



(11) *Número de Publicação:* PT 765329 E

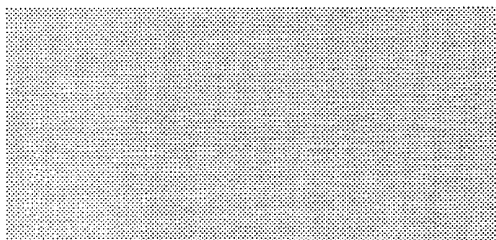
(51) *Classificação Internacional:* (Ed. 6)
C07D498/18 A A61K031/435 B

(12) *FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO*

(22) <i>Data de depósito:</i> 1995.06.09	(73) <i>Titular(es):</i> AMERICAN HOME PRODUCTS CORPORATION FIVE GIRALDA FARMS MADISON, NJ 07940-0874 US
(30) <i>Prioridade:</i> 1994.06.14 US 259763	
(43) <i>Data de publicação do pedido:</i> 1997.04.02	(72) <i>Inventor(es):</i> JERAULD STANLEY SKOTNICKI YVETTE LATKO PALMER US US
(45) <i>Data e BPI da concessão:</i> 2001.08.16	(74) <i>Mandatário(s):</i> ALBERTO HERMÍNIO MANIQUE CANELAS RUA VITOR CORDON, Nº 14 - 3º 1200 LISBOA PT

(54) *Epígrafe:* AMIDINOCARBAMATOS DE RAPAMICINA E COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS QUE OS CONTÊM

(57) *Resumo:*



PTE 765 329

- 1 -

Alberto C. Silva

DESCRIÇÃO

"AMIDINOCARBAMATOS DE RAPAMICINA E COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS QUE OS CONTÊM"

Antecedentes do Invento

Este invento relaciona-se com amidinocarbamatos de rapamicina e um método para os usar para indução da imunodepressão, e no tratamento de rejeição de transplante, reacção enxerto vs. hospedeiro, doenças autoimunes, doenças inflamatórias, leucemia humana de células-T /linfoma, tumores sólidos, infecções fúngicas, e perturbações vasculares hiperproliferativas.

Rapamicina é um antibiótico trieno macrocíclico produzido por Streptomyces hygroscopicus, que se verificou ter actividade antifúngica, particularmente contra Candida albicans, quer in vitro e in vivo [C. Vezina et al., J. Antibiot. 28, 721 (1975); S. N. Seghal et al., J. Antibiot. 28, 727 (1975); H. A. Baker et al., J. Antibiot. 31, 539 (1978); Patente U.S. 3 929 992; e Patente U. S. 3 993 749].

Foi mostrado que a rapamicina sozinha (Patente U.S. 4 885 171) ou em combinação com picibanil (Patente U.S. 4 401 653) têm actividade anti-tumoral. R. Martel et al. [Can. J. Physiol. Pharmacol. 55, 48 (1977)] revelou que a rapamicina é efectiva no modelo experimental da encefalomielite alérgica, um modelo para esclerose múltipla; no modelo da artrite adjuvante, um modelo para artrite reumatóide; e inibiu efectivamente a formação de anticorpos tipo-IgE.

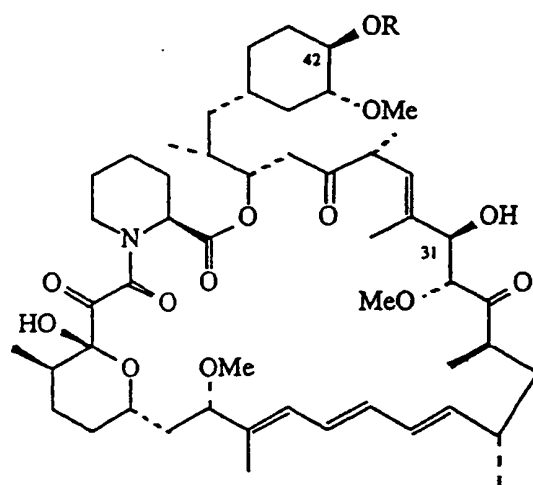
Os efeitos imunossupressores da rapamicina foram revelados em FASEB 3, 3411 (1989). Também foi mostrado que ciclosporina A e FK-506, outras moléculas macrocíclicas, eram efectivas como agentes imunossupressores, portanto úteis na prevenção da rejeição de transplantes [FASEB 3, 3411 (1989); FASEB 3, 5256 (1989), R. Y. Calne et al., Lancet 1183 (1978); e Patente U.S. 5 100 899].

Também foi mostrado que a rapamicina era útil na prevenção ou tratamento de lupus eritematoso sistémico [Patente U.S. 5 078 999], inflamação pulmonar [Patente U.S. 5 080 899], diabetes Mellitus dependentes de insulina [Fifth Int. Conf. Inflamm. Res. Assoc. 121 (Abstract), (1990)], proliferação de células de músculo liso e espessamento da íntima a seguir a lesão vascular [Morris, R. J. Heart Lung Transplant 11 (pt 2). 197 (1992)], leucemia humana de células-T /linfoma [Requerimento de Patente Europeia 525 960 A1], e inflamação ocular [Requerimento de Patente Europeia 532 862 A1].

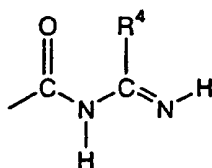
Foi mostrado que derivados mono- e di-acilados da rapamicina (esterificados nas posições 28 e 43) eram úteis como agentes antifúngicos (Patente U.S. 4 316 885) e usados para tornar solúveis na água pró-drogas aminoácido de rapamicina (Patente U.S. 4 650 803). Recentemente, a convenção de numeração da rapamicina foi alterada; portanto de acordo com a nomenclatura do Chemical Abstracts, os ésteres descritos acima seriam nas posições 31- e 42-. Patentes U.S. 5 118 678 e 5 302 584 revelam carbamatos de rapamicina que são úteis como imunossupressores, anti-inflamatórios, anti-fúngicos, anti-proliferativos, e anti-tumorais.

Descrição do invento

Este invento fornece derivados de rapamicina que são úteis como agentes imunossuppressores, anti-inflamatórios, anti-fúngicos, anti-proliferativos, e anti-tumorais tendo a estrutura



em que R é



e

R^4 é piridilo, o qual pode ser opcionalmente mono-, di-, ou tri-substituído com um grupo seleccionado a partir de alquilo de 1-6 átomos de carbono, alquenilo de 2-7 átomos de carbono, alquinilo de 2-7 átomos de carbono, arilalquilo de 7-10 átomos de carbono, alcoxilo de 1-6 átomos de carbono, ciano, halogéneo, hidroxilo, nitro, carbalcoxilo de 2-7 átomos de carbono, trifluorometilo, trifluorometoxilo, amino, dialquilamino de 1-6 átomos

de carbono por grupo alquilo, dialquilaminoalquilo de 3-12 átomos de carbono, hidroxialquilo de 1-6 átomos de carbono, alcoxialquilo de 2-12 átomos de carbono, alquiltio de 1-6 átomos de carbono, $-SO_3H$ e $-CO_2H$;

ou um seu sal farmaceuticamente aceitável.

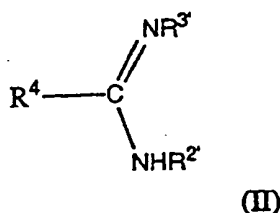
Os sais farmaceuticamente aceitáveis são aqueles derivados a partir de catiões inorgânicos tais como sódio, potássio, etc; bases orgânicas tais como: mono-, di-, e trialkilaminas de 1-6 átomos de carbono, por grupo alquilo, e mono-, di-, e trihidroxialquilaminas de 1-6 átomos de carbono por grupo alquilo, etc; e ácidos orgânicos e inorgânicos como: acético, láctico, cítrico, tartárico, succínico, maleico, malónico, glucónico, clorídrico, bromídrico, fosfórico, nítrico, sulfúrico, metanosulfónico, e ácidos aceitáveis semelhantes conhecidos.

Os termos alquilo de 1-6 átomos de carbono, alquenilo de 2-7 átomos de carbono, e alquinilo de 2-7 átomos de carbono, incluem quer a cadeia linear bem como as cadeias de carbono ramificadas. Exemplos de alquilo como um grupo ou parte de um grupo, e.g. arilalquilo ou alcoxilo são cadeias lineares ou ramificadas de 1-6 átomos de carbono, de preferência 1-4 átomos de carbono, e.g. metilo, etilo, propilo, isopropilo e n-butilo. Exemplos de grupos arilalquilo e fenilalquilo tais como benzilo e fenetilo, e.g 2-fenetilo.

Compostos deste invento tendo a parte amidino carbamato na posição-42 podem ser preparados por conversão da rapamicina em 4-nitrofenilcarbomato (como ilustrado no Exemplo 1), seguida por reacção com uma amidina de funcionalidade apropriada. Misturas de carbamatos 42- e 31,42 podem ser separados por cromatografia.

De acordo com isto este invento fornece um processo para

preparação de compostos de rapamicina deste invento tendo a fórmula I como definido acima que compreende: fazer reagir um derivado carbonato de rapamicina que é 42-O-(alquil-, aralquil- ou ariloxycarbonil)rapamicina com um composto de fórmula II



em que R⁴ é como definido acima e R² e R³ são ambos hidrogénio para dar um composto correspondente de fórmula I.

É mais preferível que o derivado carbonato de rapamicina usado como material de partida no processo acima tenha um grupo 4-nitrofenoxycarbonilo. Contudo os compostos de fórmula I podem também ser preparados por reacção da rapamicina para formar outros carbonatos apropriadamente substituídos na posição-42, seguida por tratamento com um composto de fórmula II, como descrito acima. Exemplos de carbonatos apropriados que podem ser formados na posição-42 incluem, mas não estão limitados a, alcóxicarbonilo e derivados fenoxycarbonilo de rapamicina opcionalmente substituídos. É preferível que o substituinte no anel fenilo (quando substituído) seja um grupo arrancador de electrões. Os carbonatos de rapamicina podem ser formados por reacção de rapamicina ou duma rapamicina apropriadamente protegida ou substituída com um alquil-, aralquil- ou opcionalmente substituído aril-cloroformato ou carbonato. De preferência, o grupo arilo tem 1 até 6 átomos de carbono, eg 1 até 4 átomos de carbono tal como metilo. De preferência o grupo arilo tem 6 a 10 átomos de carbono, eg fenilo e de preferência o grupo aralquilo tem 7 a 12 átomos de carbono.

A actividade immunosupressora para compostos representativos deste invento foi avaliada num procedimento de teste farmacológico in vitro padrão para medir a inibição da proliferação de linfócitos (LAF) e em dois procedimentos de teste farmacológico in vivo padrão. O procedimento do teste de enxerto de pele por pinça mede a actividade immunosupressora do composto testado bem como a capacidade do composto testado para inibir ou tratar a rejeição de transplante. O procedimento do teste farmacológico padrão da artrite adjuvante, que mede a capacidade do composto testado para inibir a inflamação immunomodulada. O procedimento do teste da artrite adjuvante é um procedimento de teste farmacológico padrão para artrite reumatóide. Os procedimentos para estes procedimentos de testes farmacológicos padrão são fornecidos abaixo.

O procedimento da proliferação de timócitos induzida por comitogéneo (LAF) foi usado como uma medida in vitro dos efeitos immunosupressores de compostos representativos. Brevemente, as células de timo de ratinhos BALB/c normais são cultivadas durante 72 horas com PHA e IL-1 e pulsadas com timidina tritriada durante as últimas seis horas. As células são cultivadas com e sem várias concentrações de rapamicina, ciclosporina A, ou composto teste. As células são colhidas e a radioactividade incorporada é determinada. Inibição da proliferação de linfo é estabelecida como a percentagem da alteração na contagem por minuto a partir de controles não tratados com droga. Para cada composto avaliado, rapamicina foi também avaliada com o objectivo de comparação. Um IC_{50} foi obtido para cada composto teste bem como para rapamicina. Quando avaliada como comparação para os compostos representativos deste invento, a rapamicina teve um IC_{50} variando desde 0,4-1,0 nM. Os resultados obtidos foram fornecidos como um IC_{50} e como uma percentagem de inibição de proliferação de células-T a 0,1 μ M. Os resultados obtidos para os compostos representativos deste invento foram também expressos

como uma razão comparada com rapamicina. Uma razão positiva indica actividade imunossupressora. Uma razão maior do que 1 indica que o composto teste inibiu a proliferação de timócito numa extensão maior do que rapamicina. Cálculo da razão é mostrado abaixo.

$$\frac{\text{IC}_{50} \text{ de rapmicina}}{\text{IC}_{50} \text{ de composto teste}}$$

Compostos representativos deste invento foram também avaliados num procedimento teste in vivo designado para determinar o tempo de sobrevivência do enxerto de pele por pinça a partir de dadores BALB/c machos transplantados para receptores C₃H(H-2K) machos. O método é adaptado a partir de Billingham R. E. e Medawar P. B., J. Exp. Biol. 28:385-402, (1951). Brevemente, um enxerto de pele do dador por pinça foi enxertado no dorso do receptor como um homoenxerto e um isoenxerto foi usado como controle na mesma região. Os receptores foram tratados com concentrações variáveis de compostos teste intraperitonealmente ou oralmente. Rapamicina foi usada como controle teste. Receptores não tratados servem como controle de rejeição. O enxerto é monitorizado diariamente e as observações foram registadas até o enxerto se tornar seco e formar uma crosta enegrecida. Isto foi considerado o dia da rejeição. O tempo médio de sobrevivência do enxerto (número de dias $\pm$ S.D.) do grupo de tratamento com droga foi comparado com o grupo de controle. A tabela seguinte mostra os resultados que foram obtidos. Os resultados são expressos como o tempo de sobrevivência média em dias Enxertos de pele por pinça não tratados (controle) são usualmente rejeitados ente 6-7 dias. Compostos foram testados usando uma dose de 4 mg/kg.

O procedimento do teste farmacológico padrão da artrite adjuvante mede a capacidade dos compostos teste de evitar a inflamação imunomodulada e

inibir ou tratar a artrite reumatóide. O que se segue descreve brevemente o procedimento do teste usado. Um grupo de ratinhos (ratinhos machos consanguíneos Wistar Lewis) são pré-tratados com o composto a ser testado (1 h antes do antígeno) e depois injectados com Adjuvante Completo de Freud (FCA) na pata traseira direita para induzir artrite. Os ratos são então doseados oralmente num horário de segunda-feira, quarta-feira, sexta-feira do dia 0-14 para um total de 7 doses. Ambas as patas traseiras são medidas nos dias 16, 23 e 30. A diferença no volume da pata (mL) do dia 16 ao dia 0 é determinada e uma percentagem da alteração a partir do controle é determinada. A inflamação na pata traseira esquerda (pata não injectada) é causada por inflamação mediada por células-T e é registada na tabela acima (% de alteração do controle). A inflamação da pata traseira direita, por outro lado, é causada por inflamação não específica. Compostos foram testados a uma dose de 5 mg/kg. Os resultados são expressos como uma percentagem na alteração da pata não infectada ao dia 16 versus controle; quanto mais negativa for a alteração na percentagem, mais potente o composto. Rapamicina forneceu -90% de alteração versus controle, indicando que ratinhos tratados com rapamicina tinham menos 90% de inflamação imunoinduzida do que os ratinhos controle.

Os resultados obtidos nestes procedimentos de teste farmacológico padrão são fornecidos seguindo o procedimento para fazer compostos específicos que foram testados.

Os resultados destes procedimentos de teste farmacológico padrão demonstram actividade imunossupressora quer in vitro quer in vivo para os compostos deste invento. Os resultados obtidos no procedimento do teste LAF indicam supressão da proliferação das células-T, demonstrando desse modo a actividade imunossupressora dos compostos deste invento. Demonstração adicional da utilidade dos compostos deste invento como agentes

imunossupressores foi mostrada pelos resultados obtidos nos procedimentos de teste farmacológico padrão de enxerto de pele e artrite adjuvante. Adicionalmente, os resultados obtidos nos procedimentos do teste de enxerto de pele demonstram ainda a capacidade dos compostos deste invento para tratar ou inibir rejeição do transplante. Os resultados obtidos no procedimentos de teste farmacológico padrão de artrite adjuvante demonstram a capacidade dos compostos deste invento para tratar ou inibir a artrite reumatóide.

Baseados nos resultados dos procedimentos de teste farmacológico padrão, os compostos são úteis no tratamento ou inibição de rejeição de transplante tais como rim, coração, fígado, pulmão, medula óssea, pâncreas (ilhéus de Langerhans), córnea, intestino delgado, e homoenxertos de pele, e xenotransplantes da válvula do coração; no tratamento ou inibição de reacção enxerto vs. hospedeiro; no tratamento ou inibição de doenças autoimunes como lupus, artrite reumatóide, diabetes Mellitus, miastenia grave e esclerose múltipla; e doenças inflamatórias como psoríase, dermatite, eczema, seborreia, doença inflamatória do cólon, inflamação pulmonar (incluindo asma, doença pulmonar obstrutiva crónica, enfisema, síndrome de perturbação respiratória aguda, bronquite, etc.), e uveíte ocular.

Devido ao perfil de actividade obtido, os compostos deste invento também são considerados como tendo actividades anti-tumorais, antifúngicas, e antiproliferativas. Os compostos deste invento são portanto também úteis para tratar tumores sólidos, leucemia humana das células-T /linfoma, infecções fúngicas, e doenças vasculares hiperproliferativas tais como restenose e arteriosclerose. Quando usados para restenose, é preferível que os compostos deste invento sejam usados para tratar restenose que ocorre a seguir a um procedimento de angioplastia. Quando usados para este propósito, os compostos deste invento podem ser administrados antes do processo, durante o processo, subsequente ao processo, ou qualquer combinação daqueles acima.

Quando administrados para o tratamento ou inibição dos estados de doença acima, os compostos deste invento podem ser administrados a um mamífero oralmente, parentericamente, intranasalmente, intrabronquialmente, transdermicamente, topicamente, intravinalmente ou rectalmente.

Está contemplado que quando os compostos deste invento são usados como um agente imunossupressor ou anti-inflamatório, eles podem ser administrados em conjunção com um ou mais agentes imunoreguladores. Tais outros agentes imunoreguladores incluem, mas não estão limitados a azatioprina, corticoesteróides, tais como prednisona e metilprednisolona, ciclofosfamida, rapamicina, ciclosporina A, FK-506, OKT-3, e ATG. Combinando os compostos deste invento com tais outras drogas ou agentes para induzir imunossupressão ou tratar estados inflamatórios, são requeridas quantidades menores de cada um dos agentes para atingir o efeito desejado. A base de tal terapia de combinação foi estabelecida por Stepkowski cujos resultados mostraram que o uso de uma combinação de rapamicina e ciclosporina A em doses sub-terapêuticas prolongou significativamente o tempo de sobrevivência de homotransplante do coração. [Transplantation Proc. 23: 507 (1991)].

Os compostos deste invento podem ser formulados simples ou com um veículo farmacêutico a um mamífero com necessidade deles. O veículo farmacêutico pode ser sólido ou líquido. Quando formulado oralmente, foi verificado que 0,01% Tween 80 em PHOSAL PG-50 (concentrado de fosfolípido com 1,2-propilenoglicol, A. Nattermann Cie. GmbH) fornece uma formulação oral aceitável.

Um veículo sólido pode incluir uma ou mais substâncias que podem também actuar como agentes aromatizantes, lubrificantes, solubilizantes, agentes

de suspensão, enchimentos, deslizantes, auxiliares de compressão, agentes aglutinadores ou desintegradores de comprimidos; pode também ser um material encapsulante. Em pós, o veículo é um sólido finamente dividido que é misturado com o ingrediente activo finamente dividido. Em comprimidos, o ingrediente activo é misturado com um veículo tendo as propriedades de compressão necessárias em proporções apropriadas e compactado na forma e tamanho desejado. Os pós e comprimidos contêm preferencialmente até 99% de ingrediente activo. Veículos sólidos apropriados incluem, por exemplo, fosfato de cálcio, estearato de magnésio, talco, açúcares, lactose, dextrina, amido, gelatina, celulose, metilcelulose, carboximetilcelulose de sódio, polivinilpirrolidona, ceras de ponto de fusão baixo e resinas de troca iónica.

Veículos líquidos são usados na preparação de soluções, suspensões, emulsões, xaropes, elixires e composições pressurizadas. O ingrediente activo pode ser dissolvido ou suspenso num veículo líquido farmacêuticamente aceitável tal como água, um solvente orgânico, uma mistura de ambos ou óleos ou gorduras farmacêuticamente aceitáveis. O veículo líquido pode conter outros aditivos farmacêuticamente aceitáveis tais como solubilizantes, emulsificantes, tampões, preservativos, adoçantes, agentes aromatizantes, agentes de suspensão, agentes espessantes, corantes, reguladores de viscosidade, estabilizadores ou reguladores osmóticos. Exemplos apropriados, de veículos líquidos para administração oral e parentérica incluem água (parcialmente contendo aditivos como acima, e.g. derivados de celulose, de preferência solução de carboximetilcelulose de sódio), álcoois (incluindo álcoois monohídricos e álcoois polihídricos, e.g. glicóis) e seus derivados, lecitinas, e óleos (e.g. óleo de coco fraccionado e óleo de amendoim). Para administração parentérica, o veículo pode ser também um éster de óleo como oleato de etilo e mistirato de isopropilo. Veículos líquidos estéreis são úteis em composições de forma líquida estéreis para administração parentérica. O veículo líquido para composições pressurizadas

pode ser hidrocarboneto halogenado ou outros propulsores farmacêuticamente aceitáveis.

Composições líquidas farmacêuticas que são soluções ou suspensões estéreis podem ser utilizadas por, por exemplo, injeção intramuscular, intraperitoneal ou sub-cutânea. Soluções estéreis podem também ser administradas intravenosamente. O composto pode ser administrado oralmente numa composição quer em forma sólida quer líquida.

Os compostos deste invento podem ser administrados rectalmente na forma de um supoditório convencional. Para administração por inalação ou insuflação intranasal ou intrabronquial, os compostos deste invento podem ser formulados numa solução aquosa ou parcialmente aquosa, a qual pode então ser utilizada na forma de um aerosol. Os compostos deste invento podem também ser administrados transdermicamente através do uso de um emplastro transdérmico contendo o composto activo e um veículo que é inerte ao composto activo, e não tóxico para a pele, e permite a distribuição do agente para absorção sistémica no corrente sanguínea através da pele. O veículo pode então tomar um número de formas tais como cremes e pomadas, pastas, géis, e dispositivos oclusivos. Os cremes e pomadas podem ser líquidos viscosos e emulsões semi-sólidas de tipo óleo-em-água ou água-em-óleo. As pomadas que compreendem pós absorventes dispersos em petróleo ou petróleo hidrofilico contendo o ingrediente activo podem também ser apropriados. Uma variedade de dispositivos oclusivos podem ser usados para libertar o ingrediente activo na corrente sanguínea tais como uma membrana semi-permeável cobrindo um reservatório contendo um ingrediente activo com ou sem veículo, ou uma matriz contendo o ingrediente activo. Outros dispositivos oclusivos são conhecidos na literatura.

Adicionalmente, os compostos deste invento podem ser usados

como uma solução, creme, ou loção por formulação com veículos farmacêuticamente aceitáveis contendo 0,1-5 por cento, de preferência 2%, do composto activo o qual pode ser administrado a uma área afectada por um fungo.

Os requisitos de dosagem variam com as composições particulares utilizadas, a via de administração, a severidade dos sintomas apresentados e o sujeito particular a ser tratado. Baseado nos resultados obtidos nos procedimentos de teste farmacológico padrão, dosagens diárias projectadas do composto activo seriam 0,1 µg/kg-100 mg/kg, de preferência entre 0,001-25 mg/kg, e com mais preferência entre 0,01-5 mg/kg. O tratamento será em geral inicializado com pequenas dosagens inferiores à dosagem óptima do composto. A seguir a dosagem é aumentada até se atingir nessas circunstâncias o efeito óptimo; dosagens precisas para administração oral, parentérica, nasal, ou intrabronquial serão determinadas pelo médico administrador baseado na experiência com o sujeito individual a ser tratado. De preferência, a composição farmacêutica é na forma de dosagem unitária, e.g. como comprimidos ou cápsulas. Em tal forma, a composição é sub-dividida em doses unitárias contendo quantidades apropriadas do ingrediente activo; as formas de dosagem unitárias podem ser composições empacotadas, por exemplo pós empacotados, vials, ampolas, seringas pré-cheias ou saquetas contendo líquidos. A forma de dosagem pode ser, por exemplo, o próprio comprimido ou cápsula, ou pode ser o número apropriado de quaisquer composições na forma de embalagem.

De acordo com isto este invento fornece composições farmacêuticas compreendendo compostos de fórmula I ou um seu sal farmacêuticamente aceitável e um veículo farmacêuticamente aceitável.

Os exemplos seguintes ilustram a preparação e actividades biológicas dos compostos representativos deste invento.

Exemplo 1

42-O-(4-Nitro-fenoxicarbonil)rapamicina

A uma solução de 5,15 g (5,633 mmol) de rapamicina em 40 ml de cloreto de metileno arrefecido a -78 °C com um banho de gelo seco/acetona, foram adicionados 0,7 ml de piridina seca e 1,70 g (8,450 mmol) de p-nitrofenilcloroformato dissolvido em 10 ml de cloreto de metileno. A mistura da reacção foi deixada aquecer à temperatura ambiente e agitada durante a noite sob azoto. A mistura da reacção foi concentrada em vazio e distribuída entre éter e água. A fase orgânica foi lavada com HCl 0,1 N (3x), depois com uma solução saturada de cloreto de sódio (2x), seca sobre sulfato de magnésio, filtrada e concentrada em vazio para dar um sólido amarelo-pálido. Purificação por cromatografia flash (eluição com 40% e depois 50% de acetato de etilo/hexanos) deu 5,41 g (88%) do composto do título como um sólido amarelo pálido.

¹H RMN (DMSO) δ 8,3 e 7,5 (d e d, H-aromático, 4H), 4,5 (m, 42C-H, 1H).

EM (-) FAB m/z: 1078 (M⁺), 590 (Fragmento "meridional")

Exemplo 2 (Comparativo)

Éster-42 da Rapamicina com ácido (imino-fenil-metil)carbâmico

A uma solução de 1,0024 g (0,9827 mmol) de 42-O-(4-Nitro-fenoxicarbonil)rapamicina em 5 ml de DMF foram adicionadas 0,2231 g (1,8574 mmol) de benzamidina. A mistura da reacção foi deixada a agitar sob N₂ durante 2 horas à temperatura ambiente, depois foi diluída com acetato de etilo e lavada com porções de H₂O e água e sal. A fase orgânica foi seca sobre sulfato de magnésio, filtrada e concentrada sob vazio para produzir o produto bruto.

Purificação por cromatografia flash em coluna (eluição com 60% depois 80% EtOAc/hexanos) deu 0,1032 g (10%) do composto do título como um sólido amarelo claro.

^1H RMN (DMSO) δ 9,05 (m, N-H, 2H), 7,98-7,48 (m, H-aromático, 5H), 4,48 (m, 42C-H, 1H).

EM (-) FAB m/z: 1059 (M^+), 590 (Fragmento "meridional"), 467 (Fragmento "setentrional").

Resultados obtidos em procedimentos de teste farmacológico padrão:

LAF IC_{50} : 2.05 nM

Razão LAF: 0,47

Sobrevivência do enxerto de pele: $9,8 \pm 0,8$

Percentagem de alteração na artrite adjuvante versus controle: -91%

Exemplo 3

Éster-42 da Rapamicina com ácido (imino-bridin-2-il)metilcarbâmico

A 0,585 g (3,7 mmol) de cloreto de 2-aminopiridina foi adicionado um equivalente de hidróxido de sódio 0,1 M/metanol após o que o solvente foi removido em vazio. À solução da base livre em 20 ml de DMF foram adicionadas 4,0 g (3,7 mmol) de 42-O-(4-Nitro-fenoxicarbonil)rapamicina. A mistura da reação foi deixada a agitar sob azoto durante 6 horas à temperatura ambiente, depois foi diluída com acetato de etilo e lavada com porções de H_2O e água e sal. A fase orgânica foi seca sobre sulfato de magnésio, filtrada e concentrada sob vazio para produzir o produto bruto. Purificação por cromatografia flash em coluna (eluição acetato de etilo:hexanos 1:1, depois acetato de etilo 100%) deu 0,47 g (12%) do composto do título como um sólido esbranquiçado.

^1H RMN (DMSO) δ 9,05 (m, N-H, 2H), 8,68-8,72 (m, H-Ar, 1H), 8,28-8,24 (m,

H-Ar, 1H), 8,0-7,94 (m, H-Ar, 1H), 7,66-7,62 (m, H-Ar, 1H), 4,4 (m, H-42C, 1H).

EM (-) FAB m/z: 1060 (M⁺), 590 (Fragmento "meridional"), 468 (Fragmento "setentrional").

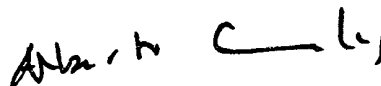
Resultados obtidos em procedimentos de teste farmacológico padrão:

LAF IC₅₀: 0,66 e 0,55 nM

Razão LAF: 1,50 e 0,78

Sobrevivência do enxerto de pele: 11,7±1,0

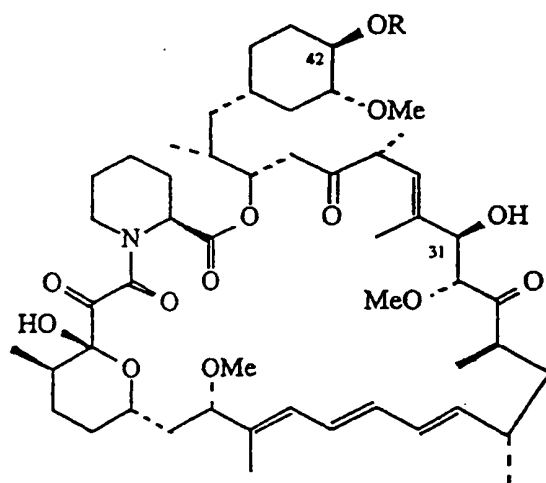
Lisboa, 13 de Setembro de 2001



ALBERTO CANELAS
Agente Oficial da Propriedade Industrial
RUA VICTOR CORDON, 14
1200 LISBOA

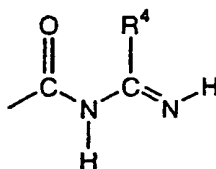
REIVINDICAÇÕES

1. Um composto de estrutura



(I)

em que R é



e

R⁴ é piridilo, o qual pode ser opcionalmente mono-, di-, ou tri-substituído com um grupo seleccionado a partir de alquilo de 1-6 átomos de carbono, alquenilo de 2-7 átomos de carbono, alquinilo de 2-7 átomos de carbono, arilalquilo de 7-10 átomos de carbono, alcóxilo de 1-6 átomos de carbono, ciano, halogéneo, hidróxilo, nitro, carbalcoxilo de 2-7 átomos de carbono, trifluorometilo, trifluorometóxilo, amino, dialquilamino de 1-6 átomos de carbono por grupo alquilo, dialquilaminoalquilo de 3-12 átomos de carbono, hidroxialquilo de 1-6 átomos de carbono, alcóxialquilo de 2-12 átomos de

carbono, alquiltio de 1-6 átomos de carbono, $-SO_3H$ e $-CO_2H$;

ou um seu sal farmaceuticamente aceitável.

2. O composto de acordo com a Reivindicação 1 que é éster-42 da rapamicina com ácido (imino-piridin-2-il)metil)carbâmico ou um seu sal farmaceuticamente aceitável.

3. Uso de um composto como reivindicado na Reivindicação 1 ou Reivindicação 2 na preparação de um medicamento para tratar a rejeição de transplante ou reacção enxerto vs. hospedeiro num mamífero com necessidade daquele.

4. Uso de um composto como reivindicado na Reivindicação 1 ou Reivindicação 2 na preparação de um medicamento para tratar uma infecção fúngica num mamífero com necessidade daquele.

5. Uso de um composto como reivindicado na Reivindicação 1 ou Reivindicação 2 na preparação de um medicamento para tratar artrite reumatóide num mamífero com necessidade daquele.

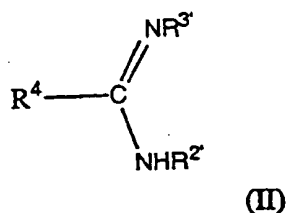
6. Uso de um composto como reivindicado na Reivindicação 1 ou Reivindicação 2 na preparação de um medicamento para tratar restenose num mamífero com necessidade daquele.

7. Uso de um composto como reivindicado na Reivindicação 1 ou Reivindicação 2 na preparação de um medicamento para tratar infecção pulmonar num mamífero.

8. Uma composição farmacêutica que compreende um composto como reivindicado na Reivindicação 1 ou Reivindicação 2 e um veículo farmacêutico.

9. Um processo para a preparação de um composto rapamicina como reivindicado na reivindicação 1, o qual compreende:

reacção de um derivado carbonato de rapamicina que é 42-O-(alquil-, aralquil- ou ariil-oxicarbonil)rapamicina, com um composto de fórmula II



em que R^4 é como definido acima e R^2 e R^3 são ambos hidrogénio, para dar um composto correspondente de fórmula I.

Lisboa, 13 de Setembro de 2001

Alberto Canelas

ALBERTO CANELAS
Agente Oficial da Propriedade Industrial
RUA VICTOR CORDON, 14
1200 LISBOA