



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 286 637**

51 Int. Cl.:
C07H 15/04 (2006.01)
C07D 498/18 (2006.01)
A61F 2/02 (2006.01)
A61K 31/436 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **04732898 .4**
86 Fecha de presentación : **14.05.2004**
87 Número de publicación de la solicitud: **1644392**
87 Fecha de publicación de la solicitud: **12.04.2006**

54 Título: **Derivados carbohidratados de la rapamicina.**

30 Prioridad: **16.05.2003 US 471367 P**
20.02.2004 US 546240 P
16.04.2004 US 562840 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.12.2007

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.12.2007

73 Titular/es: **ISOTECHNIKA, Inc.**
5120 - 75 Street
Edmonton, AB T6E 6W2, CA

72 Inventor/es: **Abel, Mark;**
Szweda, Roman;
Trepanier, Daniel;
Yatscoff, Randall, W. y
Foster, Robert, T.

74 Agente: **Arias Sanz, Juan**

ES 2 286 637 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Derivados carbohidratados de la rapamicina.

5 **Campo de la invención**

Esta solicitud se refiere a derivados carbohidratados de la rapamicina, un potente inmunosupresor, con grupos de carbohidratos estructuralmente definidos unidos a la estructura de la rapamicina a través de un grupo conectivo. Los derivados carbohidratados de la rapamicina pueden actuar como prodrogas. Es decir, pueden no tener sustancialmente actividad inmunosupresora en sí mismos, pero *in vivo* pueden transformarse en rapamicina que entonces muestra un efecto inmunosupresor.

Referencias

15 Las siguientes referencias se relacionan o se citan aquí por número de patente o de solicitud o por autor y año en las partes relevantes de esta especificación.

C. **Vezina**, A. **Kiudelski**, S.N. **Sehgal**, "Rapamycin (AY-22,989), a new antifungal antibiotic. I. Taxonomy of the producing streptomycete and isolation of the active principle", *J. Antibiot.* 28, 721 (1975).

20 S.N. **Sehgal**, H. **Baker**, C. **Vezina**, "Rapamycin (AY-22,989), a new antifungal antibiotic. II. Fermentation, isolation and characterization", *J. Antibiot.* 28, 727 (1975).

H.A. **Baker**, A. **Sidorowicz**, S.N. **Sehgal**, C. **Vezina**, "Rapamycin (AY-22,989), a new antifungal antibiotic. III. In vitro and *in vivo* evaluation", *J. Antibiot.* 31, 359 (1978).

R. **Martel**, J. **Klicius**, S. **Galet**, "Inhibition of the immune response by rapamycin, a new antifungal antibiotic" *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 55, 48 (1977).

30 R.Y. **Calne et al.**, *Lancet* 1183 (1978).

S.N. **Sehgal**, K. **Molnar-Kimber**, T.D. **Ocain**, B.M. **Weichman**, "Rapamycin: a novel immunosuppressive macrolide", *Medicinal Research Reviews* 14, 1 (1994).

35 F. **Streit**, U. **Christians**, H.M. **Schiebel**, A. **Meyer**, K.F. **Sewing**, "Structural identification of three metabolites and a degradation product of the macrolide immunosuppressant sirolimus (rapamycin) by electrosprayer-MS/MS after incubation with human liver microsomes" *Drug Metabol. Disp.* 24, 1272 (1996).

40 F. **Streit**, U. **Christians**, H.M. **Schiebel**, K.L. **Napoli**, L. **Ernst**, A. **Linck**, B.D. **Kahan**, K.F. **Sewing**, "Sensitive and specific quantification of sirolimus (rapamycin) and its metabolites in blood of kidney grafts recipients by HPLC/electrospray-mass spectrometry" *Clin. Chem.* 42, 1417 (1996).

S. **Miura**, "Regulation of monosaccharide transporter proteins in the small intestine" *Journal of Gastroenterology* 37, 491 (2002).

45 Chem Sources USA and Chem Sources International; la base de datos electrónica ACD; y Chemical Abstracts.

Advanced Organic Chemistry, Jerry March, John Wiley & Sons.

50 C.K. **Wang et al.**, Proceedings of the 41st ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics, San Francisco, 545 (1993).

55 M.J.M. **Nickmilder**, D. **Latinne**, R.K. **Verbeeck**, W. **Janssens**, D. **Swoboda**, G.J. **Lhoest**, "Isolation and identification of new rapamycin dihydrodiol metabolites from dexamethasone-induced rat liver microsomes" *Xenobiotica*, 27, 869 (1997).

Patente de EE.UU. No. 3,929,992.

Patente de EE.UU. No. 3,993,749.

60 Patente de EE.UU. No. 4,885,171.

Patente de EE.UU. No. 4,401,653.

65 Patente de EE.UU. No. 4,316,885.

Patente de EE.UU. No. 4,650,803.

Solicitud PCT No. WO 92/05179

Patente de EE.UU. No. 5,118,678.

5 Patente de EE.UU. No. 5,260,300.

Patente de EE.UU. No. 5,118,678.

10 Patente de EE.UU. No. 5,118,678.

Patente de EE.UU. No. 5,100,883.

Patente de EE.UU. No. 5,151,413.

15 Patente de EE.UU. No. 5,120,842.

Patente de EE.UU. No. 5,120,725.

20 Patente de EE.UU. No. 5,120,727.

Patente de EE.UU. No. 5,258,389.

Patente de EE.UU. No. 5,672,605.

25 Patente de EE.UU. No. 5,583,139.

Patente de EE.UU. No. 5,527,907.

Patente de EE.UU. No. 5,457,111.

30 Patente de EE.UU. No. 5,955,100.

Patente de EE.UU. No. 6,146,658.

35 Patente de EE.UU. No. 5,935,995.

Patente de EE.UU. No. 5,665,728.

40 Patente de EE.UU. No. 6,146,658.

Antecedentes de la invención

La rapamicina, también conocida como sirolimus, es uno de los 31 miembros del grupo de lactonas macrólidos, $C_{51}H_{79}NO_{13}$, con un peso molecular de 913.6 Da. En solución, la rapamicina forma isómeros conformacionales trans y cis con una proporción de 4:1 (en soluciones de cloroformo) debido a la rotación entorpecida sobre el enlace amida del ácido piperólico. Es escasamente soluble en agua, hidrocarburos alifáticos y éter dietílico, mientras que es soluble en alcoholes, hidrocarburos halogenados y dimetil sulfóxido. La rapamicina es inestable en solución; se degrada en el plasma y en tampones con pH bajo y neutro a 37°C con una vida media de menos de 10 horas.

50 Se ha demostrado que la rapamicina, producida por *Streptomyces hygroscopicus*, posee un número de atributos farmacológicos valiosos. El compuesto es un antibiótico trieno macrocíclico que tiene actividad antifúngica, particularmente contra *Candida albicans*, tanto *in vitro* como *in vivo*. Ver, C. Vezina *et al.*, *J. Antibiot.* 28, 721 (1975), S.N. Sehgal *et al. J. Antibiot.* 28, 727 (1975), H.A. Baker *et al. J. Antibiot.* 31, 539 (1978), y las Patentes de EE.UU. números 3,929,992 y 3,993,749. La rapamicina sola (Patente de EE.UU. No. 4,885,171) o en combinación con picibanil (Patente de EE.UU. No. 4,401,653) también ha demostrado tener actividad antitumoral. Además, R. Martel *et al. Can. J. Physiol. Pharmacol.* 55, 48 (1977) divulgan que la rapamicina es efectiva en un modelo experimental de encefalomielitis alérgica, un modelo para esclerosis múltiple; en un modelo de artritis inducida por adyuvante, un modelo para la artritis reumatoide; e inhibe de forma efectiva la formación de anticuerpos tipo IgE.

60 Los efectos inmunosupresores de la rapamicina aparecen divulgados en FASEB 3, 3411 (1989). Se ha demostrado que la rapamicina, la ciclosporina A, el FK-506 (también conocido como tacrolimus) y otras moléculas macrocíclicas, son agentes inmunosupresores efectivos y por lo tanto son útiles para prevenir el rechazo a un trasplante. Ver FASEB 3, 4311 (1989), FASEB 3, 5256 (1989), y R.Y. Calne *et al.*, *Lancet* 1183 (1978). Aunque la rapamicina comparte homología estructural con el inmunosupresor tacrolimus (FK506) y se une a las mismas proteínas de unión intracelulares en los linfocitos, se ha demostrado que la rapamicina y el tacrolimus tienen diferentes mecanismos de acción inmunosupresora. La rapamicina inhibe la p70 S6 quinasa mientras que el tacrolimus inhibe la calcineurina. Se ha observado que la rapamicina prolonga la supervivencia de un injerto de diferentes trasplantes en varias especies sola o en combinación con otros inmunosupresores. Ver, S.N. Sehgal *et al. Medicinal Research Reviews* 14, 1 (1994).

La rapamicina también se conoce como un inhibidor de mTOR. Estos inhibidores son una clase de drogas inmunosupresoras que inhiben la activación de células T en un estadio más tardío de la respuesta inmune que otros tipos de inhibidores como los inhibidores de calcineurina y los inhibidores de la síntesis de ADN. En trasplantes, los inhibidores de mTOR se usan típicamente en combinación con inhibidores de calcineurina.

Por desgracia, los efectos secundarios (por ejemplo, efectos gastrointestinales, hiperlipidemia) de los inhibidores de mTOR limitan en la actualidad su uso más amplio en trasplantes y el tratamiento de enfermedades autoinmunes. Y, aunque no se ha demostrado que induzca nefrotoxicidad, se ha demostrado que la rapamicina induce un número de efectos secundarios tóxicos en modelos animales. Tales efectos tóxicos incluyen, por ejemplo, deterioro de la homeostasis de glucosa, ulceración del tracto gastrointestinal, pérdida de peso, diarrea y trombocitopenia.

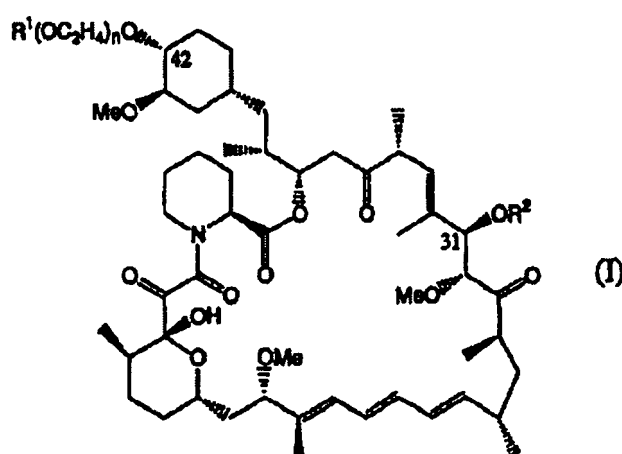
Se han sintetizado numerosos derivados de la rapamicina con la esperanza de aliviar y mejorar algunos de las desventajas que mantiene la rapamicina, que incluyen biodisponibilidad y solubilidad baja y/o variable, y toxicidad alta. Se ha demostrado que los derivados mono- y diacilados de rapamicina (esterificados en las posiciones 28 y 43) son útiles como agentes antifúngicos (Patente de EE.UU. No. 4,316,885) y se han usado para preparar prodrogas solubles en agua (Patente de EE.UU. No. 4,650,803). Otros derivados incluyen, ésteres de ácidos carboxílicos (Publicación de PCT No. WO 92/05179), carbamatos (Patente de EE.UU. No. 5,118,678), carbonatos (Patente de EE.UU. No. 5,260,300), ésteres amidas (Patente de EE.UU. No. 5,118,678), ésteres fluorinados (Patente de EE.UU. No. 5,100,883), acetales (Patente de EE.UU. No. 5,151,413), éteres de sililo (Patente de EE.UU. No. 5,120,842), derivados bicíclicos (Patente de EE.UU. No. 5,120,725), dímeros de rapamicina (Patente de EE.UU. No. 5,120,727), y derivados O-aril, O-alquil, O-alquenil y O-alquinil (Patente de EE.UU. No. 5,258,389). También se han desarrollado varias prodrogas de rapamicina (Patentes de EE.UU. Nos. 5,672,605, 5,583,139, 5,527,907, 5,457,111, 5,955,100, 6,146,658 y 5,935,995). US 6,342,507 divulga análogos deuterados de la rapamicina, donde los átomos de hidrógeno de los grupos metilo de las posiciones 7 y 43 de la rapamicina se sustituyen por deuterio, incrementando así su actividad biológica. Además, WO 92/05179 describe una clase de ésteres de ácidos carboxílicos derivados de la rapamicina, en donde se sustituyen de diversos modos uno o más grupos hidroxilos en las posiciones 14, 31 y 42.

Puesto que se ha demostrado que la rapamicina posee excelentes actividades inmunosupresora, antifúngica, antitumoral, y otras actividades biológicas importantes, todavía existe la necesidad de derivados mejorados que aumenten su solubilidad y mejoren su perfil farmacocinético al tiempo que disminuyan su toxicidad. La presente invención aborda estas necesidades.

Compendio de la invención

La presente invención se basa en parte en el reconocimiento de que los derivados carbohidratados de la rapamicina en los que la molécula de rapamicina está modificada en la posición 31 y/o 42, como se define según la nomenclatura del actual Chemical Abstracts, mediante unión de monosacárido(s), oligosacárido(s) o pseudoazúcares, tienen perfiles farmacocinéticos y/o farmacodinámicos similares o aumentados en comparación con la rapamicina. Además, la administración de los derivados carbohidratados de la rapamicina puede resultar en una toxicidad reducida manteniendo el efecto farmacológico deseado. Además, los derivados carbohidratados de la rapamicina pueden hacer la rapamicina más soluble en agua permitiendo una formulación de la droga simplificada. Así, la presente invención proporciona compuestos con características que son diferentes de otras drogas de su clase tal como la rapamicina.

En un aspecto, la invención se dirige a un derivado carbohidratado de la rapamicina que tiene la estructura de la fórmula (I):



en donde, $n=0$ ó 1 , R^1 y R^2 son independientemente hidrógenos o $-X-Z$, en donde cada X es un enlazador, y cada Z es un grupo carbohidrato independientemente seleccionado de un grupo que consiste en un monosacárido, un oligosacárido y un pseudoazúcar en donde Z está unido a X a través del átomo de oxígeno de un grupo hidroxilo de Z con la condición de que R^1 y R^2 no sean ambos hidrógenos. En una forma de realización, R^1 puede ser un hidrógeno y R^2 puede ser $X-$

ES 2 286 637 T3

- Z o en otra forma de realización, R² es un hidrógeno y R¹ es X-Z. X se selecciona de un grupo que consiste en (i) -R³C(O)-; (ii) -C(O)R³; (iii) -R³S(O)₂-; y (iv) -S(O)₂R³; en donde R³ se selecciona del grupo que consiste en: (a) -(CH₂)_p- donde p es un número entero de 1 a 18; (b) -(CH₂)_n-O-(CH₂)_m- donde n y m son cada uno independientemente un número entero de 2 a 6; y (c) un enlace. En una forma de realización, X se puede seleccionar del grupo que consiste en -C(O)- y -SO₂-. En una forma de realización adicional, X puede ser un grupo funcional individual. En otro aspecto, Z se puede seleccionar del grupo que consiste en fructosa, fucitol y alosa. En otro aspecto más, Z puede ser un derivado de monosacárido en donde al menos uno de los grupos hidroxilos del monosacárido se reemplaza por un hidrógeno, un grupo alcoxi, alcanoato o halógeno.
- 10 Los derivados carbohidratados de la rapamicina que tienen la estructura de la fórmula I y que están en el ámbito de esta invención incluyen, por ejemplo, aquellos que se muestran posteriormente (incluyendo las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos):
- 15 42-O-(Metil-D-glucosilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(Metil-D-glucosilcarboniloxi)etil]rapamicina;
31-O-(Metil-D-glucosilcarbonil)rapamicina;
- 20 42-O-(2-Hidroxietil)-31-O-(metil-D-glucosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-O-Metil-D-fructosilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(2-O-Metil-D-fructosilcarboniloxi)etil]rapamicina;
- 25 42-O-(2-O-Metil-L-fructosilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(2-O-Metil-L-fructosilcarboniloxi)etil]rapamicina;
- 30 31-O-(2-O-Metil-D-fructosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietil)-31-O-(2-O-metil-D-fructosilcarbonil)rapamicina;
31-O-(2-O-Metil-L-fructosilcarbonil)rapamicina;
- 35 42-O-(2-Hidroxietil)-31-O-(2-O-metil-L-fructosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(D-Alosilcarbonil)rapamicina;
- 40 42-O-[2-(D-Alosilcarboniloxi)etil]rapamicina;
42-O-(L-Alosilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(L-Alosilcarboniloxi)etil]rapamicina;
- 45 31-O-(D-Alosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietil)-31-O-(D-alosilcarbonil)rapamicina;
- 50 31-O-(L-alosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietil)-31-O-(L-alosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(D-Fructosilcarbonil)rapamicina;
- 55 42-O-[2-(D-Fructosilcarboniloxi)etil]rapamicina;
42-O-(L-Fructosilcarbonil)rapamicina;
- 60 42-O-[2-(L-Fructosilcarboniloxi)etil]rapamicina;
31-O-(D-Fructosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietil)-31-O-(D-fructosilcarbonil)rapamicina;
- 65 31-O-(L-Fructosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietil)-31-O-(L-fructosilcarbonil)rapamicina;

ES 2 286 637 T3

42-O-(D-Fucitolilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(D-Fucitolilcarboniloxi)etil]rapamicina;
5 42-O-(L-Fucitolilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(L-Fucitolilcarboniloxi)etil]rapamicina;
31-O-(D-Fucitolilcarbonil)rapamicina;
10 42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-fucitolilcarbonil)rapamicina;
31-O-(L-Fucitolilcarbonil)rapamicina;
15 42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(L-fucitolilcarbonil)rapamicina;
42-O-(D-Glucalilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(D-Glucalilcarboniloxi)etil]rapamicina;
20 42-O-(D-Glucosilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(D-Glucosilcarboniloxi)etil]rapamicina;
25 42-O-(L-Glucosilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(L-Glucosilcarboniloxi)etil]rapamicina;
31-O-(D-Glucalilcarbonil)rapamicina;
30 42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-glucalilcarbonil)rapamicina;
31-O-(D-Glucosilcarbonil)rapamicina;
35 42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-glucosilcarbonil)rapamicina;
31-O-(L-Glucosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(L-glucosilcarbonil)rapamicina;
40 42-O-(L-Sorbosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(D-Sorbosilcarbonil)rapamicina;
45 31-O-(L-Sorbosilcarbonil)rapamicina;
31-O-(D-Sorbosilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(L-Sorbosilcarboniloxi)etil]rapamicina;
50 42-O-[2-(D-Sorbosilcarboniloxi)etil]rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-sorbosilcarbonil)rapamicina;
55 42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(L-sorbosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(D-Lactalilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(D-Lactalilcarboniloxi)etil]rapamicina;
60 31-O-(D-Lactalilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-lactalilcarbonil)rapamicina;
65 42-O-(D-Sacarosilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(D-Sacarosilcarboniloxi)etil]rapamicina;

ES 2 286 637 T3

- 31-O-(D-Sacarosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-sacarosilcarbonil)rapamicina;
5 42-O-(D-Gentobiosilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(D-Gentobiosilcarboniloxi)etyl]rapamicina;
31-O-(D-Gentobiosilcarbonil)rapamicina;
10 42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-gentobiosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(D-Celobiosilcarbonil)rapamicina;
15 42-O-[2-(D-Celobiosilcarboniloxi)etyl]rapamicina;
31-O-(D-Celobiosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-celobiosilcarbonil)rapamicina;
20 42-O-(D-Turanosilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(D-Turanosilcarboniloxi)etyl]rapamicina;
25 31-O-(D-Turanosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-turanosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(D-Palatinosilcarbonil)rapamicina;
30 42-O-[2-(D-Palatinosilcarboniloxi)etyl]rapamicina;
31-O-(D-Paltinosilcarbonil)rapamicina;
35 42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-palatinosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(D-Isomaltosilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(D-Isomaltosilcarboniloxi)etyl]rapamicina;
40 31-O-(D-Isomaltosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-isomaltosilcarbonil)rapamicina;
45 42-O-(D-Maltulosilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(D-Maltulosilcarboniloxi)etyl]rapamicina;
42-O-(D-Maltosilcarbonil)rapamicina;
50 42-O-[2-(D-Maltosilcarboniloxi)etyl]rapamicina;
31-O-(D-Maltulosilcarbonil)rapamicina;
55 42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-maltulosilcarbonil)rapamicina;
31-O-(D-Maltosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-maltosilcarbonil)rapamicina;
60 42-O-(D-Lactosilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(D-Lactosilcarboniloxi)etyl]rapamicina;
65 31-O-(Metil-D-Lactosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(metil-D-lactosilcarbonil)rapamicina;

ES 2 286 637 T3

42-O-(D-Melibiosilcarbonil)rapamicina;
31-O-(D-Melibiosilcarbonil)rapamicina;
5 42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-melibiosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(D-Leucrosilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(D-Leucrosilcarboniloxi)etyl]rapamicina;
10 31-O-(D-Leucrosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-leucrosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(D-Rafinosilcarbonil)rapamicina;
15 42-O-[2-(D-Rafinosilcarboniloxi)etyl]rapamicina;
31-O-(D-Rafinosilcarbonil)rapamicina;
20 42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-rafinosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(D-Isomaltotriosilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(D-Isomaltotriosilcarboniloxi)etyl]rapamicina;
25 31-O-(D-Isomaltotriosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-isomaltotriosilcarbonil)rapamicina;
30 42-O-(D-Celotetraosilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(D-Celotetraosilcarboniloxi)etyl]rapamicina;
31-O-(D-Celotetraosilcarbonil)rapamicina;
35 42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-celotetraosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(Valiolilcarbonil)rapamicina;
40 42-O-[2-(D-Valiolilcarboniloxi)etyl]rapamicina;
31-O-(Valiolilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(valiolilcarbonil)rapamicina;
45 42-O-(Valiolonilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(D-Valiolonilcarboniloxi)etyl]rapamicina;
50 31-O-(Valiolonilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(valiolonilcarbonil)rapamicina;
42-O-(Valienolilcarbonil)rapamicina;
55 42-O-[2-(D-Valienolilcarboniloxi)etyl]rapamicina;
31-O-(Valienolilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(valienolilcarbonil)rapamicina;
60 42-O-(Valienoneilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(D-Valienoneilcarboniloxi)etyl]rapamicina;
65 31-O-(Valienoneilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(valienoneilcarbonil)rapamicina;

En otro aspecto, la invención se dirige a una composición farmacéutica que comprende los derivados carbohidratados de la rapamicina antes mencionados, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, y un soporte farmacéuticamente aceptable. Además, una forma de realización de la invención es un método para tratar una enfermedad tratable con rapamicina administrando una cantidad terapéuticamente efectiva del derivado carbohidratado de la rapamicina a un sujeto en necesidad de la misma.

En todavía otro aspecto de la presente invención, se presenta un método para tratar un estado tal como el rechazo a un trasplante, enfermedad del huésped contra el injerto, enfermedad del injerto contra el huésped, leucemia, linfoma, trastornos vasculares hiperproliferativos, enfermedad autoinmune, enfermedades de inflamación, tumores sólidos, e infecciones por hongos en un paciente, dicho método comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de la anteriormente mencionada composición farmacéutica a un paciente en necesidad de ella.

Aún más, la invención proporciona un dispositivo médico donde el dispositivo médico comprende el derivado carbohidratado de la rapamicina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una forma de realización, el dispositivo está cubierto con el derivado carbohidratado de la rapamicina.

Y, la invención proporciona un método de tratamiento de una enfermedad tratable con rapamicina, que comprende coadministrar una cantidad terapéuticamente efectiva del derivado carbohidratado de la rapamicina de la presente invención a un sujeto en necesidad de la misma con una composición farmacéutica seleccionada del grupo que consiste en una ciclosporina o un derivado de ciclosporina, un esteroide o un compuesto inmunomodulador.

Breve descripción de las figuras

La Figura 1 muestra la fructosa en las varias configuraciones en que existe en solución.

La Figura 2 muestra el enfoque general a la preparación de los derivados carbohidratados de la rapamicina de la presente invención. "RAPA-OH" significa rapamicina, en donde el grupo hidroxilo (-OH) puede ser cualquiera de los grupos hidroxilo de la rapamicina.

La Figura 3 muestra la ruta de reacción para la síntesis de 42-O-(D-fructosilcarbonyl)rapamicina.

La Figura 4 muestra la ruta de reacción para la síntesis de 31-O-(D-fructosilcarbonyl)rapamicina.

La Figura 5 muestra la actividad inmunosupresora *in vitro* de la rapamicina, la 42-O-(D-fructosilcarbonyl)rapamicina y un análogo de 42-O-(D-fructosilcarbonyl)rapamicina unido a carbamato.

Las Figuras 6, 7 y 8 muestran los perfiles farmacocinéticos en rata de los derivados carbohidratados de la rapamicina seleccionados.

La Figura 9 muestra los niveles de colesterol en suero en ratas tras el tratamiento con 42-O-(D-fructosilcarbonyl)rapamicina y con rapamicina.

La Figura 10 muestra el efecto de dos dosis diferentes de rapamicina en la agregación de plaquetas.

La Figura 11 compara el efecto de 42-O-(D-fructosilcarbonyl)rapamicina y rapamicina sobre la agregación de plaquetas.

La Figura 12 ilustra el efecto de 42-O-(D-fructosilcarbonyl)rapamicina y rapamicina en la tasa de supervivencia en un modelo de trasplante de corazón en ratas.

Descripción detallada de la invención

Esta invención se refiere al inesperado descubrimiento de que los derivados carbohidratados de rapamicina reivindicados tienen propiedades farmacológicas mejoradas comparadas con la rapamicina sin modificar.

Se debe observar que las formas singulares "un", "una", "el" y "la" según se usan aquí y en las reivindicaciones adjuntas, incluyen referencias en plural salvo que el contexto claramente disponga lo contrario. Así, por ejemplo, una referencia a "un derivado carbohidratado de la rapamicina" incluye la pluralidad de tales derivados; una referencia a "un soporte farmacéuticamente aceptable" es una referencia a uno o más soportes y a equivalentes de los mismos conocidos por los expertos en la materia, etc.

A menos que se defina de otra manera, todos los términos técnicos y científicos utilizados aquí tienen el mismo significado que se entiende normalmente por expertos en la materia a quien esta invención pertenece. Aunque se puede utilizar cualquier método o material similares o equivalentes a los aquí descritos en la práctica o ensayo de la presente invención, los métodos, instrumentos y materiales preferidos se describen a continuación.

La práctica de la presente invención empleará, a menos que se indique de otra manera, métodos convencionales de química, bioquímica, biología molecular, biología celular, inmunología y farmacología, con la pericia en la técnica.

Tales técnicas están explicadas completamente en la literatura. (Ver, por ejemplo, Gennaro, A.R., ed. (1990) Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th ed., Mack Publishing Co.; Colowick, S. *et al.*, eds., Short Protocols in Molecular Biology, 4th edition, John Wiley & Sons; Ream *et al.*, eds. (1998) Molecular Biology Techniques: An Intensive Laboratory Course, Academic Press).

5

Definiciones

Cuando se discute sobre los derivados carbohidratados de la rapamicina, composiciones, o métodos, los siguientes términos tienen los siguientes significados salvo que se indique otra cosa. Los términos no definidos tienen su significado reconocido en la técnica.

10

El término "alquilo" se refiere a los grupos alquilo que tienen de 1 a 10 átomos de carbono, por ejemplo, de 1 a 6 átomos de carbono, e incluye grupos alquilo tanto de cadena lineal como de cadena ramificada. Este término se ejemplifica mediante grupos tales como metil, t-butil, n-heptil, octil y similares.

15

El término "alqueno" se refiere a un grupo alquilo insaturado que tiene al menos un punto de insaturación alqueno (es decir, $-C=C-$) y además tiene de 1 a 10 átomos de carbono, por ejemplo de 1 a 6 átomos de carbono, e incluye grupos alquilo tanto de cadena lineal como ramificada.

20

El término "alquino" se refiere a un grupo alquilo insaturado que tiene al menos un punto de insaturación alquino (es decir, $-C\equiv C-$) y además tiene de 1 a 10 átomos de carbono, por ejemplo de 1 a 6 átomos de carbono, e incluye grupos alquilo tanto de cadena lineal como ramificada.

25

El término grupo "aromático" se refiere a un grupo carbocíclico aromático de entre 6 a 14 átomos de carbono que tiene un anillo simple (por ejemplo, fenilo) o anillos múltiples condensados (por ejemplo, naftilo o antrilo) anillos condensados que pueden ser aromáticos o no (por ejemplo, 2-benzoxazolinona, 2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ona-7-il, y similares)

30

El término "grupo protector" o "grupo bloqueador" se refiere a cualquier grupo que, cuando está unido a uno o más grupo(s) hidroxilo de la rapamicina o a un grupo azúcar, previene que las reacciones tengan lugar en estos grupos hidroxilo y grupos protectores que se pueden eliminar mediante pasos químicos o enzimáticos convencionales para reestablecer el/los grupo(s) hidroxilo. El grupo protector eliminable particular utilizado se determina por la naturaleza de los compuestos y procesos químicos que se utilizan. Grupos eliminables bloqueadores de hidroxilo incluyen sustituyentes convencionales tales como alilo, bencilo, acetilo, cloroacetilo, tiobencilo, bencilideno, fenacilo, t-butildimetilsililo y trialquilsililos tales como trietilsililo, triisopropilsililo, trimetilsililo, tributilsililo y similares, y cualquier otro grupo que se pueda introducir químicamente en una funcionalidad hidroxilo y que se puede eliminar selectivamente más adelante por métodos químicos o enzimáticos en condiciones suaves compatibles con la naturaleza del producto.

40

Derivados carbohidratados de la rapamicina

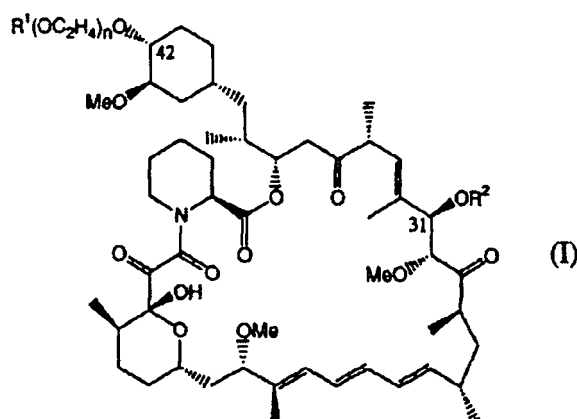
Como se ha discutido anteriormente, los derivados carbohidratados de la rapamicina de la invención son compuestos que tienen la estructura de la fórmula (I):

45

50

55

60



en donde, $n=0$ ó 1 , R^1 y R^2 son independientemente hidrógenos o $-X-Z$, en donde cada X es un enlazador, y cada Z es un grupo carbohidrato independientemente seleccionado del grupo que consiste en un monosacárido, un oligosacárido y un pseudoazúcar, con la condición de que R^1 y R^2 no sean ambos hidrógenos.

65

Como se pondrá de manifiesto, los derivados de la rapamicina pueden tener grupos derivados de azúcar unidos a la posición 42, a la posición 31, o a ambas posiciones 42 y 31. En una forma de realización, el derivado de azúcar está unido solo a la posición 42 y en otra forma de realización el derivado de azúcar está unido solo a la posición 31.

Es importante subrayar que en la rapamicina que se da de forma natural, los sustituyentes 41-metoxi y 42-hidroxilo existen en una configuración *trans* uno respecto al otro. Los compuestos 42-O-(glicosilcarbonil)rapamicina de la presente invención se preparan de tal manera que mantienen la configuración *trans* de los sustituyentes 41- y 42-. Por consiguiente, tras la hidrólisis del enlace carbonato, se liberará la rapamicina en su configuración natural. De manera similar, los compuestos 31-O-(glicosilcarbonil)rapamicina de la presente invención se preparan de tal manera que mantienen la estequiometría que se da en la forma natural del sustituyente 31-hidroxilo de la rapamicina.

El grupo carbohidrato

El grupo carbohidrato (o azúcar), representados por el identificador "Z" en la fórmula (I), se forma a partir de un monosacárido, oligosacárido, pseudoazúcar o un derivado de los mismos que tiene un grupo funcional reactivo que se puede unir (i) directamente al grupo hidroxilo de cada una o a ambos de las posiciones 31- y 42- de la rapamicina o (ii) a un grupo funcional reactivo en una rapamicina activada para producir el derivado carbohidratado de la rapamicina de la presente invención. El grupo funcional se une opcionalmente a un enlazador que está sucesivamente unido al azúcar, típicamente pero no necesariamente al centro anomérico. Tales grupos enlazadores opcionales se discutirán posteriormente.

Los azúcares que comprenden el derivado de azúcar pueden diferir de uno a otro de muchas maneras. Por ejemplo, pueden existir en las formas piranosas o furanosas en diferentes grados. Ciertos azúcares como el fucitol existen exclusivamente en la forma de cadena abierta mientras que muchos otros (por ejemplo, glucosa, ribosa, alosa) existen predominantemente en la forma cíclica. Las propiedades fisicoquímicas del azúcar tales como la geometría, composición, tamaño, flexibilidad o rigidez, y la hidrofiliidad relativa pueden afectar todas ellas a las características químicas de los derivados carbohidratados de la rapamicina.

La fructosa en disolución, por ejemplo, puede existir mayoritariamente en la forma piranosas de 6 componentes y/o en su forma furanosas de 5 componentes. (Ver Figura 1). Y, cada una de estas formas puede existir en configuraciones α o β . Además, la fructosa puede existir en forma de cadena abierta. Por lo tanto, la fructosa puede existir en sus formas α -fructopiranosas, β -fructopiranosas, α -fructofuranosas, o β -fructofuranosas o de cadena abierta como se muestra en la Fig. 6. Y, la fructosa se puede unir a la droga en cualquiera de estas configuraciones. Es más probable que la fructosa, en su forma piranosas de 6 componentes, forme un enlace, a una droga, por ejemplo, a través del alcohol primario único que está presente en la posición 1 de la forma piranosas. En su forma furanosas de 5 componentes, la fructosa tiene dos alcoholes primarios que están en las posiciones 1 y 6. En la forma furanosas, los enlaces se producen probablemente a través de estos alcoholes primarios en la posición 1 o en la 6.

La forma en como el cuerpo absorbe y procesa los azúcares específicos varía. Mucha gente tiene dificultades para procesar la lactosa, por ejemplo. Tal intolerancia a la lactosa podría hacer la incorporación de lactosa en los derivados carbohidratados de la rapamicina inconveniente. Además, los oligosacáridos no se absorben intactos del tracto digestivo y se deben digerir primero a sus constituyentes monosacáridos. Los monosacáridos, sin embargo, se absorben mediante sistemas de transporte localizados en la membrana de borde en cepillo de los enterocitos. Ver, S. Miura, Journal of Gastroenterology 37, 491 (2002). Por ejemplo, glucosa y galactosa se absorben por el sistema transportador SGLT1. Otro transportador, GLUT2, facilita principalmente el transporte de glucosa, y todavía otro transportador conocido como GLUT5 transporta fructosa. La presencia en el tracto gastrointestinal de distintas proteínas transportadoras de monosacáridos con diferentes selectividades puede llevar a una absorción variada de los diferentes derivados carbohidratados de la rapamicina. Es decir, ciertos derivados podrían ser capaces más fácilmente de tomar ventaja de un transportador disponible para facilitar el paso del derivado carbohidratado de la rapamicina del tracto intestinal y llevarlo al torrente sanguíneo donde el grupo carbohidrato se puede cortar, liberando así la rapamicina. Se cree que este proceso facilitado puede resultar en una menor toxicidad gastrointestinal asociada con la exposición localizada de la rapamicina.

En vista de lo anterior, es obvio que la selección apropiada del grupo carbohidrato (monosacárido, oligosacárido, o pseudoazúcar) que se incorpora al derivado carbohidratado de la rapamicina puede tener una influencia principal en las propiedades farmacocinéticas y/o farmacodinámicas del derivado. Por lo tanto, el grupo carbohidrato se puede elegir cuidadosamente para optimizar las propiedades farmacocinéticas y/o farmacodinámicas del derivado carbohidratado de la rapamicina.

Los monosacáridos adecuados incluyen, pero no están limitados a, cualquiera de los azúcares sencillos de cadena abierta o cerrada (en las configuraciones L o D), típicamente los tienen 5 ó 6 carbonos (un monosacárido pentosa o un monosacárido hexosa) así como los de 7 carbonos (monosacárido heptosa). Se incluyen los derivados de azúcar en los que el átomo de oxígeno del anillo se ha reemplazado por carbono, nitrógeno o azufre, amino-azúcares en los que un sustituyente hidroxilo en el azúcar sencillo se reemplaza con un grupo amino o azúcares que tienen un doble enlace entre dos carbonos adyacentes, (por ejemplo, glucosamina, 5-tio-D-glucosa, nojirimicina, deoxinojirimicina, 1,5-anhidro-D-sorbitol, 2,5-anhidro-D-manitol, 2-deoxi-D-galactosa, 2-deoxi-D-glucosa, 3-deoxi-D-glucosa, alosa, arabinosa, arabinitol, fucitol, fucosa, galactitol, glucitol, iditol, lixosa, manitol, levo-ramnitol, 2-deoxi-D-ribosa, ribosa, ribitol, ribulosa, ramnosa, xilosa, xilulosa, alosa, altrosa, fructosa, galactosa, glucosa, gulosa, idosa, levulosa, manosa, psicosa, sorbosa, tagatosa, talosa, galactal, glucal, fucal, ramnal, arabinal, xilal, valienamina, validamina, valiolumina, valioliol, valioliol, valienona, ácido glucurónico, ácido galacturónico, ácido N-acetilneuramínico, D-lactona del ácido glucónico, γ -lactona del ácido galactónico, δ -lactona del ácido galactónico, γ -lactona del ácido manónico, D-*altro*-heptulosa, D-*mano*-heptulosa, D-*glicero*-D-*mano*-heptosa, D-*glicero*-D-*gluco*-heptosa, D-*alo*-heptulosa,

D-*altro*-3-heptulosa, D-*glicero*-D-*mano*-heptitol, D-*glicero*-D-*altro*-heptitol y similares). Los grupos hidroxilo de los monosacáridos se pueden reemplazar opcionalmente con hidrógeno, grupos alcoxi (por ejemplo, 2-O-metil-D-fructosa), alcanoato o halógeno. Se incluyen derivados de sulfatos y/o de fosfatos de monosacáridos tal como se definen aquí.

Los oligosacáridos adecuados incluyen, pero no están limitados a, carbohidratos que tienen de 2 a 10 o más monosacáridos unidos. La unidad de monosacárido constituyente puede ser, por ejemplo, un monosacárido pentosa, un monosacárido hexosa, o un pseudoazúcar (incluyendo un amino-pseudoazúcar). Los oligosacáridos no incluyen grupos bicíclicos que se forman mediante fusión de un monosacárido a un anillo de benceno, un anillo de ciclohexano, o un anillo heterocíclico.

Los pseudoazúcares que se pueden usar en la invención son miembros de la clase de compuestos en donde el átomo de oxígeno del anillo del monosacárido cíclico se reemplaza por un grupo metileno. Los pseudoazúcares también son conocidos como "carba-azúcares".

El enlazador

Como se ha discutido anteriormente, el grupo carbohidrato está unido covalentemente a la rapamicina a través de un enlazador, indicado como "X" en la fórmula I. En su forma más simple, el enlazador es un grupo funcional químico que se forma cuando el derivado del azúcar se une covalentemente a la rapamicina, pero no es en sí mismo ni parte de la rapamicina ni de la molécula de azúcar. En una forma de realización, la naturaleza del enlazador se determina mediante la química empleada para unir covalentemente el azúcar o derivado de azúcar a la rapamicina. Por ejemplo, si la 42-O-(4-nitrofeniloxicarbonil)rapamicina (una rapamicina activada) reacciona con un azúcar el resultado es un derivado carbohidratado de la rapamicina en donde el oxígeno del 42-hidroxi de la rapamicina está unido covalentemente a un grupo carbonilo que sucesivamente está unido covalentemente al oxígeno del hidroxilo en el azúcar. En este ejemplo, el enlazador es el grupo carbonilo (C=O). Un ejemplo de un enlazador según se define aquí se representa en la Figura 3. Ejemplos de enlazadores incluyen grupos tales como el carbonilo (C=O) y sulfonilo (O=S=O). Un enlazador tal como el carbonilo o sulfonilo se reconoce como un enlazador de grupo funcional individual.

El enlazador junto con la funcionalidad a través de la que el azúcar y la rapamicina están unidos forma un "enlace". Por ejemplo, cuando un enlazador carbonilo se une a un azúcar a través de uno de sus átomos de oxígeno del hidroxilo y después al oxígeno del hidroxilo de la rapamicina, el "enlace" resultante es un carbonato (es decir, -OC(O)O-). Un ejemplo de un enlace según se define aquí se muestra en la Figura 4. Ejemplos de enlaces incluyen ésteres, éteres, carbonatos, carbamatos, sulfatos y uretanos.

El enlazador y el enlace asociado se seleccionan para proporcionar un derivado carbohidratado de la rapamicina sustancialmente no inmunogénico y biocompatible. Mientras que la presente invención se basa en el reconocimiento de que la presencia del (de los) azúcar(es) mejorará la efectividad de la rapamicina, sus propiedades farmacocinéticas y/o farmacodinámicas también se pueden aumentar mediante la geometría, composición, tamaño, flexibilidad o rigidez, la hidrofobicidad o hidrofobicidad relativas, y propiedades similares del enlazador y/o enlace. Por lo tanto, el enlazador o enlace se pueden elegir para optimizar las propiedades farmacocinéticas y/o farmacodinámicas del derivado carbohidratado de la rapamicina. Por ejemplo, las velocidades de hidrólisis catalizadas por ácido o enzimáticas de los derivados resultantes en la emisión de rapamicina libre variarán dependiendo de qué enlace se cree. El enlazador o enlace pueden ser biológicamente "neutral", es decir, no contribuir por sí mismo a una actividad adicional al derivado carbohidratado de la rapamicina, o puede ser elegido para aumentar en mayor medida la actividad biológica del compuesto.

Las reacciones químicas que resultan en enlazadores y enlaces emplean técnicas convencionales. Estas técnicas generalmente implican el uso de grupos funcionales reactivos complementarios situados en la rapamicina o rapamicina activada y en el azúcar o derivado del azúcar. Ejemplos de grupos funcionales complementarios y los enlaces resultantes se encuentran en la Tabla 1.

TABLA 1

Enlaces resultantes de funcionalidades complementarias

PRIMER GRUPO REACTIVO	SEGUNDO GRUPO REACTIVO	ENLACE
hidroxilo	isocianato	uretano
amina	epóxido	β -aminohidroxi
haluros de sulfonilo	amina	sulfonamida
ácido carboxílico	amina	amida
hidroxilo	haluro de alquilo/arilo	éter
aldehído	amina/NaCNBH ₃	amina
cetona	amina/NaCNBH ₃	amina
amina	isocianato	carbamato
ácido carboxílico	hidroxilo	éster
cloroformato	hidroxilo	carbonato

Si se desea, el enlazador puede contener más de un grupo funcional. Se pueden utilizar enlazadores complejos para proporcionar diferentes propiedades químicas al derivado carbohidratado de la rapamicina. Por ejemplo, se pueden conferir diferentes características hidrofóbicas/hidrofílicas al derivado carbohidratado de la rapamicina mediante manipulación del enlazador. Similarmente, también se pueden introducir grupos cargados. Las técnicas para la modificación del enlazador las entenderán fácilmente los expertos en la materia. Por ejemplo, la naturaleza hidrofóbica de un enlazador derivado de la diamina de hexametileno o una poliamina relacionada se puede modificar para ser sustancialmente más hidrofílico reemplazando el grupo alquileo por un grupo poli(oxialquileo).

Por ejemplo, en la patente de EE.UU. No. 6,146,658 se divulga una glicosil-Y[-C(=Y)-X]_p-W(R)_n-X-C(=Y)-droga donde W es un grupo aromático o heteroaromático o alifático con dobles enlaces conjugados o un radical derivado de un aminoácido que se cicla tras la eliminación del radical glicosil. Estos enlazadores complejos se diseñan para autoeliminarse mediante una ciclación posterior a la eliminación enzimática del grupo glicosil.

Una amplia variedad de enlazadores son adecuados para usar en la invención. Generalmente el experto en la materia reconocerá que un enlazador carbonilo (C=O) o sulfonilo (O=S=O), o un enlazador carbonilo o sulfonilo combinado con una cadena alquilo sencilla o una cadena poliéter (por ejemplo, un número pequeño de unidades de óxido de etileno que se repiten) tendrá propiedades que son diferentes de aquellos de los enlazadores más complejos descritos anteriormente. Por ejemplo, se contempla que los enlazadores de la presente invención no se someterán a ciclación para autoeliminarse. Además, la susceptibilidad del compuesto enlazador/droga a la escisión enzimática o hidrolítica dependerá en gran medida de la naturaleza del grupo espaciador o enlazador. Además, se contempla que compuestos con enlazadores complicados pueden ser más difíciles y caros de producir que compuestos con enlazadores de un solo grupo funcional individual, tales como aquellos de la presente invención.

Existen gran variedad de enlazadores comercialmente disponibles (por ejemplo, Chem Sources USA y Chem Sources Internacional; la base de datos electrónica de ACD; y Chemical Abstracts). Muchos de los enlazadores que son adecuados para usar en la presente invención se encuentran en esta categoría. Otros se pueden sintetizar fácilmente mediante métodos conocidos en la técnica, y como se describe posteriormente. Ejemplos de enlazadores incluyen grupos alifáticos, grupos aromáticos, grupos esteroideos, péptidos, y similares. Ejemplos específicos de enlazadores comercialmente disponibles son péptidos o poliamidas, hidrocarburos, aromáticos, heterocíclicos, éteres, lípidos y grupos catiónicos o aniónicos, o una combinación de los mismos.

Se contempla que las propiedades del enlazador de la presente invención se pueden modificar mediante la adición o inserción de grupos ancilares, por ejemplo, para cambiar la solubilidad de un compuesto multiunión (en agua, grasas, lípidos, fluidos biológicos, etc.), hidrofobicidad, hidrofiliidad, flexibilidad del enlazador, antigenicidad, estabilidad, y similares. Por ejemplo, la introducción de uno o más grupos polietilenglicol (PEG) en el enlazador aumenta la hidrofiliidad y la solubilidad en agua del derivado carbohidratado de la rapamicina, aumenta tanto el peso molecular como el tamaño molecular y dependiendo de la naturaleza de un enlazador sin polietilenglicol, se puede aumentar el tiempo de retención *in vivo*. Además, el PEG puede disminuir la antigenicidad y aumenta potencialmente la rigidez en su conjunto del enlazador.

Los grupos ancilares que aumentan la solubilidad en agua/hidrofiliidad del enlazador, y por lo tanto, de los compuestos resultantes, son útiles en la práctica de la invención. Así, está dentro del ámbito de la presente invención utilizar grupos ancilares tales como, por ejemplo, pequeñas unidades que se repiten de etilen glicoles, alcoholes, polioles, (por ejemplo, glicerina, propoxilato de glicerol, etc.), carboxilatos (por ejemplo, pequeñas unidades que se repiten de ácido glutámico, ácido acrílico, etc.), aminas (por ejemplo, tetraetilenpentamina), y similares para aumentar la solubilidad en agua y/o hidrofiliidad de los derivados carbohidratados de la rapamicina de la presente invención. Por ejemplo, el grupo ancilar utilizado para mejorar la solubilidad en agua/hidrofiliidad puede ser un poliéter que contiene un pequeño número de unidades de óxido de etileno ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$) que se repiten.

La incorporación de grupos ancilares lipofílicos en la estructura del enlazador para aumentar la lipofiliidad y/o hidrofobicidad de los derivados carbohidratados de la rapamicina también está en el ámbito de la presente invención. Los grupos lipofílicos útiles con los enlazadores de esta invención incluyen, pero no están limitados a, alquilos de baja cadena, grupos aromáticos, y grupos aromáticos policíclicos. Los grupos aromáticos pueden no estar sustituidos o estar sustituidos con otros grupos, pero están al menos sustituidos con un grupo que permite su unión covalente al enlazador. Como se utiliza aquí el término "grupos aromáticos" incorpora tanto hidrocarburos aromáticos como a aromáticos heterocíclicos. Otros grupos lipofílicos útiles con el enlazador de esta invención incluyen derivados de ácidos grasos que pueden formar o no micelas en medio acuoso y otros grupos lipofílicos específicos que modulan las interacciones entre el derivado carbohidratado de la rapamicina y membranas biológicas.

La flexibilidad del enlazador se puede manipular mediante la inclusión de grupos ancilares que son voluminosos y/o rígidos. La presencia de grupos voluminosos o rígidos puede evitar la rotación libre sobre los enlaces en el enlazador, o enlaces entre el enlazador y los grupos ancilares, o enlaces entre el enlazador y los grupos funcionales. Los grupos rígidos pueden incluir, por ejemplo, aquellos grupos cuya libertad conformacional está restringida en presencia de anillos y/o enlaces, por ejemplo, grupos arilo, heteroarilo y heterocíclicos. Otros grupos que pueden conferir rigidez incluyen grupos de polipéptidos tales como cadenas de oligo- o poliprolinas.

La rigidez también se puede conferir de forma electrostática. Así, si los grupos ancilares están cargados positivamente o negativamente, los grupos ancilares cargados similarmente obligarán al enlazador a adoptar una configuración que permita la máxima distancia entre cada una de las cargas similares. El coste energético de situar los grupos cargados similarmente más cerca uno de otro, que está inversamente relacionado al cuadrado de la distancia entre los grupos, tenderá a mantener al enlazador en una configuración que mantiene la separación entre los grupos ancilares cargados similarmente. Además, los grupos ancilares que tienen cargas opuestas tenderán a ser atraídos hacia sus equivalentes cargados opuestamente y potencialmente pueden participar en enlaces iónicos tanto inter- como intramoleculares. Este mecanismo no covalente tenderá a mantener el enlazador en una conformación que permite enlaces entre grupos cargados opuestamente. La adición de grupos ancilares que están cargados, o alternativamente, grupos protegidos que llevan una carga latente que se desenmascara, tras la adición al enlazador, mediante desprotección, un cambio en el pH, oxidación, reducción u otros mecanismos conocidos para los expertos en la materia, está en el ámbito de esta invención.

Los grupos voluminosos pueden incluir, por ejemplo, átomos grandes, iones (por ejemplo, yodo, azufre, iones metálicos, etc.) o grupos que contienen átomos grandes, grupos policíclicos, incluyendo grupos aromáticos, grupos no aromáticos, y estructuras que incorporan uno o más enlaces carbono-carbono (es decir, alquenos y alquinos). Los grupos voluminosos también pueden incluir oligómeros y polímeros que son especies de cadena ramificada o lineal. Se espera que las especies ramificadas aumenten más la rigidez de la estructura por unidad de peso molecular ganado que las especies de cadena lineal.

En vista de lo anterior, es evidente que la selección apropiada de un grupo enlazador que proporcione una orientación adecuada, entropía y propiedades físico-químicas está dentro de la especialización en la técnica.

Los enlazadores se pueden unir a la rapamicina o a un azúcar utilizando grupos funcionales reactivos. Los grupos funcionales reactivos se seleccionan en relación a los grupos funcionales disponibles en la rapamicina o en el azúcar para unir, o que se introducen en la rapamicina o en el azúcar con este propósito. Por ejemplo, la reacción entre un ácido carboxílico del enlazador y una amina primaria o secundaria del azúcar en presencia de los agentes activadores adecuados resulta en la formación de un grupo amida uniendo covalentemente el azúcar al enlazador. La reacción entre el grupo amina del enlazador y un haluro de sulfonilo del azúcar resulta en la formación de un grupo sulfonamida uniendo covalentemente el azúcar al enlazador. La reacción entre un haluro de alquilo o arilo del enlazador con un alcohol del azúcar resulta en la formación de un grupo éter que une covalentemente el azúcar al enlazador.

ES 2 286 637 T3

Cuando faltan los grupos funcionales, se pueden crear mediante reacciones químicas que se describen en libros estándar de química orgánica tales como *Advanced Organic Chemistry*, Jerry March, John Wiley & Sons (5th Ed., 2000). El término enlazador comprende todo lo que no se considera parte del azúcar o la rapamicina. Los enlazadores se pueden derivar de compuestos lineales que tienen grupos funcionales reactivos en el extremo del enlazador.

5 Enlazadores divalentes adecuados incluyen, a modo de ejemplo, aquellos derivados de los ácidos dicarboxílicos, disulfonilhaluros, dialdehídos, dicetonas, dihaluros, diisocianatos, diaminas, dioles, mezclas de ácidos carboxílicos, haluros de sulfonilo, aldehídos, cetonas, haluros, isocianatos, aminas y dioles. En cada caso el grupo funcional del ácido carboxílico, haluro de sulfonilo, aldehído, cetona, haluro, isocianato, amina y diol reacciona con una funcionalidad
10 complementaria en el azúcar y la rapamicina para formar un enlace covalente. Tal funcionalidad complementaria es bien conocida en la técnica como se ilustra en la anteriormente discutida Tabla 1.

En formas de realización de la invención, el enlazador (X) se selecciona del grupo que consiste en: (i) $-R^3C(O)$; (ii) $-C(O)R^3$, (iii) $-R^3S(O)_2$; o (iv) $-S(O)_2R^3$ donde R^3 se selecciona del grupo que consiste en: (i) $-(CH_2)_p$ donde p es un
15 número entero de 1 a 18, (ii) $-(CH_2)_n-O-(CH_2)_m-$ donde n y m son cada uno independientemente un número entero de 2 a 6, o (iii) un enlace. Se debe entender que el enlazador (X) puede ser el mismo o diferente en cada caso, es decir, en las posiciones 31 y 42. En formas de realización adicionales de la invención, el enlazador (X) es un carbonilo (C=O), sulfonilo (O=S=O) o un grupo funcional individual. Los enlazadores carbonilos pueden estar en la posición 31, en la posición 42 o en ambas. En otras formas de realización, R^1 es $-C(O)-Z$ y R^2 es H o R^2 es $-C(O)-Z$ y R^1 es H.

20 Por lo tanto, los derivados carbohidratados de la rapamicina que tienen la estructura de la fórmula I están en el ámbito de esta invención incluyen, por ejemplo, aquellos que se muestran posteriormente (incluyendo sales farmacéuticamente aceptables de los mismos):

- 25 42-O-(Metil-D-glucosilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(Metil-D-glucosilcarboniloxi)etil]rapamicina;
31-O-(Metil-D-glucosilcarbonil)rapamicina;
30 42-O-(2-Hidroxietil)-31-O-(metil-D-glucosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-O-Metil-D-fructosilcarbonil)rapamicina;
35 42-O-[2-(2-O-Metil-D-fructosilcarboniloxi)etil]rapamicina;
42-O-(2-O-Metil-L-fructosilcarbonil)rapamicina;
40 42-O-[2-(2-O-Metil-L-fructosilcarboniloxi)etil]rapamicina;
31-O-(2-O-Metil-D-fructosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietil)-31-O-(2-O-metil-D-fructosilcarbonil)rapamicina;
45 31-O-(2-O-Metil-L-fructosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietil)-31-O-(2-O-metil-L-fructosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(D-Alosilcarbonil)rapamicina;
50 42-O-[2-(D-Alosilcarboniloxi)etil]rapamicina;
42-O-(L-Alosilcarbonil)rapamicina;
55 42-O-[2-(L-Alosilcarboniloxi)etil]rapamicina;
31-O-(D-Alosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietil)-31-O-(D-alosilcarbonil)rapamicina;
60 31-O-(L-Alosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietil)-31-O-(L-alosilcarbonil)rapamicina;
65 42-O-(D-Fructosilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(D-fructosilcarboniloxi)etil]rapamicina;

ES 2 286 637 T3

- 42-O-(L-Fructosilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(L-Fructosilcarboniloxi)etil]rapamicina;
5 31-O-(D-Fructosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-fructosilcarbonil)rapamicina;
31-O-(L-Fructosilcarbonil)rapamicina;
10 42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(L-fructosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(D-Fucitolilcarbonil)rapamicina;
15 42-O-[2-(D-Fucitolilcarboniloxi)etil]rapamicina;
42-O-(L-Fucitolilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(L-Fucitolilcarboniloxi)etil]rapamicina;
20 31-O-(D-Fucitolilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-fucitolilcarbonil)rapamicina;
25 31-O-(L-Fucitolilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(L-fucitolilcarbonil)rapamicina;
42-O-(D-Glucalilcarbonil)rapamicina;
30 42-O-[2-(D-Glucalilcarboniloxi)etil]rapamicina;
42-O-(D-Glucosilcarbonil)rapamicina;
35 42-O-[2-(D-Glucosilcarboniloxi)etil]rapamicina;
42-O-(L-Glucosilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(L-Glucosilcarboniloxi)etil]rapamicina;
40 31-O-(D-Glucalilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-glucalilcarbonil)rapamicina;
45 31-O-(D-Glucosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-glucosilcarbonil)rapamicina;
31-O-(L-Glucosilcarbonil)rapamicina;
50 42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(L-glucosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(D-Lactalilcarbonil)rapamicina;
55 42-O-[2-(D-Lactalilcarboniloxi)etil]rapamicina;
31-O-(D-Lactalilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-lactalilcarbonil)rapamicina;
60 42-O-(D-Sacarosilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(D-Sacarosilcarboniloxi)etil]rapamicina;
65 31-O-(D-Sacarosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-sacarosilcarbonil)rapamicina;

ES 2 286 637 T3

- 42-O-(D-Gentobiosilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(D-Gentobiosilcarboniloxi)etil]rapamicina;
5 31-O-(D-Gentobiosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-gentobiosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(D-Celobiosilcarbonil)rapamicina;
10 42-O-[2-(D-Celobiosilcarboniloxi)etil]rapamicina;
31-O-(D-Celobiosilcarbonil)rapamicina;
15 42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-celobiosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(D-Turanosilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(D-Turanosilcarboniloxi)etil]rapamicina;
20 31-O-(D-Turanosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-turanosilcarbonil)rapamicina;
25 42-O-(D-Palatinosilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(D-Palatinosilcarboniloxi)etil]rapamicina;
31-O-(D-Palatinosilcarbonil)rapamicina;
30 42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-palatinosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(D-Isomaltosilcarbonil)rapamicina;
35 42-O-[2-(D-Isomaltosilcarboniloxi)etil]rapamicina;
31-O-(D-Isomaltosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-isomaltosilcarbonil)rapamicina;
40 42-O-(D-Maltulosilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(D-Maltulosilcarboniloxi)etil]rapamicina;
45 42-O-(D-Maltosilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(D-Maltosilcarboniloxi)etil]rapamicina;
31-O-(D-Maltulosilcarbonil)rapamicina;
50 42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-maltulosilcarbonil)rapamicina;
31-O-(D-Maltosilcarbonil)rapamicina;
55 42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-maltosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(L-Sorbosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(D-Sorbosilcarbonil)rapamicina;
60 31-O-(L-Sorbosilcarbonil)rapamicina;
31-O-(D-Sorbosilcarbonil)rapamicina;
65 42-O-[2-(L-Sorbosilcarboniloxi)etil]rapamicina;
42-O-[2-(D-Sorbosilcarboniloxi)etil]rapamicina;

ES 2 286 637 T3

- 42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-sorbosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(L-sorbosilcarbonil)rapamicina;
5 42-O-(D-Lactosilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(D-Lactosilcarboniloxi)etyl]rapamicina;
31-O-(Metil-D-Lactosilcarbonil)rapamicina;
10 42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(metil-D-lactosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(D-Melibiosilcarbonil)rapamicina;
15 31-O-(D-Melibiosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-melibiosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(D-Leucrosilcarbonil)rapamicina;
20 42-O-[2-(D-Leucrosilcarboniloxi)etyl]rapamicina;
31-O-(D-Leucrosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-leucrosilcarbonil)rapamicina;
25 42-O-(D-Rafinosilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(D-Rafinosilcarboniloxi)etyl]rapamicina;
30 31-O-(D-Rafinosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-rafinosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(D-Isomaltotriosilcarbonil)rapamicina;
35 42-O-[2-(D-Isomaltotriosilcarboniloxi)etyl]rapamicina;
31-O-(D-Isomaltotriosilcarbonil)rapamicina;
40 42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-isomaltotriosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(D-Celotetraosilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(D-Celotetraosilcarboniloxi)etyl]rapamicina;
45 31-O-(D-Celotetraosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-celotetraosilcarbonil)rapamicina;
50 42-O-(Valiolilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(D-Valiolilcarboniloxi)etyl]rapamicina;
31-O-(Valiolilcarbonil)rapamicina;
55 42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(valiolilcarbonil)rapamicina;
42-O-(Valiolonilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(D-Valiolonilcarboniloxi)etyl]rapamicina;
60 31-O-(Valiolonilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(valiolonilcarbonil)rapamicina;
65 42-O-(Valienolilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(D-Valienolilcarboniloxi)etyl]rapamicina;

31-O-(Valienolilcarbonil)rapamicina;

42-O-(2-Hidroxietil)-31-O-(valienolilcarbonil)rapamicina;

5 42-O-(Valienoneilcarbonil)rapamicina;

42-O-[2-(D-Valienoneilcarboniloxi)etil]rapamicina;

31-O-(Valienoneilcarbonil)rapamicina;

10 42-O-(2-Hidroxietil)-31-O-(valienoneilcarbonil)rapamicina.

Además, la invención se dirige a un derivado de la rapamicina que tiene que tiene la estructura de la fórmula I en donde $n=1$, R^1 es H y R^2 es X-Z, en donde X es un enlazador, y Z un grupo carbohidrato independientemente seleccionado del grupo que consiste en un monosacárido, un oligosacárido y un pseudoazúcar.

La invención también se dirige a una composición farmacéutica que comprende el antes mencionado derivado carbohidratado de la rapamicina, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un soporte farmacéuticamente aceptable.

20 *Preparación de los derivados carbohidratados de rapamicina*

Un procedimiento general para sintetizar los derivados carbohidratados de la rapamicina de la presente invención implica el acoplamiento de un monosacárido, oligosacárido, pseudoazúcar o derivado de azúcar a la posición 31 y/o 42 de la rapamicina activada.

Por ejemplo, según se muestra en la Figura 2, la rapamicina (II) puede reaccionar con cloroformato de p-nitrofenol para producir una rapamicina activada (III). En condiciones cuidadosamente controladas, la reacción tendrá lugar preferentemente en el hidroxilo de la posición 42. Alterando las condiciones de reacción, los grupos hidroxilo de las posiciones 31 y 42 se pueden activar similarmente. La activación selectiva del grupo hidroxilo de la posición 31 se puede lograr protegiendo primero el grupo hidroxilo de la posición 42 con, por ejemplo un grupo alquilsililo tales como trietilsililo, triisopropilsililo o ter-butildimetilsililo, y después mediante reacción con cloroformato de p-nitrofenol u otros cloroformatos. La eliminación del grupo protector proporciona entonces una rapamicina activada en el hidroxilo de la posición 31. Así, es posible preparar un derivado de rapamicina que está selectivamente activado en la posición 31, en la posición 42 o en ambas.

Después de esto, en el segundo paso, un grupo azúcar o un derivado del azúcar reacciona con la rapamicina activada (III) para dar un derivado carbohidratado de la rapamicina. Cuando el grupo funcional reactivo en el grupo azúcar o derivado de azúcar es un grupo hidroxilo, la reacción con la rapamicina activada puede tener lugar en un grupo hidroxilo primario para formar un enlace carbonato con la rapamicina. El enlazador resultante es un grupo carbonilo. Cuando el grupo funcional reactivo en el grupo azúcar o derivado de azúcar es un grupo amino (que puede estar situado en cualquier posición del azúcar), se produce un enlace carbamato con la rapamicina y el enlazador resultante es un grupo carbonilo. Se pueden preparar derivados de azúcar con sustituyentes amino, por ejemplo, azúcar-X-NH₂ o azúcar-NH₂, a partir de precursores por métodos convencionales. Por ejemplo, reducción de azúcar-X-N₃ o deftaloilación de de azúcar-X-NPhth, donde Phth es ftalilo, produce un derivado de azúcar con sustituyentes amino. Estos precursores se pueden sintetizar mediante glicosidación de grupos enlazadores con los donantes de glicosil activados apropiados.

Así, utilizando la aproximación general descrita aquí es posible preparar una amplia gama de derivados carbohidratados de la rapamicina en los que los grupos hidroxilo de las posiciones 31 y/o 42 están modificados con una amplia gama de azúcares o derivados de azúcares.

Se contempla que los grupos hidroxilo de la rapamicina o un metabolito de la rapamicina, incluyendo aquellos que están localizados en otras posiciones que la 31 y la 42, también se pueden glicosilar según se describe aquí, y los derivados carbohidratados de la rapamicina resultantes mostrarán también mayor solubilidad en agua y/o propiedades farmacocinéticas y/o farmacodinámicas aumentadas comparadas con sus equivalentes no glicosilados.

Los metabolitos de rapamicina son conocidos en la técnica. Por ejemplo, Streit *et al.* identificaron estructuralmente varios metabolitos de rapamicina de microsomas de hígado humano. Ver, F. Streit *et al.*, Drug Metabol. Disp. 24, 1272 (1996). Estos incluyen la 41-demetil rapamicina, la 7-demetil rapamicina, la 11-hidroxi rapamicina, y un producto de degradación de la hidrólisis del éster 24-hidroxi de la rapamicina. También se ha demostrado que los metabolitos de rapamicina pueden sufrir esta hidrólisis de éster. Streit también identifica parcialmente metabolitos de rapamicina di, tri y tetra hidroxilados. Wang *et al.* describieron 16 metabolitos hidroxilados y/o demetilados en la bilis de ratas tratadas con rapamicina. Ver, C.K. Wang *et al.*, Proceedings of the 41st ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics, San Francisco, 545 (1993). Nickmilder *et al.* han identificado metabolitos de rapamicina con sustituyentes 3,4 y 5,6 dihidrodiol en microsomas de hígado de rata. Ver, M.J.M. Nickmilder *et al.*, Xenobiotica 27, 869 (1997). En las concentraciones valle en sangre, Streit *et al.* han identificado metabolitos de rapamicina con sustituyentes 41-demetil, hidroxi, dihidroxi, y didemetil. Ver, F. Streit *et al.*, Clin. Chem. 42, 1417 (1996). Estos metabolitos representaban

el 56% del total de derivados de rapamicina medidos. Finalmente, Leung *et al.* estudiaron la distribución de [¹⁴C]-rapamicina en varones sanos voluntarios. Describieron que la rapamicina representa aproximadamente el 35% del total de radiactividad en sangre y que los metabolitos de rapamicina 41-demetil, 7-demetil, y varios hidroxil, hidrodemetil y didemetil representaban individualmente entre el 1 y el 12% de la radiactividad total. Los metabolitos de rapamicina se pueden aislar de un número diferente de fuentes, incluyendo pero no estando limitado a muestras de sangre, orina o heces, de microsomas de hígado o de cultivos de microorganismos.

Por lo tanto, además de los grupos hidroxilos en las posiciones 31 y 42 de un interés particular, se incluyen aquellos en las posiciones 27, 41, 3, 4, 5, 6, 7, 11 y 24 de la rapamicina o metabolitos de rapamicina.

Composiciones farmacéuticas y utilidad

Los compuestos de esta invención se pueden administrar solos o con un soporte farmacéutico a un animal, tal como a un mamífero de sangre caliente, y especialmente a seres humanos, en necesidad de los mismos. Las composiciones farmacéuticas también pueden contener otras drogas, particularmente drogas que se sabe tienen diferentes mecanismos de acción. Así, las composiciones farmacéuticas pueden contener, además de los compuestos de la presente invención, al menos una droga de otra clase, por ejemplo, un inhibidor de calcineurina, un esteroide u otros compuestos inmunomoduladores que pueden interferir con la síntesis de ADN o con la señalización intra- o intercelular o con otros procesos celulares. Ejemplos de inhibidores de calcineurina incluyen Ciclosporina A (disponible de Novartis como Sandimmune[®] y Neoral[®]) y FK506 (también conocido como tacrolimus o Prograf[®] disponible de Fujisawa). Ejemplos de derivados de ciclosporina son aquellos que se exponen en WO99/18120. Ejemplos de esteroides incluyen predisona, prednisolona o metilprednisolona. Ejemplos de estos compuestos inmunomoduladores incluyen azotioprina, ácido micofenólico (micofenolato mofetil o Cellep[®] disponible de Roche), leflunomida disponible de Aventis, Brequinar, Mizoribina, anticuerpos incluyendo α -LFA-1 y α -ICAM-1, timoglobulina, antagonistas de IL-2R incluyendo basiliximab (Stimulect[®]), y daclizumab (Zenapax[®]), alemtuzumab (Campath 1H[®], un anticuerpo monoclonal humanizado que reconoce CD52), Orthoclone OKT3[®] o muromoab CD3, inmunoglobulina de linfocito Atgam(R), ATG (globulina antitímocito), y otros compuestos. Las drogas individuales, y el derivado carbohidratado de la rapamicina, se pueden formular por separado como componentes distintos de la composición farmacéutica, y administrarse juntos o separados.

El soporte farmacéuticamente efectivo puede ser sólido o líquido. Un soporte sólido puede incluir una o más sustancias que también pueden actuar como agentes saborizantes, lubricantes, solubilizadores, agentes suspensores, rellenos, agentes deslizantes, asistentes de compresión, atadores o agentes desintegradores de comprimidos; también puede ser material de encapsulación. En polvos, el soporte es un sólido finamente dividido que está en una mezcla con el ingrediente activo finamente dividido. En comprimidos, el ingrediente activo se mezcla con un soporte que tenga las propiedades de compresión necesarias en proporciones adecuadas y se compacta en la forma y el tamaño deseados. Los polvos y comprimidos pueden contener hasta un 99% de ingrediente activo. Los soportes sólidos adecuados incluyen, por ejemplo, fosfato cálcico, estearato de magnesio, talco, azúcares, lactosa, dextrina, almidón, gelatina, celulosa, metil celulosa, carboximetil celulosa de sodio, polivinilpirrolidona, ceras de bajo punto de fusión y resinas de intercambio iónico.

Los soportes líquidos se utilizan para preparar soluciones, suspensiones, emulsiones, jarabes, elixires o composiciones presurizadas. El ingrediente activo se puede disolver o suspender en un soporte líquido farmacéuticamente aceptable como agua, un solvente orgánico, una mezcla de ambos o aceites o grasas farmacéuticamente aceptables. El soporte líquido puede contener otros aditivos adecuados farmacéuticamente tales como solubilizantes, emulsificantes, agentes tensoactivos, tampones, conservantes, edulcorantes, agentes saborizantes, agentes suspensores, agentes espesantes, colorantes, reguladores de viscosidad, estabilizantes u osmo-reguladores. Ejemplos adecuados de soportes líquidos para administración oral y parenteral incluyen agua (que parcialmente contiene aditivos según lo anterior, por ejemplo, derivados de celulosa, posiblemente una solución de carboximetil celulosa de sodio), alcoholes (incluyendo alcoholes monohídricos y alcoholes polihídricos, por ejemplo glicoles) y sus derivados, y aceites (por ejemplo, aceite de coco fraccionado y aceite de arachis). Para la administración parenteral, el soporte también puede ser un éster de aceite como oleato de etilo y mistado de isopropilo. Los soportes líquidos estériles son útiles en composiciones estériles en forma líquida para administración parenteral. El soporte líquido para las composiciones presurizadas puede ser un hidrocarburo halogenado u otro propulsor farmacéuticamente aceptable.

Las composiciones farmacéuticas líquidas que son soluciones o suspensiones estériles son adecuadas para inyección intramuscular, intraperitoneal y subcutánea. Las soluciones estériles también se pueden administrar por vía intravenosa. Los compuestos también se pueden administrar oralmente en forma de composición líquida o sólida. También se contempla la administración pulmonar.

La composición farmacéutica puede estar en forma unidades de dosificación, por ejemplo, como comprimidos o cápsulas. En dicha forma, la composición se subdivide en unidades de dosificación que contienen cantidades apropiadas del ingrediente activo; las formas de unidades de dosificación pueden ser composiciones empaquetadas, por ejemplo, polvos empaquetados, viales, ampollas, jeringuillas pre-rellenas, o bolsitas que contienen líquido. La forma de unidades de dosificación puede ser, por ejemplo, una cápsula o un comprimido mismo, o puede ser el número apropiado de cualquiera de esas composiciones en forma empaquetada. La dosis que se debe utilizar en el tratamiento se debe determinar subjetivamente por el médico.

ES 2 286 637 T3

Además, los compuestos de esta invención se pueden usar como una solución, crema, o loción mediante una formulación con vehículos farmacéuticamente aceptables y aplicados en el área afectada.

Los compuestos de esta invención también se pueden usar conjuntamente con un dispositivo médico. Por ejemplo, se puede usar un derivado carbohidratado de la rapamicina como componente de un stent intravascular cubierto o impregnado de droga para inhibir la proliferación del tejido neointimo y por lo tanto prevenir la restenosis (Ver, por ejemplo la Patente de EE.UU. No. 5,665,728). Los derivados carbohidratados de rapamicina también se pueden usar como componentes de otros dispositivos médicos cubiertos o impregnados de drogas tales como catéteres, bombas, o dispositivos médicos de reparto de droga tales como bolas o discos que contienen drogas. La presencia de rapamicina, un inmunosupresor potente, puede disminuir la inflamación, rechazo u otras respuestas inmunes a la presencias de estos dispositivos médicos implantables en el cuerpo.

Los siguientes ejemplos se ofrecen para ilustrar esta invención y no se deben interpretar en ningún caso como limitantes del ámbito de la presente invención.

Ejemplos

En los ejemplos posteriores, las siguientes abreviaturas tienen los siguientes significados. Si una abreviatura no está definida, tiene un significado generalmente aceptado.

g	=	gramo
mg	=	miligramo
kg	=	kilogramo
mmol	=	milimol
M	=	molar
N	=	Normal
mL	=	mililitro
min	=	minuto
BzCl	=	cloruro de benzoilo
DMAP	=	4-dimetilaminopiridina
DMS	=	dimetil sulfato
Py	=	piridina
DMF	=	N,N-dimetilformamida
Me	=	metil
HOAt	=	1-hidroxi-7-azabenzotriazol
HOBT	=	hidrato de 1-hidroxibenzotriazol
TBDMSiCl	=	cloruro de ter-butildimeilsililo
AcOH	=	ácido acético
THF	=	tetrahidrofurano
LC/MS o LCMS	=	cromatografía líquida/espectroscopia de masas
HPLC	=	cromatografía líquida de alta resolución
conc.	=	concentrado
eq.	=	equivalentes

ES 2 286 637 T3

En los siguientes ejemplos y procedimientos, los materiales de partida están comercialmente disponibles de Aldrich Chemical Company, Inc., Milwaukee, WI 53233 EE.UU.; Lancaster Synthesis, Inc., NH 03087 EE.UU.; Sigma, St. Louis MO 63178 EE.UU.; Maybridge Chemical Co. Trevillet, Tintagel, Cornwall PL34 OHW Reino Unido; TCI America, Portland OR 97203; Frontier Scientific, Utah, EE.UU.; y Bachem, Torrance, California, EE.UU.

5 Ejemplo 1

Síntesis de 42-O-(D-Fructosilcarbonil)rapamicina

10 La Figura 3 muestra el método de síntesis para la 42-O-(D-Fructosilcarbonil)rapamicina. El procedimiento detallado se describe a continuación:

42-O-(4-nitrofeniloxicarbonil)rapamicina

15 Se enfrió una solución de 10.0 g de rapamicina en 50 mL de diclorometano y 10 mL de piridina anhidra a -78°C en una atmósfera de nitrógeno. A esta solución se le añadieron 3.31 g de cloformato de 4-nitrofenilo y la mezcla de reacción se agitó durante 1 hora a -78°C, y después se llevó directamente a temperatura ambiente. La reacción se completó tras 2 horas. La mezcla se diluyó con agua y se extrajo con diclorometano. La fase orgánica se lavó con agua, se secó sobre Na₂SO₄ y se evaporó. La cromatografía en una columna de gel de sílice (solvente: hexanos-acetato de etilo, 2:1) produjo 9.66 g de 42-O-(4-nitrofeniloxicarbonil)rapamicina como un sólido amarillento (liofilizado del benceno). C₅₈H₈₂N₂O₁₇, M=1078.6 MS(ES+); m/z=1101.7 (M+Na)⁺.

42-O-(D-Fructosilcarbonil)rapamicina

25 A una solución de D-fructosa (2.025 g, 11.24 mmol) y DMAP (250 mg) en N,N-dimetilformamida (25 mL) se le añadió 42-O-(4-nitrofeniloxicarbonil)rapamicina (4.05 g, 3.757 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. El solvente se evaporó al vacío y el residuo se sometió a cromatografía flash en una columna de gel de sílice utilizando diclorometano-metanol (9:1) como eluyente. El producto obtenido se repurificó en una columna preparativa de HPLC (metanol al 80%-agua al 20%, flujo 10 mL/min), produciendo 1.461 g de 42-O-(D-Fructosilcarbonil)rapamicina como un sólido blanco (liofilizado del benceno). C₅₈H₈₉NO₂₀, M=1119.6 MS(ES+); m/z=1142.7 (M+Na)⁺. Como alternativa se pudo utilizar HOBT (o HOAT) en lugar de DMAP como se explica en el ejemplo 3.

35 Ejemplo 2

Siguiendo procedimientos análogos a los explicados en el Ejemplo 1, y utilizando los azúcares o derivados de azúcares apropiados, se han obtenido los siguientes compuestos:

40 42-O-(D-Glucosilcarbonil)rapamicina

42-O-(Metil-D-glucosilcarbonil)rapamicina

42-O-(D-Alosilcarbonil)rapamicina

45 42-O-(D-Fructosilcarbonil)rapamicina

42-O-(L-Fructosilcarbonil)rapamicina

42-O-(D-Fucitolilcarbonil)rapamicina

50 42-O-(L-Fucitolilcarbonil)rapamicina

42-O-(D-Glucalilcarbonil)rapamicina

55 42-O-(L-Sorbosilcarbonil)rapamicina

42-O-(2-O-Metil-D-fructosilcarbonil)rapamicina

42-O-(D-Lactalilcarbonil)rapamicina

60 42-O-(D-Sacarosilcarbonil)rapamicina

42-O-(D-Gentobiosilcarbonil)rapamicina

65 42-O-(D-Celobiosilcarbonil)rapamicina

42-O-(D-Turanosilcarbonil)rapamicina

42-O-(D-Palatinosilcarbonil)rapamicina

42-O-(D-Isomaltosilcarbonil)rapamicina

5 42-O-(D-Maltulosilcarbonil)rapamicina

42-O-(D-Maltosilcarbonil)rapamicina

10 42-O-(D-Lactosilcarbonil)rapamicina

42-O-(Metil-D-lactosilcarbonil)rapamicina

42-O-(D-Melibiosilcarbonil)rapamicina

15 42-O-(D-Leucrosilcarbonil)rapamicina

42-O-(D-Rafinosilcarbonil)rapamicina

20 42-O-(D-Isomaltotriosilcarbonil)rapamicina

42-O-(D-Celotetraosilcarbonil)rapamicina

Ejemplo 3

25 *Síntesis de 31-O-(D-Fructosilcarbonil)rapamicina*

La Figura 4 muestra el método de síntesis para la 31-O-(D-Fructosilcarbonil)rapamicina. El procedimiento detallado se describe a continuación:

30 *42-O-(ter-Butildimetilsilil)rapamicina*

A una solución de rapamicina (10 g) e imidazol (2.2 g) en N,N-dimetilformamida (25 mL) se le añadió cloruro de ter-butildimetilsililo (1.76 g), y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente bajo nitrógeno durante 5 días. El solvente se evaporó a vacío elevado y el residuo se sometió a cromatografía en una columna de gel de sílice (solvente: hexanos-acetato de etilo, 3:2) produciendo 5.84 g de 42-O-(ter-butildimetilsilil)rapamicina como una espuma blancuzca. $C_{57}H_{93}NO_{13}Si$, $M=1027.6$ MS(ES+): $m/z=1050.7$ (M+Na)⁺.

42-O-(ter-Butildimetilsilil)-31-O-(4-nitrofeniloxicarbonil)rapamicina

40 La 42-O-(ter-butildimetilsilil)rapamicina (5.84 g) se disolvió en diclorometano (30 mL) y piridina (6 mL), se añadió clorofornato de 4-nitrofenilo y la mezcla de reacción se agitó bajo nitrógeno a temperatura ambiente durante 2 horas. Los solventes se evaporaron y el residuo se purificó en una columna de gel de sílice. La elución con hexanos-acetato de etilo (3:1) produjo el compuesto titulado como una espuma amarillenta (5.4 g). $C_{64}H_{96}N_2O_{17}Si$, $M=1192.6$ MS(ES+): $m/z=1215.6$ (M+Na)⁺.

45 *31-O-(4-nitrofeniloxicarbonil)rapamicina*

Se disolvió la 42-O-(ter-Butildimetilsilil)-31-O-(4-nitrofeniloxicarbonil)rapamicina (5.4 g) en una mezcla de ácido acético (30 mL), tetrahidrofurano (10 mL) y agua (10 mL). Se agitó a temperatura ambiente durante 20 horas. La mezcla de reacción se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo (3 x 200 mL). La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico anhidro, se filtró y se evaporó. La cromatografía en columna de gel de sílice (solvente: hexanos-acetato de etilo, 3:2) produjo 2.1 g de 31-O-(4-nitrofeniloxicarbonil)rapamicina como un sólido amarillento (liofilizado del benceno). $C_{58}H_{82}N_2O_{17}$, $M=1078.6$ MS(ES+): $m/z=1101.6$ (M+Na)⁺.

55 *31-O-(D-Fructosilcarbonil)rapamicina*

Una mezcla de 31-O-(4-nitrofeniloxicarbonil)rapamicina (1.3 g), D-fructosa (0.434 g) y 1-hidroxibenzotriazol (HOBT) (0.325 g) en piridina anhidra (20 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 3 días. Después, el solvente se evaporó a baja presión y el residuo se sometió a cromatografía en columna de gel de sílice. La elución con diclorometano-metanol (10:1) proporcionó 31-O-(D-fructosilcarbonil)rapamicina (0.625 g, 46%) como un sólido blanco (liofilizado del benceno). $C_{58}H_{89}NO_{20}$, $M=1119.6$ MS(ES+): $m/z=1142.7$ (M+Na)⁺.

La 31-O-(D-alosilcarbonil)rapamicina también se preparó de forma análoga. Además, de forma alternativa, se puede utilizar DMAP en lugar de HOBT como según se explica en el Ejemplo 1.

65

ES 2 286 637 T3

Ejemplo 4

Síntesis de 42-O-(2-O-metil-β-D-fructosilcarbonil)rapamicina

5 *1,3,4,5-Tetra-O-benzoil-β-D-fructopiranosas*

Se enfrió una mezcla de piridina anhidra (52 mL), cloruro de bencilo (51.5 mL, 0.444 mmol) y diclorometano anhidro (125 mL) a -10°C durante 18 horas. Se añadió en porciones fructosa (20 g, 0.111 mmol) en polvo fino y la mezcla de reacción se agitó a -10°C durante 18 horas. La mezcla de reacción se enfrió con agua helada, se diluyó con diclorometano y se transfirió a un embudo decantación. Se separó la fase orgánica y se lavó con ácido cítrico al 5%, bicarbonato sódico saturado, agua y se secó sobre sulfato sódico. Se filtró y el solvente se evaporó. El residuo se disolvió en éter dietílico (75 mL) y después se añadió lentamente a hexanos (300 mL) para dar lugar a un sólido blanco que tras secarse produjo 58.9 g (89%) de 1,3,4,5-tetra-O-benzoil-β-D-fructopiranosas.

15 *1,3,4,5-Tetra-O-benzoil-2-O-metil-β-D-fructopiranosas*

A una solución de 1,3,4,5-tetra-O-benzoil-β-D-fructopiranosas (10.00 g, 16.8 mmol) en acetona (40 mL) se añadió sulfato de dimetilo (2.4 mL, 25.16 mmol, 1.5 eq.) seguido por carbonato potásico (3.48 g, 25.16 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a 50°C bajo nitrógeno durante 18 horas. Los solventes se retiraron al vacío y el residuo resultante se disolvió en acetato de etilo (150 mL), se lavó con ácido cítrico al 5%, agua, salmuera, se secó sobre sulfato sódico, se filtró y concentró hasta obtener un sólido oleaginoso. La purificación en una columna de gel de sílice (hexano:acetato de etilo, 4:1) produjo 10.0 g (98%) del compuesto del título como una espuma blanca.

25 *2-O-metil-β-D-fructopiranosas*

Se añadió una solución de metóxido sódico (0.5M en metanol, 10.0 mL) a una solución agitada vigorosamente de 1,3,4,5-tetra-O-benzoil-2-O-metil-β-D-fructopiranosas (10.0 g, 16.4 mmol) en metanol anhidro. La reacción se completó tras agitar durante 1.5 horas a temperatura ambiente. El pH se ajustó a 7.0 con Amberlite IRC-50 (~4.0 g). Los sólidos se retiraron mediante filtración y el filtrado se concentró al vacío. La purificación en una columna de gel de sílice (metanol:diclorometano, 4:1 y 3:1) dio lugar al producto como una espuma blanca, 2.70 g (81%).

42-O-(2-O-metil-β-D-fructosilcarbonil)rapamicina

Una mezcla de 42-O-(4-nitrofeniloxicarbonil)rapamicina (10.0 g, 9.3 mmol), 2-O-metil-β-D-fructopiranosas (6.2 g, 28 mmol, 3 eq.) y 1-hidroxi-7-azabenzotriazol (HOAt) (2.5 g, 2 eq.) en piridina anhidra (60 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 4 días. Después, se evaporó el solvente a presión reducida y el residuo se redisolvió en acetato de etilo, lavado con agua. La capa orgánica se evaporó y el residuo se sometió a cromatografía en una columna de gel de sílice. La elución con diclorometano-metanol (100:5) produjo 42-O-(2-O-metil-β-D-fructosilcarbonil)rapamicina (4.7 g) como un sólido blanco (liofilizado del benceno). C₅₉H₉₁NO₂₀, M=1133.7 MS(ES+): m/z=1156.7 (M+Na)⁺.

Ejemplo 5

45 *Estabilidad de los derivados carbohidratados de la rapamicina respecto a la hidrólisis en medio ácido*

Se investigó la estabilidad respecto a la hidrólisis en medio ácido de varios derivados carbohidratados de la rapamicina disolviendo los compuestos en metanol/HCl 0.1N (pH 1.5) 70/30 y después midiendo por HPLC la cantidad de rapamicina libre en las muestras tras 1 hora para determinar el alcance de la hidrólisis. Los resultados están resumidos en la Tabla 2.

55

60

65

TABLA 2

Hidrólisis catalizada por ácido de los derivados carbohidratados de la rapamicina

Compuesto	Alcance de la Hidrólisis (%)
42-O- (D- Fructosilcarbonil) rapamicina	<1
42-O- (D- Glucosilcarbonil) rapamicina	<1
42-O- (D- Maltulosilcarbonil) rapamicina	<1
42-O- (L- Fucitolilcarbonil) rapamicina	<1
42-O- (D- Lactalilcarbonil) rapamicina	<1
31-O- (D- Fructosilcarbonil) rapamicina	<1
42-O- (D- Alosilcarbonil) rapamicina	<1

Como puede verse en la Tabla 2, todos los compuestos exhibieron una estabilidad buena en medio ácido con una hidrólisis pequeña o no observable.

Ejemplo 6

Hidrólisis de los derivados carbohidratados de la rapamicina en sangre humana

Se investigó la capacidad de varios derivados carbohidratados de la rapamicina para producir rapamicina libre mediante hidrólisis en la sangre añadiendo los compuestos en sangre humana y después midiendo mediante HPLC la cantidad de rapamicina libre en las muestras tras 1 hora para determinar el alcance de la hidrólisis. Los resultados están resumidos en la Tabla 3.

TABLA 3

Hidrólisis de los derivados carbohidratados de la rapamicina en sangre

Compuesto	Alcance de la Hidrólisis (%)
42-O- (D-Fructosilcarbonil) rapamicina	28±2
42-O- (D-Glucosilcarbonil) rapamicina	5±1
42-O- (D-Maltulosilcarbonil) rapamicina	13±4
42-O- (L-Fucitolilcarbonil) rapamicina	31±4
42-O- (D-Lactalilcarbonil) rapamicina	2±1
31-O- (D-Fructosilcarbonil) rapamicina	23±05
42-O- (D-Alosilcarbonil) rapamicina	39±4
31-O- (D-Alosilcarbonil) rapamicina	34±2

Como se muestra en la Tabla 3, el alcance de la hidrólisis en sangre humana tuvo una gran variación dependiendo de la naturaleza del grupo carbohidrato. La incorporación a través de enlaces carbonato de azúcares tales como D-fructosa, L-fucitol, o D-alosa generalmente produjo un grado mayor de hidrólisis que la que se observó cuando se utilizaron D-glucosa, D-maltulosa y D-lactal. Los resultados también muestran que cuando se elige un azúcar adecuado tanto los derivados carbohidratados de la rapamicina en posiciones 31-O y 42-O son efectivos produciendo rapamicina libre en la sangre. Además, anteriormente, experimentos similares que investigaron la hidrólisis en sangre de los derivados carbohidratados de la rapamicina con enlaces carbamato mostraron poca o ninguna hidrólisis en contraste con los muchos compuestos con enlaces carbamato en la Tabla 3.

Ejemplo 7

Comparación de la actividad inmunosupresora in vivo de los derivados carbohidratados de la rapamicina con enlaces carbonato y carbamato

Se calculó la actividad inmunosupresora de rapamicina, la 42-O-(D-Fructosilcarbonil)rapamicina y un análogo unido por carbamato de la 42-O-(D-Fructosilcarbonil)rapamicina (una forma no hidrolizable de 42-O-(D-Fructosilcarbonil)rapamicina) en cultivos de linfocitos primarios sanguíneos (PBMC) utilizando azul alamar para detectar la proliferación celular. El análogo carbamato de la 42-O-(D-Fructosilcarbonil)rapamicina se forma a partir de un aminoazúcar en donde el grupo carbohidrato está unido al enlazador carbonilo a través del átomo de nitrógeno del amino del amino-azúcar, formando por lo tanto un enlace carbamato. La Figura 5 ilustra que la 42-O-(D-Fructosilcarbonil)rapamicina produce una inhibición de la proliferación celular similar a la de la rapamicina, mientras que el análogo con enlace carbamato no hidrolizable no tiene ninguna actividad inmunosupresora intrínseca. Estos datos indican que la especie activa es la rapamicina que resulta de la hidrólisis de la 42-O-(D-Fructosilcarbonil)rapamicina durante el curso de los 3 días de cultivo, y no de la 42-O-(D-Fructosilcarbonil)rapamicina no hidrolizada. En otras palabras, la prodroga no parece poseer ninguna actividad inmunosupresora intrínseca y debe ser hidrolizada a rapamicina para

mostrar el efecto farmacológico deseado. Este experimento también demuestra la importancia en la selección del enlace entre el grupo carbohidrato y la rapamicina como, en este ejemplo, un enlace carbonato permite que se produzca la hidrólisis deseada mientras que el enlace carbamato permanece intacto y se libera poca o ninguna rapamicina.

5 Ejemplo 8

Comparación de los perfiles farmacocinéticos de la rapamicina y los derivados carbohidratados de rapamicina en ratas

10 Se determinaron los perfiles farmacocinéticos en ratas de derivados carbohidratados de la rapamicina seleccionados para investigar la capacidad de los derivados de producir rapamicina libre en el torrente sanguíneo *in vivo*. Brevemente, a ratas Sprague Dawley se les dio oralmente una dosis de rapamicina y derivados de 2.5 ó 10 mg/kg. La sangre se extrajo mediante sangrado yugular durante 24 horas y se congeló a -20°C hasta su análisis. La sangre se analizó mediante Cromatografía de Líquidos Espectrometría de Masas para detectar la presencia de rapamicina. Los resultados se resumen en las Figuras 6, 7 y 8.

Como se puede ver en las Figuras 6 y 7, tras la administración oral de rapamicina se observó un aumento rápido en la concentración de rapamicina en la sangre con el máximo de concentración alcanzado aproximadamente a los 30 minutos. Los niveles de rapamicina bajaron después con bastante rapidez durante las siguientes horas. Un perfil similar se observó para la 42-O-(D-glucosilcarbonil)rapamicina. Sorprendentemente, sin embargo, cuando se administraron oralmente la 42-O-(D-fructosilcarbonil)rapamicina o la 42-O-(L-fucitolilcarbonil) rapamicina los niveles de rapamicina en sangre aumentaron de forma gradual para alcanzar la máxima concentración aproximadamente a las 3 horas antes de descender gradualmente con el tiempo (Figura 6). Se observó un perfil similar con la 31-O-(D-fructosilcarbonil)rapamicina y la 31-O-(D-alosilcarbonil)rapamicina (Figura 7) así como con la 42-O-(D-alosilcarbonil)rapamicina, la 42-O-(D-sorbosilcarbonil) rapamicina y la 42-O-(2-O-metil-D-fructosilcarbonil)rapamicina (Figura 8). La cinética retrasada observada para compuestos seleccionados puede ofrecer la ventaja de permitir dosis menos frecuentes que aquellas típicas para rapamicina. Además, el aumento gradual en la concentración de rapamicina asociado con derivados carbohidratados de la rapamicina seleccionados puede mejorar los efectos tóxicos asociados con el rápido aumento en la concentración de droga cuando se administra la propia rapamicina oralmente.

Una segunda observación de las Figuras 6, 7 y 8 es que la variabilidad en la concentración de rapamicina, como se demuestra por las desviaciones estándar mostradas en los gráficos, fue considerablemente menor para los derivados carbohidratados de la rapamicina que para la propia rapamicina. Así, los compuestos de la presente invención también pueden tener la ventaja de una variabilidad interindividual reducida que puede permitir una dosificación más consistente y predecible.

Estos experimentos demostraron que una selección cuidadosa del sustituyente glicosilo tiene un impacto profundo en los perfiles farmacocinéticos de los derivados carbohidratados de la rapamicina y que los compuestos de la presente invención pueden tener una ventaja considerable, incluyendo ventajas farmacocinéticas, sobre la propia rapamicina.

40 Ejemplo 9

Comparación de la toxicidad en el tracto GI de la rapamicina y la 42-O-(D-Fructosilcarbonil)rapamicina en un modelo canino

45 Los perros beagle son considerados un modelo hipersensible de toxicidad en el tracto gastrointestinal asociada a rapamicina. Ver, S.N. Sehgal *et al.* Medicinal Research Reviews 14, 1 (1994). Se sabe que incluso exposiciones cortas a dosis bajas de rapamicina administradas oralmente a los perros resultan en pérdida rápida de peso debido a ulceración que ocurre desde la boca hasta el colon secundaria a la vasculitis fibrinoide necrosante. Como se resume en la Tabla 4, cuando se les da a dos perros beagle una dosis oral individual de rapamicina de 10 mg/kg ambos perros se volvieron letárgicos y perdieron sobre el 30% de su peso corporal en menos de una semana como resultado de la disminución en la ingesta de alimentos. Los animales no se recuperaron. A otro perro beagle al que se le dio la misma dosis de 42-O-(D-fructosilcarbonil)rapamicina no mostró ningún cambio físico evidente y mantuvo una ingesta de alimento normal. Los tres perros mostraron niveles similares de rapamicina en sangre medida mediante LCMS. En un cuarto perro una dosis de 1 mg/kg de 42-O-(D-fructosilcarbonil)rapamicina resultó en un letargo ligero pero el perro se recuperó rápidamente. Una posterior dosis de rapamicina (1 mg/kg) una semana más tarde resultó en letargo severo y pérdida de peso, de los que el animal no se recuperó.

60

65

TABLA 4

Tolerancia gastrointestinal en perros beagle

Perro #	Droga de tratamiento	Dosis (mg/kg)	Observaciones
1	Rapamicina	10	Letárgico Pérdida de peso del 30% Sin recuperación
2	Rapamicina	10	Letárgico Pérdida de peso del 30% Sin recuperación
3	42-O-(D-fructosil carbonil) rapamicina	10	Normal
4	42-O-(D-fructosil carbonil) rapamicina	1	Letárgico Recuperado
4	Rapamicina	1	Pérdida de peso del 30% Sin recuperación

Este experimento demuestra claramente que la administración oral de 42-O-(D-fructosilcarbonil)rapamicina resultó en un indicio pequeño o no evidente de toxicidad gastrointestinal en un modelo de perro hipersensible, comparada con la rapamicina que produjo síntomas de toxicidad aguda. Este resultado demuestra el potencial de los derivados carbohidratados de la rapamicina de la presente invención para mejorar el perfil farmacodinámico de la rapamicina.

Ejemplo 10

Comparación de los niveles de colesterol en suero en ratas tratadas con rapamicina y con 42-O-(D-Fructosilcarbonil) rapamicina

Se ensayaron la 42-O-(D-fructosilcarbonil)rapamicina y la rapamicina en paralelo en ratas Sprague-Dawley para cambios en los niveles de colesterol. A las ratas (n=12) se les dio una dosis diaria durante 12 días con dosis equivalentes (2.5 mg/kg/día) de rapamicina o 42-O-(D-fructosilcarbonil)rapamicina. Los niveles de colesterol se midieron mediante el nivel valle en 24 horas en el día 11. Los resultados (Figura 9) indican que las ratas tratadas con rapamicina muestran niveles de colesterol aumentados significativamente respecto a un grupo control inyectado con vehículo, mientras que los niveles de colesterol en el grupo de la 42-O-(D-fructosilcarbonil)rapamicina fueron significativamente menores ($p < 0.001$) que en el grupo de la rapamicina y no fueron significativamente diferentes al grupo del vehículo. Es importante señalar que ambos compuestos mostraron una eficacia similar en un modelo de trasplante heterotópico de corazón de rata a la misma dosis de 2.5 mg/kg/día utilizada en este estudio (Ejemplo 12). Este experimento demuestra la capacidad de los derivados carbohidratados de la rapamicina para mejorar el perfil de efectos secundarios de la rapamicina manteniendo su eficacia.

Ejemplo 11

Comparación de la agregación de plaquetas debida a la rapamicina y la 42-O-(D-Fructosilcarbonil)rapamicina en un ensayo de agregación de plaquetas humanas lavadas

Se cree que la agregación de plaquetas es un efecto secundario de la rapamicina y se ha implicado en un aumento del rechazo crónico y otros efectos secundarios a largo plazo del uso de rapamicina en trasplantes (Ann Babinska *et al.*, *Enhancement of Human Platelet Aggregation and Secretion Induced by Rapamicyn*. (1998) *Nephrology Diálisis Transplantation* Vol. 13 pp3153-3159. Estos experimentos se llevaron a cabo utilizando plaquetas humanas lavadas frescas estimuladas con ADP 2 μ M y a las que se añadió rapamicina o con 42-O-(D-Fructosilcarbonil)rapamicina a tiempo cero. La agregación de las plaquetas tratadas se leyó de forma continua durante períodos de 8 a 10 minutos en un agregómetro de plaquetas ChronoLog™.

La Figura 10 muestra un gráfico del porcentaje de agregación de plaquetas versus tiempo para dos concentraciones de rapamicina, 1 μ g/ml y 25 μ g/ml. La Figura 10 ilustra que la rapamicina induce la agregación de plaquetas de forma dependiente de la dosis. La rapamicina a la dosis de 1 μ g/ml indujo la agregación de plaquetas en aproximadamente un 20% tras 8 minutos. La rapamicina a la dosis de 25 μ g/ml indujo la agregación de plaquetas en aproximadamente un 70% tras 8 minutos. La Figura 11 muestra un gráfico del porcentaje de agregación de plaquetas versus tiempo para plaquetas humanas lavadas, estimuladas con ADP 2 μ M y tratadas con dosis de rapamicina a 25 μ g/ml y de 42-O-(D-Fructosilcarbonil)rapamicina a 25 μ g/ml. La Fig. 11 muestra que mientras la rapamicina induce cerca del 80% de agregación de plaquetas tras 8 minutos, la 42-O-(D-Fructosilcarbonil)rapamicina no muestra un efecto apreciable en la agregación de plaquetas a ese mismo tiempo.

Ejemplo 12

Supervivencia de injertos en aloinjertos heterotópicos de corazón en ratas que reciben oralmente 42-O-(D-Fructosilcarbonil)rapamicina (2.5 y 10 mg/kg/día), rapamicina (2.5 mg/kg/día) o vehículo

Los trasplantes heterotópicos se administraron en la aorta abdominal y en la vena cava inferior de un corazón genéticamente diferente (allogénico) de ratas Wistar Furth en ratas Lewis. Los controles (vehículo y rapamicina a 2.5 mg/kg/día) o 42-O-(D-fructosilcarbonil)rapamicina a 2.5 y 10 mg/kg/día se administraron una vez al día mediante alimentación forzada oral a los receptores del trasplante (6 ratas por grupo) empezando 3 días antes del trasplante y continuando durante 30 días pos-trasplante. Si se observó disfunción en el injerto durante el período de 30 días pos-trasplante, el animal se sacrificó. Si el animal sobrevivió más de 30 días pos-trasplante, los artículos de control y ensayo se suspendieron y al animal se le permitió continuar hasta una disfunción del injerto o hasta 100 días pos-trasplante. Las tasas medias de supervivencia para cada grupo de animales receptores están resumidas en la Tabla 5 y en la Figura 12. Como se muestra en la Tabla 5, la 42-O-(D-fructosilcarbonil)rapamicina prolongó la supervivencia del injerto a las dosis de 2.5 y 10 mg/kg/día un 241 y 341% respecto al control del vehículo. Esto fue similar a la supervivencia prolongada mostrada por la rapamicina a la dosis de 2.5 mg/kg/día. La Figura 12 ilustra que la 42-O-(D-fructosilcarbonil)rapamicina prolonga la supervivencia del injerto sobre el vehículo como hizo la rapamicina a la dosis de 2.5 mg/kg/día. Estos datos demuestran la actividad inmunosupresora de la 42-O-(D-fructosilcarbonil)rapamicina en la prevención de rechazo a injertos.

TABLA 5

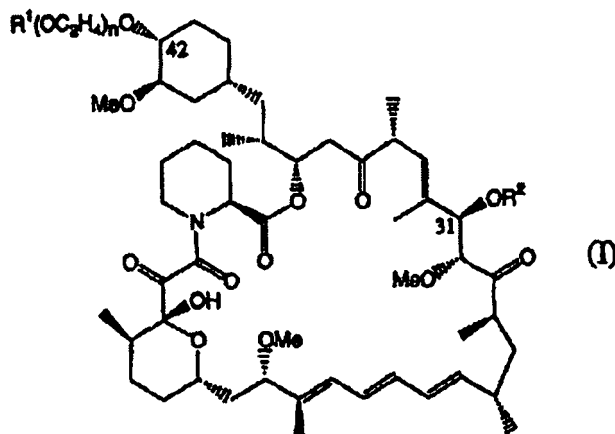
Tasas medias de supervivencia tras trasplantes heterotópicos de corazón de rata (n=6)

Dosis (mg/kg/día)	Tiempo Medio de Supervivencia (días pos-trasplante) Media \pm SEM		
	Control Vehículo	Rapamicina	42-O- (D- Fructosilcarbonil) rapamicina
0	13 \pm 2		
2.5		39 \pm 4	41 \pm 4*
10			57 \pm 4*

*n=5

REIVINDICACIONES

1. Un derivado carbohidratado de la rapamicina que tiene la estructura de la fórmula (I):



en donde, R^1 y R^2 son independientemente hidrógeno o X-Z,

en donde $n=0$ ó 1 ; y

en donde cada X es un enlazador, y cada Z es un grupo carbohidrato independientemente seleccionado del grupo que consiste en un monosacárido, oligosacárido o pseudoazúcar, en donde Z está unido a X a través del átomo de oxígeno de un hidroxilo de Z con la condición de que R^1 y R^2 no sean ambos hidrógenos;

y en donde X se selecciona del grupo que consiste en:

(i) $-R^3C(O)-$,

(ii) $-C(O)R^3-$;

(iii) $-R^3S(O)_2-$; y

(iv) $-S(O)_2R^3$;

en donde R^3 se selecciona del grupo que consiste en:

(a) $-(CH_2)_p-$ donde p es un número entero de 1 a 18;

(b) $-(CH_2)_n-O-(CH_2)_m-$ donde n y m son cada uno independientemente un número entero de 2 a 6;

(c) y un enlace.

2. El derivado carbohidratado de la rapamicina de la reivindicación 1, en donde R^1 es un hidrógeno y R^2 es -X-Z.

3. El derivado carbohidratado de la rapamicina de la reivindicación 1, en donde X se selecciona del grupo que consiste en $-C(O)-$ y $-SO_2-$.

4. El derivado carbohidratado de la rapamicina de la reivindicación 2, en donde X es un grupo funcional individual.

5. El derivado carbohidratado de la rapamicina de la reivindicación 2, en donde Z se selecciona del grupo que consiste en fructosa, fucitol y alosa.

6. El derivado carbohidratado de la rapamicina de la reivindicación 5, en donde Z es D-fructosa.

7. El derivado carbohidratado de la rapamicina de la reivindicación 1, en donde Z es un derivado de monosacárido en donde al menos uno de los grupo hidroxilo del monosacárido se reemplaza con un hidrógeno, un grupo alcoxi, alcanato o halógeno.

8. El derivado carbohidratado de la rapamicina de la reivindicación 1, en donde R^1 es -X-Z y R^2 es hidrógeno.

ES 2 286 637 T3

9. El derivado carbohidratado de la rapamicina de la reivindicación 8, en donde X se selecciona del grupo que consiste en -C(O)- y -SO₂-.

5 10. El derivado carbohidratado de la rapamicina de la reivindicación 8, en donde X es un grupo funcional individual.

11. El derivado carbohidratado de la rapamicina de la reivindicación 8, en donde Z se selecciona del grupo que consiste en fructosa, fucitol y alosa.

10 12. El derivado carbohidratado de la rapamicina de la reivindicación 11, en donde Z es D-fructosa.

13. El derivado carbohidratado de la rapamicina de la reivindicación 8, en donde Z es un derivado de monosacárido en donde al menos uno de los grupo hidroxilo del monosacárido se reemplaza con un hidrógeno, un grupo alcoxi, alcanoato o halógeno.

15 14. Un derivado carbohidratado de la rapamicina seleccionado del grupo que consiste en:

42-O-(Metil-D-glucosilcarbonil)rapamicina;

20 42-O-[2-(Metil-D-glucosilcarboniloxi)etil]rapamicina;

31-O-(Metil-D-glucosilcarbonil)rapamicina;

25 42-O-(2-Hidroxietil)-31-O-(metil-D-glucosilcarbonil)rapamicina;

42-O-(2-O-Metil-D-fructosilcarbonil)rapamicina;

42-O-[2-(2-O-Metil-D-fructosilcarboniloxi)etil]rapamicina;

30 42-O-(2-O-Metil-L-fructosilcarbonil)rapamicina;

42-O-[2-(2-O-Metil-L-fructosilcarboniloxi)etil]rapamicina;

35 31-O-(2-O-Metil-D-fructosilcarbonil)rapamicina;

42-O-(2-Hidroxietil)-31-O-(2-O-metil-D-fructosilcarbonil)rapamicina;

31-O-(2-O-Metil-L-fructosilcarbonil)rapamicina;

40 42-O-(2-Hidroxietil)-31-O-(2-O-metil-L-fructosilcarbonil)rapamicina;

42-O-(D-Alosilcarbonil)rapamicina;

45 42-O-[2-(D-Alosilcarboniloxi)etil]rapamicina;

42-O-(L-Alosilcarbonil)rapamicina;

42-O-[2-(L-Alosilcarboniloxi)etil]rapamicina;

50 31-O-(D-Alosilcarbonil)rapamicina;

42-O-(2-Hidroxietil)-31-O-(D-alosilcarbonil)rapamicina;

55 31-O-(L-Alosilcarbonil)rapamicina;

42-O-(2-Hidroxietil)-31-O-(L-alosilcarbonil)rapamicina;

42-O-(D-Fructosilcarbonil)rapamicina;

60 42-O-[2-(D-Fructosilcarboniloxi)etil]rapamicina;

42-O-(L-Fructosilcarbonil)rapamicina;

42-O-[2-(L-Fructosilcarboniloxi)etil]rapamicina;

65 31-O-(D-Fructosilcarbonil)rapamicina;

42-O-(2-Hidroxietil)-31-O-(D-fructosilcarbonil)rapamicina;

ES 2 286 637 T3

31-O-(L-Fructosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(L-fructosilcarbonil)rapamicina;
5 42-O-(D-Fucitolilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(D-Fucitolilcarboniloxi)etyl]rapamicina;
42-O-(L-Fucitolilcarbonil)rapamicina;
10 42-O-[2-(L-Fucitolilcarboniloxi)etyl]rapamicina;
31-O-(D-Fucitolilcarbonil)rapamicina;
15 42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-fucitolilcarbonil)rapamicina;
31-O-(L-Fucitolilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(L-fucitolilcarbonil)rapamicina;
20 42-O-(D-Glucalilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(D-Glucalilcarboniloxi)etyl]rapamicina;
25 42-O-(D-Glucosilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(D-Glucosilcarboniloxi)etyl]rapamicina;
42-O-(L-Glucosilcarbonil)rapamicina;
30 42-O-[2-(L-Glucosilcarboniloxi)etyl]rapamicina;
31-O-(D-Glucalilcarbonil)rapamicina;
35 42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-glucalilcarbonil)rapamicina;
31-O-(D-Glucosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-glucosilcarbonil)rapamicina;
40 31-O-(L-Glucosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(L-glucosilcarbonil)rapamicina;
45 42-O-(L-Sorbosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(D-Sorbosilcarbonil)rapamicina;
31-O-(L-Sorbosilcarbonil)rapamicina;
50 31-O-(D-Sorbosilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(L-Sorbosilcarboniloxi)etyl]rapamicina;
55 42-O-[2-(D-Sorbosilcarboniloxi)etyl]rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-sorbosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(L-sorbosilcarbonil)rapamicina;
60 42-O-(D-Lactalilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(D-Lactalilcarboniloxi)etyl]rapamicina;
65 31-O-(D-Lactalilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-lactalilcarbonil)rapamicina;

ES 2 286 637 T3

- 42-O-(D-Sacarosilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(D-Sacarosilcarboniloxi)etil]rapamicina;
5 31-O-(D-Sacarosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-3 1-O-(D-sacarosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(D-Gentobiosilcarbonil)rapamicina;
10 42-O-[2-(D-Gentobiosilcarboniloxi)etil]rapamicina;
31-O-(D-Gentobiosilcarbonil)rapamicina;
15 42-O-(2-Hidroxietyl)-3 1-O-(D-gentobiosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(D-Celobiosilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(D-Celobiosilcarboniloxi)etil]rapamicina;
20 31-O-(D-Celobiosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-3 1-O-(D-celobiosilcarbonil)rapamicina;
25 42-O-(D-Turanosilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(D-Turanosilcarboniloxi)etil]rapamicina;
31-O-(D-Turanosilcarbonil)rapamicina;
30 42-O-(2-Hidroxietyl)-3 1-O-(D-turanosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(D-Palatinosilcarbonil)rapamicina;
35 42-O-[2-(D-Palatinosilcarboniloxi)etil]rapamicina;
31-O-(D-Paltinosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-3 1-O-(D-palatinosilcarbonil)rapamicina;
40 42-O-(D-Isomaltosilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(D-Isomaltosilcarboniloxi)etil]rapamicina;
45 31-O-(D-Isomaltosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-3 1-O-(D-isomaltosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(D-Maltulosilcarbonil)rapamicina;
50 42-O-[2-(D-Maltulosilcarboniloxi)etil]rapamicina;
42-O-(D-Maltosilcarbonil)rapamicina;
55 42-O-[2-(D-Maltosilcarboniloxi)etil]rapamicina;
31-O-(D-Maltulosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-3 1-O-(D-maltulosilcarbonil)rapamicina;
60 31-O-(D-Maltosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-3 1-O-(D-maltosilcarbonil)rapamicina;
65 42-O-(D-Lactosilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(D-Lactosilcarboniloxi)etil]rapamicina;

ES 2 286 637 T3

- 31-O-(Metil-D-Lactosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(metil-D-lactosilcarbonil)rapamicina;
5 42-O-(D-Melibiosilcarbonil)rapamicina;
31-O-(D-Melibiosilcarbonil)rapamicina;
10 42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-melibiosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(D-Leucrosilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(D-Leucrosilcarboniloxi)etyl]rapamicina;
15 31-O-(D-Leucrosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-leucrosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(D-Rafinosilcarbonil)rapamicina;
20 42-O-[2-(D-Rafinosilcarboniloxi)etyl]rapamicina;
31-O-(D-Rafinosilcarbonil)rapamicina;
25 42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-rafinosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(D-Isomaltotriosilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(D-Isomaltotriosilcarboniloxi)etyl]rapamicina;
30 31-O-(D-Isomaltotriosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-isomaltotriosilcarbonil)rapamicina;
35 42-O-(D-Celotetraosilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(D-Celotetraosilcarboniloxi)etyl]rapamicina;
31-O-(D-Celotetraosilcarbonil)rapamicina;
40 42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(D-celotetraosilcarbonil)rapamicina;
42-O-(Valiolilcarbonil)rapamicina;
45 42-O-[2-(D-Valiolilcarboniloxi)etyl]rapamicina;
31-O-(Valiolilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(valiolilcarbonil)rapamicina;
50 42-O-(Valiolonilcarbonil)rapamicina;
42-O-[2-(D-Valiolonilcarboniloxi)etyl]rapamicina;
55 31-O-(Valiolonilcarbonil)rapamicina;
42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(valiolonilcarbonil)rapamicina;
42-O-(Valienolilcarbonil)rapamicina;
60 42-O-[2-(D-Valienolilcarboniloxi)etyl]rapamicina;
31-O-(Valienolilcarbonil)rapamicina;
65 42-O-(2-Hidroxietyl)-31-O-(valienolilcarbonil)rapamicina;
42-O-(Valienoneilcarbonil)rapamicina;

ES 2 286 637 T3

42-O-[2-(D-Valienoneilcarboniloxi)etil]rapamicina;

31-O-(Valienoneilcarbonil)rapamicina;

5 42-O-(2-Hidroxietil)-31-O-(valienoneilcarbonil)rapamicina

15. Una composición farmacéutica que comprende el derivado carbohidratado de la rapamicina de la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un soporte farmacéuticamente aceptable.

10 16. Un derivado carbohidratado de la rapamicina de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, para su uso como medicamento.

15 17. Uso de un derivado carbohidratado de la rapamicina de la reivindicación 1 para la producción de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad tratable con rapamicina.

20 18. El uso de la reivindicación 17, en donde la enfermedad se selecciona de un grupo que consiste en rechazo a trasplante, enfermedad del huésped contra el injerto, enfermedad del injerto contra el huésped, leucemia, linfoma, trastornos vasculares hiperproliferativos, enfermedad autoinmune, enfermedades de inflamación, tumores sólidos e infecciones por hongos.

25 19. Un dispositivo médico que comprende un derivado carbohidratado de la rapamicina de la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

30 20. Un dispositivo médico en donde dicho dispositivo médico está cubierto con un derivado carbohidratado de la rapamicina de la reivindicación 1.

35 21. Un dispositivo médico de la reivindicación 20, en donde el dispositivo médico se selecciona del grupo que consiste en stents, injertos e implantes.

40 22. Un dispositivo médico de la reivindicación 19, en donde el dispositivo médico se selecciona de un grupo que consiste en stents, injertos e implantes.

45 23. El uso de la reivindicación 17, en donde dicho medicamento es para coadministrar con un compuesto seleccionado del grupo que consiste en una ciclosporina o derivado de ciclosporina, un esteroide y un compuesto inmunomodulador.

50

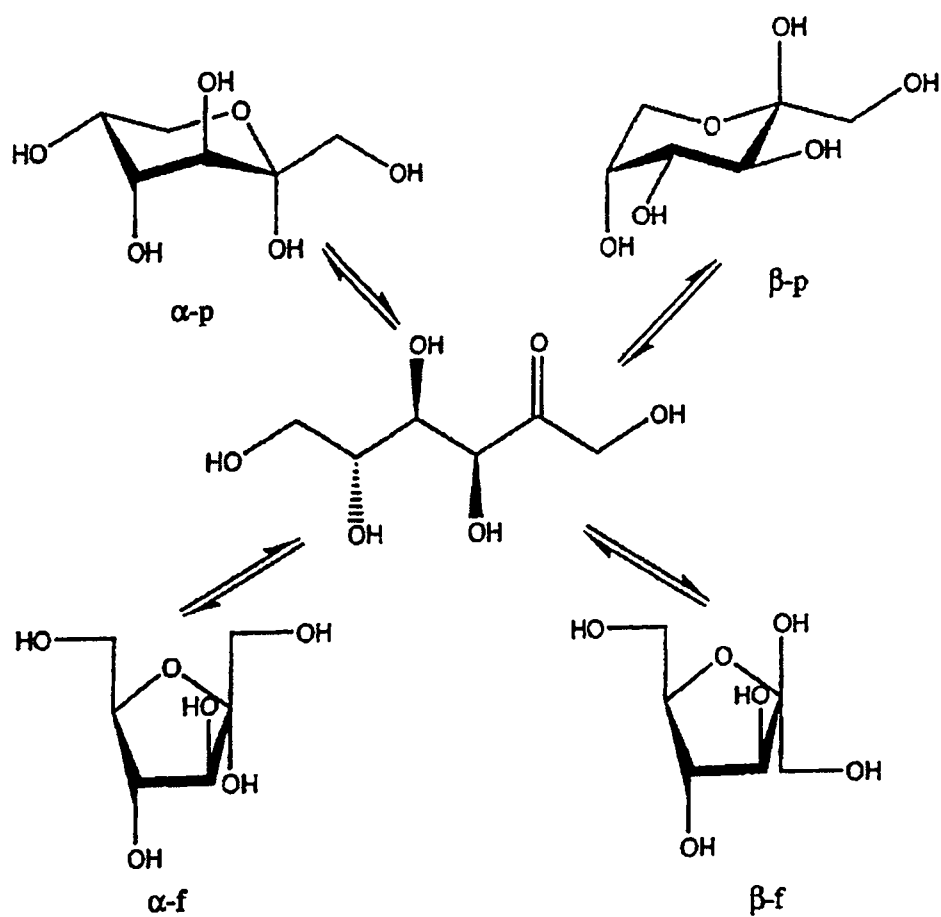
55

60

65

70

75



Formas de D-fructosa en solución

FIG. 1

Ruta General de Síntesis para los Derivados Carbohidratados de la Rapamicina

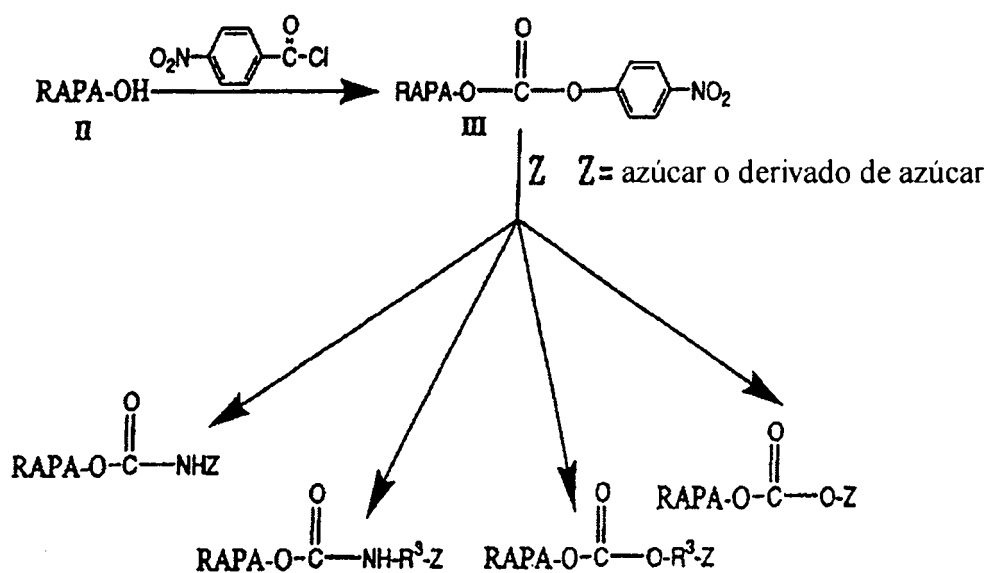
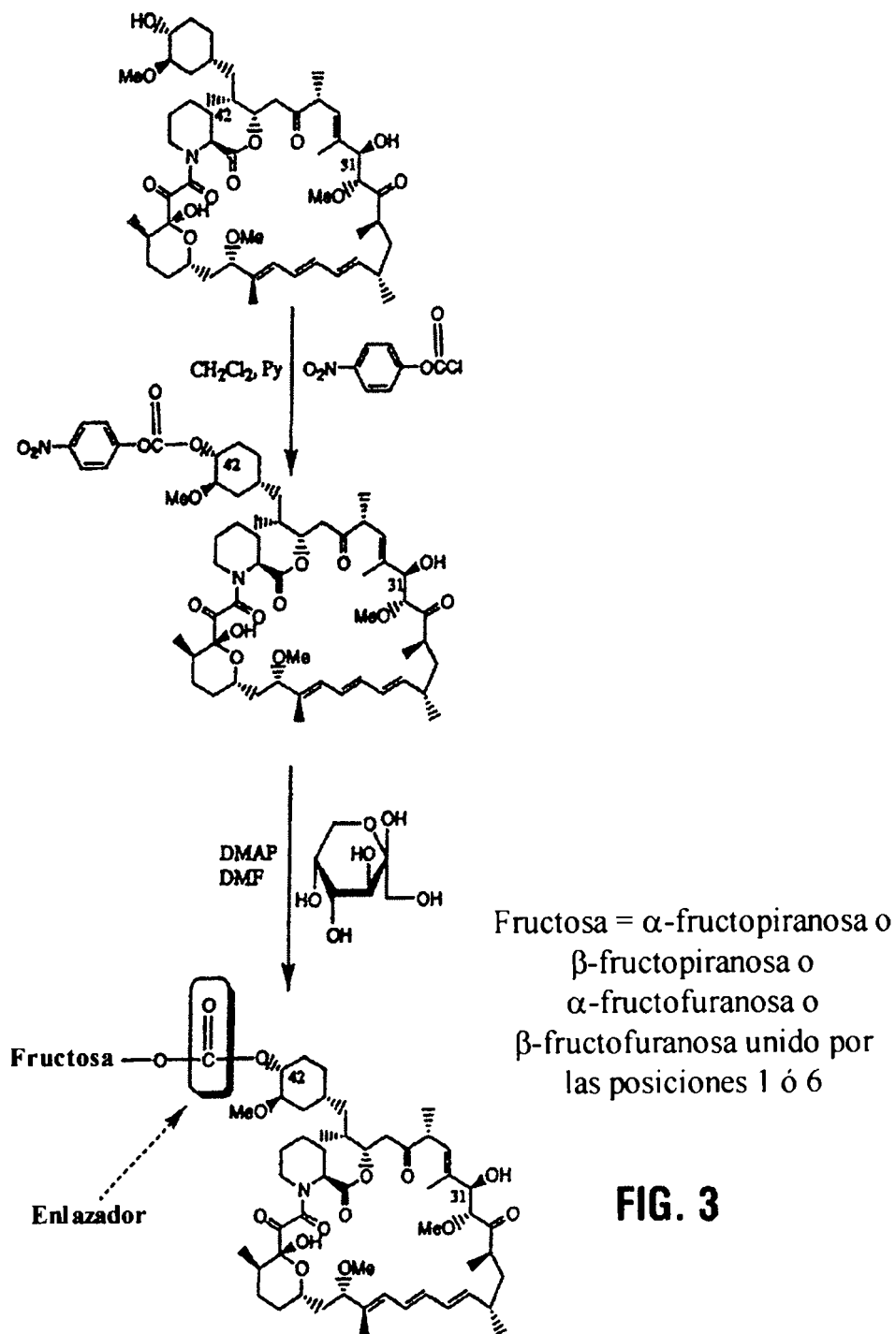


FIG. 2



Actividad Inmunosupresora in vitro de Rapamicina, 42-O-(D-Fructosilcarbonil)rapamicina y un Análogo unido a Carbamato en un ensayo de Proliferación Celular.

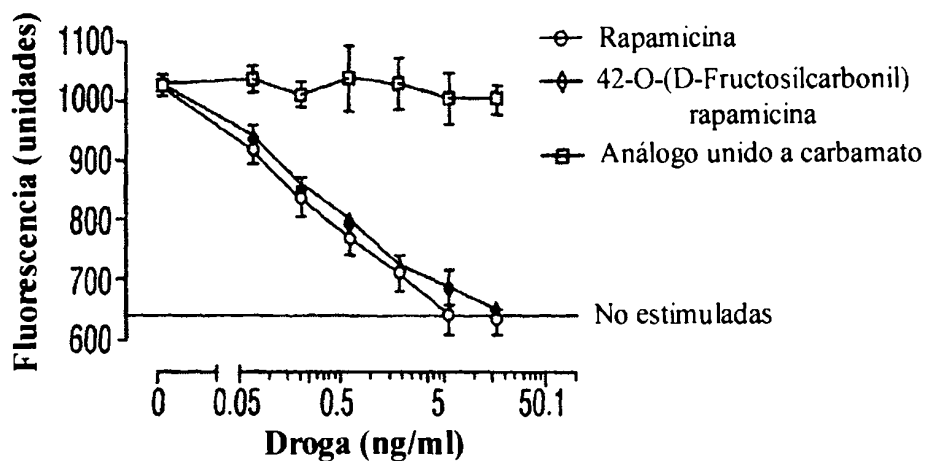


FIG. 5

Perfiles Farmacocinéticos en la Rata de los derivados 42-O-Carbohidratados de la Rapamicina

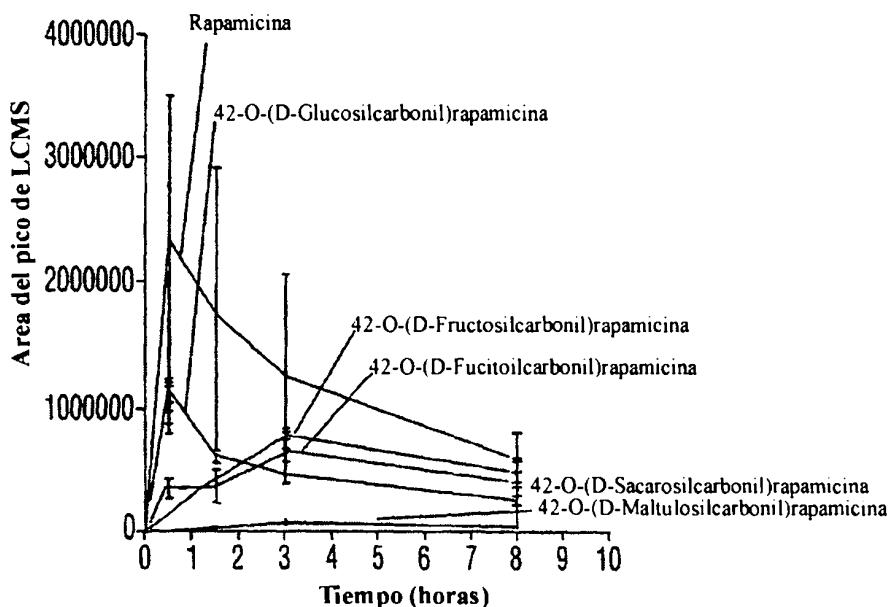


FIG. 6

Perfiles Farmacocinéticos en la Rata de los Derivados 31-O-Carbohidratados de Rapamicina

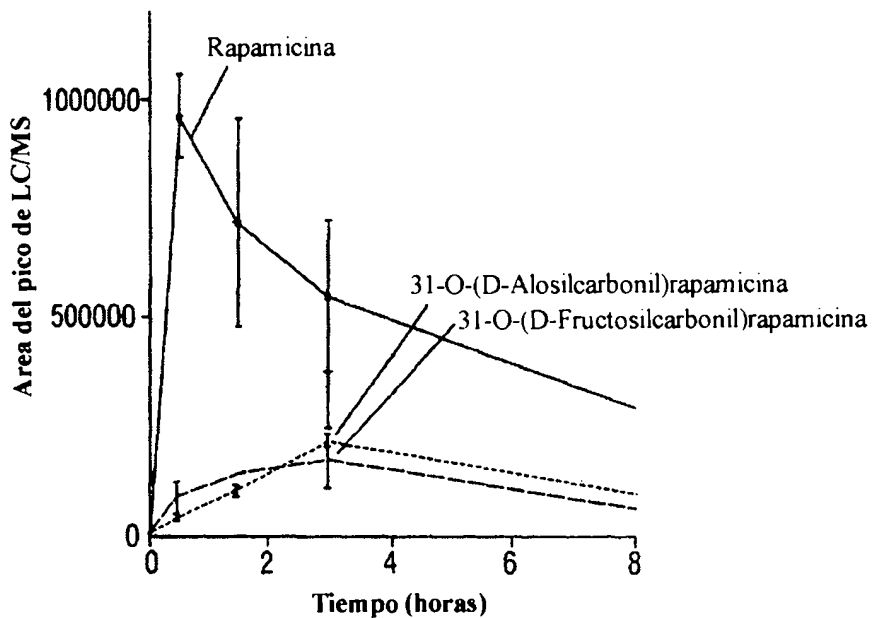


FIG. 7

Perfiles Farmacocinéticos en la Rata de los Derivados 42-O-Carbohidratados de la rapamicina

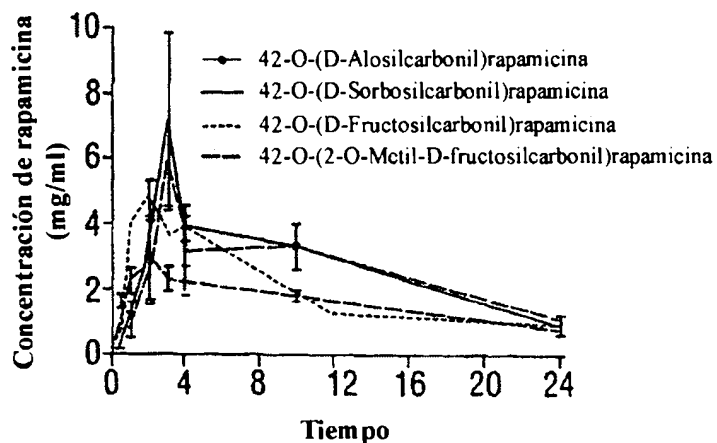
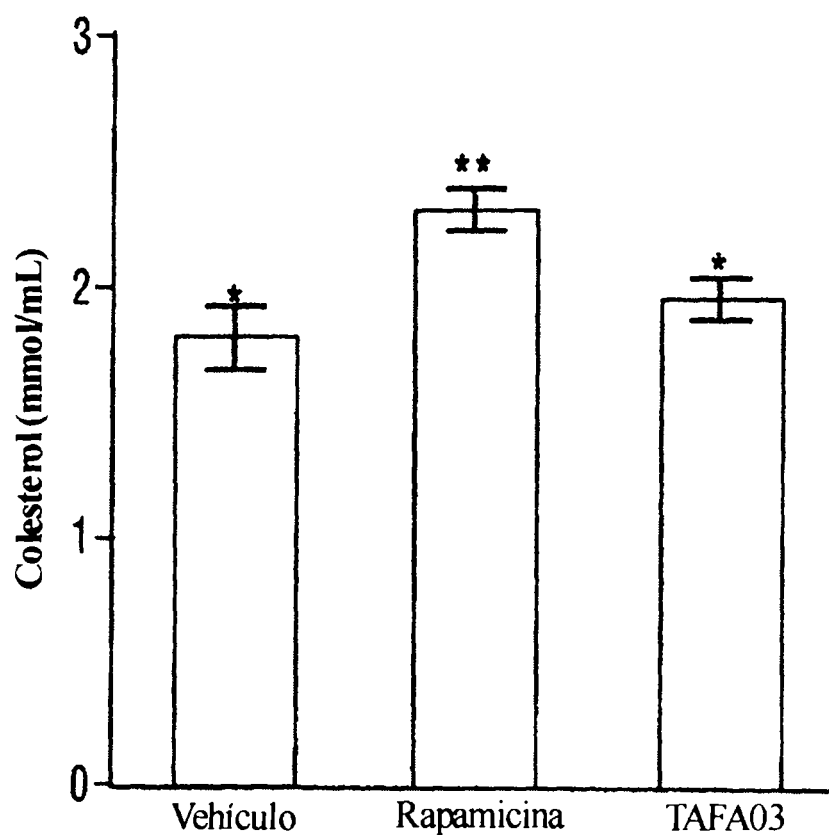


FIG. 8

Niveles de Colesterol en Suero Tras 12 Días de Administración de 42-O-(D-Fructosilcarbonil)rapamicina y Rapamicina en Ratas Sprague-Dawley



***Significativamente menor que Rapamicina $p < 0.01$**

**** Significativamente mayor que Vehículo $p < 0.01$**

ANOVA, Test Post Hoc de Dunnell

FIG. 9

Relación Dosis-Respuesta de la Agregación de Plaquetas Inducidas con ADP en Presencia de 1 y 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de Rapamicina

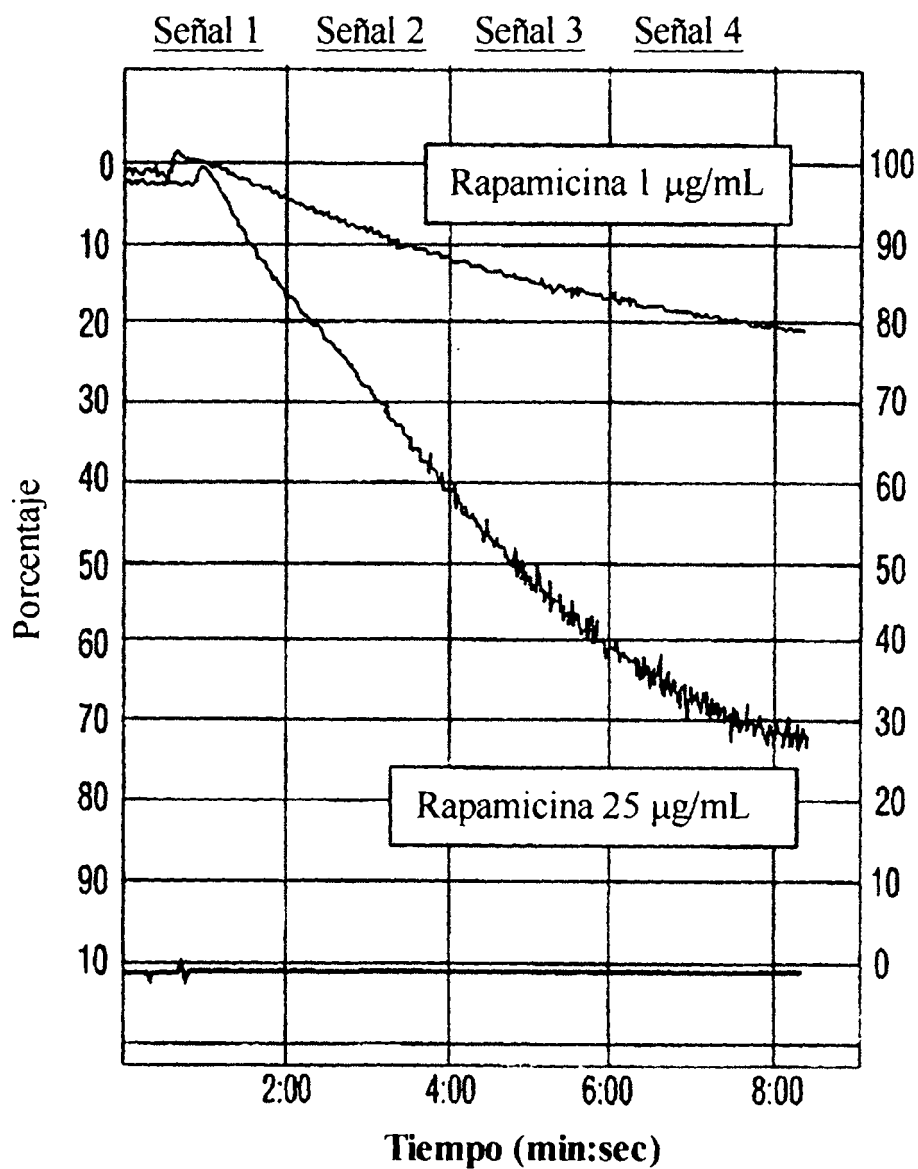


FIG. 10

Efecto de Rapamicina y 42-O-(D-Fructosilcarbonil)rapamicina (25 µg/ml) en la Agregación de Plaquetas Inducidas con ADP

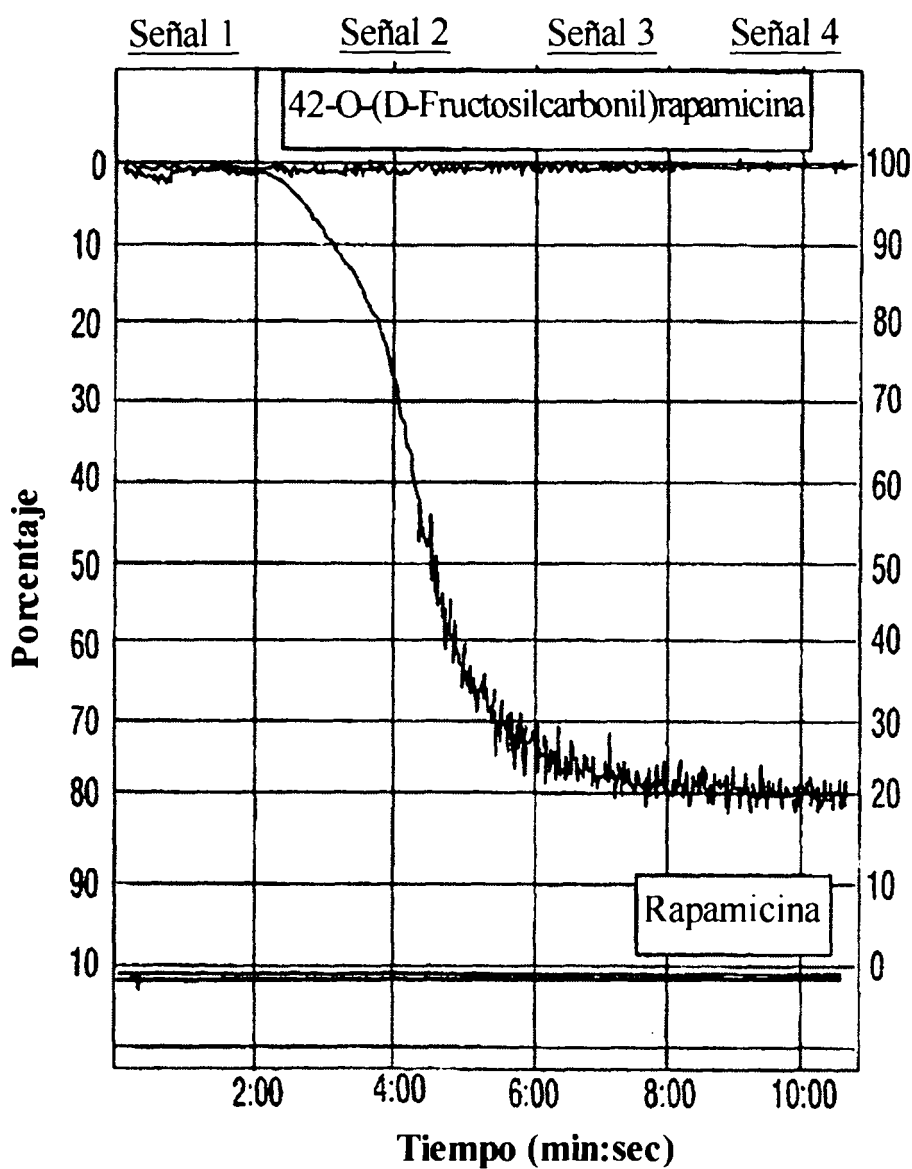


FIG. 11

Curvas de Supervivencia de Injertos de Aloiñertos de Corazón Heterotópico en Ratas que reciben Oralmente 42-O-(D-Fructosilcarbonil) rapamicina (2.5 y 10 mg/kg/día), Rapamicina (2.5 mg/kg/día) o Vehículo

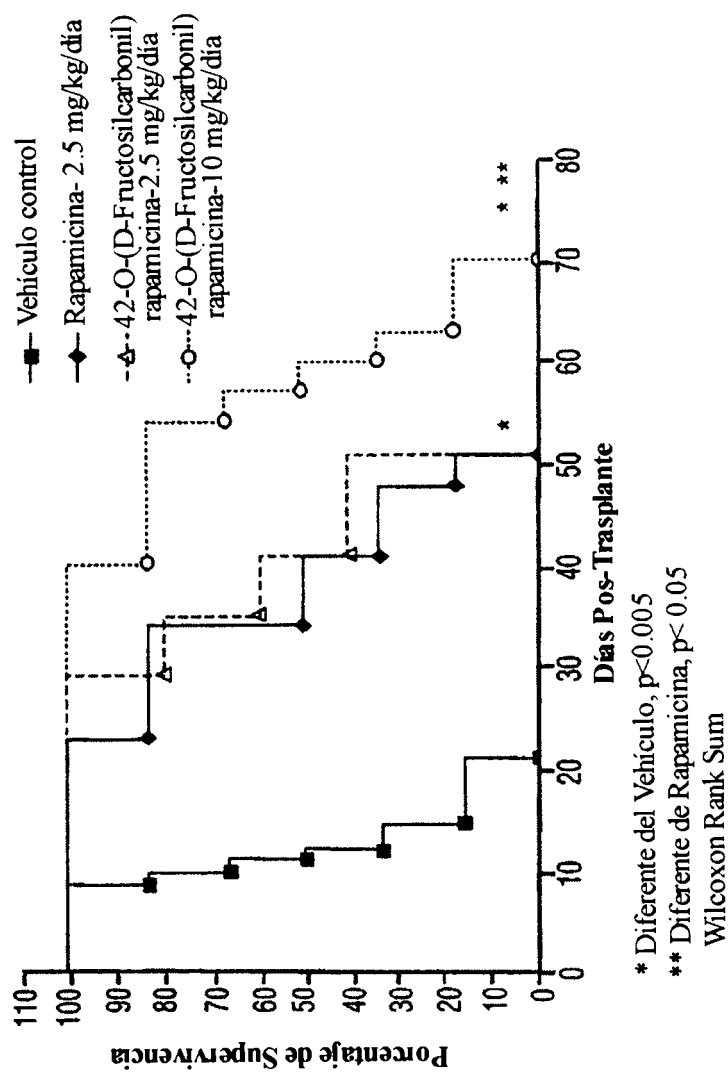


FIG. 12