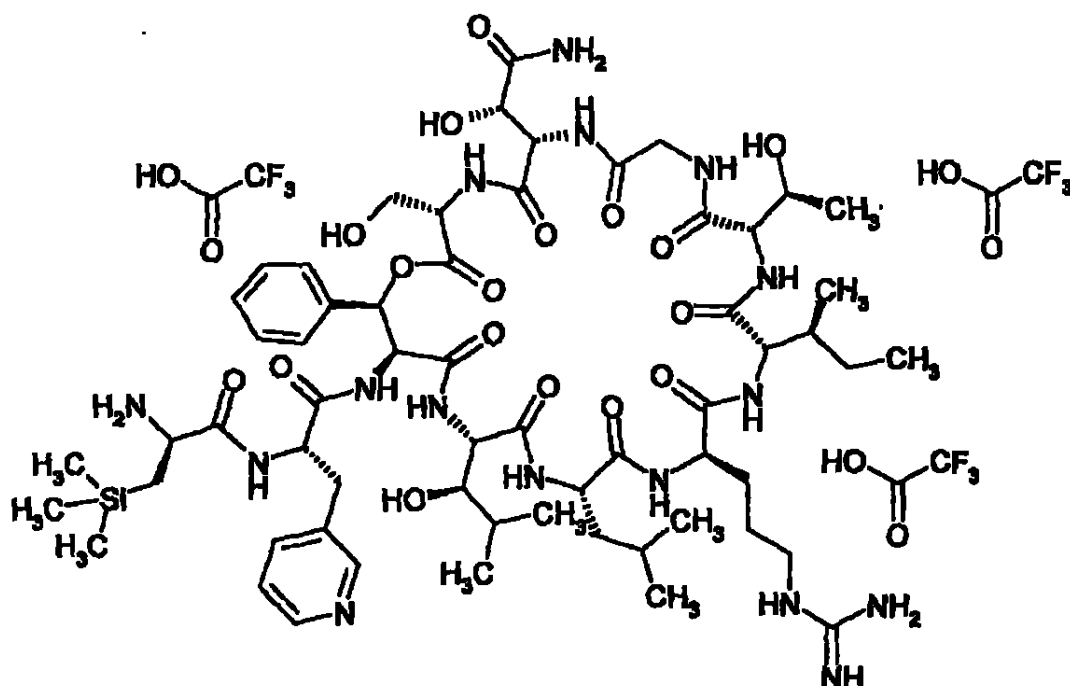
15

^{19}F -NMR (400 MHz, d_5 -Pyridin): $\delta = -67$ (Ar- CF_3), -74 (CF_3COOH), -132 (1,4-Dibromtetrafluorbenzol als Referenz). Gehalt TFA: 14.3 Gew.-%.

HR-MS (Methode 1): $C_{60}H_{96}N_{16}O_{17}F_3$ $[M + H]^+$ ber. 1393.7091, gef. 1393.7119.

Beispiel 2

3-(Trimethylsilyl)-D-alanyl-3-(pyridin-3-yl)-L-alanyl-dea(1-D-leucyl-2-L-leucyl)-lysobactin-tris-trifluoroacetat



5

Die Verbindung aus Beispiel 15A (9.12 g, 4.93 mmol, Rohprodukt) wird in Trifluoressigsäure in Dichlormethan (65 mL; 30%ige Lösung) aufgenommen. Der Ansatz wird bei RT für 20 min gerührt. Das Lösungsmittel wird abdestilliert. Der Rückstand wird im Ölpumpenvakuum getrocknet und dann chromatographisch gereinigt (Methode 14). Ausbeute: 5.54 g (67% d. Th.).

10 HPLC (Methode 9): $R_t = 3.32$ min.

LC-MS (Methode 7): $R_t = 1.41$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 671.7 (100) $[M + 2H]^{2+}$.

HR-TOF-MS (Methode 1): $C_{60}H_{97}N_{16}O_{17}Si$ $[M + H]^+$ ber. 1341.6987, gef. 1341.7019.

1H -NMR (500 MHz, d_7 -Pyridin): $\delta = -0.172$ (s, 9H), 0.611 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H), 0.881 (d, $J = 7.9$ Hz, 3H), 0.948 (d, $J = 6.3$ Hz, 3H), 0.954 – 0.997 (m, 6H), 1.135 (d, $J = 6.0$ Hz, 3H), 1.208 (m, 2H), 1.361 (d, $J = 5.4$ Hz, 3H), 1.439 (m, 1H), 1.497 (m, 1H), 1.953 (m, 2H), 2.04 (m, 1H), 2.154 (m, 3H), 2.372 (m, 3H), 3.111 (m, 1H), 3.266 (m, 1H), 3.563 (d, $J = 14.95$ Hz, 1H), 3.726 (dd, $J = 12.2, 14.95$ Hz, 1H), 3.840 (d, $J = 9.6$ Hz, 1H), 3.960 (m, 1H), 4.152 (m, 1H), 4.198 (m, 1H), 4.278 (m, 1H), 4.382 (m, 1H), 4.488 (m, 1H), 4.565 (dd, $J = 9.5, 9.6$ Hz, 1H), 4.628 (m, 1H), 4.630 (m,

1H), 4.779 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H), 5.069 (m, 1H), 5.159 (dd, $J = 9.3$ Hz, 1H), 5.264 (m, 1H), 5.362 (s, 1H), 5.98 (d, $J = 9.9$ Hz, 1H), 6.351 (dd, $J = 8.5$ Hz, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.169 (m, 1H), 7.246 (m, 1H), 7.382 (d, $J = 9.9$ Hz, 1H), 7.512 (m, 2H), 7.583 – 7.614 (m, 2H), 7.728 (m, 2H), 7.90 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 8.126 (m, 3H), 8.341 (m, 1H), 8.576 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H), 8.695 (m, 2H), 8.793 (m, 1H), 9.139 (br s, 1H), 9.715 (m, 1H), 10.957 (br s, 1H), 11.268 (br s, 1H).

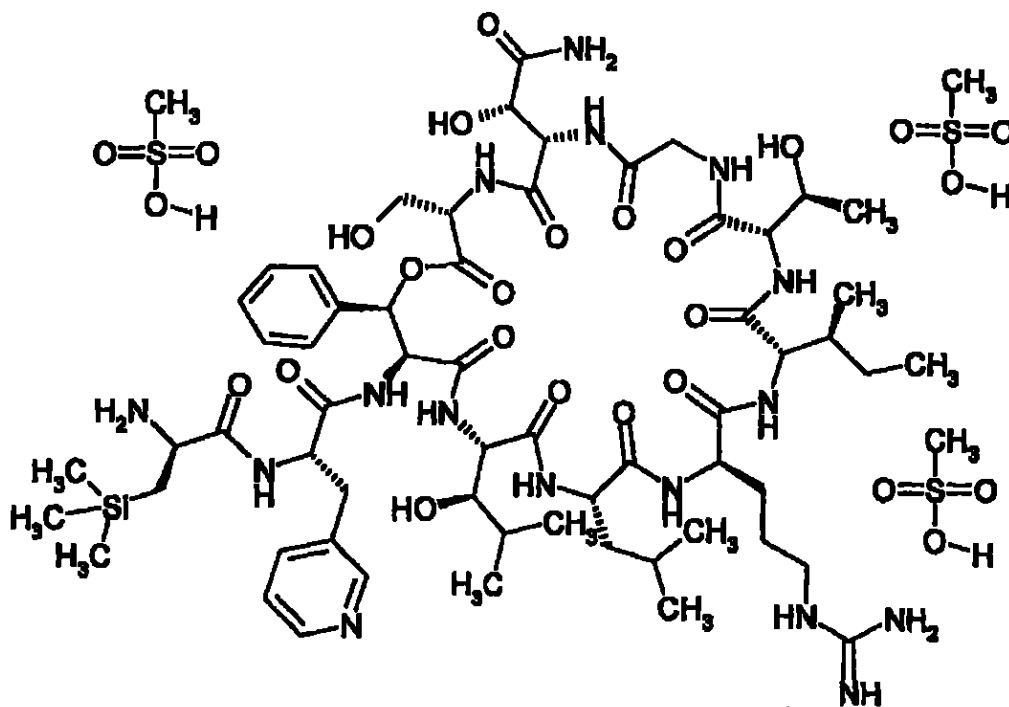
^{13}C -NMR (126 MHz, d_7 -Pyridin): $\delta = -1.8, 11.08, 15.84, 18.8, 18.8, 19.79, 20.89, 20.93, 21.65, 23.38, 24.78, 26.57, 26.88, 28.80, 31.04, 34.06, 36.84, 40.95, 41.25, 44.38, 50.94, 52.82, 55.99, 56.10, 56.74, 58.40, 59.10, 60.34, 60.72, 62.33, 62.55, 70.72, 72.06, 75.58, 75.65, 123.66, 128.25, 128.95, 129.80, 132.39, 136.77, 137.18, 149.17, 158.11, 162.15, 162.41, 162.70, 162.96, 169.01, 169.69, 170.21, 172.57, 173.27, 173.44, 173.66, 174.07, 174.36, 175.34, 175.56.$

^{19}F -NMR (400 MHz, d_7 -Pyridin): $\delta = -74$ (CF_3COOH), -132 (1,4-Dibromtetrafluorbenzol als Referenz). Gehalt TFA: 19.3 Gew.-%.

Die Struktur ist durch eine Röntgenstrukturanalyse bestätigt.

Beispiel 3

3-(Trimethylsilyl)-D-alanyl-3-(pyridin-3-yl)-L-alanyl-des(1-D-leucyl-2-L-leucyl)-lysobactin-trimethansulfonat



3-(Trimethylsilyl)-D-alanyl-3-(pyridin-3-yl)-L-alanyl-des(1-D-leucyl-2-L-leucyl)-lysobactin-tris-trifluoroacetat (447 mg, 0.27 mmol) wird in 22 mL Wasser gelöst. Methansulfonsäure (70%ig) wird zugegeben. Der Ansatz wird kräftig gerührt und dann lyophilisiert. Das Lyophilisat wird mit Wasser (3.4 mL) aufgenommen und 70%ige Natriummethansulfonat-Lösung (0.9 mL) wird zugesetzt. Es wird 10 min bei RT gerührt. Dann wird das Produkt abzentrifugiert. Man erhält 472 mg Rohprodukt.

Aus mehreren Ansätzen vereinigte Rohprodukte (insgesamt 1053 mg, 0.63 mmol) werden in Wasser (5 mL) suspendiert und bei RT für 4 Tage gerührt. Es wird erneut abzentrifugiert und der erhaltene Feststoff im Vakuum getrocknet. Man erhält 575 mg (55% d. Th.) des Produktes.

10 HPLC (Methode 9): $R_t = 3.30$ min.

LC-MS (Methode 7): $R_t = 1.49$ min, MS (ESIpos): m/z (%) = 671.8 (100) $[M + 2 H]^+$, 1342.1 (5) $[M + H]^+$.

1H -NMR (500 MHz, d_5 -Pyridin): $\delta = -0.170$ (s, 9H), 0.702 (d, $J = 6.3$ Hz, 3H), 0.867 (d, $J = 6.1$ Hz, 3H), 0.972 (d, $J = 6.2$ Hz, 3H), 0.966 – 1.069 (m, 9H), 1.186 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H), 1.315 (m, 2H), 1.448 – 1.501 (m, 6H), 2.010 (m, 1H), 2.084 (m, 3H), 2.180 – 2.365 (m, 4H), 2.540 (m, 1H), 3.082 (s, 9H), 3.166 (m, 1H), 3.325 (m, 1H), 3.623 (d, $J = 14.05$ Hz, 1H), 3.865 (dd, $J = 13.7$, 14.05 Hz, 1H), 3.967 – 3.986 (m, 2H), 4.257 (m, 1H), 4.339 (m, 2H), 4.410 (m, 1H), 4.566 (m, 1H), 4.591 – 4.686 (m, 2H), 4.75 (d, 1 H, $J = 12.1$ Hz, 1H), 4.859 (m, 1H), 5.086 (m, 1H), 5.229 (m, 1H), 5.348 (m, 1H), 5.375 (s, 1H) 6.02 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H), 6.403 (m, 1H), 7.068 (d, $J = 9.8$ Hz, 1H), 7.222 (m, 3H), 7.544 (m, 3H), 7.625 (m, 1H), 7.681 (m, 1H), 7.830 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.921 (d, $J = 9.35$ Hz, 1H), 8.071 (m, 2H), 8.188 (br s, 1H), 8.285 (br s, 1H), 8.420 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 8.614 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H), 8.701 (m, 1H), 8.874 (br s, 1H), 10.175 (m, 1H), 10.279 (m, 1H), 10.941 (br s, 1H).

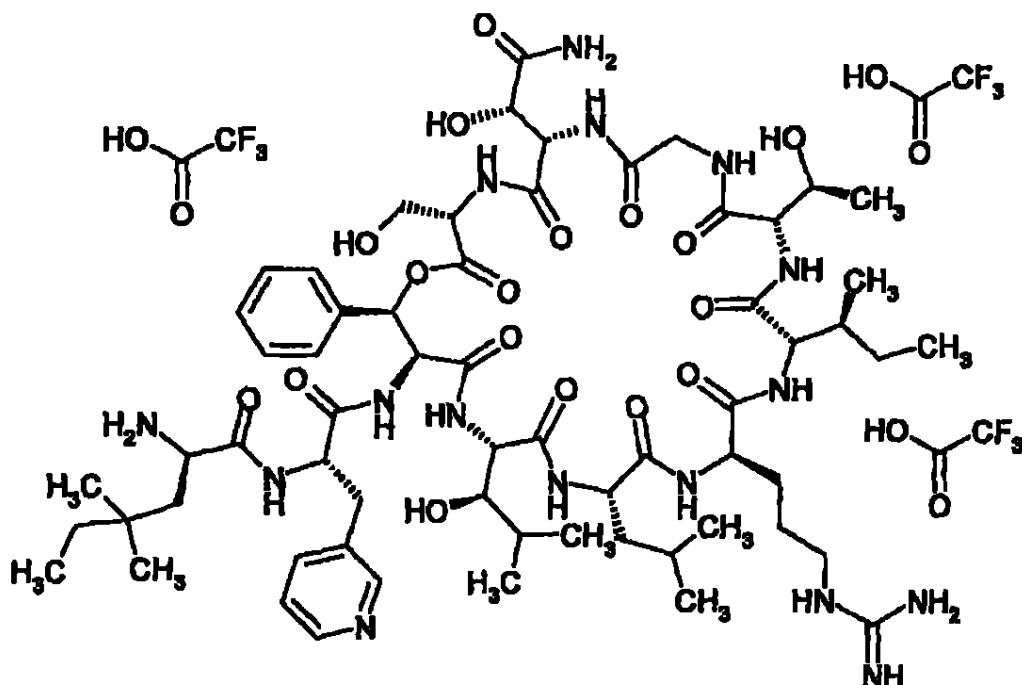
^{19}F -NMR (Pyridin, 400 MHz, Methode 24): $\delta = -74.0$ (s, TFA, 0.20), -132.0 (s, 1,4-Dibromtetrafluorbenzol, 1000.0), TFA = 0.02 Gew.%.
25

Alternatives Verfahren: 32 g Dowex 1X8-400 (HCl-Form) werden in eine Säule gepackt (35 mm Durchmesser). Ca. 60 mL 1 M Natriumhydroxid-Lösung werden über die Säule gegeben, gefolgt von 60 mL HPLC-Wasser. Dann wird mit 60 mL 1 M Methansulfonsäure konditioniert und anschließend mit ungefähr 100 mL Wasser bis zur neutralen Reaktion des Eluates gewaschen. (Macherey & Nagel Tritest). Dann werden 2.00 g (1.19 mmol) 3-(Trimethylsilyl)-D-alanyl-3-(pyridin-3-yl)-L-alanyl-des(1-D-leucyl-2-L-leucyl)-lysobactin-tris-trifluoroacetat (Beispiel 2) in 90 mL Wasser gelöst und die Lösung aufgegeben und langsam eluiert. Die Säule wird mit ca. 20 mL Wasser nachge-
30

spült. Produkthaltige Eluate werden vereinigt, feinfiltriert (Porengröße 0.20 µm) und lyophilisiert. Die Säule wird erneut konditioniert und wiederverwendet. Man erhält 1.79 g (1.10 mmol, 92% d. Th.) Beispiel 3 aus 2000 mg (1.19 mmol) Beispiel 2.

Beispiel 4

- 5 4,4-Dimethyl-D-norleucyl-3-(pyridin-3-yl)-L-alanyl-des(1-D-leucyl-2-L-leucyl)-lysobactin-tris-trifluoroacetat



- Die Verbindung aus Beispiel 22A (149 mg, 0.09 mmol) wird in Methanol/enthaltend 0.05% Trifluoressigsäure (10 mL) gelöst. Palladium auf Aktivkohle (10%ig; 20 mg) wird zugegeben, dann wird insgesamt 2.5 h bei RT und Normaldruck mit Wasserstoff hydriert. Das Rohprodukt wird vom Katalysator abfiltriert und das Filtrat eingedunstet. Der Rückstand wird chromatographisch gereinigt (Methode 13). Ausbeute: 68 mg (46% d. Th.).

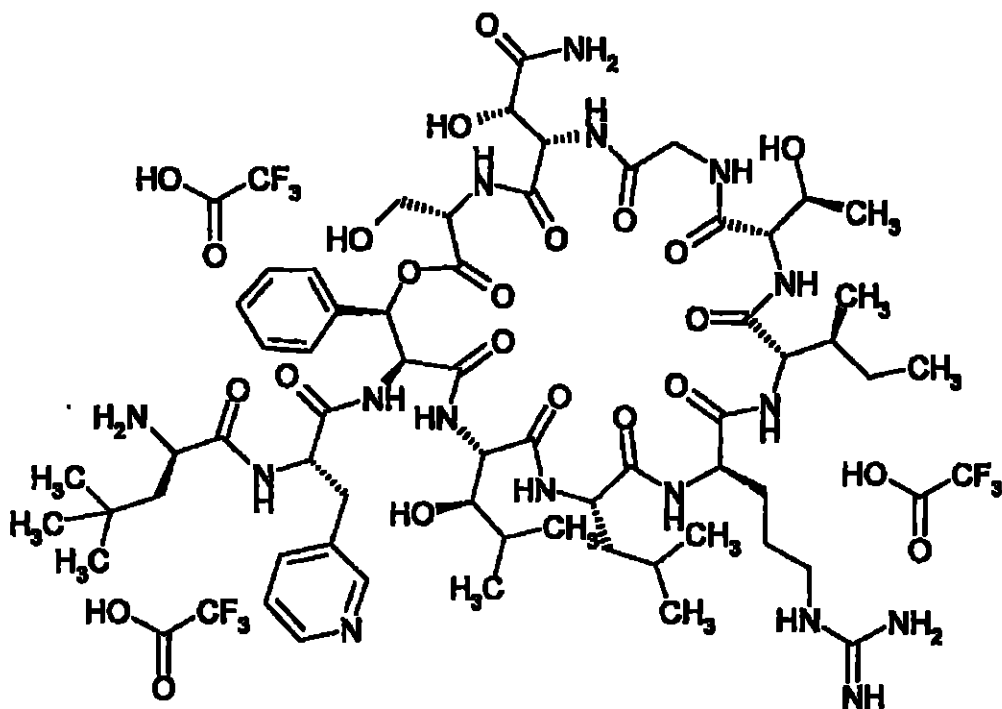
HPLC (Methode 9): $R_t = 3.29$ min.

- LC-MS (Methode 7): $R_t = 1.49$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 671.0 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1340 (5) $[M + H]^+$.

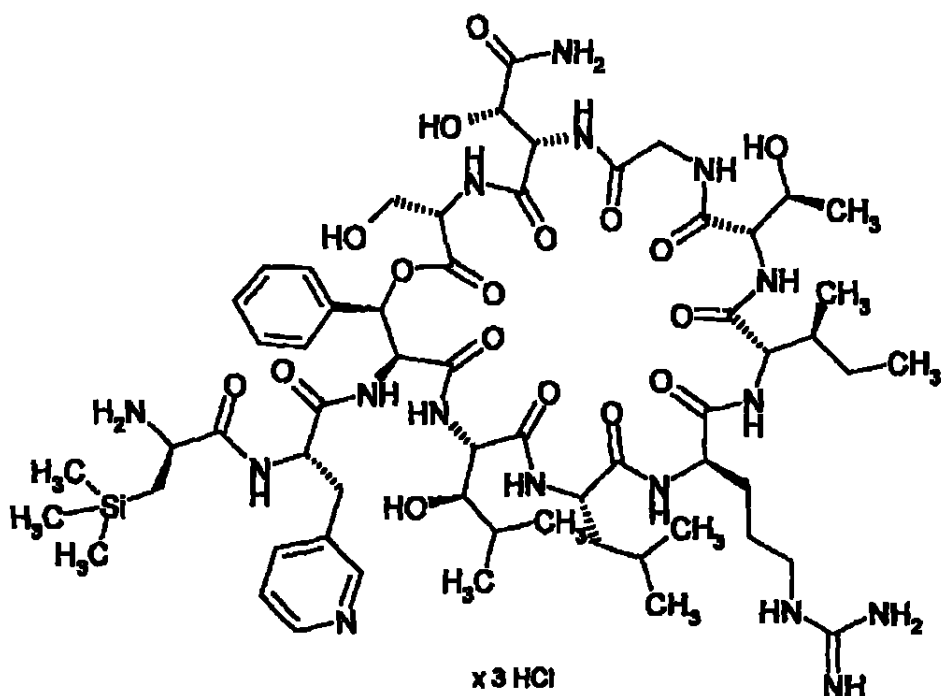
HR-TOF-MS (Methode 1): $C_{42}H_{59}N_{15}O_{17}$ $[M + H]^+$ ber. 1339.7369, gef. 1339.7368.

Beispiel 5 (Vergleichsbeispiel)

3-*tert*-Butyl-D-alanyl-3-(pyridin-3-yl)-L-alanyl-dea(1-D-leucyl-2-L-leucyl)lysobactin-tris(trifluoroacetat)

**5 Beispiel 6**

(Trimethylsilyl)-D-alanyl-3-(pyridin-3-yl)-L-alanyl-dea(1-D-leucyl-2-L-leucyl)-lysobactin-tris-hydrochlorid



32 g Dowex 1XB-400 (HCl-Form) werden in eine Säule gepackt (35 mm Durchmesser). Ca 60 mL 1 M Natriumhydroxidlösung werden über die Säule gegeben, gefolgt von 60 mL HPLC-Wasser. Dann wird mit 60 mL 1 M Salzsäure konditioniert und anschließend mit ungefähr 100 mL Wasser bis zur neutralen Reaktion des Eluates gewaschen. (Macherey & Nagel Triton). Dann werden 2.00 g (1.19 mmol) 3-(Trimethylsilyl)-D-alanyl-3-(pyridin-3-yl)-L-alanyl-des(1-D-leucyl-2-L-leucyl)-lyzobactin-tris-trifluoroacetat (Beispiel 2) in 90 mL Wasser gelöst und die Lösung aufgegeben und langsam eluiert. Die Säule wird mit ca. 20 mL Wasser nachgespült. Produktenthaltige Eluate werden vereinigt, feinfiltriert (Porengröße 0.20 µm) und lyophilisiert. Die Säule wird erneut konditioniert und wiederverwendet. Man erhält 1.54 g (1.06 mmol, 89% d. Th.) Beispiel 6 aus 2000 mg (1.19 mmol) Beispiel 2.

HPLC (Methode 9): $R_t = 3.30$ min.

LC-MS (Methode 7): $R_t = 1.47$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 671.5 (100) $[M+2H]^{2+}$, 1341.4 (20), $[M+H]^+$.

15 Ionenchromatographie (Methode 25): Cl^- (ber.) = 7.43 %, Cl^- gef. = 7.1 %; TFA (gef.) < 0.1 %.

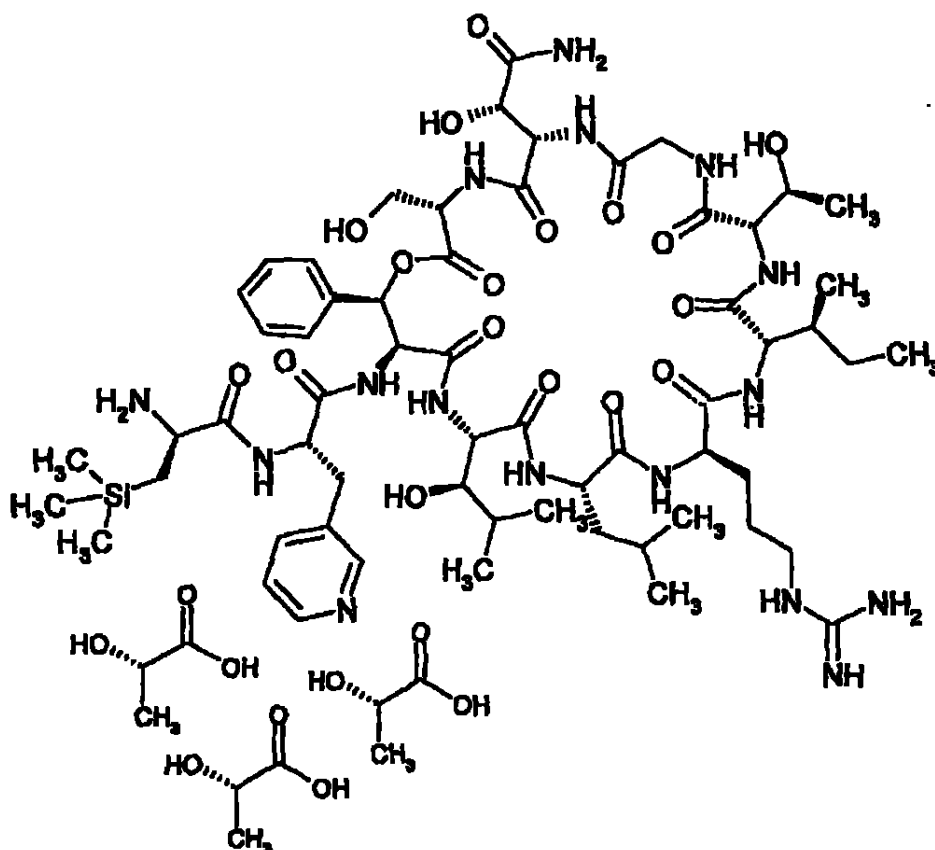
1H -NMR (500 MHz, d_5 -Pyridin) δ = -0.170 (s, 9H), 0.580 (d, $J = 6.3$ Hz, 3H), 0.772 (d, $J = 5.7$ Hz, 3H), 0.920 (d, $J = 5.8$ Hz, 3H), 0.974 – 0.985 (m, 6H), 1.147 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H), 1.250 – 1.358 (m, 2H), 1.411 (d, $J = 5.7$ Hz, 3H), 1.468 (m, 1H), 1.604 (m, 1H), 1.959 – 2.049 (m, 3H), 2.154 – 2.228 (m, 3H), 2.380 (m, 3H), 2.935 (m, 1H), 3.120 (m, 1H), 3.300 (m, 1H), 3.607 (d, $J = 14.9$ Hz,

1H), 3.762 (dd, $J = 14.7$ Hz, 1H), 3.882 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 3.938 (m, 1H), 4.204 (m, 1H), 4.253 (m, 1H), 4.389 (m, 1H), 4.465 (m, 1H), 4.589 – 4.661 (m, 4H), 4.806 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H), 5.027 (m, 1H), 5.202 (dd, $J = 9.4$ Hz, 1H), 5.289 (m, 1H), 5.390 (s, 1H), 6.000 (d, $J = 9.5$ Hz, 1H), 6.394 (dd, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.173 (m, 2H), 7.428 (m, 1H), 7.54 (d, $J = 7.0$ Hz, 1H), 7.664 – 7.973 (m, 3H), 7.767 (d, $J = 8.6$, 1H), 7.918 – 7.973 (m, 3H), 8.038 (br s, 2H), 8.098 (br s, 1H), 8.185 (br s, 1H), 8.253 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 8.582 (m, 1H), 8.684 (d, $J = 9.8$ Hz, 1H), 8.741 (br s, 1H), 8.782 (m, 1H), 9.928 (br s, 1H), 10.272 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 10.886 (br s, 1H), 11.135 (br s, 1H).

^{19}F -NMR (Pyridin, 400 MHz, Methode 24): TFA < Nachweisgrenze.

Beispiel 7

10 (Trimethylsilyl)-D-alanyl-3-(pyridin-3-yl)-L-alanyl-des(1-D-leucyl-2-L-leucyl)-lysobactin-tris-L-lactat



32 g Dowex 1X8-400 (HCl-Form) werden in eine Säule gepackt (35 mm Durchmesser). Ca. 60 mL 1 M Natriumhydroxidlösung werden über die Säule gegeben, gefolgt von 60 mL HPLC-Wasser. Dann wird mit 60 mL 1 M Milchsäure konditioniert und anschließend mit ca. 100 mL Wasser bis zur neutralen Reaktion des Eluates gewaschen. (Macherey & Nagel Tritest). Dann werden 2.00 g

(1.19 mmol) 3-(Trimethylsilyl)-D-alanyl-3-(pyridin-3-yl)-L-alanyl-doe(1-D-leucyl-2-L-leucyl)-lysobactin-tris-trifluoroacetat (Beispiel 2) in 90 mL Wasser gelöst und die Lösung aufgegeben und langsam eluiert. Die Säule wird mit ca. 20 mL Wasser nachgespült. Produktthaltige Eluate werden vereingigt, feinfiltriert (Porengröße 0.20 µm) und lyophilisiert. Die Säule wird erneut konditioniert und wiederverwendet. Man erhält 1903 mg (1.18 mmol, 99% d. Th.) Beispiel 7 aus 2000 mg (1.19 mmol) Beispiel 2.

HPLC (Methode 9): $R_t = 3.29$ min.

LC-MS (Methode 7): $R_t = 1.38$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 671.7 (100) $[M+2H]^{2+}$, 1341.8 (20), $[M+H]^+$.

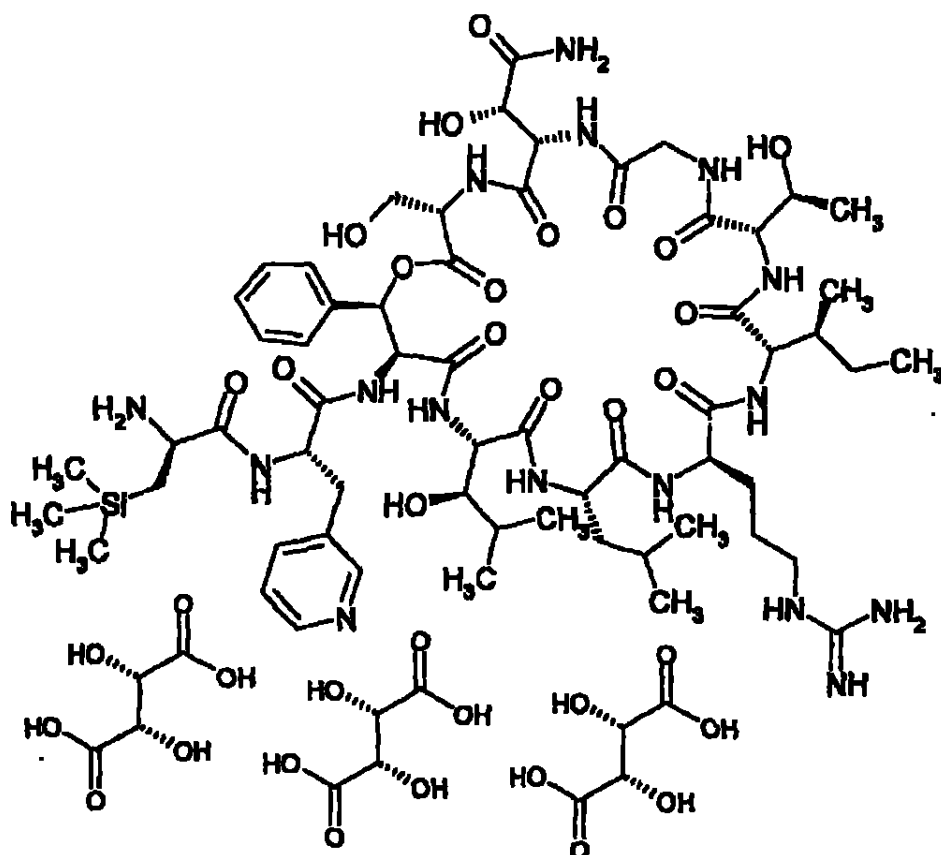
10 1H -NMR (500 MHz, d_3 -Pyridin): $\delta = -0.170$ (s, 9H), 0.754 (d, $J = 6.3$ Hz, 3H), 0.836 (d, $J = 6.1$ Hz, 3H), 0.922 (d, $J = 6.2$ Hz, 3H), 0.922 – 0.957 (m, 6H), 1.054 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H), 1.190 (m, 2H), 1.416 (d, $J = 5.8$ Hz, 3H), 1.439 – 1.662 (m, 4H), 1.529 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H), 1.598 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H), 1.669 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H), 1.923 – 2.280 (m, 9H), 3.057 (m, 1H), 3.266 (m, 1H), 3.564 (d, $J = 14.5$ Hz, 1H), 3.761 (dd, $J = 13.7$ Hz, 1H), 3.840 (m, 1H), 4.049 (m, 1H), 4.109 (m, 1H),
 15 4.164 (m, 1H), 4.202 (m, 1H), 4.410 (m, 1H), 4.484 (m, 1H), 4.616 (dd, $J = 6.7, 13.6$ Hz, 1H), 4.656 (m, 1H), 4.669 (dd, $J = 7.0, 13.9$ Hz, 1H), 4.780 (d, $J = 13.0$ Hz, 1H), 4.921 (m, 1H), 5.144 (dd, $J = 9.6$ Hz, 1H), 5.281 (m, 1H), 5.363 – 5.426 (m, 3H) 5.362 (s, 1H), 5.989 (d, $J = 9.8$ Hz, 1H), 6.323 (m, 1H), 7.122 (m, 1H), 7.180 (m, 1H), 7.381 (m, 1H), 7.596 (m, 1H), 7.671 – 7.925 (m, 6H), 8.036 (br s, 1H), 8.208 (m, 3H), 8.412 (m, 1H), 8.551 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H), 8.714 (m, 2H),
 20 8.794 (m, 1H), 10.298 (br s, 1H), 10.938 (br s, 1H).

^{19}F -NMR (Pyridin, 400 MHz, Methode 24): TFA < Nachweisgrenze.

Beispiel 8

(Trimethylsilyl)-D-alanyl-3-(pyridin-3-yl)-L-alanyl-doe(1-D-leucyl-2-L-leucyl)-lysobactin-tris-D-tartrat

- 50 -



Konditionieren des Ionentauschers: 5 g DOWEX 1X8 400 (HCl-Salz) wird mit 1 M Natronlauge gewaschen, bis das Eluat alkalisch reagiert. Dann wäscht man mit 2 Säulenvolumen Wasser und anschließend mit 1 M D-Weinsäure, bis das Eluat sauer reagiert. Dann wäscht man mit Wasser, bis das Eluat neutral ist (Macherey & Nagel Tritest).

100 mg (59 μmol) Beispiel 2 werden dann in 10 mL Wasser gelöst und auf die Säule aufgetragen. Anschließend wäscht man in mehreren Portionen von ca. 10 mL Wasser nach. Das Edukt löst sich nur mäßig und verbleibt zum Teil auf der Säule. Produktenthaltige Eluatfraktionen werden vereinigt und lyophilisiert. Man erhält 57 mg (31 μmol , 52% d. Th.) des Produktes. Die Integration des ^1H -NMR Spektrums deutet auf eine Stöchiometrie 1:3 für (Trimethylsilyl)-D-alanyl-3-(pyridin-3-yl)-L-alanyl-des(1-D-leucyl-2-L-leucyl)-lysobactin : D-Weinsäure hin.

HPLC (Methode 9): $R_t = 3.29$ min.

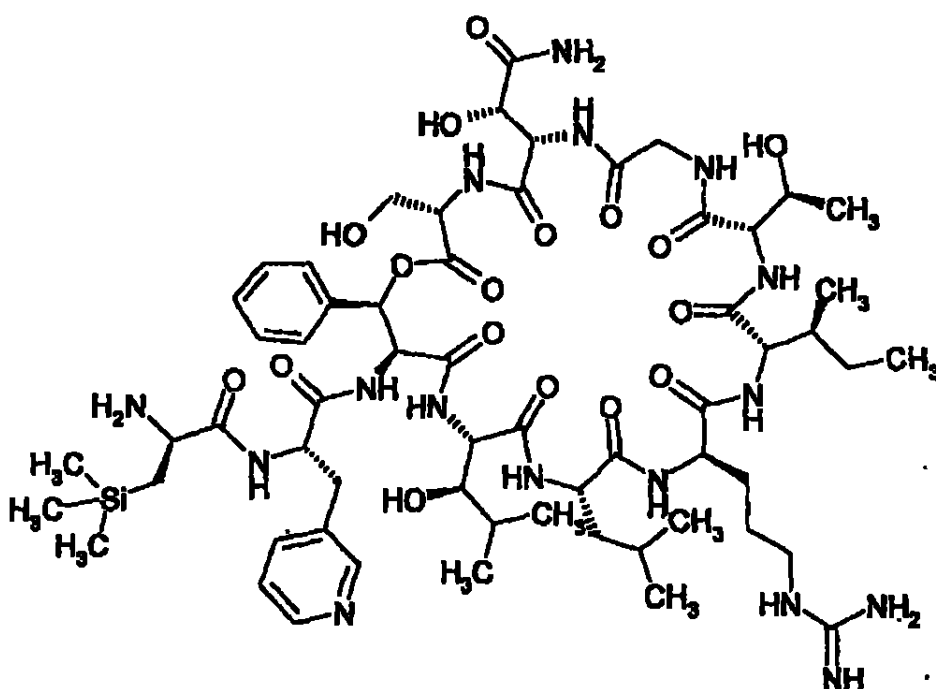
LC-MS (Methode 7): $R_t = 1.37$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 671.7 (100) $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$, 1341.9 (20), $[\text{M}+\text{H}]^+$.

15 ^1H -NMR (500 MHz, d_5 -Pyridin): $\delta = -0.172$ (s, 9H), 0.597 (d, $J = 6.3$ Hz, 3H), 0.776 (d, $J = 5.7$ Hz, 3H), 0.924 (d, $J = 5.8$ Hz, 3H), 0.954 – 0.997 (m, 6H), 1.173 (d, $J = 5.7$ Hz, 3H), 1.303 (m,

2H), 1.434 (d, $J = 5.7$ Hz, 3H), 1.468 (m, 1H), 1.632 (m, 1H), 1.972 (m, 2H), 2.051 (1H, m), 2.174 (m, 3H), 2.402 (m, 3H), 3.129 (m, 1H), 3.305 (m, 1H), 3.602 (d, $J = 15.2$ Hz, 1H), 3.799 (dd, $J = 14.6$ Hz, 1H), 3.893 (d, $J = 12.3$ Hz, 1H), 3.967 (m, 1H), 4.228 (m, 1H), 4.276 (m, 1H), 4.409 (m, 1H), 4.468 (m, 1H), 4.578 – 4.669 (m, 4H), 4.791 (d, $J_{\alpha,\beta} = 11.5$ Hz, 1H), 5.044 (m, 1H), 5.226 (dd, $J = 9.4$ Hz, 1H), 5.190 (m, 1H), 5.362 (s, 1H), 5.417 (s, 6H), 5.997 (d, $J = 9.7$ Hz, 1H), 6.403 (dd, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.182 (m, 1H), 7.551 – 8.210 (m, 13H), 8.589 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H), 8.711 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H), 8.782 (m, 2H), 9.902 (br s, 1H), 10.358 (m, 1H), 10.882 (br s, 1H), 11.093 (br s, 1H).

Beispiel 9

10 . (Trimethylsilyl)-D-alanyl-3-(pyridin-3-yl)-L-alanyl-des(1-D-leucyl-2-L-leucyl)-lysobaactin



Polymergebundenes Hydrogencarbonat PL-HCO₃ (Polymer Labs, Kapazität 1.8 mmol/g) wird in eine Säule gepackt. Zur Umsetzung von 100 mg (59 µmol) der Verbindung Beispiel 2 werden 396 mg (entspricht 12 Äquivalenten Hydrogencarbonat) des Harzes verwendet. Das Harz wird mit Pyridin gespült. Dann wird eine Lösung von Beispiel 2 (100 mg, 59 µmol) in Pyridin (0.75 mL) auf die Säule gegeben und langsam eluiert. Die Säule wird zunächst mit weiterem Pyridin (2 mL) und dann mit Wasser (ca. 2 mL) gespült. Alle Eluate werden vereinigt und ohne Wärmezufuhr im Ölpumpenvakuum eingesengt. Der glasartige Rückstand wird in einigen Tropfen Wasser gelöst und unverzüglich gefriergetrocknet. Man erhält die Titelverbindung als farbloses amorphes Pulver.

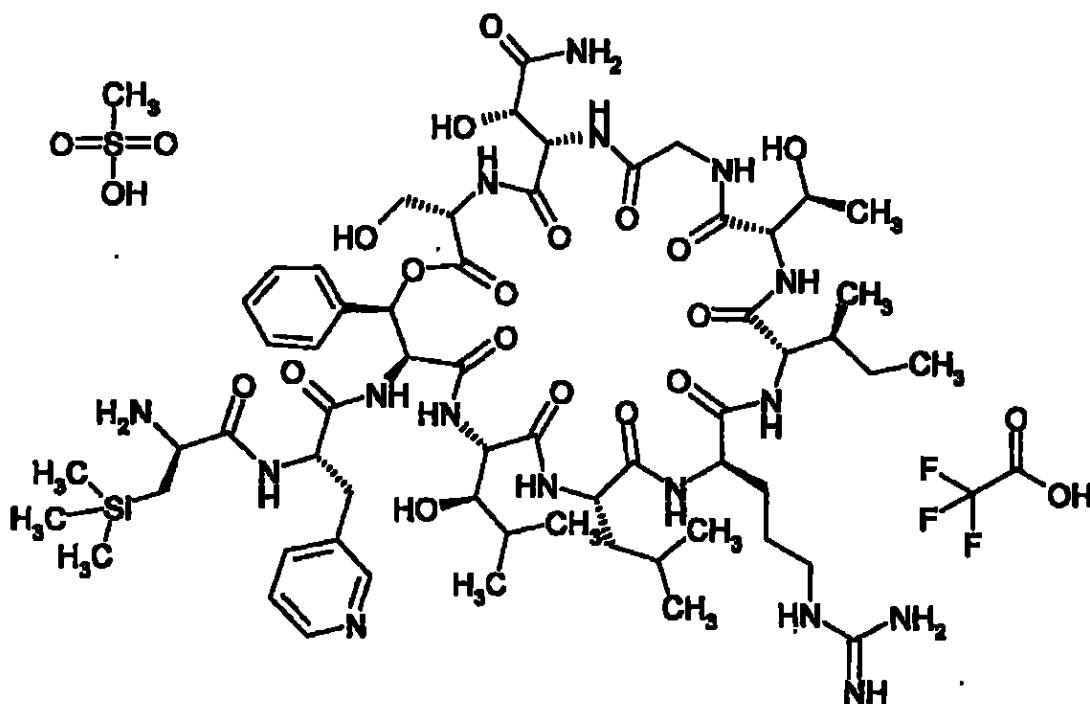
HPLC (Methode 9): $R_t = 3.30$ min.

LC-MS (Methode 7): $R_t = 1.49$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 671.8 (100) $[M+2 H]^+$, 1341.9 (10), $[M+H]^+$, MS (ESIneg): m/z (%) = 669.9 (100) $[M-2 H]^-$, 1340.0 (100) $M-H^-$.

^{19}F -NMR (Pyridin, 400 MHz, Methode 24): TFA 2.9%.

5 Beispiel 10

(Trimethylsilyl)-D-alanyl-3-(pyridin-3-yl)-L-alanyl-des(1-D-leucyl-2-L-leucyl)-lysobactin-mesylat-trifluoracetat



Durch Umkristallisation von Beispiel 3 aus mit TFA dotiertem Wasser bei RT kann die Titelverbindung als kristalline Substanz erhalten werden (langsameres Eindampfen der Lösung).

LC-MS (Methode 6): $R_t = 1.41$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 671.9 (100) $[M+2 H]^+$, 1342.1 (10), $[M+H]^+$, MS (ESIneg): m/z (%) = 669.9 (100) $[M-2 H]^-$, 1340.1 (80) $M-H^-$.

HR-TOF-MS (Methode 1): $C_{69}H_{77}N_{16}O_{17}Si$ $[M + H]^+$ ber. 1341.6982, gef. 1341.7006.

Die Struktur und die Salzform ist durch eine Einkristall-Röntgenstrukturanalyse bestätigt.

B. Bewertung der physiologischen Wirksamkeit

Die *in vitro*-Wirkung der erfindungsgemäßen Verbindungen kann in folgenden Assays gezeigt werden:

Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration (MHK):

- 5 Die MHK wird im Flüssigdilutionstest gemäß der NCCLS-Richtlinien bestimmt. Übernachtskulturen von *Staphylococcus aureus* 133, *Enterococcus faecalis* 27159, *E. faecium* 4147 und *Streptococcus pneumoniae* G9a werden mit den beschriebenen Testsubstanzen in einer 1:2 Verdünnungsreihe inkubiert. Die MHK-Bestimmung wird mit einer Zellzahl von 10⁸ Keimen pro 1 mL in Iso-sensitest-Medium (Fa. Difco, Irvine/USA) durchgeführt, mit Ausnahme von *S. pneumoniae*, der in
- 10 BHI-Bouillon (Fa. Difco, Irvine/USA) mit 10% Rinderserum bei einer Zellzahl von 10⁸ Keimen pro mL getestet wird. Die Kulturen werden bei 37°C für 18-24 Stunden inkubiert, *S. pneumoniae* in Gegenwart von 10% CO₂.

Die jeweils niedrigste Substanzkonzentration, bei der kein sichtbares Bakterienwachstum mehr auftritt, wird als MHK definiert. Die MHK-Werte werden in µg/mL angegeben.

- 15 Repräsentative *in vitro*-Wirksamkeitsdaten und f₅₀-Daten für die erfindungsgemäßen Verbindungen sind in Tabelle A wiedergegeben:

Tabelle A

2	0.125	0.125	1	0.5	12.3
3	0.5	0.125	1	0.5	—
4	0.25	0.125	—	1	6.1
5	0.5	0.5	1	1	8.6
6	<0.063	<0.063	—	1	—
7	0.063	0.125	—	1	—
8	0.25	0.125	—	2	—
1A	0.5	0.063	0.5	0.5	0.67

Die Eignung der erfindungsgemäßen Verbindungen zur Behandlung von bakteriellen Infektionen kann im folgenden Tiermodell gezeigt werden:

Systemische Infektion mit *Staphylococcus aureus* 133:

- 5 Zellen von *S. aureus* 133 werden über Nacht in BHI-Bouillon (Fa. Oxoid, New York/ USA) ange-
 züchtet. Die Übernachtskultur wird 1:100 in frische BHI-Bouillon verdünnt und für 3 Stunden in-
 kubiert. Die dann in der logarithmischen Wachstumsphase befindlichen Zellen werden abzentrifu-
 giert und zweimal mit gepufferter, physiologischer Kochsalzlösung gewaschen. Danach wird pho-
 tometrisch eine Zellsuspension in Kochsalzlösung mit einer Extinktion von 50 Einheiten einge-
 stellt. Nach einem Verdünnungsschritt (1:15) wird diese Suspension 1:1 mit einer 10%igen Mucin-
 10 lösung gemischt. Von dieser Infektionslösung werden 0,25 mL/20 g Maus intraperitoneal (entspre-
 chend 1×10^6 Keimen/Maus) appliziert. Die Therapie erfolgt intraperitoneal oder intravenös 30
 Minuten nach der Infektion. Für den Infektionsversuch werden weibliche CFW1-Mäuse verwen-
 det. Das Überleben der Tiere wird über 6 Tage protokolliert.

- 15 Die Eigenschaften der erfindungsgemäßen Verbindungen im Hinblick auf die Nierenverträglich-
 keit können im folgenden Tiermodell gezeigt werden:

Maus-Modell zur Bestimmung nephrotoxischer Effekte:

- Nephrotoxische Nebenwirkungen der Nonapeptide werden durch histopathologische Unter-
 suchungen der Nieren in Mäusen nach mehrfacher Gabe einer bestimmten Dosierung analysiert.
 Dafür werden 5-6 Tiere täglich entweder intravenös (i.v.) oder intraperitoneal (i.p.) mit Substanzen
 20 behandelt, die in wässriger Lösung oder unter Zusatz von Solutol gelöst werden. Nierentoxische
 Effekte werden durch lichtmikroskopische Auswertung Hämatoxylin und Eosin (H&E) gefärbter
 Paraffinschnitte der Nieren bestimmt. Eine Periodic-Acid Schiff (PAS)-Reaktion wird wahlweise
 zur besseren Darstellung von Glykoproteinen durchgeführt. Nephrotoxische Effekte werden semi-
 quantitativ für jedes Tier als Schweregrade der auftretenden tubulären Basophilie und Degenerati-
 25 on/Regeneration festgelegt (Schweregrade: 0 = kein Effekt; 1 = minimaler Effekt; 2 = leichter
 Effekt; 3 = moderater Effekt; 4 = schwere Läsionen). Der durchschnittliche Schweregrad der tubu-
 lären Degeneration/Regeneration sowie die Inzidenz (Anzahl der betroffenen Tiere) wird pro Tier-
 gruppe oder Derivat berechnet. Darüber hinausgehende Nierenveränderungen wie tubuläre Dilata-
 tion sowie Nekrosen und Ansammlung nekrotischen Materials werden ebenfalls aufgeführt.

Ratten-Modell zur Bestimmung nephrotoxischer Effekte:

Nephrotoxische Nebenwirkungen der Nonapeptide werden durch histopathologische Untersuchungen der Nieren in Ratten nach mehrfacher Gabe einer bestimmten Dosierung analysiert. Dafür werden 5 Tiere täglich intravenös (i.v.) mit Substanzen behandelt, die in Saline oder Ringer-Lactat-Lösung gelöst werden. Nierentoxische Effekte werden durch lichtmikroskopische Auswertung Hämatoxylin und Eosin (H&E) gefärbter Paraffinschnitte der Nieren bestimmt. Eine Periodic-Acid Schiff (PAS)-Reaktion wird wahlweise zur besseren Darstellung von Glykoproteinen durchgeführt. Nephrotoxische Effekte werden semiquantitativ für jedes Tier als Schweregrade der auftretenden tubulären Basophilie und Degeneration/Regeneration festgelegt (Schweregrade: 0 = kein Effekt; 1 = minimaler Effekt; 2 = leichter Effekt; 3 = moderater Effekt; 4 = schwere Läsionen). Der durchschnittliche Schweregrad der tubulären Degeneration/Regeneration sowie die Inzidenz (Anzahl der betroffenen Tiere) wird pro Tiergruppe oder Derivat berechnet. Darüber hinausgehende Nierenveränderungen wie tubuläre Dilatation sowie Nekrosen und Ansammlung nekrotischen Materials werden ebenfalls aufgeführt.

Prinzip der Bestimmung der freien Fraktion via Transil:

Die hier beschriebene Methode zur Bestimmung der freien Fraktion (f_u) einer Prüfsubstanz gliedert sich in 2 Teile:

a) Bestimmung des Transil®/Puffer-Verteilungsverhältnisses ($MA_{transil}$) durch Inkubation der Prüfsubstanz in einer Transil®-Puffer (pH 7.4)-Dispersion und anschließende Bestimmung der Konzentration in der Dispersion und im Puffer-Überstand.

b) Bestimmung des Transil®/Plasma-Verteilungsverhältnisses (MA_{plasma}) durch Inkubation der Prüfsubstanz in einer Transil®-Plasma-Dispersion und anschließende Bestimmung der Konzentration in der Dispersion und im Plasma.

Der Quotient der beiden Verteilungsverhältnisse ergibt f_u .

Bei hochproteingebundenen Substanzen wird das Plasma in der Regel mit isotonischem Puffer (pH 7.4) verdünnt und anschließend mit Transil® suspendiert. Die Bestimmung von f_u' (freie Fraktion in verdünntem Plasma) in dieser verdünnten Proteinlösung erfolgt analog zur Bestimmung von f_u . Die freie Fraktion in unverdünntem Plasma wird aus f_u' und dem Verdünnungsfaktor berechnet.

Vergleich zu dieser Methode auch: Schuhmacher, Joachim; Kohledorfer, Christian; Buehner, Klaus; Brandenburger, Tim; Krak, Renate, "High-throughput determination of the free fraction of drugs strongly bound to plasma proteins." *Journal of Pharmaceutical Sciences* 2004, 93, 816-830.

Bestimmung der Membranaffinität einer Prüfsubstanz nach Verteilung zwischen Transil[®] und Puffer (MA_{trans}):

- Alle Inkubationen werden in geeigneten Glasgefäßen, z. B. Glasvials, Schliffreagenzgläsern, durchgeführt. In der Regel beträgt das Gesamtvolumen 0.5-5 mL, das Transil[®] Volumen 10-100 µL. Im Falle von hohen erwarteten Membranaffinitäten kann die Transil[®] Dispersion mit Phosphatpuffer pH 7.4 z.B. Dulbeccos PBS bis zu 20fach verdünnt werden. Phosphatpuffer pH 7.4 wird in die
- 10 Inkubationsgefäße vorgelegt und das Transil[®] nach gründlichem Mischen zupipettiert. Die Prüfsubstanz wird in einer Konzentration von z.B. 200 ng/mL, n = 6, zupipettiert. Der Anteil an organischem Lösungsmittel sollte ≤2% sein. Die Ansätze werden 30 min bei Raumtemperatur z.B. auf einem Mini-Shaker im Winkel von ca. 45° bei ca. 400 UPM inkubiert. Zur Bestimmung des 100% Wertes wird mindestens ein Aliquot von z.B. 100 µL entnommen, der restliche Ansatz wird ca.
- 15 10 min bei ca. 1800 g zentrifugiert. Von jeder Probe werden mindestens 2 Aliquote (z.B. 100 µL) des Überstandes für die Konzentrationsbestimmung entnommen.

Bestimmung von MA_{trans} in unverdünntem oder verdünntem Plasma:

- Das Gesamtkubationsvolumen und das zugesetzte Transil[®] Volumen hängen von der erwarteten freien Fraktion ab. In der Regel beträgt das Gesamtvolumen 0.5 -1 mL, das Transil[®] Volumen 10-
- 20 100 µL. Im Falle von sehr niedrigen freien Fraktionen wird das Plasma der zu untersuchenden Spezies mit isotonischer Pufferlösung, pH 7.4 z.B. 10 -400fach verdünnt und anschließend mit Transil[®] versetzt. Das weitere Vorgehen erfolgt wie oben für die Bestimmung der MA_{trans} Werte beschrieben.

Prinzip der Bestimmung der freien Fraktion via Ultrafiltration:

- 25 Das Plasma der zu untersuchenden Spezies wird über eine semipermeable Membran filtriert. Die Substanzkonzentration im Filtrat wird gemessen und daraus die freie Fraktion f_f berechnet. Das Centrifree micropartition system von Millipore/Amicon wird verwendet. Die Ultrafiltrationsmembranen haben eine Ausschlussgröße von 30 000 Da. Die Substanz wird zu 1 mL Plasma in einer Konzentration von ca. 1 µg/mL zudosiert. Der Lösungsmittelanteil sollte < 2 % sein. Nach 30
- 30 minütiger Inkubation bei Raumtemperatur wird das Plasma in das Ultrafiltrationssystem pipettiert und 10 Minuten bei 1800 g zentrifugiert. Die Substanzkonzentration im Ultrafiltrat (C_u ungebun-

dene Substanzkonzentration) und im Plasma vor der Zentrifugation (C ; Gesamtsbstanzkonzentration) wird gemessen. Die freie Fraktion errechnet sich nach der Formel: $f_u (\%) = C_u/C * 100$.

C. Ausführungsbeispiele für pharmazeutische Zusammensetzungen

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können folgendermaßen in pharmazeutische Zubereitungen überführt werden:

Tablette:**5 Zusammensetzung:**

100 mg der Verbindung von Beispiel 1, 50 mg Lactose (Monohydrat), 50 mg Maisstärke (nativ), 10 mg Polyvinylpyrrolidon (PVP 25) (Fa. BASF, Ludwigshafen, Deutschland) und 2 mg Magnesiumstearat.

Tablettengewicht 212 mg, Durchmesser 8 mm, Wölbungsradius 12 mm.

10 Herstellung:

Die Mischung aus Wirkstoff, Lactose und Stärke wird mit einer 5%-igen Lösung (m/m) des PVPs in Wasser granuliert. Das Granulat wird nach dem Trocknen mit dem Magnesiumstearat für 5 min gemischt. Diese Mischung wird mit einer üblichen Tablettenspresse verpresst (Format der Tablette siehe oben). Als Richtwert für die Verpressung wird eine Presskraft von 15 kN verwendet.

15 Oral applizierbare Suspension:**Zusammensetzung:**

1000 mg der Verbindung von Beispiel 1, 1000 mg Ethanol (96%), 400 mg Rhodigel (Xanthan gum der Fa. FMC, Pennsylvania, USA) und 99 g Wasser.

20 Einer Einzeldosis von 100 mg der erfindungsgemäßen Verbindung entsprechen 10 mL orale Suspension.**Herstellung:**

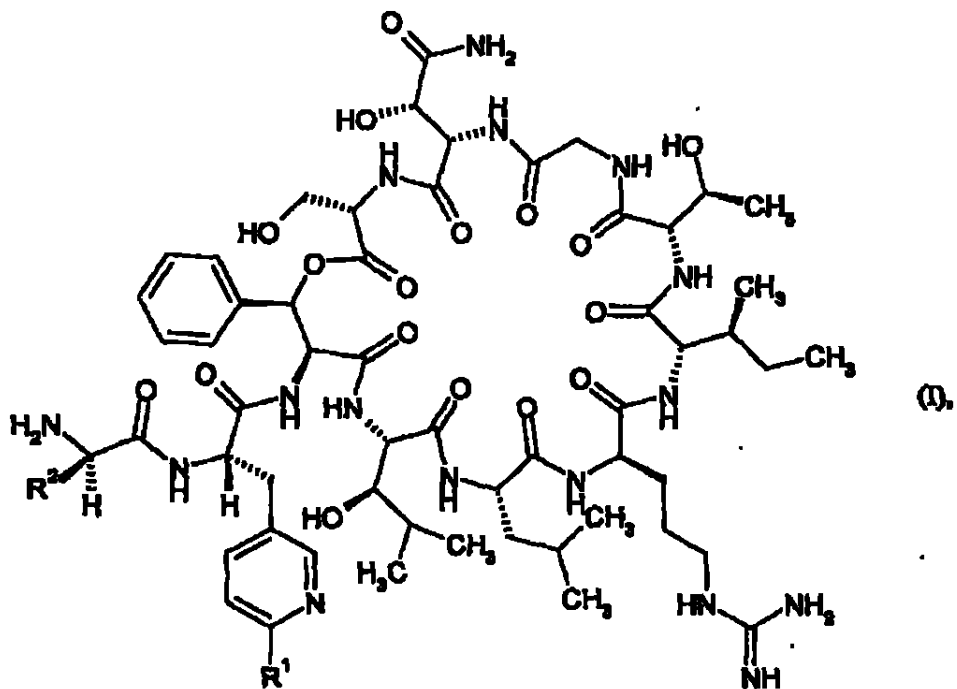
Das Rhodigel wird in Ethanol suspendiert, der Wirkstoff wird der Suspension zugefügt. Unter Rühren erfolgt die Zugabe des Wassers. Bis zum Abschluss der Quellung des Rhodigels wird ca. 6h geführt.

Intravenös applizierbare Lösung:**Zusammensetzung:**

100-200 mg der Verbindung von Beispiel 1, 15 g Polyethylenglykol 400 und 250 g Wasser für Injektionszwecke.

5 Herstellung:

Die Verbindung von Beispiel 1 wird zusammen mit Polyethylenglykol 400 in dem Wasser unter Rühren gelöst. Die Lösung wird sterilfiltriert (Porendurchmesser 0,22 µm) und unter aseptischen Bedingungen in hitzesterilisierte Infusionsflaschen abgefüllt. Diese werden mit Infusionstopfen und Bördelkappen verschlossen.

Patentansprüche**1. Verbindung der Formel**

in welcher

- 5 R^1 Wasserstoff bedeutet und
- R^2 2,2-Dimethylbut-1-yl, 2-Ethyl-2-methylbut-1-yl, 2,2-Diethyl-but-1-yl, 2,2-Dimethylpent-1-yl oder Trimethylsilylmethyl bedeutet,

oder

- R^1 Trifluormethyl bedeutet und
- 10 R^2 2,2-Dimethylprop-1-yl, 2,2-Dimethylbut-1-yl, 2-Ethyl-2-methylbut-1-yl, 2,2-Diethyl-but-1-yl, 2,2-Dimethylpent-1-yl oder Trimethylsilylmethyl bedeutet,

oder eines ihrer Salze, ihrer Solvate oder der Solvate ihrer Salze.

2. Verbindung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass

- R^1 Wasserstoff bedeutet und
- 15 R^2 2,2-Dimethylbut-1-yl oder Trimethylsilylmethyl bedeutet,

oder

R^1 Trifluormethyl bedeutet und

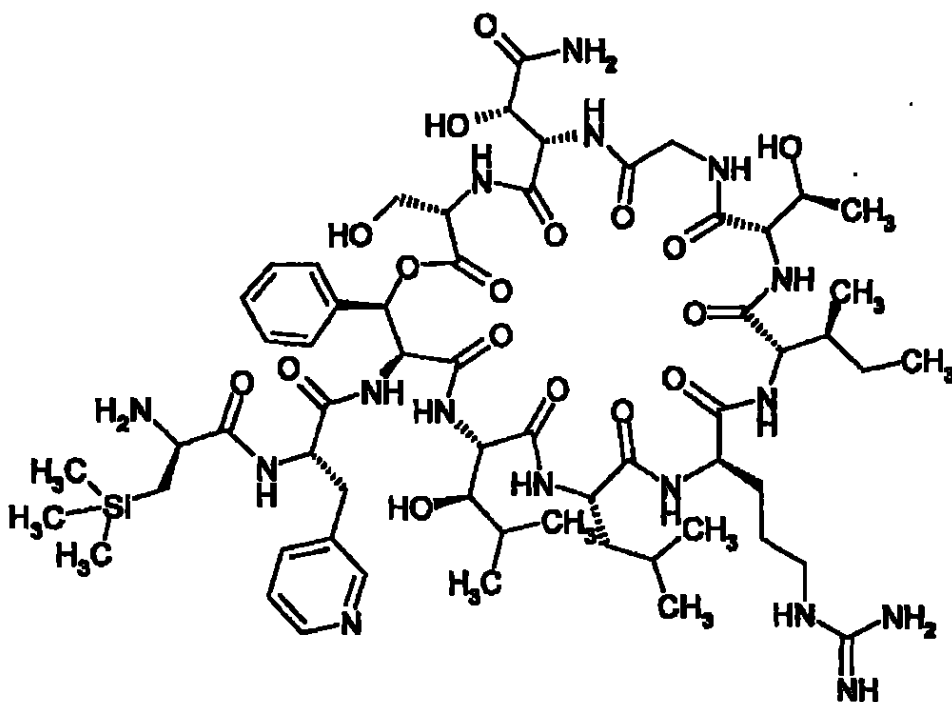
R^2 2,2-Dimethylprop-1-yl, 2,2-Dimethylbut-1-yl oder Trimethylsilylmethyl bedeutet,

3. Verbindung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass

5 R^1 Wasserstoff bedeutet und

R^2 2,2-Dimethylbut-1-yl, 2-Ethyl-2-methylbut-1-yl, 2,2-Diethyl-but-1-yl oder Trimethylsilylmethyl bedeutet.

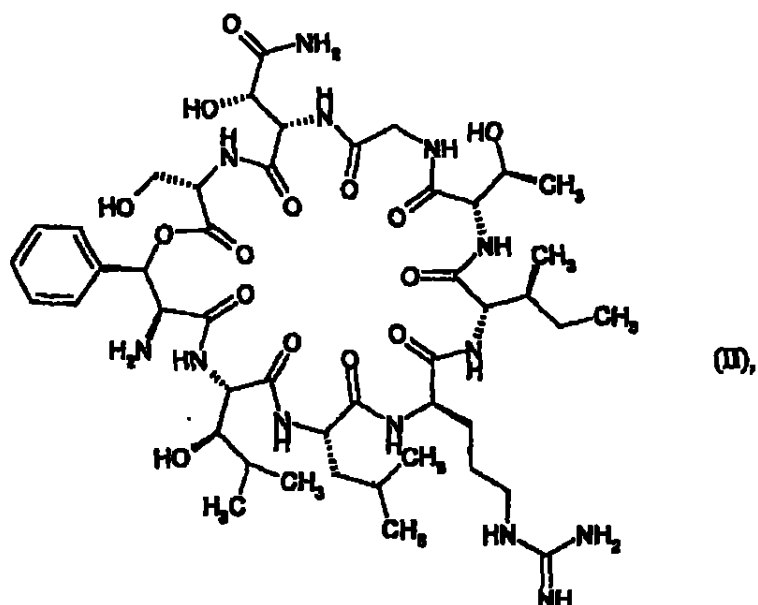
4. Verbindung nach Anspruch 1 mit folgender Struktur 3-(Trimethylsilyl)-D-alanyl-3-(pyridin-3-yl)-L-alanyl-des(1-D-leucyl-2-L-leucyl)-lysobactin



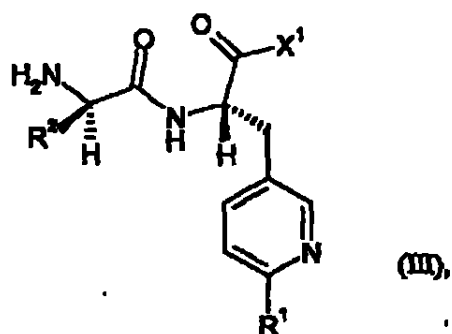
10

oder eines ihrer Salze, ihrer Solvate oder der Solvate ihrer Salze.

5. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel (I) nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Verbindung der Formel



mit einer Verbindung der Formel



in welcher

- 5 R^1 und R^2 die in Anspruch 1 angegebene Bedeutung haben, und
- X^1 Halogen, bevorzugt Brom, Chlor oder Fluor, oder Hydroxy bedeutet, umgesetzt wird.
6. Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 4 zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Krankheiten.
- 10 7. Verwendung einer Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 4 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Krankheiten.

8. Verwendung einer Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 4 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung und/oder Prophylaxe von bakteriellen Infektionen.
 9. Arzneimittel enthaltend eine Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 4 in Kombination mit einem inerten, nichttoxischen, pharmazeutisch geeigneten Hilfsstoff.
 - 5 10. Arzneimittel nach Anspruch 9 zur Behandlung und/oder Prophylaxe von bakteriellen Infektionen.
 11. Verfahren zur Bekämpfung von bakteriellen Infektionen in Menschen und Tieren durch Verabreichung einer antibakteriell wirksamen Menge mindestens einer Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, eines Arzneimittels nach Anspruch 9 oder eines nach Anspruch 7 oder 8 erhaltenen Arzneimittels.
- 10



No. 07-044380-00000-0000

Fecha: 2007-05-04 15:38:47
Tra. 11 PATENTE IYI
Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 NUECREACION
Eve: 378 FASE NACIONAL I
Folios: 193

194



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

**REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE
PCT**

PATENTE DE INVENCION

☒

MODELO DE UTILIDAD ☐

- ◆ Indicación de que se solicita la concesión de 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 ☒

COMPLETA ☐

INCOMPLETA ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de 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 ☐

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de Trazado ☐
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud ☐
- ◆ Representación gráfica del esquema trazado ☐
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas ☐

COMPLETA ☐

INCOMPLETA ☐

Firma Responsable

Fecha

04 MAYO 2007

Carraera 13 No. 27-00 Piso 5, 7 y 10
Conmutador: 3 82 08 40
Fax: 350 52 20
E-mail: info@sic.gov.co
www.sic.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia

195

REPÚBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Bogotá,
2020

Doctor(a)
PATIÑO BONNET MAURICIO

REFERENCIA	Radicación No.	07 44380
	Solicitud internacional	PCT/EP2005/011363
	Fecha inicio fase nacional	05/06/2007
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	07950

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante. (Art. 26-k) Decisión 486. Cuando se trate de documentos otorgados en el extranjero, deben legalizarse de conformidad con lo dispuesto por los artículos 259 y 260 del Código de Procedimiento Civil.

2. La solicitud no contiene el poder debidamente otorgado, con el lleno de los requisitos exigidos por los artículos 63 y subsiguientes del Código de Procedimiento Civil. Adicionalmente, deberá presentar el documento que acredita la existencia y representación legal de la sociedad solicitante, cuando ésta fuere persona jurídica.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única No.10 de 2001.


CLARA C. DE JAIMES
Jefe de la división de Nuevas Creaciones (E)

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha 6 JUL 2007
adpall