



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

(21) **PI0619844-9 A2**

(22) Data de Depósito: 12/12/2006  
(43) Data da Publicação: 18/10/2011  
(RPI 2128)



(51) *Int.Cl.:*  
C07D 498/18  
A61K 31/395

**(54) Título:** SÍNTESE EM REATOR SIMPLES DE DERIVADOS TETRAZOL DE SIROLIMUS

**(30) Prioridade Unionista:** 14/12/2005 US 11/300,671

**(73) Titular(es):** ABBOTT LABORATORIES

**(72) Inventor(es):** Chu-Nung Hsiao, Madhup Dhaon, Peter Bonk, Sanjay Chemburkar, Subhash Patel, Yong Chen

**(74) Procurador(es):** ALEXANDRE FERREIRA

**(86) Pedido Internacional:** PCT US2006061909 de 12/12/2006

**(87) Publicação Internacional:** WO 2007/094886de 23/08/2007

**(57) Resumo:** SÍNTESE EM REATOR SIMPLES DE DERIVADOS TETRAZOL DE SIROLIMUS. Um processo de única etapa e em reator simples para obter zotarolimus e outros derivados de rapamicina em grande escala, que melhora as sínteses atualmente disponíveis. Numa modalidade, a rapamicina seca é dissolvida em acetato de isopropila. Após resfriar e adicionar 2,6- lutidina adiciona-se lentamente anidrido trifílico a -30°C. Removem-se os sais por filtração. Adiciona-se tetrazol, seguido por uma base terciária diisopropiletilamina. Após incubação a temperatura ambiente, o produto é concentrado e purificado por uma coluna de sílica gel usando THF/heptano como eluente. O produto é coletado, concentrado, e purificado usando uma coluna de acetona/heptano. As frações contendo o produto são concentradas. O produto é dissolvido em terc-BME e precipitado com heptano. Os sólidos são dissolvidos em acetona, tratados com hidroxitolueno butilado e a solução concentrada. Repete-se o processo duas vezes com acetona a fim de remover os solventes. Pelo menos um agente estabilizante é adicionado, tal como BHT a 0,5% antes de secar.

"SÍNTESE EM REATOR SIMPLES DE DERIVADOS TETRAZOL  
DE SIROLIMUS"

Referência Cruzada a Pedidos Relacionados

Não prescrito

5            Declaração          Concernente          à          Pesquisa          ou  
Desenvolvimento de Responsabilidade Federal

Não prescrito

Incorporação por Referência de Material Gravado em

C.D

10            Não prescrito

Campo técnico

A presente invenção refere-se a novos métodos de sintetizar análogos de rapamicina. Os análogos são úteis em aplicações antiproliferativas e imunomoduladoras.

15            Antecedentes da Invenção

Introdução

Sirolimus

20            Como os moai, puderam contemplar, uma expedição canadense em 1964 escavou a terra até desenterrar um fungo que produziu uma molécula imunossupressora poderosa, antifúngica, de anti-proliferação celular. Desde as Ilhas Orientais até os laboratórios no Canadá o fungo ficou com Suren Sehgal que trouxe à luz as propriedades de um composto purificado do fungo *Streptomyces hygroscopicus* em 1972, 25            porém esta descoberta foi abandonada, uma vítima das prioridades corporativas. Sehgal ressuscitou a pesquisa em 1987 e desenvolveu o composto como um imunossupressor. Atualmente, a rapamicina (batizada por causa de Rapa Nui, o

nome pelo quais os nativos das Ilhas Orientais conheciam sua terra) é usada para reduzir o risco de transplantes de órgãos, e os efeitos colaterais de stents, sendo atualmente investigada como um farmacêutico antitumoral.

5           A rapamicina, também conhecida como sirolimus, é um antibiótico macrocíclico trieno que inibe o crescimento de fungos, particularmente contra *Candida albicans*, tanto in vitro como in vivo (Gaker et al., 1978, Sehgal, 1975; Sehgal, 1976; Sehgal et al., 1975; Vezina et al., 1975),  
10 Sirolimus sozinho (Surendra, 1989) ou em combinação com picibanil (Engenheiro 1983) demonstrou ter atividade anti-tumor. Em 1977, sirolimus demonstrou sua eficácia como um imunossupressor em modelos experimentais para encefalomielite alérgica (um modelo para esclerose  
15 múltipla), artrite adjuvante, e artrite reumatóide (Martele t al. 1977). Sirolimus também inibe eficazmente a formação de anticorpos semelhantes a IgE (Martele t al., 1977). Sua estrutura é ilustrada abaixo (VI).

          ABT-578                   (40-epi-(1-tetrazolil)-rapamicina]  
20 conhecida melhor home em dia como zotarolimus é um antibiótico macrolida trieno semi-sintético derivado de sirolimus. Zotarolimus é um potente inibidor da proliferação de linfócito de célula T, similar a seu precursor zotarolimus.

25           Zotarolimus encontrou aplicações excepcionais no revestimento de stents cardiovasculares, especialmente stents purificadores de fármaco (DES's) para minimizar a reestenose (Mollison et al., 2003) Zotarolimus existe em

duas formas isoméricas, um pirano principal (isômero de 6 membros na posição 10; 1) e um isômero oxepano secundário (isômero de 7 membros na posição 9; 2), Ambos os quais são isômeros N-1 (Mollison, 2000).

5           Outras modificações químicas de rapamicina foram tentadas. Estas incluem a preparação de derivados mono- e diéster de rapamicina (Caufield, 1992), 27-oximas de rapamicina (Failli, 1992a); análogo 40-oxo de rapamicina (Caufield, 1991); rapamicinas bicíclicas (Kao, 1992a);  
10           dímeros de rapamicina (Kao, 1992b); éteres de silila de rapamicina (Failli, 1992b); e arilsulfonatos e sulfamatos (Failli, 1993).

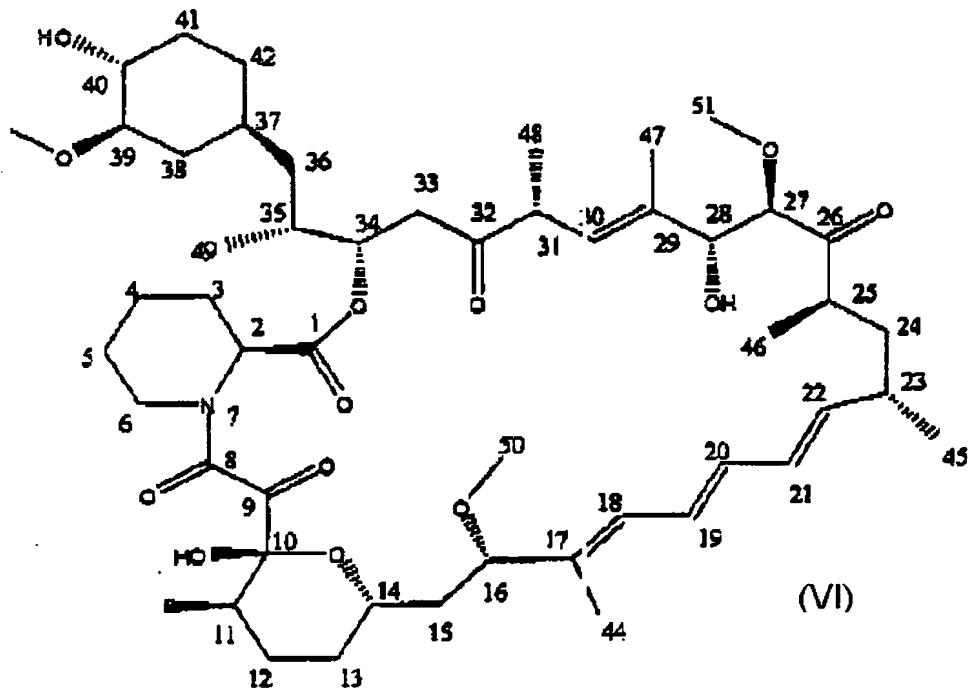
          Além de suas atividades antifúngicas, imunossupressoras e antitumorais, sirolimus reduz uma  
15           proliferação neo-íntima em modelos animais, bem como na taxa de reestenose em humanos. Sirolimus também apresenta um efeito antiinflamatório, uma característica que apoiou sua seleção como um agente para o tratamento da artrite reumatóide. Stents revestidos com análogos de sirolimus,  
20           tais como everolimus e, especialmente zotarolimus, são eficazes na prevenção de reestenose em testes clínicos.

#### Stents e outros Dispositivos Médicos Implantáveis

          Stents são empregados para tratar graves reduções no diâmetro de vasos ou dutos, devido a uma série de doenças  
25           e condições, especialmente doenças ateroscleróticas, e são freqüentemente após angioplastia. Embora muitas vezes usado em artérias, os stents são também usados em outras estruturas, incluindo veias, dutos da bile, esôfago,

traquéia, grandes brônquios, ureteres e uretras. Stents foram descobertos pelo dentista inglês Charles Stent (1845-1901).

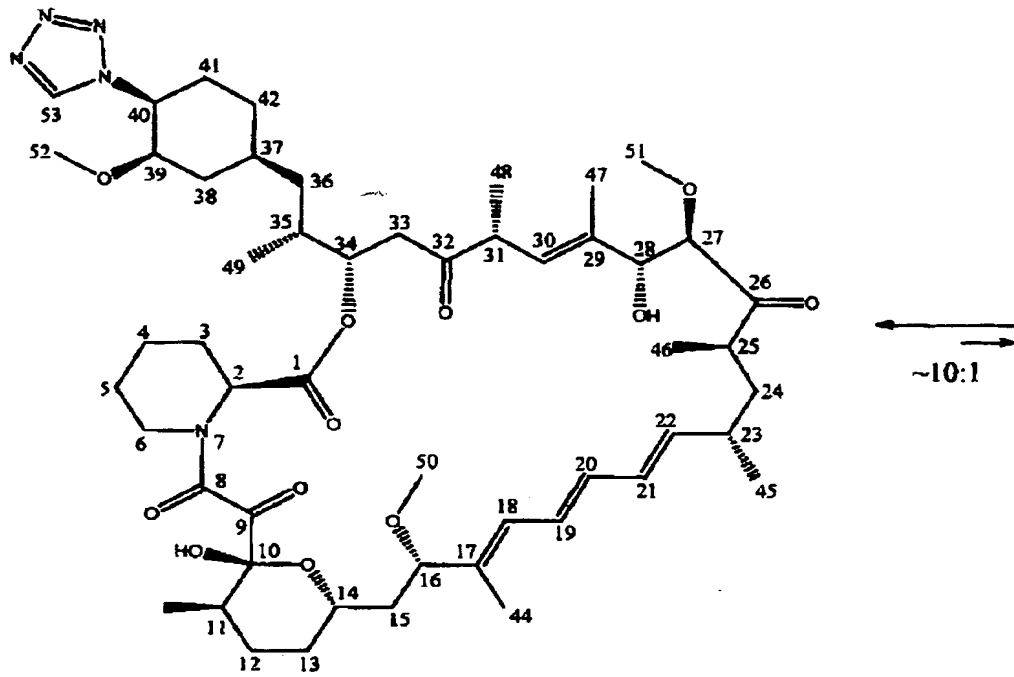
Embora eficazes no tratamento do estreitamento prejudicial do lúmen, os stents vasculares num exemplo de ironia médica, também recriam o risco da condição para a qual foram usados para tratamento. Os stents podem incorrer no desenvolvimento de tecido endotelial espesso dentro do lúmen da neointima. Embora o grau de desenvolvimento varie, a neointima pode desenvolver-se até obstruir o lúmen do vaso, um tipo de reestenose.



Sirolimus (rapamicina)

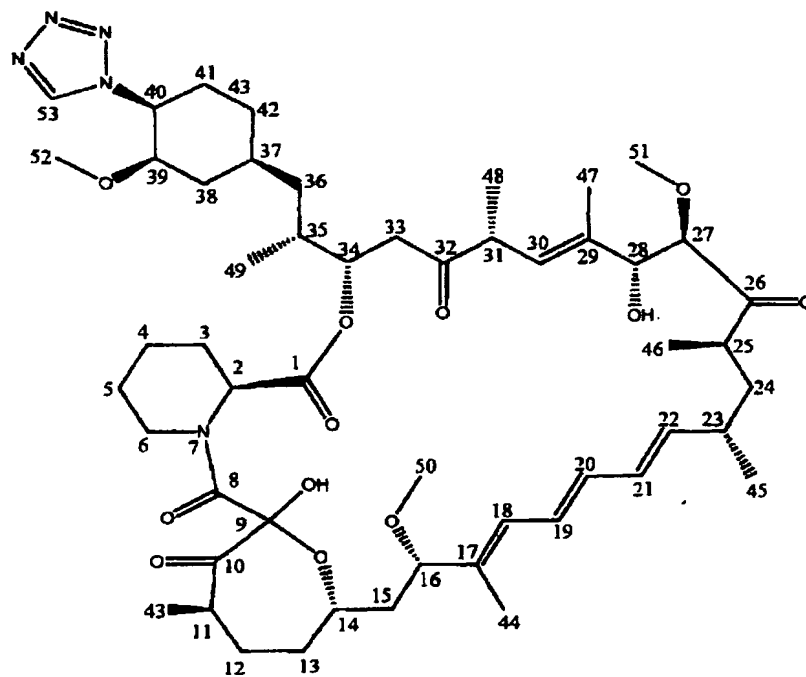
Esquema 1

Os isômeros de ABT-578 (zotarolimus)



Pirano 1 (isômero N-1)

(1a)



Oxepano 2

(1b)

---

Sínteses Anteriores de Zotarolimus

Mollison apresentou vários métodos para gerar

zotarolimus de sirolimus (Mollison, 2000). Por exemplo, hidroxila C-40 de sirolimus é ativada com a formação de triflato, e o triflato é então purificado por cromatografia de coluna. Durante a purificação do triflato, algum intermediário ativado, reverte em sirolimus e seu epímero, epi-sirolimus, devido à presença de água durante a cromatografia. O triflato purificado é então reagido numa segunda etapa com tetrazol para produzir o derivado 40-epitetrazol de sirolimus, ou seja, zotarolimus. O produto bruto é então purificado por cromatografia de coluna. Contudo, mesmo com esta purificação, o produto final poderá conter sirolimus e impurezas epi-sirolimus.

#### Descrição Sucinta dos Desenhos

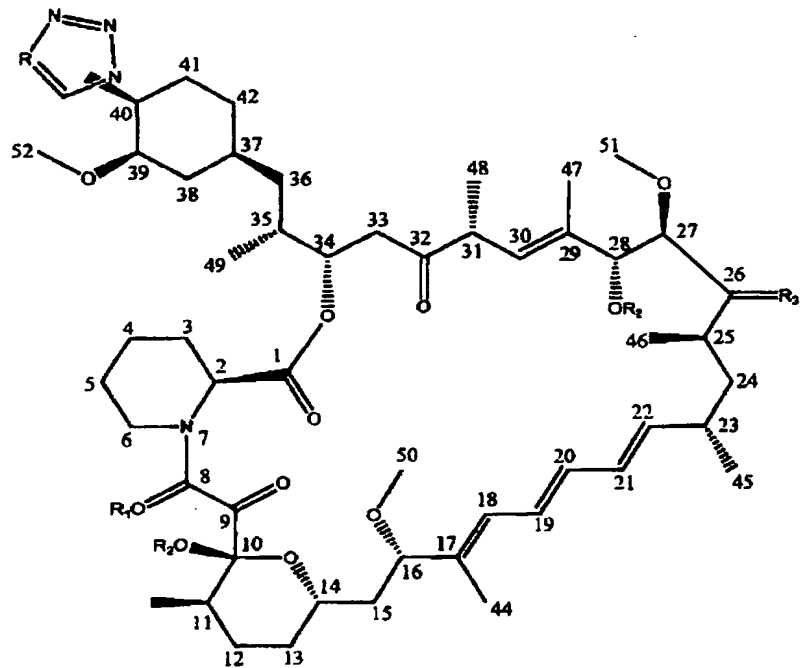
A Figura 1 mostra um fluxograma de uma modalidade de um método em reator simples para preparação de zotarolimus de acordo com a presente invenção.

A Figura 2 mostra um fluxograma de uma modalidade de um método em reator simples para preparação de zotarolimus de acordo com a presente invenção.

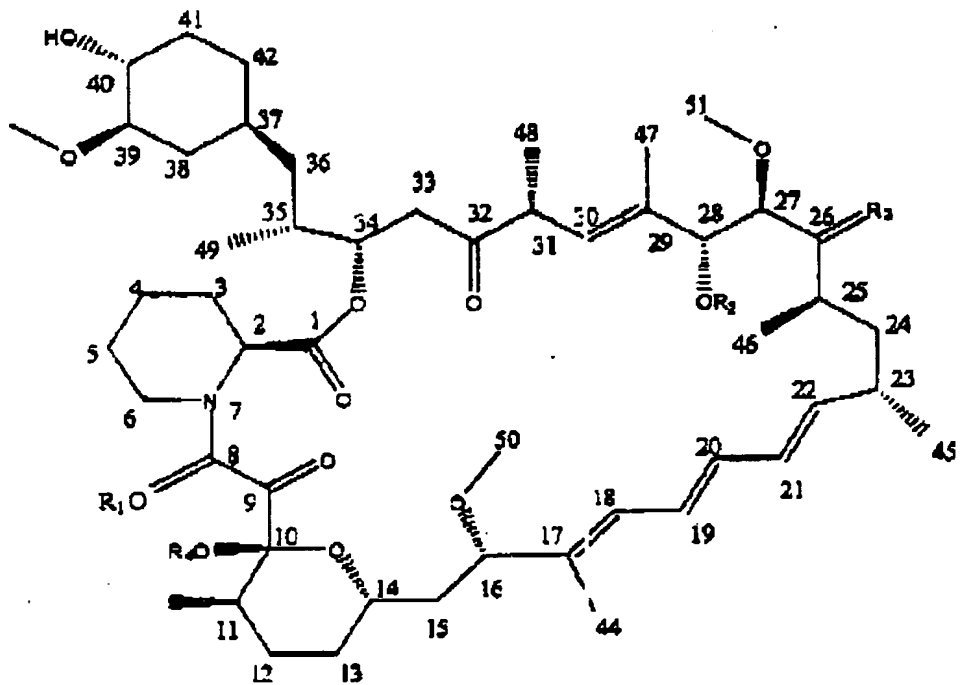
#### Sumário da Invenção

A invenção propicia métodos de realização num reator simples de derivados de rapamicina, e propicia composições produzidas por tais métodos que incluem antioxidantes.

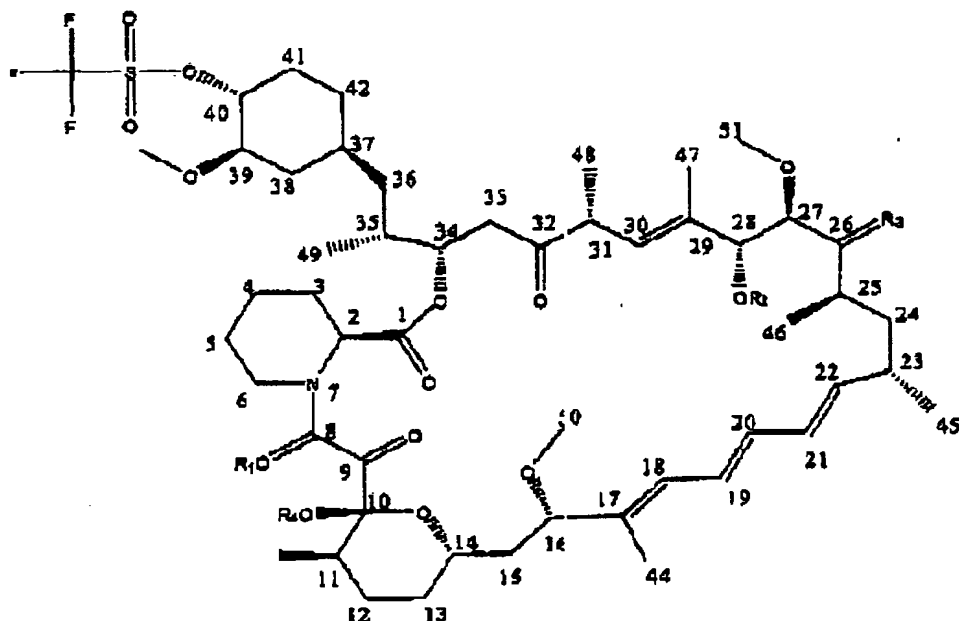
Num primeiro aspecto, a invenção propicia métodos para preparar uma molécula da fórmula I:



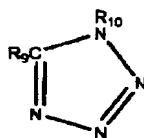
Onde uma molécula numa primeira etapa (a) de fórmula II



é reagida com anidrido trifílico para produzir uma molécula de fórmula III:



e a seguir reagir a molécula de fórmula III numa segunda etapa (b) com uma molécula de fórmula IV:



onde:

$R_1$  é selecionado do grupo consistindo de =O (H, H) e (H, OH);

$R_2$  e  $R_5$  são independentemente selecionados do grupo consistindo de H,  $-C(=O)R_6$ ,  $-C(=O)OR_6$ ,  $-C(=O)NHR_6$ , e  $-C(=S)OR_6$ ;

$R_3$  é selecionado do grupo consistindo de =O e  $OR_5$ ;  
 10 ou  $R_2$  e  $R_3$  podem ser considerados juntos para formar fração de fórmula  $A-C(R_7)(R_8)-O-B$ , onde A é uma ligação ao oxigênio ligado ao carbono 28 e B é ligada ao carbono 28 conforme acima;

$R_4$  é selecionado do grupo consistindo de H e  
 15 alquila  $C_{1-4}$ ;

$R_6$  é selecionado do grupo consistindo de grupos alquila  $C_{1-10}$ , cicloalquila  $C_{3-6}$ , arila e grupos heterociclila;

$R_7$  e  $R_8$  são independentemente selecionados do grupo consistindo de H, alquila  $C_{1-6}$ , ou  $R_7$  e  $R_8$  considerados juntos são =O.

$R_9$  e  $R_{10}$  são independentemente selecionados do grupo consistindo de H, alquenila, alquenilcicloalquenila, alquenilcicloalquila, alquila, alquilcicloalquenila, alquilcicloalquila, alquinila, aralquila, arila, cicloalquenila, cicloalquila, cicloalquilalquila, cicloalquilcicloalquila, cicloalquenilalquila, heterociclila, aza, amida, amônio, oxa, tia, sulfonila, sulfinila, sulfonamida, fosforila, fosfinila, fosfino, fosfonio, ceto, éster, álcool, carbamato, uréia, tiocarbonila, boratos, boranos, boraza, silila, silóxi, silaza e combinações destes.

A etapa (a) do método é realizada na presença de uma base não nucleofílica, tal como 2,6-dimetil piridina ou diisopropiletil amina. A etapa (a) também é realizada num solvente, tal como acetato de isopropila ou diclorometano. Em algumas modalidades, diclorometano é trocado por acetato de isopropila antes ou durante a etapa (b).

Na molécula representada pela fórmula IV,  $R_{10}$  pode ser H, e  $R_9$  é H, metila ou fenila. Em algumas modalidades,  $R_9$  e  $R_{10}$  são H.

A Etapa (b) também é realizada na presença de um solvente, tal como um solvente aprótico, sendo o solvente

aprótico, por exemplo, perfluorexano,  $\alpha,\alpha,\alpha$ -trifluortolueno, pentano, hexano, cicloexano, metilcicloexano, decaidronaftaleno, tetracloroeto de carbono, dioxano, fluortriclorometano, benzeno, tolueno, trietilamina, 5 dissulfeto de carbono, éter diisopropílico, éter dietílico, éter terc-butil metílico, clorofórmio, acetato de etila, 1,2-dimetoxietano, éter 2-metoxietílico, tetraidrofurano, 1,2-dimetoxietano, tetraidrofurano, cloreto de metileno, piridina, 2-butanona, acetona, hexametilfosforamida, N- 10 metilpirrolidinona, nitrometano, dimetil formamida, acetonitrila, sulfolano, dimetilsulfóxido, diisopropil etil amina, acetato de isopropila, diclorometano, dimetilamina, N,N-dimetilformamida ou carbonato de propileno. Em algumas modalidades, a etapa (b) é feita na presença de diisopropil 15 etilamina e/ou acetato de isopropila, diclorometano, 1,2-dimetoxietano, tetraidrofurano, acetonitrila, dimetilamina, ou N,N-dimetilformamida. Em algumas modalidades, a etapa (b) é feita em diisopropil etil amina e/ou acetato de isopropila ou diclorometano.

20 Numa modalidade específica, a molécula representada pela fórmula II,  $R_1$  é =O,  $R_2$  é H,  $R_3$  é =O e  $R_4$  é H.

Num outro aspecto, zotarolimus é fornecido pelos métodos inovadores da invenção a partir de rapamicina.

25 Em ainda um outro aspecto, a invenção propicia composições das moléculas preparadas pelos métodos da invenção combinados com antioxidantes. Tais oxidantes incluem 3,5-di-terc-4-butyl-hidroxitolueno, DL- $\alpha$ -tocoferol, galato de propila, palmitato de ascorbila, 3-terc-butyl-4-

hidroxianisol ou 2-terc-butil-4-hidroxianisol e ácido fumárico. Em uma modalidade, o antioxidante é 3,5-di-terc-4-butil-hidroxitolueno.

Num outro aspecto, a invenção propicia composições de zotarolimus produzidas pelos métodos da invenção formulada com um antioxidante tal como 3,5-di-terc-4-butil-hidroxitolueno, DL- $\alpha$ -tocoferol, galato de propila, palmitato de ascorbila, 3-terc-butil-4-hidroxianisol ou 2-terc-butil-4-hidroxianisol e ácido fumárico. Em uma modalidade o antioxidante é 3,5-di-terc-4-butil-hidroxitolueno.

#### Descrição Detalhada da Invenção

A invenção propicia um processo em reator simples para preparação de um análogo de tetrazol de sirolimus na posição C-40, produzindo zotarolimus, eliminando, virtualmente s impurezas de sirolimus e epi-sirolimus dos métodos anteriores e apresentando um método mais eficaz de produção dos farmacêuticos. Neste método o triflato é gerado em acetato de isopropila (IPAc) ou diclorometano (DCM) como solvente na presença de uma base não nucleofílica como 2,6-Lutidina ou de outras piridinas substituídas como 2,6-di-terc-butilpiridina ou 2,4,6-colidina, piridina ou base de Hunig diisopropiletil amina (DIEA). Quando se usa IPAc como o solvente durante a formação do triflato, os sais podem ser filtrados e a solução de triflato reagida com tetrazol na presença de DIEA. Quando se usa DCM como um solvente durante a formação do triflato, o solvente é trocado por IPAc. A seguir, a reação  $S_N2$  com tetrazol é feita em IPAc e tetrazol com DIEA como a base. O produto bruto após remoção do

solvente é purificado por cromatografia de coluna em THF/heptano, seguido por heptano/acetona. O produto purificado pode ser isolado como um sólido por tratamento com éter terc-butil metílico (t-BME)/heptano. Zotarolimus  
5 assim obtido é instável a temperatura ambiente, porém pode ser estabilizado por adição de anitoxidantes, tais como BHT (2,6-di-terc-butil-4-metilfenil, tolueno hidróxi butilado), 2,6-di-terc-butil-e-etilfenil (DEP), 2,6-di-terc-butil-4-metoxifenol (DMP).

10 Algumas vantagens significativas do método em reator simples incluem:

1. Eliminar a purificação do triflato, o que, nos métodos prévios, era uma fonte significativa de impurezas no produto final;
- 15 2. REDUÇÃO adicional em níveis de subproduto sirolimus e epi-sirolimus, formados durante a reação de  $S_N2$  por purificação do produto bruto do método em THF-heptano;
- 20 3. Usando a reação  $S_N2$  os solventes apróticos que podem ser facilmente recuperados e reutilizados, reduzindo assim, os custos e problemas ambientais ocorridos nos métodos anteriores;
- 25 4. O isolamento e purificação fáceis do produto por dissolução em t-BME a adição de heptano ou por um procedimento de adição reversa;
5. Fácil estabilização do produto limpo por adição de antioxidantes, e

6. Fácil isolamento por liofilização em acetonitrila ou acetonitrila:água.

#### Definições

Prodroga refere-se a compostos que são rapidamente transformados in vivo nos compostos de origem, por exemplo, por hidrólise no sangue. Debates mais detalhados estão disponíveis (Higuchi and Stella, 1987; Roche, 1987).

"Prodros farmacologicamente aceitáveis" referem-se às prodros dos compostos da presente invenção que, são inseridos no escopo do julgamento metido, adequados para emprego em contato com os tecidos de seres humanos e mamíferos inferiores, sem toxicidade indevida, irritação, e resposta alérgica, comensuráveis com uma relação risco/benefício razoável, sendo eficazes para seu uso pretendido, bem como as formas zwitteriônicas, onde possível dos compostos da invenção. Prodros farmacêuticas particularmente preferidas, desta invenção são ésteres de prodroga do grupo hidroxila C-31 dos compostos desta invenção.

"Ésteres de prodroga" referem-se a quaisquer de vários grupos formadores de éster que são hidrolisados sob condições fisiológicas. Exemplos de grupos éster de prodroga incluem acetila, etanoíla, pivaloíla, pivaloiloimetila, acetoximetila, ftalidila, metoximetila, indanila, e similar, bem como grupos éster derivados do acoplamento de aminoácidos de ocorrência natural ou não natural ao grupo C-31 hidroxila dos compostos desta invenção.

"Substância terapêutica" significa qualquer substância que, quando administrada a um indivíduo

apropriadamente em doses adequadas, oferece um efeito benéfico ao indivíduo.

Quando qualquer substituinte ou variável (por exemplo, arila, alcoxila,  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^5$ ,  $R^6$ , etc) ocorre mais  
 5 de uma vez numa fórmula, tal definição variável ou substituinte, em cada ocorrência, é independente de sua definição em cada ocorrência seguinte, a menos que de outro modo indicado. Combinações de substituintes e/ou variáveis são uma constituinte dos compostos da invenção e  
 10 permissíveis apenas se cada uma das combinações resulte num composto estável.

A nomenclatura parenteral usada na definição dos substituintes tais como  $R^1$  (por exemplo, H,  $OR^6$ ) pretende refletir os substituintes em ambas as valências do átomo  
 15 relevante. A invenção não está limitada aos isômeros particulares e a ordem das frações em parênteses não sugere uma configuração particular.

"Acilóxi" significa  $-OC(O)-(alquila)$  e  $-OC(O)-(arila)$ .

20 "Alquenila" sozinho ou em combinação significa um radical alquila com uma ou mais duplas ligações. Exemplos de tais radicais alquenila incluem, sem limitação, etenila, propenila, 1-butenila, cis-2-butenila, trans-2-butenila, iso-butilenila, cis-2-pentenila, trans-2-pentenila, 3-metil-  
 25 1-butenila, 2,3-dimetil-2-butenila, 1-pentenila, 1-hexenila, 1-octenila, decenila, dodecenila, tetradecenila, hexadecenila, cis- e trans-9-octadecenila, 1,3-pentadienila, 2,4-pentadienila, 2,3-pentadienila, 1,3-hexadienila, 2,4-

hexadienila, 5,8,11,14-eicosatetraenila e 9,12,15-octadecatrienila.

"Alcoxila" significa um grupo alquila ligado ao oxigênio.

5 "Alquila" sozinho ou em combinação significa um radical de cadeia linear ou ramificada contendo de 1 a cerca de 22 átomos de carbono, de cerca de 1 a cerca de 18 átomos de carbono ou de cerca de 1 a cerca de 12 átomos de carbono. Exemplos desses radicais incluem, sem limitação, metila, 10 etila, n-propila, isopropila, n-butila, isobutyla, sec-butyla, terc-butyla, pentila, isoamila, hexila, octila, nonilla, decila, dodecila, tetradecila, hexadecila, octadecila e eicosila.

"Alquilcicloalquenila" e "alquenilcicloalquenila" 15 significa um radical cicloalquenila como acima indicado, que é substituído com um radical alquila ou alquenila conforme acima. Exemplos de radicais alquilcicloalquenila e alquenilcicloalquenila incluem, sem limitação, 1-metil-2-ciclopentila, 1-hexil-2-ciclopentenila, 1-etil-2- 20 ciclohexenila, 1-butyl-2-ciclohexenila, 1-(9-octadecenil)-2-ciclohexenila e 1-(2-pentenil)-2-ciclohexenila.

"Alquilcicloalquila" e "alquenilcicloalquila" significa um radical cicloalquila conforme indicado supra, que e substituído com um radical alquila ou alquenila 25 conforme acima. Exemplos de radicais alquilcicloalquila e alquenilcicloalquila, incluem, sem limitação, 2-etilciclobutyla, 1-metilciclopentila, 1-hexilciclopentila, 1-metilciclohexila, 1-(90octadecenil)ciclopentila e 1-(9-

octadecenil)ciclohexila.

"Alquinila" sozinho ou em combinação significa um radical alquila com uma ou mais triplas ligações. Exemplos de tais grupos alquinila incluem, sem limitação, etinila, propinila (propargila), 1-butinila, 1-octinila, 9-octadecinila, 1,3-pentadiinila, 2,4-pentadiinila, 1,3-hexadiinila, e 2,4-hexadiinila.

"Amino" significa  $\text{-NH}_2$ ,  $\text{-N(alquil)}_2$ ,  $\text{-NH(alquila)}$ ,  $\text{-N(aril)}_2$  e  $\text{-NH(arila)}$ .

"Aralquila" sozinho ou em combinação, significa um radical alquila ou cicloalquila conforme indicado supra em que um átomo de hidrogênio é substituído com um radical arila conforme acima, tal como benzila, 2-feniletila, e similar.

"Arila" sozinho ou em combinação significa um radical fenila ou naftila, que porta, opcionalmente, um ou mais substituintes selecionados dentre alquila, cicloalquila, cicloalquenila, arila, heterociclo, alcoxiarila, alcarila, alcóxi, halogênio, hidróxi, amina, ciano, nitro, alquiltio, fenóxi, éter, trifluormetila e similar, tal como fenila, para-tolila, 4-metoxifenila, 4-(tec-butoxi)fenila, 4-fluorfenila, 4-clorofenila, 4-hidroxifenila, 1-naftila, 2-naftila e similar.

"Cicloalquenila" sozinho ou em combinação significa um radical cicloalquila com uma ou mais duplas ligações. Exemplos de radical cicloalquenila incluem, sem limitação, ciclopentenila, ciclohexenila, ciclooctenila, ciclopentadienila, ciclohexadienila e ciclooctadienila.

"Cicloalquenilalquila" significa um radical alquila conforme acima, que é substituído com um radical cicloalquênica conforme indicado supra. Exemplos de radicais cicloalquenilalquila incluem, sem limitação, 2-ciclohexen-1-ilmetila, 1-ciclopenten-1-ilmetila, 2-(1-ciclohexen-1-il)etila, 3-(1-ciclopenten-1-il)propila, 1-(1-ciclohexen-1-ilmetil)pentila, 1-(1-ciclopenten-1-il)hexila, 6-(1-ciclohexen-1-il)hexila, 1-(1-ciclopenten-1-il)nonila e 1-(1-ciclohexen-1-il)nonila.

10 "Cicloalquila" sozinho ou em combinação significa um radical cicloalquila contendo de 3 a cerca de 10, preferivelmente de 3 a cerca de 8, e mais preferivelmente de 3 a cerca de 6 átomos de carbono. Exemplos desses radicais cicloalquila incluem, sem limitação, ciclopropila, 15 ciclobutila, ciclopentila, ciclohexila, cicloheptila, ciclooctila, e per-hidronaftila.

"Cicloalquilalquila" significa um radical alquila conforme acima, que é substituído com um radical cicloalquila conforme supra. Exemplos de radicais cicloalquilalquila, incluem, sem limitação, 20 ciclohexilmetila, ciclopentilmetila (4-isopropilciclohexil)metila, 4-(terc-butil-ciclohexil)metila, 3-ciclohexilpropila, 2-ciclohexilmetilpentila, 3-ciclopentilmetilhexila, 1-(4-neopentilciclohexil)metilhexila e 1-(4-isopropilciclohexil)metil heptila. 25

"Cicloalquilcicloalquila" significa um radical cicloalquila conforme acima que é substituído por um outro radical cicloalquila conforme indicado supra. Exemplos de

radicais cicloalquilcicloalquila incluem, sem limitação, ciclohexilciclopentila e ciclohexilciclohexila

"Halogênio" inclui flúor-, cloro-, bromo- e iodo-.

"Heterociclo" inclui um anel estável de 5 a 7  
5 membros mono- ou bicíclico ou estável de 7 a 10 membros bicíclico heterocíclico, saturado ou insaturado consistindo de átomos de carbono e de um a três heteroátomo independentemente selecionados do grupo consistindo de N, O e S, onde o nitrogênio e heteroátomo de enxofre podem ser  
10 oxidados e o heteroátomo nitrogênio pode ser quaternizado, incluindo qualquer grupo bicíclico em que um anel heterocíclico é fundido ao anel benzeno. O anel heterocíclico pode ser ligado a qualquer heteroátomo ou átomo de carbono que resulte numa estrutura estável.  
15 Exemplos de elementos heterocíclicos incluem piperidila, piperidinila, piperazinila, pirimidinila, piridazinila, oxazolila, furila e tienila. O heterociclo pode ser substituído num modo tal que, os átomos de carbono ligados a um heteroátomo não são diretamente substituídos por um  
20 heteroátomo, porém de um a quatro elementos que podem ser alquila C<sub>1-6</sub>, arila hidroxila, alcoxila C<sub>1-6</sub>, acilóxi, amino, N-acilamino, nitro e halogênio.

"Heterocíclico" significa estruturas em anel contendo pelo menos uma outra classe de átomo, além do  
25 carbono, no anel. A mais comum das outras espécies de átomos incluem nitrogênio, oxigênio e enxofre. Exemplos de heterociclos incluem, sem limitação, grupos pirrolidinila, piperidila, imidazolidinila, tetraidrofurila,

tetraidrotienila, furila, tienila, piridila, quinolila, isoquinolila, piridazinila, pirazinila, indolila, imidazolila, oxazolila, tiazolila, pirazolila, piridinila, benzoxadiazolila, benzotiadiazolila, triazolila e  
5 tetrazolila.

"Cetona" significa  $-C(O)-$ .

"N-acilamino" significa  $-NHC(O)-(alquila)$  e  $-NHC(O)-(arila)$ .

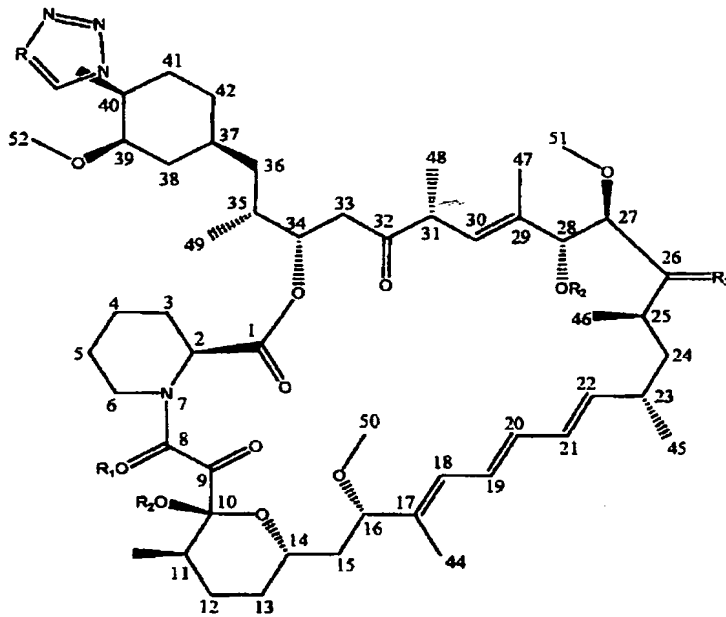
"Heterociclo contendo nitrogênio" significa  
10 estruturas em anel em que 2 carbonos e um nitrogênio do anel também são partes do ligante macrocíclico de quinze membros. A estrutura 10 do anel pode conter de 2 a cerca de 20 ou de cerca de 4 a cerca de 10, átomos de carbono, podendo ser substituída ou não substituída, parcialmente ou totalmente  
15 insaturado ou saturada, e também pode conter átomos de nitrogênio, oxigênio e/ou enxofre. A estrutura de anel também pode conter mais de um anel.

"Estrutura de anel saturada, parcialmente saturada ou insaturada" significa uma estrutura de anel em que um  
20 carbono do anel também é parte do ligante macrocíclico de quinze membros. A estrutura de anel pode conter de cerca de 3 a cerca de 20 ou de cerca de 5 a cerca de 10 átomos de carbono, e também pode conter átomos de nitrogênio, oxigênio e/ou enxofre.

25

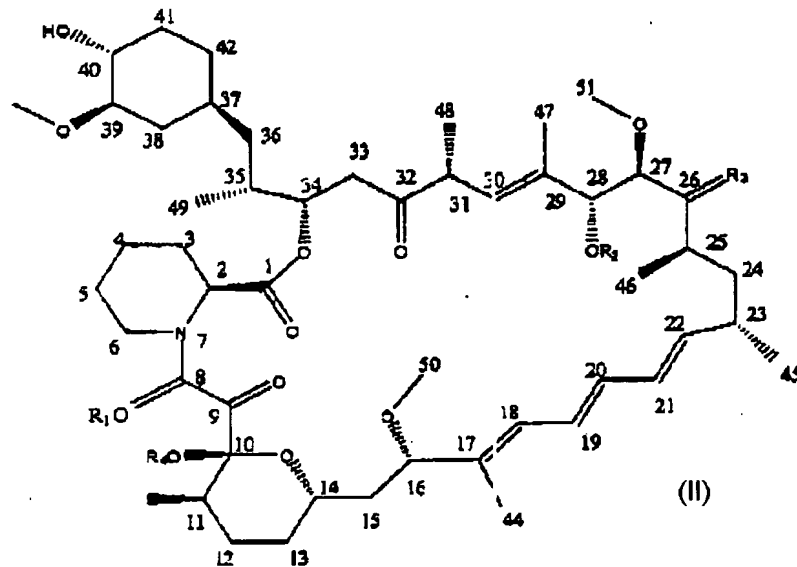
#### Prática da Invenção

Para preparar a fórmula I da molécula:



(I)

Uma molécula de fórmula II:



(II)

onde

R<sub>1</sub> é =O (H, H) e (H, OH);

R<sub>2</sub> e R<sub>5</sub> são independentemente H, -C(=O)R<sub>6</sub>, -

5 C(=O)OR<sub>6</sub>, -C(=O)NHR<sub>6</sub>, e -C(=S)OR<sub>6</sub>;

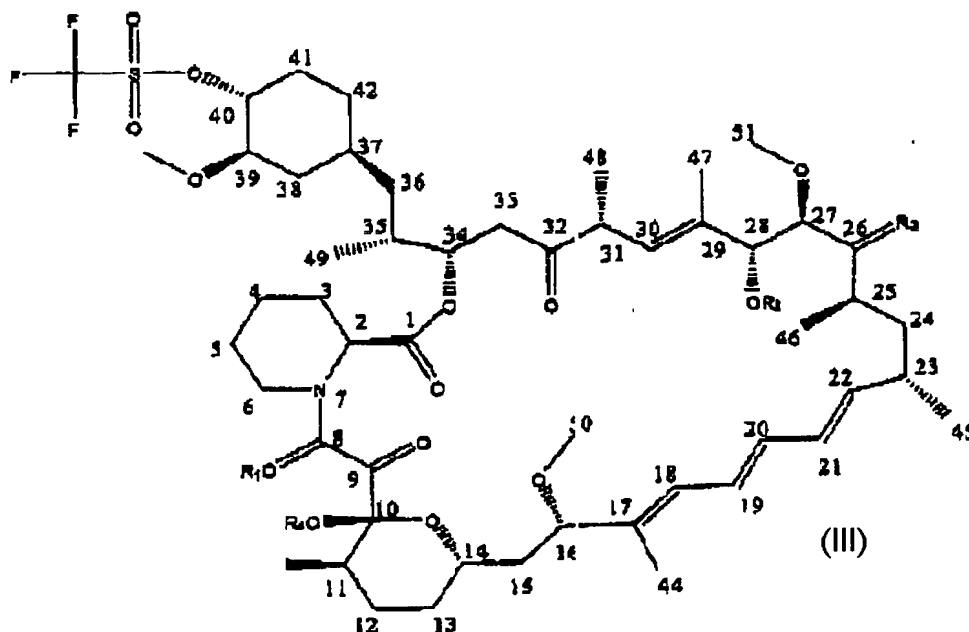
R<sub>3</sub> é =O ou OR<sub>5</sub>; ou R<sub>2</sub> e R<sub>3</sub> podem ser considerados juntos para formar fração de fórmula A-C(R<sub>7</sub>)(R<sub>8</sub>)-O-B, onde A é uma ligação ao oxigênio ligado ao carbono 28 e B é ligada

ao carbono 28 conforme acima;

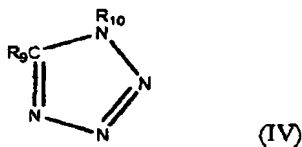
$R_4$  é H e alquila  $C_{1-4}$ ;

$R_6$  é alquila  $C_{1-10}$ , cicloalquila  $C_{3-6}$ , arila e grupos heterociclila;

5  $R_7$  e  $R_8$  são independentemente H,  $C_{1-6}$  alquila, ou  $R_7$  e  $R_8$  considerados juntos são =O, reagidos com anidrido triflico para produzir uma molécula da fórmula III, completando a etapa (a):



que é, em seguida reagido com uma molécula da  
10 fórmula (IV):



onde:

$R_9$  e  $R_{10}$  são independentemente H, alquenila,  
alquenilcicloalquenila, alquenilcicloalquila, alquila,  
alquilcicloalquenila, alquilcicloalquila, alquinila,  
15 aralquila, arila, cicloalquenia, cicloalquila,

cicloalquilalquila, cicloalquilcicloalquila,  
 cicloalquenilalquila, heterociclila, aza, amida, amônio,  
 oxa, tia, sulfonila, sulfinila, sulfonamida, fosforila,  
 fosfinila, fosfino, fosfonio, ceto, éster, álcool,  
 5 carbamato, uréia, tiocarbonila, boratos, boranos, boraza,  
 silila, silóxi, silaza e combinações destes, completando a  
 etapa (b).

*A etapa (a)*

Na molécula de fórmula II,  $R_1$  é preferivelmente O,  
 10  $R_2$  é preferivelmente H,  $R_3$  é preferivelmente O e  $R_4$  é  
 preferivelmente H.

BASE

A etapa (a) é realizada na presença de uma base  
 não nucleofílica, tal como 2,6-dimetil piridina ou  
 15 diisopropiletíl amina.

SOLVENTE

Esta etapa (a) também é realizada num solvente,  
 tal como acetato de isopropila ou diclorometano. Caso o  
 solvente seja diclorometano, ele pode ser trocado por  
 20 acetato de isopropila antes ou durante a etapa (b).

*Etapa (b)*

Na molécula representada pela fórmula IV,  $R_{10}$  pode  
 ser H, e  $R_9$  é H, metila ou fenila, mais preferivelmente,  $R_9$   
 e  $R_{10}$  são H.

25

SOLVENTE

A Etapa (b) também é realizada na presença de um  
 solvente, tal como um solvente aprótico, sendo o solvente  
 aprótico, por exemplo, perfluorhexano,  $\alpha, \alpha, \alpha$ -

trifluortolueno, pentano, hexano, cicloexano, metilcicloexano, decaidronaftaleno, tetracloreto de carbono, dioxano, fluortriclorometano, benzeno, tolueno, trietil amina, dissulfeto de carbono, éter diisopropílico, éter dietílico, éter terc-butil metílico, clorofórmio, acetato de etila, 1,2-dimetoxietano, éter 2-metoxietílico, tetraidrofurano, 1,2-dimetoxietano, tetraidrofurano, cloreto de metileno, piridina, 2-butanona, acetona, hexametilfosforamida, N-metilpirrolidinona, nitrometano, dimetil formamida, acetonitrila, sulfolano, dimetilsulfóxido, diisopropil etil amina, acetato de isopropila, diclorometano, dimetilamina, N,N-dimetilformamida ou carbonato de propileno. Outros solventes apróticos podem ser usados. Solventes apróticos preferidos incluem, diisopropil etilamina, acetato de isopropila, diclorometano, 1,2-dimetoxietano, tetraidrofurano, acetonitrila, dimetilamina, ou N,N-dimetilformamida, mais preferidos são diisopropil etil amina com, ou acetato de isopropila ou diclorometano.

20 O Esquema 2 representa um resumo de uma modalidade preferida da invenção.

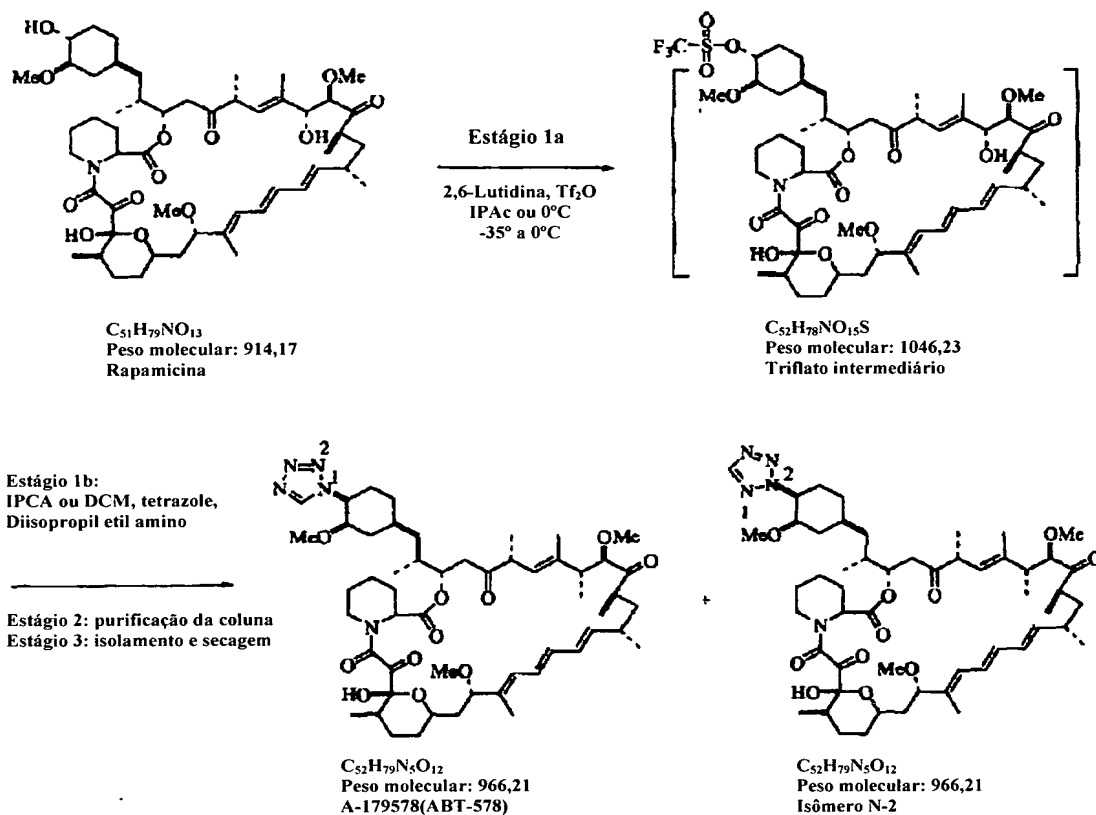
A figura 1 mostra um fluxograma, esboçando as etapas no processo em reator simples para produção de zotarolimus. Numa primeira modalidade, sirolimus 25 (comercialmente disponível ou produzido como descrito ((Paiva et al., 1991; Sehgal et al., 1975; Vezina et al., 1975) é dissolvido em DCM:tolueno (como 1:2) 100. A mistura de reação é concentrada até secura 105, e o processo de

azeo-secagem 105 é repetido 1-5 vezes, mais preferivelmente 2-4 vezes, mais preferivelmente, duas vezes, preferivelmente com DCM:tolueno. O sólido espumoso resultante é dissolvido em IPAc 110 e a seguir 2,6-lutidina é adicionado 115. A 5 solução é resfriada para -30°C. 115. Adiciona-se lentamente a seguir anidrido triflico à solução 115. A solução é resfriada para -30°C 115. Adiciona-se então anidrido triflico lentamente para a solução 115. Após agitar a mistura de reação , a solução é filtrada sob nitrogênio. Os 10 sais recuperados 120 são lavados com IPAc. 125. Para os sais adiciona-se 1-H-tetrazol e DIEA 130. A mistura de reação é agitada a temperatura ambiente (por exemplo, 22-25°C) 15 e a seguir concentrada. A mistura de reação bruta é purificada usando, por exemplo, uma coluna em gel de sílica usando, por 15 exemplo, THF:heptano 1:1 para eluir 140. As frações são monitoradas pra o isômero N-1 (que elui mais lentamente do que o isômero N-2), agrupadas e concentradas formando um óleo. O óleo é dissolvido o mínimo possível em DCM e a solução introduzida em coluna de gel de sílica 20 acondicionada, em, por exemplo, heptano:acetona 65:35 145. A coluna é diluída com, por exemplo, heptano:acetona 65:35, sendo as frações monitoradas para produto puro, agrupadas e concentradas 150.

#### ESQUEMA 2

25 Sumário do processo em reator simples para sintetizar  
zotarolimus

---



O produto purificado é a seguir dissolvido em t-BME e a seguir n-heptano é lentamente adicionado para formar um precipitado enquanto se agita vigorosamente a solução 150. Os sólidos precipitados são agitados a  $5-10^\circ\text{C}$ , 5 filtrados, lavados novamente com heptano, e secos no funil com nitrogênio. O produto é dissolvido em acetona e tratado com BHT 155. A solução é concentrada, dissolvida em acetona, e a seguir concentrada até secura. O produto é então seco sob vácuo a  $47^\circ\text{C}$  160.

10 Numa segunda modalidade preferida, um fluxograma mostrado na Figura 2, sirolimus é dissolvido em DCM 200, 205. Adiciona-se então 2,6-lutidina sendo a solução resfriada para  $-30^\circ\text{C}$ , adicionando-se lentamente anidrido

tríflico 210. A mistura de reação é incubada a aproximadamente 25°C 225 sendo introduzida em colunas de gel de sílica preparada, por exemplo, em THF:n-heptano 1:1 (v/v) 230. A mistura de reação bruta é purificada com THF:n-heptano 1:1. As frações contendo o produto são coletadas e concentradas 235. Os sólidos concentrados são dissolvidos em DCM na menor quantidade possível e introduzidos numa coluna de gel de sílica 240, acondicionados, por exemplo, em n-heptano:acetona 70:30. A coluna é eluída e as frações contendo o produto puro são concentradas 245. O produto purificado é dissolvido em t-BME e adicionado lentamente a n-heptano 250. Os sólidos precipitados são filtrados, lavados com n-heptano e secos 255. Adiciona-se BHT aos sólidos, sendo estes dissolvidos em acetona, filtrados e concentrados 260. O resíduo é tratado com acetona duas vezes 260 e concentrado a cada vez até secura. O produto é então seco sob vácuo 260.

Numa terceira modalidade, sirolimus (rapamicina) é dissolvido em diclorometano. Adiciona-se 2,6-lutidina e a solução é resfriada para -30°C. Adiciona-se lentamente anidrido tríflico. Após agitar a reação a solução é aquecida para 10°C. A solução de reação é concentrada, e o resíduo dissolvido em IPAc. Adiciona-se 1-H-tetrazol, seguido por DIEA sendo a mistura de reação agitada a 22-25°C. A solução é então concentrada, e purificada numa coluna de gel de sílica eluindo com, por exemplo, THF:heptano a 1:1. As frações contendo o isômero N-1 são coletadas agrupadas e concentradas. O óleo resultante é dissolvido em pouco DCM e

introduzido numa coluna de gel de sílica acondicionado em, por exemplo, heptano:acetona 65:35. A coluna é eluída com heptano:acetona, sendo as frações contendo o produto puro, concentradas. O concentrado é dissolvido em terc-BME e  
 5 adicionado lentamente ao n-heptano com agitação vigorosa. O precipitado é então agitado a 5-10°C por não mais que 1 hora, filtrado, lavado com heptano e seco no funil com nitrogênio. Adiciona-se BHT aos sólidos, sendo a mistura dissolvida em acetona. A solução é então passada através de  
 10 um filtro e concentrada. O resíduo é tratado com acetona duas vezes mais, e concentrado a cada vez até secura. O produto final é seco sob vácuo a 50°C.

Diferentes reagentes podem ser substituídos nos métodos da invenção para realizar a invenção. Por exemplo,  
 15 2,6-di-terc-butil piridina e DIEA podem substituir o 2,6-lutidina para produzir triflato. Outras bases podem ser empregadas nesta etapa, incluindo piridina, outras piridinas substituídas, tais como 2,6-di-terc-butilpiridina ou 2,4,6-colidina, e 4-dimetilaminopiridina (DMAP), N-metilmorfolina  
 20 e outras que são evidentes aos versados na técnica. Vários solventes, bases (no lugar de DIEA) e nucleófilos (no lugar de tetrazol) também podem ser empregados nos métodos da invenção. Os exemplos são dados na Tabela 1 a seguir.

TABELA 1

25 Reação de deslocamento de S<sub>N</sub>2 em bases variadas

<u>Condições de Reação</u>	<u>Comentários</u>
IPAc/DIEA	Isômero N-1 favorecido
DCM/DIEA	Mesma relação de isômeros N-1:N-2

---

IPAc/DIEA	½ eq. DIEA, reação lenta
DME/DIEA	Similar a IPAc
THF/DIEA	similar a IPAc
Dioxano/DIEA	Igual como IPAc
ACN/DIEA	Reação lenta, coeficiente baixo
DMA/DIEA	Decomposição
DMP/DIEA	Decomposição
IPAc/Lut	Reação muito lenta, decomposição
IPAc/TEA	Lenta, mesma relação de isômeros N-1:N-2
IPAc/NMM	Reação lenta, Isômero N-2 favorecido
THF/TEA	Relação N-1:N-2 lenta
IPAc/DBU	Reação heterogênea, isômero N-2 favorecido
IPAc/K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	reação heterogênea, isômero N-2 favorecido
IPAc/.DMAP	Reação heterogênea
IPAc/sem base	Decomposição do triflato
THF/KOtBu	Heterogênea, lenta, isômero N-2 favorecido, decomposição
IPAc/DIEA	aquecida a 33°C, velocidade da reação aumenta

---

Bases e solventes: Bases fortes como 1,8-diabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBu) carbonato de potássio (K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), 4-dimetilaminopiridina (DMAP) e terc-butóxido de potássio (KOtBu) conferem decomposição extensa e, em geral, favorecem a formação do isômero N-2; sendo portanto,

preteridas. Bases mais fracas, tais como lutidina, TEA e NMM diminuem a reação de  $S_N2$  com formação de isômeros tanto N-1 como N-2 em relações de aproximadamente 1:1. Solventes apróticos, como IPAC, DME, dioxano, e THF realizam bem, favorecendo o isômero N-1 e são preferidos. Usando DCM confere-se isômeros em uma relação de aproximadamente 1:1. Solventes polares apróticos como DMA e DMF conduzem à decomposição do produto de reação.

Temperatura. A reação pode ser acelerada por aquecimento, embora a decomposição seja normalmente observada. Contudo, a reação é normalmente completada em 4 horas ou menos, assim, a mistura de reação pode ser processada em menor tempo, minimizando a degradação. Temperaturas que são preferíveis para acelerar a reação de deslocamento de  $SN2$  incluem 20-35°C, preferivelmente 22-33°C, mais preferivelmente 25-33°C, e mais preferivelmente 28-30°C.

Nucleófilos de deslocamento. Em geral, tetrazóis 5-substituídos podem ser substituídos por tetrazol. Por exemplo, 5-metil tetrazol e 5-fenil tetrazol são preferidos, quando substituindo tetrazol. Tetrazóis 5-substituídos são preferidos porque eles favorecem a produção do isômero N-2.

Antioxidantes. Para estabilizar zotarolimus produzido pelos processos em reator simples, podem ser usados antioxidantes. Eles podem apresentar-se em composições a cerca de 1% em peso, mais preferivelmente de 0,05% a 0,75% e no caso de 3,5-di-terc-4-butil-hidroxitolueno (BHT), 0,5%. Exemplos de antioxidantes

incluem 3,5-di-terc-4-butil-hidroxitolueno, DL- $\alpha$ -tocoferol, galato de propila, palmitato de ascorbila, 3-terc-butil-4-hidroxianisol ou 2-terc-butil-4-hidroxianisol, e ácido fumárico. Preferivelmente, o antioxidante é BHT.

5            Exemplos

Exemplo 1: Processo em reator simples de Isopropilacetato de diclorometano-tolueno com filtração (1)

          Neste exemplo, zotarolimus foi preparado de rapamicina por um processo em reator simples usando  
10 diclorometano, tolueno e acetato de isopropila, sendo a preparação a seguir purificada, concentrada e seca. O produto purificado foi então caracterizado por suas ressonâncias RMN  $H^1$ ,  $C^{13}$  de espectros COSY, ROESY, TOCSY, HSQC e HMBC.

15            Rapamicina (10 g) foi dissolvido em diclorometano (DCM, 25mL) e tolueno (50 mL). A mistura de reação foi concentrada até secura. Este processo azo-secagem foi repetido duas vezes com DCM/tolueno. O sólido espumoso foi dissolvido em acetato de isopropila (IPAc, 65 mL)  
20 adicionando-se 2,6-lutidina. A solução foi resfriada a  $-30^{\circ}C$  em um banho de acetonitrila-gelo seco adicionando-se anidrido tríflico (2,8 mL) lentamente em 10 minutos. A mistura de reação foi agitada por 30 minutos, sendo então filtrada sob atmosfera de nitrogênio. Os sais foram lavados  
25 com IPAc (10 mL). Adicionou-se 1-H-tetrazol (2,3 g) seguido por diisopropiletilamina (DIEA, 7,4 mL). A mistura de reação foi agitada por 6 horas a temperatura ambiente, sendo concentrada. A mistura de reação bruta foi purificada numa

coluna de gel de sílica (350 g) eluindo com THF/heptano 1:1. As frações contendo o produto que foram eluídas mais tarde (predominantemente o isômero N-1) foram coletadas e concentradas. O óleo concentrado foi dissolvido num mínimo  
5 de DCM e introduzido numa coluna de gel de sílica acondicionada em heptano:acetona 65:35. A coluna foi eluída com heptano;acetona 65:35 e as frações contendo o produto puro foram concentradas.

O produto purificado foi então dissolvido em éter  
10 terc-butilmetílico (t-BME, 13,5 g), e n-heptano (53 g) foram adicionados lentamente com vigorosa agitação. Os sólidos precipitados foram agitados a 5-10°C por 2 horas, filtrados, lavados com heptano e secos no funil com nitrogênio dando 3,2 g do produto puro. Os sólidos (1,0 g) foram dissolvidos  
15 em acetona (10 ml) e tratados com 2,6-di-terc-butil-4-etilfenol (DEP, 0,2%). A solução foi concentrada dissolvida em acetona (10 mL) e concentrada até secura. O produto foi seco sob vácuo por 18 horas a 47°C rendendo 0,83 g de zotarolimus. O produto foi caracterizado por suas  
20 ressonâncias RMN  $H^1$ ,  $C^{13}$  de seus espectros COSY, ROESY, TOCSY, HSQC, e HMBC.

RMN- $H^1$  (DMSO- $d_6$ , posição em parênteses): ppm 0,73 (Me, 43); 0,81 (Me, 49); 0,84 (Me, 46); 0,89 (Me, 48); 0,98 (Me, 45); 1,41, 1,05 (CH<sub>2</sub>, 24); 1,18, 1,10 (CH<sub>2</sub>, 36); 1,52  
25 (CH, 37); 1,53 (CH<sub>2</sub>, 12 e 42); 1,59, 1,30 (CH<sub>2</sub>, 5); 1,41, 1,67 (CH<sub>2</sub>, 4); 1,11, 1,73 (CH<sub>2</sub>, 38); 1,21, 1,83 (CH<sub>2</sub>, 15); 1,21, 1,83 (CH<sub>2</sub>, 13); 1,62 (Me, 44); 1,73 (Me, 47); 1,76 (CH, 35); 1,60, 2,09 (CH<sub>2</sub>, 3); 1,93, 2,21 (CH<sub>2</sub>, 41); 2,05

(CH, 11); 2,22 (CH, 23); 2,47 (CH, 25); 2,40, 2,77 (CH<sub>2</sub>, 33); 3,06 (OCH<sub>3</sub>, 50); 3,16 (OCH<sub>3</sub>, 51); 3,22, 3,44 (CH<sub>2</sub>, 6); 3,29 (OCH<sub>3</sub>, 52); 3,29 (CH, 31); 3,60 (CH, 39), 3,62 (CH, 16); 3,89 (CH, 27); 4,01 (CH, 14); 4,02 (CH, 28); 4,95 (CH, 2); 5,02 (CH, 34); 5,10 (CH, 30); 5,17 (CH, 40); 5,24 (OH, 28); 5,46 (=CH, 22); 6,09 (=CH, 18); 6,15 (=CH, 21); 6,21 (=CH, 20); 6,42 (=CH, 19); 6,42 (OH, 10), 9,30 (CH, 53).

13C RNM (DMSO-d<sub>6</sub>, posição entre parênteses): ppm  
 10,4 (Me, 44); 13,1 (Me, 47); 13,6 (Me, 46); 14,5 (Me, 49);  
 10 15,5 (Me, 43 e 48); 20,3 (CH<sub>2</sub>, 4); 21,6 (Me, 45); 24,4 (CH<sub>2</sub>, 4); 26,2 (CH<sub>2</sub>, 12); 26,4 (CH<sub>2</sub>, 3); 26,8 (CH<sub>2</sub>, 41); 27,2 (CH<sub>2</sub>, 42); 29,6 (CH<sub>2</sub>, 13); 31,6 (CH<sub>2</sub>, 38), 31,7 (CH, 37); 32,9 (CH, 35); 34,8 (CH, 11); 35,2 (CH, 23); 38,2 (CH<sub>2</sub>, 36); 39,1 (CH, 25); 39,4 (CH<sub>2</sub>, 33); 39,6 (CH<sub>2</sub>, 24), 40,0 (CH<sub>2</sub>, 15); 43,4 (CH<sub>2</sub>, 6); 45,2 (CH, 31); 50,6 (CH, 2); 55,4 (OCH<sub>3</sub>, 50); 55,8 (OCH<sub>3</sub>, 52); 57,0 (OCH<sub>3</sub>, 52); 55,9 (CH, 40); 66,2 (CH, 14); 73,4 (CH, 34); 75,6 (CH, 28); 77,4 (CH, 39); 82,3 (CH, 16); 85,7 (CH, 27); 99,0 (CH, 10); 125,3 (=CH, 30); 127,0 (=CH, 18 e 19); 130,4 (=CH, 21); 132,2 (=CH, 20);  
 20 137,2 (=CMe, 29); 137,7 (=CMe, 17); 139,2 (=CH, 22); 144,6 (CH, 53); 167,0 (C=O, 8); 169,1 (C=O, 1); 199,0 (C=O, 9); 207,5 (C=O, 32); 210,7 (C=O, 26).

Exemplo 2: Processo em reator simples de isopropilacetato de diclorometano (2)

25 Neste exemplo, zotarolimus foi preparado de rapamicina num processo em reator simples usando diclorometano e acetato de isopropila. O composto foi a seguir purificado, concentrado e seco.

Rapamicina (10 g) foi dissolvido em diclorometano (DCM < 10 g), adicionou-se 2,6-lutidina (2,92 g). A solução foi resfriada para -30°C em solução de acetonitrila gelo seco, adicionando-se lentamente anidrido trifílico (4,62 g) em 10 minutos. A mistura de reação foi agitada por 20 minutos sendo aquecida para 10°C em 15 minutos. A solução de reação foi a seguir concentrada. O resíduo foi dissolvido em IPAc (55 g). Foi adicionado 1-H-tetrazol (2,68 g) seguido por diisopropiletilamina (DIEA, 7,08 g). A mistura de reação foi agitada por 6 horas a temperatura ambiente e a seguir concentrada. A mistura de reação bruta foi purificada numa coluna de gel de sílica (360 g), eluindo com THF:heptano 1:1. As frações contendo o produto que foi eluido depois (principalmente N-1) foram coletadas e concentradas. O óleo concentrado foi dissolvido num mínimo de DCM e introduzido numa coluna de gel de sílica (180 g) que foi acondicionada em heptano:acetona 65:35. A coluna foi então eluída com heptano:acetona 65:35, e as frações contendo o produto puro foram concentradas.

O produto purificado foi dissolvido em éter terci-butilmetílico (t-BME, 23 g) adicionando-se lentamente ao n-heptano (80g) com vigorosa agitação. Os sólidos precipitados foram agitados a 5-10°C por não mais que 1 hora, filtrados, lavados com heptano e secos no funil com nitrogênio. Adicionou-se então BHT (0,015 g) aos sólidos. Os sólidos foram dissolvidos em acetona (20 g), passados através de um filtro e concentrados. O resíduo foi tratado com acetona fuás vezes (20 g) e concentradas a cada vez até secura. O

produto foi então seco sob vácuo por 18 horas a não mais que 50°C dando 2,9 g de zotarolimus.

Exemplo 3: Processo em reator simples de diclorometano (3)

5 Neste exemplo, zotarolimus foi preparado de rapamicina num processo em reator simples usando diclorometano. O composto foi então purificado, concentrado e seco como descrito no Exemplo 2.

Rapamicina (7,5 g) foi dissolvido em DCM (30 g),  
10 adicionando-se 2,6-lutidina (1,76 g). A solução foi resfriada para -30°C em banho de acetonitrila-gelo seco adicionando-se anidrido trifílico (2,89 g), lentamente em 10 minutos. A mistura de reação foi agitada por 20 minutos, sendo submetida ensaio quanto a presença de rapamicina a fim  
15 de determinar o consumo na reação. Adicionou-se 1-H-tetrazol (1,44 g) seguido por DIEA (5,29G). A mistura de reação foi agitada por 6 horas a temperatura ambiente, sendo diretamente introduzida numa coluna de gel de sílica (270 g) preparada em THF:n-heptano 1:1 (v/v). A mistura de reação  
20 bruta foi purificada com THF:n-heptano 1:1. As frações contendo o produto que eluíram depois foram coletadas e concentradas. Os sólidos concentrados foram dissolvidos em DCM mínimo e introduzidos numa coluna de gel de sílica (135 g) acondicionada em heptano:acetona a 70:30. A coluna foi  
25 eluída com n-heptano:acetona 70:30 e as frações contendo o produto puro conforme identificadas por cromatografia de camada fina (TLC) foram concentradas.

O produto purificado foi dissolvido em t-BME (9 g)

e adicionado lentamente ao n-heptano (36 g) com vigorosa agitação a  $10 \pm 10^{\circ}\text{C}$ . Os sólidos precipitados foram agitados a  $5-10^{\circ}\text{C}$  por não mais que 1 hora, filtrados, lavados com n-heptano e secos no funil com nitrogênio. Adicionou-se BHT (0,006 g) aos sólidos. Estes foram dissolvidos em acetona (20 g) passados através de um filtro e concentrados. O resíduo foi tratado com acetona duas vezes (20 g cad) e concentrado cada vez até secura. O produto foi seco sob vácuo por não mais que 18 horas a não mais que  $50^{\circ}\text{C}$  para dar 2,5 g de zotarolimus.

O processo supra, quando realizado com a presença de rapamicina de 2,6-di-terc-butilpiridina ou 2,4,6-colidina (2,3,5-trimetil piridina) como um não nucleofílico na etapa la conferiu zotarolimus de pureza aceitável, porém com um rendimento inferior.

Exemplo 4: Purificação de zotarolimus por cromatografia líquida de alta pressão (HPLC) preparada pelo método de síntese em reator simples

Neste exemplo, zotarolimus foi produzido de rapamicina usando um método de síntese em reator simples da invenção (usando DCM) e a seguir submetida a uma etapa adicional de purificação usando HPLC.

Rapamicina (3,75 g) foi dissolvida em diclorometano (DCM, 15 g), adicionando-se 2,6-lutidina (0,88g). A solução foi resfriada para  $-30^{\circ}$  em banho de acetonitrila-gelo seco e anidrido trifílico (1,45 g) foram adicionados lentamente em 10 minutos. A mistura de reação foi agitada por 20 minutos, sendo do 1-H-tetrazol (0,72 g)

seguido por DIEA (2,65 g). A mistura de reação foi agitada por 6 horas a 25°C, sendo carregada diretamente numa coluna de gel de sílica (115 g) preparada em n-heptano:acetona 70:30. A mistura de reação bruta foi purificada com n-  
5 heptano:acetona 70:30. As frações contendo o produto foram coletadas, e concentradas.

Os sólidos concentrados foram dissolvidos em acetonitrila-água e carregados numa coluna C-18 TechniKrom (5 cm x 25 cm) e eluindo com acetonitrila-água 64:36  
10 contendo 0,1% de BHT. As frações foram analisadas por HPLC (RP) de fase reversa e as frações do produto agrupadas e concentradas para remover a acetonitrila. O produto foi extraído com acetato de etila ou acetato de isopropila seco (sulfato de sódio) e concentrado.

15 O produto purificado foi dissolvido em t-BME (4,5 g) e adicionado lentamente a n-heptano (18 g) com vigorosa agitação a ~10°C. Os sólidos precipitados foram agitados a 5-10°C por não mais que 1 hora, filtrados, lavados com n-heptano e secos no funil com nitrogênio. Adicionou-se BHT  
20 (0,005 g) aos sólidos. Os sólidos foram dissolvidos em acetona (20 g) passados por um filtro e concentrados. O resíduo foi tratado com acetona duas vezes (20 g) e concentrados de cada vez, até secura. O produto foi seco sob vácuo por não mais que 18 horas e não mais que 50°C dando  
25 1,2 g de zotarolimus de alta qualidade.

Exemplo 5: Análises de estabilidade de zotarolimus preparado pelos métodos de síntese de reator simples

Este exemplo demonstra que, zotarolimus preparado

de acordo com os métodos da invenção pode ser estabilizado usando antioxidantes.

Vários lotes de zotarolimus preparados pelos métodos em reator simples perderam potência significativa com o tempo. A perda de potência foi maior numa temperatura maior, porém não houve mudança aparente no perfil da impureza. A tabela 2 apresenta a potência de um lote de zotarolimus em vários intervalos de tempo e condições de temperatura. Por exemplo, mesmo num recipiente fechado a temperatura ambiente (25°C), a potência diminui de 95,1% para 69,8% durante 3 meses. Esta perda foi exacerbada num recipiente fechado quando mantido a 40°C - de 96,0% a 37,4% durante apenas dois meses.

Testes subseqüentes revelaram que esta perda de potência era devida à degradação oxidativa da molécula, o que resultou em degradação múltipla dos produtos. Foi feito um teste de estabilidade para evitar esta oxidação usando antioxidantes fenólicos, e identificou BHT como um composto adequado. As tabelas 3 e 4 apresentam dados de estabilidade usando BHT em várias concentrações (peso/peso) representado em %). Por exemplo, a 40°C, 0,5% BHT manteve a potencia de 96,5% inicial até uma potência final de 95,9% durante aproximadamente três meses, enquanto sob condições similares na ausência de BHT, a potência diminuiu de 96% para 37,4% durante apenas 2 meses.

#### TABELA 2

Dados de estabilidade de zotarolimus (temperatura indica  
armazenagem % potência)

Tempo após síntese	5°C (fechado)	25°C (fechado)	25°C (aberto)	40°C (fechado)
inicial	95,7	95,1	95,5	96,0
2 semanas	98,2	95,7	98,0	81,1
1 mês	95,0	88,8	91,6	61,9
2 meses	95,4	81,6	87,1	37,4
3 meses	95,1	69,8	75,5	terminado

TABELA 3

Estabilidade de zotarolimus com concentrações variadas de BHT a 4°C

BHT	0,0%	0,1%	0,2%	0,5%	1,0%
0 semana	97,2	96,7	96,3	96,5	95,9
2 semanas	95,2	96,7	96,7	96,5	96,3
4 semanas	96,4	97,3	97,5	96,2	96,6
6 semanas	96,6	96,8	96,9	95,57	96,1
8 semanas	97,5	96,9	96,9	96,9	96,9
12 semanas	95,9	96,8	96,8	--	95,5

TABELA 4

5 Estabilidade de zotarolimus com concentrações variadas de

BHT a 40°C

BHT (p/p)	0,1%	0,2%	0,5%	1,0%
0 semana	96,7	96,3	96,5	95,9
2 semanas	96,5	96,6	96,1	95,4
4 semanas	96,9	97,2	96,4	96,4
6 semanas	96,1	97,1	95,7	95,6
8 semanas	96,2	97,9	96,1	96,5
12 semanas	95,6	--	95,9	95,8

Esses testes de estabilidade confirma, que de modo

a manter a pureza, potência e estabilidade de zotarolimus, a adição de um antioxidante como BHT é muito importante.

Exemplo 6: Isolamento, e caracterização de equilíbrio de isômeros de zotarolimus

5           A análise de fase reversa de zotarolimus numa coluna C-18 ou coluna fenila, indicou que, o isômero principal, que purificou primeiro, foi a forma pirano de 6 membros versus um isômero oxepano de 7 membros (2) e o isômero oxepano, componente secundário eluiu 3-4 minutos  
10       depois.

          Numa fase normal HPLC (sílica gel -YMC Co Ltd. Kyoto, Japão) as duas formas não possuem uma separação de linha de referência; contudo a forma oxepano eluiu exatamente antes da forma pirano.

15           De modo a demonstrar este equilíbrio, cada forma foi isolada por injeções múltiplas de HPLC de zotarolimus numa coluna fenil de fase reversa a pH 4. Cada forma isolada foi então novamente injetada para testar seu equilíbrio em vários intervalos. O teste indicou que, a forma pirano  
20       atingiu um estado de equilíbrio em 3-4 dias, enquanto a forma oxepano (um componente secundário), não equilibrou completamente, mesmo após quase 6 dias. Houve alguma formação de ácido de anel aberto durante o teste. Os resultados deste teste demonstram-se na Tabela 5 (com  
25       tampão) e na Tabela 6 (sem tampão), indicando claramente, que as duas formas estão sob equilíbrio, onde a forma pirano é mais termodinamicamente estável.

          Análises também foram feitas sob condições não

tamponadas, numa mistura solvente de acetonitrila/água. Injeções múltiplas de zotarolimus foram realizadas numa Coluna Altima C-18 (Alltech Associates, Inc, Deerfield, IL) usando acetonitrila a 66% em água num meio não tamponado. As  
 5 formas pirano e oxepano foram coletadas. Essas formas foram re-injetadas numa coluna C-18 para testar a relação de equilíbrio em vários intervalos. Esses dados, descritos nas Tabelas 4 e 5, sugeriram, que o equilíbrio entre dois isômeros foi rápido e completou-se em  $\pm 7$  a 8 horas. Essas  
 10 observações confirmaram, que zotarolimus existe numa mistura equilibrada  $\pm 10:1$  de formas pirano(1) versus oxepano (2).

TABELA 5

Testes de equilíbrio de formas pirano e oxepano de zotarolimus em tampão de pH4

Pirano (P)		Oxepano (P- deveria ser "O"??)	
Tempo	Relação P/O	Tempo	Relação P/O
1,5 horas	99:1	0,5 horas	1:99
3,5 horas	98:2	3,5 horas	18:82
5,5 horas	97:3	5,5 horas	27:71
7,5 horas	96:4	7,5 horas	36:63
50 horas	92:8	50 horas	70:28
5 dias	90:9	5 dias	83:16
Relação de 6 dias	9,8:1	Relação de 6 dias	6,6:1

15

TABELA 6

Testes de Equilíbrio de formas pirano e oxepano de zotarolimus sem tampão

Pirano		Oxepano (O)	
Tempo	Relação P/O	tempo	Relação P/O

2 horas	90:9	1,5 horas	26:70
3,5 horas	88:9	3,5 horas	80:17
5 horas	87:9	5 horas	87:10
8 horas	86:9	7 horas	88:9
Relação de 8 dias	9,8:1	Relação de 7 dias	10:1

Deve ficar entendido que, a descrição e os desenhos anexos em detalhe, precedentes, são meramente ilustrativos, não devendo ser considerados como limitações do escopo da invenção, que é limitado apenas pelas reivindicações apenas e seus equivalentes. Várias alterações e modificações às modalidades apresentadas tornar-se-ão evidentes aos versados na técnica. Tais modificações e alterações, incluindo sem limitação, as que se referem às estruturas químicas, substituintes, derivados, intermediários, sínteses, formulações, e/ou métodos de emprego da invenção, podem ser feitas sem se afastar de seu espírito e escopo.

A menos que de outro modo indicado, todas as referências estão ora incorporadas a título de referência em sua totalidade.

#### Referências

Baker, H., A. Sidorowicz, S.N. Sehgal, and C. Vezina. 1978. Rapamycin (AY-22,989), a new antifungal antibiotic. III. In vitro and in vivo evaluation. J. Antibiot (Tokyo). 31:539-45.

Caufield. US Patent No. 5,023,262. 1991. Hydrogenated Rapamycin Derivatives.

Caufield. WO 92/05179. 1992. Carboxylic Acid

Esters of Rapamycin.

Eng. US Patent No. 4,401,653. 1983. Combination of Rapamycin and Picibanil for the Treatment of Tumors.

Failli. EPO 467606. 1992a. Rapamycin Derivatives.

5 Failli. US Patent No. 5,120,842. 1992b. Silyl Ethers of Rapamycin.

Failli. US Patent No. 5,177,203. 1993. Rapamycin 42-Sulfonates and 42-(N-Carboalkoxy) Sulfamates Useful as Imunosuppressive Agents.

10 Higuchi, T., and V. Stella. 1987. Pro-drugs as Novel Delivery systems.

Hughes, P., J. Musser, M. Conklin, and R. Russo. 1992. The isolation, synthesis and characterization of an isomeric form of rapamycin. Tetrahedron Letters. 33:4739-  
15 4742.

Kao. US Patent No. 5,120,725. 1992a. Bicyclic Rapamycins.

Kao. US Patent No. 5,120,727. 1992b. Rapamycin Dimers.

20 Martel, R.R., J. Klicius, and S. Galet. 1977. Inhibition of the immune response by rapamycin, a new antifungal antibiotic. Can J Physiol Pharmacol. 55:48-51.

Mollison, K. US Patent No. 6,015,815. 2000. Tetrazole-containing rapamycin analogs with shortened half-  
25 lives.

Mollison, K., A. LeCaptain, S. Burke, K. Cromack, P. Tarcha, Y. -CJ. Chen, and J. Toner. US Patent Application Publication 20030129215. 2003. Medical devices containing

rapamycin analogs.

Paiva, N.L., A.L. Demain, and M.F. Roberts. 1991.  
Incorporation of acetate, propionate, and methionine into  
rapamycin by *Streptomyces hygroscopicus*. *J Nat Prod.* 54:  
5 167-77.

Roche, E. 1987. *Bioreversible Carriers in Drug  
Design.* American Pharmaceutical Association and Pergamon  
Press.

Sehgal, S.N. US Patent No. 3,929,992. 1975.  
10 Rapamycin and Process of Preparation.

Sehgal, S.N. US Patent No. 3,993,749. 1976.  
Rapamycin and Process of Preparation.

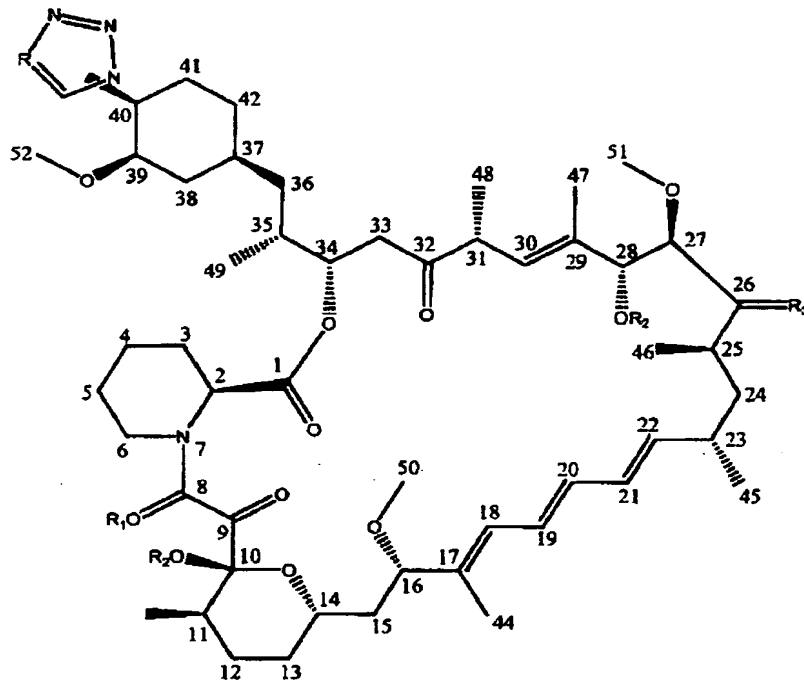
Sehgal, S.N., H. Baker, and C. Vezina. 1975.  
Rapamycin (AY-22,989), a new antifungal antibiotic. II.  
15 Fermentation, isolation and characterization. *J Antibiot*  
(Tokyo). 28:727-32.

Surendra. US Patent No. 4,885,171. 1989. Use of  
Rapamycin in Treatment of Certain Tumors.

Vezina, C, A. Kudelski, and S.N. Sehgal. 1975.  
20 Rapamycin (AY-22,989), a new antifungal antibiotic. I.  
Taxonomy of the producing streptomycete and isolation of the  
active principle. *J Antibiot* (Tokyo). 28:721-6.

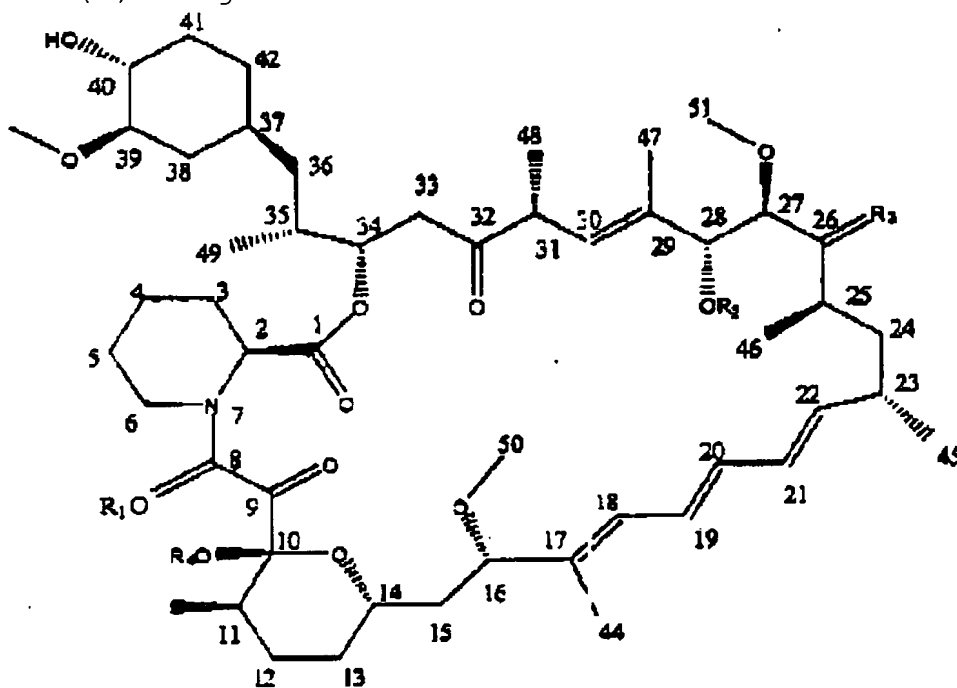
## REIVINDICAÇÕES

1. Método de preparar uma molécula de fórmula I:

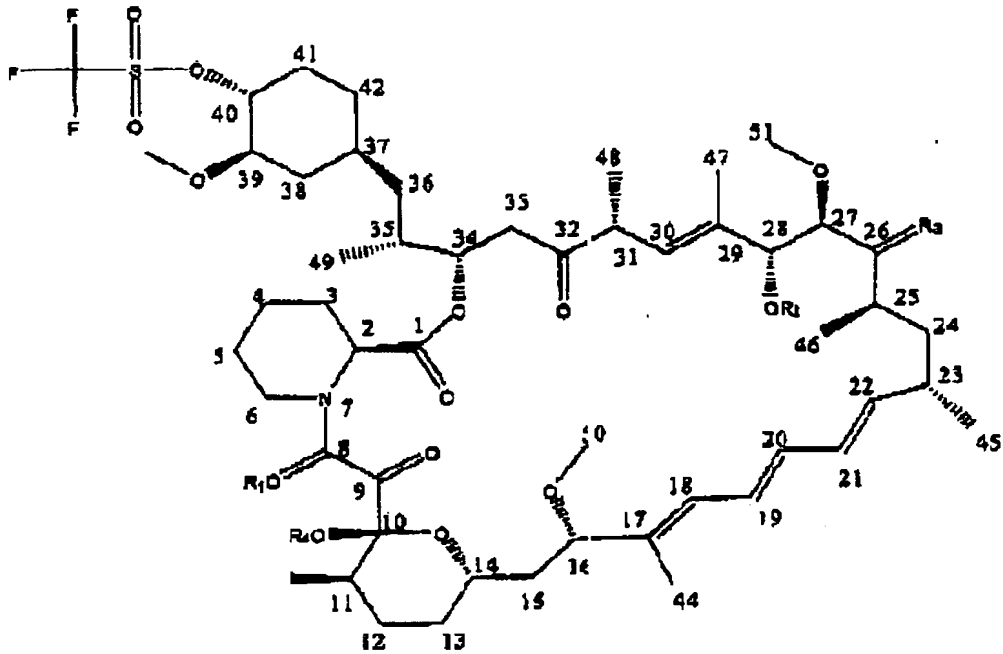


**CARACTERIZADO** por compreender:

(a) reagir uma molécula de fórmula II:



de fórmula III:



e

(b) reagir a molécula de fórmula III com uma molécula da fórmula IV:



5 onde:

$R_1$  é selecionado do grupo consistindo de =O (H, H) e (H, OH);

$R_2$  e  $R_5$  são independentemente selecionados do grupo consistindo de H,  $-C(=O)R_6$ ,  $-C(=O)OR_6$ ,  $-C(=O)NHR_6$ , e  $-C(=S)OR_6$ ;

$R_3$  é selecionado do grupo consistindo de =O e  $OR_5$ ; ou  $R_2$  e  $R_3$  podem ser considerados juntos para formar fração de fórmula  $A-C(R_7, R_8)-O-B$ , onde A é uma ligação ao oxigênio ligado ao carbono 28 e B é ligado ao carbono 28 conforme

definido acima;

R<sub>4</sub> é selecionado do grupo consistindo de H e alquila C<sub>1-4</sub>;

5 R<sub>6</sub> é selecionado do grupo consistindo de grupos alquila C<sub>1-10</sub>, cicloalquila C<sub>3-6</sub>, arila e grupos heterocíclicos;

R<sub>7</sub> e R<sub>8</sub> são independentemente selecionados do grupo consistindo de H, alquila C<sub>1-6</sub>, ou R<sub>7</sub> e R<sub>8</sub> considerados juntos são =0.

10 R<sub>9</sub> e R<sub>10</sub> são independentemente selecionados do grupo consistindo de H, alquenila, alquenilcicloalquenila, alquenilcicloalquila, alquila, alquilcicloalquenila, alquilcicloalquila, alquinila, aralquila, arila, cicloalquenia, cicloalquila, cicloalquilalquila, cicloalquilcicloalquila, 15 cicloalquenilalquila, heterociclila, aza, amida, amônio, oxa, tia, sulfonila, sulfinila, sulfonamida, fosforila, fosfinila, fosfino, fosfonio, ceto, éster, álcool, carbamato, uréia, tiocarbonila, boratos, boranos, boraza, silila, silóxi, silaza e combinações destes.

20 2. Método, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** por ser realizado num reator simples.

3. Método, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a etapa (a) é realizada na presença de uma base não nucleofílica.

25 4. Método, de acordo com a reivindicação 3, **CARACTERIZADO** pela base não nucleofílica compreender uma piridina, diisopropiletil amina ou piridina substituída.

5. Método, de acordo com a reivindicação 4,

**CARACTERIZADO** pela piridina substituída compreender 2,6-lutidina, 2,6-di-terc-butilpiridina ou 2,4,6-colidina.

6. Método, de acordo com a reivindicação 3, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a etapa (a) é realizada na presença de um solvente.

7. Método, de acordo com a reivindicação 6, **CARACTERIZADO** pelo solvente compreender acetato de isopropila ou diclorometano.

8. Método, de acordo com a reivindicação 6, **CARACTERIZADO** pelo solvente compreender diclorometano que é trocado por acetato de isopropila antes ou durante a etapa (b).

9. Método, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** por R<sub>10</sub> ser H, e R<sub>9</sub> ser selecionado do grupo consistindo de H, metila e fenila.

10. Método, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** por R<sub>9</sub> e R<sub>10</sub> serem H.

11. Método, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pela etapa (b) ser realizada na presença de um solvente.

12. Método, de acordo com a reivindicação 11, **CARACTERIZADO** pelo solvente compreender um solvente aprótico.

13. Método, de acordo com a reivindicação 12, **CARACTERIZADO** pelo solvente aprótico compreender perfluorexano,  $\alpha, \alpha, \alpha$ -trifluortolueno, pentano, hexano, cicloexano, metilcicloexano, decaidronaftaleno, tetracloreto de carbono, dioxano, fluortriclorometano, benzeno, tolueno, trietilamina, dissulfeto de carbono, éter diisopropílico, éter dietílico, éter terc-butil metílico, clorofórmio,

acetato de etila, 1,2-dimetoxietano, éter 2-metoxietílico, tetraidrofurano, 1,2-dimetoxietano, tetraidrofurano, cloreto de metileno, piridina, 2-butanona, acetona, hexametilfosforamida, N-metilpirrolidinona, nitrometano, 5 dimetil formamida, acetonitrila, sulfolano, dimetilsulfóxido, diisopropil etil amina, acetato de isopropila, diclorometano, dimetilamina, N,N-dimetilformamida ou carbonato de propileno.

14. Método, de acordo com a reivindicação 1, 10 **CARACTERIZADO** pela etapa (b) ser realizada na presença de diisopropil etilamina e um solvente selecionado do grupo consistindo de acetato de isopropila, diclorometano, 1,2-dimetoxietano, tetraidrofurano e acetonitrila.

15 **CARACTERIZADO** pela etapa (b) ser realizada na presença de diisopropil etil amina e acetato de isopropila ou diclorometano.

16. Método, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que:

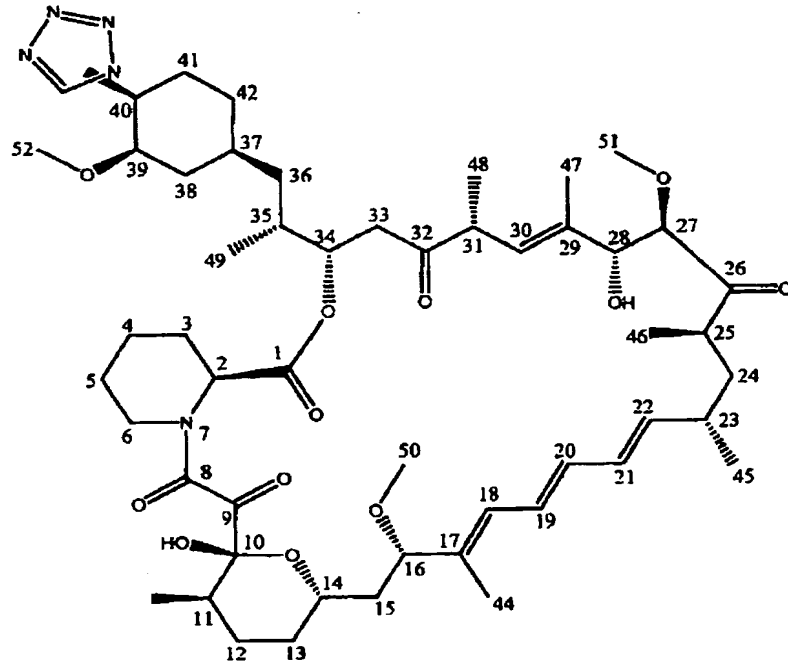
20  $R_1$  é =O

$R_2$  é H

$R_3$  é =O e

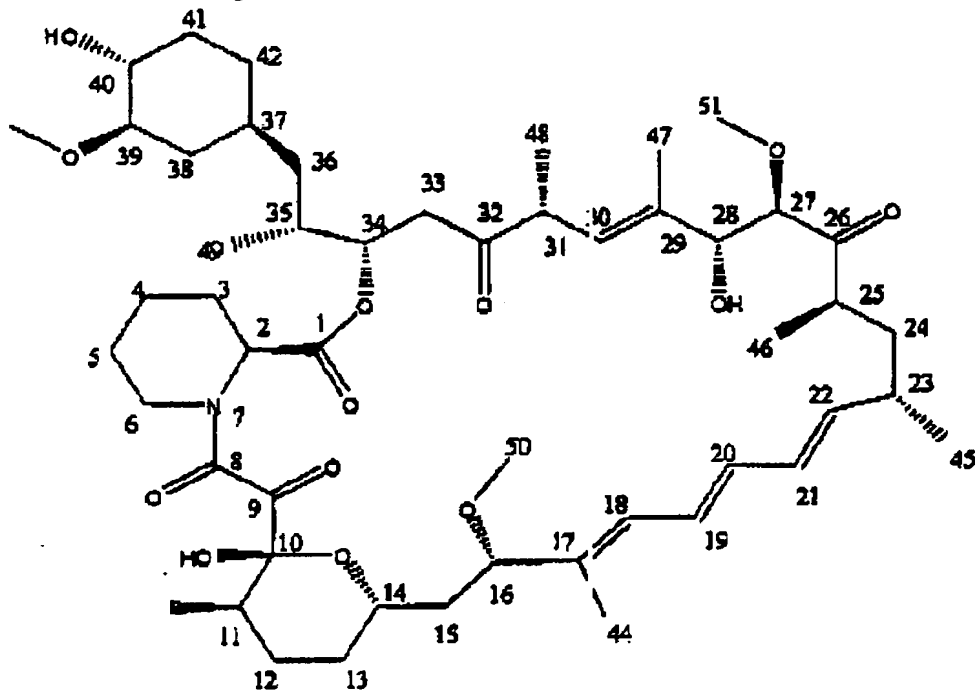
$R_4$  é H.

17. Método de preparar uma molécula de fórmula V:

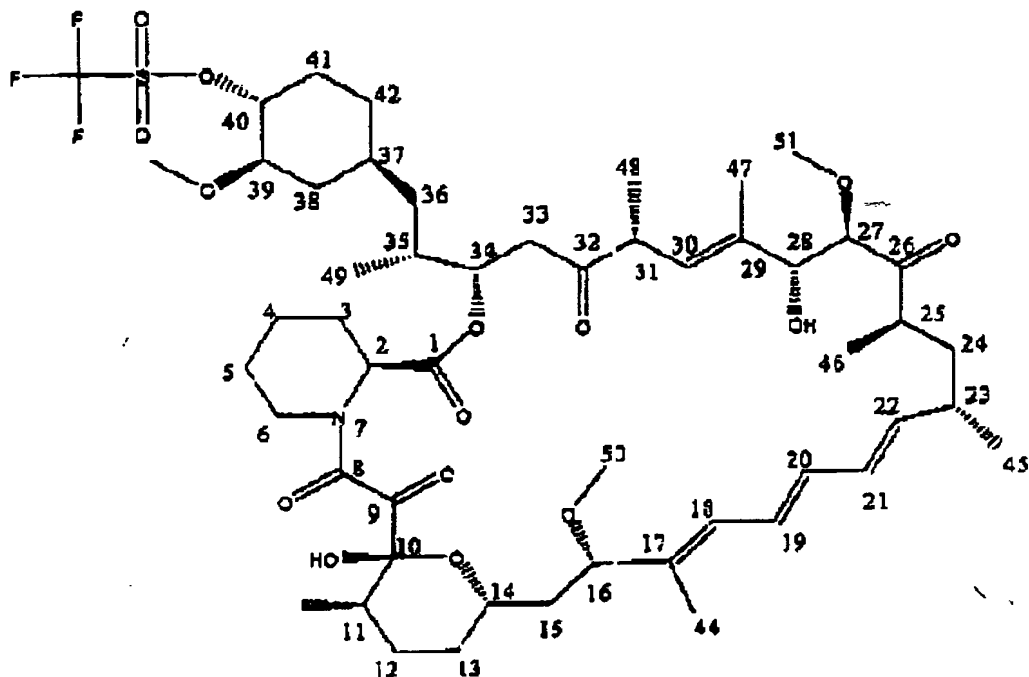


**CARACTERIZADO** pelo fato de compreender:

(a) reagir uma molécula de fórmula VI:

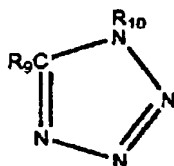


com anidrido trifílico para produzir uma molécula de fórmula VII:



e

(b) reagir a molécula da fórmula VII com uma molécula da fórmula IV:



onde:

5             $R_9$  e  $R_{10}$  são independentemente selecionados do grupo consistindo de H, alquênica, alquênica-cicloalquênica, alquênica-cicloalquila, alquila, alquila-cicloalquênica, alquila-cicloalquila, alquênica, aralquila, arila, cicloalquênica, cicloalquila, cicloalquila-alquila, 10 cicloalquila-cicloalquila, cicloalquênica-alquila, heterociclila, aza, amida, amônio, oxa, tia, sulfonila, sulfonila, sulfonamida, fosforila, fosfinila, fosfino, fosfonio, ceto, éster, álcool, carbamato, uréia,

tiocarbonila, boratos, boranos, boraza, silila, silóxi, silaza e combinações destes.

18. Método, de acordo com a reivindicação 17, **CARACTERIZADO** por ser realizado num reator simples.

5 19. Método, de acordo com a reivindicação 17, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a etapa (a) é realizada na presença de uma base não nucleofílica.

20. Método, de acordo com a reivindicação 19, **CARACTERIZADO** pela base não nucleofílica compreender uma  
10 piridina, diisopropiletil amina ou piridina substituída.

21. Método, de acordo com a reivindicação 20, **CARACTERIZADO** pela piridina substituída compreender 2,6-lutidina, 2,6-di-terc-butilpiridina ou 2,4,6-colidina.

22. Método, de acordo com a reivindicação 20,  
15 **CARACTERIZADO** pelo fato de que a etapa (a) é realizada na presença de um solvente.

23. Método, de acordo com a reivindicação 22, **CARACTERIZADO** pelo solvente compreender acetato de isopropila ou diclorometano.

20 24. Método, de acordo com a reivindicação 22, **CARACTERIZADO** pelo solvente compreender diclorometano que é trocado por acetato de isopropila antes ou durante a etapa (b).

25 25. Método, de acordo com a reivindicação 17, **CARACTERIZADO** por  $R_{10}$  ser H, e  $R_9$  ser selecionado do grupo consistindo de H, metila e fenila.

26. Método, de acordo com a reivindicação 17, **CARACTERIZADO** por  $R_9$  e  $R_{10}$  serem H.

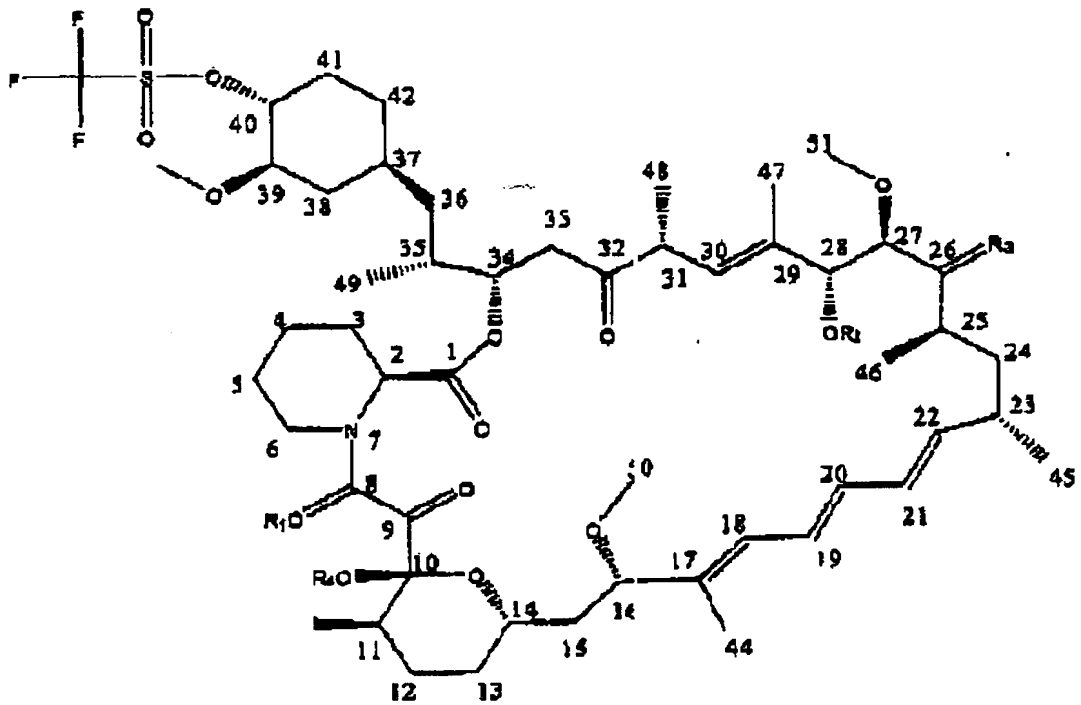
27. Método, de acordo com a reivindicação 17, **CARACTERIZADO** pela etapa (b) ser realizada na presença de um solvente.

28. Método, de acordo com a reivindicação 27, **CARACTERIZADO** pelo solvente compreender um solvente aprótico.

29. Método, de acordo com a reivindicação 28, **CARACTERIZADO** pelo solvente aprótico compreender perfluorexano,  $\alpha, \alpha, \alpha$ -trifluortolueno, pentano, hexano, cicloexano, metilcicloexano, decaidronaftaleno, tetracloreto de carbono, dioxano, fluortriclorometano, benzeno, tolueno, trietilamina, dissulfeto de carbono, éter diisopropílico, éter dietílico, éter terc-butil metílico, clorofórmio, acetato de etila, 1,2-dimetoxietano, éter 2-metoxietílico, tetraidrofurano, 1,2-dimetoxietano, tetraidrofurano, cloreto de metileno, piridina, 2-butanona, acetona, hexametilfosforamida, N-metilpirrolidinona, nitrometano, dimetil formamida, acetonitrila, sulfolano, dimetilsulfóxido, diisopropil etil amina, acetato de isopropila, diclorometano, dimetilamina, N,N-dimetilformamida ou carbonato de propileno.

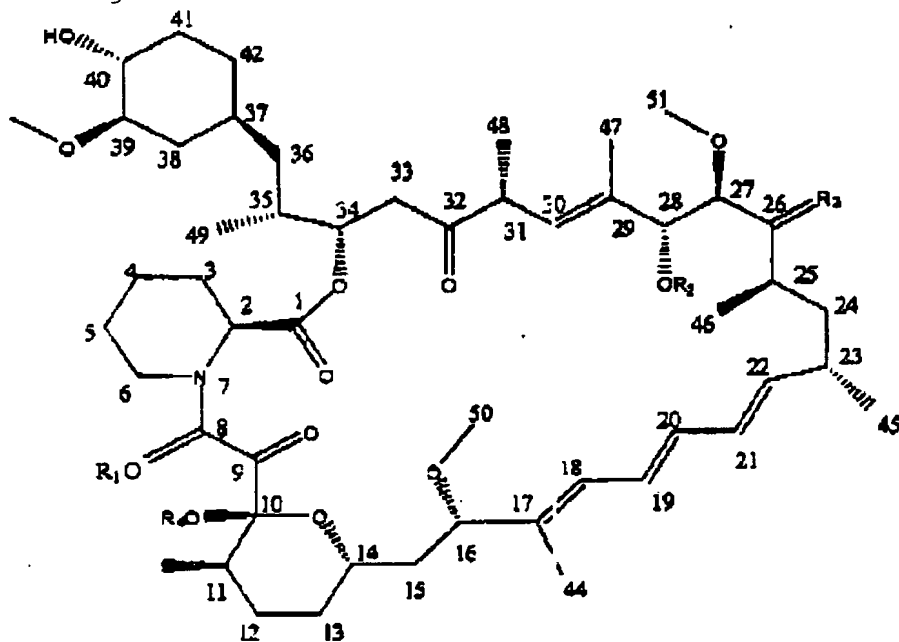
30. Método, de acordo com a reivindicação 17, **CARACTERIZADO** pela etapa (b) ser realizada na presença de diisopropil etilamina e acetato de isopropila ou diclorometano.

31. Método de preparar uma molécula de fórmula III:



**CARACTERIZADO** por compreender:

reagir uma molécula da fórmula II:



com anidrido trifílico,

em que  $R_1$  é selecionado do grupo consistindo de =O

5 (H, H) e (H, OH);

$R_2$  e  $R_5$  são independentemente selecionados do grupo consistindo de H,  $-C(=O)R_6$ ,  $-C(=O)OR_6$ ,  $-C(=O)NHR_6$ , e  $-C(=S)OR_6$ ;

$R_3$  é selecionado do grupo consistindo de  $=O$  e  $OR_5$ ;  
 5 ou  $R_2$  e  $R_3$  podem ser considerados juntos para formar fração de fórmula  $A-C(R_7)(R_8)-O-B$ , onde A é uma ligação ao oxigênio ligado ao carbono 28 e B é ligado ao carbono 28 conforme definido acima;

$R_4$  é selecionado do grupo consistindo de H e  
 10 alquila  $C_{1-4}$  ;

$R_6$  é selecionado do grupo consistindo de grupos alquila  $C_{1-10}$ , cicloalquila  $C_{3-6}$ , arila e grupos heterocíclicos;

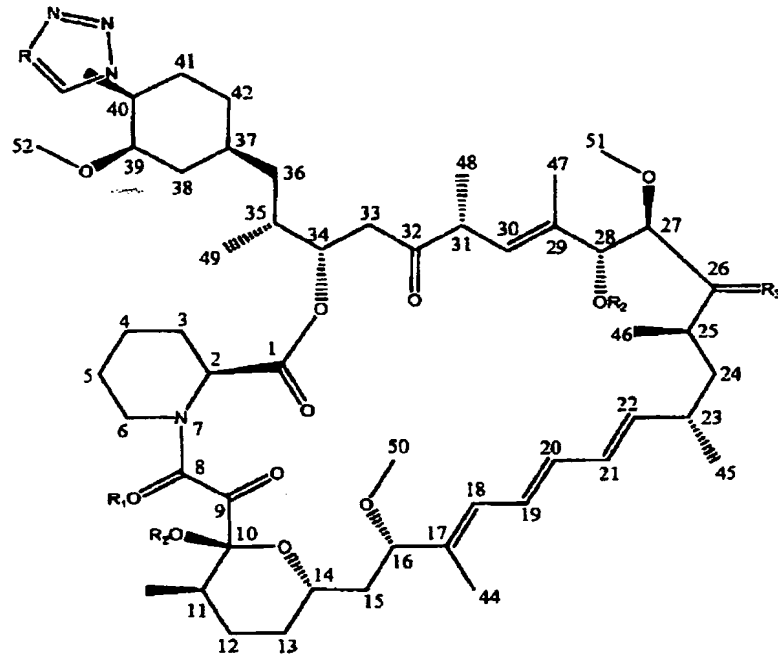
$R_7$  e  $R_8$  são independentemente selecionados do grupo  
 15 consistindo de H, alquila  $C_{1-6}$ , ou  $R_7$  e  $R_8$  considerados juntos são  $=O$ .

32. Método, de acordo com a reivindicação 31, **CARACTERIZADO** pela reação com anidrido triflico ser realizada na presença de uma base não nucleofílica.

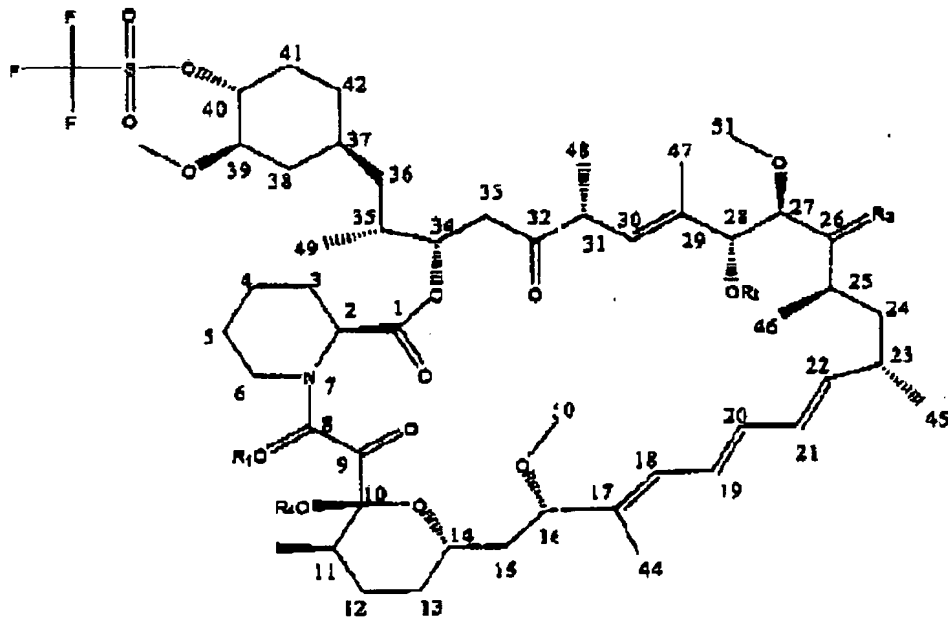
20 33. Método, de acordo com a reivindicação 32, **CARACTERIZADO** pela base não nucleofílica compreender uma piridina, diisopropil etilamina ou piridina substituída.

34. Método, de acordo com a reivindicação 33, **CARACTERIZADO** pela piridina substituída compreender 2,6-  
 25 lutidina, 2,6-di-terc-butilpiridina ou 2,4,6-colidina.

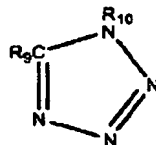
35. Método de preparar uma molécula de fórmula I:



**CARACTERIZADO** por compreender  
reagir uma molécula da fórmula III:



com uma molécula de fórmula IV:



em que  $R_1$  é selecionado do grupo consistindo de =O (H, H) e (H, OH);

$R_2$  e  $R_5$  são independentemente selecionados do grupo consistindo de H,  $-C(=O)R_6$ ,  $-C(=O)OR_6$ ,  $-C(=O)NHR_6$ , e -  
5  $C(=S)OR_6$ ;

$R_3$  é selecionado do grupo consistindo de =O e  $OR_5$ ; ou  $R_2$  e  $R_3$  podem ser considerados juntos para formar fração de fórmula  $A-C(R_7)(R_8)-O-B$ , onde A é uma ligação ao oxigênio ligado ao carbono 28 e B é ligado ao carbono 28 conforme  
10 definido acima;

$R_4$  é selecionado do grupo consistindo de H e alquila  $C_{1-4}$ ;

$R_6$  é selecionado do grupo consistindo de grupos alquila  $C_{1-10}$ , cicloalquila  $C_{3-6}$ , arila e grupos  
15 heterocíclicos;

$R_7$  e  $R_8$  são independentemente selecionados do grupo consistindo de H, alquila  $C_{1-6}$ , ou  $R_7$  e  $R_8$  considerados juntos são =O.

$R_9$  e  $R_{10}$  são independentemente selecionados do  
20 grupo consistindo de H, alquenila, alquenilcicloalquenila, alquenilcicloalquila, alquila, alquilcicloalquenila, alquilcicloalquila, alquinila, aralquila, arila, cicloalquenia, cicloalquila, cicloalquilalquila, cicloalquilcicloalquila, cicloalquenilalquila,  
25 heterociclila, aza, amida, amônio, oxa, tia, sulfonila, sulfinila, sulfonamida, fosforila, fosfinila, fosfino, fosfonio, ceto, éster, álcool, carbamato, uréia, tiocarbonila, boratos, boranos, boraza, silila, silóxi,

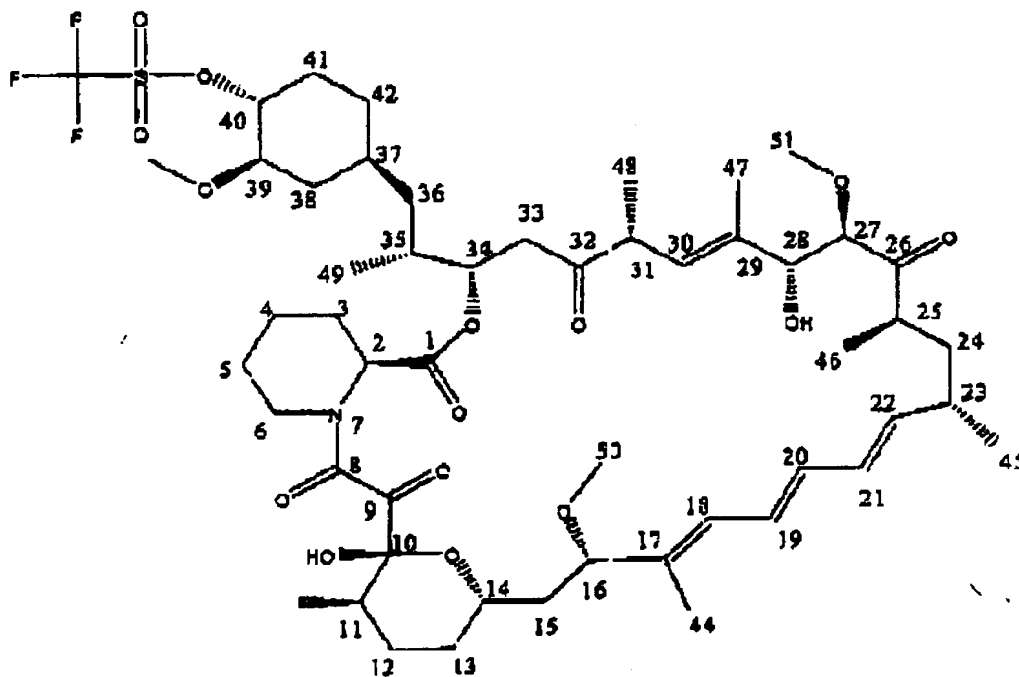
silaza e combinações destes.

36. Método, de acordo com a reivindicação 35, **CARACTERIZADO** por ser realizado na presença de trietilamina, diisopropil etilamina, piridina, N-metil imidazol, ou 4-  
5 dimetilaminopiridina com a molécula de fórmula IV.

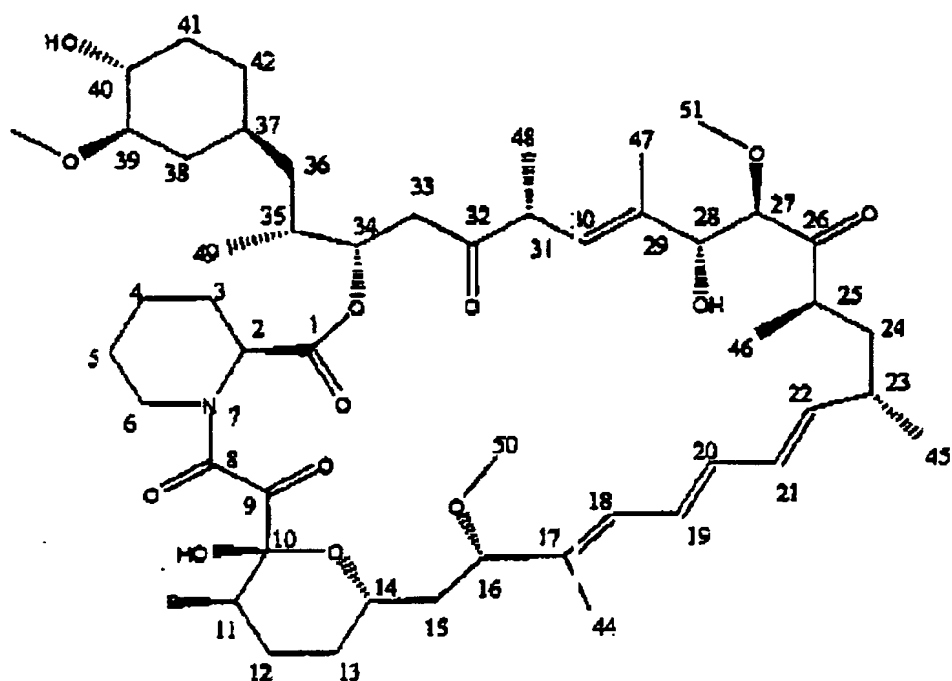
37. Método, de acordo com a reivindicação 35, **CARACTERIZADO** por R<sub>10</sub> ser H, e R<sub>9</sub> ser selecionado do grupo consistindo de H, metila e fenila.

38. Método, de acordo com a reivindicação 35, **CARACTERIZADO** por R<sub>9</sub> e R<sub>10</sub> serem H.

39. Método de preparação de uma molécula da fórmula VII;



**CARACTERIZADO** por compreender reagir uma molécula da fórmula VI:



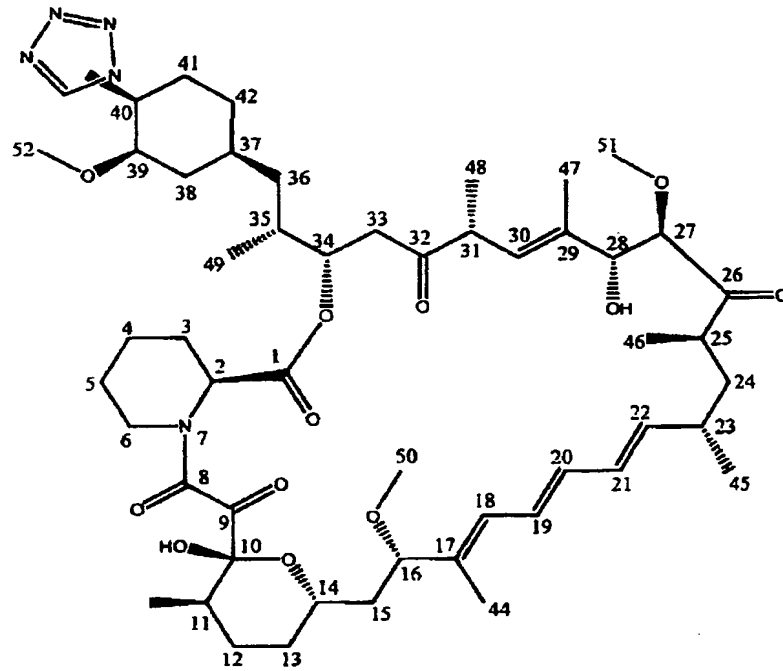
com anidrido tríflico.

40. Método, de acordo com a reivindicação 39, **CARACTERIZADO** pelo fato de ser realizado na presença de uma base não nucleofílica.

5 41. Método, de acordo com a reivindicação 40, **CARACTERIZADO** pela base não nucleofílica compreender uma piridina, diisopropiletil amina ou piridina substituída.

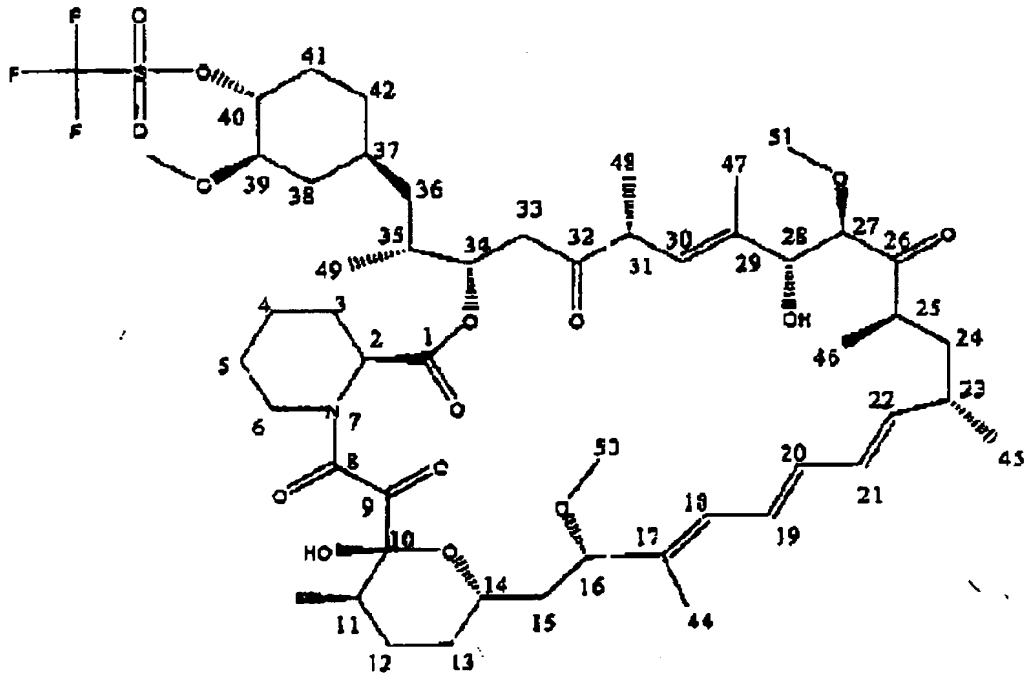
10 42. Método, de acordo com a reivindicação 41, **CARACTERIZADO** pela piridina substituída compreender 2,6-lutidina, 2,6-di-terc-butilpiridina ou 2,4,6-colidina.

43. Método de preparar uma molécula da fórmula V:



**CARACTERIZADO** por compreender:

reagir uma molécula da fórmula VI:



com uma molécula de fórmula IV:



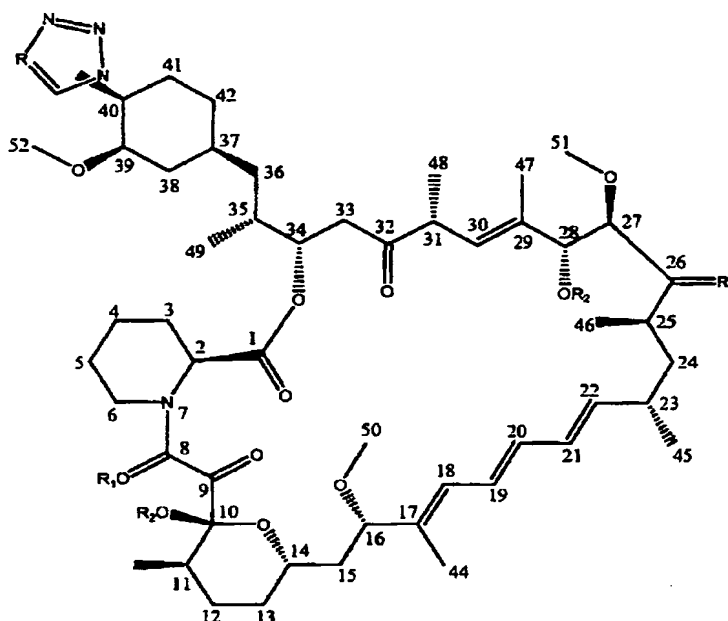
em que  $R_9$  e  $R_{10}$  são independentemente selecionados do grupo consistindo de H, alquenila, alquenilcicloalquenila, alquenilcicloalquila, alquila, alquilcicloalquenila, alquilcicloalquila, alquinila, 5 aralquila, arila, cicloalquenila, cicloalquila, cicloalquilalquila, cicloalquilcicloalquila, cicloalquenilalquila, heterociclila, aza, amida, amônio, oxa, tia, sulfonila, sulfinila, sulfonamida, fosforila, fosfinila, fosfino, fosfonio, ceto, éster, álcool, 10 carbamato, uréia, tiocarbonila, boratos, boranos, boraza, silila, silóxi, silaza e combinações destes.

44. Método, de acordo com a reivindicação 43, **CARACTERIZADO** por ser realizado na presença de trietilamina, diisopropil etilamina, piridina, N-metil imidazol, ou 4- 15 dimetilaminopiridina com a molécula de fórmula IV.

45. Método, de acordo com a reivindicação 43, **CARACTERIZADO** por  $R_{10}$  ser H, e  $R_9$  ser selecionado do grupo consistindo de H, metila e fenila.

46. Método, de acordo com a reivindicação 43, 20 **CARACTERIZADO** por  $R_9$  e  $R_{10}$  serem H.

47. Composição, **CARACTERIZADA** por compreender uma molécula da fórmula I:



e um antioxidante,

onde  $R_1$  é selecionado do grupo consistindo de =O (H, H) e (H, OH);

$R_2$  e  $R_5$  são independentemente selecionados do grupo consistindo de H,  $-C(=O)R_6$ ,  $-C(=O)OR_6$ ,  $-C(=O)NHR_6$ , e  $-C(=S)OR_6$ ;

$R_3$  é selecionado do grupo consistindo de =O e  $OR_5$ ; ou  $R_2$  e  $R_3$  podem ser considerados juntos para formar fração de fórmula  $A-C(R_7)(R_8)-O-B$ , onde A é uma ligação ao oxigênio ligado ao carbono 28 e B é ligado ao carbono 28 conforme definido acima;

$R_4$  é selecionado do grupo consistindo de H e alquila  $C_{1-4}$ ;

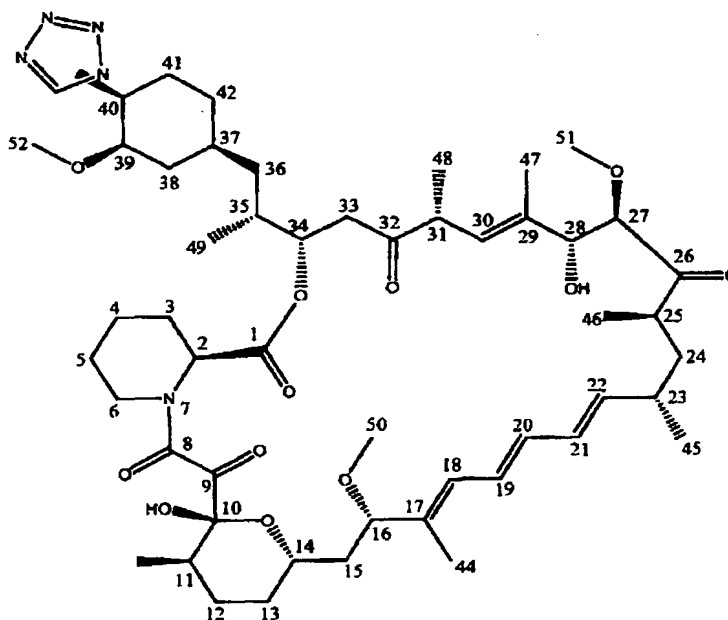
$R_6$  é selecionado do grupo consistindo de grupos alquila  $C_{1-10}$ , cicloalquila  $C_{3-6}$ , arila e grupos heterociclila;

$R_7$  e  $R_8$  são independentemente selecionados do grupo consistindo de H, alquila  $C_{1-6}$ , ou  $R_7$  e  $R_8$  considerados

juntos são =0.

48. Composição, de acordo com a reivindicação 47, **CARACTERIZADA** pelo antioxidante compreender 3,5-di-terc-4-butil-hidroxitolueno, DL- $\alpha$ -tocoferol, galato de propila, 5 palmitato de ascorbila, 3-terc-butil-4-hidroxianisol, 2-terc-butil-4-hidroxianisol e ácido fumárico, ou combinações destes.

49. Composição, **CARACTERIZADA** por compreender uma molécula de fórmula V:



10 e um antioxidante.

50. Composição, de acordo com a reivindicação 49, **CARACTERIZADA** pelo antioxidante compreender 3,5-di-terc-4-butil-hidroxitolueno, DL- $\alpha$ -tocoferol, galato de propila, palmitato de ascorbila, 3-terc-butil-4-hidroxianisol, 2-15 terc-butil-4-hidroxianisol, ácido fumárico, ,6-di-terc-butil-4-etilfenol, 2,6-di-terc-butil-4-metoxifenol ou combinações destes.

Fig. 1

FLUXOGRAMA DO PROCESSO ABT-578  
DIAGRAMA I

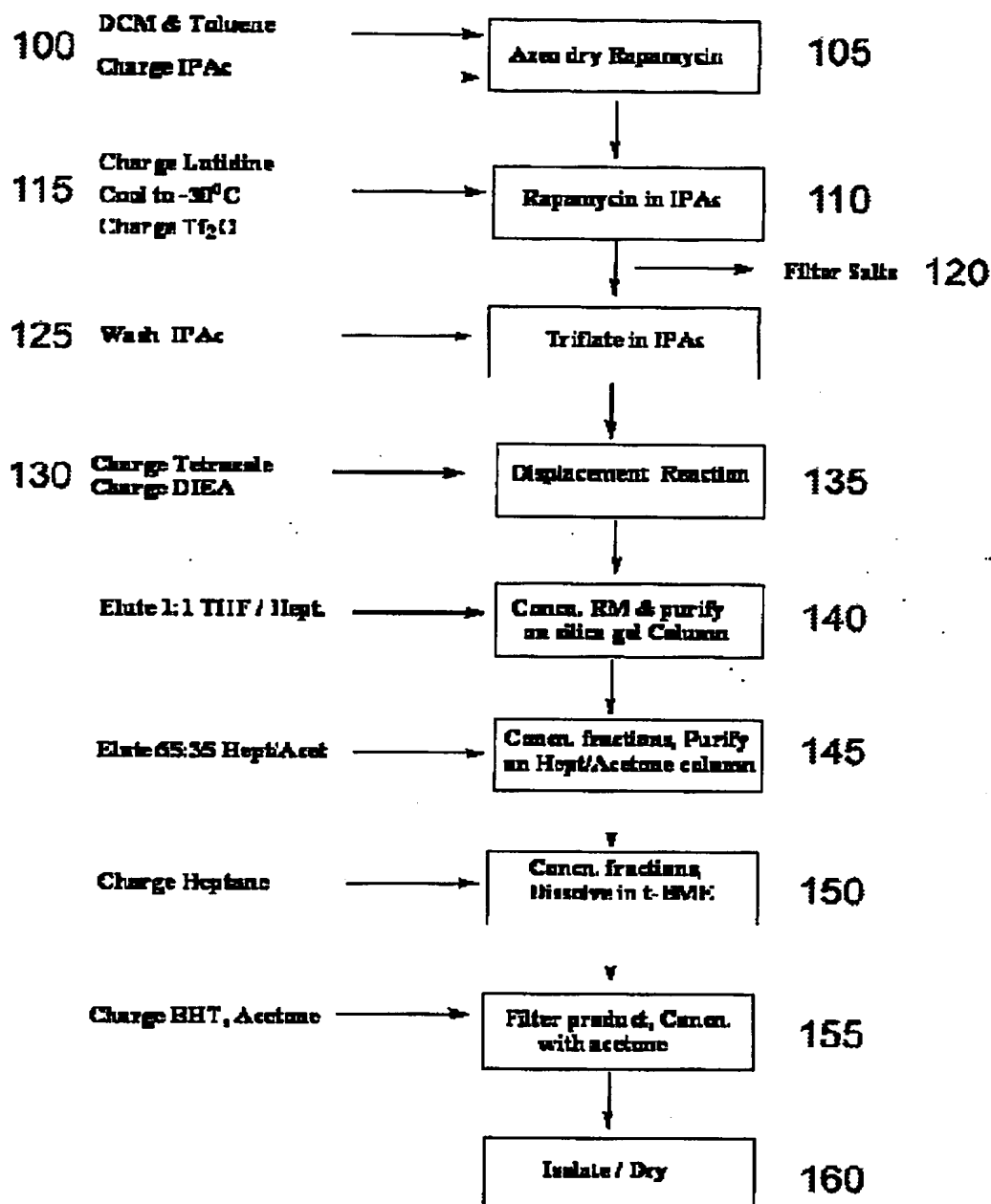
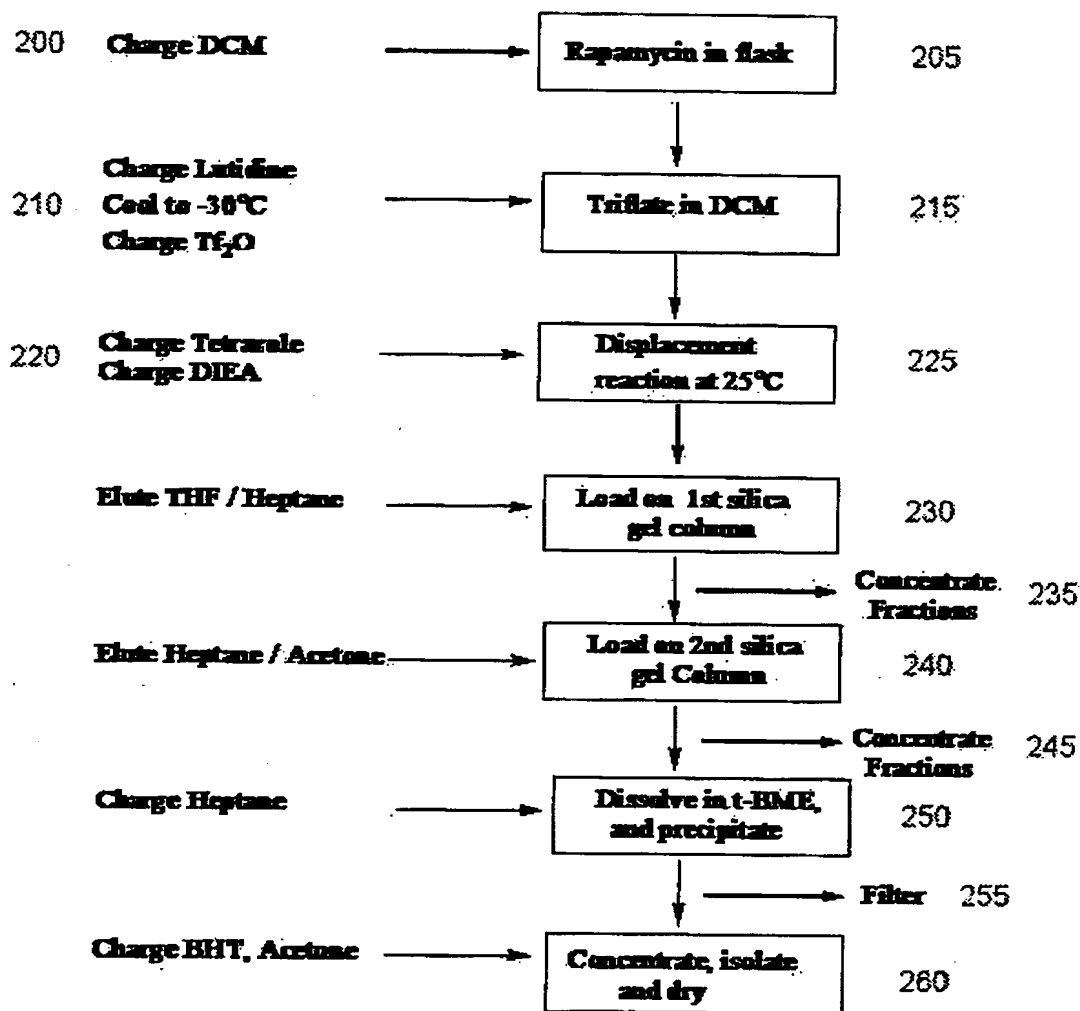


Fig. 2

FLUXOGRAMA DO PROCESSO ABT-578  
DIAGRAMA II



PI 0619844-9

RESUMO

"SÍNTESE EM REATOR SIMPLES DE DERIVADOS TETRAZOL DE SIROLIMUS"

Um processo de única etapa e em reator simples para obter zotarolimus e outros derivados de rapamicina em grande escala, que melhora as sínteses atualmente disponíveis. Numa modalidade, a rapamicina seca é dissolvida em acetato de isopropila. Após resfriar e adicionar 2,6-lutidina adiciona-se lentamente anidrido tríflico a -30°C. Removem-se os sais por filtração. Adiciona-se tetrazol, seguido por uma base terciária diisopropiletilamina. Após incubação a temperatura ambiente, o produto é concentrado e purificado por uma coluna de sílica gel usando THF/heptano como eluente. O produto é coletado, concentrado, e purificado usando uma coluna de acetona/heptano. As frações contendo o produto são concentradas. O produto é dissolvido em terc-BME e precipitado com heptano. Os sólidos são dissolvidos em acetona, tratados com hidroxitolueno butilado e a solução concentrada. Repete-se o processo duas vezes com acetona a fim de remover os solventes. Pelo menos um agente estabilizante é adicionado, tal como BHT a 0,5% antes de secar.