

República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI0711945-3 A2**

(22) Data de Depósito: 18/05/2007
(43) Data da Publicação: 13/12/2011
(RPI 2136)



(51) *Int.Cl.:*
C07D 493/18
A61K 31/496
A61P 35/00

(54) Título: DERIVADO 36-DES (3-METÓXI-4-HIDROXICICLO-EXIL)-36-(3-HIDROXICICLOEPTIL) DE RAPAMICINA; COMPOSTO; COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA; MÉTODO PARA O TRATAMENTO DE CÂNCER E/OU MALIGNIDADES DE CÉLULAS B, INDUÇÃO OU MANUTENÇÃO DE IMUNOSSUPRESSÃO, TRATAMENTO DA REJEIÇÃO DE TRANSPLANTES, DOENÇA DE ENXERTO VERSUS HOSPEDEIRO, TRANSTORNOS AUTOIMUNES, DOENÇAS DE INFLAMAÇÃO, DOENÇA VASCULAR E DOENÇAS FIBRÓTICAS, ESTIMULAÇÃO DA REGENERAÇÃO NEURONAL OU TRATAMENTO DE INFECÇÕES FÚNGICAS; USO DO COMPOSTO; PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DO COMPOSTO; E COMPOSIÇÃO OU KIT DE PARTES

(57) Resumo: DERIVADO 36-DES (3-METOXI-4-HIDROXICICLO-EXIL) -36- (3-HIDROXICICLOEPTIL) DE RAPAMICINA; COMPOSTO; COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA; MÉTODO PARA O TRATAMENTO DE CÂNCER E/OU MALIGNIDADES DE CÉLULAS E, INDUÇÃO OU MANUTENÇÃO DE IMUNOSSUPRESSÃO, TRATAMENTO DA REJEIÇÃO DE TRANSPLANTES, DOENÇA DE ENXERTO VERSUS HOSPEDEIRO, TRANSTORNOS AUTOIMUNES, DOENÇAS DE INFLAMAÇÃO, DOENÇA VASCULAR E DOENÇAS FIBRÓTICAS, ESTIMULAÇÃO DA REGENERAÇÃO NEURONAL OU TRATAMENTO DE INFECÇÕES FÚNGICAS; USO DO COMPOSTO; PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DO COMPOSTO; E COMPOSIÇÃO OU KIT DE PARTES. A presente invenção se refere a novos derivados 36-des (3-metóxi-4-hidroxicicloexil) -36- (3-hidroxicicloeptil) de rapamicina, métodos para sua produção e seus usos. Em um aspecto adicional, a presente Invenção apresenta o uso desses derivados 36- des (3-metóxi-4-hidroxicicloexil) -36- (3-hidroxiciclo- eptil) de rapamicina no tratamento de câncer e/ou malignidades de células E, na indução ou manutenção de imunossupressão, no tratamento da rejeição de transplantes, doença de enxerto versus hospedeiro, transtornos autoimunes, doenças de inflamação, doença vascular e doenças fibróticas, estimulação da regeneração neuronal ou tratamento de infecções fúngicas.

(30) Prioridade Unionista: 19/05/2006 GB 0609962.6

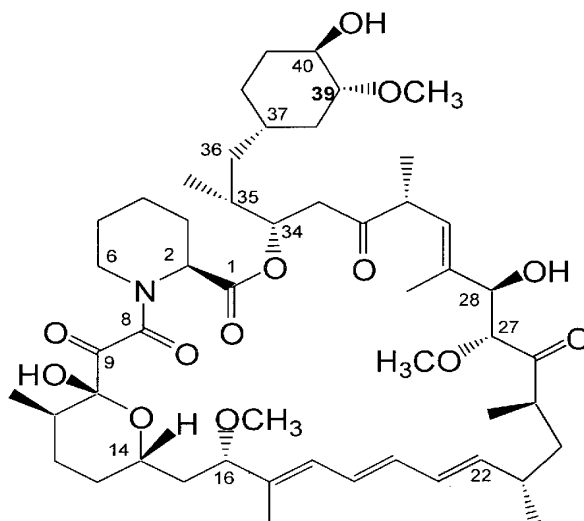
(73) Titular(es): Biotica Technology Ltd.

(72) Inventor(es): Barrie Wilkinson, Christoph Beckmann, Ming-Qiang Zhang, Rose Mary Sheridan

(74) Procurador(es): Trench, Rossi e Watanabe Advogados

(86) Pedido Internacional: PCT GB2007001856 de 18/05/2007

(87) Publicação Internacional: WO 2007/135397 de 29/11/2007



"DERIVADO 36-DES(3-METÓXI-4-HIDROXICICLO-
EXIL)-36-(3-HIDROXICICLOEPTIL) DE RAPAMICINA; COMPOSTO;
COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA; MÉTODO PARA O TRATAMENTO DE
CÂNCER E/OU MALIGNIDADES DE CÉLULAS B, INDUÇÃO OU
5 MANUTENÇÃO DE IMUNOSSUPRESSÃO, TRATAMENTO DA REJEIÇÃO
DE TRANSPLANTES, DOENÇA DE ENXERTO VERSUS HOSPEDEIRO,
TRANSTORNOS AUTOIMUNES, DOENÇAS DE INFLAMAÇÃO, DOENÇA
VASCULAR E DOENÇAS FIBRÓTICAS, ESTIMULAÇÃO DA
REGENERAÇÃO NEURONAL OU TRATAMENTO DE INFECÇÕES
10 FÚNGICAS; USO DO COMPOSTO; PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO
DO COMPOSTO; E COMPOSIÇÃO OU KIT DE PARTES"

A presente invenção se refere a novos
derivados 36-des(3-metóxi-4-hidroxicicloexil)-36-(3-
hidroxicicloeptil) de rapamicina, métodos para sua
15 produção e seus usos. Em um aspecto adicional, a
presente invenção apresenta o uso desses derivados 36-
des(3-metóxi-4-hidroxicicloexil)-36-(3-hidroxiciclo-
eptil) de rapamicina no tratamento de câncer e/ou
malignidades de células B, na indução ou manutenção de
20 imunossupressão, no tratamento da rejeição de
transplantes, doença de enxerto versus hospedeiro,
transtornos autoimunes, doenças de inflamação, doença
vascular e doenças fibróticas, estimulação da

regeneração neuronal ou tratamento de infecções fúngicas.

A rapamicina (sirolimus) (Figura 1) é um macrolídeo lipofílico produzido por *Streptomyces*
5 *hygroscopicus* NRRL 5491 (Sehgal et al., 1975; Vézina et al., 1975; patente norte-americana n° 3.929.992; patente norte-americana n° 3.993.749) com uma fração 1,2,3-tricarbonila ligada a uma lactona de ácido piperídico (Paiva et al., 1991). Para fins desta
10 invenção, a rapamicina é descrita pela convenção de numeração de McAlpine et al. (1991), de preferência às convenções de enumeração de Findlay et al. (1980) ou Chemical Abstracts (11° Índice Cumulativo, 1982-1986 p60719CS).

15 A rapamicina tem um valor farmacológico significativo devido ao amplo espectro de atividades exibido pelo composto. A rapamicina mostra atividade antifúngica moderada, principalmente com as espécies de *Candida*, mas também contra fungos filamentosos (Baker
20 et al., 1978; Sehgal et al., 1975; Vézina et al., 1975; patente norte-americana n° 3.929.992; patente norte-americana n° 3.993.749). A rapamicina inibe a proliferação celular agindo sobre vias de transdução de sinal em vários tipos de células, por exemplo, por

inibição das vias de sinalização que permitem a progressão da fase G₁ para a S do ciclo celular (Kuo et al., 1992). Em células T, a rapamicina inibe a sinalização do receptor de IL-2 e a subsequente
5 autoproliferação das células T, resultando em imunossupressão. Os efeitos inibitórios da rapamicina não se limitam a células T, pois a rapamicina inibe a proliferação de muitos tipos de células de mamíferos (Brunn et al., 1996). Conseqüentemente, a rapamicina é
10 um potente imunossupressor, com aplicações terapêuticas estabelecidas ou preditas na prevenção da rejeição de órgãos aloenxertados e no tratamento de doenças autoimunes (Kahan et al., 1991). A 40-O-(2-hidróxi)etil-rapamicina (SDZ RAD, RAD 001, Certican,
15 everolimus) é um análogo semi-sintético da rapamicina que mostra efeitos farmacológicos imunossupressores e também está sob investigação como um agente anticâncer (Sedrani, R. et al., 1998; Kirchner et al., 2000; patente norte-americana nº 5.665.772, Boulay et al.,
20 2004). A aprovação desse fármaco como um imunossupressor foi obtida na Europa em 2003. O derivado éster de rapamicina CCI-779 (Wyeth-Ayerst) inibe o crescimento celular *in vitro* e inibe o crescimento tumoral *in vivo* (Yu et al., 2001). A CCI-

779 está atualmente em ensaios clínicos de Fase III como um potente agente anticâncer. O valor da rapamicina no tratamento de psoríase em placas crônica (Kirby e Griffiths, 2001), o uso em potencial de efeitos como a estimulação do crescimento de neuritos em células PC12 (Lyons *et al.*, 1994), o bloqueio das respostas proliferativas a citocinas por células vasculares e de músculo liso após lesões mecânicas (Gregory *et al.*, 1993) e seu papel na prevenção da fibrose de aloenxertos (Waller e Nicholson, 2001) são áreas de intensa pesquisa (Kahan e Camardo, 2001). Relatos recentes revelam que a rapamicina está associada a uma menor incidência de câncer em pacientes com órgãos aloenxertados em terapia imunossupressora de longo prazo do que aqueles em outros regimes imunossupressores, e que essa incidência reduzida de câncer é devida à inibição da angiogênese (Guba *et al.*, 2002). Relatou-se que as atividades neurotróficas de ligantes de imunofilina são independentes de sua atividade imunossupressora (Steiner *et al.*, 1997), e que a estimulação do crescimento de nervos é promovida pelo rompimento do complexo do receptor de esteróide maduro, conforme delineado no pedido de patente WO 01/03692. Foram relatados efeitos colaterais, como

hiperlipidemia e trombocitopenia, assim como efeitos teratogênicos em potencial (Hentges *et al.*, 2001; Kahan e Camardo, 2001).

A estrutura principal policetídeo da rapamicina é sintetizada por condensação da cabeça para a cauda de um total de sete unidades propionato e sete acetato a uma unidade iniciadora de ácido ciclohexanocarboxílico derivada de shikimate pelas proteínas multifuncionais muito grandes que compreendem a policetídeo sintetase Tipo I (rap PKS, Paiva *et al.*, 1991). O aminoácido derivado de L-lisina, ácido pipercolico, é condensado mediante uma ligação amida ao último acetato da estrutura principal de policetídeo (Paiva *et al.*, 1993) e é seguido por lactonização para formar o macrociclo.

As seqüências de nucleotídeos para cada um dos três genes PKS da rapamicina, o gene que codifica NRPS e as seqüências do gene tardio de flanco e os polipeptídios correspondentes foram identificados por Aparicio *et al.*, 1996, e Schwecke *et al.*, 1995, e foram depositadas no NCBI sob o número de acesso X86780, e correções a essa seqüência foram recentemente publicadas no WO 04/007709.

O primeiro produto livre de enzimas do aglomerado biossintético de rapamicina foi designado como pré-rapamicina (WO 04/007709, Gregory *et al.*, 2004). A produção de rapamicina completamente processada requer o processamento adicional do núcleo de policetídeo/NRPS pelas enzimas codificadas pelos genes tardios de rapamicina, RapJ, RapN, RapO, RapM, RapQ e RapI.

Acredita-se que as ações farmacológicas da rapamicina até agora caracterizadas sejam mediadas pela interação com receptores citosólicos chamados de FKBP. O principal receptor intracelular de rapamicina em células T eucarióticas é o FKBP12 (DiLella e Craig, 1991), e o complexo resultante interage especificamente com proteínas alvo para inibir a cascata de transdução de sinal da célula.

O alvo do complexo rapamicina-FKBP12 foi identificado em levedura como TOR (alvo da rapamicina) (Alarcon *et al.*, 1999), e a proteína de mamíferos é conhecida como FRAP (proteína associada a FKBP-rapamicina) ou mTOR (alvo mamífero de rapamicina) (Brown *et al.*, 1994).

Foram descritos uma ligação entre a sinalização de mTOR e a síntese localizada de proteínas

em neurônios; seu efeito sobre o estado de fosforilação de proteínas envolvidas no controle da tradução; a abundância de componentes da maquinaria de tradução nos níveis transcricional e de tradução; o controle da
5 atividade da aminoácido permease e a coordenação da transcrição de muitas enzimas envolvidas em vias metabólicas (Raught *et al.*, 2001). Vias de sinalização sensíveis à rapamicina também parecem desempenhar um importante papel no desenvolvimento cerebral
10 embrionário, aprendizagem e formação da memória (Tang *et al.*, 2002). Pesquisas sobre proteínas TOR em levedura também revelaram seus papéis na modulação de vias de sinalização sensíveis a nutrientes (Hardwick *et al.*, 1999). Da mesma forma, mTOR foi identificado como
15 um alvo direto para a ação de proteína quinase B (akt) e como tendo um papel chave na sinalização de insulina (Shepherd *et al.*, 1998; Navé *et al.*, 1999). TOR de mamíferos também foi implicado na polarização do citoesqueleto de actina e na regulação do início de
20 tradução (Alarcon *et al.*, 1999). Fosfatidilinositol 3-quinases, como mTOR, são funcionais em vários aspectos da patogênese de tumores, como a progressão do ciclo celular, adesão, sobrevivência celular e angiogênese (Roymans e Slegers, 2001).

Estudos farmacocinéticos da rapamicina e de análogos da rapamicina demonstraram a necessidade de se desenvolverem novos compostos de rapamicina que pudessem ser mais estáveis em solução, mais resistentes

5 ao ataque metabólico e/ou tivessem melhor permeabilidade por membranas celulares e efluxo diminuído e que, conseqüentemente, pudessem exibir melhor biodisponibilidade oral.

Foi relatada uma gama de análogos de

10 rapamicina sintetizados usando-se os sítios quimicamente disponíveis da molécula. A descrição dos compostos a seguir foi adaptada ao sistema de numeração da molécula de rapamicina descrita na Figura 1. Sítios quimicamente disponíveis na molécula para derivatização

15 ou substituição incluem os grupos hidroxila C40 e C28 (por exemplo, patente norte-americana n° 5.665.772; patente norte-americana n° 5.362.718), grupos metóxi C39 e C16 (por exemplo, WO 96/41807; patente norte-americana n° 5.728.710), grupos ceto C32, C26 e C9 (por

20 exemplo, patente norte-americana n° 5.378.836; patente norte-americana n° 5.138.051; patente norte-americana n° 5.665.772). A hidrogenação em C17, C19 e/ou C21, tendo como alvo o trieno, resultou na retenção de atividade antifúngica, masperda relativa de

imunossupressão (por exemplo, patente norte-americana nº 5.391.730; patente norte-americana nº 5.023.262). Aperfeiçoamentos significativos na estabilidade da molécula (por exemplo, formação de oximas em C32, C40 e/ou C28, patente norte-americana nº 5.563.145, patente norte-americana nº 5.446.048), resistência a ataque metabólico (por exemplo, patente norte-americana nº 5.912.253), biodisponibilidade (por exemplo, patente norte-americana nº 5.221.670; patente norte-americana nº 5.955.457; WO 98/04279) e a produção de pró-fármacos (por exemplo, patente norte-americana nº 6.015.815; patente norte-americana nº 5.432.183) foram conseguidos mediante derivatização.

Entretanto, ainda há necessidade de uma gama mais ampla de derivados de rapamicina. Esses derivados de rapamicina teriam grande utilidade no tratamento de uma ampla gama de condições. A presente invenção apresenta uma gama de novos derivados 36-des(3-metóxi-4-hidroxicicloexil)-36-(3-hidroxicicloeptil) de rapamicina. Esses compostos são utilizáveis em medicina, em particular para o tratamento de câncer e/ou malignidades de células B, indução ou manutenção de imunossupressão, tratamento da rejeição de transplantes, doença de enxerto versus hospedeiro,

transtornos autoimunes, doenças de inflamação, doença vascular e doenças fibróticas, estimulação da regeneração neuronal ou tratamento de infecções fúngicas.

5 A presente invenção apresenta derivados 36-des(3-metóxi-4-hidroxicicloexil)-36-(3-hidroxiciclo-
eptil) de rapamicina, métodos para a preparação desses compostos, intermediários para eles e métodos para o uso desses compostos em medicina.

10 Em seu aspecto mais amplo, a presente invenção apresenta derivados 36-des(3-metóxi-4-
hidroxicicloexil)-36-(3-hidroxicicloeptil) de rapamicina caracterizados pelo fato de que a posição
40-hidróxi é derivatizada como um éster de ácido
15 carboxílico, como um éter, como um éster fosfinato, como um acetal ou como uma glicosila.

 Quando 36-des(3-metóxi-4-hidroxicicloexil)-
36-(3-hidroxicicloeptil)rapamicina é derivatizada como um éster de ácido carboxílico, como um éter ou como um
20 acetal, o grupo de derivatização contém, de preferência, no máximo 12 átomos de carbono (particularmente 7 ou menos, particularmente 5 ou menos átomos de carbono). De preferência, contém pelo menos um grupo funcional (particularmente pelo menos dois

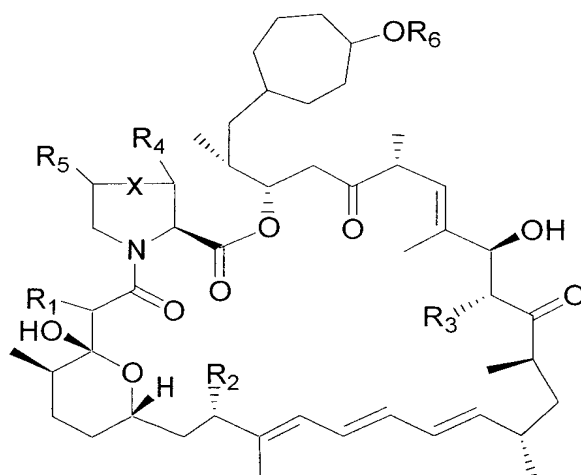
grupos funcionais) selecionados de $-\text{CF}_2\text{PO}(\text{OH})_2$, $-\text{PO}(\text{OH})_2$, $-\text{COOH}$, $-\text{OH}$ e $-\text{NH}_2$, particularmente selecionados de $-\text{COOH}$ e $-\text{OH}$, mais particularmente $-\text{OH}$.

Quando 36-des(3-metóxi-4-hidroxícicloexil)-
5 36-(3-hidroxícicloeptil)rapamicina é derivatizada como um acetal derivado de um grupo glicosila, de preferência cada glicosila é formada a partir de um açúcar ou um glicosídeo que contenham, de preferência, no máximo 12 átomos de carbono (particularmente 7 ou
10 menos, particularmente 6 ou menos átomos de carbono). Exemplos incluem mono- e dissacarídeos, particularmente monossacarídeos que formem anéis de 5 e 6 elementos. De preferência, contém pelo menos um grupo funcional (particularmente, pelo menos dois grupos funcionais)
15 selecionados de $-\text{COOH}$, $-\text{OH}$ e $-\text{NH}_2$, particularmente selecionados de $-\text{NH}_2$ e $-\text{OH}$, mais particularmente $-\text{OH}$.

Quando 36-des(3-metóxi-4-hidroxícicloexil)-
36-(3-hidroxícicloeptil)rapamicina é derivatizada como um éster fosfinato, de preferência os grupos alquila
20 contêm, de preferência, no máximo 4 átomos de carbono, um exemplo sendo o éster formado com ácido fosfínico.

Exemplos específicos de frações de derivatização são dados abaixo.

Em um aspecto mais específico, a presente invenção apresenta derivados de 36-des(3-metóxi-4-hidroxicicloexil)-36-(3-hidroxicicloheptil)rapamicina de acordo com a fórmula (I) abaixo, ou seu sal farmacologicamente aceitável:



(I)

em que:

X representa uma ligação ou CH_2 ;

10 R_1 representa um grupo ceto ou (H,H);

R_2 representa OH ou OMe;

R_3 representa H, OH ou OMe;

R_4 e R_5 representam, cada um independentemente, H ou OH;

15 R_6 representa $-R_7$, $-\text{C}(\text{O})R_7$, $-\text{POR}_{19}\text{R}_{20}$ ou $\text{Y}-\text{R}_{15}$;

R_7 representa $-(\text{CR}_8\text{R}_9)_m(\text{CR}_{10}\text{R}_{11})_p\text{CR}_{12}\text{R}_{13}\text{R}_{14}$;

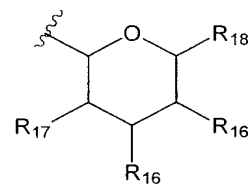
R_8 e R_9 representam, cada um independentemente, C1-C4 alquila, C2-C4 alcenila ou C2-

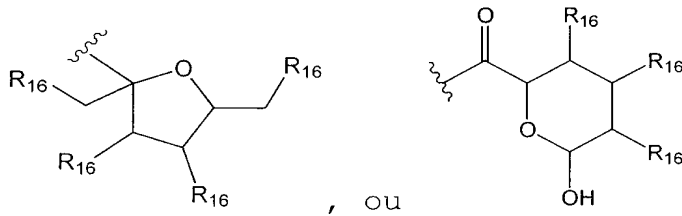
C4 alcinila, qualquer um desses grupos podendo estar opcionalmente substituído com $-\text{PO}(\text{OH})_2$, $-\text{CF}_2\text{PO}(\text{OH})_2$, $-\text{OH}$, $-\text{COOH}$ ou $-\text{NH}_2$; ou R_8 e R_9 representam, cada um independentemente, H, trifluorometila ou F;

5 R_{10} , R_{11} , R_{12} , R_{13} e R_{14} representam, cada um independentemente, C1-C4 alquila, C2-C4 alcenila ou C2-C4 alcinila, qualquer um desses grupos podendo estar opcionalmente substituído com $-\text{PO}(\text{OH})_2$, $-\text{CF}_2\text{PO}(\text{OH})_2$, $-\text{OH}$, $-\text{COOH}$ ou $-\text{NH}_2$; ou R_{10} , R_{11} , R_{12} , R_{13} e R_{14} podem ser
 10 independentemente selecionados de H, $-(\text{CR}_8\text{R}_9)_q\text{NH}_2$, $-(\text{CR}_8\text{R}_9)_q\text{OH}$, CF_3 , F, COOH ; ou R_{10} e R_{11} ou R_{12} e R_{13} ou R_{13} e R_{14} podem ser tomados juntamente com o carbono ao qual estão ligados para formar uma C3-C6 cicloalquila ou um anel heteroalquila de 3 a 6 elementos que
 15 contenha um ou mais heteroátomos selecionados de N, O e S e que seja opcionalmente substituído com até 5 grupos $-(\text{CR}_8\text{R}_9)_q\text{OH}$, $-(\text{CR}_8\text{R}_9)_q\text{NH}_2$ ou COOH ;

Y = ligação, $-\text{C}(\text{O})-\text{O}-$; $-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{O}-$;

R_{15} representa





R_{16} são, cada um independentemente, H ou OH;

R_{17} é independentemente selecionado de H, OH e NH_2 ;

5 R_{18} é independentemente selecionado de H, CH_3 , $\text{-CH}_2\text{OH}$ e -COOH ;

contanto, entretanto, que no máximo 2 grupos selecionados de R_{16} , R_{17} e R_{18} representem H ou CH_3 ;

R_{19} e R_{20} representam, cada um
10 independentemente, H ou C1-C4 alquila;

m , p e q representam, cada um independentemente, um inteiro entre 0 e 4;

contanto, entretanto, que a fração R_7 não contenha mais do que 12 átomos de carbono e contenha
15 pelo menos um grupo funcional selecionado de -PO(OH)_2 , $\text{-CF}_2\text{PO(OH)}_2$, -COOH , OH ou NH_2 ; ou seu sal farmacologicamente aceitável.

A estrutura acima mostra um tautômero representativo, e a invenção engloba todos os
20 tautômeros dos compostos de fórmula (I), por exemplo, compostos ceto quando compostos enol são ilustrados e vice-versa.

A menos que estereoisômeros particulares seja especificamente indicados (por exemplo, por uma linha em negrito ou tracejada em um estereocentro relevante em uma fórmula estrutural, por representação de uma dupla ligação como tendo uma configuração E ou Z em uma fórmula estrutural ou mediante uso de nomenclatura que designe a estereoquímica), todos os estereoisômeros estão incluídos dentro do âmbito da invenção como compostos puros, assim como suas misturas. A menos que indicado de outra forma, enantiômeros individuais, diastereômeros, isômeros geométricos e suas combinações e misturas estão todos englobados pela presente invenção. Formas cristalinas polimórficas e solvatos e hidratos também estão englobados dentro do âmbito desta invenção.

Em um aspecto adicional, a presente invenção apresenta derivados 36-des(3-metóxi-4-hidroxicicloexil)-36-(3-hidroxicicloeptil) de rapamicina como compostos de fórmula (I) ou seu sal farmacêuticamente aceitável, para uso como uma substância farmacêutica.

Definições

Os artigos "o" e "a" são aqui usados para se referirem a um ou mais de um (isto é, pelo menos um)

dos objetos gramaticais do artigo. A título de exemplo, "um análogo" significa um análogo ou mais de um análogo.

Conforme aqui usado, o termo "análogo(s)" se refere a compostos químicos que são estruturalmente similares entre si, mas que diferem ligeiramente em composição (como na substituição de um átomo por outro ou na presença ou ausência de um grupo funcional particular).

Em particular, o termo "análogo de 36-des(3-metóxi-4-hidroxicicloexil)-36-(3-hidroxicicloeptil) rapamicina" se refere a um composto de 36-des(3-metóxi-4-hidroxicicloexil)-36-(3-hidroxicicloeptil)rapamicina produzido pelos métodos do WO 2004/007709 e conforme mostrado pela fórmula (II). Esses compostos também são chamados de "compostos de origem", e esses termos são usados de maneira intercambiável no presente pedido. No presente pedido, o termo "análogo de 36-des(3-metóxi-4-hidroxicicloexil)-36-(3-hidroxicicloeptil)rapamicinas" inclui referências à própria 36-des(3-metóxi-4-hidroxicicloexil)-36-(3-hidroxicicloeptil)rapamicina.

Conforme aqui usado, o termo "derivado(s)" se refere a compostos químicos que tenham sido modificados

com relação a seu composto de origem por química orgânica semi-sintética.

Em particular, o termo "derivado de 36-des(3-metóxi-4-hidroxícicloexil)-36-(3-hidroxícicloeptil) rapamicina" se refere a um derivado de 36-des(3-metóxi-4-hidroxícicloexil)-36-(3-hidroxícicloeptil)rapamicina de acordo com a fórmula (I) acima, ou seu sal farmacologicamente aceitável, produzido por alteração semi-sintética de um composto de origem. Esses compostos também são chamados de "compostos da invenção" ou "derivados 36-des(3-metóxi-4-hidroxícicloexil)-36-(3-hidroxícicloeptil) de rapamicina", e esses termos são usados de maneira intercambiável no presente pedido.

Conforme aqui usado, o termo "transtorno(s) autoimune(s)" se refere a condições em que uma resposta imune adaptativa seja montada contra auto-antígenos, que são tipicamente caracterizadas por lesão inflamatória crônica a tecidos. Transtornos autoimunes incluídos dentro do âmbito da invenção, mas não limitados a, são: lúpus eritematoso sistêmico (SLE), artrite reumatóide, miastenia gravis, diabetes melito dependente de insulina e esclerose múltipla.

Conforme aqui usado, o termo "doenças de inflamação" inclui condições em que o sistema inflamatório reage exageradamente, causando lesão tissular e/ou efeitos colaterais desnecessários. A reação excessiva pode ser contra um antígeno não self, um antígeno self ou pode ocorrer espontaneamente. Doenças inflamatórias incluem alergias (também conhecidas como reações de hipersensibilidade) Exemplos de doenças de inflamação incluem, mas não se limitam a: psoríase, dermatite, eczema, seborréia, doença inflamatória do intestino (incluindo, mas não limitada a, colite ulcerativa e doença de Crohn), inflamação pulmonar (incluindo asma, doença pulmonar obstrutiva crônica, enfisema, síndrome do desconforto respiratório agudo e bronquite), artrite reumatóide e uveíte.

Conforme aqui usado, o termo "câncer" se refere a um crescimento maligno ou benigno de células na pele ou em órgãos corporais, por exemplo, mas sem limitação, mama, próstata, pulmão, rim, pâncreas, estômago ou intestino. Um câncer tende a se infiltrar em tecidos adjacentes e se espalhar (metastatizar) em órgãos distantes, por exemplo, em ossos, fígado, pulmão ou no cérebro. Conforme aqui usado, o termo câncer inclui tanto os tipos de células tumorais metastáticas,

como, mas não limitadas a, melanoma, linfoma, leucemia, fibrossarcoma, rabdomiossarcoma e mastocitoma, quanto os tipos de tecido carcinomatoso, como, mas não limitados a, câncer colo-retal, câncer de próstata, 5 câncer de pulmão de células pequenas e câncer de pulmão de células não pequenas, câncer de mama, câncer pancreático, câncer de bexiga, câncer renal, câncer gástrico, glioblastoma, câncer de fígado primário e câncer de ovário.

10 Conforme aqui usado, o termo "malignidades de células B" inclui um grupo de transtornos que incluem leucemia linfocítica crônica (CLL), mieloma múltiplo e linfoma não Hodgkin (NHL). São doenças neoplásticas do sangue e órgãos formadores de sangue. Podem causar 15 disfunção da medula óssea e do sistema imune, que tornem o hospedeiro altamente suscetível a infecções e sangramento.

 Conforme aqui usado, o termo "doença vascular" inclui, sem limitação: transtornos vasculares 20 hiperproliferativos (por exemplo, reestenose e oclusão vascular), aterosclerose vascular de enxerto, doença cardiovascular, doença vascular cerebral e doença vascular periférica (por exemplo, doença da artéria coronariana, arteriosclerose, aterosclerose,

arteriosclerose não ateromatosa ou lesão da parede vascular).

Conforme aqui usado, os termos "regeneração neuronal" se refere à estimulação do crescimento de células neuronais e inclui o crescimento de neuritos e a recuperação funcional de células neuronais. Doenças e transtornos em que a regeneração neuronal possa ser de benefício terapêutico significativo incluem, mas não se limitam a, doença de Alzheimer, doença de Parkinson, coréia de Huntington, esclerose lateral amiotrófica, neuralgia do trigêmeo, neuralgia glossofaríngea, paralisia de Bell, distrofia muscular, acidente vascular cerebral, atrofia muscular progressiva, atrofia muscular hereditária bulbar progressiva, espondilose cervical, síndrome de Gullain-Barre, demência, neuropatias periféricas e lesão a nervos periféricos, quer causadas por lesão física (por exemplo, lesão ou trauma da medula espinhal, lesão ou danos ao nervo ciático ou facial), quer a um estado patológico (por exemplo, diabetes).

Conforme aqui usado, o termo "doenças fibróticas" se refere a doenças associadas à produção excessiva da matriz extracelular e inclui (sem limitação), sarcoidose, quelóides, glomerulonefrite,

doença renal em estágio terminal, fibrose hepática (incluindo, mas não limitada a, cirrose, doença alcoólica do fígado e esteato-hepatite), nefropatia de enxerto crônica, adesões cirúrgicas, vasculopatia, 5 fibrose cardíaca, fibrose pulmonar (incluindo, mas não limitada a, fibrose pulmonar idiopática e alveolite fibrosante criptogênica), degeneração macular, retinopatia retiniana e vítrea e fibrose induzida por quimioterapia ou radiação.

10 Conforme aqui usado, o termo "doença de enxerto versus hospedeiro" se refere a uma complicação que é observada após transplantes de células tronco/medula óssea alogênicos. Ocorre quando células que combatem infecções do doador reconhecem o corpo do 15 paciente como sendo diferente ou estranho. Essas células de combate a infecções atacam, então, tecidos no corpo do paciente como se estivessem atacando uma infecção. A doença de enxerto versus hospedeiro é categorizada como aguda quando ocorre nos primeiros 100 20 dias após o transplante, e crônica se ocorrer mais de 100 dias após o transplante. Os tecidos tipicamente envolvidos incluem o fígado, trato gastrointestinal e pele. A doença de enxerto versus hospedeiro crônica ocorre em aproximadamente 10 - 40 por cento dos

pacientes após transplante de células tronco/medula óssea.

Conforme aqui usado, o termo "biodisponibilidade" se refere ao grau ou taxa em que um fármaco ou outra substância é absorvida ou se torna disponível no sítio de atividade biológica após a administração. Essa propriedade depende de inúmeros fatores, incluindo a solubilidade do composto, taxa de absorção no intestino, extensão da ligação a proteínas e metabolismos, e outros. Vários testes de biodisponibilidade familiares àqueles versados na técnica são aqui descritos (veja também Trepanier *et al*, 1998, Gallant-Haidner *et al*, 2000).

O termo "solubilidade em água", conforme usado neste pedido, se refere à solubilidade em meios aquosos, por exemplo, salina tamponada com fosfato (PBS) a pH 7,4.

Os sais farmacologicamente aceitáveis de compostos da invenção, como os compostos de fórmula (I), incluem sais convencionais formados com ácidos ou bases inorgânicos ou orgânicos farmacologicamente aceitáveis, assim como sais de adição de ácido e amônio quaternário. Mais exemplos específicos de sais de ácidos adequados incluem o clorídrico, bromídrico,

sulfúrico, fosfórico, nítrico, perclórico, fumárico, acético, propiônico, succínico, glicólico, fórmico, lático, maléico, tartárico, cítrico, palmóico, malônico, hidroximalêico, fenilacético, glutâmico, 5 benzóico, salicílico, fumárico, toluenossulfônico, metanossulfônico, naftaleno-2-sulfônico, benzenossulfônico, hidroxinaftóico, iodídrico, málico, esteróico, tânico e outros. Outros ácidos, como o oxálico, embora não farmacêuticamente aceitáveis por si 10 mesmos, podem ser úteis na preparação de sais utilizáveis como intermediários na obtenção dos compostos da invenção e seus sais farmacêuticamente aceitáveis. Mais exemplos específicos de sais básicos adequados incluem sais de sódio, lítio, potássio, 15 magnésio, alumínio, cálcio, zinco, N,N'-dibenziletlenodiamina, cloroprocaína, colina, dietanolamina, etilenodiamina, N-metilglucamina e procaína. As referências a seguir a um composto de acordo com a invenção incluem tanto compostos de 20 fórmula (I), quanto seus sais farmacêuticamente aceitáveis.

Grupos alquila, alcenila e alcinila podem ser de cadeia linear ou ramificada.

Exemplos de grupos C1-C4 alquila incluem metila, etila, n-propila, i-propila e n-butila.

Exemplos de grupos C2-C4 alcenila incluem etenila e 2-propenila.

5 Exemplos de grupos C2-4 alcinila incluem etinila.

Grupos C3-C6 cicloalquila se referem a um anel cicloalquila incluindo 3 - 6 átomos de carbono que podem ser opcionalmente ramificados. Exemplos incluem
10 ciclopropila, ciclobutila, metil-ciclobutila, ciclopentila e cicloexila.

Anéis heteroalquila de 3 a 6 elementos contendo um ou mais heteroátomos selecionados de N, O e S incluem anéis contendo um ou dois heteroátomos,
15 particularmente um heteroátomo. Exemplos incluem furano, pirano, oxetano, oxirano, piperidina, pirrolidina, azetidina, aziridina, tiirano, tietano, tiofeno, tiopirano e morfolina.

Exemplos de substituintes opcionais para os
20 anéis heteroalquila de 3 a 6 elementos incluem -OH, -CH₂OH, NH₂, CH₂NH₂ e COOH. Tipicamente, os anéis heteroalquila de 3 a 6 elementos podem ser não substituídos ou substituídos por 1 ou 2, por exemplo, 1 substituinte.

A presente invenção apresenta derivados 36-des(3-metóxi-4-hidroxicicloexil)-36-(3-hidroxiciclo-epetil) de rapamicina (compostos da invenção), conforme acima expostos, métodos para a preparação desses 5 compostos, intermediários para eles e métodos para o uso desses compostos em medicina.

De preferência, R_7 contém 7 ou menos, particularmente 5 ou menos átomos de carbono.

R_7 contém, de preferência, pelo menos um 10 grupo funcional selecionado de $-PO(OH)_2$, $-OH$, $-COOH$ e $-NH_2$, mais preferivelmente $-OH$, $-COOH$ ou $-NH_2$, particularmente $-COOH$ e OH , mais particularmente OH . De preferência, R_7 contém 2 ou mais substituintes, por exemplo, 2 grupos $-OH$.

15 Adequadamente, X representa CH_2 ;

Adequadamente, p representa 0 ou 1.

Adequadamente, m representa 0 ou 1.

Adequadamente, q representa 0, 1 ou 2.

Adequadamente, R_{11} representa H.

20 Adequadamente, R_{12} representa H.

Adequadamente, R_{13} representa H ou OH.

Quando p representa 1, adequadamente, R_{10} representa Me, OH ou CH_2OH .

Quando p representa 1, adequadamente, R_{11} representa Me, H ou CH_2OH .

Quando m e p representam ambos 0, adequadamente, R_{12} e R_{13} representam ambos H, R_{14} representa $-(\text{CR}_8\text{R}_9)_q\text{-OH}$, em que $q = 0$ ou 1, e R_8 e R_9 representam ambos H.

Quando p representa 1, e m representa 0, adequadamente, R_{10} e R_{11} representam ambos H, R_{12} representa H, R_{13} representa H, OH ou NH_2 , R_{14} representa $-(\text{CR}_8\text{R}_9)_q\text{-OH}$, em que $q = 0$ ou 1, e R_8 e R_9 representam ambos H.

Quando R_6 representa $-\text{POR}_{15}\text{R}_{16}$, adequadamente, R_{15} e R_{16} representam ambos CH_3 ou representam ambos CH_2CH_3 .

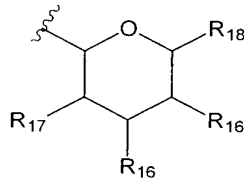
Adequadamente, R_6 representa o resíduo derivado da formação de um éster com ácido hidroxiacético, ácido 3-hidróxi-2,2-dimetilpropiônico, ácido 2,3-diidroxipropiônico, ácido 3-hidróxi-2-hidroximetilpropiônico ou ácido 2,2-bis(hidroximetil)propiônico.

Em um conjunto exemplificativo de compostos, R_6 representa $\text{C}(\text{O})\text{R}_7$.

De preferência, R_7 é a fração formada pela condensação do álcool macrocíclico com um ácido

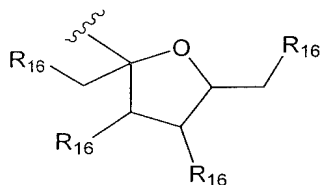
selecionado da lista que consiste em ácido hidroxiacético, ácido 3-hidróxi-2,2-dimetilpropiónico, ácido 2,3-diidroxipropiónico, ácido 3-hidróxi-2-hidroximetilpropiónico e ácido 2,2-bis(hidroximetil)propiónico, particularmente ácido 2,2-bis(hidroximetil)propiónico.

Quando R_{15} representa:



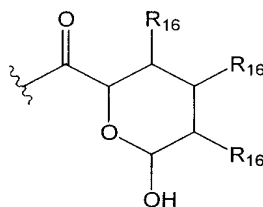
exemplos dessa fração incluem a fração formada por formação de um acetal com (i) glicose (isto é, R_{18} representa CH_2OH , e cada R_{16} e R_{17} representa OH), por exemplo, D-glicose, (ii) glucosamina (isto é, R_{18} representa CH_2OH , cada R_{16} representa OH , e R_{17} representa NH_2), por exemplo, D-glucosamina, (iii) ácido glucurônico (isto é, R_{18} representa COOH , e cada R_{16} e R_{17} representa OH) por exemplo, ácido D-glucurônico e (iv) arabinose (isto é, R_{18} representa H , e cada R_{16} e R_{17} representa OH), por exemplo, D-arabinose.

Quando R_{15} representa:



exemplos dessa fração incluem a fração formada por formação de um acetal com frutose (isto é, cada R_{16} representa OH), por exemplo, o resíduo de D-
5 frutose.

Quando R_{15} representa:

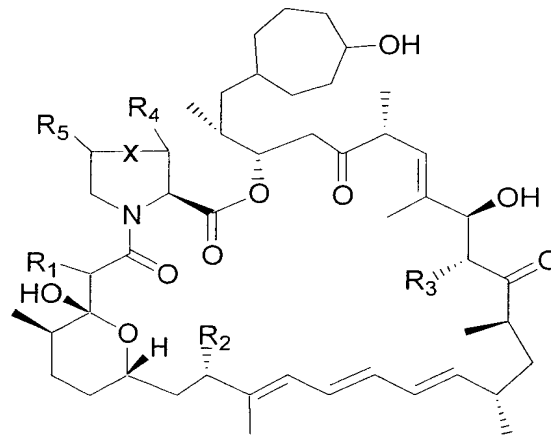


exemplos dessa fração incluem a fração formada por formação de um éster com ácido glucurônico (isto é, cada R_{16} representa OH), por exemplo, o
10 resíduo de ácido D-glucurônico.

Em geral, os compostos da invenção são preparados por derivatização semi-sintética de um composto de origem de fórmula (II).

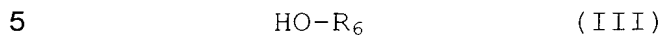
15 Assim, um processo para a preparação de um composto da invenção de acordo com a fórmula (I) ou seu sal farmacêuticamente aceitável compreende:

(a) a reação de um composto de origem de fórmula (II):



(II)

ou seu derivado protegido, com um composto de fórmula (III):



ou um derivado ativado de R₆;

(b) a conversão de um composto de fórmula (I) ou seu sal em outro composto de fórmula (I) ou outro sal farmacologicamente aceitável dele; ou

10 (c) a desproteção de um composto de fórmula (I) protegido.

O termo "derivado ativado", conforme acima usado, se refere a (por exemplo, mas sem limitação): no caso de ésteres - ácidos carboxílicos, haletos de acila, anidridos mistos, anidridos simétricos ou
 15 ésteres carboxílicos; no caso de éteres - haletos de alquila, mesilatos de alquila, triflatos de alquila, tosilatos de alquila ou, adequadamente, outros

derivados de alquila ativados; no caso de fosfatos e fosfonatos - clorofosfatos, cianofosfatos de dialquila, dialquiltiosforamidatos de dialquila ou clorofosfitos; ou no caso de acetáís derivados de grupos glicosila -
5 usando um doador de glicosila, por exemplo, haletos de glicosila, tioglicosidas, 1-O-acil glicosidas, orto ésteres, 1-O ou 1-S carbonatos, tricloroimidatos, 4-pentenil glicosidas, ésteres de fosfato de glicosila, 1-O-sulfonilas ou glicosidas 1-O-sililadas.

10 No processo (a), os compostos de origem de fórmula (II) podem ser preparados conforme descrito no WO 2004/007709.

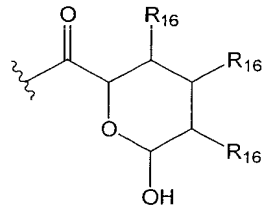
Além dos métodos e referências específicos aqui apresentados, aqueles versados na técnica também
15 podem consultar livros-textos padronizados como referências para métodos sintéticos, incluindo, mas não limitados, um livro-texto de Vogel de química orgânica prática (Furniss *et al.*, 1989) e química orgânica avançada de March (Smith e March, 2001).

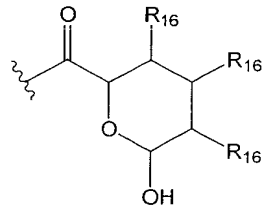
20 Além disso, os grupos hidroxila presentes podem ser protegidos por uma das muitas estratégias de proteção de hidróxi disponíveis para aqueles versados na técnica. Grupos hidroxila podem ser protegidos por formação de éteres, incluindo, mas não limitados a,

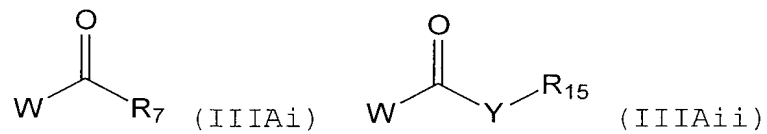
éteres alquílicos substituídos, éteres benzílicos substituídos e éteres silílicos. De preferência, forma-se um éter silílico, incluindo, mas não limitados a, éter trimetilsilílico, trietilsilílico, t-butildimetilsilílico e t-butildifenilsilílico, por 5 reação de uma forma ativada do silano (incluindo, mas não limitados a, cloreto de silila ou triflato de silila) com um composto de origem, na presença de uma base adequada. O grupo protetor poderia, então, ser 10 removido por hidrólise ácida ou clivagem auxiliada por fluoreto. 1,2-Dióis podem ser protegidos como acetonas, com base na condensação de um derivado de acetona. Este pode ser removido por catálise ácida.

Os compostos de origem de fórmula (II) podem 15 ser usados como moldes para semi-síntese (isto é, processo (a)). O grupo hidroxila pendente em C-40 pode ser funcionalizado, por exemplo, por acilação, alquilação, glicosilação ou fosforilação mediante inúmeras transformações sintéticas conhecidas por 20 aqueles versados na técnica.

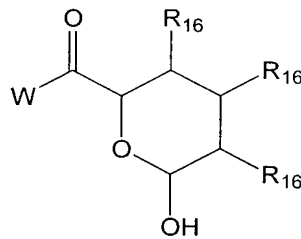
No processo (a), quando R_6 representa uma fração de fórmula $-C(O)R_7$ ou $Y-R_{15}$, em que R_{15}



representa , e Y = ligação, a formação de um hidróxi éster, ou O-acilação, pode ser mediada por reação do grupo hidroxila dos compostos de fórmula (II) com um ácido carboxílico correspondente, de preferência em forma ativada, por exemplo, um composto de fórmula (IIIAi) ou (IIIAii):



ou com um composto de fórmula (IIIB):



10

(IIIB)

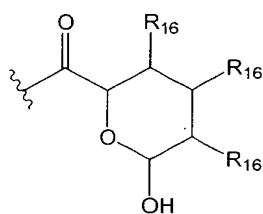
em que W é um grupo que ativa um ácido carboxílico para um ataque nucleofílico. Ácidos carboxílicos podem ser ativados pela formação de, por exemplo, mas sem limitação, haletos de acila (por exemplo, W = Cl), anidridos mistos (isto é, W = OC(O)R'), anidridos simétricos (W = OC(O)R₇) ou ésteres carboxílicos (isto é, W = OR').

15

Compostos de fórmula (III Ai), (III Aii) ou (IIIB) podem ser preparados a partir de seus ácidos carboxílicos comercialmente disponíveis usando-se métodos padronizados conhecidos por aqueles versados na técnica, e, em um aspecto específico, compostos de acordo com a fórmula (III Ai), em que R_7 é $(CR_8R_9)_m(CR_{10}R_{11})_pCR_{12}R_{13}R_{14}$, podem ser preparados usando-se métodos conforme descritos na patente norte-americana nº 5.362.718, patente norte-americana nº 5.665.772 ou EP 0 663 916.

De preferência, um composto de origem é reagido em meio orgânico com um cloreto ácido ou anidrido misto, na presença de uma base. Bases que podem ser usadas incluem, mas não se limitam a, piridina, 4,4-dimetilaminopiridina (DMAP), 2,6-lutideno, 2,6-di-*tert*-butilpiridina, trietilamina, diisopropiletilamina, outras trialquilaminas, 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU) ou 1,5-diazabicyclo[4.3.0]non-5-eno (DBN).

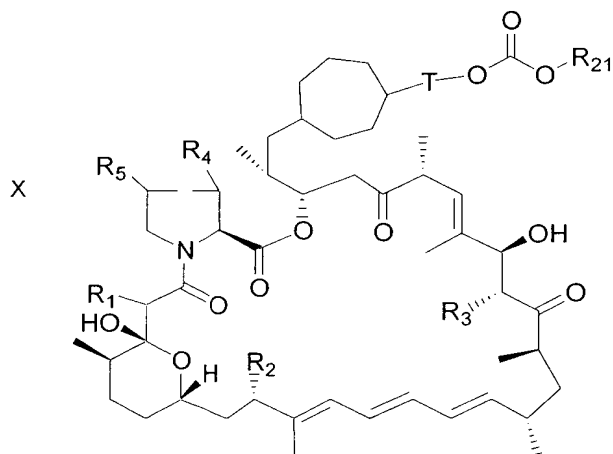
No processo (a), quando R_6 representa uma fração de fórmula $-C(O)R_7$ ou $Y-R_{15}$, em que R_{15}



representa

, e $Y = -C(O)O-$ ou $-(CH_2)_2-$

OC(O)O-, a formação desses hidróxi ésteres requer a reação do grupo hidroxila dos compostos de fórmula (II) com um reagente que forme um carbonato ativado, como um composto de fórmula (IV).



5

(IV)

em que T = ligação ou $-\text{O}(\text{CH}_2)_2-$, e R_{21} é um grupo alquila ou arila, de preferência, um grupo arila, particularmente um grupo *para*-nitrofenila.

10 O composto de fórmula (IV) pode, então, reagir com um composto de fórmula (III), para gerar compostos com R_6 ligado ao grupo 40-hidroxila mediante um elo carbonato (WO 2004/101583).

Da mesma forma, um composto de origem pode
 15 ser derivatizado com diferentes hidróxi éteres em C-40, por reação do composto de origem com, adequadamente, o derivado de alquila ativado de escolha, para formar um composto da invenção que seja um derivado 40-O-alquila

do composto de origem. Grupos alquila ativados refere-se a um grupo alquila que tenha sido ativado por um de muitos métodos, incluindo, mas não limitados a, formação de haletos de alquila (RCl, RI, RBr),
5 mesilatos de alquila (ROS(O)₂CH₃), triflatos de alquila (ROS(O)₂CF₃), tosilatos de alquila (ROS(O)₂PhMe). O grupo alquila ativado seria, então, reagido com um composto de origem em meio orgânico, na presença de uma base adequada. Métodos padronizados para otimizar as
10 condições de reação podem ser empregados por aqueles versados na técnica para evitar a alquilação em outras posições reativas.

Da mesma forma, um composto de origem pode ser fosforilado e, após desproteção dos ésteres
15 fosfato, pode fornecer um composto da invenção que seja um 4-O-fosfo-derivado de um composto de origem ou um composto da invenção que seja um 4-O-dialquiltosfo-derivado de um composto de origem, e sais desses derivados preparados por métodos conhecidos por aqueles
20 versados na técnica. Ésteres fosfato podem ser formados diretamente, ou indiretamente mediante um O-fosfito (isto é, (R'O)₂POR), em que o fosfito trivalente é oxidado (de preferência pela ação de um perácido como, mas não limitado a, mCPBA) no fosfato pentavalente.

Métodos de fosforilação direta incluem, mas não se limitam a, reação de um composto de origem com um clorofosfato protegido (por exemplo, $(\text{BnO})_2\text{P}(\text{O})\text{Cl}$, $(\text{Alquilo})_2\text{P}(\text{O})\text{Cl}$), de preferência na presença de DMAP

5 em meio orgânico, ou reação de um composto de origem com oxicloreto de fósforo (POCl_3), na presença de uma base como trietilamina, seguido por hidrólise ácida do *O*-diclorofosfato resultante (isto é, $\text{ROP}(\text{O})\text{Cl}_2$), ou acoplamento a um cianofosfato de dialquila (WO

10 01/81355). Clorofosfato de dialquila ou diarila pode ser gerado *in situ* pela reação de um fosfito de dialquila ou diarila (isto é, $(\text{RO})_2\text{P}(\text{O})\text{H}$) com tetracloreto de carbono, na presença de base. Métodos de formação do *O*-fosfito (para oxidação no *O*-fosfate)

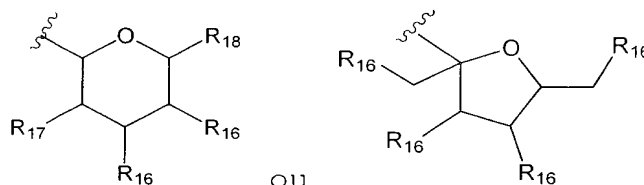
15 incluem, mas não se limitam a, acoplamento de um composto de origem com a dialquilfosforamidato de a dialquila (de preferência diisopropilfosforilamidato de dialquila), na presença de base (de preferência tetrazol), ou acoplamento usando um clorofosfito na

20 presença de base (Evans *et al.*, 1992). A escolha do grupo protetor é importante, ésteres etílicos e metílicos de fosfatos não são prontamente hidrolisáveis sob condições ácidas ou básicas. De preferência, os grupos protetores incluem, mas não se limitam a,

ésteres benzílicos (clivados mediante hidrólise promovida por iodeto de sódio/clorotrimetilsilano, (WO 01/81355)) ou ésteres 2-cianoetílicos (clivados mediante clivagem catalisada com base suave). Da mesma

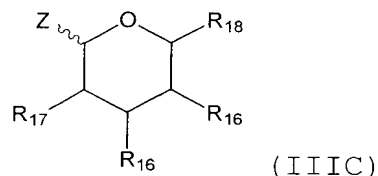
5 forma, compostos da invenção que sejam 40-O-dialquilfosfono-derivados de compostos de origem podem ser gerados pela reação de um composto de origem com um dialquilfosfonato ou dialquilfosfito ativado adequado (conforme acima descrito).

10 No processo (a), quando R₁₅ representa uma

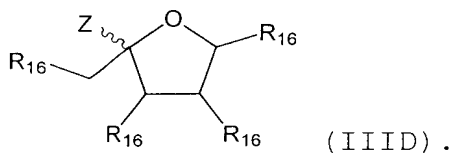


formação de uma ligação glicosídica, ou O-glicosilação, pode ser mediada por reação do grupo hidroxila com um doador de glicosila correspondente, de preferência em

15 forma ativada, (veja Toshima e Tatsuta (1993)), por exemplo, um composto de fórmula (IIIC):



ou um composto de fórmula (IIID):



Usando-se um "doador de glicosila", incluindo, mas não limitados a, haletos de glicosila ($Z = F, Cl, Br$), tioglicosidas ($Z = SMe, Set, SPh, SPy, SCN$), 1-*O*-acil glicosidas ($Z = OC(O)R$), orto ésteres ($Z = OC(Me)(R)(O-C2$ de fórmula (IIIC/IIID)), 1-*O* ou 1-*S* carbonatos ($Z = OC(S)SMe, Z = OC(O)imidazol, Z = OC(S)imidazol, Z = SC(S)OEt$), tricloroimidatos ($Z = OC(=NH)CCl_3$), 4-pentenil glicosidas ($Z = OCH_2CH_2CH_2CH=CH_2$), ésteres fosfato (por exemplo, $Z = OP(O)(OPh)_2$), 1-*O*-sulfonilas ($Z = toсила$) ou 1-*O*-glicosidas sililadas ($Z = OTMS$ ou $OTBS$), o composto de origem pode ser glicosilado em meio orgânico, de preferência na presença de um ativador (como um ácido

15 de Lewis ou sal de metal pesado, veja Toshima e Tatsuta, 1993). O doador de glicosila específico usado e as condições de reação determinarão se se forma alfa ou beta glicosida. Como antes para a acilação, quaisquer grupos hidroxila presentes no composto de

20 origem podem ser protegidos ou mascarados, de modo que o uso de um equivalente de doador de glicosila resulte em 4-*O*-acilação. As hidroxilas restantes no doador de

glicosila devem ser protegidas como, por exemplo, O-acetatos, O-benzoatos, 1,2-acetonidas, de modo que uma desproteção adicional seja necessária. Além disso, doadores de 2-desoxiglicosila, como glicais, podem ser
5 usados (uma etapa redutora também é requerida) para preparar 2'-desóxi-glicosidas de um composto de origem, e doadores de 2,6-didesoxiglicosila, como 2,6-anidro-2-tioaçúcares, podem ser usados para preparar 2',6'-didesóxi-glicosidas de um composto de origem.

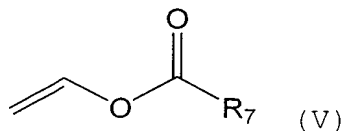
10 No processo (b), a formação de sal e a troca podem ser realizadas por métodos convencionais conhecidos por aqueles versados na técnica. Interconversões de compostos de fórmula (I) podem ser realizadas por processos conhecidos, por exemplo,
15 grupos hidróxi e ceto podem ser interconvertidos por oxidação/redução, conforme aqui descrito. Compostos de fórmula (I) em que R_6 representa $-PO(OH)_2$ podem ser preparados por fosforilação de um composto de fórmula (I) correspondente em que R_6 representa OH. Condições
20 adequadas são aqui apresentadas.

Nos processos (a) e (c), exemplos de grupos protetores e dos meios para sua remoção podem ser encontrados em T. W. Greene "Protective Groups in Organic Synthesis" (J Wiley e Sons, 1991). Grupos

protetores de hidroxila adequados incluem alquila (por exemplo, metila), acetal (por exemplo, acetona) e acila (por exemplo, acetila ou benzoíla), que podem ser removidos por hidrólise, e arilalquila (por exemplo, benzila), que pode ser removido por hidrólise catalítica, ou éter silílico, que pode ser removido por hidrólise ácida ou clivagem auxiliada por íon fluoreto.

Além do processo (a), os compostos da invenção de acordo com a fórmula (I), em que R_6 representa R_7 , podem ser sintetizados por transesterificação catalisada por lipase. Por exemplo, mas sem limitação, um composto de origem de fórmula (II) pode ser reagido com um éster vinílico de fórmula (V), na presença de lipase PS-C "Amano" II, sob as condições de reação descritas por Gu *et al.* (2005) e conforme expostos nos presentes exemplos. Essa metodologia não se limita ao uso de ésteres vinílicos, e a transesterificação pode ser catalisada por outras lipases ou esterases.

20



Outros compostos da invenção podem ser preparados por métodos já conhecidos ou por métodos análogos aos acima descritos.

Os novos compostos da invenção são utilizáveis diretamente e como moldes para semi-síntese ou bioconversão adicional, para produzir compostos utilizáveis como imunossuppressores, agentes

5 antifúngicos, agentes anticâncer, agentes antiinflamatórios, agentes neuroregenerativos ou agentes para tratamento da rejeição de transplantes, doença de enxerto versus hospedeiro, transtornos autoimunes, doença vascular e/ou doenças fibróticas.

10 Métodos para a derivatização semi-sintética de rapamicina e seus análogos são bem conhecidos na técnica e incluem (mas não se limitam a) aquelas modificadas descritas, por exemplo, na patente norte-americana nº 5.665.772; patente norte-americana nº

15 5.362.718. WO 96/41807; patente norte-americana nº 5.728.710. patente norte-americana nº 5.378.836; patente norte-americana nº 5.138.051; patente norte-americana nº 5.665.772; patente norte-americana nº 5.391.730; patente norte-americana nº 5.023.262.

20 patente norte-americana nº 5.563.145. patente norte-americana nº 5.446.048. patente norte-americana nº 5.912.253. patente norte-americana nº 5.221.670; patente norte-americana nº 5.955.457; WO 98/04279;

patente norte-americana nº 6.015.815 e patente norte-americana nº 5.432.183.

As estruturas acima de intermediários (por exemplo, compostos de fórmula (II)) podem ser submetidas a tautomerização, e quando um tautômero representativo é ilustrado, deve-se entender que todos os tautômeros, por exemplo, compostos ceto quando compostos enol são ilustrados e vice-versa, estão mencionados.

10 Em um aspecto adicional, a presente invenção apresenta o uso dos compostos da invenção em medicina. Em um aspecto adicional, a presente invenção apresenta o uso de compostos da invenção na preparação de um medicamento para a indução ou manutenção de

15 imunossupressão, estimulação da regeneração neuronal ou o tratamento de câncer, malignidades de células B, infecções fúngicas, rejeição de transplantes, doença de enxerto versus hospedeiro, transtornos autoimunes, doenças de inflamação doença vascular e doenças

20 fibróticas, ou agentes para uso na regulação de cicatrização de feridas.

Aqueles versados na técnica seriam capazes de, por experimentação rotineira, determinar a capacidade desses compostos de inibir o crescimento

fúngico (por exemplo, Baker, H., *et al.*, 1978; NCCLS Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing for yeasts: Approved standard M27-A, 17(9). 1997). Além disso, aqueles versados na

5 técnica seriam capazes de, por experimentação rotineira, determinar a capacidade desses compostos de inibir o crescimento de células tumorais, (veja Dudkin, L., *et al.*, 2001; Yu *et al.* 2001). Em um aspecto adicional, os compostos desta invenção são utilizáveis

10 para induzir imunossupressão, ensaios para a determinação da eficácia de um composto nessas áreas sendo bem conhecidos por aqueles versados na técnica, por exemplo, mas sem limitação: Immunosuppressant activity - Warner, L.M., *et al.*, 1992, Kahan *et al.*

15 (1991) & Kahan & Camardo, 2001; Allografts - Fishbein, T.M., *et al.*, 2002, Kirchner *et al.* 2000; Autoimmune / Inflammatory / Asthma - Carlson, R.P. *et al.*, 1993, Powell, N. *et al.*, 2001; Diabetes I - Rabinovitch, A. *et al.*, 2002; Psoriasis - Reitamo, S. *et al.*, 2001;

20 Rheumatoid Arthritis - Foey, A., *et al.*, 2002; Fibrosis - Zhu, J. *et al.*, 1999, Jain, S., *et al.*, 2001, Gregory *et al.* 1993.

A capacidade dos compostos da invenção de induzir imunossupressão pode ser demonstrada em testes

padronizados usados com essa finalidade. Em um aspecto adicional, os compostos desta invenção são utilizáveis com relação a mecanismos antifibróticos, neurorregenerativos e antiangiogênicos, e aqueles versados na técnica seriam capazes de, por experimentação rotineira, determinar a capacidade desses compostos de prevenir angiogênese (por exemplo, Guba, M., et al., 2002). Aqueles versados na técnica seriam capazes de, por experimentação rotineira, determinar a utilidade desses compostos para tratar doença vascular hiperproliferativa, por exemplo, em stents de eluição de fármaco (por exemplo, Morice, M.C., et al., 2002). Além disso, aqueles versados na técnica seriam capazes de, por experimentação rotineira, determinar a capacidade neurorregenerativa desses compostos (por exemplo, Myckatyn, T.M., et al., 2002, Steiner et al. 1997).

A presente invenção também apresenta uma composição farmacêutica compreendendo um composto da invenção, juntamente com um veículo farmacêuticamente aceitável.

Aqueles versados na técnica serão capazes de determinar a farmacocinética e biodisponibilidade de um composto da invenção usando métodos *in vivo* e *in vitro*

conhecidos por aqueles versados na técnica, incluindo, mas não limitados a, aqueles descritos abaixo e nos exemplos, ensaios alternativos sendo bem conhecidos por aqueles versados na técnica, incluindo, mas não limitados a, aqueles descritos abaixo e em Gallant-Haidner et al, 2000 e Trepanier et al, 1998 e referências aí citadas. A biodisponibilidade de um composto é determinada por inúmeros fatores (por exemplo, solubilidade em água, taxa de absorção no intestino, extensão de ligação a proteínas e metabolismo), cada um podendo ser determinado por testes *in vitro* conforme descritos abaixo. Aqueles versados na técnica perceberão que um aperfeiçoamento em um ou mais desses fatores levará a uma melhora na biodisponibilidade de um composto. Alternativamente, a biodisponibilidade de um composto pode ser medida usando-se métodos *in vivo* conforme descritos em maiores detalhes abaixo.

Ensaio de permeação em Caco-2

Podem-se usar células Caco-2 confluentes (Li, A.P., 1992; Grass, G.M., et al., 1992, Volpe, D.A., et al., 2001) em um formato de 24 poços Corning Costar Transwell, por exemplo, conforme fornecido pela In Vitro Technologies Inc. (IVT Inc., Baltimore, Mariland,

USA). A câmara apical contém 0,15 mL de solução tampão equilibrada de Hank (HBBS) pH 7,4, 1% de DMSO, 0,1 mM de Amarelo Lucifer. A câmara basal contém 0,6 mL de HBBS pH 7,4, 1% de DMSO. Os controles e testes são, então, incubados a 37°C em um incubador umidificado e agitados a 130 rpm durante 1h. O Amarelo Lucifer permeia apenas pela via paracelular (entre as junções estanques), e uma alta Permeabilidade Aparente (P_{app}) para Amarelo Lucifer indica lesão celular durante o ensaio, todos esses poços sendo rejeitados. Usam-se propranolol (boa permeação passiva sem nenhum efeito transportador conhecido) e acebutalol (permeação passiva ruim atenuada por efluxo ativo por P-glicoproteína) como compostos de referência. Os compostos podem ser testados em um formato uni- e bi-direcional por aplicação do composto à câmara apical ou basal (a 0,01 mM). Os compostos nas câmaras apical ou basal são analisados por HPLC-MS. Os resultados são expressos como Permeabilidade Aparente, P_{app} , (nm/s) e com Razão de Fluxo (A para B versus B para A).

$$P_{app} \text{ (nm/s)} = \frac{\text{Volume de Receptor} \times \Delta[\text{receptor}]}{\text{Área} \times [\text{doador}] \times \Delta\text{tempo}}$$

Volume de Receptor: 0,6 mL (A>B) e 0,15 mL (B>A)

Área de monocamada: 0,33 cm²

Δtempo: 60 min

Um valor positivo para a Razão de Fluxo indica efluxo ativo da superfície apical das células.

5 Ensaio de Estabilidade Microssomal Hepática Humana (HLM)

Homogeneizados de fígado fornecem uma medida da vulnerabilidade inerente de compostos a enzimas de Fase I (oxidativas), incluindo CYP450s (por exemplo, 10 CYP2C8, CYP2D6, CYP1A, CYP3A4, CYP2E1), esterases, amidases e flavina monooxigenases (FMOs).

A meia-vida (T_{1/2}) dos compostos de teste pode ser determinada, com exposição de Microssomos Hepáticos Humanos, por monitorização de seu 15 desaparecimento com o tempo por LC-MS. Compostos a 0,001 mM são incubados durante 40 min a 37°C, 0,1 M de Tris-HCl, pH 7,4, com a fração subcelular microssomal humana de fígado a 0,25 mg/mL de proteína e níveis de saturação de NADPH como co-fator. A intervalos de 20 tempo, adiciona-se acetonitrila para testar as amostras e precipitar a proteína e parar o metabolismo. As amostras são centrifugadas e analisadas quanto ao composto de origem por HPLC-MS.

Ensaaios de biodisponibilidade *in vivo*

Ensaaios *in vivo* também podem ser usados para medir a biodisponibilidade de um composto (veja, por exemplo, Crowe *et al*, 1999). Genericamente, um composto

5 é administrado a um animal de teste (por exemplo, camundongo ou rato) tanto por via intraperitoneal (i.p.) ou intravenosa (i.v.), quanto oral (p.o.), e se colhem amostras de sangue a intervalos regulares, para examinar como a concentração plasmática do fármaco

10 varia com o tempo. O curso temporal da concentração plasmática com o tempo pode ser usado para calcular a biodisponibilidade absoluta do composto como uma porcentagem, usando-se modelos padronizados. Um exemplo de um protocolo típico é descrito abaixo.

15 Os camundongos são dosados com 3 mg/kg do composto da invenção ou do composto de origem i.v. ou 10 mg/kg de um composto da invenção do composto de origem p.o. Colhem-se amostras de sangue a intervalos de 5 minutos, 15 minutos, 1 h, 4 h e 24 h, e a

20 concentração do composto da invenção ou composto de origem na amostra é determinada por HPLC. O curso temporal das concentrações plasmáticas pode ser, então, usado para derivar parâmetros chave, como a área sob a curva de concentração plasmática-tempo (AUC - que é

diretamente proporcional à quantidade total de fármaco inalterado que atinge a circulação sistêmica), a concentração plasmática máximo (de pico) do fármaco, o tempo em que ocorre a concentração plasmática máxima do fármaco (tempo de pico), e fatores adicionais que são usados na determinação precisa da biodisponibilidade incluem: a meia-vida terminal do composto, depuração total do organismo, volume de distribuição em estado constante e F%. Esses parâmetros são, então, analisados por métodos não compartimental ou compartimental para fornecer uma porcentagem calculada de biodisponibilidade. Para um exemplo desse tipo de método, veja Gallant-Haidner *et al*, 2000 e Trepanier *et al*, 1998, e as referências aí citadas.

Os compostos da invenção acima mencionados ou sua formulação pode ser administrada por qualquer método convencional, por exemplo, mas sem limitação, podem ser administrados por via parenteral, oral, tópica (incluindo bucal, sublingual ou transdérmica), mediante um dispositivo médico (por exemplo, um stent), por inalação ou por injeção (subcutânea ou intramuscular). O tratamento pode consistir em uma única dose ou uma pluralidade de doses durante um período de tempo.

Embora seja possível para um composto da invenção ser administrado isoladamente, é preferível apresentá-lo como uma formulação farmacêutica, juntamente com um ou mais veículos aceitáveis. O(s) 5 veículo(s) tem de ser "aceitável", no sentido de ser compatível com o composto da invenção e não prejudicial para os que o recebem. Exemplos de veículos adequados são descritos em maiores detalhes abaixo.

Os compostos da invenção podem ser 10 administrados isoladamente ou em combinação com outros agentes terapêuticos, a co-administração de dois (ou mais) agentes permitindo que se usem doses significativamente menores de cada um, reduzindo, dessa forma, os efeitos colaterais observados.

15 Em uma modalidade, um composto da invenção é co-administrado com outro agente terapêutico para a indução ou manutenção de imunossupressão, para o tratamento da rejeição de transplantes, doença de enxerto versus hospedeiro, transtornos autoimunes ou 20 doenças de inflamação. Agentes preferidos incluem, mas não se limitam a, agentes imunorreguladores, por exemplo, azatioprina, corticosteróides, ciclofosfamida, ciclosporina A, FK506, Mycofenolate Mofetil, OKT-3 e ATG.

Em uma modalidade alternativa, um composto da invenção é co-administrado com outro agente terapêutico para o tratamento de câncer ou malignidades de células B. Agentes preferidos incluem, mas não se limitam a, metotrexato, leucovorina, adriamicina, prenisona, bleomicina, ciclofosfamida, 5-fluorouracila, paclitaxel, docetaxel, vincristina, vinblastina, vinorelbina, doxorubicina, tamoxifen, toremifeno, acetato de megestrol, anastrozol, goserelina, anticorpo monoclonal anti-HER2 (por exemplo, Herceptin™), capecitabina, cloridrato de raloxifeno, inibidores de EGFR (por exemplo, Iressa®, Tarceva™, Erbitux™), inibidores de VEGF (por exemplo, Avastin™), inibidores de proteassomo (por exemplo, Velcade™), Glivec® ou inibidores de hsp90 (por exemplo, 17-AAG). Além disso, um composto da invenção pode ser administrado em combinação com outras terapias incluindo, mas não limitadas a, radioterapia ou cirurgia.

Em uma modalidade, um composto da invenção é co-administrado com outro agente terapêutico para o tratamento de doença vascular. Agentes preferidos incluem, mas não se limitam a, inibidores de ACE, antagonistas de receptor de angiotensina II, derivados de ácido fíbrico, inibidores de HMG-CoA redutase,

agentes bloqueadores beta adrenérgicos, bloqueadores do canal de cálcio, antioxidantes, anticoagulantes e inibidores de plaquetas (por exemplo, Plavix™).

Em uma modalidade, um composto da invenção é co-administrado com outro agente terapêutico para estimulação da regeneração neuronal. Agentes preferidos incluem, mas não se limitam a, fatores neurotróficos, por exemplo, fator de crescimento de nervos, fator de crescimento derivado da glia, fator de crescimento derivado do cérebro, fator neurotrófico ciliar e neurotrofina-3.

Em uma modalidade, um composto da invenção é co-administrado com outro agente terapêutico para o tratamento de infecções fúngicas. Agentes preferidos incluem, mas não se limitam a, anfotericina B, flucitosina, equinocandinas (por exemplo, caspofungina, anidulafungina ou micafungina), griseofulvina, um agente antifúngico de imidazol ou triazol (por exemplo, clotrimazol, miconazol, cetoconazol, econazol, butoconazol, oxiconazol, terconazol, itraconazol, fluconazol ou voriconazol).

Inclui-se na co-administração qualquer meio de distribuição de dois ou mais agentes terapêuticos ao paciente, como parte do mesmo regime de tratamento,

como ficará claro para aqueles versados na técnica. Embora os dois ou mais agentes possam ser administrados simultaneamente em uma única formulação, isso não é essencial. Os agentes podem ser administrados em
5 formulações diferentes e em diferentes momentos.

As formulações podem ser convenientemente apresentadas em forma de dosagem unitária e podem ser preparadas por qualquer um dos métodos bem conhecidos na técnica de farmácia. Esses métodos incluem a etapa de
10 colocação em associação o ingrediente ativo (composto da invenção) com o veículo que constitui um ou mais ingredientes acessórios. Em geral, as formulações são preparadas por colocação em associação uniforme e íntima o ingrediente ativo com veículos líquidos ou veículos
15 sólidos finamente divididos ou ambos e, então, caso necessário, modelado do produto.

Os compostos da invenção normalmente são administrados por via oral ou por qualquer via parenteral, na forma de uma formulação farmacêutica
20 compreendendo o ingrediente ativo, opcionalmente na forma de um ácido, ou base, orgânico, ou inorgânico, não tóxico, sal de adição, em uma forma de dosagem farmacêuticamente aceitável. Dependendo do transtorno e do paciente a ser tratado, assim como da via de

administração, as composições podem ser administradas em várias doses.

Por exemplo, os compostos da invenção podem ser administrados por via oral, bucal ou sublingual, na
5 forma de comprimidos, cápsulas, óvulos, elixires, soluções ou suspensões, que podem conter agentes de sabor ou corantes, para aplicações de liberação imediata, retardada ou controlada.

Soluções ou suspensões de compostos da
10 invenção adequadas para administração oral também podem conter, excipientes, por exemplo, N,N-dimetilacetamida, dispersantes, por exemplo, polisorbato 80, surfatantes e solubilizadores, por exemplo, polietileno glicol, Phosal 50 PG (que consiste em fosfatidilcolina, ácidos
15 graxos de soja, etanol, mono/diglicerídeos, propileno glicol e palmitato de ascorbila),

Esses comprimidos podem conter excipientes como celulose microcristalina, lactose (por exemplo, lactose monoidratada ou lactose anidra), citrato de
20 sódio, carbonato de cálcio, fosfato de cálcio dibásico e glicina, desintegrantes, como amido (de preferência, amido de milho, batata ou tapioca), amido glicolato de sódio, croscarmelose sódica e certos silicatos complexos, e aglutinantes de granulação, como

polivinilpirrolidona, hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), hidróxi-propilcelulose (HPC), macrogol 8000, sacarose, gelatina e goma-arábica. Além disso, podem-se incluir agentes lubrificantes, como estearato de magnésio, ácido esteárico, beenato de glicerila e talco.

Composições sólidas de um tipo similar também podem ser empregadas como cargas em cápsulas de gelatina. Excipientes preferidos com essa finalidade incluem lactose, amido, uma celulose, açúcar de leite ou polietileno glicóis de alto peso molecular. Para suspensões e/ou elixires aquosos, os compostos da invenção podem ser combinados com vários agentes adoçantes ou de sabor, matéria de cor ou corantes, com agentes de emulsificação e/ou suspensão e com diluentes, como água, etanol, propileno glicol e glicerina e suas combinações.

Um comprimido pode ser preparado por compressão ou moldagem, opcionalmente com um ou mais ingredientes acessórios. Comprimidos podem ser preparados por compressão em uma máquina adequada do ingrediente ativo em uma forma de livre escoamento, como um pó ou grânulos, opcionalmente misturados com um aglutinante (por exemplo, povidona, gelatina,

hidroxipropilmetil celulose), lubrificante, diluente inerte, preservativo, desintegrante (por exemplo, amido glicolate de sódio, povidona reticulada, carboximetil celulose sódica reticulada), agente tensoativo ou
5 dispersante. Comprimidos moldados podem ser preparados por moldagem uma máquina adequada de uma mistura do composto em pó umedecido com um diluente líquido inerte. Os comprimidos podem ser opcionalmente revestidos ou marcados e podem ser formulados para proporcionar uma
10 liberação lenta ou controlada do ingrediente ativo, usando, por exemplo, hidroxipropilmetilcelulose em proporções variáveis para apresentar o perfil de liberação desejado.

Formulações de acordo com a presente invenção
15 adequadas para administração oral podem ser apresentadas como unidades distintas, como cápsulas, sachês ou comprimidos, cada uma contendo uma quantidade predeterminada do ingrediente ativo; como um pó ou grânulos; como uma solução ou uma suspensão em um
20 líquido aquoso ou líquido não aquoso; ou como uma emulsão líquida de óleo em água ou uma emulsão líquida de água em óleo. O ingrediente ativo também pode ser apresentado como um bolus, eletuário ou pasta.

Formulações adequadas para administração tópica à boca incluem trociscos compreendendo o ingrediente ativo em uma base de sabor, normalmente sacarose e goma-arábica ou tragacanto; pastilhas
5 compreendendo o ingrediente ativo em uma base inerte, como gelatina e glicerina, ou sacarose e goma-arábica; e colutórios compreendendo o ingrediente ativo em um veículo líquido adequado.

Deve-se entender que, além dos ingredientes
10 particularmente mencionados acima, as formulações desta invenção podem incluir outros agentes convencionais na técnica com relação ao tipo de formulação em questão, por exemplo, aqueles adequados para administração oral podem incluir agentes de sabor.

15 Composições farmacêuticas adaptadas para administração tópica podem ser formuladas como unguentos, cremes, suspensões, loções, pós, soluções, pastas, géis, curativos impregnados, sprays, aerossóis ou óleos, dispositivos transdérmicos, pós para empoação
20 e outros. Essas composições podem ser preparadas por métodos convencionais contendo o agente ativo. Assim, elas também podem compreender veículos e aditivos convencionais compatíveis, como preservativos, solventes para auxiliar a penetração do fármaco, emoliente em

cremes ou unguentos e etanol ou álcool oleílico para loções. Esses veículos podem estar presentes em cerca de 1% a cerca de 98% da composição. Mais comumente, formam até cerca de 80% da composição. Apenas como ilustração, prepara-se um creme ou unguento por misturação de quantidades suficientes de material hidrofílico e água, contendo cerca de 5 - 10% em peso do composto, em quantidades suficientes para produzir um creme ou unguento com a consistência desejada.

10 Composições farmacêuticas adaptadas para administração transdérmica podem se apresentar como emplastos distintos destinados a permanecer em contato íntimo com a epiderme do receptor durante um período de tempo prolongado. Por exemplo, o agente ativo pode ser 15 distribuído do emplastro por iontoforese.

Para aplicações a tecidos externos, por exemplo, à boca e pele, as composições são, de preferência, aplicadas como um unguento ou creme tópico. Quando formuladas em um unguento, o agente ativo pode 20 ser empregado com uma base de unguento parafínica ou miscível em água.

Alternativamente, o agente ativo pode ser formulado em um creme com uma base de creme de óleo em água ou uma base de água em óleo.

Para administração parenteral, formas de dosagem unitária fluida são preparadas utilizando-se o ingrediente ativo e um veículo estéril, por exemplo, mas sem limitação, água, álcoois, polióis, glicerina e 5 óleos vegetais, a água sendo preferida. O ingrediente ativo, dependendo do veículo e da concentração usada, pode ser posto em suspensão ou dissolvido no veículo. Na preparação de soluções, o ingrediente ativo pode ser dissolvido em água para injeção e esterilizado por 10 filtração antes de encher um frasco ou ampola adequada e ser fechado.

Vantajosamente, agentes como anestésicos locais, preservativos e agentes de tamponamento podem ser dissolvidos no veículo. Para aumentar a 15 estabilidade, a composição pode ser congelada depois de encher o frasco, e a água removida sob vácuo. O pó liofilizado seco é, então, lacrado no frasco, e um frasco acompanhante de água para injeção pode ser suprido para reconstituir o líquido antes do uso.

20 Suspensões parenterais são preparadas substancialmente da mesma maneira que soluções, exceto que o ingrediente ativo é posto em suspensão no veículo, em vez de ser dissolvido, e que a esterilização não pode ser realizada por filtração. O

ingrediente ativo pode ser esterilizado por exposição a óxido de etileno antes da suspensão no veículo estéril. Vantajosamente, inclui-se um surfatante ou agente umectante na composição para facilitar uma distribuição
5 uniforme do ingrediente ativo.

Os compostos da invenção também podem ser administrados usando-se dispositivos médicos conhecidos na técnica. Por exemplo, em uma modalidade, uma composição farmacêutica da invenção pode ser
10 administrada com um dispositivo de injeção hipodérmica sem agulha, como os dispositivos apresentados na patente norte-americana nº 5.399.163; patente norte-americana nº 5.383.851; patente norte-americana nº 5.312.335; patente norte-americana nº 5.064.413; patente norte-americana nº
15 4.941.880; patente norte-americana nº 4.790.824; ou patente norte-americana nº 4.596.556. Exemplos de implantes e módulos bem conhecidos utilizáveis na presente invenção incluem: patente norte-americana nº 4.487.603, que apresenta uma bomba de microinfusão
20 implantável para distribuir medicação a uma taxa controlada; patente norte-americana nº 4.486.194, que apresenta um dispositivo terapêutico para a administração de medicamentos através da pele; patente norte-americana nº 4.447.233, que apresenta uma bomba de

infusão de medicação para distribuição medicação a uma taxa de infusão precisa; patente norte-americana nº 4.447.224, que apresenta um aparelho de infusão implantável de fluxo variável para a distribuição

5 contínua de fármacos; patente norte-americana nº 4.439.196, que apresenta um sistema de distribuição osmótica de fármacos com compartimentos de múltiplas câmaras; e patente norte-americana nº 4.475.196, que apresenta um sistema de distribuição osmótica de

10 fármacos. Em uma modalidade específica, o derivado de 36-des(3-metóxi-4-hidroxícicloexil)-36-(3-hidroxíciclo-epil)rapamicina pode ser administrado usando-se um stent de eluição de fármaco, por exemplo, correspondendo aos descritos no WO 01/87263 e

15 publicações relacionadas ou aqueles descritos por Perin (Perin, EC, 2005). Muitos outros desses implantes, sistemas de distribuição e módulos são conhecidos por aqueles versados na técnica.

A dosagem a ser administrada de um composto da

20 invenção variará de acordo com o composto particular, a doença envolvida, o sujeito e a natureza e gravidade da doença e condição física do sujeito, e da via de administração selecionada. A dosagem apropriada pode ser prontamente determinada por aqueles versados na técnica.

As composições podem conter de 0,1% em peso, de preferência de 5 - 60%, mais preferivelmente de 10 - 30% em peso, de um composto da invenção, dependendo do método de administração.

5 Aqueles versados na técnica reconhecerão que a quantidade ótima e o espaçamento entre dosagens individuais de um composto da invenção serão determinados pela natureza e extensão da condição que está sendo tratada, da forma, via e sítio de
10 administração, e a idade e condição do sujeito particular que está sendo tratado, e que um médico determinará, por fim, as dosagens apropriadas a serem usadas. Essa dosagem pode ser repetida tão freqüentemente quanto apropriado. Se efeitos colaterais
15 se desenvolverem, a quantidade e/ou freqüência da dosagem pode ser alterada ou reduzida, de acordo com a prática clínica normal.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

A Figura 1 mostra a estrutura da rapamicina

20

EXEMPLOS

Métodos Genéricos e Materiais

Materiais

Todos os reagentes foram obtidos em fontes comerciais e usados sem purificação adicional, a menos que declarado de outra forma.

Cultura

- 5 *S. hygrosopicus* MG2-10 [JMNOQLhis] foi mantido em placas de ágar meio 1 (veja abaixo) a 28°C. Estoques de esporos foram preparados após crescimento em meio 1, preservados em 20% p/v de glicerol:10% p/v de lactose em água destilada e armazenados a -80°C.
- 10 Prepararam-se culturas vegetativas por inoculação de 0,1 mL de estoque congelado em 50 mL de meio 2 (veja abaixo) em um balão de 250 mL. A cultura foi incubada durante 36 a 48 horas a 28 °C, 300 rpm.

Método de produção:

- 15 As culturas vegetativas foram inoculadas a 2,5 - 5% v/v em meio 3. O cultivo foi realizado durante 6 - 7 dias, 26°C, 300 rpm.

Procedimento de alimentação:

- 20 A alimentação/adição do ácido carboxílico selecionado foi realizada 24 - 48 horas após a inoculação e foi feita a 1 - 2 mM, a menos que declarado de outra forma.

Meio 1:

componente	Fonte	Catálogo n°	Por L
Infusão de milho em pó	Sigma	C-8160	2,5 g
Extrato de levedura	Difco	0127-17	3 g
Carbonato de cálcio	Sigma	C5929	3 g
Sulfato de ferro	Sigma	F8633	0,3 g
BACTO ágar	Difco	2140-10	20 g
Amido de trigo	Sigma	S2760	10 g
Água até			1 L

O meio foi, então, esterilizado por autoclavagem a 121°C, 20 min.

5

Meio 2: Meio de Semeadura RapV7

Componente	Por L
Toasted Nutrisoy (ADM Ingredients Ltd)	5 g
Dextrina Avedex W80 (Deymer Ingredients Ltd)	35 g
Sólidos de Infusão de Milho (Sigma)	4 g
Glicose	10 g
(NH ₄) ₂ SO ₄	2 g
Ácido láctico (80%)	1,6 mL
CaCO ₃ (Caltec)	7 g
Ajustar pH em 7,5 com 1 M de NaOH.	

O meio foi, então, esterilizado por autoclavagem a 121°C, 20 min.

Após a esterilização, adicionam-se 0,16 mL de

glicose a 40% a cada 7 mL de meio.

Meio 3: Meio MD6 (Meio de fermentação)

Componente	Por L
Toasted Nutrisoy (ADM Ingredients Ltd)	30 g
Amido de milho (Sigma)	30 g
Dextrina Avedex W80 (Deymer Ingredients Ltd)	19 g
Levedura (Allinson)	3 g
Sólidos de Infusão de Milho (Sigma)	1 g
KH_2PO_4	2,5 g
K_2HPO_4	2,5 g
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	10 g
NaCl	5 g
CaCO_3 (Caltec)	10 g
$\text{MnCl}_2, 4\text{H}_2\text{O}$	10 mg
$\text{MgSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$	2,5 mg
$\text{FeSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$	120 mg
$\text{ZnSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$	50 mg
MES (ácido 2-morfolinoetano sulfúrico monoidratado)	21,2 g

O pH é corrigido em 6,0 com 1 M de NaOH.

Antes da esterilização, 0,4 mL de α -amilase
5 Sigma (BAN 250) foram adicionados a 1 L de meio.

O meio foi esterilizado durante 20 min a
121°C.

Após a esterilização, adicionaram-se 0,35 mL frutose estéril a 40% e 0,10 mL de L-lisina (140 mg/mL em água, esterilizada por filtração) a cada 7 mL.

Meio 4: Meio de Semeadura RapV7a

Componente	Por L
Toasted Nutrisoy (ADM Ingredients Ltd)	5 g
Dextrina Avedex W80 (Deymer Ingredients Ltd)	35 g
Sólidos de Infusão de Milho (Sigma)	4 g
(NH ₄) ₂ SO ₄	2 g
Ácido láctico (80%)	1,6 mL
CaCO ₃ (Caltec)	7 g
Ajustar pH em 7.5 com 1 M de NaOH.	

5

O meio foi, então, esterilizado por autoclavagem a 121°C, 20 min.

Meio 5: Meio MD6/5-1 (Meio de fermentação)

Componente	Por L
Toasted Nutrisoy (ADM Ingredients Ltd)	15 g
Dextrina Avedex W80 (Deymer Ingredients Ltd)	50 g
Levedura (Allinson)	3 g
Sólidos de Infusão de Milho (Sigma)	1 g
KH ₂ PO ₄	2,5 g
K ₂ HPO ₄	2,5 g
(NH ₄) ₂ SO ₄	10 g
NaCl	13 g
CaCO ₃ (Caltec)	10 g

MnCl ₂ 4H ₂ O	3,5 mg
MgSO ₄ 7H ₂ O	15 mg
FeSO ₄ 7H ₂ O	150 mg
ZnSO ₄ 7H ₂ O	60 mg
SAG 471	0,1 mL

Meio foi esterilizado durante 30 min a 121°C.

Após a esterilização, adicionaram-se 15 g de frutose por L.

5 Após 48 h, adicionaram-se 0,5 g/L de L-lisina.

Métodos Analíticos

Método A

Volume de injeção: 0,005 - 0,1 mL (conforme
10 requerido, dependendo da sensibilidade). Realizou-se HPLC em cartuchos Agilent "Spherisorb" "Rapid Resolution" SB C8, 3 microns, 30 mm x 2,1 mm, operando a uma fase móvel de:

Fase móvel A: 0,01% de ácido fórmico em água
15 pura

Fase móvel B: 0,01% de ácido fórmico em acetonitrila

Taxa de fluxo: 1 mL/minuto.

Usou-se um gradiente linear, de 5% de B a 0
20 min para 95% de B a 2,5 min, mantendo a 95% de B até 4

min, retornando a 5% de B até o ciclo seguinte. A detecção foi por absorbância de UV a 254 nm e/ou por ionização por eletropulverização de espectrometria de massa (positiva ou negativa) usando um instrumento

5 Micromasss Quattro-Micro.

Método B

Volume de injeção: 0,02 mL. Realizou-se HPLC em uma coluna de 3 microns BDS C18 Hypersil (ThermoHypersil-Keystone Ltd), 150 x 4,6 mm, mantida a 10 50°C, operando a uma fase móvel de:

Fase móvel A: Acetonitrila (100 mL), ácido trifluoroacético (1 mL), acetato de amônio a 1 M (10 mL) completada a 1 L com água desionizada.

Fase móvel B: Água desionizada (100 mL), 15 ácido trifluoroacético (1 mL), acetato de amônio a 1 M (10 mL) completada a 1 L com acetonitrila.

Taxa de fluxo: 1 mL/minuto.

Usou-se um gradiente linear de 55% de B - 95% de B durante 10 minutos, seguido por 2 minutos a 95% de 20 B, 0,5 minutos a 55% de B e mais 2,5 minutos a 55% de B. A detecção do composto foi por absorbância de UV a 280 nm.

Método C

O sistema de HPLC compreendia um Agilent HP1100 e foi realizado em uma coluna de 3 microns BDS C18 Hypersil (ThermoHypersil-Keystone Ltd), 150 x 4,6
5 mm, mantida a 40°C, operando a uma fase móvel de:

Fase móvel A: água desionizada.

Fase móvel B: acetonitrila.

Taxa de fluxo: 1 mL/minuto.

O sistema foi acoplado a um espectrômetro de
10 massa por eletropulverização Bruker Daltonics Esquire3000. Usou-se comutação positivo-negativo em uma faixa de varredura de 500 a 1.000 Daltons.

Usou-se um gradiente linear de 55% de B - 95% de B durante 10 minutos, seguido por 2 minutos a 95% de
15 B, 0,5 minutos a 55% de B e mais 2,5 minutos a 55% de B.

Métodos sintéticos

Todas as reações foram realizadas sob condições anidras, a menos que declarado de outra
20 forma, usando solventes secos comercialmente disponíveis. As reações foram monitorizadas por LC-UV-MS, em um Agilent 1100 HPLC acoplado a um espectrômetro de massa Bruker Daltonics Esquire3000+ equipado com uma fonte de eletropulverização. Conseguiu-se a separação

em uma coluna Fenomenex Hyperclone, BDS C₁₈ 3u (150 x 4,6 mm) a 1 mL/min, com um gradiente linear de água:acetonitrila v:v de 30:70 a 100% de acetonitrila durante 10 min, seguido por um período isocrático de 5 min a 100% de acetonitrila.

Bio ensaio *in vitro* para atividade anticâncer

A avaliação *in vitro* de compostos quanto à atividade anticâncer em um painel de 12 linhagens de células tumorais humanas em um ensaio de proliferação em monocamada pode ser realizada nas Instalações de Testes Oncotest, Instituto de Oncologia Experimental, Oncotest GmbH, Freiburg. As características das 12 linhagens celulares selecionadas são resumidas na Tabela 1.

15 Tabela 1: Linhagens celulares de teste

n°	Linhagem celular	Características
1	MCF-7	Mama, padrão NCI
2	MDA-MB-231	Mama - PTEN positiva, resistente a 17-AAG
3	MDA-MB-468	Mama - PTEN negative, resistente a 17-AAG
4	NCI-H460	Pulmão, padrão NCI
5	SF-268	SNC, padrão NCI
6	OVCAR-3	Ovário - com mutação p85. amplificada por AKT
7	A498	Renal, alta expressão de MDR,
8	GXF 251L	Gástrica
9	MEXF 394NL	Melanoma

10	UXF 1138L	Útero
11	LNCAP	Próstata - PTEN negativa
12	DU145	Próstata - PTEN positiva

As linhagens celulares do Oncotest foram estabelecidas a partir de xenoenxertos de tumores humanos, conforme descrito por Roth et al. 1999. A
5 origem dos xenoenxertos doadores foi descrita por Fiebig et al. 1999. Outras linhagens celulares são obtidas no NCI (H460, SF-268, OVCAR-3, DU145, MDA-MB-231, MDA-MB-468) ou adquiridas na DSMZ, Braunschweig, Alemanha (LNCAP).

10 Todas as linhagens celulares, a menos que especificado de outra forma, são cultivadas a 37°C em uma atmosfera umidificada (95% de ar, 5% de CO₂) em um meio de "mistura pronta" contendo meio RPMI 1640, 10% de soro de novilho fetal e 0,1 mg/mL de gentamicina
15 (PAA, Cölbe, Alemanha).

Ensaio de monocamada - breve descrição do protocolo:

Um ensaio de iodeto de propídio modificado pode ser usado para avaliar os efeitos do(s)
20 composto(s) de teste sobre o crescimento de doze linhagens celulares de tumores humanos (Dengler et al., (1995)).

Resumidamente, as células são colhidas de culturas em fase exponencial por tripsinização, contadas e plaqueadas em placas de microtitulação de fundo plano e 96 poços, a uma densidade celular dependente da linhagem celular (5 - 10.000 células viáveis/poço). Depois de 24 h de recuperação para permitir que as células voltem ao crescimento exponencial, adiciona-se aos poços 0,01 mL de meio de cultura (6 poços de controle por placa) ou meio de cultura contendo o composto de teste. Cada concentração é plaqueada em triplicata. Os compostos são aplicados em duas concentrações (0,001 μ M e 0,01 μ M). Após 4 dias de exposição contínua, o meio de cultura celular, com ou sem o composto de teste, é substituído por 0,2 mL de uma solução aquosa de iodeto de propídio (PI) (7 mg/L). Para medir a proporção de células vivas, as células são permeabilizadas por congelamento das placas. Depois de descongelar as placas, mede-se a fluorescência com o leitor de microplacas Cytofluor 4000 (excitação a 530 nm, emissão a 620 nm), o que fornece uma relação direta com o número total de células viáveis.

A inibição do crescimento é expressada como tratado/controle x 100 (% de T/C). Para compostos ativos, os valores de IC₅₀ e IC₇₀ podem ser estimados

traçando-se a concentração de composto versus a viabilidade celular.

Exemplo 1. Fermentação e isolamento de 36-des(3-metóxi-4-hidroxicicloexil)-36-(3-hidroxiciclo-
5 eptil)rapamicina

36-des(3-metóxi-4-hidroxicicloexil)-36-(3-hidroxicicloeptil)rapamicina foi produzida de acordo com os métodos descritos no WO 04/007709. Resumidamente, culturas de *S. hygrosopicus* MG2-10
10 foram transformadas com um vetor de expressão apropriado portador dos genes de rapamicina *rapJ*, *rapM*, *rapN*, *rapO*, *rapQ* e *rapL*, para produzir a cepa *S. hygrosopicus* MG2-10[*rapJMNOQLhis*]. Culturas de *S. hygrosopicus* MG2-10[*rapJMNOQLhis*] foram cultivadas e
15 alimentadas com ácido cicloeptano carboxílico, usando-se os métodos descritos no WO 04/007709. Análises LCMS e LCMSⁿ dos extratos de cultura mostraram que a razão m/z para o análogo de rapamicina produzido era 16 unidades de massa atômica menor que para a rapamicina,
20 o que é consistente com a fração 3-metóxi-4-hidroxicicloexila fração em C-36 sendo substituída por uma fração 3-hidroxicicloeptila.

Exemplo 2: 36-des(3-metóxi-4-hidroxicicloexil)-36-(3-hidroxicicloeptil)-40-O-[2,2-bis(hidroxi metil)propionil]rapamicina por esterificação catalisada por lipase de 36-des(3-metóxi-4-hidroxicicloexil)-36-(3-hidroxicicloeptil)rapamicina

5 Uma mistura de 36-des(3-metóxi-4-hidroxicicloexil)-36-(3-hidroxicicloeptil)rapamicina (10 mg, 0,011 mmol), 2,2,5-trimetil[1.3-dioxano]-5-carboxilato de vinila (100 mg, 0,5 mmol), lipase PS-C

10 "Amano" II (100 mg) e crivos moleculares de 0,5 nm (50 mg) em éter *tert*-butil metílico anidro (2 mL) foi aquecida a 43°C sob uma atmosfera de argônio. Após 72 h, a monitorização por LC/MS mostrou conversão completa do material de partida. Adicionou-se THF (10 mL), e a

15 mistura foi filtrada através de um chumaço de celite. A enzima foi lavada com THF (2 x 10 mL), e os extratos orgânicos combinados foram concentrados sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em THF (7,5 mL), e se adicionou H₂SO₄ (2,5 mL, 0,5 N). Deixou-se a solução

20 em repouso à temperatura ambiente durante 5 h, e a reação foi subseqüentemente finalizada pela adição de NaHCO₃ (10 mL, 5%) e água (10 mL). A mistura aquosa foi extraída com EtOAc (3 x 10 mL), e os extratos orgânicos combinados foram secados sobre MgSO₄. A remoção dos

solventes forneceu o produto como um semi-sólido. Esse material foi analisado por LCMS, e se mostrou que continha o produto esperado como o principal componente.

5 MS (ESI) m/z 1036,6 $[M+Na]^+$. A fragmentação do produto de adição com sódio forneceu íons a m/z 863,5, 742,4, 614,3, 574,3 e 441,4, conforme esperado.

Exemplo 3: 36-des(3-metóxi-4-hidroxicicloexil)-36-(3-hidroxicicloeptil)-40-O-(2-
10 hidroxietil)rapamicina

3.1. Triflato de 2-(*tert*-butildimetilsilil)oxietila

Uma solução de 2-(*tert*-butildimetilsilil)etileno glicol (125 mg, 0,71 mmol) e 2,6-lutideno (0,08
15 mL, 0,69 mmol) em 6 mL de diclorometano foi resfriada a -78°C . Adicionou-se anidrido trifluorometanossulfônico (0,11 mL, 0,65 mmol) durante um período de 5 min, e se continuou a agitação durante mais 15 min a -78°C para completar a formação do triflato. O triflato foi usado
20 *in situ* para a reação descrita em 3.2 abaixo.

3.2. 40-O-[2-(*tert*-butildimetilsilil)etil-36-des(3-metóxi-4-hidroxicicloexil)-36-(3-hidroxicicloeptil)rapamicina

36-des(3-metóxi-4-hidroxicicloexil)-36-(3-hidroxicicloeptil)rapamicina e 2,6-di-*tert*-butilpiridina foram tratadas com triflato de 2-(*tert*-butildimetilsilil)oxietila à temperatura ambiente. Essa

5 solução é, então, concentrada a um terço de seu volume original com uma corrente suave de nitrogênio, e a suspensão resultante é agitada durante mais 72 h à temperatura ambiente. Depois desse período, adicionam-se solução saturada de hidrogeniocarbonato de sódio e

10 água, e a mistura é agitada durante aproximadamente 30 min. A camada orgânica é separada, e a fase aquosa é extraída duas vezes com acetato de etila. Os extratos orgânicos combinados são secados sobre sulfato de sódio e concentrados sob pressão reduzida, para fornecer um

15 óleo incolor. A purificação por cromatografia de coluna em sílica, usando um gradiente de hexano para hexano/acetona (v:v a 1:1) fornece o produto como um sólido incolor.

3.3. 36-des(3-metóxi-4-hidroxicicloexil)-36-

20 (3-hidroxicicloeptil)-40-O-(2-hidróxi)etil rapamicina

Uma solução de 40-O-[2-(*tert*-butildimetilsilil)]etil-36-des(3-metóxi-4-hidroxicicloexil)-36-(3-hidroxicicloeptil)rapamicina em acetona é tratada com ácido sulfúrico (0,5 N) à temperatura

ambiente. Deixa-se a solução em repouso à temperatura ambiente durante aproximadamente 3 h, e subseqüentemente se finalizada pela adição de solução saturada de hidrogeniocarbonato de sódio e água. A
5 mistura aquosa é, então, extraída três vezes com acetato de etila, e os extratos orgânicos combinados são secados sobre sulfato de sódio. A concentração sob pressão reduzida fornece um sólido incolor, que pode ser adicionalmente purificado por HPLC
10 (água/acetonitrila, v:v a 20/80).

Referências:

Alarcon, C.M., Heitman, J., e Cardenas, M.E.
(1999) Protein kinase activity and identification of a toxic effector domain of the target of rapamycin TOR
15 proteins in yeast. *Molecular Biology of the Cell* 10: 2531-2546.

Aparicio, J.F., Molnár, I., Schwecke, T., König, A., Haydock, S.F., Khaw, L.E., Staunton, J., e Leadlay, P.F. (1996) Organization of the biosynthetic
20 gene cluster for rapamycin in *Streptomyces hygroscopicus*: analysis of the enzymatic domains in the modular polyketide synthase. *Gene* 169: 9-16.

Baker, H., Sidorowicz, A., Sehgal, S.N., e Vézina, C. (1978) Rapamycin (AY-22,989), a new

antifungal antibiotic. III. *In vitro* and *in vivo* evaluation. *Journal of Antibiotics* 31: 539-545.

Boulay, A., Zumstein-Mecker, S., Stephan, C.,
Beuvink, I., Zilbermann, F., Haller, R., Tobler, S.,
5 Heusser, C., O'Reilly, T., Stolz, B., Marti, A.,
Thomas, G., Lane, H.A.,. 2004, Antitumor efficacy of
intermittent treatment schedules with the rapamycin
derivative RAD001 correlates with prolonged
inactivation of ribosomal protein S6 kinase 1 in
10 peripheral blood mononuclear cells. *Cancer Res.* 64(1),
252-61.

Brown, E.J., Albers, M.W., Shin, T.B.,
Ichikawa, K., Keith, C.T., Lane, W.S., e Schreiber,
S.L. (1994) A mammalian protein targeted by G1-
15 arresting rapamycin-receptor complex. *Nature* 369: 756-
758.

Brunn, G.J., Williams, J., Sabers, C.,
Wiederrecht, G., Lawrence, J.C., e Abraham, R.T. (1996)
Direct inhibition of the signaling functions of the
20 mammalian target of rapamycin by the phosphoinositide
3-kinase inhibitors, wortmannin and LY294002. *EMBO
Journal* 15: 5256-5267.

Carlson, R.P., Hartman, D.A., Tomchek, L.A.,
Walter, T.L., Lugay, J.R., Calhoun, W., Sehgal, S.N.,

Chang, J.Y. (1993). Rapamycin, a potential disease-modifying antiarthritic drug. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 266(2):1125-38.

Crowe A, Bruelisauer A, Duerr L, Guntz P,
5 Lemaire M. (1999) Absorption and intestinal metabolism of SDZ-RAD and rapamycin in rats. *Drug Metab Dispos*, 27(5), 627-32

Dengler W.A., Schulte J., Berger D.P., Mertelsmann R. e Fiebig HH. (1995) Development of a
10 propidium iodide fluorescence assay for proliferation and cytotoxicity assay. *Anti-Cancer Drugs*, 6:522-532.

DiLella, A.G., e Craig, R.J. (1991) Exon organization of the human FKBP-12 gene: correlation with structural and functional protein domains.
15 *Biochemistry* 30: 8512-8517.

Dudkin, L., Dilling, M.B., Cheshire, P.J., Harwood, F.C., Hollingshead, M., Arbuck, S.G., Travis, R., Sausville, E.A., Houghton, P.J. (2001). Biochemical correlates of mTOR inhibition by the
20 rapamycin ester CCI-779 and tumor growth inhibition. *Clin. Cancer Res.* 7(6):1758-64

Evans D.A., Gage J.R. e Leighton J.L. (1992) Assymmetric synthesis of calyculin A. 3. Assemblage of the calyculin skeleton and the introduction of a new

phosphate monoester synthesis. *J. Org. Chem.*, 57:1964-1966

Fiebig H.H., Dengler W.A. e Roth T. (1999)
Human tumor xenografts: Predictivity, characterization,
5 and discovery of new anticancer agents. In: Fiebig HH,
Burger AM (eds). *Relevance of Tumor Models for
Anticancer Drug Development. Contrib. Oncol.*, 54: 29 -
50.

Findlay J.A, e Radics, L. (1980) *Canadian
10 Journal of Chemistry* 58:579.

Fishbein, T.M., Florman, S., Gondolesi, G.,
Schiano, T., LeLeiko, N., Tschernia, A., Kaufman, S.
(2002). Intestinal transplantation before and after the
introduction of sirolimus. *Transplantation*.
15 73(10):1538-42.

Foey, A., Green, P., Foxwell, B., Feldmann,
M., Brennan, F. (2002). Cytokine-stimulated T cells
induce macrophage IL-10 production dependent on
phosphatidylinositol 3-kinase and p70S6K: implications
20 for rheumatoid arthritis. *Arthritis Res.* 4(1):64-70.
Epub 2001 Oct 10.

Furniss B.S., Hannaford A.J., Smith P.W.G. e
Tatchell A.R. (1989) *Vogel's textbook of practical*

organic chemistry, 5th Ed, Pearson, Prentice Hall, Harlow, UK.

Gallant-Haidner HL, Trepanier DJ, Freitag DG, Yatscoff RW. 2000, "Pharmacokinetics and metabolism of sirolimus". *Ther Drug Monit.* 22(1), 31-5.

Grass, G.M., Rubas, W., Jezyk, N., (1992) Evaluation of CACO-2 monolayers as a predictor of drug permeability in colonic tissues. *FASEB Journal*, 6, A1002.

Gregory, C.R., Huie, P., Billingham, M.E. e Morris, R.E. (1993). Rapamycin inhibits arterial intimal thickening caused by both alloimmune and mechanical injury. Its effect on cellular, growth factor and cytokine response in injured vessels. *Transplantation* 55(6):1409-1418.

Gregory MA, Gaisser S, Lill RE, Hong H, Sheridan RM, Wilkinson B, Petkovic H, Weston AJ, Carletti I, Lee HL, Staunton J, Leadlay PF. (2004) "Isolation and characterization of pre-rapamycin, the first macrocyclic intermediate in the biosynthesis of the immunosuppressant rapamycin by *S. hygroscopicus*". *Angew Chem Int Ed Engl.* 43(19), 2551-3

Gu, J, Ruppen ME, Cai P. (2005), "Lipase-Catalyzed Regioselective Esterification of Rapamycin:

Synthesis of Temsirolimus (CCI-779). *Org. Lett.* 7(18):
3945-3948.

Guba, M., von Breitenbuch, P., Steinbauer,
M., Koehl, G., Flegel, S., Hornung, M., Bruns, C.J.,
5 Zuelke, C., Farkas, S., Anthuber, M., Jauch, K.W., e
Geissler, E.K. (2002) Rapamycin inhibits primary and
metastatic tumor growth by antiangiogenesis:
involvement of vascular endothelial growth factor.
Nature Medicine 8: 128-135.

10 Hardwick, J.S., Kuruvilla, F.G., Tong, J.K.,
Shamji, A.F., e Schreiber, S.L. (1999) Rapamycin-
modulated transcription defines the subset of nutrient-
sensitive signaling pathways directly controlled by the
Tor proteins. *Proceedings of the National Academy of*
15 *Sciences of the United States of America* 96: 14866-
14870.

Hentges, K.E., Sirry, B., Gingeras, A.C.,
Sarbasov, D., Sonenberg, N., Sabatini, D., e Peterson,
A.S. (2001) FRAP/mTOR is required for proliferation and
20 patterning during embryonic development in the mouse.
Proceedings of the National Academy of Sciences of the
United States of America 98: 13796-13801.

Jain, S., Bicknell, G.R., Whiting, P.H.,
Nicholson, M.L. (2001). Rapamycin reduces expression

of fibrosis-associated genes in an experimental model of renal ischaemia reperfusion injury. *Transplant Proc.* 33(1-2):556-8.

Kahan, B.D., e Camardo, J.S. (2001)
 5 Rapamycin: Clinical results and future opportunities. *Transplantation* 72:1181-1193.

Kahan, B.D., Chang, J.Y., e Sehgal, S.N.
 (1991) Preclinical evaluation of a new potent immunosuppressive agent, rapamycin. *Transplantation* 52:
 10 185-191.

Kirby, B., e Griffiths, C.E.M. (2001)
 Psoriasis: the future. *British Journal of Dermatology*
 144:37-43.

Kirchner, G.I., Winkler, M., Mueller L.,
 15 Vidal, C., Jacobsen, W., Franzke, A., Wagner, S.,
 Blick, S., Manns M.P., e Sewing K.-F. (2000)
 Pharmacokinetics of SDZ RAD and cyclosporin including their metabolites in seven kidney graft patients after the first dose of SDZ RAD. *British Journal of Clinical*
 20 *Pharmacology* 50:449-454.

Kuo, C.J., Chung, J.K., Fiorentino, D.F.,
 Flanagan, W.M., Blenis, J., e Crabtree, G.R. (1992)
 Rapamycin selectively inhibits interleukin-2 activation of p70 S6 kinase. *Nature* 358: 70-73.

Li, A.P. (1992) Screening for human ADME/Tox drug properties in drug discovery. *Drug Discovery Today*, 6, 357-366.

Lyons, W.E., George, E.B., Dawson, T.M.,
5 Steiner, J.P., e Snyder, S.H. (1994) Immunosuppressant FK506 promotes neurite outgrowth in cultures of PC12 cells and sensory ganglia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91:3191-3195.

10 McAlpine, J. B., Swanson S. J., Jackson, M., Whittern, D.N. (1991). Revised NMR assignments for rapamycin. *Journal of Antibiotics* 44: 688-690.

Morice, M.C., Serruys, P.W., Sousa, J.E., Fajadet, J., Ban Hayashi, E., Perin, M., Colombo, A.,
15 Schuler, G., Barragan, P., Guagliumi, G., Molnar, F., Falotico, R. (2002). RAVEL Study Group. Randomized Study with the Sirolimus-Coated Bx Velocity Balloon-Expandable Stent in the Treatment of Patients with de Novo Native Coronary Artery Lesions. A randomized
20 comparison of a sirolimus-eluting stent with a standard stent for coronary revascularization. *N. Eng. J. Med.* 346(23):1773-80.

Myckatyn, T.M., Ellis, R.A., Grand, A.G., Sen, S.K., Lowe, J.B. 3rd, Hunter, D.A., Mackinnon,

S.E. (2002). The effects of rapamycin in murine peripheral nerve isografts and allografts. *Plast. Reconstr. Surg.* 109(7):2405-17.

Navé, B.T., Ouwens, D.M., Withers, D.J.,

- 5 Alessi, D.R., e Sheperd, P.R. (1999) Mammalian target of rapamycin is a direct target for protein kinase B: identification of a convergence point for opposing effects of insulin and amino-acid deficiency on protein translation. *Biochemical Journal* 344:427-431.

- 10 NCCLS Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing for Yeasts: Approved Standard M27-A, vol. 17 No. 9. (1997).

Paiva, N.L., Demain, A.L., e Roberts, M.F.

- (1991) Incorporation of acetate, propionate, and
15 methionine into rapamycin By *Streptomyces hygroscopicus*. *Journal of Natural Products* 54: 167-177.

Paiva, N.L., Demain, A.L., e Roberts, M.F.

- (1993) The immediate precursor of the nitrogen-containing ring of rapamycin is free pipercolic acid.
20 *Enzyme and Microbial Technology* 15: 581-585.

Perin, E C, (2005), "Choosing a Drug-Eluting Stent: A Comparison Between CYPHER and TAXUS", *Reviews in Cardiovascular Medicine*, 6 (suppl 1), ppS13-S21.

Powell, N., Till, S., Bungre, J., Corrigan,

- C. (2001). The immunomodulatory drugs cyclosporin A, mycophenolate mofetil, and sirolimus (rapamycin) inhibit allergen-induced proliferation and IL-5 production by PBMCs from atopic asthmatic patients. *J. Allergy Clin. Immunol.* 108(6):915-7
- 5 Rabinovitch, A., Suarez-Pinzon, W.L., Shapiro, A.M., Rajotte, R.V., Power, R. (2002). Combination therapy with sirolimus and interleukin-2 prevents spontaneous and recurrent autoimmune diabetes
- 10 in NOD mice. *Diabetes.* 51(3):638-45.
- Raught, B., Gingras, A.C., e Sonenberg, N. (2001) The target of rapamycin (TOR) proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98: 7037-7044.
- 15 Reather, J. A., (2000), Ph.D. Dissertation, University of Cambridge. "Late steps in the biosynthesis of macrocyclic lactones".
- Reitamo, S., Spuls, P., Sassolas, B., Lahfa, M., Claudy, A., Griffiths, C.E.; Sirolimus European
- 20 Psoriasis Study Group. (2001). Efficacy of sirolimus (rapamycin) administered concomitantly with a subtherapeutic dose of cyclosporin in the treatment of severe psoriasis: a randomized controlled trial. *Br. J. Dermatol.* 145(3):438-45.

- Roth T., Burger A.M., Dengler W., Willmann H.
e Fiebig H.H. (1999) Human tumor cell lines
demonstrating the characteristics of patient tumors as
useful models for anticancer drug screening. In: Fiebig
5 HH, Burger AM (eds). *Relevance of Tumor Models for
Anticancer Drug Development. Contrib. Oncol.*, 54: 145 -
156.
- Roymans, D., e Slegers, H. (2001)
Phosphatidylinositol 3-kinases in tumor progression.
10 *European Journal of Biochemistry* 268:487-498.
- Schwecke, T., Aparicio, J.F., Molnár, I.,
König, A., Khaw, L.E., Haydock, S.F., Oliynyk, M.,
Caffrey, P., Cortés, J., Lester, J.B., Böhm, G.A.,
Staunton, J., e Leadlay, P.F. (1995) The biosynthetic
15 gene cluster for the polyketide immunosuppressant
rapamycin. *Proceedings of the National Academy of
Sciences of the United States of America* 92: 7839-7843.
- Sedrani, R., Cottens, S., Kallen, J., e
Schuler, W. (1998) Chemical modifications of rapamycin:
20 the discovery of SDZ RAD. *Transplantation Proceedings*
30: 2192-2194.
- Sehgal, S.N., Baker, H., e Vézina, C. (1975)
Rapamycin (AY-22,989), a new antifungal antibiotic II.
Fermentation, isolation and characterization. *The*

Journal of Antibiotics 28: 727-733.

Shepherd, P.R , Withers, D.J., e Siddle K.
(1998) Phosphoinositide 3-kinase: the key switch
mechanism in insulin signalling. *Biochemical Journal*
5 333: 471-490.

Smith M.B. e March J. (2001) *March's advanced
organic chemistry*, 5th Ed, John Wiley and Sons Inc., UK
Steiner, J.P., Hamilton, G.S., Ross, D. T.,
Valentine, H.L., Guo, H., Connolly, M.A., Liang, S.,
10 Ramsey, C., Li, J.-H.J., Huang, W., Howorth, P., Soni,
R., Fuller, M., Sauer, H., Nowotnik, A.C., e Suzdak,
P.D. (1997) Neutrophic immunophilin ligands stimulate
structural and functional recovery in neurodegenerative
animal models. *Proceedings of the National Academy of
15 Sciences of the United States of America* 94:2019-2024.

Tang, S.J., Reis, G., Kang, H., Gingras, A.-
C., Sonenberg, N., e Schuman, E.M. (2002) A rapamycin-
sensitive signaling pathway contributes to long-term
synaptic plasticity in the hippocampus. *Proceedings of
20 the National Academy of Sciences of the United States
of America* 1:467-472.

Toshima K. e Tatsuta K. (1993) Recent
progress in O-glycosylation methods and its application
to natural product synthesis. *Chem. Rev.*, 93:1503-1531.

Trepanier DJ, Gallant H, Legatt DF, Yatscoff RW. (1998), "Rapamycin: distribution, pharmacokinetics and therapeutic range investigations: an update". *Clin Biochem.* 31(5):345-51.

5 Vézina, C., Kudelski, A., e Sehgal, S.N. (1975) Rapamycin (AY-22,989), a new antifungal antibiotic. I. Taxonomy of the producing streptomycete and isolation of the active principle. *The Journal of Antibiotics* 28: 721-726.

10 Volpe, D.A., Faustino, P.J., Yu, L.X., (2001) Towards standardisation of an in vitro method of drug absorption. *Pharmacoepial Forum*, 27, 2916-2922.

15 Waller, J.R., e Nicholson, M.L. (2001) Molecular mechanisms of renal allograft fibrosis. *British Journal of Surgery* 88:1429-1441.

Warner, L.M., Adams, L.M., Chang, J.Y., Sehgal, S.N. (1992). A modification of the in vivo mixed lymphocyte reaction and rapamycin's effect in this model. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 64(3):242-7.

20 Yu, K., Toral-Barza, L., Discafani, C., Zhang, W.G., Skotnicki, J., Frost, P., Gibbons, J.J. (2001) mTOR, a novel target in breast cancer: the effect of CCI-779, an mTOR inhibitor, in preclinical models of breast cancer. *Endocrine-Related Cancer*

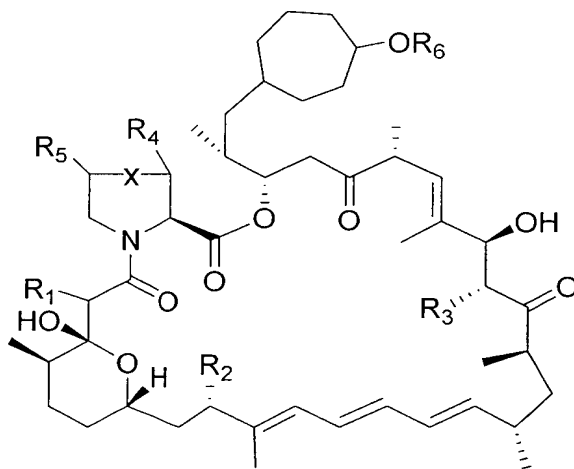
8:249-258.

Zhu, J., Wu J., Frizell, E., Liu, S.L.,
Bashey, R., Rubin, R., Norton, P., Zern, M.A. (1999).
Rapamycin inhibits hepatic stellate cell proliferation
5 in vitro and limits fibrogenesis in an in vivo model of
liver fibrosis. *Gastroenterology*. 117(5):1198-204.

REIVINDICAÇÕES

1. Derivado 36-des(3-metóxi-4-hidroxicicloexil)-36-(3-hidroxicicloetil) de rapamicina, **caracterizado** pelo fato de que a posição 40-hidróxi é derivatizada como um éster de ácido carboxílico, como um éter, como um éster fosfinato, como um acetal ou como uma glicosila.

2. Composto de acordo com a fórmula (I) abaixo:



(I)

caracterizado pelo fato de que:

X representa uma ligação ou CH₂;

R₁ representa um grupo ceto ou (H,H);

R₂ representa OH ou OMe;

R₃ representa H, OH ou OMe;

R₄ e R₅ representam, cada um independentemente, H ou OH;

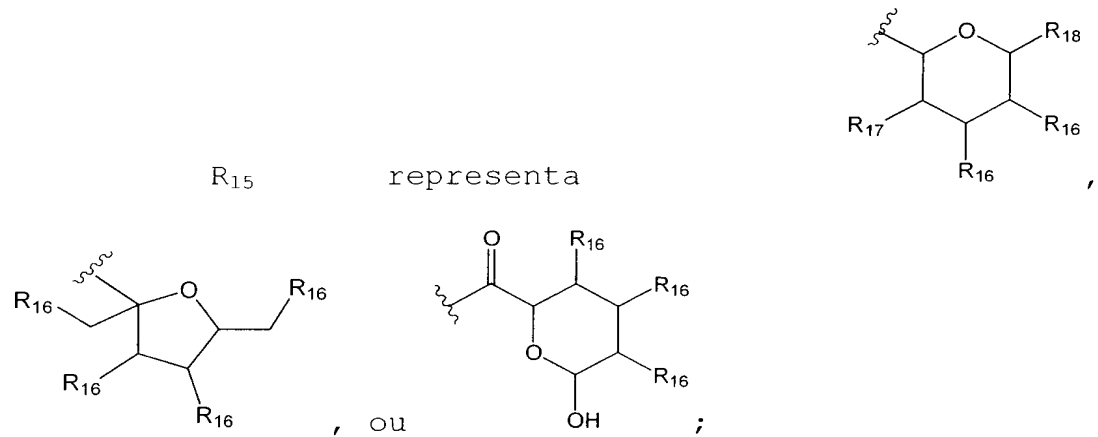
R_6 representa $-R_7$, $-C(O)R_7$, $-POR_{19}R_{20}$, ou $Y-R_{15}$;

R_7 representa $-(CR_8R_9)_m(CR_{10}R_{11})_pCR_{12}R_{13}R_{14}$;

R_8 e R_9 representam, cada um independentemente, C1-C4 alquila, C2-C4 alcenila ou C2-C4 alcinila, qualquer um desses grupos podendo estar opcionalmente substituído com $-PO(OH)_2$, $-CF_2PO(OH)_2$, $-OH$, $-COOH$ ou $-NH_2$; ou R_8 e R_9 representam, cada um independentemente, H, trifluorometila ou F;

R_{10} , R_{11} , R_{12} , R_{13} e R_{14} representam, cada um independentemente, C1-C4 alquila, C2-C4 alcenila ou C2-C4 alcinila, qualquer um desses grupos podendo estar opcionalmente substituído com $-PO(OH)_2$, $-CF_2PO(OH)_2$, $-OH$, $-COOH$ ou $-NH_2$; ou R_{10} , R_{11} , R_{12} , R_{13} e R_{14} podem ser independentemente selecionados de H, $-(CR_8R_9)_qNH_2$, $-(CR_8R_9)_qOH$, CF_3 , F, COOH; ou R_{10} e R_{11} ou R_{12} e R_{13} ou R_{13} e R_{14} podem ser tomados juntamente com o carbono ao qual estão ligados para formar uma C3-C6 cicloalquila ou um anel heteroalquila de 3 a 6 elementos que contenha um ou mais heteroátomos selecionados de N, O e S e que seja opcionalmente substituído com até 5 grupos $-(CR_8R_9)_qOH$, $-(CR_8R_9)_qNH_2$ ou COOH;

Y = ligação, $-C(O)-O-$; $-(CH_2)_2-O-C(O)-O-$;



R₁₆ são, cada um independentemente, H ou OH;

R₁₇ é independentemente selecionado de H, OH

5 e NH₂;

R₁₈ é independentemente selecionado de H, -CH₃, -CH₂OH e -COOH;

contanto, entretanto, que no máximo 2 grupos selecionados de R₁₆, R₁₇ e R₁₈ representem H ou CH₃;

10 R₁₉ e R₂₀ representam, cada um independentemente, H ou C1-C4 alquila, ou R₁₉ e R₂₀ representam juntos =CH₂;

m, p e q representam, cada um independentemente, um inteiro entre 0 e 4;

15 contanto, entretanto, que a fração R₇ não contenha mais do que 12 átomos de carbono e contenha pelo menos um grupo funcional selecionado de -PO(OH)₂, -CF₂PO(OH)₂, -COOH, OH ou NH₂;

ou seu sal farmacologicamente aceitável.

3. Composto, de acordo com a reivindicação 2, **caracterizado** pelo fato de que R_6 representa $-R_7$.

4. Composto, de acordo com a reivindicação 2, **caracterizado** pelo fato de que R_6 representa -

5 C(O)R₇.

5. Composto, de acordo com as reivindicações 2 a 4, **caracterizado** pelo fato de que R_7 contém 7 ou menos átomos de carbono.

6. Composto, de acordo com a reivindicação 10 5, **caracterizado** pelo fato de que R_7 contém 5 ou menos átomos de carbono.

7. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 2 a 6, **caracterizado** pelo fato de que R_7 contém dois grupos selecionados de $-PO(OH)_2$, -
15 $CF_2PO(OH)_2$, $-OH$, $-COOH$ e $-NH_2$.

8. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 2 a 7, **caracterizado** pelo fato de que R_7 contém pelo menos um grupo funcional selecionado de $-COOH$, OH e NH_2 .

9. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 2 a 8, **caracterizado** pelo fato de que p representa 0 ou 1.

10 Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 2 a 9, **caracterizado** pelo fato de que m representa 0 ou 1.

5 11. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 2 a 10, **caracterizado** pelo fato de que q representa 0, 1 ou 2.

12. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 2 a 11, **caracterizado** pelo fato de que R_{11} representa H.

10 13. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 2 a 12, **caracterizado** pelo fato de que R_{12} representa H.

15 14. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 2 a 13, **caracterizado** pelo fato de que R_{13} representa H ou OH.

15 15. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 2 a 14, **caracterizado** pelo fato de que p representa 1, e R_{10} representa Me, OH ou CH_2OH .

20 16. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 2 a 15, **caracterizado** pelo fato de que p representa 1, e R_{11} representa Me, H ou CH_2OH .

17. Composto, de acordo com a reivindicação 2, **caracterizado** pelo fato de que m e p representam ambos 0, R_{12} e R_{13} representam ambos H, e R_{14} representa

$-(CR_8R_9)_q-OH$, em que $q = 0$ ou 1 , e R_8 e R_9 representam ambos H.

18 Composto, de acordo com a reivindicação 2, **caracterizado** pelo fato de que p representa 1, e m representa 0, R_{10} e R_{11} representam ambos H, R_{12} representa H, R_{13} representa H, OH ou NH_2 e R_{14} representa $-(CR_8R_9)_q-OH$, em que $q = 0$ ou 1 , e R_8 e R_9 representam ambos H.

19. Composto, de acordo com a reivindicação 10 2, **caracterizado** pelo fato de que R_6 representa o resíduo derivado da formação de um éster com ácido hidroxiacético, ácido 3-hidróxi-2,2-dimetilpropiônico, ácido 2,3-diidroxipropiônico, ácido 3-hidróxi-2-hidroximetilpropiônico ou ácido 2,2-15 bis(hidroximetil)propiônico.

20. Composto, de acordo com a reivindicação 2, **caracterizado** pelo fato de que R_6 representa o resíduo derivado da formação de um éter com ácido hidroxiacético, ácido 3-hidróxi-2,2-dimetilpropiônico, 20 ácido 2,3-diidroxipropiônico, ácido 3-hidróxi-2-hidroximetilpropiônico ou ácido 2,2-bis(hidroximetil)propiônico.

21. Composto, de acordo com a reivindicação 2, **caracterizado** pelo fato de que é 36-des(3-metóxi-4-

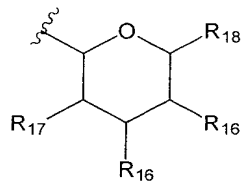
hidroxicicloexil)-36-(3-hidroxicicloeptil)-40-O-[2,2-bis(hidroximetil)propionil]rapamicina ou seu sal farmaceuticamente aceitável.

22. Composto, de acordo com a reivindicação 5 2, **caracterizado** pelo fato de que R_6 representa -
POR₁₉R₂₀.

23. Composto, de acordo com a reivindicação 22, **caracterizado** pelo fato de que R_{19} e R_{20} representam ambos CH₃ ou representam ambos CH₂CH₃.

10 24. Composto, de acordo com a reivindicação 2, **caracterizado** pelo fato de que R_6 representa Y-R₁₅.

25. Composto, de acordo com a reivindicação 24, **caracterizado** pelo fato de que o grupo R_{15}



representa .

15 26. Composto, de acordo com a reivindicação 25, **caracterizado** pelo fato de que R_{15} é uma fração formada pela formação de um acetal com glicose, glucosamina, ácido glucurônico ou arabinose.

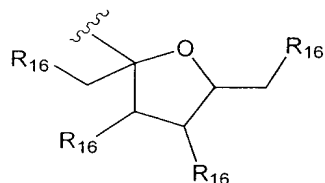
20 27. Composto, de acordo com a reivindicação 26, **caracterizado** pelo fato de que R_{15} é uma fração formada por formação de um acetal com D-glicose.

28. Composto, de acordo com a reivindicação

26, **caracterizado** pelo fato de que R_{15} é uma fração formada por formação de um acetal com D-glucosamina.

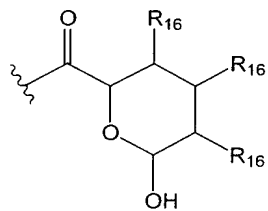
29. Composto, de acordo com a reivindicação 26, **caracterizado** pelo fato de que R_{15} é uma fração formada por formação de um acetal com ácido D-glucurônico.

30. Composto, de acordo com a reivindicação 24, **caracterizado** pelo fato de que R_{15} representa:



31. Composto, de acordo com a reivindicação 30, **caracterizado** pelo fato de que R_{15} é uma fração formada por formação de um acetal com frutose.

32. Composto, de acordo com a reivindicação 24, **caracterizado** pelo fato de que R_{15} representa:



33. Composto, de acordo com a reivindicação 32, **caracterizado** pelo fato de que R_{15} é uma fração formada por formação de um éster com ácido glucurônico.

34. Composto, de acordo com qualquer uma das

reivindicações de 24 a 33, **caracterizado** pelo fato de que Y representa uma ligação.

35. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 24 a 33, **caracterizado** pelo fato de
5 que Y representa $-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{O}-$.

36. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 24 a 33, **caracterizado** pelo fato de que Y representa $-\text{C}(\text{O})-\text{O}-$.

37. Composto, de acordo com qualquer uma das
10 reivindicações de 1 a 36, **caracterizado** pelo fato de que é para uso como uma substância farmacêutica.

38. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 36, **caracterizado** pelo fato de que é para uso no tratamento de câncer e/ou
15 malignidades de células B, na indução ou manutenção de imunossupressão, no tratamento da rejeição de transplantes, doença de enxerto versus hospedeiro, transtornos autoimunes, doenças de inflamação, doença vascular e doenças fibróticas, estimulação da
20 regeneração neuronal ou tratamento de infecções fúngicas.

39. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 36, **caracterizado** pelo fato de que é para uso como uma substância farmacêutica no

tratamento de câncer ou malignidades de células B.

40. Composição farmacêutica, **caracterizada** pelo fato de que compreende um composto de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 36, juntamente
5 com um ou mais diluentes ou veículos farmacêuticamente aceitáveis.

41. Método para o tratamento de câncer e/ou malignidades de células B, indução ou manutenção de imunossupressão, tratamento da rejeição de
10 transplantes, doença de enxerto versus hospedeiro, transtornos autoimunes, doenças de inflamação, doença vascular e doenças fibróticas, estimulação da regeneração neuronal ou tratamento de infecções fúngicas, **caracterizado** pelo fato de que compreende
15 administering to a patient an effective amount de um composto according to any one of claims 1 to 36.

42. Método de tratamento de câncer ou malignidades de células B, **caracterizado** pelo fato de que compreende a administração a um paciente de uma
20 quantidade eficaz de um composto de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 36.

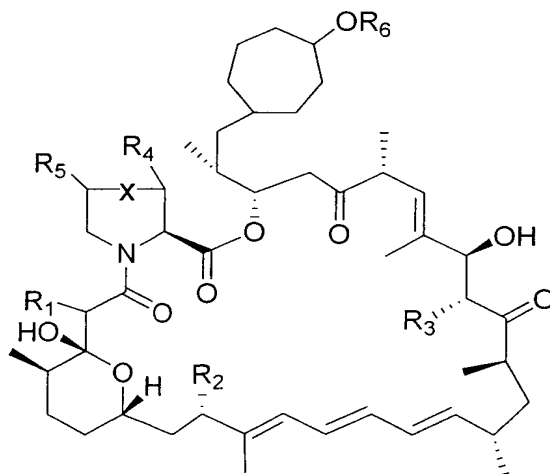
43. Uso do composto de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 36, **caracterizado** pelo fato de que é na preparação de um medicamento para o

tratamento de câncer e/ou malignidades de células B, indução ou manutenção de imunossupressão, tratamento da rejeição de transplantes, doença de enxerto versus hospedeiro, transtornos autoimunes, doenças de
 5 inflamação, doença vascular e doenças fibróticas, estimulação da regeneração neuronal ou tratamento de infecções fúngicas.

44. Uso, de acordo com a reivindicação 43, **caracterizado** pelo fato de que o medicamento é para o
 10 tratamento de câncer ou malignidades de células B.

45. Processo para a preparação de um composto de fórmula (I) de acordo com qualquer uma das reivindicações de 2 a 36, **caracterizado** pelo fato de que compreende:

15 (a) a reação de um composto de fórmula (II):



ou seu derivado protegido,
 com um composto de fórmula (III):

HO-R₆ (III)

ou seu derivado ativado,

em que o grupo R₆ é conforme definido para os compostos de fórmula (I),

5 ou seu derivado protegido; ou

(b) a conversão de um composto de fórmula (I) ou seu sal em outro composto de fórmula (I) ou outro sal farmacologicamente aceitável dele; ou

(c) a desproteção de um composto de fórmula
10 (I) protegido.

46. Composição ou kit de partes, **caracterizada** pelo fato de que compreende: (i) um composto de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 36, e (ii) um ou mais outros agentes
15 terapêuticamente eficazes.

47. Composição ou kit de partes, de acordo com a reivindicação 46, **caracterizada** pelo fato de que o um ou mais outros agentes terapêuticamente eficazes são selecionados do grupo de metotrexato, leucovorina,
20 adriamicina, prenisona, bleomicina, ciclofosfamida, 5-fluorouracila, paclitaxel, docetaxel, vincristina, vinblastina, vinorelbina, doxorubicina, tamoxifen, toremifeno, acetato de megestrol, anastrozol, goserelina, anticorpo monoclonal anti-HER2 (por

exemplo, HerceptinTM), capecitabina, cloridrato de raloxifeno, inibidores de EGFR, inibidores de VEGF, inibidores de proteassomo, inibidores de hsp90, azatioprina, corticosteróides, ciclofosfamida, 5 ciclosporina A, FK506, Mycofenolate Mofetil, OKT-3, ATG, anfotericina B, flucitosina, equinocandinas, griseofulvina, um agente antifúngico de imidazol ou triazol.

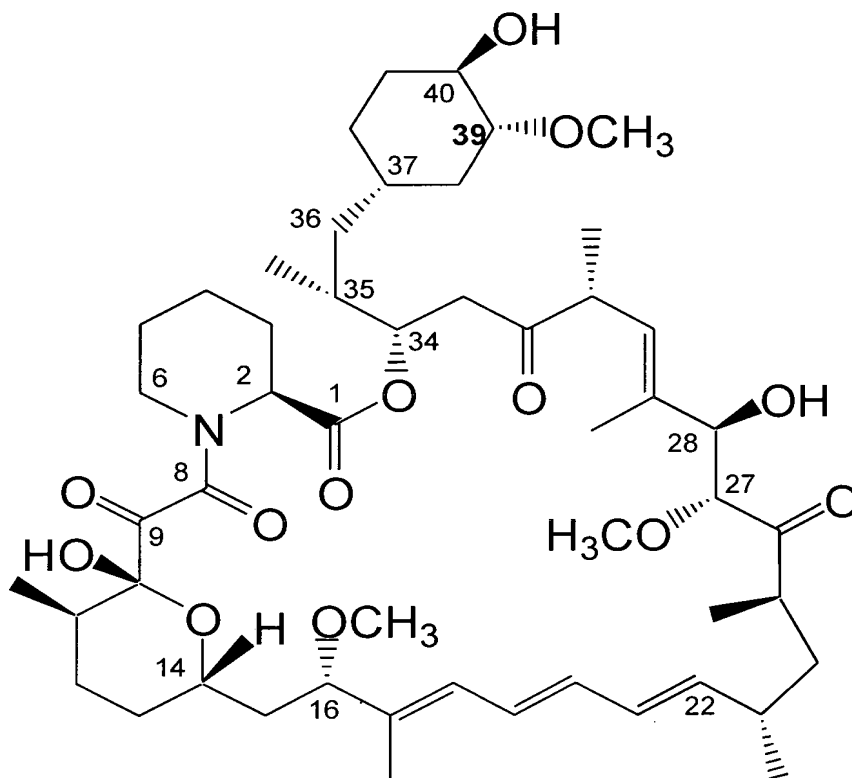


Figura 1

RESUMO

“DERIVADO 36-DES (3-METÓXI-4-HIDROXICICLO-
EXIL)-36-(3-HIDROXICICLOEPTIL) DE RAPAMICINA; COMPOSTO;
COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA; MÉTODO PARA O TRATAMENTO DE
5 CÂNCER E/OU MALIGNIDADES DE CÉLULAS B, INDUÇÃO OU
MANUTENÇÃO DE IMUNOSSUPRESSÃO, TRATAMENTO DA REJEIÇÃO
DE TRANSPLANTES, DOENÇA DE ENXERTO VERSUS HOSPEDEIRO,
TRANSTORNOS AUTOIMUNES, DOENÇAS DE INFLAMAÇÃO, DOENÇA
VASCULAR E DOENÇAS FIBRÓTICAS, ESTIMULAÇÃO DA
10 REGENERAÇÃO NEURONAL OU TRATAMENTO DE INFECÇÕES
FÚNGICAS; USO DO COMPOSTO; PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO
DO COMPOSTO; E COMPOSIÇÃO OU KIT DE PARTES”

A presente invenção se refere a novos
derivados 36-des(3-metóxi-4-hidroxicicloexil)-36-(3-
15 hidroxicicloeptil) de rapamicina, métodos para sua
produção e seus usos. Em um aspecto adicional, a
presente invenção apresenta o uso desses derivados 36-
des(3-metóxi-4-hidroxicicloexil)-36-(3-hidroxiciclo-
eptil) de rapamicina no tratamento de câncer e/ou
20 malignidades de células B, na indução ou manutenção de
imunossupressão, no tratamento da rejeição de
transplantes, doença de enxerto versus hospedeiro,
transtornos autoimunes, doenças de inflamação, doença
vascular e doenças fibróticas, estimulação da
25 regeneração neuronal ou tratamento de infecções
fúngicas.