



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 277 975**

(51) Int. Cl.:

C07D 498/18 (2006.01)

A61K 31/435 (2006.01)

C07D 311/00 (2006.01)

C07D 273/00 (2006.01)

C07D 221/00 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Número de solicitud europea: **02014322 .8**

(86) Fecha de presentación : **14.04.1995**

(87) Número de publicación de la solicitud: **1266899**

(87) Fecha de publicación de la solicitud: **18.12.2002**

(54) Título: **Hidroxiésteres de rapamicina, procedimiento para su preparación y composiciones farmacéuticas que los contienen.**

(30) Prioridad: **18.04.1994 US 229261**

(73) Titular/es: **Wyeth
Five Giralta Farms
Madison, New Jersey 07940-0874, US**

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.08.2007

(72) Inventor/es: **Skotnicki, Jerauld Stanley;
Leone, Christina Louise y
Schiehser, Guy Alan**

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.08.2007

(74) Agente: **Curell Suñol, Marcelino**

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

Hidroxiésteres de rapamicina, procedimiento para su preparación y composiciones farmacéuticas que los contienen.

5

Antecedentes de la invención

La presente invención se refiere a hidroxiésteres de rapamicina y a un procedimiento para su utilización para la inducción de la inmunosupresión, y en el tratamiento de rechazo al trasplante, enfermedad de injerto contra huésped, enfermedades autoinmunes, enfermedades que cursan con inflamación, el linfoma leucemia T pleomórfico del adulto, tumores sólidos, infecciones fúngicas y enfermedades vasculares hiperproliferativas.

La rapamicina es un antibiótico triénico macrocíclico producido por el *Streptomyces hygroscopicus* que se halló que tenía actividad antifúngica, particularmente contra la *Candida albicans*, tanto *in vitro* como *in vivo* [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); patente US nº 3.929.992; y patente US nº 3.993.749].

Se ha mostrado que la rapamicina sola (patente US nº 4.885.171) o en combinación con el picibanil (patente US nº 4.401.653) tiene actividad antitumoral. R. Martel *et al.* [Can. J. Physiol. Pharmacol., 55, 48 (1977)] dieron a conocer que la rapamicina es eficaz en el modelo de encefalomielitis alérgica experimental, un modelo para la esclerosis múltiple; en el modelo de la artritis adyuvante, un modelo para la artritis reumatoide; y que inhibía eficazmente la formación de anticuerpos del tipo IgE.

Los efectos inmunosupresores de la rapamicina se han dado a conocer en FASEB 3, 3411 (1989). La ciclosporina A y el FK-506, otras moléculas macrocíclicas, también han mostrado ser eficaces como agentes inmunosupresores, por consiguiente, útiles en prevenir el rechazo de trasplantes [FASEB 3, 3411 (1989); FASEB 3, 5256 (1989); R.Y. Calne *et al.*, Lancet, 1183 (1978); y patente US nº 5.100.899].

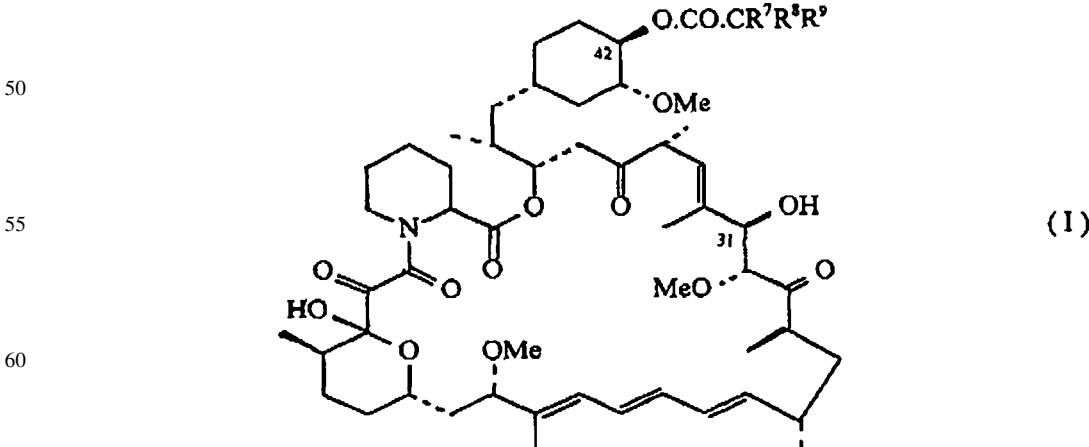
La rapamicina también ha manifestado ser útil en prevenir o en tratar el lupus eritematoso sistémico [patente US nº 5.078.999], la inflamación pulmonar [patente US nº 5.080.899], la diabetes mellitus dependiente de la insulina [Fifth Int. Conf. Inflamm. Res. Assoc., 121 (resumen), (1990)], la proliferación de las células de la musculatura lisa y el espesamiento de la túnica íntima que siguen a una lesión vascular (Morris, R.J., Heart Lung Transplant, 11 (parte 2): 197 (1992)], el linfoma leucemia T pleomórfico del adulto [solicitud de patente europea 525.960 A 1] y la inflamación ocular [solicitud de patente europea 532.862 A 1].

35

Los derivados mono- y di-acilados de la rapamicina (esterificados en las posiciones 28 y 43) han mostrado ser útiles como agentes antifúngicos (patente US nº 4.316.885) y se han utilizado para hacer profármacos de aminoácido de la rapamicina solubles en agua (patente US nº 4.650.803). Recientemente, se ha cambiado la convención de numeración para la rapamicina; por consiguiente, de acuerdo con la nomenclatura del Chemical Abstracts, los ésteres anteriormente descritos estarían en las posiciones 31 y 42.

Descripción de la invención

La presente invención proporciona derivados de rapamicina que son útiles como agentes inmunosupresores, anti-inflamatorios, antiproliferativos y antitumorales que presentan la estructura:



en la que R³ y R⁴ son cada uno, independientemente, hidrógeno, alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, alquenilo de 2 a 7 átomos de carbono, alquinilo de 2 a 7 átomos de carbono, trifluorometilo, o -F;

ES 2 277 975 T3

R⁷ es hidrógeno, alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, alquenilo de 2 a 7 átomos de carbono, alquinilo de 2 a 7 átomos de carbono, -(CR³R⁴)_fOR¹⁰, -CF₃ o -F;

5 R⁸ y R⁹ son cada uno, independientemente, hidrógeno, alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, -(CR³R⁴)_fOR¹⁰, R⁸ y R⁹ pueden tomarse conjuntamente para formar X;

10 R¹⁰ es hidrógeno, alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, alquenilo de 2 a 7 átomos de carbono, alquinilo de 2 a 7 átomos de carbono, tri(alquilo de 1 a 6 átomos de carbono)sililo, tri(alquilo de 1 a 6 átomos de carbono)sililetilo, trifenilmetilo, bencilo, alcoximetilo de 2 a 7 átomos de carbono, tri(alquilo de 1 a 6 átomos de carbono)sililetoximetilo, cloroetilo, o tetrahidropiranilo;

15 X es 5-(2,2-di(alquilo de 1 a 6 átomos de carbono))[1,3]dioxanilo, 5-(2-espiro(cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono))[1,3]dioxanilo, 4-(2,2-di(alquilo de 1 a 6 átomos de carbono))[1,3]-dioxanilo, 4-(2-espiro(cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono))[1,3]dioxalanilo, 4-(2,2-di(alquilo de 1 a 6 átomos de carbono))[1,3]dioxalanilo, o 4-(2-espiro(cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono))[1,3]dioxalanilo;

y

20 f= 0-6

25 con la condición de que el grupo -CR⁷R⁸R⁹ contenga por lo menos un grupo -(CR³R⁴)_fOR¹⁰ o X, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Las sales farmacéuticamente aceptables son aquéllas derivadas de cationes inorgánicos tales como el sodio, el 25 potasio, y análogos; y de bases orgánicas tales como mono-, di- y tri-alquilaminas de 1 a 6 átomos de carbono por grupo alquilo, y mono-, di- y tri-hidroxialquilaminas de 1 a 6 átomos de carbono por grupo alquilo, y similares.

30 Las expresiones alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, alquenilo de 2 a 7 átomos de carbono, y alquinilo de 2 a 7 átomos de carbono, incluyen cadenas carbonadas tanto rectas como ramificadas. Dado que los compuestos de la presente invención pueden contener más de un grupo -(CR³R⁴)_fOR¹⁰, R³, R⁴, f y R¹⁰ pueden ser iguales o diferentes. Igualmente, cuando otras descripciones sustituyentes genéricas se repiten en la misma estructura, pueden ser iguales o diferentes.

35 En un compuesto en el que R⁸ y R⁹ se toman conjuntamente para formar X, en el que X es 5-(2,2-di(alquilo de 1 a 6 átomos de carbono))[1,3]dioxanilo y el grupo alquilo de X contiene 1 átomo de carbono, R¹ debería presentar la estructura siguiente:



45 Igualmente, para un compuesto en el que R⁸ y R⁹ se toman conjuntamente para formar X, en el que X es 4-(2-espiro(cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono))[1,3]dioxanilo, y el grupo cicloalquilo de X contiene 6 átomos de carbono, R¹ debería presentar la estructura siguiente.



60 Para los compuestos que contienen X, los compuestos preferidos incluyen aquéllos en los que el grupo alquilo de X, si está presente, es metilo y el grupo cicloalquilo de X, si está presente, es ciclohexilo.

65 Cuando R¹⁰ no es hidrógeno, alquilo, alquenilo, o alquinilo, se pretende que R¹⁰ sea un grupo que puede actuar como un grupo protector de alcohol. Así, estos grupos son productos intermedios de los compuestos hidroxilados libres, siendo asimismo biológicamente activos por sí mismos. R¹⁰ comprende los grupos tri(alquilo de 1 a 6 átomos de carbono)sililo, tri(alquilo de 1 a 6 átomos de carbono)sililetilo, trifenilmetilo, bencilo, alcoximetilo de 2 a 7 átomos de carbono, tri(alquilo de 1 a 6 átomos de carbono)sililetoximetilo, cloroetilo y tetrahidropiranilo. Otros grupos protectores de alcohol son conocidos por el experto en la materia y forman asimismo parte de la presente invención.

ES 2 277 975 T3

Los compuestos de la presente invención se pueden preparar por acilación de la rapamicina utilizando hidroxiácidos o polihidroxiácidos, ácidos alcoxícarboxílicos o polialcoxícarboxílicos protegidos que han sido activados, seguido por la eliminación de los grupos protectores del alcohol, si se desea. En el estado de la técnica se conocen varios procedimientos para la activación del carboxilato, pero los métodos preferidos utilizan carbodiimidas, anhídridos mixtos o cloruros de ácido. Por ejemplo, un ácido carboxílico adecuadamente sustituido se puede activar como un anhídrido mixto, con un grupo acilante tal como el cloruro de 2,4,6-triclorobenzófó. El tratamiento de la rapamicina con el anhídrido mixto bajo condiciones ligeramente básicas proporciona el compuesto deseado. Alternativamente, la reacción de acilación se puede conseguir con clorhidrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida y dimetilaminopiridina. Las mezclas de ésteres en posiciones 42 y 31,42 se pueden separar por cromatografía.

5

10

Por lo tanto, la invención proporciona asimismo un procedimiento para la preparación de los compuestos de rapamicina de la presente invención. En particular la presente invención proporciona un procedimiento para la preparación de hidroxiésteres de rapamicina que comprenden los de la fórmula I como se ha definido anteriormente que comprende:

15

acilar la rapamicina con un agente acilante de fórmula:



20

o un derivado reactivo del mismo en el que R⁷-R⁹ son como se ha definido anteriormente con la condición de que los grupos hidroxi libres estén protegidos, si se desea proteger la posición 42 de la rapamicina o el derivado funcional con un grupo protector adecuado y después de la reacción eliminar cualquier grupo protector presente como se requiera.

25

La reacción se puede llevar a cabo en presencia de un reactivo de acoplamiento, tal como un reactivo de acoplamiento del tipo carbodiimida adecuadamente sustituida. Los compuestos mencionados anteriormente de esta invención también se puede preparar por acilación utilizando derivados reactivos del ácido de fórmula II tales como un anhídrido, un anhídrido mixto, o un haluro de ácido como el cloruro.

30

La actividad inmunosupresora para los compuestos representativos de esta invención se evaluó en un procedimiento de ensayo farmacológico estándar *in vitro* para medir la inhibición de la proliferación de linfocitos (LAF) y en dos procedimientos de ensayo farmacológico estándar *in vivo*. El procedimiento de ensayo del injerto de un trozo de piel, que mide la actividad inmunsupresora del compuesto ensayado así como la capacidad del compuesto ensayado para inhibir o tratar el rechazo de trasplantes. El procedimiento de ensayo farmacológico estándar de la artritis adyuvante, que mide la capacidad del compuesto ensayado para inhibir la inflamación mediada inmunológicamente. El procedimiento de ensayo de la artritis adyuvante es un procedimiento de ensayo farmacológico estándar para la artritis reumatoide. Los procesos para estos procedimientos de ensayo farmacológico estándar se aportan más adelante.

35

El procedimiento de la proliferación de timocitos inducida por comitógenos (LAF) se utilizó como una medida *in vitro* de los efectos inmunsupresores de los compuestos representativos.

Brevemente, células del timo de ratones BALB/c normales se cultivan durante 72 horas con PHA e IL-1 y se pulsan con timidina tritiada durante las últimas seis horas. Las células se cultivan con y sin varias concentraciones de rapamicina, ciclosporina A o el compuesto de ensayo. Las células se cosechan y se determina la radiactividad incorporada. La inhibición de la proliferación de linfocitos se evalúa en forma de cambio porcentual en los recuentos por minuto con respecto a los controles no tratados con el fármaco. Para cada compuesto evaluado, también se evaluó la rapamicina con propósitos de comparación. Se obtuvo una CI₅₀ para el compuesto de ensayo así como para la rapamicina. Cuando se evaluó como base de comparación para los compuestos representativos de esta invención, la rapamicina tenía una CI₅₀ que iba de 0,6 a 1,5 nM. Los resultados obtenidos se proporcionan como una CI₅₀ y como la inhibición porcentual de la proliferación de linfocitos T a 0,1 μM. Los resultados obtenidos para el compuesto de esta invención también se expresaron como una razón comparativa con la rapamicina. Una razón positiva indica actividad inmunsupresora. Una razón mayor que 1 indica que el compuesto de ensayo inhibía la proliferación de timocitos en mayor grado que la rapamicina. El cálculo de la razón se muestra a continuación.

40

$$\frac{\text{CI}_{50} \text{ de la rapamicina}}{\text{CI}_{50} \text{ del compuesto de ensayo}}$$

Los compuestos representativos de la presente invención se evaluaron asimismo en un procedimiento de ensayo *in vivo* diseñado para determinar el tiempo de supervivencia de un injerto de un trozo de piel de donantes BALB/c macho transplantado a receptores C₅H(H-2K) macho. El método está adaptado de Billingham R.E. y Medawar P.B., J. Exp. Biol., 28: 385-402, (1951). En resumen, un injerto de un trozo de piel del donante se injertó sobre el lomo del receptor a modo de aloinjerto, y se utilizó un injerto isogénico como control en la misma región. Los receptores se trataron con concentraciones variables de los compuestos de ensayo ya sea por vía intraperitoneal ya sea por vía oral. La rapamicina se utilizó como control del ensayo. Los receptores no tratados sirven como control del rechazo. El injerto se monitorizó a diario y se registraron las observaciones hasta que el injerto se volvió seco y formó una costra ennegrecida. Éste fue considerado como el día de rechazo. El tiempo de supervivencia medio del injerto (número de días ± D.E.) del grupo de tratamiento con el fármaco se comparó con el del grupo control. La tabla siguiente muestra

ES 2 277 975 T3

los resultados que se obtuvieron. Los resultados se expresan en forma de tiempo de supervivencia medio en días. Los injertos de un trozo de piel no tratados (control) normalmente se rechazan en 6 - 7 días. Los compuestos se ensayaron utilizando una dosis de 4 mg/kg.

5 El procedimiento de ensayo farmacológico estándar de la artritis adyuvante mide la capacidad de los compuestos de ensayo para prevenir la inflamación mediada inmunológicamente e inhibir o tratar la artritis reumatoide. A continuación se describe brevemente el procedimiento de ensayo utilizado. Un grupo de ratas (Wistar Lewis ingénitas macho) se pretratan con el compuesto a ensayar (1 hora antes del antígeno) y luego se inyectan con adyuvante completo de Freud (FCA) en la pata trasera derecha para inducir la artritis. Las ratas se tratan luego por vía oral siguiendo
10 una pauta de administración de lunes, miércoles y viernes desde el día 0 hasta día 14, por un total de 7 dosis. Ambas patas traseras se miden los días 16, 23, y 30. Se determina la diferencia en el volumen de la pata (ml) entre el día 16 y el día 0, y se obtiene un cambio porcentual con respecto al control. La inflamación de la pata trasera izquierda (la pata no inyectada) es causada por la inflamación mediada por los linfocitos T y viene consignada en la tabla anterior (% de cambio con respecto al control). Por otra parte, la inflamación de la pata trasera derecha es causada por una
15 inflamación no específica. Los compuestos se ensayaron a una dosis de 5 mg/kg. Los resultados se expresan como el cambio porcentual observado el día 16 en la pata no inyectada con respecto al control; cuanto más negativo sea el cambio porcentual, tanto más potente será el compuesto. La rapamicina proporcionó un cambio de entre -70% y -90% frente al control, lo que indicaba que las ratas tratadas con rapamicina tenían entre el 70 y el 90% menos de inflamación inducida inmunológicamente que las ratas control.
20

Los resultados obtenidos en estos procedimientos de ensayo farmacológico estándar se aportan después del procedimiento para preparar los compuestos específicos que se ensayaron.

25 Los resultados de estos procedimientos de ensayo farmacológico estándar ponen de manifiesto actividad inmunosupresora tanto *in vitro* como *in vivo* para los compuestos de la presente invención. Los resultados obtenidos en el procedimiento de ensayo LAF indican supresión de la proliferación de linfocitos T, lo que demuestra la actividad inmunosupresora de el compuesto de esta invención. Una demostración adicional de la utilidad de los compuestos de la presente invención como agente inmunosupresor se puso de manifiesto a través de los resultados obtenidos en los procedimientos de ensayo farmacológico estándar del injerto de piel y de la artritis adyuvante. Adicionalmente, 30 los resultados obtenidos en el procedimiento de ensayo del injerto de piel demuestran también la capacidad de los compuestos de la presente invención para tratar o inhibir el rechazo de trasplantes. Los resultados obtenidos en el procedimiento de ensayo farmacológico estándar de la artritis adyuvante demuestran, además, la capacidad de los compuestos de la presente invención para tratar o inhibir la artritis reumatoide.

35 Basándose en los resultados de estos procedimientos de ensayo farmacológico estándar, los compuestos son útiles en el tratamiento o inhibición del rechazo de trasplantes tales como los aloinjertos de riñón, corazón, hígado, pulmón, médula ósea, páncreas (islotes de Langerhans), córnea, intestino delgado y de piel, y los injertos heterólogos de válvula de corazón; en el tratamiento o inhibición de enfermedades autoinmunitarias como el lupus, la artritis reumatoide, la diabetes mellitus, la miastenia grave y la esclerosis múltiple; y enfermedades que cursan con inflamación tales como 40 la soriasis, la dermatitis, el eczema, la seborrea, la enfermedad inflamatoria del intestino, la inflamación pulmonar (incluidos el asma, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, el enfisema, el síndrome de padecimiento respiratorio agudo (enfermedad de la membrana hialina), la bronquitis, y análogos) y la uveítis del ojo.

45 Debido al perfil de actividad obtenido, también se considera que los compuestos de la presente invención tienen actividades antitumorales y antifúngicas, así como actividades antiproliferativas. Por consiguiente, los compuestos de la presente invención son asimismo útiles para tratar tumores sólidos, el linfoma leucemia T pleomórfico del adulto, infecciones fúngicas y enfermedades vasculares hiperproliferativas tales como la reestenosis y la aterosclerosis. Cuando se utiliza para la reestenosis, se prefiere que los compuestos de la presente invención se utilicen para tratar la 50 reestenosis que tiene lugar tras un proceso de angioplastia. Cuando se utiliza para este propósito, los compuestos de la presente invención se pueden administrar antes del proceso, durante el proceso, después del proceso, o cualquier combinación de los anteriores.

Cuando se administra para el tratamiento o inhibición de los estados patológicos anteriores, los compuestos de la presente invención se pueden administrar a un mamífero por las vías oral, parenteral, intranasal, intrabronquial, 55 transdérmica, tópica, intravaginal o rectal.

Se contempla que, cuando los compuestos de la presente invención se utilizan como agente inmunosupresor o antiinflamatorio, se pueden administrar junto con uno o más agentes inmunorreguladores diferentes. Tales agentes inmunorreguladores diferentes incluyen, pero no se limitan a, la azatioprina; corticoesteroides, tales como la prednisona y la metilprednisolona; la ciclofosfamida; la rapamicina; la ciclosporina A; el FK-506; el OKT-3; y el ATG. Combinando los compuestos de la presente invención con tales otros fármacos o agentes para inducir inmunosupresión o tratar estados inflamatorios, se requieren cantidades menores de cada uno de los agentes para alcanzar el efecto deseado. La base para tal terapia de combinación fue establecida por Stepkowski, cuyos resultados mostraron que la utilización de una combinación de rapamicina y ciclosporina A a dosis subterapéuticas prolongaba significativamente 60 el tiempo de supervivencia de un aloinjerto de corazón. [Transplantation Proc., 23: 507 (1991)].

Los compuestos de la presente invención se pueden formular sin mezcla o con un portador farmacéutico, y administrar a un mamífero que lo precise. El portador farmacéutico puede ser sólido o líquido. Cuando se formula por vía

oral, se ha hallado que un 0,01% de Tween 80 en PHOSAL PG-50 (concentrado de fosfolípidos con 1,2-propilenglicol, A. Nattermann & Cie. GmbH) proporciona una formulación oral aceptable.

Un portador sólido puede incluir una o más sustancias que también pueden actuar como agentes aromatizantes,

- 5 lubricantes, solubilizantes, agentes suspensionantes, cargas, deslizantes, adyuvantes de compresión, aglutinantes o agentes desintegradores de comprimidos; también puede ser un material de encapsular. En los polvos, el portador es un sólido finamente dividido que está íntimamente mezclado con el principio activo finamente dividido. En los comprimidos, el principio activo se mezcla, en las proporciones adecuadas, con un portador que tiene las propiedades de compresión necesarias y luego se compacta en la forma y el tamaño deseados. Los polvos y los comprimidos
- 10 contienen preferentemente hasta el 99% de principio activo. Por ejemplo, portadores sólidos adecuados incluyen el fosfato cálcico, el estearato magnésico, el talco, azúcares, lactosa, dextrina, almidón, gelatina, celulosa, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, polivinilpirrolidona, ceras de bajo punto de fusión y resinas intercambiadoras de iones.

Los portadores líquidos se utilizan en preparar soluciones, suspensiones, emulsiones, jarabes, elixires y composiciones presurizadas. El principio activo se puede disolver o poner en suspensión en un portador líquido farmacéuticamente aceptable tal como el agua, un disolvente orgánico, una mezcla de ambos, o aceites o grasas farmacéuticamente aceptables. El portador líquido puede contener otros aditivos farmacéuticos adecuados tales como solubilizantes, emulsionantes, tampones, conservantes, edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes suspensionantes, agentes espesantes, colorantes, reguladores de la viscosidad, estabilizantes o reguladores de la presión osmótica. Ejemplos adecuados

- 20 de portadores líquidos para la administración oral y parenteral incluyen el agua (que contiene parcialmente aditivos como los anteriormente mencionados, por ejemplo derivados de celulosa, preferentemente una disolución de carboximetilcelulosa sódica), alcoholes (incluidos los alcoholes monohidroxílicos y los alcoholes polihidroxílicos como, por ejemplo, los glicoles) y sus derivados, y aceites (por ejemplo, aceite de coco y aceite de cacahuete fraccionados). Para la administración parenteral, el portador puede ser también un éster aceitoso como el oleato de etilo y el miristato de
- 25 isopropilo. Los portadores líquidos estériles son útiles en las composiciones estériles en forma de líquido para la administración parenteral. El portador líquido para las composiciones presurizadas puede ser un hidrocarburo halogenado u otro propelsores farmacéuticamente aceptable.

Las composiciones farmacéuticas líquidas que son disoluciones o suspensiones estériles pueden utilizarse, por ejemplo, por inyección intramuscular, intraperitoneal o subcutánea. Las disoluciones estériles también pueden administrarse por vía intravenosa. El compuesto también se puede administrar por vía oral en forma de una composición tanto líquida como sólida.

Los compuestos de la presente invención se pueden administrar por vía rectal en forma de un suppositorio convencional. Para la administración por inhalación o insuflación intranasal o intrabronquial, los compuestos de la presente invención se pueden formular a manera de disolución acuosa o parcialmente acuosa que puede utilizarse luego en forma de aerosol. Los compuestos de la presente invención se pueden asimismo administrar por vía transdérmica utilizando un parche transdérmico que contiene el compuesto activo y un portador que sea inerte frente al compuesto activo, no sea tóxico para la piel, y que permita la cesión del agente para la absorción sistémica en el torrente circulatorio a través de la piel. El portador puede tomar cualquier número de formas tales como cremas y pomadas, pastas, geles y dispositivos oclusivos. Las cremas y las pomadas pueden ser un líquido viscoso o emulsiones semisólidas del tipo aceite-en-agua o agua-en-aceite. También pueden resultar adecuadas las pastas constituidas por polvos absorbentes dispersados en petróleo, o petróleo hidrófilo, que contienen el principio activo. Cabe utilizar una variedad de dispositivos oclusivos para ceder el principio activo al torrente circulatorio, tales como una membrana semipermeable

- 40 que cubre un depósito que contiene el principio activo con o sin un portador, o una matriz que contiene el principio activo. En la literatura se conocen otros dispositivos oclusivos.

Además, los compuestos de la presente invención se pueden emplear en forma de solución, crema o loción, por formulación con vehículos farmacéuticamente aceptables que contienen el 0,1 - 5 por ciento, preferentemente el 2%,

- 50 de compuesto activo, que se puede administrar a una zona afectada por hongos.

Los requisitos de dosificación varían con las composiciones particulares empleadas, la vía de administración, la gravedad de los síntomas presentados y el sujeto particular bajo tratamiento. Basándose en los resultados obtenidos en los procedimientos de ensayo farmacológico estándar, las dosis diarias proyectadas de compuesto activo serían de 0,1

- 55 $\mu\text{g}/\text{kg}$ - 100 mg/kg, preferentemente de 0,001 - 25 mg/kg, y más preferentemente de 0,01 - 5 mg/kg. El tratamiento generalmente se comenzará con pequeñas dosis, menores que la dosis óptima del compuesto. Después de esto, la dosis se aumenta hasta que se alcanza el efecto óptimo en las circunstancias particulares; el médico tratante, basándose en la experiencia con el sujeto individual tratado, determinará las dosis precisas para la administración oral, parenteral, nasal o intrabronquial. Preferentemente, la composición farmacéutica está en forma de dosificación unitaria, por ejemplo en forma de comprimidos o cápsulas. En tal forma, la composición está subdividida en dosis unitarias que contienen cantidades apropiadas del principio activo; las formas de dosificación unitaria pueden ser composiciones acondicionadas, por ejemplo, polvos empaquetados, viales, ampollas, jeringas prellenadas o sobres que contienen líquidos. Por ejemplo, la forma de dosificación unitaria puede ser una cápsula o un comprimido por sí mismos, o puede estar constituida por el número apropiado de cualquiera de tales composiciones en forma envasada.
- 60

Los ejemplos siguientes ilustran la preparación y las actividades biológicas del compuesto de la presente invención. El compuesto del Ejemplo 11 se reivindica en la publicación EP n° 763039 de la misma familia de la que el presente documento es una solicitud divisionaria.

ES 2 277 975 T3

Ejemplo 1

42-Éster de rapamicina con el ácido (tetrahidropirano-2-iloxi)acético

5 Se añadió cloruro de 2,4,6-triclorobenzoilo (0,55 ml, 3,51 mmol) mediante una jeringa a una disolución de éter THP de ácido glicólico (0,562 g, 3,51 mmol) y trietilamina (0,49 ml, 3,51 mmol) en 10 ml de THF a 0°C bajo nitrógeno. La mezcla se agitó durante 4 h a temperatura ambiente, y se formó un precipitado blanco. El precipitado blanco se separó por filtración al vacío y el filtrado se concentró con un chorro de nitrógeno y un baño de agua tibia. El residuo se disolvió en 10 ml de benceno, se añadieron rapamicina (2,92 g, 3,19 mmol) y DMAP (0,429 g, 3,51 mmol)
10 y la mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla se diluyó con EtOAc, se lavó con 1 N HCl frío (ac), NaHCO₃ saturado (ac) y salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró hasta dar un sólido amarillo oleoso. La cromatografía por desorción súbita (2X con EtOAc-hexano al 65%) dio el compuesto del título (1,114 g, 33%) como un sólido blanco.

15 (-) FAB-MS *m/z*: 1055,5 (M⁻), 590,3 (fragmento sur), 463,2 (fragmento norte).

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 4,60 (m, 1H, C(42)H), 4,66 (m, 1H), 4,14 (s, 2H), 3,73 (m, 1H), 3,42 (m, 1H).

¹³C-RMN (100,6 MHz, DMSO-d₆) δ: 169,2, 97,4, 63,5, 61,2, 29,7, 24,8, 18,8.

20

Ejemplo 2

42-Éster de rapamicina con el ácido hidroxiacético

25

Se añadió ácido p-toluensulfónico (10 mg) a una disolución del producto del Ejemplo 1 (306 mg, 0,29 mmol) en 10 ml de CH₃OH a 0°C. La disolución se agitó durante 2 h a temperatura ambiente, se enfrió a continuación con una disolución de NaHCO₃ saturado. La fase acuosa se extrajo 3x con EtOAc y las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y concentraron hasta dar un sólido blanco. La purificación por cromatografía por desorción súbita (2X con EtOAc) dio el compuesto del título (145 mg, 51%) como un sólido blanco.

(-) FAB-MS *m/z*: 971,3 (M⁻), 590 (fragmento sur), 379,1 (fragmento norte).

35

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 4,60 (m, 1H, C(42)H), 3,98 (s, 2H).

¹³C-RMN (100,6 MHz, DMSO-d₆) δ: 172,1, 59,7.

40

Resultados obtenidos en los procedimientos de ensayo farmacológico estándar:

CI₅₀ en el ensayo LAF: 1,80 nM.

Razón en el ensayo LAF: 0,83

45

Cambio porcentual en la artritis adyuvante frente al control: -88%.

Ejemplo 3

50

42-Éster de rapamicina con el ácido 2,2-dimetil-3-(tetrahidropirano-2-iloxi)propiónico

Se añadió cloruro de 2,4,6-triclorobenzoilo (0,25 ml, 1,58 mmol) gota a gota mediante una jeringa a una disolución de éter THP de ácido 2,2-dimetil-3-hidroxipropiónico (0,319 g, 1,58 mmol) y metilamina (0,22 ml, 1,58 mmol) en 5 ml de THF seco a 0°C bajo nitrógeno. La mezcla se agitó 4,5 h a temperatura ambiente. El precipitado blanco se separó por filtración al vacío y el filtrado se concentró con un chorro de nitrógeno y un baño de agua tibia. El residuo se disolvió en 5 ml de benceno, añadiéndose a continuación la rapamicina (1,31 g, 1,43 mmol) y DMAP (0,193 g, 1,58 mmol). La mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente, se diluyó con EtOAc, se lavó con 1 N HCl (ac), NaHCO₃ saturado (ac), H₂O y salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y concentró hasta dar un sólido oleoso amarillo. La cromatografía por desorción súbita (1X con EtOAc-hexano al 60%, 1X con EtOAc-hexano al 55%) dio el compuesto del título (0,356 g, 23%) como un sólido blanco.

(-) FAB-MS *m/z*: 1097,7 (M⁻), 590,4 (fragmento sur), 505,3 (fragmento norte).

65

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 4,55 (m, 1H, C(42)H), 4,55 (m, 1H), 3,69 (m, 1H), 3,60 (m, 2H), 3,42 (m, 1H), 1,13 (s, 3H), 1,11 (s, 3H).

¹³C-RMN (100,6 MHz, DMSO-d₆) δ: 175,0, 98,0, 73,8, 60,7, 42,6, 30,0, 24,9, 22,0, 21,6, 18,7.

ES 2 277 975 T3

Resultados obtenidos en los procedimientos de ensayo farmacológico estándar:

CI₅₀ en el ensayo LAF: 7,10 nM.

5 Razón en el ensayo LAF: 0,34

Ejemplo 4

42-Éster de rapamicina con el ácido 3-hidroxi-2,2-dimetilpropiónico

10 Se añadió ácido p-toluensulfónico (10 mg) a una disolución del producto del Ejemplo 3 (250 mg, 0,23 mmol) en 10 ml de CH₃OH a 0°C. La disolución se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente, se enfrió a continuación con una disolución de NaHCO₃ saturado. La fase acuosa se extrajo 3X con EtOAc y las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron hasta dar un sólido blanco. La purificación por 15 cromatografía por desorción súbita (2X con EtOAc-hexano al 75%) dio el compuesto del título (103 mg, 45%) como un sólido blanco.

(-) FAB-MS *m/z*: 1013,3 (M⁻), 590,2 (fragmento sur), 421,1 (fragmento norte).

20 ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 4,48 (m, 1H, C(42)H), 3,39 (d, 2H), 1,06 (s, 6H).

¹³C- RMN (100,6 MHz, DMSO-d₆) δ: 175,5, 68,0, 44,1, 21,7.

Resultados obtenidos en los procedimientos de ensayo farmacológico estándar:

25 CI₅₀ en el ensayo LAF: 0,80 nM.

Razón en el ensayo LAF: 1,25

30 Tiempo de supervivencia del injerto de piel: 10,7 ± 0,5 días.

Ejemplos 5 y 6

42-Éster de rapamicina con ácido 2,2-dimetil[1,3]dioxalano-4-carboxílico (Ej. 5)

31,42-Diéster de rapamicina con ácido 2,2-dimetil[1,3]dioxalano-4-carboxílico (Ej. 6).

35 Se añadió cloruro de 2,4,6-triclorobenzoilo (0,56 ml, 3,61 mmol) mediante jeringa a una disolución de isopropilidencetal del ácido 2,3-dihidroxipropiónico (0,527 g, 3,61 mmol) y trietilamina (0,50 ml, 3,61 mmol) en 10 ml de 40 THF a 0°C bajo nitrógeno. La mezcla se agitó durante 4 h a temperatura ambiente. El precipitado blanco se separó por filtración al vacío y el filtrado se concentró con un chorro de nitrógeno y un baño de agua tibia. El residuo se disolvió en 15 ml de benceno y se añadieron rapamicina (3,00 g, 3,28 mmol), y a continuación DMAP (0,441 g, 3,61 mmol) y la mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla se diluyó con EtOAc, se lavó con 1 N HCl frío (ac), NaHCO₃ saturado (ac) y salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró hasta dar una espuma amarilla. 45 La cromatografía por desorción súbita en gel de sílice (gradiente de elución: EtOAc-hexano al 50-60-75-100%, 4X con EtOAc-hexano al 65%) dio los compuestos del título. El 31,42-diéster menos polar (0,415 g) se eluyó en primer lugar y el 42-monoéster más polar (0,601 g, 16%) se eluyó en segundo lugar, y se aislaron como sólidos blancos.

Ejemplo 5

50 (-) FAB-MS *m/z*: 1041,4 (M⁻), 590,3 (fragmento sur), 449,2 (fragmento norte).

55 ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 4,6 (m, 1H, C(42)H), 4,6 (m, 1H), 4,20 (dd, 1H), 3,96 (m, 1H), 1,36 (s, 3H), 1,30 (s, 3H)

¹³C-RMN (100,6 MHz, DMSO-d₆) δ: 170,5, 110,2, 73,4, 66,6, 25,7, 25,4.

Ejemplo 6

60 (-) FAB-MS *m/z*: 1169,6 (M⁻).

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 5,3 (m, 1H, C(31)H), 4,6 (m, 1H, C(42)H), 4,6 (m, 2H), 4,19 (t, 1H), 4,13 (t, 1H), 3,9 (m, 2H), 1,36 (s, 3H), 1,33 (s, 3H), 1,30 (s, 3H), 1,28 (s, 3H).

65 ¹³C-RMN (100,6 MHz, DMSO-d₆) δ: 170,5, 169,2, 110,3, 110,2, 73,4, 66,6, 66,5, 25,8, 25,7, 25,4, 25,1.

Resultados obtenidos en los procedimientos de ensayo farmacológico estándar:

ES 2 277 975 T3

Ejemplo 5

Cl₅₀ en el ensayo LAF: 1,20 nM.

5 Razón en el ensayo LAF: 0,74

Ejemplo 6

Cl₅₀ en el ensayo LAF: 1,30 nM.

10 Razón en el ensayo LAF: 0,5

Ejemplo 7

15 42-Éster de rapamicina con el ácido 2,3-dihidroxipropiónico

Se agitó a temperatura ambiente una disolución del producto del Ejemplo 5 (351 mg, 0,34 mmol) en 10 ml de THF y 10 ml de 1 N HCl durante 6 h a temperatura ambiente. La mezcla se diluyó con EtOAc, se lavó con disolución de NaHCO₃ saturado y salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró hasta dar un aceite. La cromatografía por desorción súbita (IX con EtOAc, 1X con MeOH-CH₂CL₂ al 10%, IX con MeOH-EtOAc al 5%) dio el compuesto del título (78 mg, 23%) como un sólido blanco.

(-) FAB-MS *m/z*: 1001,2 (M⁻), 590,2 (fragmento sur), 409,1 (fragmento norte).

25 ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 4,5 (m, 1H, C(42)H), 3,60 (m, 1H), 3,45 (m, 2H).

Resultados obtenidos en los procedimientos de ensayo farmacológico estándar:

30 Cl₅₀ en el ensayo LAF: 1,4 nM.

Razón en el ensayo LAF: 0,40

Ejemplo 8

35 42-Éster de rapamicina con el ácido 2,2-dimetil[1,3]dioxano-5-carboxílico

Se añadió cloruro de 2,4,6-triclobenzoilo (0,98 ml, 6,28 mmol) mediante jeringa a una disolución de isopropilidencetal de ácido 2-(hidroximetilo)-3-hidroxipropiónico (1,000 g, 6,24 mmol) y trietilamina (0,90 ml, 6,46 mmol) en 20 ml de THF a 0°C bajo nitrógeno. La mezcla se agitó durante 4 h a temperatura ambiente, y se formó un precipitado blanco. El precipitado blanco se separó por filtración al vacío y el filtrado se concentró con un chorro de nitrógeno y un baño de agua tibia. El residuo se disolvió en 20 ml de benceno, a continuación se añadieron rapamicina (5, 70 g, 6,24 mmol) y DMAP (0,762 g, 6,24 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se diluyó con EtOAc, se lavó con H₂O y salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró hasta dar un sólido amarillo. La cromatografía por desorción súbita (EtOAc-hexano al 75%) dio el compuesto del título (4,17 g, 63%) como un sólido blanco.

(-) FAB-MS *m/z*: 1055,8 (M⁻), 590,5 (fragmento sur), 463,4 (fragmento norte).

50 ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 4,55 (m, 1H, C(42)H), 3,95 (m, 4H), 1,30 (s, 6H).

¹³C- RMN (100,6 MHz, DMSO-d₆) δ: 170,1, 97,4, 59,5, 24,8, 22,5.

Resultados obtenidos en los procedimientos de ensayo farmacológico estándar:

55 Cl₅₀ en el ensayo LAF: 0,76 nM.

Razón en el ensayo LAF: 0,45

Ejemplo 9

60 42-Éster de rapamicina con ácido 3-hidroxi-2-hidroximetilpropiónico

Se agitó durante 2 h a temperatura ambiente una disolución del producto del Ejemplo 8 (3,30 g, 3,12 mmol) en 50 ml de THF y 25 ml de 1 N HCl. La disolución se diluyó con una solución de NaHCO₃ saturado y se extrajo con EtOAc (3X). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con NaCl saturado (ac), se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron hasta dar una espuma amarilla. La purificación por cromatografía por desorción súbita (1X con EtOAc; 2X con EtOH-EtOAc al 5%) dio el compuesto del título (1,68 g, 53%) como un sólido blanco.

ES 2 277 975 T3

(-) FAB-MS m/z : 1015,5 (M^-), 590,3 (fragmento sur), 423,3 (fragmento norte).

^1H -RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ : 4,6 (br s, 2H), 4,55 (m, 1H, C(42)H), 3,55 (m, 4H), 2,57-2,57 (m, 1H).

5 ^{13}C - RMN (100,6 MHz, DMSO-d₆) δ : 172,2, 59,3, 51,5.

Resultados obtenidos en los procedimientos de ensayo farmacológico estándar:

10 CI₅₀ en el ensayo LAF: 0,84 nM.

Razón en el ensayo LAF: 0,57

Ejemplo 10

15 42-Éster de rapamicina con el ácido 2,2,5-trimetil[1,3]dioxano-5-carboxílico

A una disolución del isopropilidencetal del ácido 2,2-bis(hidroximetil)propiónico (1,041 g, 5,98 mmol) (preparado de acuerdo con el procedimiento de Bruice, J. Am. Chem. Soc., 89: 3568 (1967)) y trietilamina (0,83 ml, 5,98 mmol), en 20 ml de THF anhidro a 0°C, bajo atmósfera de nitrógeno, se agregó cloruro de 2,4,6-triclorobenzoilo (0,93 ml, 5,98 mmol) y la suspensión blanca resultante se agitó por espacio de 5 horas a la temperatura ambiente. El precipitado se separó por filtración al vacío, enjuagando el matraz y la torta de filtración con 10 ml más de THF seco. El filtrado se concentró por evaporación rotatoria hasta dar un sólido blanco. El residuo se disolvió en 20 ml de benceno seco, y luego se agregó rapamicina (5,47 g, 5,98 mmol) y DMAP (0,731 g, 5,98 mmol). Despues de agitar toda la noche a la temperatura ambiente, la mezcla se diluyó con EtOAc, se lavó con H₂O y con NaCl saturado (acuoso), se secó sobre MgSO₄, se filtró y se evaporó hasta dar un aceite de color amarillo. La cromatografía por desorción súbita (flash) (5x con 60% EtOAc-hexano) dio el compuesto reseñado en el título (2,2 g, 34%) en forma de un sólido blanco.

(-) FAB-MS m/z : 1069,5 (M^-), 590,3 (fragmento sur), 477,2 (fragmento norte).

30 ^1H -RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ : 4,57 (m, 1H, C(42)H), 4,02 (d, 2H), 3,60 (d, 2H), 1,34 (s, 3H), 1,24 (s, 3H), 1,06 (s, 3H).

^{13}C -RMN (100,6 MHz, DMSO-d₆) δ : 173,2, 99,0, 65,0, 22,2, 18,1.

35 Resultados obtenidos en los procedimientos de ensayo farmacológico estándar:

CI₅₀ en el ensayo LAF: 4,90 nM.

Razón en el ensayo LAF: 0,41

40 Tiempo de supervivencia del injerto de piel: 11,0 ± 1,3 días.

Ejemplo 11

45 42-Éster de rapamicina con el ácido 2,2-bis(hidroximetil)propiónico

Una disolución del producto del Ejemplo 1 (2,8 g, 2,65 mmol) en 50 ml de THF y 25 ml de HCl 1 N se agitó a la temperatura ambiente durante 4 horas. La mezcla se diluyó con agua y se extrajo tres veces con EtOAc. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con una disolución saturada de NaHCO₃ y con una disolución saturada de NaCl, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se evaporaron hasta dar un sólido aceitoso de color amarillo. La purificación por cromatografía por desorción súbita (flash) (3x con EtOAc) proporcionó el compuesto reseñado en el título (1,6 g, 59%).

55 (-) FAB-MS m/z : 1029,6 (M^-), 590,4 (fragmento sur), 437,3 (fragmento norte).

^1H -RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ : 4,5 (m, 1H, C(42)H), 3,45 (s, 4H), 1,04 (s, 3H).

^{13}C -RMN (100,6 MHz, DMSO-d₆) δ : 174,2, 63,7, 63,6, 49,9, 16,8.

60 Resultados obtenidos en los procedimientos de ensayo farmacológico estándar:

CI₅₀ en el ensayo LAF: 0,80 y 1,80 nM.

Razón en el ensayo LAF: 1,00 y 0,44.

65 Tiempo de supervivencia del injerto de piel: 11,4 ± 1,5 y 12,0 ± 1,1 días.

Cambio porcentual en la artritis adyuvante frente al control: -88%.

ES 2 277 975 T3

Ejemplo 12

42-Éster de rapamicina con el ácido 2,2-dimetil-5-(2-trimetilsilaniletoximetil)[1,3]-dioxano-5-carboxílico

5 Se añadió cloruro de 2,4,6-triclorobenzoilo (0,14 ml, 0,86 mmol) mediante jeringa a una disolución de isopropilidencetal del ácido 2,2-bis(hidroximetil)-2-(trimetilsililetoxi)propiónico (0,250 mg, 0,86 mmol) y trietilamina (0,12 ml, 0,86 mmol) en 2 ml de THF a 0°C bajo nitrógeno. La mezcla se agitó durante 4h a temperatura ambiente, y se formó un precipitado blanco. El precipitado blanco se separó por filtración al vacío y el filtrado se concentró con un chorro de nitrógeno y un baño de agua tibia. El residuo se disolvió en 2 ml de benceno, a continuación se añadieron la 10 rapamicina (0,786 g, 0,86 mmol) y DMAP (0,105 g, 0,86 mmol) y la mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla se diluyó con EtOAc, se lavó con H₂O y salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró hasta dar un sólido amarillo. La cromatografía por desorción súbita (gradiente de elución: EtOAc-hexano al 40-60-80-100%) dio el compuesto del título (0,559 g, 54%) como un sólido blanco.

15 (-) FAB-MS *m/z*: 1185,2 (M⁻), 590,1 (fragmento sur), 593 (fragmento norte).

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 4,55 (m, 1H, C(42)H), 3,73 (m, 4H), 3,57 (s, 2H), 3,43 (t, 2H), 1,29 (s, 6H), 0,79 (t, 2H), -0,04 (s, 9H)

20 ¹³C-RMN (100,6 MHz, DMSO-d₆) δ: 171,1, 97,7, 70,2, 68,1, 61,3, 46,0, 24,6, 22,1, 14,6, -1,3.

Resultados obtenidos en los procedimientos de ensayo farmacológico estándar:

25 Cl₅₀ en el ensayo LAF: 7,20 nM.

30 Razón en el ensayo LAF: 0,05.

Ejemplos 13 y 14

42-Éster de rapamicina con ácido 3-metil-1,5-dioxa-espri[5,5]undecano 3-carboxílico (Ej. 13)

31,42-Diéster de rapamicina con ácido 3-metil-1,5-dioxa-espri[5,5]undecano 3-carboxílico (Ej. 14)

35 Se añadió cloruro de 2,4,6-triclorobenzoil (0,16 ml, 1,0 mmol) mediante una jeringa a una solución de ciclohexilidencetal de ácido 2,3-dihidroxipropiónico (0,214 g, 1,0 mmol) y trietilamina (0,14 ml, 1,0 mmol) en 2,5 ml de THF a 0°C bajo nitrógeno. La mezcla se agitó durante 4 h a temperatura ambiente. El precipitado blanco se separó por filtración al vacío y el filtrado se concentró con un chorro de nitrógeno y un baño de agua tibia. El residuo se disolvió en 3 ml de benceno y se añadieron rapamicina (0,457 g, 0,5 mmol), a continuación DMAP (0,061 g, 0,5 mmol) y la mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla se diluyó con EtOAc, se lavó con 1 N HCl frío (ac), se saturó con NaHCO₃ (ac) y salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró hasta dar una espuma amarilla. La cromatografía por desorción súbita en gel de sílice (EtOAc-hexano al 45-50%) dio los compuestos del título. El 31,42-diéster (0,168 g, 26%) se eluyó en primer lugar y el 42-monoéster más polar (0,301 g, 52%) se eluyó en segundo lugar, y se aislaron los productos como sólidos blancos.

Ejemplo 13

50 (-) FAB-MS *m/z*: 1109,5 (M⁻), 590,3 (fragmento sur), 517,3 (fragmento norte).

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 4,55 (m, 1H, C(42)H), 3,61 (t, 4H), 1,04 (s, 3H).

¹³C-RMN (100,6 MHz, DMSO-d₆) δ: 173,3, 97,2, 64,2.

55

Ejemplo 14

(-) FAB-MS *m/z*: 1305,6 (M⁻)

60 ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 5,25 (m, 1H, C(31)H), 4,55 (m, 1H, C(42)H), 3,64-3,54 (m, 8H), 1,05 (s, 3H), 0,97 (s, 3H).

¹³C-RMN (100,6 MHz, DMSO-d₆) δ: 173,2, 172,1, 97,3, 97,2, 64,3, 64,2, 63,9.

65 Resultados obtenidos en los procedimientos de ensayo farmacológico estándar:

ES 2 277 975 T3

Ejemplo 13

CI₅₀ en el ensayo LAF: 0,6 nM

5 Razón en el ensayo LAF: 2,00

Ejemplo 14

10 LAF: proliferación de linfocitos T inhibida por 43% a 0,1 μ M

15

20

25

30

35

40

45

50

55

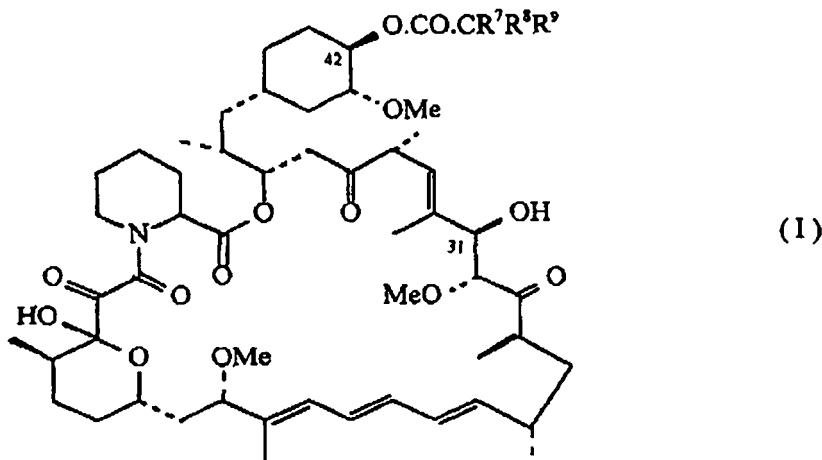
60

65

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de la estructura

5



25 en la que;

R⁷ es hidrógeno, alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, alquenilo de 2 a 7 átomos de carbono, alquenilo de 2 a 7 átomos de carbono, -(CR³R⁴)_fOR¹⁰, -CF₃ o -F;

30 R⁸ Y R⁹ son cada uno, independientemente, hidrógeno, alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, o -(CR³R⁴)_fOR¹⁰; o R⁸ y R⁹ pueden tomarse conjuntamente para formar X;

35 R¹⁰ es hidrógeno, alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, alquenilo de 2 a 7 átomos de carbono, alquinilo de 2 a 7 átomos de carbono, tri(alquilo de 1 a 6 átomos de carbono)sililo, tri(alquilo de 1 a 6 átomos de carbono)sililetilo, trifenilmetilo, bencilo, alcoximetilo de 2 a 7 átomos de carbono, tri(alquilo de 1 a 6 átomos de carbono)sililetoximetilo, cloroetilo, o tetrahidropiranilo;

40 X es 5-(2,2-di(alquilo de 1 a 6 átomos de carbono))[1,3]dioxanilo, 5-(2-espiro(cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono))[1,3]dioxanilo, 4-(2,2-di(alquilo de 1 a 6 átomos de carbono))[1,3]-dioxanilo, 4-(2-espiro(cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono))[1,3]dioxanilo, 4-(2,2-di(alquilo de 1 a 6 átomos de carbono))[1,3]dioxalanilo, o 4-(2-espiro(cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono))[1,3]dioxalanilo;

R³ y R⁴ son cada uno, independientemente, hidrógeno, alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, alquenilo de 2 a 7 átomos de carbono, alquinilo de 2 a 7 átomos de carbono, trifluorometilo, o -F;

45

y

F= 0-6

50 con la condición de que el grupo -CR⁷R⁸R⁹ contenga por lo menos un grupo -(CR³R⁴)_fOR¹⁰ o X, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. Compuesto según la reivindicación 1, que es uno de los siguientes:

55 42-éster de rapamicina con el ácido (tetrahidropirano-2-iloxi)acético;

42-éster de rapamicina con el ácido hidroxiacético;

42-éster de rapamicina con el ácido 2,2-dimetil-3-(tetrahidropirano-2-iloxi)propiónico;

60 42-éster de rapamicina con el ácido 3-hidroxi-2,2-dimetilpropiónico;

42-éster de rapamicina con ácido 2,2-dimetil[1,3]dioxalano-4-carboxílico;

65 42-éster de rapamicina con el ácido 2,3-dihidroxipropiónico;

42-éster de rapamicina con el ácido 2,2-dimetil[1,3]dioxano-5-carboxílico;

ES 2 277 975 T3

42-éster de rapamicina con el ácido 3-hidroxi-2-hidroximetilpropiónico;

42-éster de rapamicina con el ácido 2,2,5-trimetil[1,3]dioxano-5-carboxílico;

5 42-éster de rapamicina con el ácido 2,2-dimetil-5-(2-trimetilsilaniletoximetil)[1,3]-dioxano-5-carboxílico;

o

10 42-éster de rapamicina con el ácido 3-metil-1,5-dioxa-espiro[5.5]undecano-3-carboxílico;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

3. Compuesto de fórmula I según la reivindicación 1, para su utilización como producto farmacéutico.

15 4. Utilización de un compuesto de fórmula I según la reivindicación 1, en la preparación de un medicamento destinado al tratamiento del rechazo al trasplante o de la enfermedad de injerto contra húesped en un mamífero.

20 5. Utilización de un compuesto de fórmula I según la reivindicación 1, en la preparación de un medicamento destinado al tratamiento de una infección fúngica en un mamífero.

25 6. Utilización de un compuesto de fórmula I según la reivindicación 1, en la preparación de un medicamento destinado al tratamiento de la artritis reumatoide en un mamífero.

7. Utilización de un compuesto de fórmula I según la reivindicación 1, en la preparación de un medicamento destinado al tratamiento de la restenosis en un mamífero.

25 8. Utilización de un compuesto de fórmula I según la reivindicación 1, en la preparación de un medicamento destinado al tratamiento de la inflamación pulmonar en un mamífero.

30 9. Utilización de un compuesto de fórmula I según la reivindicación 1, en la preparación de un medicamento destinado al tratamiento de tumores en un mamífero.

35 10. Composición farmacéutica que comprende un compuesto de la estructura (I) según la reivindicación 1 ó 2, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un portador farmacéutico.

11. Procedimiento para la preparación de un hidroxiéster de rapamicina de fórmula I según la reivindicación 1, que comprende acilar la rapamicina con un agente acilante de fórmula



40

o un derivado reactivo del mismo en el que R⁷-R⁹ son como se ha definido en la reivindicación 1 con la condición de que los grupos hidroxi libres estén protegidos y tras la reacción eliminar cualquier grupo protector presente según sea necesario.

45

50

55

60

65