

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 973 975**

51 Int. Cl.:

<b>C07D 498/18</b>	(2006.01) <b>A61P 37/00</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/436</b>	(2006.01) <b>A61P 13/12</b>	(2006.01)
<b>A61P 19/00</b>	(2006.01) <b>A61P 25/02</b>	(2006.01)
<b>A61P 3/04</b>	(2006.01) <b>A61P 19/02</b>	(2006.01)
<b>A61P 9/10</b>	(2006.01) <b>A61P 9/12</b>	(2006.01)
<b>A61P 11/00</b>	(2006.01) <b>A61P 3/10</b>	(2006.01)
<b>A61P 25/16</b>	(2006.01) <b>A61P 31/10</b>	(2006.01)
<b>A61P 25/28</b>	(2006.01) <b>A61P 29/00</b>	(2006.01)
<b>A61P 35/00</b>	(2006.01) <b>C07F 9/32</b>	(2006.01)
<b>A61P 19/10</b>	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.09.2018** **PCT/IB2018/057422**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.04.2019** **WO19064182**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.09.2018** **E 18786408 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.01.2024** **EP 3687999**

54 Título: **Derivados de rapamicina**

30 Prioridad:

**26.09.2017 US 201762563312 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**25.06.2024**

73 Titular/es:

**NOVARTIS AG (100.0%)**  
**Lichtstrasse 35**  
**4056 Basel, CH**

72 Inventor/es:

**BONAZZI, SIMONE;**  
**CONNOLLY, MICHAEL;**  
**GLASS, DAVID JONATHAN;**  
**MIHALIC, MANUEL;**  
**PATTERSON, ANDREW WILLIAM;**  
**ROGGO, SILVIO y**  
**SHAVLAKADZE, TEA**

74 Agente/Representante:

**LINAGE GONZÁLEZ, Rafael**

ES 2 973 975 T3

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

## DESCRIPCIÓN

Derivados de rapamicina

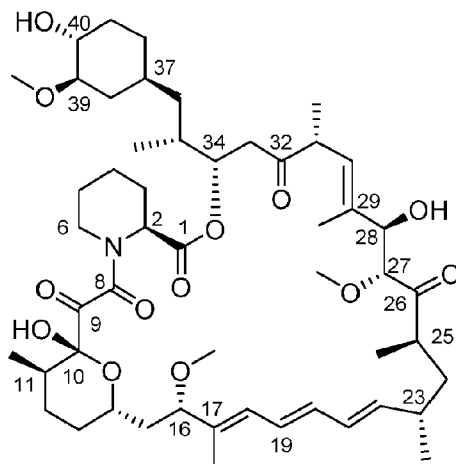
5 **Campo**

La invención proporciona derivados de 32-desoxo-rapamicina y se refiere a sus métodos de uso.

10 **Antecedentes**

En las células de mamíferos, la cinasa diana de rapamicina (mTOR) existe en dos complejos multiproteicos distintos, descritos como complejo mTORC1 y complejo mTORC2, ambos de los cuales detectan la disponibilidad de los nutrientes y la energía e integran aportes procedentes de factores de crecimiento y señalización de estrés. mTORC1 integra señales procedentes de factores de crecimiento y nutrientes y controla el crecimiento y el metabolismo celular. Laplante M. *et al.* Cell. (2012) 149(2):274-93. mTORC1 es un regulador clave de la autofagia y traducción de proteínas. El complejo mTORC1 es sensible a los inhibidores alostéricos de mTOR tales como la rapamicina y los análogos de rapamicina (los denominados "rapálogos"). El modo de acción de la rapamicina y los rapálogos producidos previamente implica la formación de un complejo intracelular con proteínas de unión a FK506, ya sea FKBP12, FKBP51 o FKBP52 (en el presente documento se hará referencia a estas tres FKBP como "FKBP"), seguido de la unión del complejo FKBP-rapálogo al dominio FRB (unión FK506-rapamicina) de mTOR. März A.M. *et al.* Mol Cell Biol. (2013) 33(7):1357-1367. Las grandes proteínas de unión a FK506 dan forma a la farmacología de la rapamicina. Tal interacción del complejo FKBP-rapálogo con mTORC1 da como resultado la inhibición alostérica del complejo. La rapamicina y los rapálogos, tales como RAD001 (everólimus; Afinitor®), han adquirido relevancia clínica al inhibir la actividad de mTORC1, que está asociado con trastornos de proliferación tanto benignos como malignos. Royce M.E. *et al.* Breast Cancer (Auckl). (2015) 9:73-79; Pleniceanu O. *et al.* Kidney Int Rep. (2018) 3(1):155-159.

La rapamicina es un antibiótico macrólido conocido producido por *Streptomyces hygroscopicus*, véanse, por ejemplo, McAlpine, J.B. *et al.*, J. Antibiotics (1991) 44:688; Schreiber, S.L. *et al.*, J. Am. Chem. Soc. (1991) 113:7433; patente estadounidense n.º 3.929.992. A continuación se muestra la siguiente convención de numeración para la rapamicina y sus derivados usada en este documento:



La rapamicina es un potente inmunosupresor y también se ha demostrado que tiene actividad antitumoral y antifúngica. Se ha demostrado que es útil en la prevención o el tratamiento de lupus eritematoso sistémico, inflamación pulmonar, diabetes mellitus insulino dependiente, trastornos cutáneos tales como psoriasis, proliferación de células de músculo liso y engrosamiento de la íntima después de una lesión vascular, linfoma/leucemia de células T en adultos, carcinomas malignos, enfermedad inflamatoria cardíaca, anemia y aumento de la excrecencia de neuritas. Sin embargo, su utilidad como producto farmacéutico está restringida por su biodisponibilidad muy baja y variable. Además, la rapamicina es difícil de formular, lo que dificulta la obtención de composiciones galénicas estables.

Para superar estos problemas, se han (semi)sintetizado numerosos rapálogos. Se han preparado profármacos solubles en agua derivatizando rapamicina en C28 y 40 para formar profármacos de glicinato, propionato y pirrolidinobutirato (patente estadounidense n.º 4.650.803). Otros análogos de rapamicina incluyen análogos de monoácido y diácido (patente estadounidense n.º 4.316.885), análogos de acetal (patente estadounidense n.º 5.151.413), silil éteres (patente estadounidense n.º 5.120.842), hidroxiésteres (patente estadounidense n.º 5.362.718), así como análogos de arilo, alquilo, alqueno y alquínilo (patentes estadounidenses n.ºs 5.665.772; 5.258.389; 6.384.046; documento WO97/35575). Las modificaciones de la rapamicina incluyen la

desmetilación, eliminación o sustitución de uno o más de los grupos metoxilo; la eliminación, derivatización o sustitución de uno o más de los restos hidroxilo; la reducción, eliminación o derivatización de uno o más de los restos cetona; la sustitución del anillo de pipercolato de 6 miembros por un anillo de prolilo de 5 miembros; la sustitución alternativa del anillo de ciclohexilo por un anillo ciclopentilo sustituido. Ejemplos ilustrativos de la bibliografía de patentes en este campo son la patente estadounidense n.º 5.527.907, el documento WO96/41865 y el documento WO99/36553 que describen una amplia variedad de rapálogos con el objetivo de evitar los efectos secundarios inmunosupresores de la rapamicina. La patente estadounidense n.º 5.985.890 da a conocer ejemplos de análogos de 32-desoxo-rapamicina, incluyendo la propia 32-desoxo-rapamicina. Se describe que se ha notificado que estos compuestos tienen un perfil farmacológico mejorado con respecto a la rapamicina y una mayor estabilidad.

Se ha dado a conocer que los rapálogos descritos en la bibliografía anterior son útiles para el tratamiento de los mismos trastornos que la rapamicina. La patente estadounidense n.º 8.906.374 y la patente estadounidense n.º 9.669.032 dan a conocer el uso en cáncer. La patente estadounidense n.º 9.358.236 da a conocer el uso en trastornos neurodegenerativos.

En modelos animales, los rapálogos prolongan la esperanza de vida y retrasan la aparición de enfermedades relacionadas con la edad. El envejecimiento, al igual que otros procesos biológicos, está regulado por rutas de señalización tales como la ruta de TOR (denominada "TOR" en este caso, para incluir los sistemas de levaduras y *C. elegans*, donde equivalente en mamíferos [mTOR] se denomina simplemente "TOR") y, en los mamíferos, la ruta de mTORC1. La modulación de la señalización de TOR y mTORC1 prolonga la esperanza de vida y retrasa la aparición de enfermedades relacionadas con la edad en una amplia gama de organismos, desde moscas hasta mamíferos. Por ejemplo, la inhibición de la ruta de TOR por mutación genética prolongó la esperanza de vida en levadura, *C. elegans* y *Drosophila*, y la inhibición de la ruta de mTORC1 prolongó la esperanza de vida en ratones (Kaeberlein *et al.*, Science (2005) 310:1193-1196; Kapahi *et al.*, Curr Biol (2004) 14:885-890; Selman *et al.*, Science (2009) 326:140-144; Vellai *et al.*, Nature (2003) 426:620). Además, el inhibidor de mTORC1 rapamicina prolongó la esperanza de vida de los ratones incluso cuando se administró en una etapa avanzada de la vida (Harrison *et al.*, Nature (2009) 460(7253):392-395). Estos datos plantean la posibilidad de que los fármacos dirigidos a la ruta de TOR en mamíferos (mTOR) tendrán efectos terapéuticos en el envejecimiento y las enfermedades relacionadas con la edad en seres humanos. Por ejemplo, el documento WO2008/022256 describe métodos y formulaciones tópicas que comprenden un inhibidor de mTOR para tratar o prevenir una enfermedad relacionada con la edad. Un informe de un ensayo clínico que usó rapamicina en hombres ancianos fue descrito por M. Leslie en Science, 2013, 342. J. Mannick *et al.* describen en Sci Transl Med. (2014) 6(268): 268ra179 que la inhibición de mTOR mejora la función inmunitaria en ancianos. Sin embargo, los investigadores se han mostrado cautelosos a la hora de usar los inhibidores de mTOR disponibles actualmente en ensayos sobre envejecimiento en seres humanos debido a sus efectos secundarios (incluyendo inmunosupresión, citopenias, estomatitis, malestar gastrointestinal y neumonitis intersticial).

En estudios en animales y seres humanos de displasia cortical focal (FCD) y complejo de esclerosis tuberosa (TSC), la ruta de mTOR está implicada en la mediación de los cambios celulares y moleculares que conducen a la formación de malformaciones corticales y a la expresión de la epilepsia (Wong *et al.*, Experimental Neurology (2013) 244: 22-26). La displasia cortical focal (FCD) es una malformación del desarrollo cortical, que es la causa más común de epilepsia resistente en la población pediátrica y la segunda/tercera etiología más común de convulsiones médicamente intratables en adultos (Kabat J, *et al.*, Pol J. Radiology (2012) 77(2) 35-43). Las mutaciones en el complejo de esclerosis tuberosa (TSC), incluyendo el complejo de esclerosis tuberosa 1 (TSC1) y el complejo de esclerosis tuberosa-2 (TSC2), actúan aguas arriba de la ruta de mTOR, lo que conduce a un desarrollo ampliamente generalizado de tumores benignos, retraso mental y una alta incidencia de epilepsia (Manning *et al.*, Identification of the tuberous sclerosis complex-2 tumor suppressor gene product tuberlin as a target of the phosphoinositide 3-kinase/akt pathway, Mol. Cell, (2002) 10: 151-162; Inoki *et al.*, Dysregulation of the TSC-mTOR pathway in human disease, Nat. Genet, (2005), 37:19-24; y Holmes y Stafstrom, Tuberous sclerosis complex and epilepsy: recent developments and future challenges, Epilepsia, (2007) 48:617-630).

La activación de mTOR aberrante interfiere con el desarrollo normal del cerebro y conduce a epilepsia. Se ha demostrado que el tratamiento con rapamicina, que inhibe la ruta de mTORC1, atenúa las anomalías estructurales y reduce las convulsiones en modelos de ratón de TSC y PTEN (Ehninger *et al.*, Reversal of learning deficits in a Tsc2+/- mouse model of tuberous sclerosis; Nat. Med., (2008), 843-848; Meikle *et al.*, Response of a neuronal model of tuberous sclerosis to mammalian target of rapamycin, mTOR inhibitors: effects on mTORC1 and Akt signaling lead to improved survival and function; J. Neuroscience, (2008) 28:5422-5432; Zeng *et al.*, Rapamycin prevents epilepsy in a mouse model of tuberous sclerosis complex; Ann. Neurol., (2008) 63:444-453; Ljungberg *et al.*, Rapamycin suppresses seizures and neuronal hypertrophy in a mouse model of cortical dysplasia; (2009) págs. 389-398; y Zhou *et al.*, Pharmacological inhibition of mTORC1 suppresses anatomical, cellular, and behavioral abnormalities in neural-specific Pten knock-out mice, J. Neurosci., (2009), 29:1773-1783). Además, la inhibición farmacológica de la ruta de mTOR, ya sea antes o inmediatamente después de las agresiones neurológicas, puede prevenir los cambios patológicos en cerebros de los animales y el desarrollo de convulsiones recurrentes espontáneas en un modelo de epilepsia adquirida (Zeng *et al.*, The mammalian target of rapamycin signaling pathway mediates epileptogenesis in a model of temporal lobe epilepsy;

J. Neurosci., (2009) págs. 6964-6972). Por tanto, también se considera que la rapamicina y los rapálogos tienen un valor potencial en tales indicaciones.

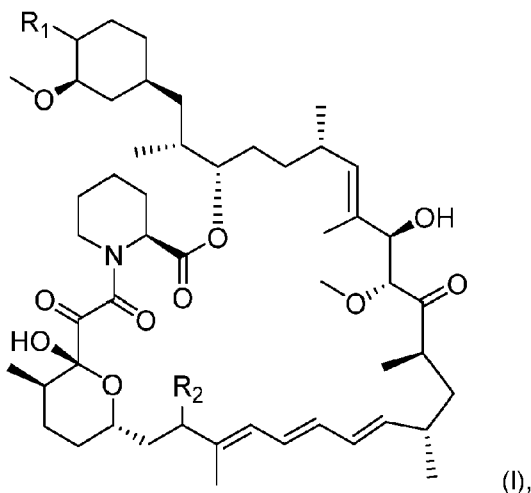
La miopatía mitocondrial (MM) es la manifestación más común de la enfermedad mitocondrial de inicio en la edad adulta y muestra una respuesta a estrés multifacética específica de tejido: (1) respuesta transcripcional, incluyendo las citocinas metabólicas FGF21 y GDF15; (2) remodelación del metabolismo de un carbono; y (3) la respuesta de la proteína desplegada mitocondrial. En Cell Metabolism 26, 419-428, 1 de agosto de 2017, Khan *et al.* describen que estos procesos forman parte de una respuesta integrada al estrés mitocondrial (ISRmt), que está controlada por mTORC1 en el músculo esquelético. Un defecto de replicación del ADNmt activa mTORC1, que impulsa una respuesta integrada al estrés mitocondrial a través de la activación de ATF4, induciendo la síntesis *de novo* de nucleótidos y serina, el ciclo 1C y la producción de FGF21 y GDF15. La inhibición de mTORC1 por rapamicina reguló por disminución todos los componentes de ISRmt (la respuesta integrada al estrés mitocondrial), mejoró todos los rasgos distintivos de MM y revirtió la progresión de MM incluso en estadio tardío, sin inducir la biogénesis mitocondrial. Por tanto, también se considera que la rapamicina y los rapálogos tienen un valor potencial en tales indicaciones.

Sigue existiendo la necesidad de proporcionar nuevos inhibidores de mTOR que sean buenos candidatos a fármacos. En particular, los compuestos preferidos deben tener al menos capacidad inhibidora de mTORC1, absorberse bien en el tracto gastrointestinal, ser suficientemente estables a nivel metabólico y presentar propiedades farmacocinéticas favorables. Además, el candidato a fármaco ideal podrá existir en una forma física estable, no higroscópica y apropiada para la formulación.

### Sumario

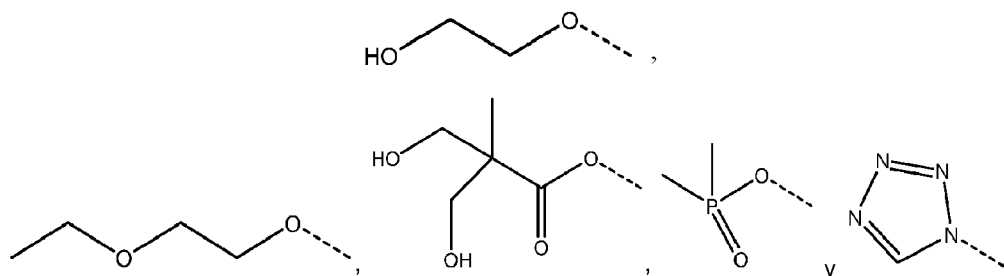
Los compuestos de fórmula estructural (I) son inhibidores de mTORC1 y, por tanto, son potencialmente útiles en el tratamiento de una amplia gama de trastornos, particularmente trastornos relacionados con la edad, o enfermedades y trastornos actualmente aprobados para su tratamiento usando rapálogos. La completa reducción de la cetona en C32 y la sustitución del grupo metoxilo en C16 por un sistema de anillos alifático que contiene N cíclico, tal como una amina, una amida o un sultiamo cíclico, proporciona compuestos con las ventajas deseadas anteriormente mencionadas, mostrando un equilibrio de buena potencia, estabilidad y biodisponibilidad.

En un aspecto, la divulgación proporciona compuestos de la fórmula estructural (I):



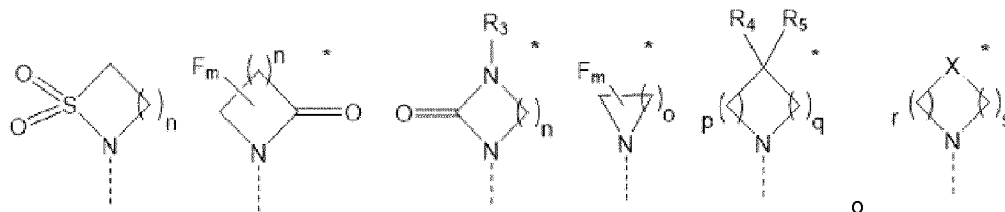
o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en donde

R<sub>1</sub> se selecciona del grupo que consiste en hidroxilo,



y

R<sub>2</sub> se selecciona del grupo que consiste en



\*descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento

en donde

m es 0, 1, 2 ó 3 (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento);

n es 1, 2 ó 3;

o es 1, 2, 3, 4, 5 ó 6 (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento);

p es 1, 2, 3, 4 ó 5 (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento);

q es 1, 2, 3, 4 ó 5, en donde la suma de p y q es 2, 3, 4, 5 ó 6 (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento);

r es 2, 3 ó 4 (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento);

s es 2, 3 ó 4, en donde la suma de r y s es 4, 5 ó 6 (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento);

X es O, S, NR<sub>6</sub> o SO<sub>2</sub> (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento);

R<sub>3</sub> es hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub>, hidroxialquilo C<sub>1-6</sub>, cicloalquil C<sub>3-8</sub>-alquilo C<sub>0-6</sub> o fenilalquilo C<sub>0-6</sub> (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento);

R<sub>4</sub> es hidrógeno (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento);

R<sub>5</sub> es hidrógeno, hidroxilo o ciano; o R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> juntos forman =O (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento); y

R<sub>6</sub> es hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub>, cicloalquil C<sub>3-8</sub>-alquilo C<sub>0-6</sub>, fenilalquilo C<sub>0-6</sub>, alquil C<sub>1-6</sub>-CO-, cicloalquil C<sub>3-8</sub>-alquil C<sub>0-6</sub>-CO-, alquil C<sub>1-6</sub>-SO<sub>2</sub>- o cicloalquil C<sub>3-8</sub>-alquil C<sub>0-6</sub>-SO<sub>2</sub>- (todos ellos descritos pero no reivindicados específicamente en el presente documento).

En una realización, la divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula estructural (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y uno o más portadores farmacéuticamente aceptables.

En una realización, la divulgación proporciona una combinación farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula estructural (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y uno o más agentes terapéuticamente activos.

En otro aspecto (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento), la divulgación proporciona un método de tratamiento de un trastorno o una enfermedad mediado por la ruta de mTOR en un sujeto que lo necesita, comprendiendo el método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula estructural (I) o una composición farmacéutica o una combinación farmacéutica del mismo. En otro aspecto, la divulgación proporciona un método de tratamiento de una enfermedad o un trastorno en un sujeto, en donde el tejido u órgano objetivo asociado con la patología de la enfermedad o el trastorno tiene niveles de FKBP12 suficientes para inhibir mTORC1, comprendiendo el método administrar al sujeto que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula estructural (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una composición farmacéutica o una combinación farmacéutica del mismo.

En una realización (descrita pero no reivindicada específicamente en el presente documento), el tejido u órgano objetivo asociado con la patología de la enfermedad o el trastorno que va a tratarse con un compuesto de fórmula estructural (I) tiene niveles de FKBP12 suficientes para inhibir mTORC1 que se determinan empíricamente, por ejemplo, usando un inhibidor específico de FKBP12 en comparación con rapamicina o RAD001.

En otro aspecto (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento), la divulgación proporciona un método de tratamiento de una enfermedad o un trastorno en un sujeto que tiene, o se ha determinado previamente que tiene, niveles de FKBP12 suficientes para inhibir mTORC1, comprendiendo el método administrar al sujeto que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula estructural (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una composición farmacéutica del mismo o una combinación farmacéutica del mismo.

En una realización, el sujeto tiene, o se ha determinado previamente que tiene, niveles de FKBP12 en el tejido, el órgano o las células objetivo suficientes para inhibir mTORC1.

En otro aspecto (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento), la divulgación proporciona un método de tratamiento de una enfermedad o un trastorno relacionado con la edad en un sujeto que lo necesita, comprendiendo el método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula estructural (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una composición farmacéutica o una combinación del mismo.

En una realización, la enfermedad o el trastorno se selecciona de sarcopenia, atrofia cutánea, hemangiomas capilares, queratosis seborreicas, atrofia cerebral también denominada demencia, aterosclerosis, arterioesclerosis, enfisema pulmonar, osteoporosis, artrosis, tensión arterial elevada, disfunción eréctil, cataratas, degeneración macular, glaucoma, accidente cerebrovascular, enfermedad cerebrovascular (accidentes cerebrovasculares), enfermedad renal crónica, enfermedad renal asociada a la diabetes, disfunción hepática, fibrosis hepática, hepatitis autoinmunitaria, hiperplasia endometrial, disfunción metabólica, enfermedad renovascular, hipoacusia, incapacidad de movilidad (por ejemplo, debilidad), deterioro cognitivo, rigidez de tendones, disfunción cardíaca tal como hipertrofia cardíaca y/o disfunción sistólica y/o diastólica y/o hipertensión, disfunción cardíaca que da como resultado una disminución en la fracción de expulsión, inmunosenescencia, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, cáncer, inmunosenescencia que conduce a cáncer debido a una disminución en la inmunovigilancia, infecciones debidas a una disminución en la función inmunitaria, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), obesidad, ageusia, anosmia, artritis, y diabetes tipo II incluyendo complicaciones provenientes de la diabetes, tales como insuficiencia renal, amaurosis y neuropatía.

En otro aspecto (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento), la divulgación proporciona un método de tratamiento de una enfermedad o un trastorno en un sujeto que lo necesita, comprendiendo el método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula estructural (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una composición farmacéutica o una combinación farmacéutica del mismo, en donde el trastorno o la enfermedad se selecciona de:

- rechazo de trasplante de órgano o tejido agudo o crónico;
- vasculopatías por trasplante;
- proliferación y migración de células de músculo liso que conducen a engrosamiento de la íntima de los vasos, obstrucción de los vasos sanguíneos, aterosclerosis coronaria obstructiva, reestenosis;
- enfermedades autoinmunitarias y afecciones inflamatorias;
- tratamiento y prevención de asma;
- resistencia a múltiples fármacos (MDR);
- infecciones fúngicas;
- inflamación;
- infección;
- enfermedades relacionadas con la edad;
- enfermedades neurodegenerativas;

- trastornos proliferativos, en particular cáncer;
  - convulsiones y trastornos relacionados con convulsiones; y
- 5 - miopatía mitocondrial y estrés mitocondrial.

En otro aspecto (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento), la divulgación proporciona un método de tratamiento de cáncer en un sujeto que lo necesita, comprendiendo el método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula estructural (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una composición farmacéutica o una combinación farmacéutica del mismo.

En una realización, el método comprende además un inhibidor de PD-1/PDL-1.

En una realización, el cáncer se selecciona de cáncer renal, carcinoma de células renales, cáncer colorrectal, sarcoma uterino, cáncer uterino endometrial, cáncer endometrial, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de cuello uterino, cáncer gástrico, fibrosarcoma, cáncer de páncreas, cáncer de hígado, melanoma, leucemia, mieloma múltiple, cáncer de nasofaringe, cáncer de próstata, cáncer de pulmón, glioblastoma, cáncer de vejiga, mesotelioma, cáncer de cabeza, rhabdomyosarcoma, sarcoma, linfoma y cáncer de cuello.

En una realización, el trastorno es un trastorno hepático que incluye el proceso de fibrosis y/o inflamación, por ejemplo, fibrosis hepática que se produce en hepatopatía de estadio terminal; cirrosis hepática; insuficiencia hepática debida a toxicidad; esteatosis hepática no asociada al alcohol o NASH; y esteatosis asociada al alcohol.

En una realización, el trastorno es un trastorno renal que incluye el proceso de fibrosis o inflamación en el riñón, por ejemplo, fibrosis renal, que se produce como resultado de lesión renal aguda, que conduce a una enfermedad renal crónica y nefropatía diabética.

En una realización, el trastorno es una disfunción cardíaca, por ejemplo, infarto de miocardio o hipertrofia cardíaca. En una realización, la disfunción cardíaca es disfunción sistólica y/o diastólica. En una realización, la disfunción cardíaca es hipertensión. En una realización, la disfunción cardíaca da como resultado una disminución en la fracción de expulsión.

En una realización, el trastorno es una inmunosenescencia que conduce a cáncer debido a una disminución en la inmunovigilancia.

En una realización, el trastorno es cáncer, incluyendo tumores que se tratan mediante inmunoterapia y aquellos que se han tratado previamente o bien con rapamicina o bien con everólimus u otro rapálogo. En una realización, el cáncer incluye tumores en los que se demuestra que la ruta de mTOR está activada, incluyendo entornos en los que hay una mutación en el gen Tsc1 o en los que el microentorno tumoral se trata de manera apropiada con un rapálogo.

Los detalles de una o más realizaciones de la divulgación se exponen en el presente documento. Otras características, objetos y ventajas de la divulgación resultarán evidentes a partir de las figuras, la descripción detallada, los ejemplos y las reivindicaciones.

### Breve descripción de los dibujos

La figura 1A es una imagen de una estructura de cocrystal del ejemplo 1 con FKBP12. La configuración absoluta en C16 es (S).

La figura 1B muestra la estructura del ejemplo 1 con la proteína FKBP12 retirada.

La figura 2A es una imagen de una estructura de cocrystal del ejemplo 2 con FKBP12. La configuración absoluta en C16 es (R).

La figura 2B muestra la estructura del ejemplo 2 con la proteína FKBP12 retirada.

La figura 3 es un gráfico de líneas que muestra el perfil farmacocinético del ejemplo 2 en ratas tras una dosis única p.o. de 3 mg/kg. Eje Y - concentraciones en sangre del ejemplo 2 (nM). Eje X - tiempo (horas) para la recogida de sangre tras la administración del ejemplo 2. Los datos son la media  $\pm$  desviación estándar de 3 ratas.

La figura 4A es un gráfico de barras que muestra concentraciones en sangre comparativas de RAD001 (barras blancas) y del ejemplo 2 (barras coloreadas) en ratas a las que se les administró por vía oral una dosis única de compuesto a 3, 10 y 30 mg/kg. Las concentraciones de compuesto se midieron a las 3 y 24 horas (h) tras la dosificación. Los datos son la media  $\pm$  desviación estándar de 5-6 ratas en cada grupo. Se excluyeron del

análisis de datos las ratas donde un compuesto estaba por debajo del límite de cuantificación: esto se aplica a los grupos tratados con RAD001. El asterisco (\*) indica una diferencia significativa entre los respectivos grupos tratados con RAD001 y ejemplo 2. \*\*P<0,01, \*\*\*P<0,001; \*\*\*\*P<0,0001, pruebas de la t. BQL - por debajo del límite de cuantificación. Eje Y - concentraciones de compuesto en sangre (nM). Eje X - tiempo (3 y 24 horas) tras la dosificación oral y las dosis administradas por vía oral (3, 10 y 30 mg/kg).

La figura 4B es un gráfico de barras que muestra concentraciones en cerebro comparativas de RAD001 (barras blancas) y del ejemplo 2 (barras coloreadas) en ratas a las que se les administró por vía oral una dosis única de compuesto a 3, 10 y 30 mg/kg. Las concentraciones de compuesto se midieron a las 3 y 24 horas (h) tras la dosificación. Los datos son la media  $\pm$  desviación estándar. Se usaron 5-6 ratas en cada grupo. Se excluyeron del análisis de datos las ratas donde un compuesto estaba por debajo del límite de cuantificación: esto se aplica a los grupos tratados con RAD001. El asterisco (\*) indica una diferencia significativa entre los respectivos grupos tratados con RAD001 y ejemplo 2. \*\*P<0,01; \*\*\*P<0,001; \*\*\*\*P<0,0001, pruebas de la t. BQL - por debajo del límite de cuantificación. Eje Y - concentraciones de compuesto en cerebro (nM). Eje X - tiempo (3 y 24 horas) tras la dosificación oral y las dosis administradas por vía oral (3, 10 y 30 mg/kg).

La figura 4C muestra la concentración en sangre del ejemplo 2 en ratas tras la dosificación intravenosa (i.v.) y oral (p.o.). Eje Y - concentraciones en sangre del ejemplo 2 (nM). Eje X - tiempo (horas) para la recogida de sangre tras la administración del ejemplo 2. Los datos son la media  $\pm$  desviación estándar de 3 ratas.

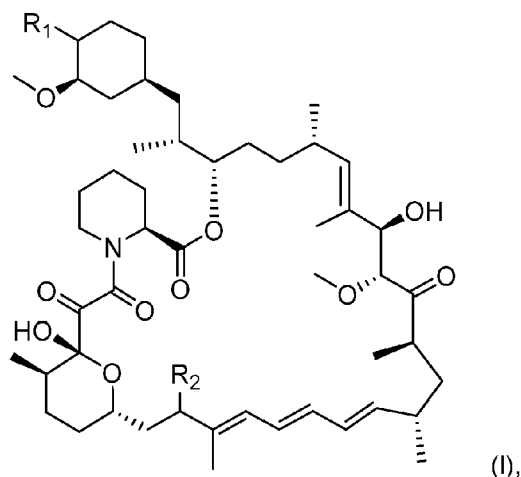
La figura 4D muestra la concentración en sangre de RAD001 en ratas tras la dosificación intravenosa (i.v.) y oral (p.o.). Eje Y - concentraciones en sangre de RAD001 (nM). Eje X - tiempo (horas) para la recogida de sangre tras la administración de RAD001. Los datos son la media  $\pm$  desviación estándar de 3 ratas.

Las figuras 5A-5D muestran que el ejemplo 2 inhibe la ruta de mTORC1 en el hígado de rata. A las ratas se les administró una dosis oral única del ejemplo 2 a 3 ó 10 ó 30 mg/kg, y se recogieron muestras de hígado a las 3 horas (h) y a las 24 h tras la dosificación. Las ratas tratadas con un vehículo (Veh) se usaron como control. (5A) y (5C) muestran imágenes de inmunotransferencia de las proteínas S6 fosforilada (p) y total (t) en hígados de rata tratados con un vehículo o 3 ó 10 ó 30 mg/kg del ejemplo 2 y analizados a las 3 h (5A) y a las 24 h (5C) tras el tratamiento. Los histogramas en (5B) y (5D) muestran la cuantificación densitométrica de p-S6 con respecto a t-S6 a las 3 h (5B) y a las 24 h (5D) tras el tratamiento. En los histogramas (5B y 5D), encima de cada barra se muestran valores arbitrarios promedio que indican razones p-S6/t-S6. Los ejes X representan las dosis administradas por vía oral (3, 10, 30 mg/kg). Los ejes Y representan las unidades arbitrarias. Se usaron seis ratas en cada grupo experimental. Los datos son la media  $\pm$  desviación estándar. Los datos se analizaron con ANOVA unilateral seguida de pruebas de comparaciones múltiples de Dunnett, donde se compararon las medias de todos los grupos con el grupo tratado con vehículo. \*\*P<0,01, \*\*\*\*P<0,001, *ns* - no significativo.

Las figuras 6A-6C muestran la inhibición de S6K1(Thr389) en células 293T de tipo natural (6A), con FKBP12 atenuado (6B) y con FKBP12 inactivado (6C) tras el tratamiento con RAD001 (línea a trazos) y ejemplo 2 (línea continua). Las células se trataron por triplicado. El eje Y representa el porcentaje de inhibición en relación con el nivel de S6K1(Thr389) en células tratadas con medios más DMSO. El eje X representa las concentraciones de RAD001 y ejemplo 2.

#### Descripción detallada

El documento WO2017/044720 se refiere a análogos de rapamicina. En un primer aspecto, la divulgación proporciona un compuesto de fórmula (I)

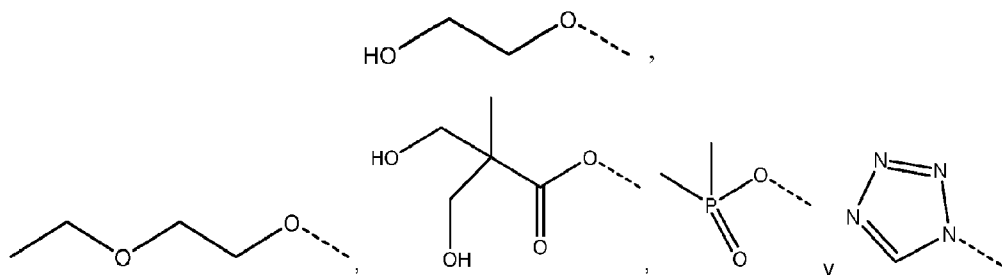




o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

R<sub>1</sub> se selecciona del grupo que consiste en hidroxilo,

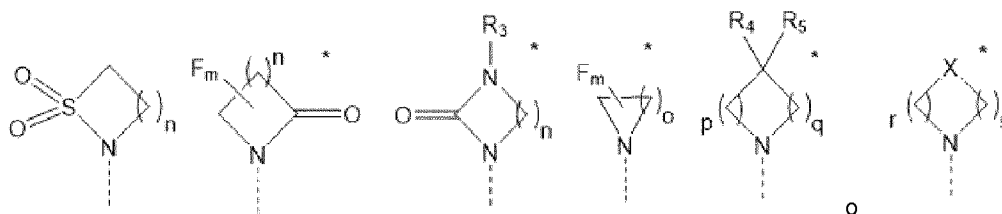
5



y

10

R<sub>2</sub> se selecciona del grupo que consiste en



15 \*descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento

en donde

20

m es 0, 1, 2 ó 3 (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento);

n es 1, 2 ó 3;

o es 1, 2, 3, 4, 5 ó 6 (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento);

25

p es 1, 2, 3, 4 ó 5 (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento)

q es 1, 2, 3, 4 ó 5, en donde la suma de p y q es 2, 3, 4, 5 ó 6 (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento);

30

r es 2, 3 ó 4 (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento);

s es 2, 3 ó 4, en donde la suma de r y s es 4, 5 ó 6 (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento);

35

X es O, S, NR<sub>6</sub> o SO<sub>2</sub> (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento);

R<sub>3</sub> es hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub>, hidroxialquilo C<sub>1-6</sub>, cicloalquil C<sub>3-8</sub>-alquilo C<sub>0-6</sub> o fenilalquilo C<sub>0-6</sub> (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento);

40

R<sub>4</sub> es hidrógeno (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento);

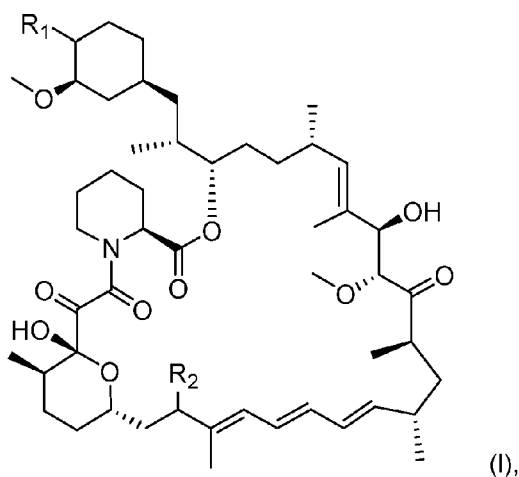
R<sub>5</sub> es hidrógeno, hidroxilo o ciano; o R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> juntos forman =O (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento); y

45

R<sub>6</sub> es hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub>, cicloalquil C<sub>3-8</sub>-alquilo C<sub>0-6</sub>, fenilalquilo C<sub>0-6</sub>, alquil C<sub>1-6</sub>-CO-, cicloalquil C<sub>3-8</sub>-alquil C<sub>0-6</sub>-CO-, alquil C<sub>1-6</sub>-SO<sub>2</sub>- o cicloalquil C<sub>3-8</sub>-alquil C<sub>0-6</sub>-SO<sub>2</sub>- (todos ellos descritos pero no reivindicados específicamente en el presente documento).

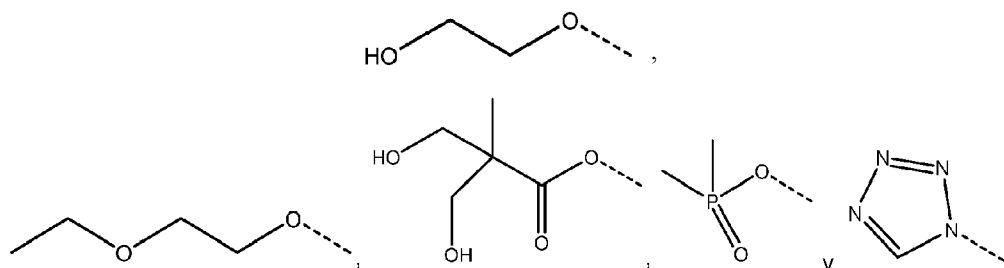
En una realización, la divulgación proporciona un compuesto de fórmula (I)

50



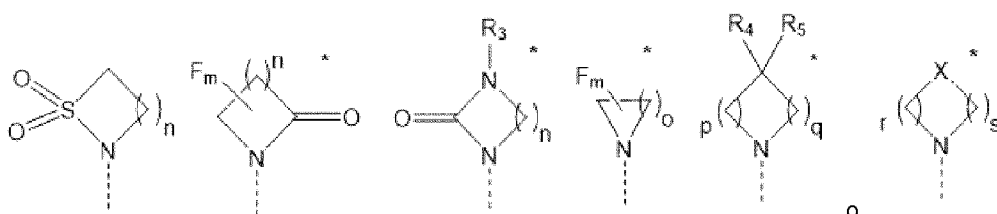
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

5 R<sub>1</sub> se selecciona del grupo que consiste en hidroxilo,



y

R<sub>2</sub> se selecciona del grupo que consiste en



\*descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento

en donde

m es 0, 1, 2 ó 3 (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento);

n es 1, 2 ó 3;

o es 1, 2, 3, 4, 5 ó 6 (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento);

p es 1, 2, 3, 4 ó 5 (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento)

q es 1, 2, 3, 4 ó 5, en donde la suma de p y q es 2, 3, 4, 5 ó 6 (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento);

r es 2, 3 ó 4 (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento);

s es 2, 3 ó 4, en donde la suma de r y s es 4, 5 ó 6 (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento);

X es O, S, NR<sub>6</sub> o SO<sub>2</sub> (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento);

R<sub>3</sub> es hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub>, cicloalquil C<sub>3-8</sub>-alquilo C<sub>0-6</sub> o fenilalquilo C<sub>0-6</sub> (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento);

R<sub>4</sub> es hidrógeno (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento);

R<sub>5</sub> es hidrógeno, hidroxilo o ciano; o R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> juntos forman =O (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento); y

R<sub>6</sub> es hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub>, cicloalquil C<sub>3-8</sub>-alquilo C<sub>0-6</sub>, fenilalquilo C<sub>0-6</sub>, alquil C<sub>1-6</sub>-CO-, cicloalquil C<sub>3-8</sub>-alquil C<sub>0-6</sub>-CO-, alquil C<sub>1-6</sub>-SO<sub>2</sub>- o cicloalquil C<sub>3-8</sub>-alquil C<sub>0-6</sub>-SO<sub>2</sub>- (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento).

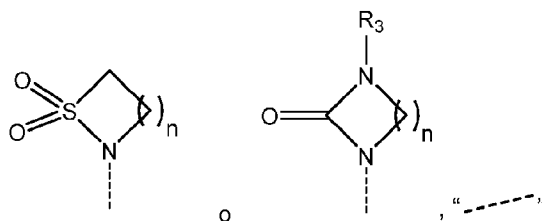
## Definiciones

A menos que se especifique lo contrario, el término "compuestos de la divulgación" o "compuesto de la divulgación" se refiere a compuestos de fórmula (I), y a compuestos ejemplificados, y a sales de los mismos, así como a todos los estereoisómeros (incluyendo diastereoisómeros y enantiómeros), rotámeros, tautómeros y compuestos isotópicamente marcados (incluyendo sustituciones de deuterio), así como a restos inherentemente formados.

Tal como se usa en el presente documento,

"-----"

representa una porción de una variable unida a la molécula de base e incluye estereoquímica tanto (R) como (S). Por ejemplo, cuando R<sub>2</sub> es



representa la porción de R<sub>2</sub> unida a C16 e incluye estereoquímica tanto (R) como (S).

Tal como se usa en el presente documento, el término "alquilo C<sub>1-6</sub>" se refiere a un radical hidrocarburo de cadena lineal o ramificada que consiste únicamente en átomos de carbono e hidrógeno, que no contiene insaturación, que tiene desde uno hasta seis átomos de carbono y que está unido a la parte restante de la molécula mediante un enlace sencillo. El término "alquilo C<sub>1-4</sub>" debe interpretarse por consiguiente. Los ejemplos de alquilo C<sub>1-6</sub> incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo, n-propilo, 1-metiletilo (iso-propilo), n-butilo, n-pentilo y 1,1-dimetiletilo (t-butilo).

Tal como se usa en el presente documento, el término "hidroxialquilo C<sub>1-6</sub>" se refiere a un grupo alquilo sustituido con uno o más grupos -OH. Los ejemplos de grupos hidroxialquilo C<sub>1-6</sub> incluyen HO-CH<sub>2</sub>-, HO-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>- y -CH<sub>2</sub>-CH(OH)-.

Tal como se usa en el presente documento, el término "cicloalquil C<sub>3-8</sub>-alquilo C<sub>0-6</sub>" se refiere a un radical hidrocarburo saturado monocíclico estable que consiste únicamente en átomos de carbono e hidrógeno, que tiene desde tres hasta ocho átomos de carbono y que está unido a la parte restante de la molécula mediante un enlace sencillo o mediante un radical alquilo C<sub>1-6</sub> tal como se definió anteriormente. Los ejemplos de cicloalquil C<sub>3-8</sub>-alquilo C<sub>0-6</sub> incluyen, pero no se limitan a, ciclopropilo, ciclopropilmetilo, ciclobutilo, ciclobutiletilo, ciclopentilo, ciclopentilpropilo, ciclohexilo, cicloheptilo y ciclooctilo.

Tal como se usa en el presente documento, el término "fenilalquilo C<sub>0-6</sub>" se refiere a un anillo de fenilo unido a la parte restante de la molécula mediante un enlace sencillo o mediante un radical alquilo C<sub>1-6</sub> tal como se definió anteriormente. Los ejemplos de fenilalquilo C<sub>0-6</sub> incluyen, pero no se limitan a, fenilo y bencilo.

Tal como se usa en el presente documento, "hidroxi" o "hidroxilo" se refiere a -OH.

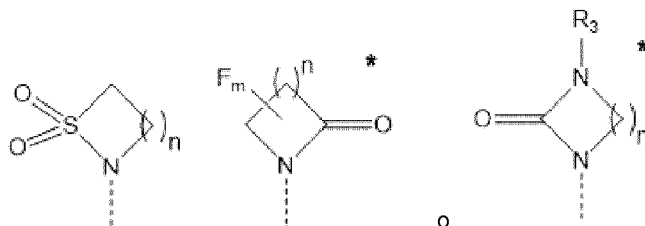
En el presente documento se describen diversas realizaciones (enumeradas) de la divulgación. Se reconocerá que las características especificadas en cada realización pueden combinarse con otras características

especificadas para proporcionar realizaciones adicionales de la divulgación.

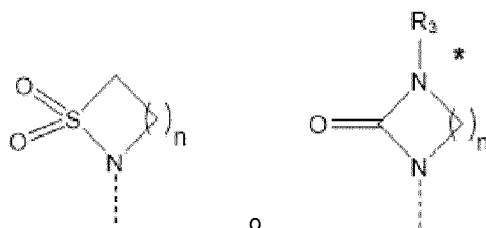
Realización 1. Un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como se describió anteriormente, excluyendo aquellos indicados como descritos pero no reivindicados específicamente en el presente documento.

Realización 2. Un compuesto según la realización 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde  $R_1$  es hidroxilo.

Realización 3. Un compuesto según la realización 1 ó 2 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde  $R_2$  se selecciona de



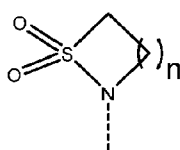
\*descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento, en particular



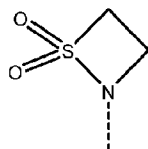
\*descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento,

en donde  $m$ ,  $n$ ,  $X$  y  $R_3$  son tal como se definieron anteriormente ( $m$ ,  $X$  y  $R_3$  se describen pero no se reivindican específicamente en el presente documento).

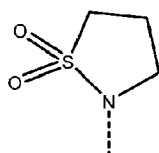
Realización 4. Un compuesto según una cualquiera de las realizaciones 1 a 3 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde  $R_2$  es



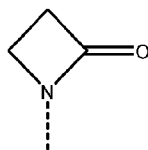
y  $n$  es 1, 2 ó 3. En una realización,  $R_2$  es



Realización 5. Un compuesto según una cualquiera de las realizaciones 1 a 4 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde  $R_2$  es

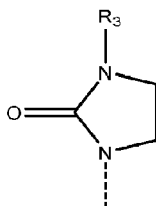


Realización 6 (descrita pero no reivindicada específicamente en el presente documento). Un compuesto según una cualquiera de las realizaciones 1 a 4 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde R<sub>2</sub> es



5

Realización 7 (descrita pero no reivindicada específicamente en el presente documento). Un compuesto según una cualquiera de las realizaciones 1 a 4 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde R<sub>2</sub> es

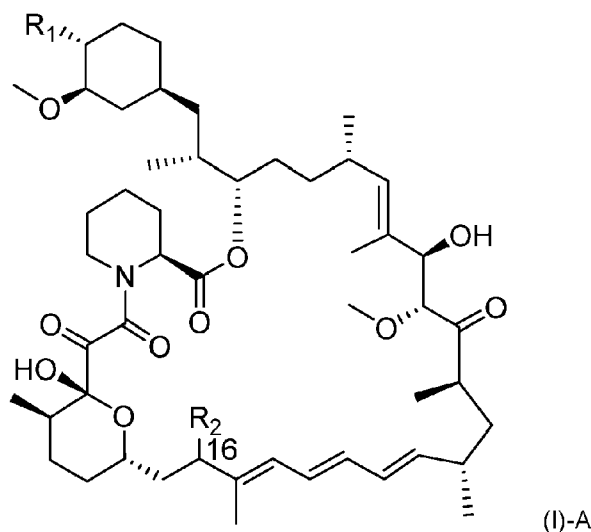


10

En una realización, R<sub>3</sub> es hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub> o hidroxialquilo C<sub>1-6</sub>.

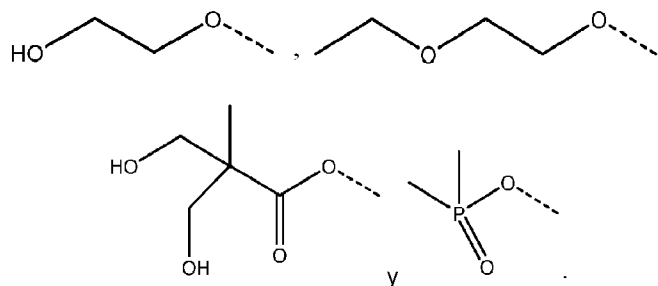
Realización 8. Un compuesto según una cualquiera de las realizaciones 1 a 5 de fórmula (I)-A, excluyendo aquellos indicados como descritos pero no reivindicados específicamente en el presente documento:

15



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde R<sub>1</sub> se selecciona del grupo que consiste en hidroxilo,

20



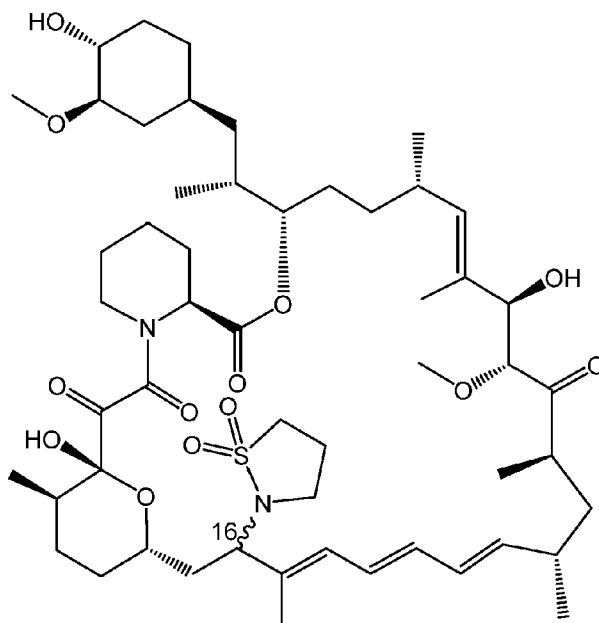
En una realización, R<sub>1</sub> es hidroxilo. En una realización, R<sub>2</sub> es tal como se define en la fórmula (I). En una realización, la posición C16 tiene estereoquímica (R). En una realización, la posición C16 tiene estereoquímica (S).

25

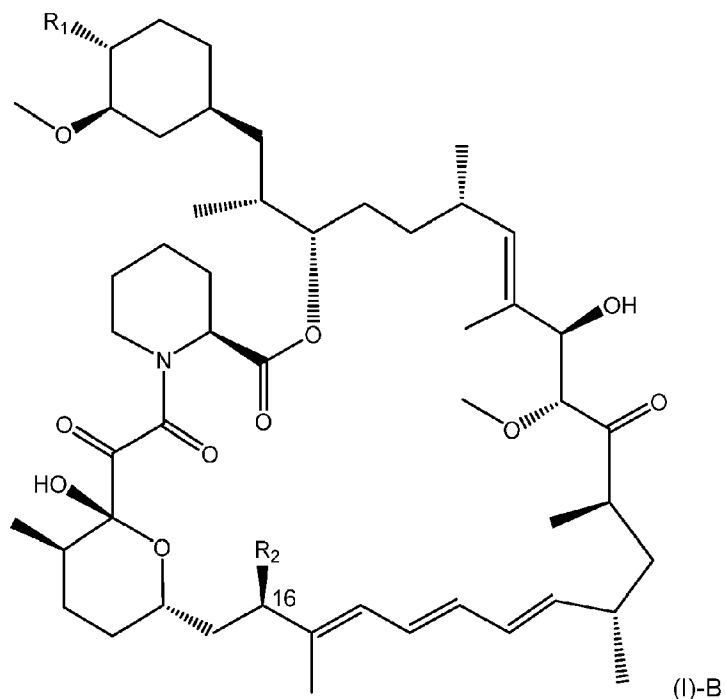
Realización 9. Un compuesto según una cualquiera de las realizaciones 1 a 8 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde dicho compuesto es C16-(1,1-dioxidoisotiazolidin-2-il)-C32-desoxo-rapamicina

30

(compuesto 1):

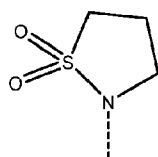


- 5 Realización 10. Un compuesto según una cualquiera de las realizaciones 1 a 9 excluyendo aquellos indicados como descritos pero no reivindicados específicamente en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, presente como diastereoisómero individual en C16. En una realización, la posición C16 tiene estereoquímica (R). En una realización, la posición C16 tiene estereoquímica (S).
- 10 Realización 11. Un compuesto según una cualquiera de las realizaciones 1 a 9 excluyendo aquellos indicados como descritos pero no reivindicados específicamente en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, presente como mezcla diastereoisomérica en C16.
- 15 Realización 12. Un compuesto según una cualquiera de las realizaciones 1 a 10 excluyendo aquellos indicados como descritos pero no reivindicados específicamente en el presente documento de fórmula (I)-B,

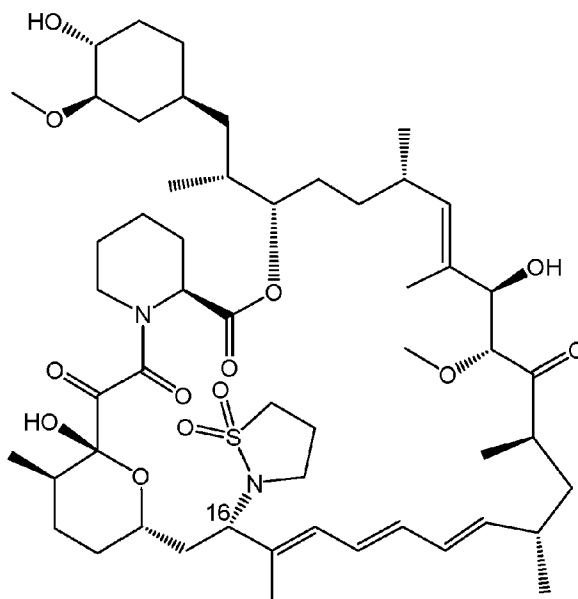


(I)-B

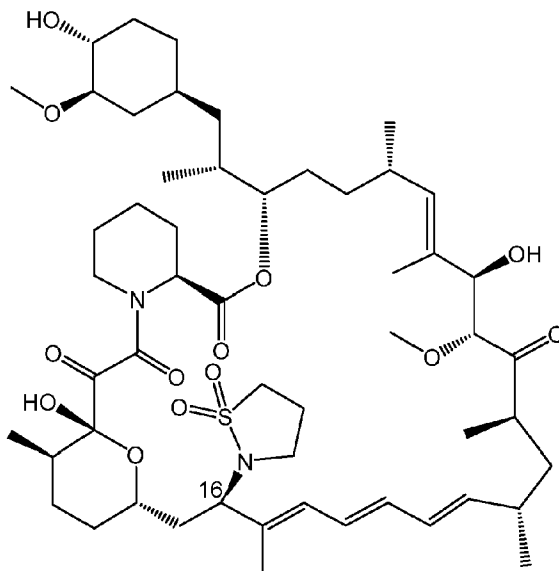
- 20 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> son tal como se definen para la fórmula (I). En una realización, R<sub>2</sub> es



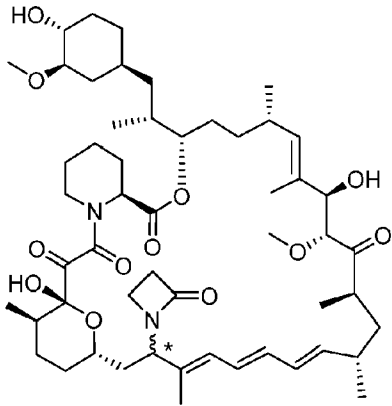
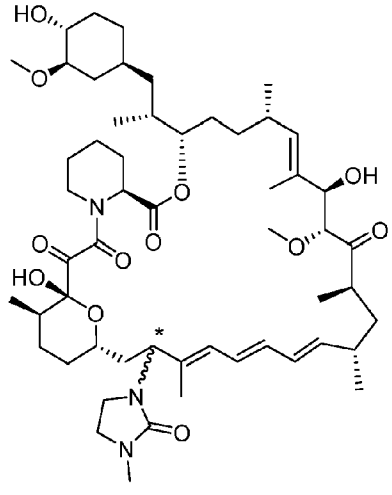
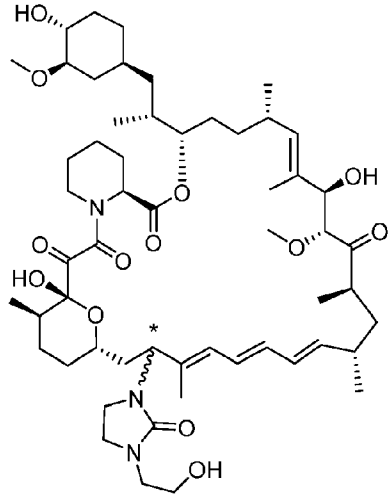
Realización 13. Un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde dicho  
5 compuesto es (S)-C16-(1,1-dioxidoisotiazolidin-2-il)-C32-desoxo-rapamicina (ejemplo 1):



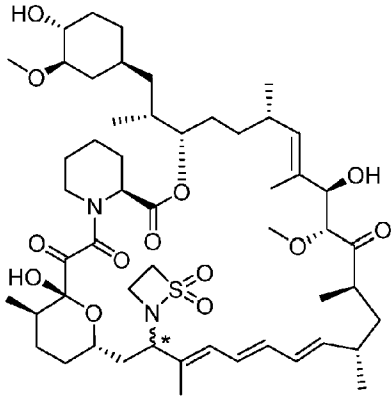
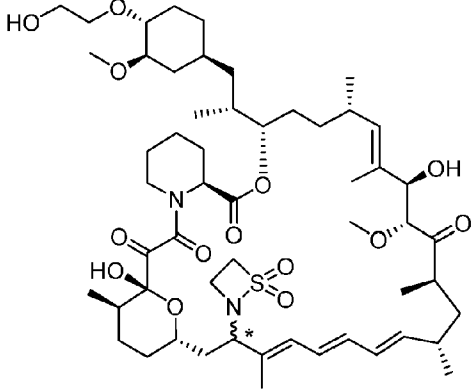
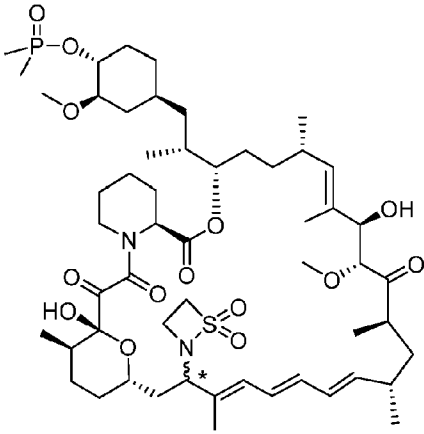
Realización 14. Un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde dicho  
10 compuesto es (R)-C16-(1,1-dioxidoisotiazolidin-2-il)-C32-desoxo-rapamicina (ejemplo 2):

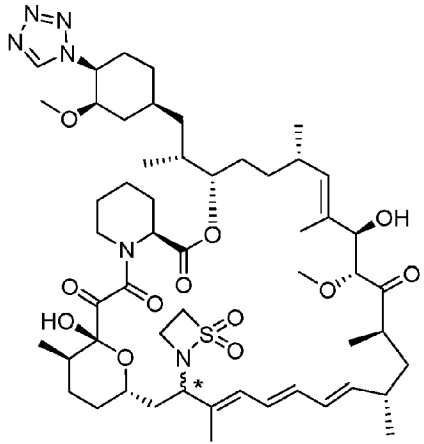
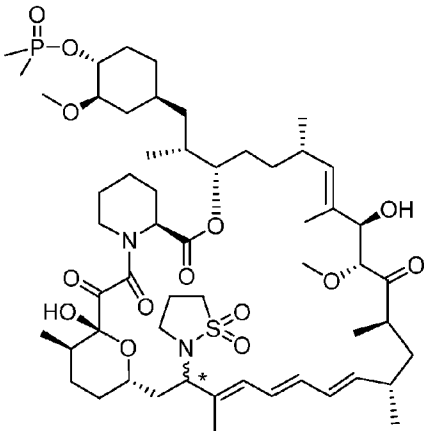
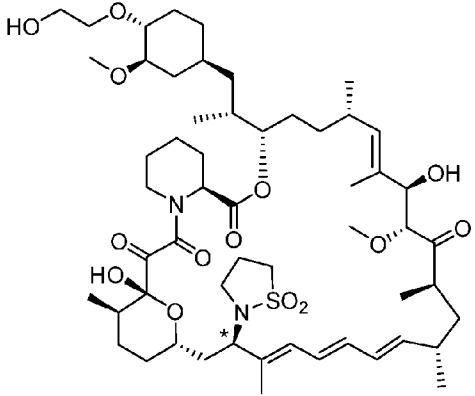


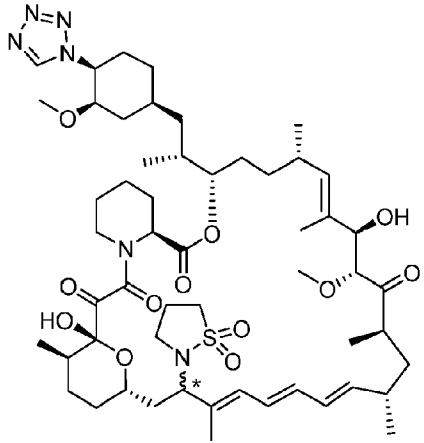
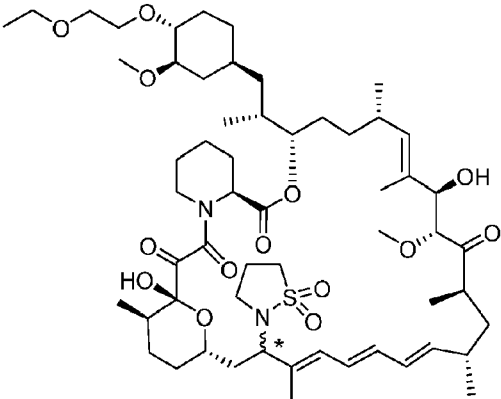
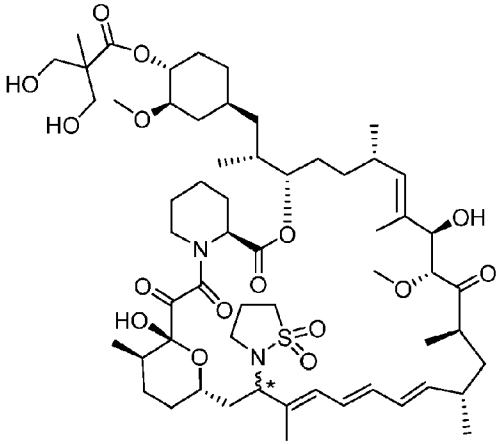
Realización 15. Un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde dicho  
15 compuesto se selecciona de:

Compuesto	Estructura
<p>Ejemplo 3 (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento)</p>	 <p>* Estereoquímica absoluta en C16 no asignada</p>
<p>Ejemplo 4 (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento)</p>	 <p>* Estereoquímica absoluta en C16 no asignada</p>
<p>Ejemplo 5 (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento)</p>	 <p>* Estereoquímica absoluta en C16 no asignada</p>



<p>Ejemplo 6</p> <p>Ejemplo 7 diastereómeros en C16</p>	 <p>* Estereoquímica absoluta en C16 no asignada</p>
<p>Ejemplo 8</p> <p>Ejemplo 9 diastereómeros en C16</p>	 <p>* Estereoquímica absoluta en C16 no asignada</p>
<p>Ejemplo 10</p> <p>Ejemplo 11 diastereómeros en C16</p>	 <p>* Estereoquímica absoluta en C16 no asignada</p>

<p>Ejemplo 12</p> <p>Ejemplo 13 diastereómero individual en C16</p>	 <p>* Estereoquímica absoluta en C16 no asignada</p>
<p>Ejemplo 14</p> <p>Ejemplo 15 diastereómeros en C16</p>	 <p>* Estereoquímica absoluta en C16 no asignada</p>
<p>Ejemplo 16</p>	

Ejemplo 17	 <p>* Estereoquímica absoluta en C16 no asignada</p>
Ejemplo 18	 <p>* Estereoquímica absoluta en C16 no asignada</p>
Ejemplo 19	 <p>* Estereoquímica absoluta en C16 no asignada</p>

A continuación se describen en más detalle las definiciones de grupos funcionales específicos y términos químicos. Los elementos químicos se identifican según la tabla periódica de los elementos, versión CAS, Handbook of Chemistry and Physics, 75ª ed., cubierta interior, y los grupos funcionales específicos se definen generalmente tal como se describen en el mismo. Además, los principios generales de la química orgánica, así como los restos funcionales específicos y la reactividad, se describen en Thomas Sorrell, Organic Chemistry, University Science Books, Sausalito, 1999; Smith y March, March's Advanced Organic Chemistry, 5ª edición, John Wiley & Sons, Inc., Nueva York, 2001; Larock, Comprehensive Organic Transformations, VCH Publishers, Inc., Nueva York, 1989; y Carruthers, Some Modern Methods of Organic Synthesis, 3ª edición, Cambridge University Press, Cambridge, 1987.

Dependiendo de la elección de los materiales de partida y los procedimientos, los compuestos de la divulgación pueden estar presentes en forma de uno de los posibles estereoisómeros o como mezclas de los mismos para los estereocentros no fijados por la fórmula (I), la fórmula (I)-A y la fórmula (I)-B, por ejemplo, como isómeros ópticos puros o como mezclas de estereoisómeros, tales como racematos y mezclas de diastereoisómeros, dependiendo del número de átomos de carbono asimétricos. Se pretende que la divulgación incluya todos de  
 5 tales estereoisómeros posibles, incluyendo mezclas racémicas, mezclas diastereoméricas y formas ópticamente puras. Los estereoisómeros (R) y (S) ópticamente activos pueden prepararse usando sintones quirales o reactivos quirales, o resolverse usando técnicas convencionales. Si el compuesto contiene un doble enlace, el sustituyente puede tener la configuración E o Z. Si el compuesto contiene un cicloalquilo disustituido, el sustituyente cicloalquilo puede tener una configuración cis o trans. También se pretende que se incluyan todas  
 10 las formas tautoméricas.

El término "tautómeros" se refiere a compuestos que son formas intercambiables de una estructura de compuesto particular y que varían en el desplazamiento de átomos de hidrógeno y electrones. Por tanto, dos estructuras pueden estar en equilibrio mediante el movimiento de los electrones  $\pi$  y un átomo (normalmente H).  
 15 Por ejemplo, los enoles y las cetonas son tautómeros porque se interconvierten rápidamente mediante tratamiento con ácido o base. Otro ejemplo de tautomerismo son las formas aci y nitro del fenilnitrometano, que también se forman mediante tratamiento con ácido o base. Las formas tautoméricas pueden ser relevantes para lograr la reactividad química y la actividad biológica óptimas de un compuesto de interés.

Tal como se usan en el presente documento, los términos "sal" o "sales" se refieren a una sal de adición de ácido o de adición de base de un compuesto de la divulgación. Las "sales" incluyen en particular "sales farmacéuticamente aceptables". La expresión "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales que conservan la eficacia biológica y las propiedades de los compuestos de la divulgación y que normalmente no son indeseables biológicamente o de otro modo. En muchos casos, los compuestos de la divulgación son capaces de  
 20 formar sales de ácido y/o de base en virtud de la presencia de grupos amino y/o carboxilo o grupos similares a los mismos. Las sales farmacéuticamente aceptables son bien conocidas en la técnica. Por ejemplo, Berge *et al.*, describen sales farmacéuticamente aceptables en detalle en J. Pharmaceutical Sciences, 1977, 66, 1-19.

Pueden formarse sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables con ácidos inorgánicos y ácidos orgánicos.  
 30

Los ácidos inorgánicos de los que pueden derivarse las sales incluyen, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares.

Los ácidos orgánicos de los que pueden derivarse las sales incluyen, por ejemplo, ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido oxálico, ácido maleico, ácido malónico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido, ácido etanosulfónico, ácido toluenosulfónico, ácido sulfosalicílico y similares.  
 35

Pueden formarse sales de adición de base farmacéuticamente aceptables con bases orgánicas e inorgánicas.  
 40

Las bases inorgánicas de las que pueden derivarse las sales incluyen, por ejemplo, sales de amonio y metales de las columnas I a XII de la tabla periódica. En determinadas realizaciones, las sales se derivan de sodio, potasio, amonio, calcio, magnesio, hierro, plata, zinc y cobre; las sales particularmente adecuadas incluyen sales de amonio, potasio, sodio, calcio y magnesio.  
 45

Las bases orgánicas de las que pueden derivarse las sales incluyen, por ejemplo, aminas primarias, secundarias y terciarias, aminas sustituidas incluyendo aminas sustituidas que se producen de manera natural, aminas cíclicas, resinas de intercambio iónico básicas y similares. Determinadas aminas orgánicas incluyen isopropilamina, benzatina, colinato, dietanolamina, dietilamina, lisina, meglumina, piperazina y trometamina.  
 50

En otro aspecto, la divulgación proporciona compuestos en forma de sal de acetato, ascorbato, adipato, aspartato, benzoato, besilato, bromuro/bromhidrato, bicarbonato/carbonato, bisulfato/sulfato, alcanforsulfonato, caprato, cloruro/clorhidrato, clorteofilonato, citrato, etanodisulfonato, fumarato, gluceptato, gluconato,  
 55 glucuronato, glutamato, glutarato, glicolato, hipurato, yodhidrato/yoduro, isetionato, lactato, lactobionato, laurilsulfato, malato, maleato, malonato, mandelato, mesilato, metilsulfato, mucato, naftoato, napsilato, nicotinato, nitrato, octadecanoato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, fosfato/hidrogenofosfato/dihidrogenofosfato, poligalacturonato, propionato, sebacato, estearato, succinato, sulfosalicilato, sulfato, tartrato, tosilato, trifenatato, trifluoroacetato o xinafoato.

También se pretende que cualquier fórmula proporcionada en el presente documento represente formas no marcadas así como formas isotópicamente marcadas de los compuestos. Los compuestos isotópicamente marcados tienen estructuras representadas por las fórmulas dadas en el presente documento, excepto porque uno o más átomos se reemplazan por un átomo que tiene una masa atómica o un número másico seleccionado.  
 60  
 65 Los isótopos que pueden incorporarse a los compuestos de la divulgación incluyen, por ejemplo, isótopos de hidrógeno.

Además, la incorporación de determinados isótopos, particularmente deuterio (es decir,  $^2\text{H}$  o D) pueden proporcionar determinadas ventajas terapéuticas resultantes de una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, una semivida *in vivo* aumentada o requisitos de dosificación reducidos o una mejora en el índice terapéutico o la tolerabilidad. Se entiende que en este contexto el deuterio se considera un sustituyente de un compuesto de la divulgación. La concentración de deuterio puede definirse mediante el factor de enriquecimiento isotópico. El término “factor de enriquecimiento isotópico”, tal como se usa en el presente documento, significa la razón entre la abundancia isotópica y la abundancia natural de un isótopo específico. Si un sustituyente en un compuesto de esta divulgación se indica como deuterio, tal compuesto tiene un factor de enriquecimiento isotópico para cada átomo de deuterio designado de al menos 3500 (52,5 % de incorporación de deuterio en cada átomo de deuterio designado), al menos 4000 (60 % de incorporación de deuterio), al menos 4500 (67,5 % de incorporación de deuterio), al menos 5000 (75 % de incorporación de deuterio), al menos 5500 (82,5 % de incorporación de deuterio), al menos 6000 (90 % de incorporación de deuterio), al menos 6333,3 (95 % de incorporación de deuterio), al menos 6466,7 (97 % de incorporación de deuterio), al menos 6600 (99 % de incorporación de deuterio) o al menos 6633,3 (99,5 % de incorporación de deuterio). Debe entenderse que el término “factor de enriquecimiento isotópico” puede aplicarse a cualquier isótopo de la misma manera tal como se describe para el deuterio.

Otros ejemplos de isótopos que pueden incorporarse en los compuestos de la divulgación incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor y cloro, tales como  $^3\text{H}$ ,  $^{11}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{18}\text{F}$ ,  $^{31}\text{P}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{36}\text{Cl}$ ,  $^{123}\text{I}$ ,  $^{124}\text{I}$ ,  $^{125}\text{Y}$ , respectivamente. Por consiguiente, debe entenderse que la divulgación incluye compuestos que incorporan uno o más de cualquiera de los isótopos mencionados anteriormente, incluyendo, por ejemplo, isótopos radiactivos, tales como  $^3\text{H}$  y  $^{14}\text{C}$ , o aquellos en los que están presentes isótopos no radiactivos, tales como  $^2\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ . Tales compuestos isotópicamente marcados son útiles en estudios metabólicos (con  $^{14}\text{C}$ ), estudios de cinética de reacción (con, por ejemplo,  $^2\text{H}$  o  $^3\text{H}$ ), técnicas de detección u obtención de imágenes, tales como tomografía por emisión de positrones (PET) o tomografía computarizada por emisión de fotón único (SPECT), incluyendo ensayos de distribución tisular de fármacos o sustratos, o en el tratamiento radiactivo de los pacientes. En particular, un  $^{18}\text{F}$  o un compuesto marcado puede ser particularmente deseable para estudios de PET o SPECT. Los compuestos isotópicamente marcados de la divulgación generalmente pueden prepararse mediante técnicas convencionales conocidas por los expertos en la técnica o mediante procedimientos análogos a los descritos en los ejemplos y las preparaciones adjuntos usando reactivos isotópicamente marcados apropiados en lugar del reactivo no marcado previamente empleado.

Tal como se usa en el presente documento, el término “composición farmacéutica” se refiere a un compuesto de la divulgación, o a una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, junto con al menos un portador farmacéuticamente aceptable, en una forma adecuada para administración oral o parenteral.

Tal como se usa en el presente documento, el término “portador farmacéuticamente aceptable” se refiere a una sustancia útil en la preparación o el uso de una composición farmacéutica e incluye, por ejemplo, diluyentes, disolventes, medios de dispersión, tensioactivos, antioxidantes, conservantes, agentes isotónicos, agentes tampón, emulsionantes, agentes retardadores de la absorción, sales, estabilizadores de fármacos, aglutinantes, excipientes, agentes de disgregación, lubricantes, agentes humectantes, agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, colorantes y combinaciones de los mismos adecuados, tal como serían conocidos por los expertos en la técnica (véase, para ejemplo, Remington The Science and Practice of Pharmacy, 22ª ed. Pharmaceutical Press, 2013, págs. 1049-1070).

El término “una cantidad terapéuticamente eficaz” de un compuesto de la divulgación se refiere a una cantidad del compuesto de la divulgación que provocará la respuesta biológica o médica de un sujeto, por ejemplo, reducción o inhibición de la actividad de una enzima o una actividad de proteína, o mejorará los síntomas, aliviará afecciones, retardará o retrasará la progresión de una enfermedad o prevendrá una enfermedad, etc. En una realización, el término “una cantidad terapéuticamente eficaz” se refiere a la cantidad del compuesto de la divulgación que, cuando se administra a un sujeto, es eficaz para (1) aliviar, prevenir y/o mejorar al menos parcialmente una afección, un trastorno o una enfermedad (i) mediado por la ruta de mTOR o (ii) asociado con la actividad de mTOR o (iii) caracterizado por la actividad (normal o anómala) de mTOR; o (2) reducir o inhibir la actividad de mTOR; o (3) reducir o inhibir la expresión de mTOR. En una realización, el término “una cantidad terapéuticamente eficaz” se refiere a la cantidad del compuesto de la divulgación que, cuando se administra a una célula, o a un tejido, o a un material biológico no celular, o a un medio, es eficaz para reducir o inhibir al menos parcialmente la actividad de mTOR; o reducir o inhibir al menos parcialmente la expresión de mTOR.

Tal como se usa en el presente documento, el término “sujeto” se refiere a primates (por ejemplo, seres humanos, hombres o mujeres), perros, gatos, conejos, cobayas, cerdos, ratas y ratones. En determinadas realizaciones, el sujeto es un primate. En aún otras realizaciones, el sujeto es un ser humano.

Los términos “administrar”, “que administra” o “administración”, tal como se usan en el presente documento, se refieren a implantar, absorber, ingerir, inyectar, inhalar o introducir de otro modo un compuesto de la invención o una composición farmacéutica del mismo.

Tal como se usa en el presente documento, el término “inhibir”, “inhibición” o “que inhibe” se refiere a la reducción o supresión de una afección, un síntoma, un trastorno o una enfermedad dado, o una disminución significativa en la actividad inicial de una actividad o un proceso biológico.

Tal como se usa en el presente documento, el término “tratar”, “que trata” o “tratamiento” de cualquier enfermedad o trastorno se refiere a aliviar, retrasar la aparición de, mejorar la enfermedad o el trastorno (es decir, ralentizar o detener el desarrollo de la enfermedad o al menos uno de los síntomas clínicos de la misma); o aliviar o mejorar al menos un parámetro físico o biomarcador asociado con la enfermedad o el trastorno, incluyendo aquellos que pueden no ser discernibles para el paciente. En algunas realizaciones, “tratamiento”, “tratar” y “que trata” requieren que se hayan desarrollado o se hayan observado signos o síntomas de la enfermedad, el trastorno o la afección. En otras realizaciones, el tratamiento puede administrarse en ausencia de signos o síntomas de la enfermedad o afección. Por ejemplo, el tratamiento puede administrarse a un individuo susceptible antes de la aparición de los síntomas (por ejemplo, a la luz de un historial de síntomas y/o a la luz de factores genéticos u otros factores de susceptibilidad). El tratamiento también puede continuarse después de que los síntomas se hayan resuelto, por ejemplo, para retrasar o prevenir la recidiva.

Tal como se usa en el presente documento, el término “prevenir”, “que previene” o “prevención” de cualquier enfermedad o trastorno se refiere al tratamiento profiláctico de la enfermedad o el trastorno; o retrasar la aparición o progresión de la enfermedad o el trastorno.

Tal como se usa en el presente documento, “enfermedad o trastorno relacionado con la edad” se refiere a cualquier enfermedad o trastorno cuya incidencia en una población o gravedad en un individuo se correlaciona con la progresión de la edad. Más específicamente, una enfermedad o un trastorno relacionado con la edad es una enfermedad o un trastorno cuya incidencia es al menos 1,5 veces mayor entre individuos humanos mayores de 65 años en comparación con individuos humanos entre 25 y 35 años. Los ejemplos de trastornos relacionados con la edad incluyen, pero no se limitan a: sarcopenia, atrofia cutánea, hemangiomas capilares, queratosis seborreicas, atrofia cerebral también denominada demencia, aterosclerosis, arterioesclerosis, enfisema pulmonar, osteoporosis, artrosis, tensión arterial elevada, disfunción eréctil, cataratas, degeneración macular, glaucoma, accidente cerebrovascular, enfermedad cerebrovascular (accidentes cerebrovasculares), enfermedad renal crónica, enfermedad renal asociada a la diabetes, disfunción hepática, fibrosis hepática, hepatitis autoinmunitaria, hiperplasia endometrial, disfunción metabólica, enfermedad renovascular, hipoacusia, incapacidad de movilidad (por ejemplo, debilidad), deterioro cognitivo, rigidez de tendones, disfunción cardíaca tal como hipertrofia cardíaca y/o disfunción sistólica y/o diastólica y/o hipertensión, disfunción cardíaca que da como resultado una disminución en la fracción de expulsión, inmunosenescencia, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, cáncer, inmunosenescencia que conduce a cáncer debido a una disminución en la inmunovigilancia, infecciones debidas a una disminución en la función inmunitaria, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), obesidad, ageusia, anosmia, artritis, y diabetes tipo II incluyendo complicaciones provenientes de la diabetes, tales como insuficiencia renal, amaurosis y neuropatía.

Tal como se usa en el presente documento, un sujeto “necesita” un tratamiento si tal sujeto se beneficiaría de manera biológica, médica o en cuanto a calidad de vida de tal tratamiento.

Todos los métodos descritos en el presente documento pueden realizarse en cualquier orden adecuado a menos que se indique lo contrario en el presente documento o que el contexto lo contradiga claramente. Se pretende que el uso de todos y cada uno de los ejemplos o lenguaje a modo de ejemplo (por ejemplo, “tal como”) proporcionado en el presente documento simplemente ilumine mejor la divulgación y no plantea una limitación en el alcance de la divulgación por lo demás reivindicada.

Cualquier átomo asimétrico (por ejemplo, carbono o similar) de/de los compuesto(s) de la divulgación puede estar presente en forma racémica o enantioméricamente enriquecida, por ejemplo, configuración (*R*), (*S*) o (*R,S*). En determinadas realizaciones, cada átomo asimétrico tiene al menos el 50 % de exceso enantiomérico, al menos el 60 % de exceso enantiomérico, al menos el 70 % de exceso enantiomérico, al menos el 80 % de exceso enantiomérico, al menos el 90 % de exceso enantiomérico, al menos el 95 % de exceso enantiomérico o al menos el 99 % de exceso enantiomérico en la configuración (*R*) o (*S*). Si es posible, los sustituyentes en átomos con dobles enlaces insaturados pueden estar presentes en forma *cis*-(*Z*) o *trans*-(*E*).

Por consiguiente, tal como se usa en el presente documento, un compuesto de la divulgación puede estar en forma de uno de los posibles estereoisómeros, rotámeros, atropisómeros, tautómeros o mezclas de los mismos, por ejemplo, como estereoisómeros geométricos (*cis* o *trans*), diastereómeros, isómeros ópticos (antípodos), racematos sustancialmente puros o mezclas de los mismos.

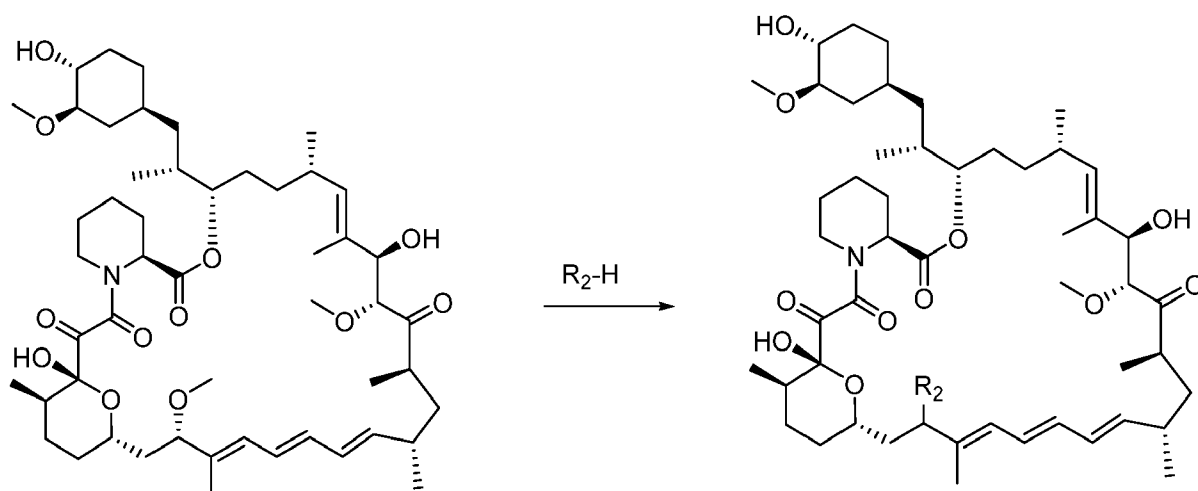
Cualquier mezcla resultante de estereoisómeros puede separarse en base a las diferencias fisicoquímicas de los constituyentes en isómeros geométricos u ópticos, diastereómeros y racematos puros o sustancialmente puros, por ejemplo, mediante cromatografía y/o cristalización fraccionada.

Cualquier racemato resultante de los compuestos de la divulgación o de productos intermedios puede resolverse en las antípodas ópticas mediante métodos conocidos, por ejemplo, mediante la separación de las sales diastereoméricas de los mismos, obtenidas con un ácido o una base ópticamente activo, y liberando el compuesto ácido o básico ópticamente activo. En particular, puede emplearse así un resto básico para resolver los compuestos de la divulgación en sus antípodas ópticas, por ejemplo, mediante cristalización fraccionada de una sal formada con un ácido ópticamente activo, por ejemplo, ácido tartárico, ácido dibenzoiltartárico, ácido diacetiltartárico, ácido di-O,O'-p-toluoiltartárico, ácido mandélico, ácido málico o ácido alcanfor-10-sulfónico. Los compuestos racémicos de la divulgación o los productos intermedios racémicos también pueden resolverse mediante cromatografía quiral, por ejemplo, cromatografía de líquidos a alta presión (HPLC) usando un adsorbente quiral.

#### Métodos de preparación de los compuestos de fórmula (I)

En otro aspecto (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento), la divulgación proporciona un procedimiento para la producción de compuestos de fórmula (I), fórmula (I)-A y fórmula (I)-B. Los compuestos de fórmula (I), fórmula (I)-A y fórmula (I)-B pueden prepararse según el siguiente procedimiento tal como se describe en los esquemas 1, 2 y 3:

#### Esquema 1:



C32-desoxi-rapamicina (producto intermedio 1)

Un compuesto de fórmula (I), en donde  $R_2$  es tal como se define en la fórmula (I), puede obtenerse haciendo reaccionar C32-desoxi-rapamicina (producto intermedio 1) con  $R_2$ -H, en donde  $R_2$  es tal como se define en la fórmula (I), en presencia de un reactivo adecuado para una reacción de sustitución, por ejemplo, ácido p-toluenosulfónico, en presencia de un disolvente adecuado, por ejemplo, diclorometano. Las condiciones adecuadas son las siguientes:

1)  $R_2$ -H, ácido p-toluenosulfónico- $H_2O$ , diclorometano, temperatura ambiente

2)  $R_2$ -H, ácido trifluoroacético,  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ , diclorometano (véase el documento EP1212331B1)

3)  $R_2$ -H,  $LiClO_4$  5 M,  $Et_2O$  (0,1 M), temperatura ambiente (véase el documento TL, 1995, 43, 7823)

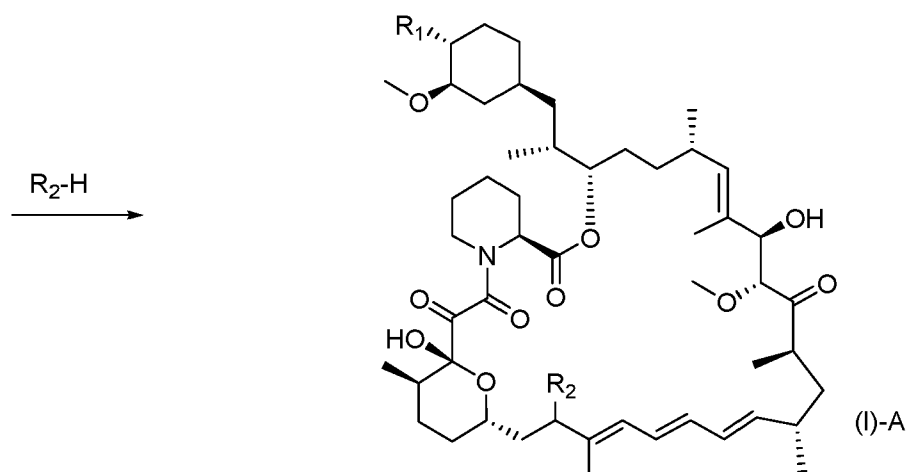
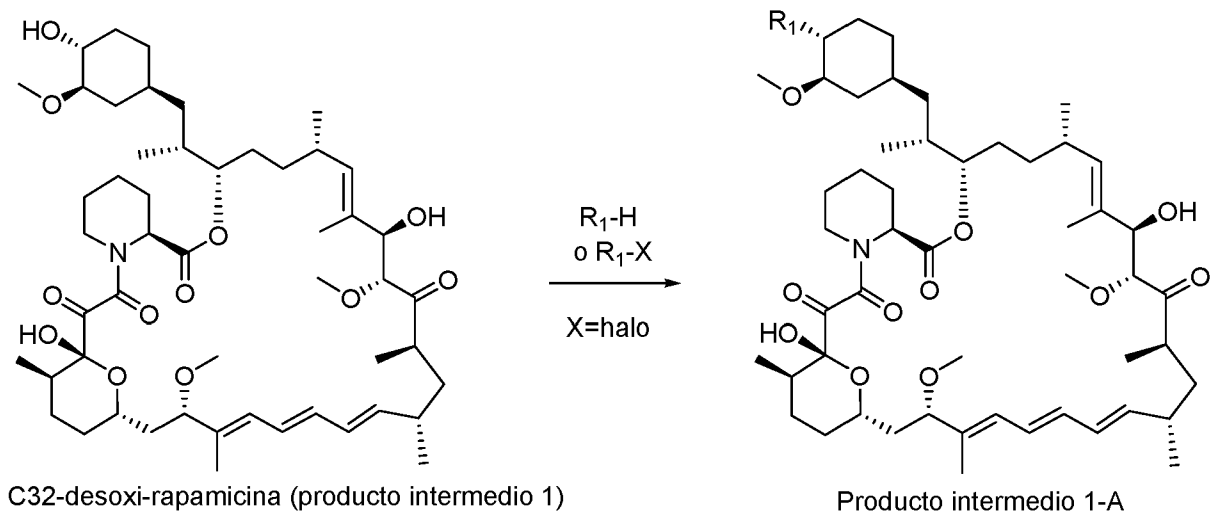
4)  $R_2$ -H,  $Cp_2HfCl_2$ - $AgClO_4$  (catalizador de Suzuki), TA de  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ , diclorometano, temperatura ambiente (véase el documento TL, 1995, 43, 7823)

5)  $R_2$ -H,  $BF_3 \cdot OEt_2$  o  $Zn(OTf)_2$ , THF,  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  (véase el documento TL, 1994, 37, 6835)

6)  $R_2$ -H,  $ZnCl_2$ , diclorometano,  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  (véase el documento JOC, 1994, 59, 6512).

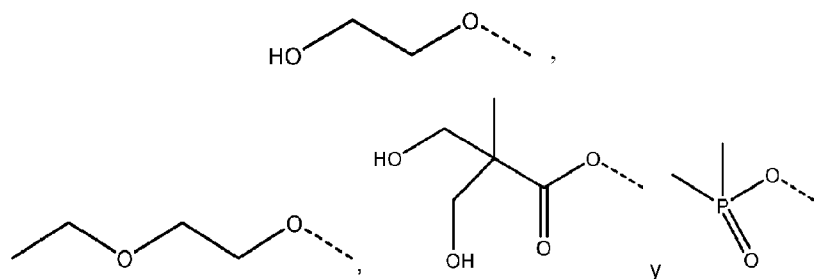
La C32-desoxi-rapamicina usada como material de partida puede prepararse mediante métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, tal como se describe en la publicación de patente estadounidense n.º 005985890 o en el documento WO2007085400.

## Esquema 2:



Un compuesto de fórmula (I)-A, en donde  $R_1$  se selecciona de

5

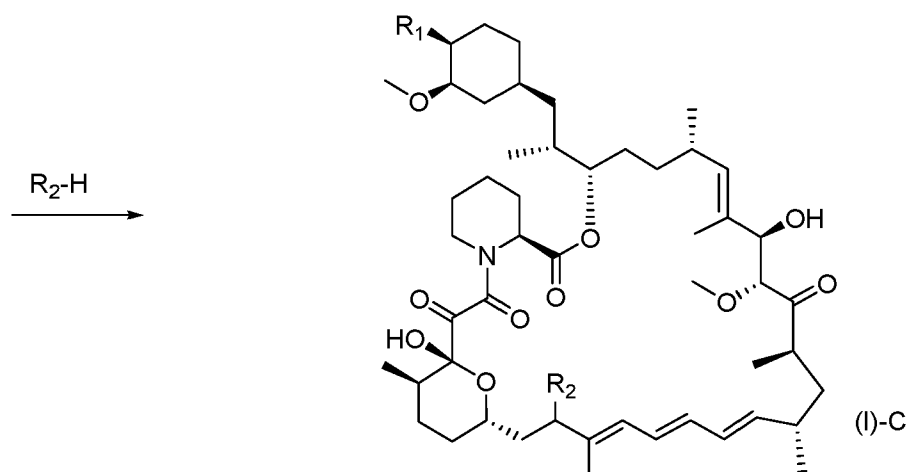
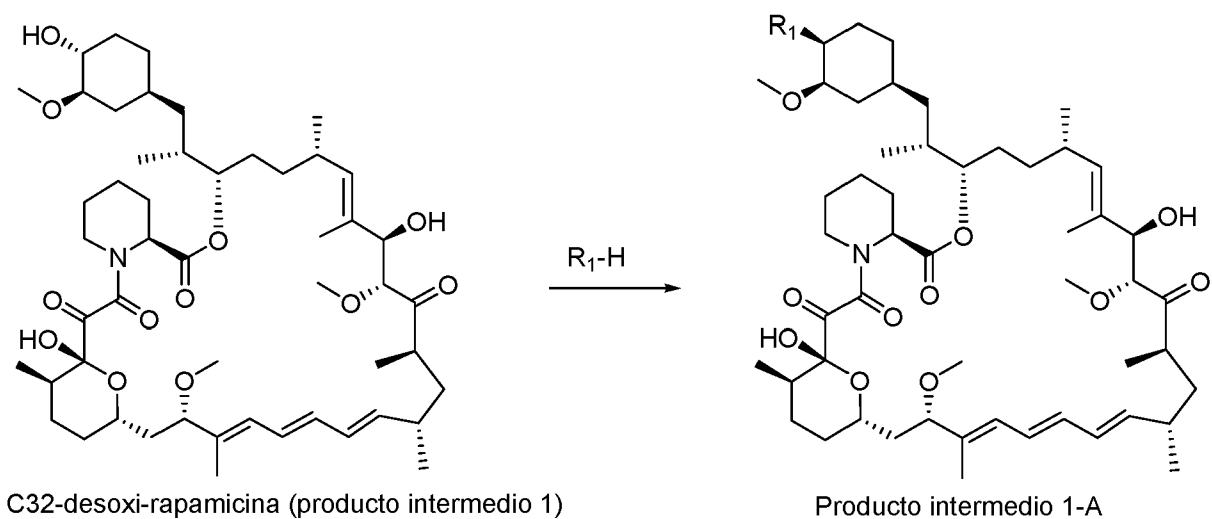


10

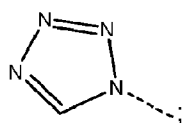
y  $R_2$  es tal como se define en la fórmula (I), puede obtenerse haciendo reaccionar el producto intermedio 1 con  $R_1$ -H o  $R_1$ -X seguido de una reacción con  $R_2$ -H. En una realización, el producto intermedio 1 se hace reaccionar con  $R_1$ -H o  $R_1$ -X en condiciones de alquilación, fosfinación o esterificación para proporcionar el producto intermedio 1-A. En una realización, el producto intermedio 1-A se hace reaccionar con  $R_2$ -H en condiciones de reacción de sustitución, por ejemplo, tal como se proporcionan en el presente documento, para proporcionar un compuesto de fórmula (I)-A.

15



**Esquema 3:**

Un compuesto de fórmula (I)-C, en donde  $R_1$  es



5

y  $R_2$  es tal como se define en la fórmula (I), puede obtenerse haciendo reaccionar el producto intermedio 1 con  $R_1$ -H seguido de una reacción con  $R_2$ -H. En una realización, el producto intermedio 1 se activa y se hace reaccionar en condiciones nucleófilas para proporcionar el producto intermedio 1-A. En una realización, el producto intermedio 1-A se hace reaccionar con  $R_2$ -H en condiciones de reacción de sustitución, por ejemplo, tal como se proporcionan en el presente documento, para proporcionar el compuesto de fórmula (I)-C.

10

Las reacciones pueden efectuarse según métodos convencionales, por ejemplo, tal como se describe en los ejemplos.

15

El tratamiento final de las mezclas de reacción y la purificación de los compuestos que pueden obtenerse así pueden llevarse a cabo según procedimientos conocidos.

Pueden producirse sales de adición de ácido a partir de las bases libres de una manera conocida, y viceversa.

20

Los materiales de partida pueden ser conocidos o prepararse según procedimientos convencionales partiendo de compuestos conocidos, por ejemplo, tal como se describe en los ejemplos.

En otro aspecto, la divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la divulgación, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un portador farmacéuticamente aceptable. En una realización adicional, la composición comprende al menos dos portadores farmacéuticamente aceptables, tales como los descritos en el presente documento. La composición farmacéutica puede formularse para vías de administración particulares tales como administración oral, administración parenteral (por ejemplo, mediante inyección, infusión, administración transdérmica o tópica) y administración rectal. La administración tópica también puede referirse a inhalación o aplicación intranasal. Las composiciones farmacéuticas de la divulgación pueden constituirse en una forma sólida (incluyendo, sin limitación, cápsulas, comprimidos, pastillas, gránulos, polvos o supositorios) o en una forma líquida (incluyendo, sin limitación, disoluciones, suspensiones o emulsiones). Los comprimidos pueden dotarse de o bien un recubrimiento de película o bien un recubrimiento entérico según métodos conocidos en la técnica. Normalmente, las composiciones farmacéuticas son comprimidos o cápsulas de gelatina que comprenden el principio activo junto con uno o más de:

a) diluyentes, por ejemplo, lactosa, dextrosa, sacarosa, manitol, sorbitol, celulosa y/o glicina;

b) lubricantes, por ejemplo, sílice, talco, ácido esteárico, su sal de magnesio o calcio y/o polietilenglicol; para comprimidos también

c) aglutinantes, por ejemplo, silicato de magnesio-aluminio, pasta de almidón, gelatina, tragacanto, metilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio y/o polivinilpirrolidona; si se desea

d) disgregantes, por ejemplo, almidones, agar, ácido alginico o su sal de sodio o mezclas efervescentes; y

e) absorbentes, colorantes, aromas y edulcorantes.

El compuesto de la divulgación, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, también puede estar en forma de una endoprótesis vascular de elución de fármaco, es decir, una endoprótesis vascular recubierta con un compuesto de la divulgación, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Los compuestos de la divulgación en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable muestran valiosas propiedades farmacológicas, por ejemplo, propiedades de modulación de la ruta de mTOR, por ejemplo, tal como indican las pruebas *in vitro* e *in vivo* proporcionadas en las siguientes secciones, y, por tanto, están indicados para terapia o para su uso como productos químicos de investigación, por ejemplo, compuestos herramienta.

Los métodos para medir la potencia de los inhibidores de mTORC1 se conocen bien en la técnica. Generalmente, la potencia se determina mediante los valores de  $CI_{50}$ , evaluados determinando la inhibición de la fosforilación de S6, que se encuentra en la ruta de señalización de mTORC1. Los valores de  $CI_{50}$  de los inhibidores de mTORC1 se comparan con el valor de  $CI_{50}$  de la rapamicina en el mismo ensayo. Un inhibidor de mTORC1 que tenga un valor de  $CI_{50}$  dentro de 100 veces el de la  $CI_{50}$  de la rapamicina en el mismo ensayo es adecuado para su uso en la divulgación, lo que significa que un rapálogo menos potente todavía puede ser deseable para lograr más fácilmente sólo una inhibición parcial de la actividad de mTORC1 en entornos particulares y para mejorar la capacidad para medir la molécula en el torrente circulatorio (puesto que son necesarias mayores concentraciones para una molécula menos potente), lo que sería útil en el ajuste fino de la relación concentración en sangre/eficacia.

Los ensayos adecuados para medir la potencia de los inhibidores de mTOR se describen, por ejemplo, en la patente estadounidense n.º 5.665.772, tal como se mide mediante el valor de  $CI_{50}$  en un ensayo MLR (reacción de linfocitos mixtos) y/o en un ensayo de proliferación mediada dependiente de IL-6 (interleucina-6).

El ensayo MLR normalmente se lleva a cabo de la siguiente manera: se incuban conjuntamente células de bazo ( $0,5 \times 10^6$ ) de ratones Balb/c (hembras, 8-10 semanas) durante 5 días con  $0,5 \times 10^6$  células de bazo irradiadas (2000 rad) o tratadas con mitomicina C de ratones CBA (hembras, 8-10 semanas). Las células alogénicas irradiadas inducen una respuesta proliferativa en las células de bazo de Balb/c, que puede medirse mediante la incorporación de precursores marcados en el ADN. Puesto que las células estimuladoras se irradian (o se tratan con mitomicina C), no responden a las células de Balb/c mediante proliferación pero sí conservan su antigenicidad. El efecto antiproliferativo de los compuestos sometidos a ensayo sobre las células de Balb/c se mide en diversas diluciones y se calcula la concentración que da como resultado una inhibición del 50 % de la proliferación celular ( $CI_{50}$ ). La capacidad inhibidora de la muestra de prueba puede compararse con la rapamicina y expresarse como una  $CI_{50}$  relativa (es decir,  $CI_{50}$  de la muestra de prueba/ $CI_{50}$  de la rapamicina).

El ensayo de proliferación mediada por IL-6 normalmente se lleva a cabo de la siguiente manera: el ensayo usa una línea celular de hibridoma de ratón dependiente de interleucina-6 (IL-6) y se realiza en placas de microtitulación de 96 pocillos. Se cultivan 5000 células/pocillo en medio libre de suero (tal como describen M. H. Schreier y R. Tees en *Immunological Methods*, I. Lefkovits and B. Pernis, eds., Academic Press 1981. Vol. II, págs. 263-275), complementado con 1 ng de IL-6 recombinante/ml. Después de una incubación de 66 horas en

ausencia o presencia de una muestra de prueba, las células se someten a un pulso con 1  $\mu$ Ci de (3-H)-timidina/pocillo durante otras 6 horas, se recogen y se cuentan mediante centelleo líquido. La incorporación de (3-H)-timidina al ADN se correlaciona con el aumento en el número de células y, por tanto, es una medida de la proliferación celular. Una serie de diluciones de la muestra de prueba permite calcular la concentración que da como resultado una inhibición del 50 % de la proliferación celular ( $CI_{50}$ ). La capacidad inhibidora de la muestra de prueba puede compararse con la rapamicina y expresarse como una  $CI_{50}$  relativa (es decir,  $CI_{50}$  de la muestra de prueba/ $CI_{50}$  de la rapamicina).

La potencia de los inhibidores de mTOR también puede determinarse usando un ensayo basado en células MEF TSC1-/- . Las células MEF TSC1-/- son fibroblastos embrionarios de ratón deficientes en la proteína de la esclerosis tuberosa, TSC1, que regula negativamente la señalización de mTORC1. Por tanto, la deficiencia de TSC1 induce la activación constitutiva de mTORC1, lo que da como resultado la fosforilación (activación) de las proteínas aguas abajo en las rutas de señalización de mTORC1. Este ensayo basado en células se usa para medir la inhibición (desfosforilación) de los componentes S6 y 4EBP1 de la señalización de mTORC1, mediante rapálogos u otros inhibidores de mTOR.

El ensayo normalmente se lleva a cabo de la siguiente manera: las células MEF TSC1-/- se siembran en placas Griener de fondo transparente de 384 pocillos recubiertas con poli-D-lisina y se incuban durante la noche a 37 °C, el 5 % de CO<sub>2</sub>. Al día siguiente, las células se lavan 8 veces con disolución "Hard starve" (1 l de DPBS + 1 g de D-(+)-glucosa + 10 ml de bicarbonato de sodio al 7,5 % + 20 ml de HEPES 1 M) y se incuban durante 2 horas adicionales en la misma disolución. A continuación, las células se tratan con compuestos con concentraciones decrecientes (8 puntos a diluciones de 3,16 veces) y se incuban durante 2 horas a 37 °C, el 5 % de CO<sub>2</sub>. Las células se fijan con paraformaldehído al 4% durante 30 min y se lavan 5 veces con TBS-EDTA seguido de inmunotinción con anticuerpos marcados con etiqueta fluorescente contra pS6 y p4EBP1. Los núcleos se visualizan con tinción de Hoechst. Se obtienen imágenes de las células usando los canales de fluorescencia respectivos y la potencia de los inhibidores de mTOR se define por la  $CI_{50}$  (nM) de pS6.

### Enfermedades y trastornos

Los compuestos de la divulgación pueden ser útiles en la prevención o el tratamiento de una indicación o afección prodrómica seleccionada de:

- rechazo de trasplante de órgano o tejido agudo o crónico;
- vasculopatías por trasplante;
- proliferación y migración de células de músculo liso que conducen a engrosamiento de la íntima de los vasos, obstrucción de los vasos sanguíneos, aterosclerosis coronaria obstructiva, reestenosis;
- enfermedades autoinmunitarias y afecciones inflamatorias;
- tratamiento y prevención de asma;
- resistencia a múltiples fármacos (MDR);
- infecciones fúngicas;
- inflamación;
- infección;
- enfermedades relacionadas con la edad;
- enfermedades neurodegenerativas;
- trastornos proliferativos, en particular cáncer;
- convulsiones y trastornos relacionados con convulsiones;
- miopatía mitocondrial y estrés mitocondrial;
- afecciones que pueden tratarse que se ha demostrado que aumentan la probabilidad de enfermedades relacionadas con la edad, tales como entornos en los que hay un aumento en las citocinas inductoras de senescencia (por ejemplo, IL-6);
- trastornos que incluyen el proceso de fibrosis y/o inflamación, por ejemplo, trastornos hepáticos y renales.

- Los ejemplos incluyen fibrosis hepática, que se produce en hepatopatía de estadio terminal; cirrosis hepática; insuficiencia hepática debida a toxicidad; esteatosis hepática no asociada al alcohol o NASH; y esteatosis asociada al alcohol. Otro ejemplo es fibrosis renal, que se produce como resultado de lesión renal aguda, que conduce a enfermedad renal crónica. Además, la nefropatía diabética puede inducir fibrosis renal e inflamación. A menudo, la enfermedad renal provoca insuficiencia cardíaca, como resultado de un aumento en la tensión arterial; ésta también puede estar asociada con fibrosis cardíaca. Los rapálogos presentan eficacia preclínica en el tratamiento de modelos de insuficiencia cardíaca y son eficaces en la disminución de fibrosis hepática en pacientes que se han sometido a trasplantes de hígado (Buss, S.J. *et al.* Beneficial effects of Mammalian target of rapamycin inhibition on left ventricular remodeling after myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* (2009) 54(25): 2435-46; Buss, S.J. *et al.* Augmentation of autophagy by mTOR-inhibition in myocardial infarction: When size matters. *Autophagy.* (2010) 6(2):304-6; Villamil, F.G. *et al.* Fibrosis progression in maintenance liver transplant patients with hepatitis C recurrence: a randomized study of everolimus vs. calcineurin inhibitors. *Liver Int.* (2014) 34(10):1513-21).
- El tratamiento de rechazo de trasplante de órgano o tejido agudo o crónico incluye el tratamiento de receptores de trasplantes de, por ejemplo, corazón, pulmón, corazón-pulmón combinado, hígado, riñón, páncreas, piel o córnea. Los compuestos de la divulgación también están indicados para la prevención de la enfermedad de injerto contra huésped, tal como después de un trasplante de médula ósea.
- Las vasculopatías por trasplante incluyen aterosclerosis.
- Las enfermedades autoinmunitarias y las afecciones inflamatorias incluyen, en particular, afecciones inflamatorias con una etiología que incluye un componente autoinmunitario tales como artritis (por ejemplo, artritis reumatoide, artritis crónica progresiva y artritis deformante) y enfermedades reumáticas. Las enfermedades autoinmunitarias específicas para las que pueden emplearse los compuestos de fórmula (I), fórmula (I)-A, fórmula (I)-B y fórmula (I)-C incluyen trastornos hematológicos autoinmunitarios (incluyendo, por ejemplo, anemia hemolítica, anemia aplásica, anemia pura de glóbulos rojos y trombocitopenia idiopática), lupus eritematoso sistémico, policondritis, esclerodoma, granulomatosis de Wegener, dermatomiositis, hepatitis activa crónica, miastenia grave, psoriasis, síndrome de Steven-Johnson, esteatorrea idiopática, enfermedad intestinal inflamatoria autoinmunitaria (incluyendo, por ejemplo, colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn), oftalmopatía endocrina, enfermedad de Graves, sarcoidosis, esclerosis múltiple, cirrosis biliar primaria, diabetes juvenil (diabetes mellitus tipo I), uveítis (anterior y posterior), queratoconjuntivitis seca y queratoconjuntivitis primaveral, fibrosis pulmonar intersticial, artritis psoriásica, glomerulonefritis (con y sin síndrome nefrótico, por ejemplo, incluyendo síndrome nefrótico idiopático o nefropatía de cambios mínimos) y dermatomiositis juvenil.
- El tratamiento de resistencia a múltiples fármacos (MDR) incluye potenciar la eficacia de otros agentes quimioterápicos en el tratamiento y control de afecciones resistentes a múltiples fármacos tales como cáncer resistente a múltiples fármacos o SIDA resistente a múltiples fármacos. La MDR es particularmente problemática en pacientes con cáncer y pacientes con SIDA que no responderán a la quimioterapia convencional porque Pgp bombea la medicación fuera de las células.
- La infección incluye infección por patógenos que tienen Mip o factores similares a Mip.
- Las enfermedades relacionadas con la edad incluyen: sarcopenia, atrofia cutánea, hemangiomas capilares, queratosis seborreicas, atrofia cerebral también denominada demencia, aterosclerosis, arterioesclerosis, enfisema pulmonar, osteoporosis, artrosis, tensión arterial elevada, disfunción eréctil, cataratas, degeneración macular, glaucoma, accidente cerebrovascular, enfermedad cerebrovascular (accidentes cerebrovasculares), enfermedad renal crónica, enfermedad renal asociada a la diabetes, disfunción hepática, fibrosis hepática, hepatitis autoinmunitaria, hiperplasia endometrial, disfunción metabólica, enfermedad renovascular, hipoacusia, incapacidad de movilidad (por ejemplo, debilidad), deterioro cognitivo, rigidez de tendones, disfunción cardíaca tal como hipertrofia cardíaca y/o disfunción sistólica y/o diastólica y/o hipertensión, disfunción cardíaca que da como resultado una disminución en la fracción de expulsión, inmunosenescencia, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, cáncer, inmunosenescencia que conduce a cáncer debido a una disminución en la inmunovigilancia, infecciones debidas a una disminución en la función inmunitaria, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), obesidad, ageusia, anosmia, artritis, y diabetes tipo II incluyendo complicaciones provenientes de la diabetes, tales como insuficiencia renal, amaurosis y neuropatía.
- Las enfermedades neurodegenerativas incluyen enfermedad de Huntington, enfermedad de Parkinson, ataxia espinocerebelar tipo 3, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de las motoneuronas y neuropatía periférica.
- Los trastornos proliferativos incluyen cáncer. Tales afecciones incluyen las enumeradas en la patente estadounidense n.º 9.669.032, en particular cáncer renal, carcinoma de células renales, cáncer colorrectal, sarcoma uterino, cáncer uterino endometrial, cáncer endometrial, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de cuello uterino, cáncer gástrico, fibrosarcoma, cáncer de páncreas, cáncer de hígado, melanoma, leucemia, mieloma múltiple, cáncer de nasofaringe, cáncer de próstata, cáncer de pulmón, glioblastoma, cáncer de vejiga, mesotelioma, cáncer de cabeza, rabdomiosarcoma, sarcoma, linfoma o cáncer de cuello.

Las convulsiones y los trastornos relacionados con convulsiones incluyen síndrome de West, displasia cortical focal (DCF), complejo de esclerosis tuberosa (CET), epilepsia de ausencia infantil, epilepsias focales benignas de la infancia, epilepsia mioclónica juvenil (EMJ), epilepsia del lóbulo temporal, epilepsia del lóbulo frontal, epilepsia resistente, síndrome de Lennox-Gastaut, epilepsia del lóbulo occipital lobe, síndrome de Proteus, síndrome de hemimegalencefalia (HMEG), síndrome de megalencefalia (MEG), megalencefalia-malformación capilar (MCAP) y síndrome de megalencefalia-polimicrogiria-polidactilia-hidrocefalo (MPPH).

La miopatía mitocondrial y el estrés mitocondrial son trastornos mitocondriales tal como se describen en Chinnery, P.F. (2015); EMBO Mol. Med. 7, 1503-1512; Koopman, W.J. *et al.*, (2016); EMBO Mol. Med. 8, 311-327 y Young, M.J. y Yound y Copeland, W.C. (2016); Curr. Opin. Genet. Dev. 38, 52-62.

Las afecciones que pueden tratarse que se ha demostrado que aumentan la probabilidad de enfermedades relacionadas con la edad incluyen senescencia, por ejemplo, inmunosenescencia. Ésta se diagnostica por (i) un aumento en las citocinas circulantes, tales como IL-6, pero también por (ii) células senescentes encontradas en músculo, riñón, hígado, cerebro, neuronas, hígado, páncreas o corazón; o también (iii) un deterioro en la eficiencia de reparación del ADN, que puede mostrarse por un aumento en la transcripción de elementos repetitivos, incluyendo genes codificados por transposones. Para más información, véase Baker, D. J. *et al*, Nature, 2016; 530(7589):184-9. doi: 10.1038/nature16932. Publicación electrónica del 3 de febrero de 2016.

### Métodos de tratamiento y usos

La divulgación proporciona el uso de un compuesto de la divulgación para su uso en terapia (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento). En una realización adicional, la terapia se selecciona de una enfermedad o un trastorno o una comorbilidad que puede tratarse mediante la modulación de la ruta de mTOR. En una realización, la enfermedad se selecciona de la lista mencionada anteriormente, en una realización una enfermedad relacionada con la edad, tal como morbilidad relacionada con infección de las vías respiratorias en ancianos.

La divulgación proporciona un compuesto de la divulgación para su uso en terapia (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento). En una realización adicional, la terapia se selecciona de una enfermedad que puede tratarse mediante la modulación de la ruta de mTOR. En una realización, la enfermedad se selecciona de la lista mencionada anteriormente, en una realización una enfermedad relacionada con la edad, tal como morbilidad relacionada con infección de las vías respiratorias en ancianos.

La divulgación proporciona el uso de un compuesto de la divulgación para la fabricación de un medicamento (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento). En una realización adicional, el medicamento es para la prevención o el tratamiento de una enfermedad que puede tratarse mediante la modulación de la ruta de mTOR. En una realización, la enfermedad se selecciona de la lista mencionada anteriormente, en una realización una enfermedad relacionada con la edad, tal como morbilidad relacionada con infección de las vías respiratorias en ancianos.

En un aspecto (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento), la divulgación proporciona un método de tratamiento de un trastorno o una enfermedad mediado por la ruta de mTOR en un sujeto que lo necesita, comprendiendo el método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A, fórmula (I)-B y fórmula (I)-C o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A, fórmula (I)-B y fórmula (I)-C o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una combinación farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A, fórmula (I)-B y fórmula (I)-C o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En un aspecto (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento), la divulgación proporciona un método de tratamiento de una enfermedad o un trastorno en un sujeto, en donde el tejido u órgano objetivo asociado con la patología de la enfermedad o el trastorno tiene niveles de FKBP12 suficientes para inhibir mTORC1, comprendiendo el método administrar al sujeto que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A, fórmula (I)-B y fórmula (I)-C o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A, fórmula (I)-B y fórmula (I)-C o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una combinación farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A, fórmula (I)-B y fórmula (I)-C o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En un aspecto (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento), la divulgación proporciona un método de tratamiento de una enfermedad o un trastorno en un sujeto que tiene, o se ha determinado previamente que tiene, niveles de FKBP12 suficientes para inhibir mTORC1, comprendiendo el método administrar al sujeto que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A, fórmula (I)-B y fórmula (I)-C o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, una

composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A, fórmula (I)-B y fórmula (I)-C o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una combinación farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A, fórmula (I)-B y fórmula (I)-C o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5

En una realización, la enfermedad o el trastorno se selecciona de sarcopenia, atrofia cutánea, hemangiomas capilares, queratosis seborreicas, atrofia cerebral, aterosclerosis, arterioesclerosis, enfisema pulmonar, osteoporosis, artrosis, tensión arterial elevada, disfunción eréctil, cataratas, degeneración macular, glaucoma, accidente cerebrovascular, enfermedad cerebrovascular (accidentes cerebrovasculares), enfermedad renal crónica, enfermedad renal asociada a la diabetes, disfunción hepática, fibrosis hepática, hepatitis autoinmunitaria, hiperplasia endometrial, disfunción metabólica, enfermedad renovascular, hipoacusia, incapacidad de movilidad, deterioro cognitivo, rigidez de tendones, disfunción cardíaca tal como hipertrofia cardíaca y/o disfunción sistólica y/o diastólica y/o hipertensión, disfunción cardíaca que da como resultado una disminución en la fracción de expulsión, inmunosenescencia, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, cáncer, inmunosenescencia que conduce a cáncer debido a una disminución en la inmunovigilancia, infecciones debidas a una disminución en la función inmunitaria, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), obesidad, ageusia, anosmia, artritis, y diabetes tipo II incluyendo complicaciones provenientes de la diabetes, tales como insuficiencia renal, amaurosis y neuropatía.

20

En una realización, el trastorno es fibrosis hepática.

En un aspecto (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento), la divulgación proporciona un método de tratamiento de una enfermedad o un trastorno en un sujeto que lo necesita, comprendiendo el método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A, fórmula (I)-B y fórmula (I)-C o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A, fórmula (I)-B y fórmula (I)-C o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una combinación farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A, fórmula (I)-B y fórmula (I)-C o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde el trastorno o la enfermedad se selecciona de:

30

- rechazo de trasplante de órgano o tejido agudo o crónico;
- vasculopatías por trasplante;

35

- proliferación y migración de células de músculo liso que conducen a engrosamiento de la íntima de los vasos, obstrucción de los vasos sanguíneos, aterosclerosis coronaria obstructiva, reestenosis;
- enfermedades autoinmunitarias y afecciones inflamatorias;

40

- tratamiento y prevención de asma;
- resistencia a múltiples fármacos (MDR);

45

- infecciones fúngicas;
- inflamación;
- infección;

50

- enfermedades relacionadas con la edad;
- enfermedades neurodegenerativas;
- trastornos proliferativos, en particular cáncer;

55

- convulsiones y trastornos relacionados con convulsiones; y
- miopatía mitocondrial y estrés mitocondrial.

60

En una realización, el trastorno es un trastorno que incluye el proceso de fibrosis y/o inflamación.

En una realización, el trastorno se selecciona de trastornos hepáticos y renales.

65

En una realización, el trastorno hepático se selecciona de: fibrosis hepática, que se produce en hepatopatía de estadio terminal; cirrosis hepática; insuficiencia hepática debida a toxicidad; esteatosis hepática no asociada al alcohol o NASH; y esteatosis asociada al alcohol.

En una realización, el trastorno renal es fibrosis renal.

En una realización, la fibrosis renal se produce como resultado de lesión renal aguda.

5

En una realización, el trastorno renal es trastorno renal crónico.

En una realización, el trastorno renal es nefropatía diabética.

10 En un aspecto (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento), la divulgación proporciona un método de tratamiento de un trastorno o una enfermedad relacionado con la edad en un sujeto que lo necesita, comprendiendo el método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A, fórmula (I)-B y fórmula (I)-C o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A, fórmula (I)-B y  
15 fórmula (I)-C o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una combinación farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A, fórmula (I)-B y fórmula (I)-C o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde el trastorno o la enfermedad se selecciona de: sarcopenia, atrofia cutánea, hemangiomas capilares, queratosis seborreicas, atrofia cerebral, aterosclerosis, arterioesclerosis, enfisema pulmonar, osteoporosis, artrosis, tensión arterial elevada, disfunción eréctil, cataratas, degeneración macular, glaucoma,  
20 accidente cerebrovascular, enfermedad cerebrovascular (accidentes cerebrovasculares), enfermedad renal crónica, enfermedad renal asociada a la diabetes, disfunción hepática, fibrosis hepática, hepatitis autoinmunitaria, hiperplasia endometrial, disfunción metabólica, enfermedad renovascular, hipoacusia, incapacidad de movilidad, deterioro cognitivo, rigidez de tendones, disfunción cardíaca tal como hipertrofia cardíaca y/o disfunción sistólica y/o diastólica y/o hipertensión, disfunción cardíaca que da como resultado una  
25 disminución en la fracción de expulsión, inmunosenescencia, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, cáncer, inmunosenescencia que conduce a cáncer debido a una disminución en la inmunovigilancia, infecciones debidas a una disminución en la función inmunitaria, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), obesidad, ageusia, anosmia, artritis, y diabetes tipo II incluyendo complicaciones provenientes de la diabetes, tales como insuficiencia renal, amaurosis y neuropatía.

30

En un aspecto (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento), la divulgación proporciona un método de tratamiento de cáncer en un sujeto, comprendiendo el método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A, fórmula (I)-B y fórmula (I)-C o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, una composición farmacéutica que comprende un compuesto  
35 de fórmula (I), fórmula (I)-A, fórmula (I)-B y fórmula (I)-C o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una combinación farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A, fórmula (I)-B y fórmula (I)-C o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

35

En una realización, el método comprende además un inhibidor de PD-1/PDL-1.

40

En una realización, el cáncer se selecciona de cáncer renal, carcinoma de células renales, cáncer colorrectal, sarcoma uterino, cáncer uterino endometrial, cáncer endometrial, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de cuello uterino, cáncer gástrico, fibrosarcoma, cáncer de páncreas, cáncer de hígado, melanoma, leucemia, mieloma múltiple, cáncer de nasofaringe, cáncer de próstata, cáncer de pulmón, glioblastoma, cáncer de vejiga,  
45 mesotelioma, cáncer de cabeza, rabdomiosarcoma, sarcoma, linfoma y cáncer de cuello.

45

En un aspecto, la divulgación proporciona un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A, fórmula (I)-B y fórmula (I)-C o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, excluyendo aquellos indicados como descritos pero no reivindicados específicamente en el presente documento, una composición farmacéutica que comprende un  
50 compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A, fórmula (I)-B y fórmula (I)-C o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una combinación farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A, fórmula (I)-B y fórmula (I)-C o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso como medicamento.

50

En un aspecto, la divulgación proporciona un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A, fórmula (I)-B y fórmula (I)-C o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, excluyendo aquellos indicados como descritos pero no reivindicados específicamente en el presente documento, una composición farmacéutica que comprende un  
55 compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A, fórmula (I)-B y fórmula (I)-C o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una combinación farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A, fórmula (I)-B y fórmula (I)-C o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en la prevención o el tratamiento  
60 de un trastorno o una enfermedad mediado por la ruta de mTOR.

60

En un aspecto, la divulgación proporciona un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A, fórmula (I)-B y fórmula (I)-C o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, excluyendo aquellos indicados como descritos pero no reivindicados específicamente en el presente documento, una composición farmacéutica que comprende un  
65 compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A, fórmula (I)-B y fórmula (I)-C o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una combinación farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A, fórmula (I)-B

65

y fórmula (I)-C o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en la prevención o el tratamiento de un trastorno o una enfermedad seleccionado de:

- 5 - rechazo de trasplante de órgano o tejido agudo o crónico;
- vasculopatías por trasplante;
- proliferación y migración de células de músculo liso que conducen a engrosamiento de la íntima de los vasos, obstrucción de los vasos sanguíneos, aterosclerosis coronaria obstructiva, reestenosis;
- 10 - enfermedades autoinmunitarias y afecciones inflamatorias;
- tratamiento y prevención de asma;
- 15 - resistencia a múltiples fármacos (MDR);
- infecciones fúngicas;
- inflamación;
- 20 - infección;
- enfermedades relacionadas con la edad;
- 25 - enfermedades neurodegenerativas;
- trastornos proliferativos, en particular cáncer;
- convulsiones y trastornos relacionados con convulsiones;
- 30 - miopatía mitocondrial y estrés mitocondrial; y
- afecciones que pueden tratarse que se ha demostrado que aumentan la probabilidad de enfermedades relacionadas con la edad, tales como entornos en los que hay un aumento en las citocinas inductoras de senescencia.
- 35

En un aspecto, la divulgación proporciona un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A, fórmula (I)-B y fórmula (I)-C o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, excluyendo aquellos indicados como descritos pero no reivindicados específicamente en el presente documento, una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A, fórmula (I)-B y fórmula (I)-C o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una combinación farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A, fórmula (I)-B y fórmula (I)-C o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en la prevención o el tratamiento de un trastorno o una enfermedad que incluye el proceso de fibrosis y/o inflamación.

45 En una realización, el trastorno se selecciona de trastornos hepáticos y renales.

En una realización, el trastorno hepático se selecciona de: fibrosis hepática, que se produce en hepatopatía de estadio terminal; cirrosis hepática; insuficiencia hepática debida a toxicidad; esteatosis hepática no asociada al alcohol o NASH; y esteatosis asociada al alcohol.

50 En una realización, el trastorno renal es fibrosis renal, que se produce como resultado de lesión renal aguda.

En una realización, el trastorno renal es trastorno renal crónico.

55 En una realización, el trastorno renal es nefropatía diabética.

En un aspecto, la divulgación proporciona un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A, fórmula (I)-B y fórmula (I)-C o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, excluyendo aquellos indicados como descritos pero no reivindicados específicamente en el presente documento, una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A, fórmula (I)-B y fórmula (I)-C o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una combinación farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A, fórmula (I)-B y fórmula (I)-C o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en la prevención o el tratamiento de un trastorno o una enfermedad relacionado con la edad seleccionado de sarcopenia, atrofia cutánea, hemangiomas capilares, queratosis seborreicas, atrofia cerebral también denominada demencia, aterosclerosis, arterioesclerosis, enfisema pulmonar, osteoporosis, artrosis, tensión arterial elevada, disfunción eréctil, cataratas, degeneración macular, glaucoma, accidente cerebrovascular, enfermedad cerebrovascular (accidentes

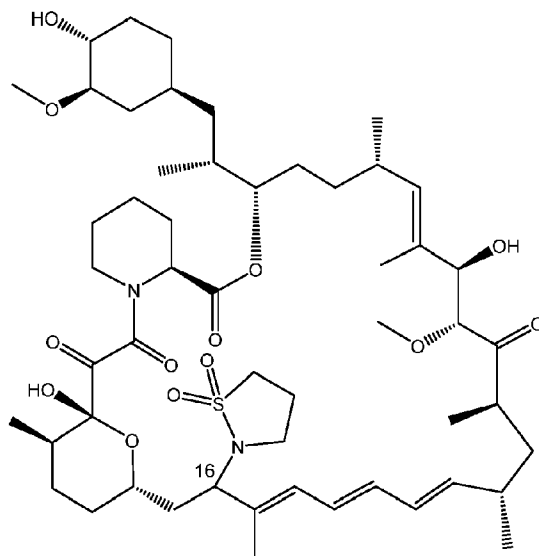


cerebrovasculares), enfermedad renal crónica, enfermedad renal asociada a la diabetes, disfunción hepática, fibrosis hepática, hepatitis autoinmunitaria, hiperplasia endometrial, disfunción metabólica, enfermedad renovascular, hipoacusia, incapacidad de movilidad (por ejemplo, debilidad), deterioro cognitivo, rigidez de tendones, disfunción cardíaca tal como hipertrofia cardíaca y/o disfunción sistólica y/o diastólica y/o hipertensión, disfunción cardíaca que da como resultado una disminución en la fracción de expulsión, inmunosenescencia, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, cáncer, inmunosenescencia que conduce a cáncer debido a una disminución en la inmunovigilancia, infecciones debidas a una disminución en la función inmunitaria, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), obesidad, ageusia, anosmia, artritis, y diabetes tipo II incluyendo complicaciones provenientes de la diabetes, tales como insuficiencia renal, amaurosis y neuropatía.

En un aspecto, la divulgación proporciona un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A, fórmula (I)-B y fórmula (I)-C o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, excluyendo aquellos indicados como descritos pero no reivindicados específicamente en el presente documento, una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A, fórmula (I)-B y fórmula (I)-C o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una combinación farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A, fórmula (I)-B y fórmula (I)-C o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en la prevención o el tratamiento de cáncer.

En un aspecto, la divulgación proporciona un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A, fórmula (I)-B y fórmula (I)-C o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, excluyendo aquellos indicados como descritos pero no reivindicados específicamente en el presente documento, una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A, fórmula (I)-B y fórmula (I)-C o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una combinación farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A, fórmula (I)-B y fórmula (I)-C o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de cáncer renal, carcinoma de células renales, cáncer colorrectal, sarcoma uterino, cáncer uterino endometrial, cáncer endometrial, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de cuello uterino, cáncer gástrico, fibrosarcoma, cáncer de páncreas, cáncer de hígado, melanoma, leucemia, mieloma múltiple, cáncer de nasofaringe, cáncer de próstata, cáncer de pulmón, glioblastoma, cáncer de vejiga, mesotelioma, cáncer de cabeza, rhabdomyosarcoma, sarcoma, linfoma o cáncer de cuello.

En una realización, la divulgación proporciona un compuesto



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de una enfermedad relacionada con la edad, tal como morbilidad relacionada con infección de las vías respiratorias en ancianos. En una realización, el compuesto es (S)-C16-(1,1-dioxidoisotiazolidin-2-il)-C32-desoxo-rapamicina (ejemplo 1) o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma. En una realización, el compuesto es (R)-C16-(1,1-dioxidoisotiazolidin-2-il)-C32-desoxo-rapamicina (ejemplo 2) o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

En una realización, el trastorno o la enfermedad se selecciona de:

- rechazo de trasplante de órgano o tejido agudo o crónico;
- vasculopatías por trasplante;
- proliferación y migración de células de músculo liso que conducen a engrosamiento de la íntima de los

vasos, obstrucción de los vasos sanguíneos, aterosclerosis coronaria obstructiva, reestenosis;

- enfermedades autoinmunitarias y afecciones inflamatorias;
- 5 - tratamiento y prevención de asma;
- resistencia a múltiples fármacos (MDR);
- infecciones fúngicas;
- 10 - inflamación;
- infección;
- 15 - enfermedades relacionadas con la edad;
- enfermedades neurodegenerativas;
- trastornos proliferativos, en particular cáncer;
- 20 - convulsiones y trastornos relacionados con convulsiones;
- miopatía mitocondrial y estrés mitocondrial; y
- 25 - afecciones que pueden tratarse que se ha demostrado que aumentan la probabilidad de enfermedades relacionadas con la edad, tales como entornos en los que hay un aumento en las citocinas inductoras de senescencia (por ejemplo, IL-6).

30 En una realización, el trastorno o la enfermedad es un trastorno o una enfermedad relacionado con la edad seleccionado de sarcopenia, atrofia cutánea, hemangiomas capilares, queratosis seborreicas, atrofia cerebral también denominada demencia, aterosclerosis, arterioesclerosis, enfisema pulmonar, osteoporosis, artrosis, tensión arterial elevada, disfunción eréctil, cataratas, degeneración macular, glaucoma, accidente cerebrovascular, enfermedad cerebrovascular (accidentes cerebrovasculares), enfermedad renal crónica, enfermedad renal asociada a la diabetes, disfunción hepática, fibrosis hepática, hepatitis autoinmunitaria, hiperplasia endometrial, disfunción metabólica, enfermedad renovascular, hipoacusia, incapacidad de movilidad (por ejemplo, debilidad), deterioro cognitivo, rigidez de tendones, disfunción cardíaca tal como hipertrofia cardíaca y/o disfunción sistólica y/o diastólica y/o hipertensión, disfunción cardíaca que da como resultado una disminución en la fracción de expulsión, inmunosenescencia, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, cáncer, inmunosenescencia que conduce a cáncer debido a una disminución en la inmunovigilancia, infecciones debidas a una disminución en la función inmunitaria, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), obesidad, ageusia, anosmia, artritis, y diabetes tipo II incluyendo complicaciones provenientes de la diabetes, tales como insuficiencia renal, amaurosis y neuropatía.

45 En una realización, el trastorno o la enfermedad incluye el proceso de fibrosis y/o inflamación, por ejemplo, trastornos hepáticos y renales. En una realización, el trastorno es un trastorno renal. En una realización, el trastorno es un trastorno hepático. Los ejemplos incluyen fibrosis hepática, que se produce en hepatopatía de estadio terminal; cirrosis hepática; insuficiencia hepática debida a toxicidad; esteatosis hepática no asociada al alcohol o NASH; y esteatosis asociada al alcohol. Otro ejemplo es fibrosis renal, que se produce como resultado de lesión renal aguda, que conduce a enfermedad renal crónica. Además, la nefropatía diabética puede inducir fibrosis renal e inflamación. A menudo, la enfermedad renal provoca insuficiencia cardíaca, como resultado de un aumento en la tensión arterial; ésta también puede estar asociada con fibrosis cardíaca. Los rapálogos presentan eficacia preclínica en el tratamiento de modelos de insuficiencia cardíaca y son eficaces en la disminución de fibrosis hepática en pacientes que se han sometido a trasplantes de hígado.

55 La dosificación terapéuticamente eficaz de un compuesto, la composición farmacéutica o las combinaciones de los mismos depende de la especie del sujeto, el peso corporal, la edad y la afección individual, el trastorno o la enfermedad o la gravedad del mismo que esté tratándose. Un médico, clínico o veterinario con experiencia habitual puede determinar fácilmente la cantidad eficaz de cada uno de los principios activos necesaria para prevenir, tratar o inhibir el progreso del trastorno o la enfermedad.

60 Las propiedades de dosificación citadas anteriormente pueden demostrarse mediante pruebas *in vitro* e *in vivo* usando ventajosamente mamíferos, por ejemplo, ratones, ratas, perros, monos u órganos, tejidos y preparaciones de los mismos aislados. Los compuestos de la divulgación pueden aplicarse *in vitro* en forma de disoluciones, por ejemplo, disoluciones acuosas, e *in vivo* por vía enteral, parenteral, ventajosamente intravenosa, por ejemplo, como suspensión o en disolución acuosa. La dosificación *in vitro* puede oscilar entre concentraciones de aproximadamente  $10^{-3}$  molar y  $10^{-9}$  molar. Una cantidad terapéuticamente eficaz *in vivo*

puede oscilar, dependiendo de la vía de administración, entre aproximadamente 0,1 y 500 mg/kg o entre aproximadamente 0,1 y 500 mg por sujeto.

El compuesto de la divulgación puede administrarse o bien simultáneamente con, o bien antes o después de, uno o más de otros agentes terapéuticos. El compuesto de la divulgación puede administrarse por separado, mediante la misma o diferente vía de administración, o junto en la misma composición farmacéutica que los otros agentes. Un agente terapéutico es, por ejemplo, un compuesto químico, péptido, anticuerpo, fragmento de anticuerpo o ácido nucleico que es terapéuticamente activo o potencia la actividad terapéutica cuando se administra a un paciente en combinación con un compuesto de la divulgación.

En una realización, la divulgación proporciona un producto que comprende un compuesto de la divulgación, excluyendo aquellos indicados como descritos pero no reivindicados específicamente en el presente documento, y al menos otro agente terapéutico como preparación combinada para su uso simultáneo, separado o secuencial en terapia. En una realización, la terapia es el tratamiento de una enfermedad o afección mediante la inhibición parcial o total de mTOR. Los productos proporcionados como preparación combinada incluyen una composición que comprende el compuesto de la divulgación y otro(s) agente(s) terapéutico(s) juntos en la misma composición farmacéutica, o el compuesto de la divulgación y otro(s) agente(s) terapéutico(s) en forma separada, por ejemplo, en forma de un kit.

En una realización, la divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la divulgación, excluyendo aquellos indicados como descritos, pero no reivindicados específicamente en el presente documento, y otro(s) agente(s) terapéutico(s). Opcionalmente, la composición farmacéutica puede comprender un portador farmacéuticamente aceptable, tal como se describió anteriormente.

En una realización, la divulgación proporciona un kit que comprende dos o más composiciones farmacéuticas separadas, al menos una de las cuales contiene un compuesto de la divulgación, excluyendo aquellos indicados como descritos pero no reivindicados específicamente. En una realización, el kit comprende medios para retener por separado dichas composiciones, tales como un recipiente, un frasco dividido o un envase de lámina de aluminio dividido. Un ejemplo de un kit de este tipo es un envase de tipo blíster, tal como el usado normalmente para el envasado de comprimidos, cápsulas y similares.

El kit de la divulgación puede usarse para administrar formas de dosificación diferentes, por ejemplo, oral y parenteral, para administrar las composiciones separadas a intervalos de dosificación diferentes, o para titular las composiciones separadas unas con respecto a otras. Para ayudar al cumplimiento, el kit de la divulgación comprende normalmente instrucciones para la administración.

En las terapias de combinación de la divulgación, el compuesto de la divulgación y el otro agente terapéutico pueden fabricarse y/o formularse por los mismos o diferentes fabricantes. Además, el compuesto de la divulgación y el otro agente terapéutico pueden combinarse juntos en una terapia de combinación: (i) antes de liberar el producto de combinación a los médicos (por ejemplo, en el caso de un kit que comprende el compuesto de la divulgación y otro agente terapéutico); (ii) por el propio médico (o bajo la supervisión del médico) poca antes de la administración; (iii) en el propio paciente, por ejemplo, durante la administración secuencial del compuesto de la divulgación y el otro agente terapéutico.

Por consiguiente, la divulgación proporciona el uso (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento) de un compuesto de la divulgación para prevenir o tratar una enfermedad o afección mediante la inhibición parcial o total de mTOR, en donde el medicamento se prepara para su administración con otro agente terapéutico. La divulgación también proporciona el uso (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento) de otro agente terapéutico para prevenir o tratar una enfermedad o afección mediada por la inhibición de mTOR, en donde el medicamento se administra con un compuesto de la divulgación.

La divulgación también proporciona un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A y fórmula (I)-B o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, excluyendo aquellos indicados como descritos pero no reivindicados específicamente en el presente documento, para su uso en un método de prevención o tratamiento de una enfermedad o afección mediada por la inhibición de mTOR, en donde el compuesto de la divulgación se prepara para su administración con otro agente terapéutico. La divulgación también proporciona otro agente terapéutico para su uso en un método de prevención o tratamiento de una enfermedad o afección mediada por la inhibición de mTOR, en donde el otro agente terapéutico se prepara para su administración con un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A y fórmula (I)-B o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, excluyendo aquellos indicados como descritos pero no reivindicados específicamente en el presente documento. La divulgación también proporciona un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A y fórmula (I)-B o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, excluyendo aquellos indicados como descritos pero no reivindicados específicamente en el presente documento, para su uso en un método de prevención o tratamiento de una enfermedad o afección mediada por la inhibición de mTOR, en donde el compuesto se administra con otro agente terapéutico. La divulgación también proporciona otro agente terapéutico para su uso en un método de prevención o tratamiento de una enfermedad o afección mediada por la inhibición de mTOR, en donde el otro agente terapéutico se administra con un

compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A y fórmula (I)-B o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, excluyendo aquellos indicados como descritos pero no reivindicados específicamente en el presente documento.

La divulgación también proporciona el uso (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento) de un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A y fórmula (I)-B o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para prevenir o tratar una enfermedad o afección mediada por mTOR, en donde el paciente se ha tratado previamente (por ejemplo, en el plazo de 24 horas) con otro agente terapéutico. La divulgación también proporciona el uso (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento) de otro agente terapéutico para prevenir o tratar una enfermedad o afección mediada por mTOR, en donde el paciente se ha tratado previamente (por ejemplo en el plazo de 24 horas) con un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A y fórmula (I)-B o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otro aspecto, la divulgación proporciona un uso (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento) de un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A y fórmula (I)-B o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para la fabricación de un medicamento.

En otro aspecto, la divulgación proporciona un uso (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento) de un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A y fórmula (I)-B o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para la fabricación de un medicamento para la prevención o el tratamiento de un trastorno o una enfermedad mediado por la ruta de mTOR.

En otro aspecto, la divulgación proporciona un uso (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento) de un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A y fórmula (I)-B o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para la fabricación de un medicamento para la prevención o el tratamiento de un trastorno o una enfermedad seleccionado de:

- rechazo de trasplante de órgano o tejido agudo o crónico;
- vasculopatías por trasplante;
- proliferación y migración de células de músculo liso que conducen a engrosamiento de la íntima de los vasos, obstrucción de los vasos sanguíneos, aterosclerosis coronaria obstructiva, reestenosis;
- enfermedades autoinmunitarias y afecciones inflamatorias;
- tratamiento y prevención de asma;
- resistencia a múltiples fármacos (MDR);
- infecciones fúngicas;
- inflamación;
- infección;
- enfermedades relacionadas con la edad;
- enfermedades neurodegenerativas;
- trastornos proliferativos, en particular cáncer;
- convulsiones y trastornos relacionados con convulsiones;
- miopatía mitocondrial y estrés mitocondrial; y
- afecciones que pueden tratarse que se ha demostrado que aumentan la probabilidad de enfermedades relacionadas con la edad, tales como entornos en los que hay un aumento en las citocinas inductoras de senescencia.

En otro aspecto (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento), la divulgación proporciona un uso de un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A y fórmula (I)-B o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para la fabricación de un medicamento para la prevención o el tratamiento de un trastorno o una enfermedad que incluye el proceso de fibrosis o inflamación.

En una realización, el trastorno se selecciona de trastornos hepáticos y renales.

En una realización, el trastorno hepático se selecciona de: fibrosis hepática, que se produce en hepatopatía de estadio terminal; cirrosis hepática; insuficiencia hepática debida a toxicidad; esteatosis hepática no asociada al alcohol o NASH; y esteatosis asociada al alcohol.

5 En una realización, el trastorno renal es fibrosis renal, que se produce como resultado de lesión renal aguda.

En una realización, el trastorno renal es trastorno renal crónico.

En una realización, el trastorno renal es nefropatía diabética.

10

En otro aspecto (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento), la divulgación proporciona un uso de un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A y fórmula (I)-B o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para la fabricación de un medicamento para la prevención o el tratamiento de un trastorno o una enfermedad relacionado con la edad seleccionado de sarcopenia, atrofia cutánea, hemangiomas capilares, queratosis seborreicas, atrofia cerebral también denominada demencia, aterosclerosis, arterioesclerosis, enfisema pulmonar, osteoporosis, artrosis, tensión arterial elevada, disfunción eréctil, cataratas, degeneración macular, glaucoma, accidente cerebrovascular, enfermedad cerebrovascular (accidentes cerebrovasculares), enfermedad renal crónica, enfermedad renal asociada a la diabetes, disfunción hepática, fibrosis hepática, hepatitis autoinmunitaria, hiperplasia endometrial, disfunción metabólica, enfermedad renovascular, hipoacusia, incapacidad de movilidad, deterioro cognitivo, rigidez de tendones, disfunción cardiaca tal como hipertrofia cardiaca y/o disfunción sistólica y/o diastólica y/o hipertensión, disfunción cardiaca que da como resultado una disminución en la fracción de expulsión, inmunosenescencia, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, cáncer, inmunosenescencia que conduce a cáncer debido a una disminución en la inmunovigilancia, infecciones debidas a una disminución en la función inmunitaria, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), obesidad, ageusia, anosmia, artritis, y diabetes tipo II incluyendo complicaciones provenientes de la diabetes, tales como insuficiencia renal, amaurosis y neuropatía.

25

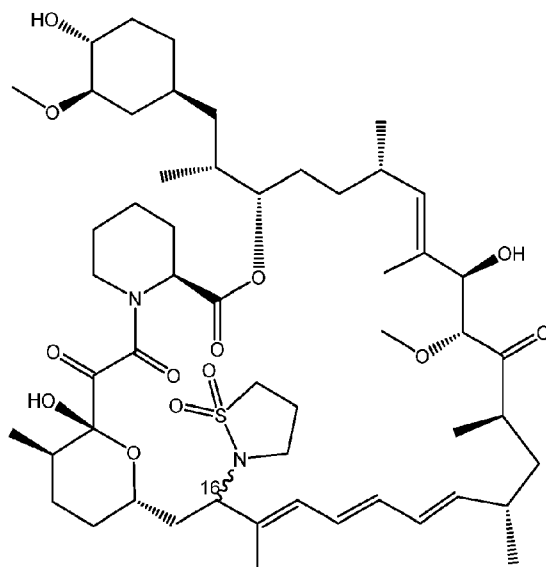
En otro aspecto (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento), la divulgación proporciona un uso de un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A y fórmula (I)-B o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para la fabricación de un medicamento para la prevención o el tratamiento de cáncer.

30

En otro aspecto (descrito pero no reivindicado específicamente en el presente documento), la divulgación proporciona un uso de un compuesto de fórmula (I), fórmula (I)-A y fórmula (I)-B o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de cáncer renal, carcinoma de células renales, cáncer colorrectal, sarcoma uterino, cáncer uterino endometrial, cáncer endometrial, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de cuello uterino, cáncer gástrico, fibrosarcoma, cáncer de páncreas, cáncer de hígado, melanoma, leucemia, mieloma múltiple, cáncer de nasofaringe, cáncer de próstata, cáncer de pulmón, glioblastoma, cáncer de vejiga, mesotelioma, cáncer de cabeza, rabdomiosarcoma, sarcoma, linfoma o cáncer de cuello.

40

Las combinaciones individuales específicas que pueden proporcionar beneficios de tratamiento particulares incluyen una combinación de un compuesto



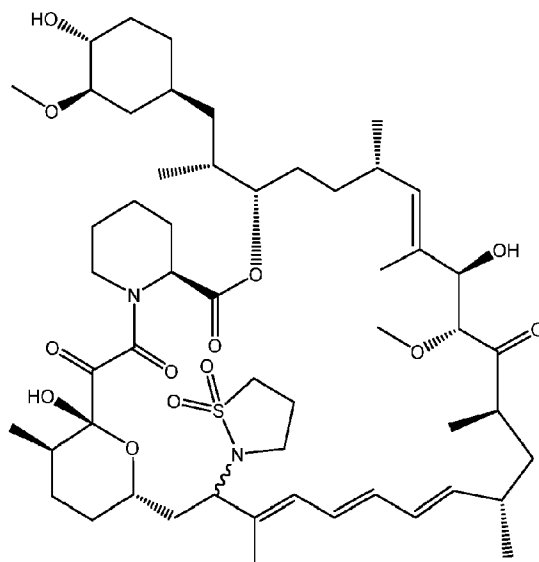
45

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un inhibidor de mTOR catalítico, en particular uno tal como

se mencionó anteriormente. En una realización, el compuesto es (S)-C16-(1,1-dioxidoisotiazolidin-2-il)-C32-desoxo-rapamicina (ejemplo 1) o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma. En una realización, el compuesto es (R)-C16-(1,1-dioxidoisotiazolidin-2-il)-C32-desoxo-rapamicina (ejemplo 2) o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

5

En una realización, la divulgación proporciona un producto que comprende un compuesto

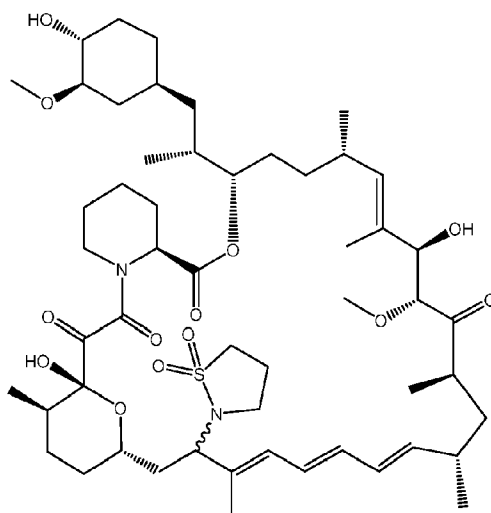


10

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un inhibidor de mTOR catalítico, en particular uno tal como se mencionó anteriormente como preparación combinada para su uso simultáneo, separado o secuencial en terapia. En una realización, el compuesto es (S)-C16-(1,1-dioxidoisotiazolidin-2-il)-C32-desoxo-rapamicina (ejemplo 1) o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma. En una realización, el compuesto es (R)-C16-(1,1-dioxidoisotiazolidin-2-il)-C32-desoxo-rapamicina (ejemplo 2) o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

15

En una realización, la divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto



20

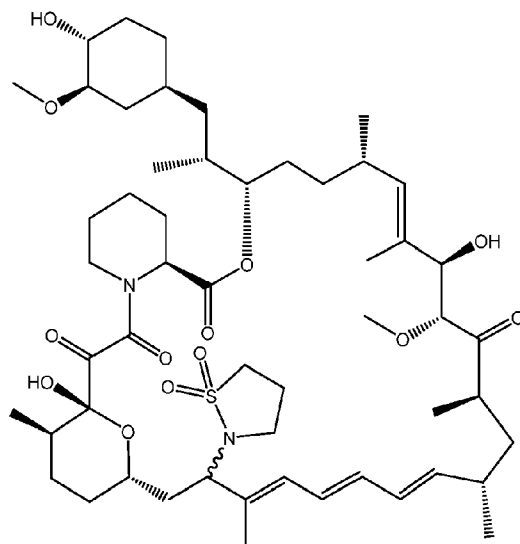
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un inhibidor de mTOR catalítico, en particular uno tal como se mencionó anteriormente, y un farmacéuticamente aceptable portador. En una realización, el compuesto es (S)-C16-(1,1-dioxidoisotiazolidin-2-il)-C32-desoxo-rapamicina (ejemplo 1) o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma. En una realización, el compuesto es (R)-C16-(1,1-dioxidoisotiazolidin-2-il)-C32-desoxo-rapamicina (ejemplo 2) o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

25

En una realización, el otro agente terapéutico se selecciona de un agente de agotamiento de linfocitos CD4, tal como un anticuerpo anti-CD4 o un fragmento de unión a antígeno del mismo, tal como un anticuerpo humanizado anti-CD4, por ejemplo, zanolimumab. Un agente terapéutico de este tipo puede usarse, en particular, para el

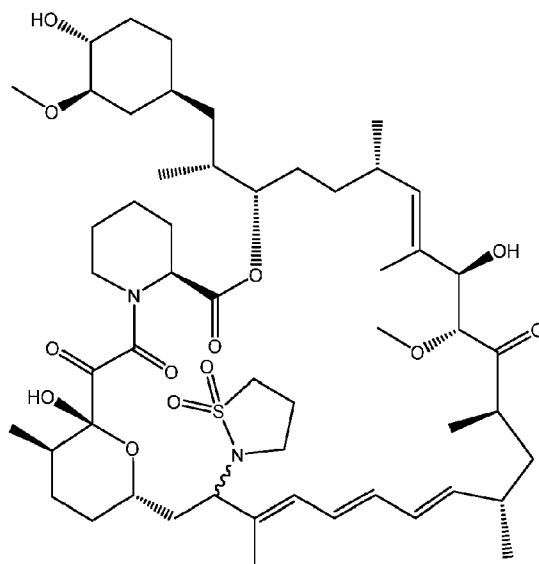
tratamiento de un trastorno proliferativo, en particular cáncer. Véanse también la patente estadounidense n.º 8.906.374 y la patente estadounidense n.º 9.427.463 para una terapia de combinación de este tipo.

Las combinaciones individuales específicas que pueden proporcionar beneficios de tratamiento particulares incluyen una combinación de un compuesto



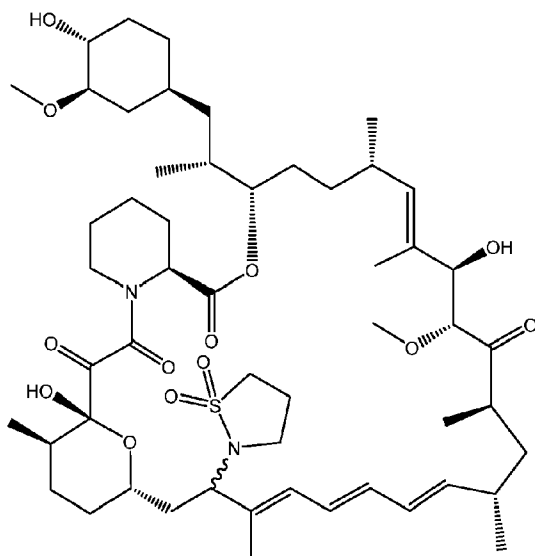
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un agente de agotamiento de linfocitos CD4, en particular uno tal como se mencionó anteriormente. En una realización, el compuesto es (S)-C16-(1,1-dioxidoisotiazolidin-2-il)-C32-desoxo-rapamicina (ejemplo 1) o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma. En una realización, el compuesto es (R)-C16-(1,1-dioxidoisotiazolidin-2-il)-C32-desoxo-rapamicina (ejemplo 2) o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

En una realización, la divulgación proporciona un producto que comprende un compuesto



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un agente de agotamiento de linfocitos CD4, en particular uno tal como se mencionó anteriormente como preparación combinada para su uso simultáneo, separado o secuencial en terapia. En una realización, el compuesto es (S)-C16-(1,1-dioxidoisotiazolidin-2-il)-C32-desoxo-rapamicina (ejemplo 1) o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma. En una realización, el compuesto es (R)-C16-(1,1-dioxidoisotiazolidin-2-il)-C32-desoxo-rapamicina (ejemplo 2) o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

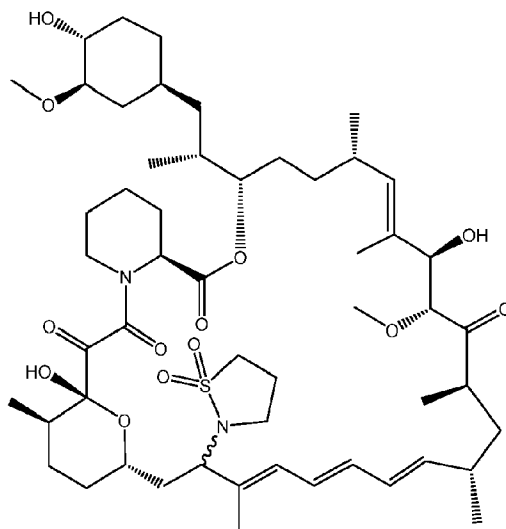
En una realización, la divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un agente de agotamiento de linfocitos CD4, en particular uno tal como se mencionó anteriormente, y a farmacéuticamente aceptable portador. En una realización, el compuesto es (S)-C16-(1,1-dioxidoisotiazolidin-2-il)-C32-desoxo-rapamicina (ejemplo 1) o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma. En una realización, el compuesto es (R)-C16-(1,1-dioxidoisotiazolidin-2-il)-C32-desoxo-rapamicina (ejemplo 2) o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

En una realización, el otro agente terapéutico se selecciona de un agente que modula la actividad de proteínas inmunoinhibidoras, tales como PD-1/PDL-1, tal como un anticuerpo anti-PD-1 o un anticuerpo PDL-1. Los anticuerpos anti-PD-1 que son útiles como agente terapéutico de este tipo son tal como se dan a conocer en la patente estadounidense n.º 9.683.048. Un agente terapéutico de este tipo puede usarse en el tratamiento de cáncer, en particular para la inmunoterapia contra el cáncer.

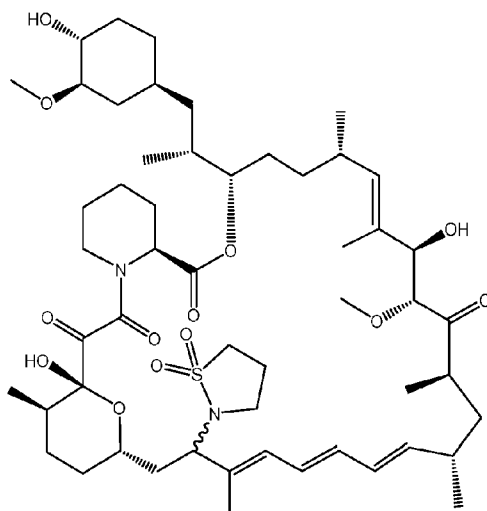
Las combinaciones individuales específicas que pueden proporcionar beneficios de tratamiento particulares incluyen una combinación de un compuesto



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un agente que modula la actividad de proteínas inmunoinhibidoras, tales como PD-1, en particular uno tal como se mencionó anteriormente. En una realización, el compuesto es (S)-C16-(1,1-dioxidoisotiazolidin-2-il)-C32-desoxo-rapamicina (ejemplo 1) o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma. En una realización, el compuesto es (R)-C16-(1,1-dioxidoisotiazolidin-2-il)-C32-desoxo-rapamicina (ejemplo 2) o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

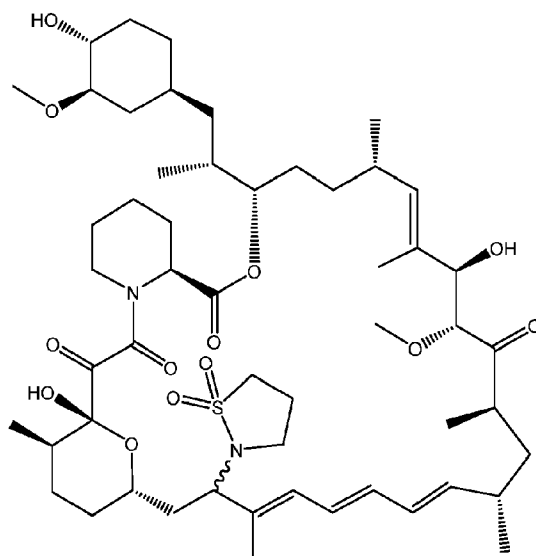


En una realización, la divulgación proporciona un producto que comprende un compuesto



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un agente que modula la actividad de proteínas inmunoinhibidoras, tales como PD-1, en particular uno tal como se mencionó anteriormente como preparación combinada para su uso simultáneo, separado o secuencial en terapia. En una realización, el compuesto es (S)-C16-(1,1-dioxidoisotiazolidin-2-il)-C32-desoxo-rapamicina (ejemplo 1) o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma. En una realización, el compuesto es (R)-C16-(1,1-dioxidoisotiazolidin-2-il)-C32-desoxo-rapamicina (ejemplo 2) o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

En una realización, la divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un agente que modula la actividad de proteínas inmunoinhibidoras, tales como PD-1, en particular uno tal como se mencionó anteriormente, y un portador farmacéuticamente aceptable. En una realización, el compuesto es (S)-C16-(1,1-dioxidoisotiazolidin-2-il)-C32-desoxo-rapamicina (ejemplo 1) o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma. En una realización, el compuesto es (R)-C16-(1,1-dioxidoisotiazolidin-2-il)-C32-desoxo-rapamicina (ejemplo 2) o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

## Ejemplos

La divulgación expone los siguientes ejemplos. Los ejemplos 3, 4 y 5 son ejemplos de referencia y se describen pero no se reivindican específicamente en el presente documento. Los ejemplos de síntesis y biológicos descritos en esta solicitud se ofrecen para ilustrar los compuestos, las composiciones farmacéuticas y los métodos proporcionados en el presente documento y no deben interpretarse en modo alguno como limitativos de su alcance.

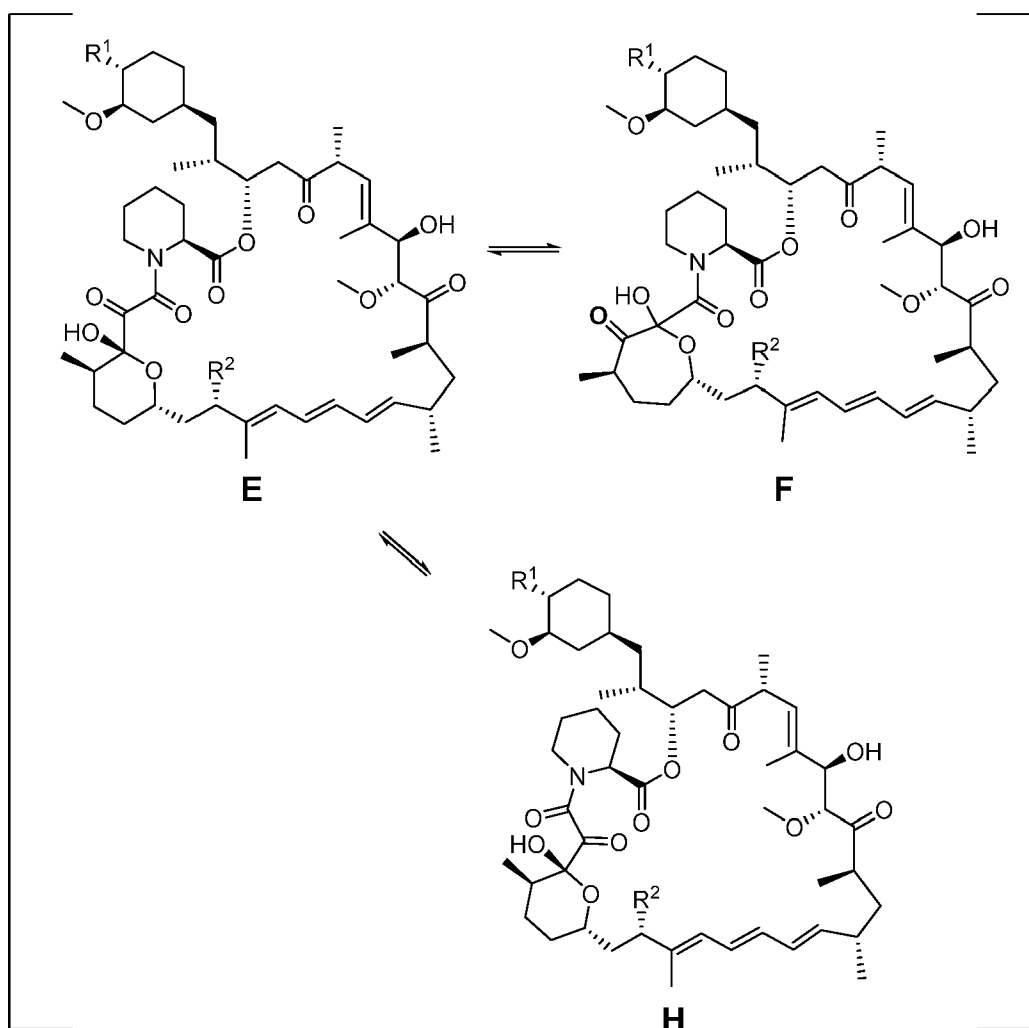
Los compuestos proporcionados en el presente documento pueden prepararse a partir de materiales de partida

fácilmente disponibles usando modificaciones a los protocolos de síntesis específicos expuestos a continuación que serían bien conocidos por los expertos en la técnica. Se apreciará que, cuando se proporcionan condiciones de procedimiento típicas o preferidas (es decir, temperaturas de reacción, tiempos, razones molares de reactantes, disolventes, presiones, etc.), también pueden usarse otras condiciones de procedimiento a menos que se indique lo contrario. Las condiciones de reacción óptimas pueden variar con los reactantes o disolventes particulares usados, pero tales condiciones pueden determinarlas los expertos en la técnica mediante procedimientos de optimización de rutina.

Adicionalmente, tal como resultará evidente para los expertos en la técnica, pueden ser necesarios grupos protectores convencionales para impedir que determinados grupos funcionales experimenten reacciones no deseadas. La elección de un grupo protector adecuado para un grupo funcional particular así como las condiciones adecuadas para la protección y desprotección se conocen bien en la técnica. Por ejemplo, se describen numerosos grupos protectores y su introducción y retirada en Greene *et al.*, *Protecting Groups in Organic Synthesis*, segunda edición, Wiley, New York, 1991, y las referencias citadas en el mismo.

La rapamicina y sus derivados, por ejemplo, compuestos de fórmula (I), fórmula (I)-A y fórmula (I)-B, existen como un equilibrio dependiente del pH y del disolvente de las formas de hemiacetal de seis miembros y siete miembros mostradas a continuación como E y F (esquemas 4 y 5). Véase *The Journal of Antibiotics* (Tokio) (1991) 44(6):688-90; y *Tetrahedron Letters* (1992) 33(33):4139-4142. La rapamicina y sus derivados también existen como una mezcla de amidas *cis* y *trans* tal como se muestra a continuación como E, H, J y K (esquemas 4 y 5). [Véase Mierke, D. F., Schmieder, P., Karuso, P. y Kessler, H. (1991), *Conformational Analysis of the cis- and trans-Isomers of FK506 by NMR and Molecular Dynamics*. *Helvetica Chimica Acta*, 74: 1027-1047]. Los datos de caracterización de RMN mostrados en los ejemplos corresponden únicamente a la forma de equilibrio mayoritaria observada en las condiciones de disolvente de deuteroado notificadas.

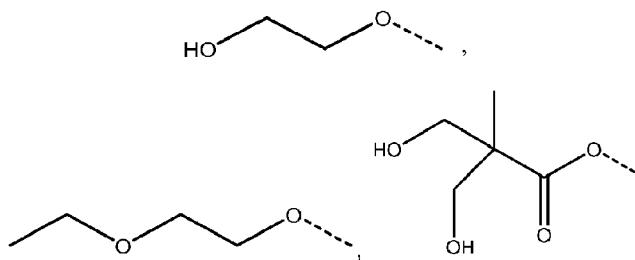
Esquema 4:



en donde:

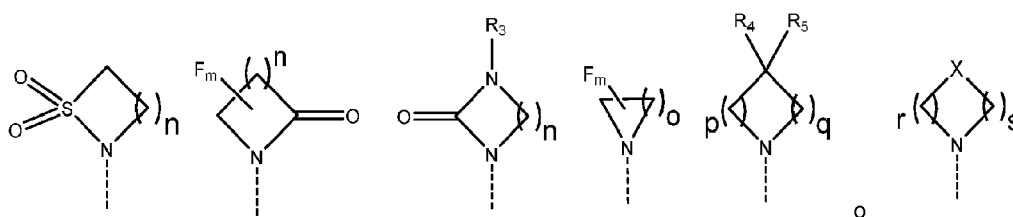
R<sub>1</sub> se selecciona del grupo que consiste en hidroxilo,

5



y

10 R<sub>2</sub> se selecciona del grupo que consiste en



en donde

15

m es 0, 1, 2 ó 3;

n es 1, 2 ó 3;

20

o es 1, 2, 3, 4, 5 ó 6;

p es 1, 2, 3, 4 ó 5

q es 1, 2, 3, 4 ó 5, en donde la suma de p y q es 2, 3, 4, 5 ó 6;

25

r es 2, 3 ó 4;

s es 2, 3 ó 4, en donde la suma de r y s es 4, 5 ó 6;

30

X es O, S, NR<sub>6</sub> o SO<sub>2</sub>;

R<sub>3</sub> es hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub>, hidroxialquilo C<sub>1-6</sub>, cicloalquil C<sub>3-8</sub>-alquilo C<sub>0-6</sub> o fenilalquilo C<sub>0-6</sub>;

R<sub>4</sub> es hidrógeno y R<sub>5</sub> es hidrógeno, hidroxilo o ciano; o R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> juntos forman =O; y

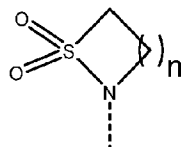
35

R<sub>6</sub> es hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub>, cicloalquil C<sub>3-8</sub>-alquilo C<sub>0-6</sub>, fenilalquilo C<sub>0-6</sub>, alquil C<sub>1-6</sub>-CO-, cicloalquil C<sub>3-8</sub>-alquil C<sub>0-6</sub>-CO-, alquil C<sub>1-6</sub>-SO<sub>2</sub>- o cicloalquil C<sub>3-8</sub>-alquil C<sub>0-6</sub>-SO<sub>2</sub>-.

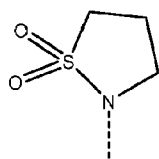
En una realización, R<sub>1</sub> es hidroxilo.

40

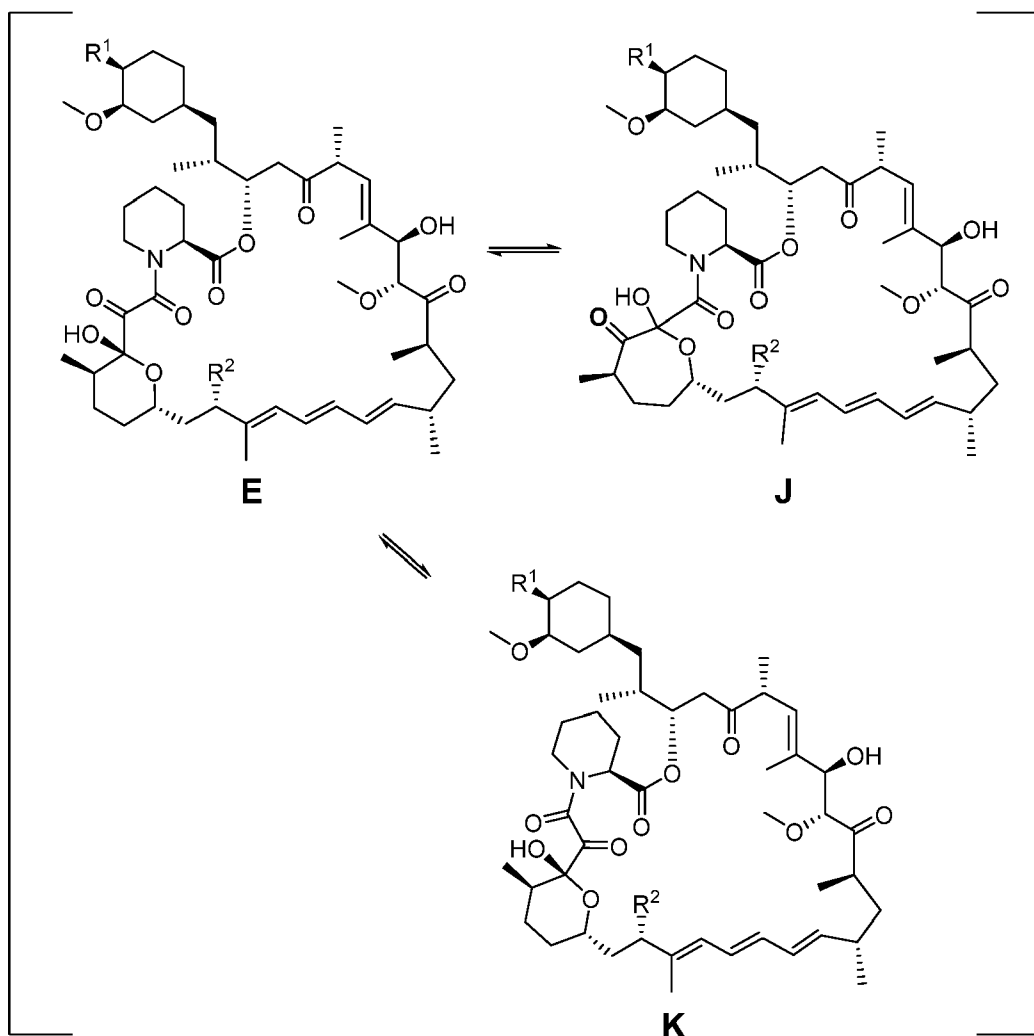
En una realización, R<sub>2</sub> es



45 y n es 1, 2 ó 3. En una realización, R<sub>2</sub> es

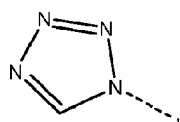


Esquema 5:



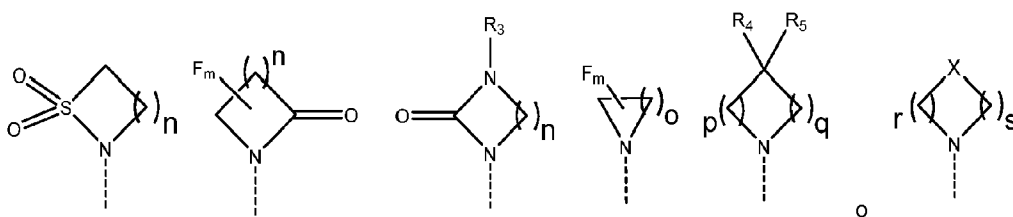
5 en donde:

R<sub>1</sub> es



10 y

R<sub>2</sub> se selecciona del grupo que consiste en



en donde

5 m es 0, 1, 2 ó 3;

n es 1, 2 ó 3;

o es 1, 2, 3, 4, 5 ó 6;

10

p es 1, 2, 3, 4 ó 5

q es 1, 2, 3, 4 ó 5, en donde la suma de p y q es 2, 3, 4, 5 ó 6;

15

r es 2, 3 ó 4;

s es 2, 3 ó 4, en donde la suma de r y s es 4, 5 ó 6;

X es O, S, NR<sub>6</sub> o SO<sub>2</sub>;

20

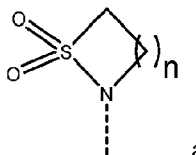
R<sub>3</sub> es hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub>, hidroxialquilo C<sub>1-6</sub>, cicloalquil C<sub>3-8</sub>-alquilo C<sub>0-6</sub> o fenilalquilo C<sub>0-6</sub>;

R<sub>4</sub> es hidrógeno y R<sub>5</sub> es hidrógeno, hidroxilo o ciano; o R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> juntos forman =O; y

25

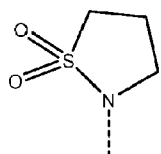
R<sub>6</sub> es hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub>, cicloalquil C<sub>3-8</sub>-alquilo C<sub>0-6</sub>, fenilalquilo C<sub>0-6</sub>, alquil C<sub>1-6</sub>-CO-, cicloalquil C<sub>3-8</sub>-alquil C<sub>0-6</sub>-CO-, alquil C<sub>1-6</sub>-SO<sub>2</sub>- o cicloalquil C<sub>3-8</sub>-alquil C<sub>0-6</sub>-SO<sub>2</sub>-.

En una realización, R<sub>2</sub> es



30

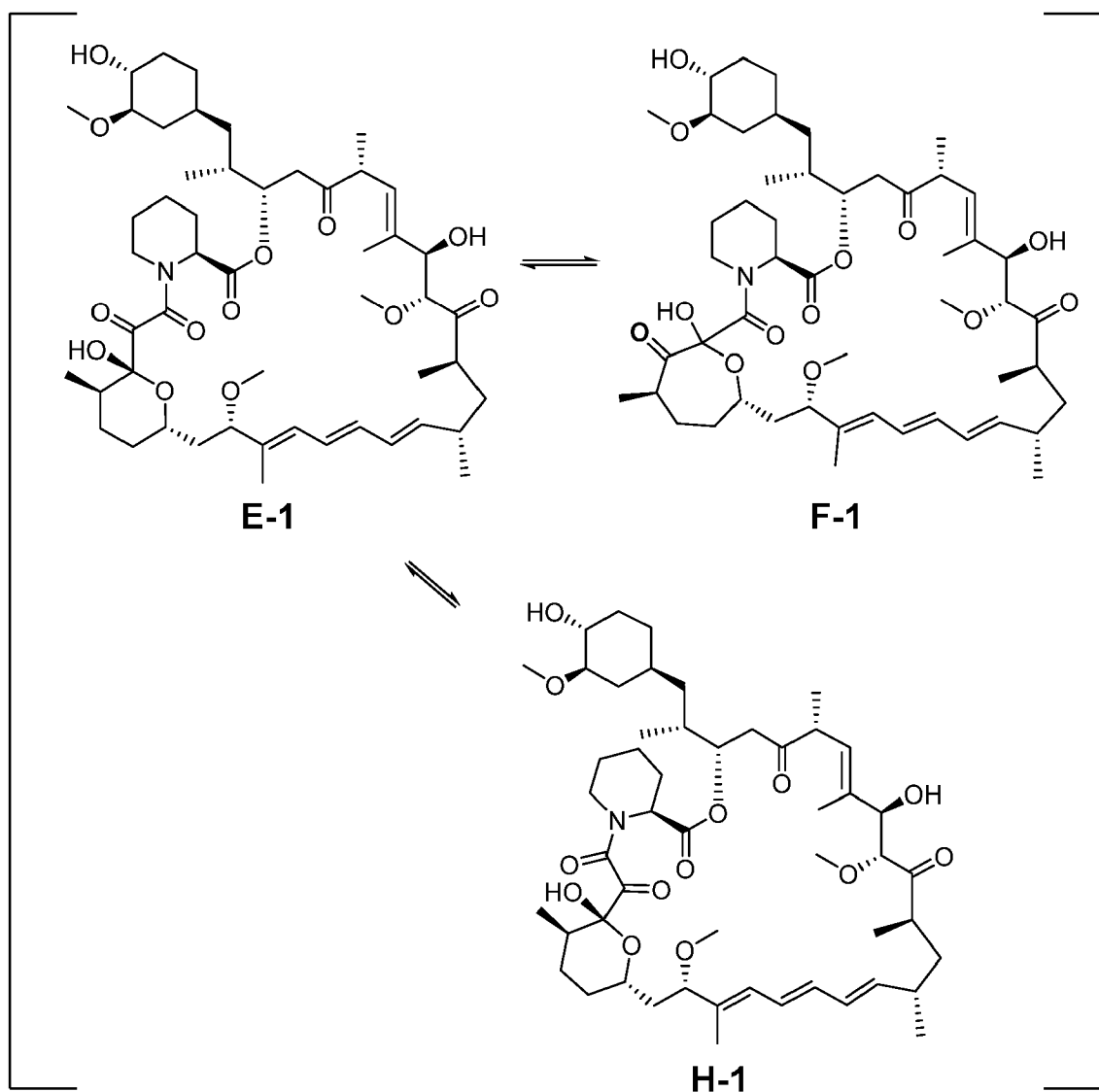
y n es 1, 2 ó 3. En una realización, R<sub>2</sub> es



35

En una realización, los compuestos de fórmula (I), fórmula (I)-A y fórmula (I)-B existen como un equilibrio dependiente del pH y del disolvente de las formas de hemiacetal de seis miembros y siete miembros mostradas a continuación como E-1 y F-1 (esquema 6). En una realización, los compuestos de fórmula (I), fórmula (I)-A y fórmula (I)-B existen como una mezcla de amidas *cis* y *trans* E-1 y H-1.

40

**Esquema 6:****Preparación de los compuestos**

5 Los compuestos de la divulgación pueden prepararse tal como se describe en los siguientes ejemplos.

Abreviaturas:

4-EP	4-etilpiridina
10 AcOH	ácido acético
ACN	acetonitrilo
15 ac.	acuoso
C	centigrado
d	doblete
20 dd	doblete de dobletes
DCM	diclorometano

	DIPEA	<i>N,N</i> -diisopropiletilamina
5	DMSO	dimetilsulfóxido
	EDTA	ácido etilendiaminotetraacético
	ESI-EM	espectrometría de masas con ionización por electropulverización
10	EtOAc	acetato de etilo
	EtOH	etanol
15	FA	ácido fórmico
	g	gramo
	h	hora(s)
20	HPLC	cromatografía de líquidos de alto rendimiento
	EMAR	espectrometría de masas de alta resolución
25	iPrOH	2-propanol o isopropanol
	l	litro
	CL	cromatografía de líquidos
30	CL-EM	cromatografía de líquidos y espectrometría de masas
	MeOH	metanol
35	EM	espectrometría de masas
	M	molar
	m	multiplete
40	min	minutos
	ml	mililitro(s)
45	$\mu$ M	micromolar
	m/z	razón de masa con respecto a carga
	N <sub>2</sub>	gas de nitrógeno
50	nM	nanomolar
	RMN	resonancia magnética nuclear
55	<sup>1</sup> H-RMN:	espectroscopia de resonancia magnética nuclear de protón
	PEI	polietilenimina
	PPU	propilpiridilurea
60	pTsOH	ácido p-toluenosulfónico
	prep.	preparativa
65	rac.	racémico
	rpm	revoluciones por minuto

	ta	temperatura ambiente
	s	singlete
5	sat.	saturado
	CFS	cromatografía de fluidos supercríticos
10	t	triplete
	TCEP	tris(2-carboxietil)fosfina
	TFA	ácido trifluoroacético
15	THF	tetrahidrofurano
	CCF	cromatografía en capa fina
20	vol.	volumen

#### Métodos empleados en la purificación de los ejemplos

La purificación de los productos intermedios y los productos finales se llevó a cabo mediante cromatografía de fase normal o inversa.

La cromatografía de fase normal se llevó a cabo usando cartuchos de SiO<sub>2</sub> preempaquetados (por ejemplo, columnas RediSep® Rf de Teledyne Isco, Inc.) eluyendo con gradientes de sistemas de disolventes apropiados (por ejemplo, hexanos y acetato de etilo; DCM y MeOH; o a menos que se indique lo contrario).

La CFS se llevó a cabo usando los métodos descritos a continuación:

Método 1: columna Princeton PPU 5 µm (100A) (30x250 mm); CO<sub>2</sub>/MeOH

Método 2: columna Princeton 4-EP 5 µm (60A) (30x250 mm); CO<sub>2</sub>/MeOH

Método 3: columna Reprospher PEI 5 µm (100A) (30x250 mm); CO<sub>2</sub>/MeOH

Los gradientes se seleccionaron basándose en la separación analítica.

La HPLC preparativa de fase inversa se llevó a cabo usando los métodos descritos a continuación:

Método 1: (Agilent) Phenomenex Luna C18; columna de 5 µm (30x250 mm); ácido fórmico al 0,1 % y agua al 5 % en acetonitrilo; ácido fórmico al 0,1 % y acetonitrilo al 5 % en agua. Los gradientes se seleccionaron basándose en la separación analítica.

Método 2: (EZprep) YMC Actus Triart C18; columna de 5 µm (20x150mm); acetonitrilo/agua. Los gradientes se seleccionaron basándose en la separación analítica.

La HPLC preparativa quiral se llevó a cabo usando los métodos descritos a continuación:

Método 1: Chiralpak IC; columna de 5 µm (20x250 mm); n-heptano/DCM/EtOH

Método 2: Chiralpak ID; columna de 5 µm (20x250 mm); n-heptano/DCM/iPrOH

Los gradientes se seleccionaron basándose en la separación analítica.

Método de CL/EM:

Columna: Acquity UPLC BEH C18, 130 Å, 1,7 µm, 2,1 mm X 50 mm

Temperatura: 50 °C

Inyección: 1 µl



Disolvente A: agua + hidróxido de amonio 5 mM

Disolvente B: acetonitrilo + hidróxido de amonio 5 mM

5 Gradiente:

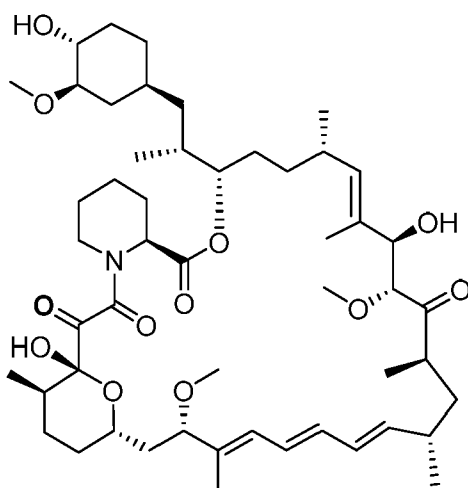
Tiempo (min)	Velocidad de flujo	% de A	% de B	Curva
Inicial	1,000	98,0	2,0	Inicial
4,40	1,0	2,0	98,0	6
5,15	1,0	2,0	98,0	6
5,19	1,0	98,0	2,0	6

Instrumentos de <sup>1</sup>H-RMN:

- 10 Bruker UltraShield™ Advance III HD 400 MHz con una sonda criogénica DCl. Los datos se procesaron con el software MestReNova 11.0.

#### Preparación de los productos intermedios 1 a 7

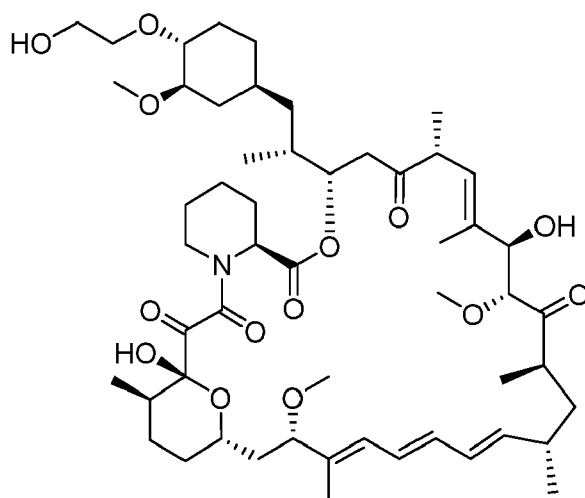
- 15 **Producto intermedio 1: C32-desoxo-rapamicina**



**Producto intermedio 1**

- 20 Se preparó el producto intermedio 1 según procedimientos conocidos en la bibliografía incluyendo los datos a conocer en la publicación de patente estadounidense n.º 005985890 y el documento WO2007/085400 A1.

**Producto intermedio 2:** RAD001 (everólimus; Afinitor®)

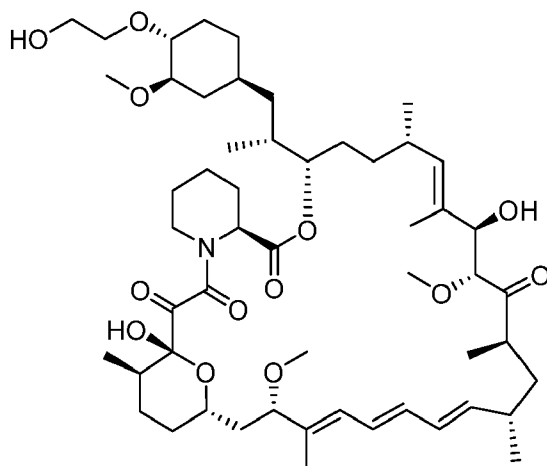


**Producto intermedio 2**

Se preparó el producto intermedio 2 según procedimientos conocidos en la bibliografía incluyendo los datos a conocer en el documento WO2012103959.

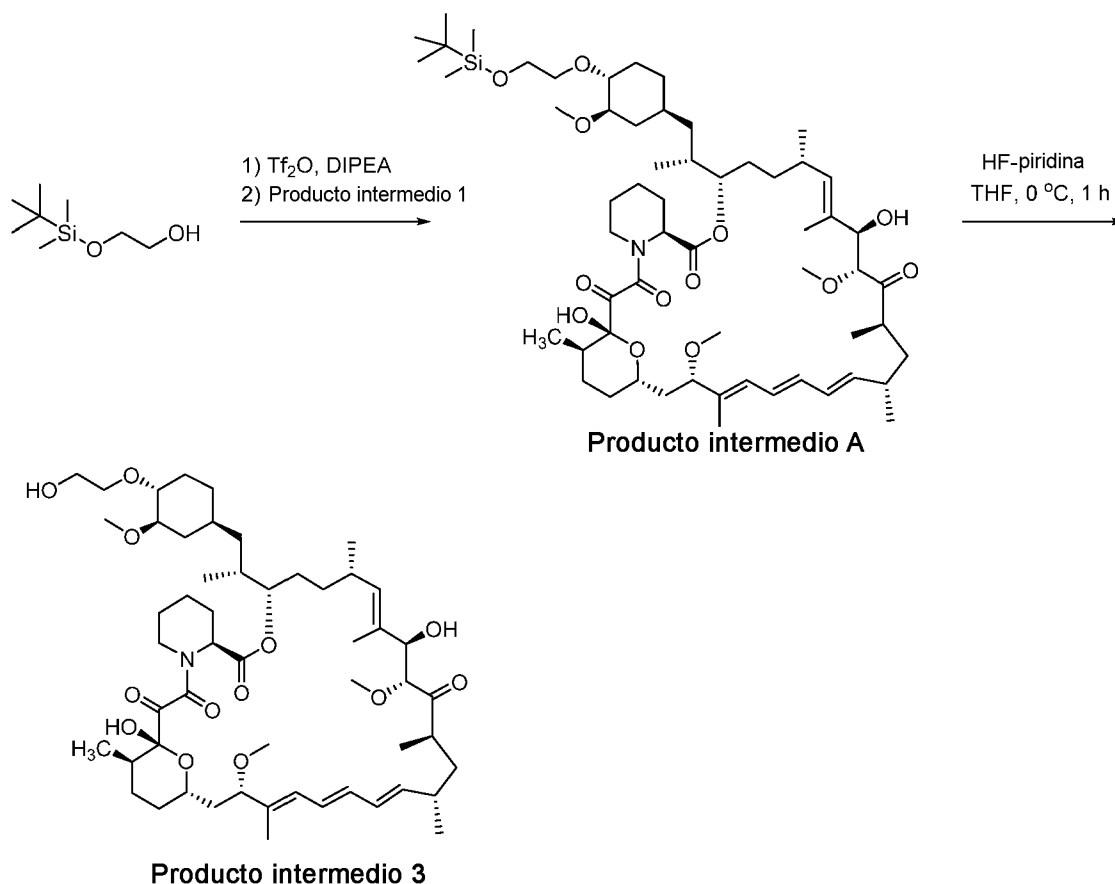
5

**Producto intermedio 3:**



**Producto intermedio 3**

Se preparó el producto intermedio 3 en dos etapas a través del producto intermedio A tal como se muestra a continuación:



#### Etapa 1. Síntesis del producto intermedio A

- 5 Se disolvió 2-((terc-butildimetilsilil)oxi)etanol (0,471 g, 2,67 mmol) en tolueno anhidro (0,95 ml) en un vial de reacción. Se tapó el vial y luego se purgó a vacío con nitrógeno. Se añadió *N,N*-diisopropiletilamina (DIPEA) (0,490 ml, 2,81 mmol) mediante una jeringa. Se enfrió la mezcla hasta 0 °C en un baño de agua helada. Se añadió anhídrido triflico ( $\text{ Tf}_2\text{O}$ ) (0,438 ml, 2,59 mmol) gota a gota a 0 °C durante un periodo de aproximadamente dos minutos. Se agitó la mezcla de reacción a 0 °C durante 30 minutos.
- 10 Se sacó el vial fuera del baño frío. Se añadió DIPEA (0,490 ml, 2,81 mmol) mediante una jeringa. Se abrió el vial y se añadió rápidamente producto intermedio 1 sólido (0,600 g, 0,667 mmol) en una porción. Volvió a taparse rápidamente el vial y se purgó a vacío la mezcla con nitrógeno. Se añadió tolueno (0,5 ml).
- 15 Se agitó la reacción a 40 °C bajo nitrógeno durante la noche. Se diluyó la reacción con  $\text{NaHCO}_3$  acuoso saturado. Se extrajo la mezcla extinguida con EtOAc cinco veces. Se combinaron los extractos orgánicos, se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtraron a vacío a través de Celite y se concentraron para proporcionar un producto en bruto sólido de color blanco ceroso.
- 20 Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía ultrarrápida en columna de gel de sílice (acetona al 0-35 %-heptano, elución en gradiente, columna de 40 g de sílice, CCF en acetona al 35 %-heptano, visualizar bajo UV) para dar el producto intermedio A deseado (0,245 g, 0,231 mmol, 34,7 % de rendimiento) como un vidrio que se usó inmediatamente "como tal" en la siguiente etapa.
- 25 Producto intermedio A: ESI-EM  $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$  1076,1, ESI-EM  $[\text{M}-\text{H}]^-$  1056,0.

#### Etapa 2. Síntesis del producto intermedio 3

- 30 Se disolvió el producto intermedio A (0,135 g, 0,128 mmol) en THF anhidro (1,2 ml) en un vial de reacción de vidrio. Se tapó el vial y se purgó a vacío la mezcla dos veces con nitrógeno. Se enfrió la mezcla hasta 0 °C en un baño de agua helada. Se añadió HF-piridina (0,12 ml, 1,332 mmol) gota a gota mediante una jeringa durante un periodo de 30 segundos. Se agitó la reacción a 0 °C durante 60 minutos.
- 35 Se añadió la mezcla de reacción gota a gota a una disolución de  $\text{NaHCO}_3$  acuoso saturado. Se extrajo la mezcla extinguida cinco veces con EtOAc. Se combinaron los extractos orgánicos, se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtraron

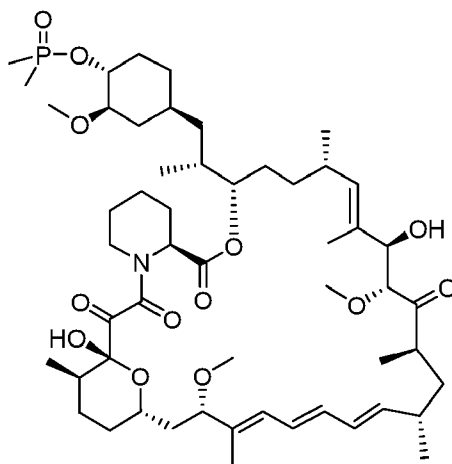
a vacío a través de Celite y se concentraron para proporcionar un producto en bruto sólido de color blanco.

Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía ultrarrápida en columna de gel de sílice (elución en gradiente de acetona al 0-50 %-heptano, columna de 40 g de sílice, CCF en acetona al 50 %-heptano, visualizar bajo UV) para dar el producto intermedio 3 (0,087 g, 0,092 mmol, 72,2 % de rendimiento) como un sólido de color blanco.

Producto intermedio 3: ESI-EM [M+NH<sub>4</sub>] 962,0, ESI-EM [M-H] 943,0

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, cloroformo-*d*) δ 6,46 - 6,25 (m, 2H), 6,19 - 6,09 (m, 1H), 5,91 (m, 1H), 5,55 (m, 1H), 5,34 - 5,26 (m, 1H), 5,26 - 5,15 (m, 1H), 4,88 - 4,64 (m, 2H), 4,11 (m, 1H), 3,94 - 3,82 (m, 1H), 3,79 (m, 1H), 3,73 - 3,63 (m, 3H), 3,63 - 3,47 (m, 4H), 3,45 (m, 4H), 3,33 (m, 3H), 3,28 - 3,15 (m, 2H), 3,13 (s, 3H), 3,08 (m, 1H), 2,80 (m, 1H), 2,32 (m, 3H), 2,14 (m, 2H), 2,07 - 1,94 (m, 2H), 1,94 - 1,72 (m, 5H), 1,72 - 1,56 (m, 8H), 1,56 - 1,40 (m, 3H), 1,39 - 1,21 (m, 7H), 1,21 - 1,09 (m, 1H), 1,08 - 0,99 (m, 8H), 0,98 - 0,83 (m, 9H), 0,73 (q, *J* = 12,0 Hz, 1H).

**Producto intermedio 4:**



**Producto intermedio 4**

Se combinó el producto intermedio 1 (0,233 g, 0,259 mmol) con 2,6-di-*tert*-butil-4-metilpiridina (0,425 g, 2,071 mmol) en diclorometano anhidro (2,6 ml). Se purgó a vacío la mezcla de reacción una vez con nitrógeno. Se enfrió la mezcla de reacción hasta 0 °C en un baño de agua helada. Se añadió cloruro dimetilfosfínico sólido (0,146 g, 1,294 mmol) en una porción. Se agitó la mezcla de reacción a 0 °C durante 80 minutos.

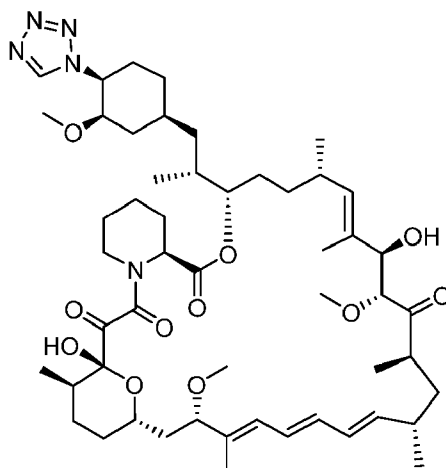
Se diluyó la reacción con NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado y se extrajo varias veces con EtOAc. Se combinaron los extractos orgánicos, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se decantaron y se concentraron para dar un producto en bruto de tipo brea incoloro (0,768 g).

Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía ultrarrápida en columna de gel de sílice (elución en gradiente de acetona al 0-80 %-heptano, columna de 24 g de sílice, CCF en EtOAc al 80 %-heptano, visualizar bajo UV). Se agruparon las fracciones que contenían producto y se concentraron para dar el producto intermedio 4 (0,087 g, 0,089 mmol, 34,4 % de rendimiento) como un sólido de color blanco.

Producto intermedio 4: ESI-EM [M+NH<sub>4</sub>] 993,7, ESI-EM [M-H] 974,7.

EMAR: Calculado: 999,5812 (como aducto de sodio). Hallado: 999,5807.

<sup>1</sup>H-RMN (600 MHz, cloroformo-*d*) δ 6,47 - 6,26 (m, 2H), 6,22 - 6,08 (m, 1H), 6,02 - 5,83 (m, 1H), 5,54 (m, 1H), 5,35 - 5,26 (m, 1H), 5,21 (m, 1H), 4,85 - 4,76 (m, 1H), 4,12 (m, 2H), 3,93 - 3,81 (m, 1H), 3,67 (t, *J* = 7,7 Hz, 1H), 3,62 (d, *J* = 6,7 Hz, 1H), 3,60 - 3,53 (m, 1H), 3,53 - 3,44 (m, 1H), 3,42 - 3,36 (m, 3H), 3,32 (m, 3H), 3,28 - 3,18 (m, 1H), 3,13 (m, 3H), 3,05 (m, 1H), 2,82 (m, 1H), 2,42 - 2,21 (m, 3H), 2,16 - 2,08 (m, 3H), 1,99 (m, 1H), 1,95 - 1,83 (m, 1H), 1,83 - 1,72 (m, 4H), 1,71 - 1,57 (m, 9H), 1,57 - 1,43 (m, 12H), 1,39 (m, 1H), 1,34 - 1,20 (m, 4H), 1,20 - 1,10 (m, 1H), 1,05 (m, 4H), 1,00 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H), 0,95 (dd, *J* = 6,6, 2,1 Hz, 3H), 0,92 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H), 0,91 - 0,84 (m, 4H), 0,77 (q, *J* = 12,1 Hz, 1H).

**Producto intermedio 5:****Producto intermedio 5**

Se disolvió el producto intermedio 1 (4,372 g, 4,86 mmol) en diclorometano anhidro (20 ml). Se añadió tolueno anhidro (20 ml). Se evaporó la mezcla de reacción hasta sequedad en un evaporador rotatorio. Se repitió este procedimiento de secado azeotrópico dos veces más.

Se combinó el material de partida seco con 2,6-lutidina (1,388 ml, 11,91 mmol) en diclorometano anhidro (58 ml). Se tapó el matraz y se purgó a vacío la mezcla dos veces con nitrógeno. Se enfrió la mezcla hasta -30 °C en un baño de acetonitrilo/hielo seco.

Se añadió anhídrido trifílico (1,209 ml, 7,16 mmol) gota a gota mediante una jeringa durante un periodo de cuatro minutos. Se agitó la mezcla de reacción a -30 °C durante 30 minutos. Se transfirió la mezcla de reacción a un baño de agua helada a 0 °C y se agitó durante 20 minutos a 0 °C.

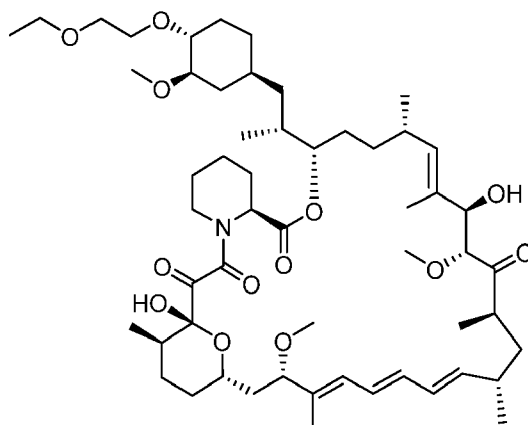
Se colocó la mezcla de reacción en el evaporador rotatorio y se concentró sin calor. Se añadió acetato de isopropilo (22 ml). Se añadió tetrazol (1,170 g, 16,71 mmol) en una porción. Se tapó rápidamente el matraz y se purgó a vacío dos veces con nitrógeno. Se añadió *N,N*-diisopropiletilamina (4,18 ml, 23,94 mmol) mediante una jeringa durante un periodo de un minuto. Se agitó la mezcla de reacción durante la noche a temperatura ambiente.

Se concentró la mezcla de reacción en un evaporador rotatorio. Se purificó el concentrado mediante cromatografía ultrarrápida en columna de gel de sílice de fase normal (elución en gradiente de acetona al 0-40 %-heptano, columna de 80 g de sílice, CCF en acetona al 40 %-heptano, visualizar bajo UV).

Se agruparon las fracciones del segundo pico de elución (tal como se determina mediante la absorbancia de UV a 279 nm) y se concentraron para dar el producto intermedio 5 (2,194 g, 2,304 mmol, 47,4 % de rendimiento) como un sólido de color blanco.

Producto intermedio 5: ESI-EM [M+NH<sub>4</sub>] 969,8, ESI-EM [M-H] 950,8.

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9,33 (d, *J* = 6,4 Hz, 1H), 6,58 - 6,41 (m, 2H), 6,35 - 6,14 (m, 2H), 6,09 - 5,98 (m, 1H), 5,55 - 5,43 (m, 1H), 5,19 (m, 1H), 5,05 (m, 1H), 5,00 - 4,93 (m, 1H), 4,87 - 4,79 (m, 1H), 4,67 - 4,56 (m, 1H), 3,98 - 3,87 (m, 1H), 3,87 (d, *J* = 6,9 Hz, 1H), 3,61 (m, 2H), 3,55 (dd, *J* = 11,8, 1,9 Hz, 1H), 3,49 - 3,38 (m, 1H), 3,31 - 3,17 (m, 4H), 3,10 (m, 4H), 3,04 (s, 3H), 2,88 - 2,75 (m, 1H), 2,29 - 2,09 (m, 3H), 2,07 - 1,86 (m, 3H), 1,88 - 1,60 (m, 9H), 1,59 - 1,44 (m, 7H), 1,43 - 1,01 (m, 11H), 0,96 (t, *J* = 7,1 Hz, 5H), 0,95 - 0,77 (m, 7H), 0,72 (m, 4H).

**Producto intermedio 6:****Producto intermedio 6**

Se combinó 2-etoxietanol (0,538 ml, 5,55 mmol) en tolueno anhidro (2,0 ml) y dioxano anhidro (0,22 ml). Se añadió *N,N*-diisopropiletilamina (1,067 ml, 6,11 mmol) mediante una jeringa. Se purgó a vacío la mezcla de reacción dos veces con nitrógeno. Se enfrió la mezcla hasta 0 °C en un baño de agua helada.

Se añadió anhídrido triflico (0,901 ml, 5,33 mmol) gota a gota mediante una jeringa durante un periodo de dos minutos. Se agitó la reacción a 0 °C durante 15 minutos. Se retiró el baño frío y se dejó equilibrar la reacción hasta temperatura ambiente durante 15 minutos.

Se añadió *N,N*-diisopropiletilamina (1,067 ml, 6,11 mmol) gota a gota mediante una jeringa durante un periodo de 30 segundos. Se añadió el producto intermedio 1 (1,00 g, 1,111 mmol) en una porción. Se tapó rápidamente la mezcla de reacción y se purgó a vacío con nitrógeno. Se añadieron tolueno anhidro (2,0 ml) y dioxano anhidro (0,22 ml) mediante una jeringa. Se agitó la mezcla de reacción a 55 °C durante 24 horas.

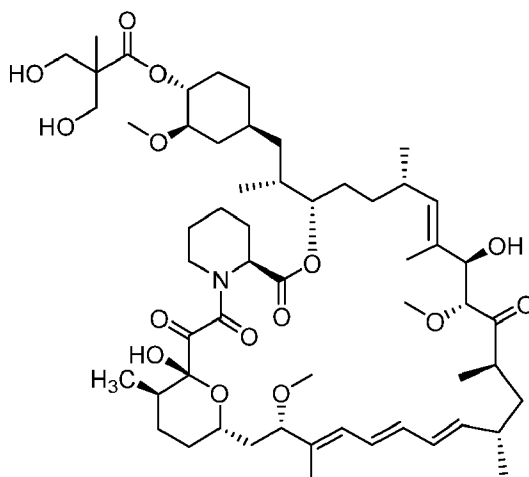
Se diluyó la mezcla de reacción con salmuera y se extrajo varias veces con EtOAc. Se combinaron los extractos orgánicos, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se decantaron y se concentraron para dar un producto en bruto de tipo brea incoloro (4,25 g).

Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía ultrarrápida en columna de gel de sílice (elución en gradiente de acetona al 0-50 %-heptano, columna de 80 g de sílice, CCF en acetona al 40 %-heptano, visualizar bajo UV). Se agruparon las fracciones que contenían producto y se concentraron para dar el producto intermedio 6 (0,443 g, 0,456 mmol, 41,0 % de rendimiento) como un vidrio incoloro.

Producto intermedio 6: ESI-EM [M-H] 970,9.

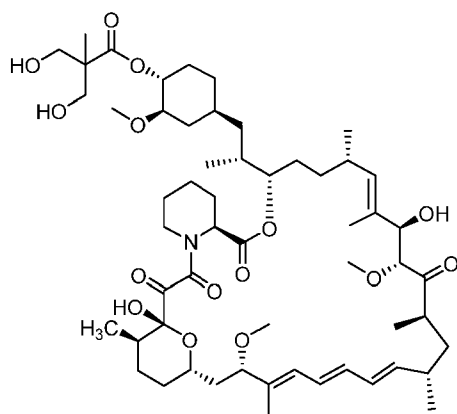
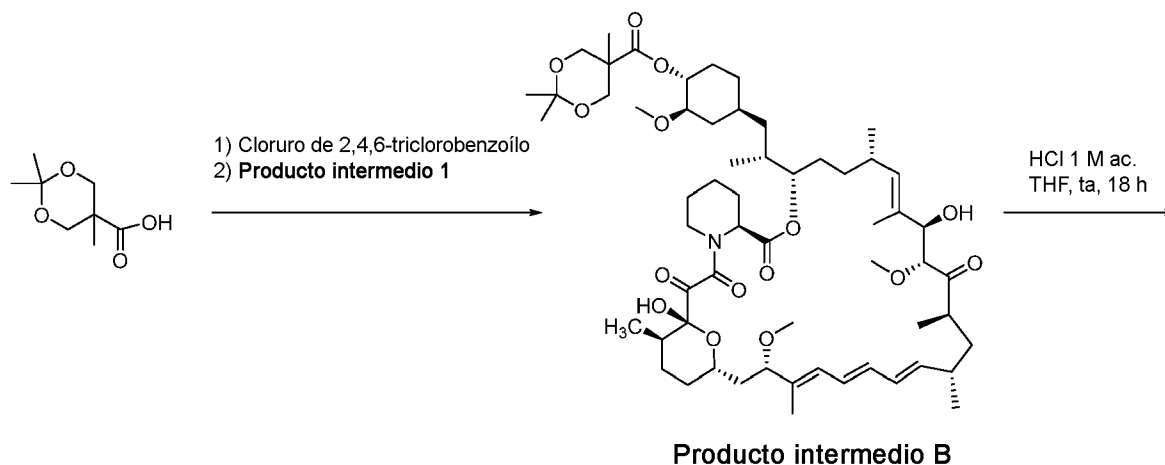
EMAR: Calculado: 989,6678 (como aducto de amonio); hallado: 989,6655

Calculado: 994,6232 (como aducto de sodio); hallado: 994,6215.

**Producto intermedio 7:****Producto intermedio 7**

Se preparó el producto intermedio 7 en dos etapas a través del producto intermedio B tal como se muestra a continuación:

5

**Producto intermedio 7****Etapas 1. Síntesis del producto intermedio B**

- 10 Se combinaron ácido 2,2,5-trimetil-1,3-dioxano-5-carboxílico (0,400 g, 2,296 mmol) y trietilamina (0,320 ml, 2,296 mmol) disueltos en THF anhidro (7,6 ml). Se enfrió la mezcla de reacción hasta 0 °C. Se añadió cloruro de 2,4,6-triclorobenzoilo (0,359 ml, 2,296 mmol) mediante una jeringa. Se agitó la reacción a 0 °C durante diez minutos. Se retiró el baño frío y se agitó la reacción a temperatura ambiente durante 2,5 horas. Precipitó un sólido de color blanco.

15

Se filtró la mezcla de reacción a través de un filtro de jeringa. Se enjuagó el filtro con THF (2 ml). Se combinaron los filtrados y se concentraron en el evaporador rotatorio dejando una brea incolora.

Al concentrado se le añadió tolueno (7,6 ml). Se añadió el producto intermedio 1 (1,447 g, 1,607 mmol) en una porción seguido de 4-dimetilaminopiridina (0,281 g, 2,296 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante la noche.

Se diluyó la mezcla con agua y se extrajo cuatro veces con EtOAc. Se combinaron los extractos orgánicos, se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se decantaron y se concentraron para dar un producto en bruto de tipo brea de color amarillo (2,15 g).

Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía ultrarrápida en columna de gel de sílice (elución en gradiente de acetona al 0-40 %-heptano, columna de 40 g de sílice, CCF en acetona al 40 %-heptano, visualizar bajo UV). Se agruparon las fracciones que contenían producto y se concentraron para dar el producto intermedio B (0,438 g, 0,415 mmol, 18,1 % de rendimiento) como una espuma de color blanco.

Producto intermedio B: ESI-EM  $[\text{M}+\text{NH}_4]$  1074,0, ESI-EM  $[\text{M}-\text{H}]$  1055,1.

Etapla 2. Síntesis del producto intermedio 7

Se disolvió el producto intermedio B (0,431 g, 0,408 mmol) en THF (4 ml). Se añadió HCl (1 M, ac.) (2,0 ml, 2,00 mmol) mediante una jeringa. Se agitó la reacción a temperatura ambiente durante 36 horas.

Se diluyó la mezcla de reacción con agua y se extrajo cuatro veces con EtOAc. Se combinaron los extractos orgánicos, se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se decantaron y se concentraron para dar una brea de color amarillo tenue. Se disolvió la brea en diclorometano y se diluyó con heptano. Se concentró la mezcla y se secó a alto vacío para dar el producto intermedio 7 (0,407 g, 0,400 mmol, 98 % de rendimiento) como un sólido de color blanco.

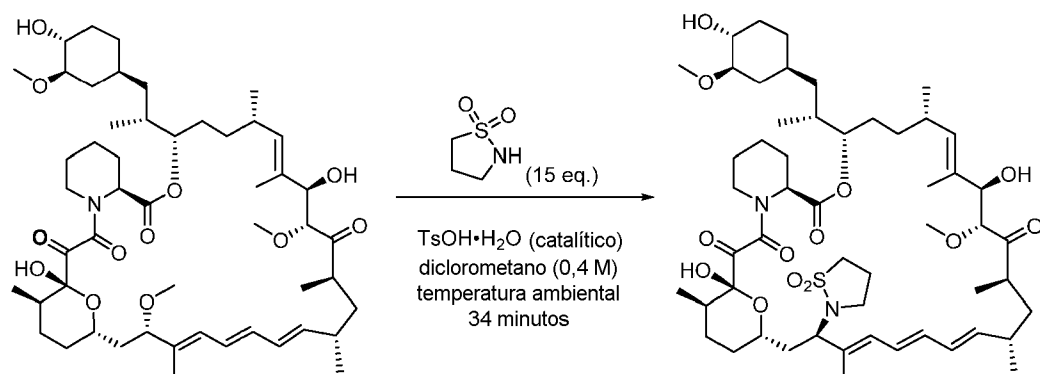
Producto intermedio 7: ESI-EM  $[\text{M}+\text{NH}_4]$  1034,0, ESI-EM  $[\text{M}-\text{H}]$  1015,0.

EMAR: Calculado: 1033,6576 (como aducto de amonio); hallado: 1033,6588

Calculado: 1038,6130 (como aducto de sodio); hallado: 1038,6138.

Ejemplo 1: (S)-C16-(1,1-dioxidoisotiazolidin-2-il)-C32-desoxo-rapamicina

Ejemplo 2: (R)-C16-(1,1-dioxidoisotiazolidin-2-il)-C32-desoxo-rapamicina



Producto intermedio 1

Ejemplo 1. Diastereómero (S) en C16  
Ejemplo 2. Diastereómero (R) en C16 (representado)

A una disolución con agitación del producto intermedio 1 (2,0 g, 2,222 mmol) y 1,1-dióxido de isotiazolidina (4,04 g, 33,3 mmol, 15 equivalentes) en diclorometano anhidro (5,6 ml) se le añadió ácido p-toluenosulfónico- $\text{H}_2\text{O}$  (0,042 g, 0,222 mmol, 0,1 equivalentes) en una porción. Se agitó la reacción a temperatura ambiental bajo una atmósfera de nitrógeno durante 34 minutos. Se sometió directamente toda la mezcla de reacción a cromatografía sobre sílice (elución en gradiente de heptano al 100 % a acetona al 40 %-heptano) para dar una mezcla de productos de ambos diastereómeros en una razón de aproximadamente 3:1 mediante absorbancia de UV a 279 nm en el análisis por CL/EM.

Se separó la mezcla diastereomérica mediante cromatografía de fase normal sobre sílice (elución en gradiente de diclorometano al 100 % a acetonitrilo al 40 %-diclorometano).



El primer diastereómero de elución ( $R_f \sim 0,23$  en CCF de sílice desarrollada en acetonitrilo al 30 %-diclorometano) proporciona el diastereómero (S) del ejemplo 1 como un sólido de color blanco.

Ejemplo 1: ESI-EM [M+NH<sub>4</sub>] 1006,7, ESI-EM [M-H] 987,8.

<sup>1</sup>H-RMN (600 MHz, cloroformo-*d*)  $\delta$  6,43 (dd,  $J = 14,9, 10,4$  Hz, 1H), 6,35 (dd,  $J = 14,9, 10,7$  Hz, 1H), 6,16 (dd,  $J = 15,1, 10,2$  Hz, 1H), 6,06 (m, 1H), 5,67 (dd,  $J = 15,2, 8,6$  Hz, 1H), 5,35 (dd,  $J = 6,4, 1,8$  Hz, 1H), 5,26 (d,  $J = 9,6$  Hz, 1H), 4,83 (td,  $J = 6,6, 4,7$  Hz, 1H), 4,12 (d,  $J = 7,4$  Hz, 1H), 3,88 (dd,  $J = 11,1, 5,1$  Hz, 1H), 3,84 - 3,77 (m, 1H), 3,63 - 3,60 (m, 2H), 3,51 (d,  $J = 7,5$  Hz, 1H), 3,46 (s, 3H), 3,45 - 3,42 (m, 3H), 3,35 (s, 3H), 3,29 - 3,14 (m, 3H), 3,06 - 2,96 (m, 2H), 2,93 (ddd,  $J = 10,4, 6,4, 1,5$  Hz, 1H), 2,44 (tt,  $J = 8,6, 6,2$  Hz, 1H), 2,37 - 2,23 (m, 4H), 2,22 - 2,14 (m, 2H), 2,03 (dt,  $J = 12,3, 3,8$  Hz, 1H), 1,96 (pd,  $J = 6,4, 5,7, 3,5$  Hz, 2H), 1,92 - 1,82 (m, 3H), 1,80 - 1,76 (m, 2H), 1,75 (d,  $J = 1,2$  Hz, 4H), 1,72 (d,  $J = 3,1$  Hz, 1H), 1,68 (d,  $J = 1,3$  Hz, 3H), 1,65 - 1,53 (m, 4H), 1,48 - 1,17 (m, 9H), 1,07 (d,  $J = 6,5$  Hz, 1H), 1,06 (s, 3H), 1,04 (d,  $J = 7,3$  Hz, 3H), 1,01 (d,  $J = 6,6$  Hz, 3H), 0,99 (dd,  $J = 6,7, 2,3$  Hz, 3H), 0,95 (d,  $J = 6,8$  Hz, 3H), 0,74 (q,  $J = 11,9$  Hz, 1H).

El segundo diastereómero de elución ( $R_f \sim 0,16$  en CCF de sílice desarrollada en acetonitrilo al 30 %-diclorometano) proporciona el diastereómero (R) del ejemplo 2 como un sólido de color blanco

Ejemplo 2: ESI-EM [M+NH<sub>4</sub>] 1006,9, ESI-EM [M-H] 988,1.

<sup>1</sup>H-RMN (Cloroformo-*d*)  $\delta$  6,48 (dd,  $J = 14,7, 10,9$  Hz, 1H), 6,24 (dd,  $J = 14,6, 10,6$  Hz, 1H), 6,16 (dd,  $J = 14,9, 10,6$  Hz, 1H), 6,01 (d,  $J = 11,0$  Hz, 1H), 5,38 (dd,  $J = 14,9, 9,8$  Hz, 1H), 5,23 (dd,  $J = 6,2, 2,0$  Hz, 1H), 5,12 (d,  $J = 9,9$  Hz, 1H), 4,73 (dd,  $J = 12,1, 2,9$  Hz, 1H), 4,65 (dt,  $J = 8,3, 3,9$  Hz, 1H), 4,14 (d,  $J = 6,7$  Hz, 1H), 3,97 (m, 1H), 3,74 (d,  $J = 6,7$  Hz, 1H), 3,62 (qd,  $J = 13,9, 12,7, 5,5$  Hz, 2H), 3,42 (s, 3H), 3,39 (m, 1H), 3,31 (s, 3H), 3,24 (ddd,  $J = 12,2, 7,5, 4,6$  Hz, 1H), 3,10 (td,  $J = 8,2, 3,8$  Hz, 1H), 3,08 (s, 1H), 3,02 - 2,97 (m, 1H), 2,97 - 2,92 (m, 1H), 2,83 - 2,71 (m, 1H), 2,42 (ddt,  $J = 13,1, 9,5, 6,4$  Hz, 1H), 2,34 (d,  $J = 4,3$  Hz, 1H), 2,31 (s, 1H), 2,28 - 2,23 (m, 1H), 2,22 - 2,19 (m, 1H), 2,19 (s, 2H), 2,12 - 2,08 (m, 2H), 2,03 - 1,99 (m, 1H), 1,90 (s, 3H), 1,88 (s, 1H), 1,79 (s, 1H), 1,77 (s, 1H), 1,76 (s, 1H), 1,72 - 1,68 (m, 1H), 1,48 (s, 1H), 1,46 (s, 1H), 1,40 (d,  $J = 3,0$  Hz, 1H), 1,38 (s, 1H), 1,66 (d,  $J = 3,0$  Hz, 2H), 1,64 (d,  $J = 2,9$  Hz, 1H), 1,62 (s, 2H), 1,62 (s, 2H), 1,58 - 1,53 (m, 1H), 1,37 (s, 1H), 1,36 (d,  $J = 2,3$  Hz, 1H), 1,33 (d,  $J = 2,9$  Hz, 1H), 1,30 (dd,  $J = 6,7, 1,8$  Hz, 1H), 1,28 (s, 2H), 1,28 (s, 2H), 1,24 (s, 1H), 1,09 (s, 1H), 1,07 (d,  $J = 6,6$  Hz, 3H), 1,05 (d,  $J = 6,6$  Hz, 3H), 1,01 (d,  $J = 3,2$  Hz, 1H), 0,95 (d,  $J = 6,8$  Hz, 3H), 0,92 (s, 1H), 0,92 - 0,90 (m, 3H), 0,88 (d,  $J = 6,8$  Hz, 2H), 0,66 (q,  $J = 12,0$  Hz, 1H).

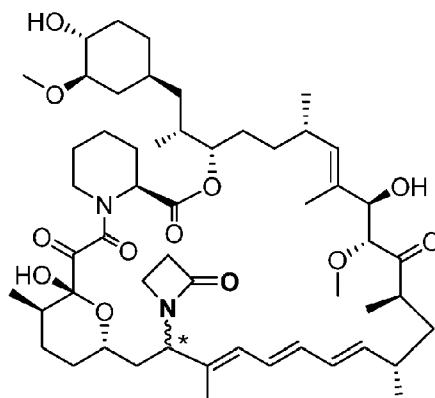
Las configuraciones absolutas de los sustituyentes en C16 en el ejemplo 1 y el ejemplo 2 se determinaron mediante cocristalización cristalográfica de rayos X con FKBP12. [Véase Stuart L. Schrieber y Jon Clardy, *et al.*, Atomic Structure of the Rapamycin Humano Immunophilin FKBP-12 Complex, J. Am. Chem. Soc., 1991, 113, 7433-7434]. Las estructuras cristalinas se representan en las figuras 1A y 1B y en las figuras 2A y 2B.

La proteína FKBP12(1-108) pura se concentró hasta 9 mg/ml en Tris 50 mM pH 8,0, NaCl 150 mM, EDTA 1 mM, TCEP 1 mM. El complejo para la cocristalización se preparó mezclando la proteína con compuesto 3 mM (a partir de una disolución madre 50 mM preparada en el 90 % de DMSO deuterado, el 10 % de D<sub>2</sub>O). El complejo se incubó durante dos horas a 4 °C, luego se centrifugó a 10000 rpm durante 2 minutos para retirar cualquier posible sedimento antes de la cristalización. Los cocristales se obtuvieron a 20 °C y mediante difusión de vapor en gota sentada usando cribado de matriz de microsemillas [Allan D'Arcy *et al.*, An automated microseed matrix-screening method for protein crystallization, Acta Cryst., (2007) D63, 550-554]. Las gotas estaban constituidas por 200 nl de disolución de proteína, 160 nl de disolución de pocillo y 40 nl disolución madre de semillas. Los cristales aparecieron en el plazo de unos pocos días en la condición A1 del elemento de cribado "Ammonium sulfate" disponible comercialmente de Qiagen. La disolución de reserva consistía en "Ammonium sulfate" 2,2 M. Los cristales se protegieron criogénicamente en disolución de reserva complementada con etilenglicol al 20 % y se ultracongelaron en nitrógeno líquido. Los datos se recopilaron en la instalación Swiss Light Source (SLS, Villigen, Suiza) en la línea de haz X10SA.

Los datos se procesaron con XDS (Kabsch, W. (2010), XDS. Acta Cryst. D, 66: 125-132). Las estructuras se determinaron mediante reemplazo molecular (Collaborative Computational Project, Number 4 (1994). Acta Cryst. D50, 760-763) usando estructuras de rayos X previas de FKBP12 como modelo de búsqueda. Se usaron los programas REFMAC (Murshudov GN, Skubák P, Lebedev AA, *et al.*, REFMAC5 for the refinement of macromolecular crystal structures. Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography. 2011;67(Pt 4):355-367) y COOT (Emsley P, Lohkamp B, Scott WG, Cowtan K. Features and development of Coot, Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography. 2010;66(Pt 4):486-501) para el refinado y la (re)construcción del modelo.

En los siguientes ejemplos, no se determinó la estereoquímica absoluta del sustituyente en C16 mediante cocristalización de rayos X y se desconoce. En algunos ejemplos, sólo se aisló y caracterizó el producto diastereomérico mayoritario a partir de la reacción. En otros ejemplos, se aisló y caracterizó cada diastereómero sin asignación estereoquímica absoluta.

## Ejemplo 3: C16-(4-oxoazetidin-2-il)-C32-desoxo-rapamicina



## 5 Ejemplo 3

\* Estereoquímica absoluta en C16 no asignada

A una disolución del producto intermedio 1 (130 mg, 0,144 mmol, 1,0 eq) y azetidin-2-ona (205 mg, 2,89 mmol, 20 eq) en acetonitrilo (3 ml) se le añadió ácido para-toluenosulfónico monohidratado (82 mg, 0,433 mmol, 3 eq). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 15 min y luego se diluyó con H<sub>2</sub>O y se extrajo con acetato de etilo. Se evaporó el extracto orgánico a presión reducida. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía HPLC preparativa (método 1) seguida de una purificación por CFS (método 1) para dar el ejemplo 3 (2,5 mg, 1,7 % de rendimiento) como un sólido de color blanco.

15

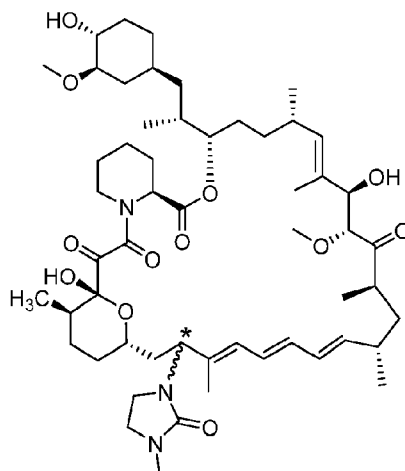
Ejemplo 3: ESI-EM [M-H] 938,0

Masa exacta: 938,59

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 6,45 (dd, J = 14,0, 11,0 Hz, 1H), 6,28 - 6,11 (m, 2H), 5,98 (d, J = 10,9 Hz, 1H), 5,95 - 5,85 (m, 1H), 5,50 (dd, J = 14,2, 9,5 Hz, 1H), 5,06 (d, J = 4,7 Hz, 1H), 5,02 - 4,97 (m, 1H), 4,94 (d, J = 9,8 Hz, 1H), 4,63 - 4,53 (m, 2H), 4,34 - 4,22 (m, 1H), 3,99 - 3,92 (m, 1H), 3,84 - 3,74 (m, 1H), 3,61 - 3,53 (m, 1H), 3,49 (d, J = 7,3 Hz, 1H), 3,46 - 3,39 (m, 1H), 3,37 - 3,25 (m, 3H), 3,22 - 3,12 (m, 4H), 3,10 - 3,04 (m, 1H), 3,04 - 2,95 (m, 1H), 2,92 - 2,65 (m, 4H), 2,27 - 2,11 (m, 2H), 2,10 - 1,99 (m, 2H), 1,96 - 1,87 (m, 1H), 1,84 - 1,70 (m, 5H), 1,69 - 1,37 (m, 15H), 1,37 - 1,05 (m, 8H), 1,03 - 0,93 (m, 4H), 0,90 (d, J = 6,4 Hz, 3H), 0,88 - 0,83 (m, 5H), 0,79 (d, J = 6,7 Hz, 3H), 0,75 (d, J = 6,7 Hz, 3H), 0,59 (q, J = 11,8 Hz, 1H).

25

## Ejemplo 4: C16-(3-metilimidazolidin-2-ona-1-il)-C32-desoxo-rapamicina



30

## Ejemplo 4

\* Estereoquímica absoluta en C16 no asignada

35

A una disolución del producto intermedio 1 (100 mg, 0,111 mmol, 1,0 eq) y 1-metilimidazolidin-2-ona (167 mg,

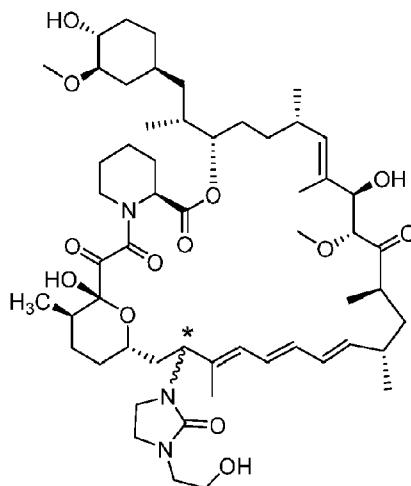
1,66 mmol, 15 eq) en DCM (2 ml) se le añadió ácido para-toluenosulfónico monohidratado (63 mg, 0,333 mmol, 3 eq). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 24 h. Se diluyó la mezcla con H<sub>2</sub>O y se extrajo con DCM. Se evaporó el extracto orgánico a presión reducida. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía HPLC preparativa (método 1) para proporcionar el ejemplo 4 (9,0 mg, 8 % de rendimiento) como un sólido de color blanco.

Ejemplo 4: ESI-EM [M-H] 966,5

Masa exacta: 967,61

<sup>1</sup>H-RMN (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 0,59 (q, J = 11,9 Hz, 1H), 0,74 (d, J = 6,7 Hz, 3H), 0,79 (d, J = 6,7 Hz, 3H), 0,80 - 0,90 (m, 8H), 0,92 - 1,00 (m, 4H), 1,04 - 1,10 (m, 1H), 1,12 - 1,34 (m, 7H), 1,34 - 1,67 (m, 14H), 1,69 (s, 3H), 1,71 - 1,78 (m, 2H), 1,88 - 1,94 (m, 1H), 1,96 - 2,08 (m, 3H), 2,10 - 2,25 (m, 2H), 2,60 - 2,69 (m, 4H), 2,80 - 2,94 (m, 2H), 3,07 - 3,20 (m, 5H), 3,21 - 3,26 (m, 2H), 3,33 (s, 3H), 3,41 - 3,48 (m, 1H), 3,56 - 3,66 (m, 3H), 3,99 (dd, J = 6,5, 3,5 Hz, 1H), 4,53 - 4,63 (m, 3H), 4,95 - 5,00 (m, 2H), 5,07 (d, J = 4,8 Hz, 1H), 5,35 (s, 1H), 5,45 (dd, J = 14,9, 9,8 Hz, 1H), 5,98 (d, J = 11,0 Hz, 1H), 6,15 (dd, J = 14,8, 10,7 Hz, 1H), 6,23 (dd, J = 14,6, 10,7 Hz, 1H), 6,44 (dd, J = 14,6, 11,0 Hz, 1H).

Ejemplo 5: C16-(2-hidroxietil)-2-oxoimidazolidin-1-il)-C32-desoxo-rapamicina



Ejemplo 5

\* Estereoquímica absoluta en C16 no asignada

A una disolución del producto intermedio 1 (100 mg, 0,111 mmol, 1,0 eq) y 1-(2-hidroxietil)imidazolidin-2-ona (289 mg, 1,66 mmol, 15 eq) en DCM (2 ml) se le añadió ácido 4-metilbencenosulfónico monohidratado (119 mg, 0,626 mmol, 3 eq). Se agitó la reacción a temperatura ambiente durante la noche. Se diluyó la reacción con H<sub>2</sub>O y se extrajo con DCM. Se evaporó el extracto orgánico a presión reducida. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía HPLC preparativa (método 1) seguida de HPLC preparativa quiral (método 2) para producir el ejemplo 5 (13,7 mg, 12 % de rendimiento) como un sólido de color blanco.

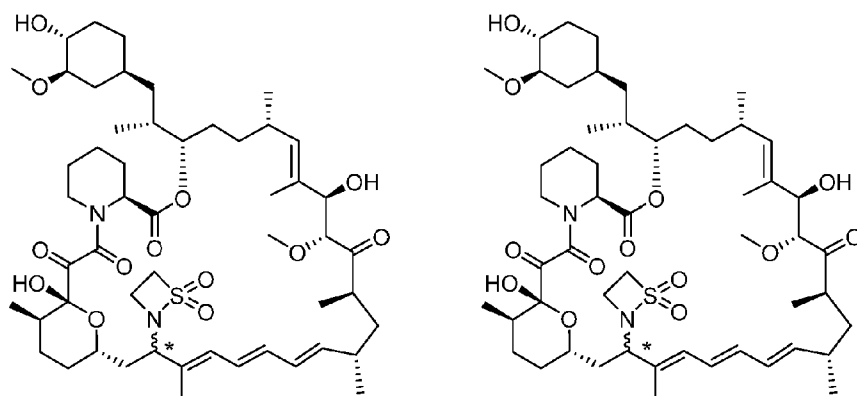
Ejemplo 5: ESI-EM [M+H] 998,5

Masa exacta: 997,62

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 6,45 (dd, J = 14,3, 11,0 Hz, 1H), 6,23 (dd, J = 14,3, 10,6 Hz, 1H), 6,14 (dd, J = 14,6, 10,6 Hz, 1H), 5,98 (d, J = 10,9 Hz, 1H), 5,44 (dd, J = 14,5, 9,8 Hz, 1H), 5,28 (s, 1H), 5,07 (d, J = 4,7 Hz, 1H), 5,02 - 4,96 (m, 2H), 4,67 (t, J = 5,3 Hz, 1H), 4,64 - 4,53 (m, 3H), 4,03 - 3,96 (m, 1H), 3,71 - 3,57 (m, 3H), 3,52 - 3,42 (m, 2H), 3,42 - 3,29 (m, 6H), 3,22 - 3,07 (m, 7H), 2,95 - 2,79 (m, 2H), 2,71 - 2,56 (m, 1H), 2,27 - 1,87 (m, 6H), 1,80 - 1,36 (m, 20H), 1,36 - 1,12 (m, 6H), 1,11 - 1,02 (m, 1H), 1,00 - 0,91 (m, 4H), 0,91 - 0,76 (m, 11H), 0,74 (d, J = 6,7 Hz, 3H), 0,59 (q, J = 11,9 Hz, 1H).

Ejemplo 6: C16-(1,1-dioxido-1,2-tiazetidín-2-il)-C32-desoxo-rapamicina (diastereómero 1)

Ejemplo 7: C16-(1,1-dioxido-1,2-tiazetidín-2-il)-C32-desoxo-rapamicina (diastereómero 2)



Ejemplo 6 y ejemplo 7

5 \* Estereoquímica absoluta en C16 no asignada

Diastereómero 1: a una disolución del producto intermedio 1 (150 mg, 0,167 mmol, 1,0 eq) y 1,1-dióxido de 1,2-tiazetidina (89 mg, 0,833 mmol, 5 eq) en DCM (3 ml) se le añadió cloruro de zinc(II) (disolución 1 M en dietil éter, 0,5 ml, 0,500 mmol, 3 eq) a 0 °C. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 2 h. Se diluyó la mezcla con H<sub>2</sub>O y se extrajo con acetato de etilo. Se evaporó el extracto orgánico a presión reducida. Se separó el producto en bruto de la mezcla diastereomérica mediante cromatografía ultrarrápida (sílice; MeCN/DCM de 0:100 a 100:0).

La purificación final del primer diastereómero de elución mediante HPLC preparativa (método 2) produjo el ejemplo 6 (18 mg, 10,7 % de rendimiento) como un sólido de color blanco.

Ejemplo 6: ESI-EM [M+NH<sub>4</sub>] 992,6, [M+FA-H] 1019,6.

Masa exacta: 974,55

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, cloroformo-*d*) δ 6,39 (dd, J = 14,8, 9,8 Hz, 1H), 6,34 (dd, J = 14,8, 10,3 Hz, 1H), 6,18 - 6,10 (m, 1H), 6,02 (d, J = 10,3, 1,5 Hz, 1H), 5,66 (dd, J = 15,1, 8,6 Hz, 1H), 5,38 (s, 1H), 5,32 (dd, J = 6,4, 1,8 Hz, 1H), 5,23 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 4,87 - 4,76 (m, 1H), 4,12 - 4,06 (m, 1H), 3,99 (ddd, J = 12,0, 8,2, 6,2 Hz, 1H), 3,92 - 3,86 (m, 1H), 3,84 (dd, J = 10,7, 4,4 Hz, 1H), 3,81 - 3,74 (m, 1H), 3,63 - 3,59 (m, 2H), 3,59 (d, J = 3,6 Hz, 1H), 3,46 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 3,43 (s, 3H), 3,40 - 3,37 (m, 1H), 3,32 (s, 3H), 3,04 (ddd, J = 8,2, 5,8, 3,8 Hz, 1H), 3,00 - 2,94 (m, 1H), 2,94 - 2,89 (m, 1H), 2,88 - 2,84 (m, 1H), 2,64 (d, J = 6,7 Hz, 1H), 2,47 - 2,38 (m, 1H), 2,36 - 2,27 (m, 2H), 2,21 - 2,12 (m, 1H), 2,03 - 1,97 (m, 1H), 1,95 - 1,77 (m, 7H), 1,76 - 1,67 (m, 5H), 1,65 (s, 3H), 1,60 - 1,50 (m, 6H), 1,47 - 1,39 (m, 2H), 1,38 - 1,27 (m, 4H), 1,25 - 1,10 (m, 3H), 1,08 - 1,04 (m, 1H), 1,03 - 1,01 (m, 3H), 1,00 (d, J = 1,4 Hz, 3H), 0,99 - 0,97 (m, 3H), 0,97 (d, J = 6,6 Hz, 3H), 0,93 (d, J = 6,8 Hz, 3H), 0,75 - 0,66 (m, 1H).

La purificación final del segundo diastereómero de elución usando cromatografía CFS (método 2) produjo el ejemplo 7 (15,8 mg, 9,2 % de rendimiento) como un sólido de color blanco.

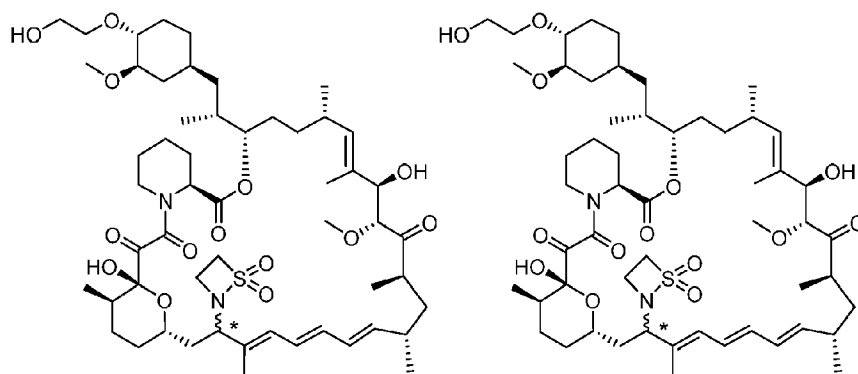
Ejemplo 7: ESI-EM [M+NH<sub>4</sub>] 992,7, [M+FA-H] 1019,6

Masa exacta: 974,55

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, cloroformo-*d*) δ 6,46 (dd, J = 14,2, 10,9 Hz, 1H), 6,22 (dd, J = 14,2, 10,6 Hz, 1H), 6,14 (dd, J = 14,5, 10,6 Hz, 1H), 6,00 (d, J = 10,9 Hz, 1H), 5,38 (dd, J = 14,5, 9,6 Hz, 1H), 5,27 - 5,19 (m, 1H), 5,12 - 5,05 (m, 1H), 4,66 - 4,59 (m, 1H), 4,59 - 4,53 (m, 1H), 4,25 (d, J = 1,8 Hz, 1H), 4,17 - 4,06 (m, 3H), 4,02 (ddd, J = 11,8, 8,0, 3,5 Hz, 1H), 3,66 (d, J = 7,0 Hz, 1H), 3,60 - 3,52 (m, 2H), 3,43 - 3,34 (m, 4H), 3,28 (s, 3H), 3,17 - 3,07 (m, 1H), 3,03 - 2,95 (m, 1H), 2,95 - 2,89 (m, 1H), 2,84 - 2,73 (m, 1H), 2,65 - 2,62 (m, 1H), 2,35 - 2,26 (m, 1H), 2,27 - 2,21 (m, 1H), 2,21 - 2,12 (m, 3H), 2,12 - 2,05 (m, 1H), 2,02 - 1,98 (m, 1H), 1,97 - 1,95 (m, 3H), 1,91 - 1,83 (m, 1H), 1,82 - 1,70 (m, 3H), 1,70 - 1,51 (m, 10H), 1,50 - 1,17 (m, 10H), 1,11 - 1,06 (m, 1H), 1,06 - 1,02 (m, 6H), 1,01 - 0,96 (m, 1H), 0,93 (d, J = 6,8 Hz, 4H), 0,89 (d, J = 6,6 Hz, 3H), 0,86 (d, J = 6,8 Hz, 3H), 0,64 (q, J = 11,9 Hz, 1H).

Ejemplo 8: C16-(1,1-dioxido-1,2-tiazetidín-2-il)-C32-desoxo-C40-(2-hidroxi-etoxi)-rapamicina (diastereómero 1)

Ejemplo 9: C16-(1,1-dioxido-1,2-tiazetidín-2-il)-C32-desoxo-C40-(2-hidroxi-etoxi)-rapamicina (diastereómero 2)



## Ejemplo 8 y ejemplo 9

## 5 \* Estereoquímica absoluta en C16 no asignada

A una disolución del producto intermedio 3 (50 mg, 0,053 mmol, 1,0 eq) y 1,1-dióxido de 1,2-tiazetidina (56,7 mg, 0,530 mmol, 10 eq) en DCM (1 ml) se le añadió cloruro de zinc(II) (disolución 1 M en dietil éter, 0,265 ml, 0,265 mmol, 5 eq). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 1,5 horas. Se diluyó la reacción con H<sub>2</sub>O y se extrajo con acetato de etilo. Se evaporó el extracto orgánico a presión reducida. Se separó el producto en bruto de la mezcla diastereomérica mediante cromatografía ultrarrápida (sílice; MeCN/DCM de 0:100 a 100:0).

La purificación final del primer diastereómero de elución usando HPLC preparativa (método 2) produjo el ejemplo 8 (3,1 mg, 5,5 % de rendimiento) como un sólido de color blanco.

Ejemplo 8: ESI-EM [M+NH<sub>4</sub>] 1037,0, [M+FA-H] 1064,1

Masa exacta: 1018,58

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 6,53 - 6,44 (m, 1H), 6,41 (dd, J = 11,0, 5,6 Hz, 1H), 6,29 - 6,14 (m, 2H), 6,07 (dd, J = 11,0, 1,5 Hz, 1H), 5,54 (dd, J = 14,6, 9,1 Hz, 1H), 5,06 (d, J = 8,9 Hz, 1H), 4,99 - 4,93 (m, 1H), 4,92 - 4,83 (m, 1H), 4,70 - 4,60 (m, 1H), 4,49 - 4,42 (m, 1H), 4,13 - 4,02 (m, 3H), 3,92 - 3,86 (m, 1H), 3,69 - 3,64 (m, 1H), 3,59 - 3,54 (m, 1H), 3,52 - 3,42 (m, 5H), 3,33 (s, 3H), 3,30 - 3,27 (m, 1H), 3,13 (s, 3H), 3,10 - 3,02 (m, 2H), 3,02 - 2,94 (m, 2H), 2,90 - 2,80 (m, 1H), 2,30 - 2,21 (m, 1H), 2,21 - 2,10 (m, 1H), 2,10 - 2,00 (m, 2H), 2,00 - 1,87 (m, 3H), 1,82 (s, 3H), 1,81 - 1,62 (m, 6H), 1,58 - 1,54 (m, 1H), 1,53 - 1,47 (m, 5H), 1,47 - 1,35 (m, 5H), 1,36 - 1,23 (m, 2H), 1,23 - 1,09 (m, 4H), 1,06 - 1,01 (m, 1H), 1,01 - 0,95 (m, 6H), 0,90 - 0,87 (m, 1H), 0,87 - 0,83 (m, 3H), 0,81 (d, J = 6,7 Hz, 3H), 0,76 - 0,70 (m, 4H), 0,68 - 0,60 (m, 1H).

La purificación final del segundo diastereómero de elución usando HPLC preparativa (método 2) produjo el ejemplo 9 (2,8 mg, 4,9 % de rendimiento) como un sólido de color blanco.

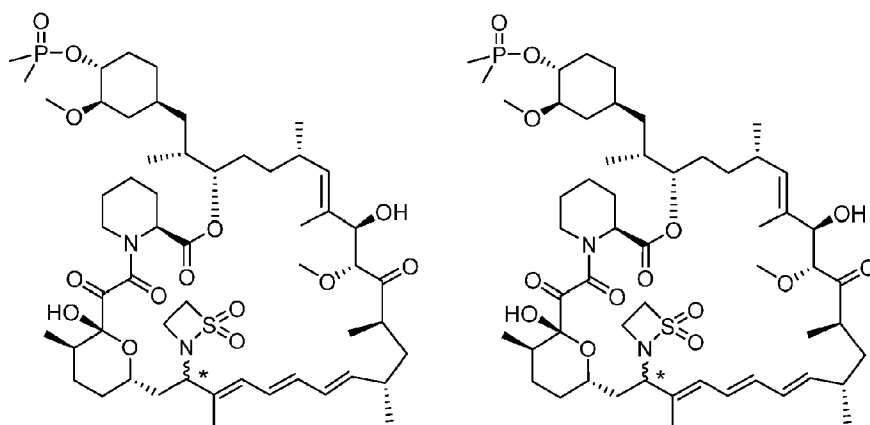
Ejemplo 9: ESI-EM [M+NH<sub>4</sub>] 1037,2, [M+FA-H] 1064,3

Masa exacta: 1018,58

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 6,48 - 6,40 (m, 1H), 6,27 - 6,19 (m, 1H), 6,19 - 6,13 (m, 1H), 6,10 - 6,05 (m, 1H), 5,52 (dd, J = 14,2, 9,3 Hz, 1H), 5,13 - 5,00 (m, 2H), 4,96 (d, J = 9,4 Hz, 1H), 4,67 - 4,57 (m, 1H), 4,48 - 4,40 (m, 1H), 4,17 - 4,10 (m, 2H), 4,10 - 4,02 (m, 2H), 3,98 - 3,90 (m, 1H), 3,56 - 3,49 (m, 2H), 3,50 - 3,43 (m, 4H), 3,37 (d, J = 11,2 Hz, 1H), 3,33 (s, 3H), 3,23 - 3,15 (m, 1H), 3,15 - 3,10 (m, 4H), 3,07 - 2,95 (m, 2H), 2,75 - 2,64 (m, 1H), 2,27 - 2,14 (m, 2H), 2,11 - 2,00 (m, 2H), 2,00 - 1,89 (m, 3H), 1,82 (s, 3H), 1,76 - 1,65 (m, 2H), 1,65 - 1,56 (m, 3H), 1,56 - 1,49 (m, 7H), 1,48 - 1,36 (m, 3H), 1,34 - 1,23 (m, 3H), 1,23 - 1,04 (m, 5H), 1,01 - 0,94 (m, 4H), 0,90 (d, J = 6,4 Hz, 3H), 0,88 - 0,83 (m, 5H), 0,80 (d, J = 6,7 Hz, 3H), 0,75 (d, J = 6,7 Hz, 3H), 0,62 (q, J = 11,8 Hz, 1H).

Ejemplo 10: C16-(1,1-dioxido-1,2-tiazetidina-2-il)-C32-desoxo-C40-dimetilfosfinil-rapamicina (diastereómero 1)

Ejemplo 11: C16-(1,1-dioxido-1,2-tiazetidina-2-il)-C32-desoxo-C40-dimetilfosfinil-rapamicina (diastereómero 2)



Ejemplo 10 y ejemplo 11

5 \* Estereoquímica absoluta en C16 no asignada

A una disolución del producto intermedio 4 (100 mg, 0,102 mmol, 1,0 eq) y 1,1-dióxido de 1,2-tiazetidina (54,9 mg, 0,512 mmol, 5 eq) en DCM (5 ml) se le añadió cloruro de zinc(II) (disolución 1 M en dietil éter, 0,512 ml, 0,512 mmol, 5 eq). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 15 minutos. Se diluyó la reacción con H<sub>2</sub>O y se extrajo con acetato de etilo. Se evaporó el extracto orgánico a presión reducida. Se separó el producto en bruto de la mezcla diastereomérica mediante cromatografía CFS (método 3).

La purificación final del primer diastereómero de elución usando HPLC preparativa (método 2) produjo el ejemplo 10 (20,7 mg, 18,8 % de rendimiento) como un sólido de color blanco.

Ejemplo 10: ESI-EM [M+H] 1051,9, [M+FA-H] 1096,0

Masa exacta: 1050,56

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 6,49 - 6,39 (m, 2H), 6,30 - 6,14 (m, 2H), 6,11 - 6,01 (m, 1H), 5,60 - 5,50 (m, 1H), 5,06 - 5,00 (m, 1H), 4,98 - 4,93 (m, 1H), 4,87 (d, J = 9,7 Hz, 1H), 4,67 - 4,58 (m, 1H), 4,17 - 4,01 (m, 3H), 4,01 - 3,92 (m, 1H), 3,92 - 3,85 (m, 1H), 3,73 - 3,64 (m, 1H), 3,60 - 3,52 (m, 1H), 3,50 - 3,42 (m, 1H), 3,35 - 3,26 (m, 4H), 3,15 - 3,12 (m, 3H), 3,11 - 3,01 (m, 2H), 3,01 - 2,95 (m, 1H), 2,88 - 2,79 (m, 1H), 2,29 - 2,20 (m, 1H), 2,20 - 2,12 (m, 1H), 2,10 - 1,99 (m, 2H), 1,99 - 1,87 (m, 3H), 1,82 (s, 3H), 1,80 - 1,71 (m, 1H), 1,71 - 1,62 (m, 4H), 1,58 - 1,54 (m, 1H), 1,52 - 1,48 (m, 5H), 1,47 - 1,31 (m, 13H), 1,28 - 1,11 (m, 4H), 1,07 - 1,02 (m, 1H), 1,01 - 0,95 (m, 8H), 0,87 - 0,84 (m, 3H), 0,82 (d, J = 6,7 Hz, 3H), 0,79 - 0,76 (m, 1H), 0,74 (d, J = 6,7 Hz, 3H), 0,72 - 0,66 (m, 1H).

La purificación final del segundo diastereómero de elución usando HPLC preparativa (método 2) produjo el ejemplo 11 (13,4 mg, 12,2 % de rendimiento) como un sólido de color blanco.

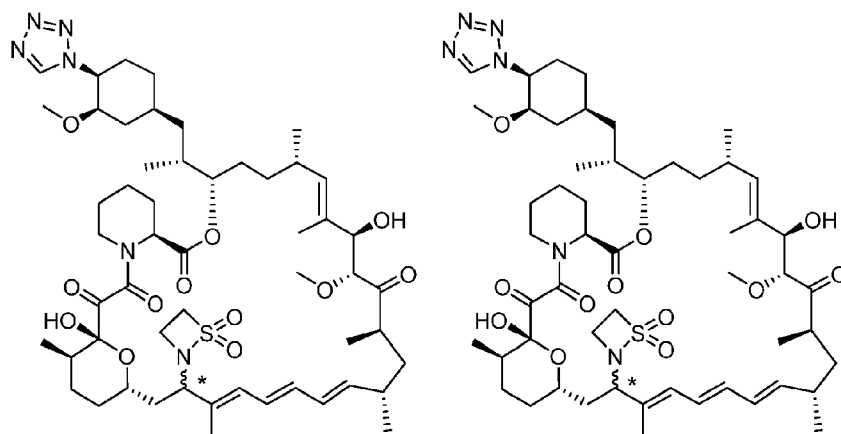
Ejemplo 11: ESI-EM [M+H] 1051,8, [M+FA-H] 1095,8

Masa exacta: 1050,56

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 6,51 - 6,39 (m, 1H), 6,28 - 6,13 (m, 2H), 6,08 (d, J = 11,1 Hz, 1H), 6,04 - 5,88 (m, 1H), 5,57 - 5,46 (m, 1H), 5,05 (s, 1H), 5,03 (d, J = 5,7 Hz, 1H), 4,96 (d, J = 9,9 Hz, 1H), 4,67 - 4,56 (m, 1H), 4,18 - 4,11 (m, 2H), 4,09 - 4,02 (m, 2H), 3,99 - 3,89 (m, 2H), 3,60 - 3,49 (m, 2H), 3,37 (d, J = 13,3 Hz, 1H), 3,30 (s, 3H), 3,18 (dt, J = 7,7, 5,1 Hz, 1H), 3,15 - 3,11 (m, 4H), 3,07 - 3,00 (m, 1H), 2,73 - 2,63 (m, 1H), 2,28 - 2,13 (m, 2H), 2,13 - 2,05 (m, 2H), 2,05 - 1,97 (m, 2H), 1,97 - 1,88 (m, 1H), 1,83 (s, 3H), 1,80 - 1,69 (m, 1H), 1,68 - 1,58 (m, 4H), 1,58 - 1,48 (m, 7H), 1,48 - 1,43 (m, 1H), 1,42 - 1,34 (m, 10H), 1,34 - 1,28 (m, 1H), 1,28 - 1,22 (m, 2H), 1,22 - 1,13 (m, 2H), 1,13 - 1,03 (m, 1H), 1,03 - 0,94 (m, 5H), 0,94 - 0,88 (m, 4H), 0,86 (d, J = 6,5 Hz, 3H), 0,81 (d, J = 6,7 Hz, 3H), 0,75 (d, J = 6,6 Hz, 3H), 0,66 (q, J = 12,0 Hz, 1H).

Ejemplo 12: C16-(1,1-dioxido-1,2-tiazetidin-2-il)-C32-desoxo-C40-(S)-(1H-tetrazol-1-il)-rapamicina (diastereómero 1)

Ejemplo 13: C16-(1,1-dioxido-1,2-tiazetidin-2-il)-C32-desoxo-C40-(S)-(1H-tetrazol-1-il)-rapamicina (diastereómero 2)



Ejemplo 12 y ejemplo 13

5 \* Estereoquímica absoluta en C16 no asignada

A una disolución del producto intermedio 5 (118 mg, 0,124 mmol, 1,0 eq) y 1,1-dióxido de 1,2-tiazetidina (66,4 mg, 0,620 mmol, 5 eq) en DCM (6 ml) se le añadió cloruro de zinc(II) (disolución 1 M en dietil éter, 0,620 ml, 0,620 mmol, 5 eq). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante tres horas. Se diluyó la reacción con H<sub>2</sub>O y se extrajo con acetato de etilo. Se evaporó el extracto orgánico a presión reducida. Se separó el producto en bruto de la mezcla diastereomérica mediante cromatografía CFS (método 3).

La purificación final del primer diastereómero de elución usando HPLC preparativa (método 2) produjo el ejemplo 12 (14,8 mg, 11,3 % de rendimiento) como un sólido de color blanco.

15 Ejemplo 12: ESI-EM [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup> 1050,0, [M+FA-H]<sup>-</sup> 1072,1

Masa exacta: 1026,57

20 <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9,32 (s, 1H), 6,52 (s, 1H), 6,45 - 6,37 (m, 1H), 6,31 - 6,14 (m, 2H), 6,10 - 6,04 (m, 1H), 5,60 - 5,49 (m, 1H), 5,23 - 5,12 (m, 1H), 5,07 - 5,01 (m, 1H), 4,99 - 4,93 (m, 1H), 4,87 (d, J = 9,7 Hz, 1H), 4,69 - 4,59 (m, 1H), 4,15 - 4,02 (m, 3H), 3,94 - 3,84 (m, 1H), 3,72 - 3,54 (m, 3H), 3,51 - 3,42 (m, 1H), 3,27 (s, 4H), 3,11 (s, 3H), 3,07 (dd, J = 7,3, 5,1 Hz, 1H), 3,01 - 2,91 (m, 1H), 2,85 (td, J = 10,6, 9,5, 4,7 Hz, 1H), 2,28 - 2,13 (m, 3H), 2,10 - 2,00 (m, 2H), 1,98 - 1,88 (m, 3H), 1,82 (s, 3H), 1,80 - 1,75 (m, 1H), 1,73 - 1,67 (m, 4H), 1,59 - 1,53 (m, 4H), 1,53 - 1,45 (m, 6H), 1,45 - 1,34 (m, 3H), 1,33 - 1,20 (m, 3H), 1,20 - 1,07 (m, 3H), 1,05 - 1,01 (m, 1H), 1,00 - 0,94 (m, 6H), 0,88 - 0,82 (m, 6H), 0,80 - 0,75 (m, 1H), 0,73 (d, J = 6,7 Hz, 3H).

La purificación final del segundo diastereómero de elución usando HPLC preparativa (método 2) produjo el ejemplo 13 (12,3 mg, 9,4 % de rendimiento) como un sólido de color blanco.

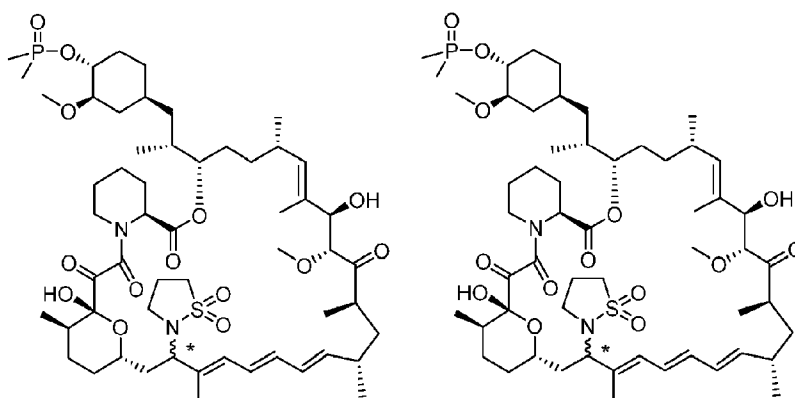
30 Ejemplo 13: ESI-EM [M+H]<sup>+</sup> 1027,7, [M-H]<sup>-</sup> 1025,6, [M+FA-H]<sup>-</sup> 1071,6

Masa exacta: 1026,57

35 <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9,30 (s, 1H), 6,52 - 6,38 (m, 1H), 6,28 - 6,14 (m, 2H), 6,08 (d, J = 11,1 Hz, 1H), 5,58 - 5,42 (m, 1H), 5,21 - 5,14 (m, 1H), 5,10 - 5,00 (m, 2H), 5,00 - 4,92 (m, 1H), 4,69 - 4,57 (m, 1H), 4,16 - 4,10 (m, 3H), 4,08 - 4,01 (m, 1H), 3,97 - 3,91 (m, 1H), 3,61 (dt, J = 10,6, 4,1 Hz, 1H), 3,57 - 3,51 (m, 1H), 3,51 - 3,46 (m, 1H), 3,46 - 3,36 (m, 1H), 3,27 (s, 3H), 3,19 - 3,15 (m, 1H), 3,12 (s, 3H), 3,11 - 3,08 (m, 1H), 2,80 - 2,68 (m, 1H), 2,25 - 2,15 (m, 3H), 2,10 - 2,01 (m, 2H), 2,01 - 1,89 (m, 2H), 1,83 (s, 3H), 1,79 - 1,65 (m, 4H), 1,64 - 1,58 (m, 2H), 1,57 - 1,54 (m, 2H), 1,54 - 1,47 (m, 7H), 1,46 - 1,35 (m, 3H), 1,32 - 1,18 (m, 5H), 1,14 - 1,04 (m, 3H), 0,98 (d, J = 6,6 Hz, 3H), 0,91 - 0,85 (m, 7H), 0,83 (d, J = 6,7 Hz, 3H), 0,72 (d, J = 6,6 Hz, 3H).

Ejemplo 14: C16-(1,1-dioxidoisotiazolidin-2-il)-C32-desoxo-C40-dimetilfosfinil-rapamicina (diastereómero 1)

45 Ejemplo 15: C16-(1,1-dioxidoisotiazolidin-2-il)-C32-desoxo-C40-dimetilfosfinil-rapamicina (diastereómero 2)



Ejemplo 14 y ejemplo 15

5 \* Estereoquímica absoluta en C16 no asignada

Se disolvieron el producto intermedio 4 (0,146 g, 0,150 mmol) y 1,1-dióxido de isotiazolidina (0,181 g, 1,496 mmol) en acetonitrilo anhidro (1,5 ml). Se añadió ácido para-toluenosulfónico monohidratado (2,84 mg, 0,015 mmol) en una porción. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante dos horas.

10 Se añadió  $\text{NaHCO}_3$  acuoso saturado. Se extrajo la mezcla varias veces con acetato de etilo. Se combinaron los extractos orgánicos, se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se decantaron y se concentraron para dar un producto en bruto de tipo breña incoloro.

15 Se disolvió el producto en bruto en MeOH (2,5 ml) y se purificó en una inyección mediante cromatografía de fase inversa a escala preparativa (acetonitrilo al 40-90 %-agua más modificador de TFA al 0,1 % en columna C18 ISCO de 100 g).

20 Se agruparon las fracciones del primer pico de elución y se redujeron hasta aproximadamente 1/3 del volumen en un evaporador rotatorio. Se basificó la disolución restante con  $\text{NaHCO}_3$  acuoso saturado y se extrajo varias veces con EtOAc. Se combinaron los extractos orgánicos, se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se decantaron y se concentraron para dar el ejemplo 14 (0,055 g, 0,044 mmol, 29,3 % de rendimiento) como un sólido de color blanco.

25 Ejemplo 14: ESI-EM  $[\text{M}+\text{NH}_4]$  1082,8,  $[\text{M}-\text{H}]$  1063,7.

EMAR: Calculado para  $\text{C}_{55}\text{H}_{89}\text{N}_2\text{O}_{14}\text{PSNa}$  como aducto de sodio: 1087,5670. Hallado: 1087,5725.

30  $^1\text{H}$ -RMN (400 MHz, cloroformo- $d$ )  $\delta$  6,45 (dd,  $J = 14,4, 10,9$  Hz, 1H), 6,22 (dd,  $J = 14,5, 10,6$  Hz, 1H), 6,13 (dd,  $J = 14,6, 10,5$  Hz, 1H), 5,98 (d,  $J = 10,8$  Hz, 1H), 5,35 (dd,  $J = 14,7, 9,8$  Hz, 1H), 5,23 - 5,17 (m, 1H), 5,10 (d,  $J = 9,8$  Hz, 1H), 4,67 (m, 2H), 4,47 (d,  $J = 1,8$  Hz, 1H), 4,18 - 4,04 (m, 2H), 4,03 - 3,91 (m, 1H), 3,72 (d,  $J = 6,5$  Hz, 1H), 3,68 - 3,48 (m, 2H), 3,38 (m, 4H), 3,28 (s, 3H), 3,26 - 3,12 (m, 2H), 3,12 - 2,91 (m, 4H), 2,74 (m, 1H), 2,48 - 2,26 (m, 3H), 2,26 - 2,12 (m, 3H), 2,12 - 2,04 (m, 2H), 1,87 (s, 3H), 1,85 - 1,72 (m, 4H), 1,72 - 1,54 (m, 12H), 1,54 - 1,43 (m, 6H), 1,43 - 1,33 (m, 3H), 1,33 - 1,21 (m, 2H), 1,21 - 1,09 (m, 2H), 1,03 (m, 7H), 1,00 - 0,78 (m, 9H), 0,72 (q,  $J = 11,9$  Hz, 1H).

40 Se agruparon las fracciones del segundo pico de elución y se redujeron hasta aproximadamente 1/3 del volumen en el evaporador rotatorio. Se basificó la disolución restante con  $\text{NaHCO}_3$  acuoso saturado. Se extrajo la mezcla varias veces con acetato de etilo. Se combinaron los extractos orgánicos, se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se decantaron y se concentraron para dar el ejemplo 15 (0,010 g, 7,51  $\mu\text{mol}$ , 5,02 % de rendimiento) como un sólido de color blanco.

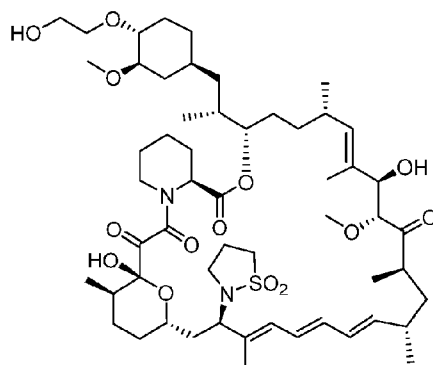
Ejemplo 15: ESI-EM  $[\text{M}+\text{NH}_4]$  1082,8,  $[\text{M}-\text{H}]$  1063,8.

45  $^1\text{H}$ -RMN (400 MHz, cloroformo- $d$ )  $\delta$  6,36 (dd,  $J = 19,2, 10,3$  Hz, 1H), 6,13 (m, 1H), 6,04 - 5,84 (m, 1H), 5,65 (m, 1H), 5,32 (m, 1H), 6,21 (m, 1H), 5,11 (m, 1H), 4,81 (dd,  $J = 13,7, 7,5$  Hz, 1H), 4,21 - 4,03 (m, 1H), 3,83 (dd,  $J = 15,2, 5,1$  Hz, 2H), 3,74 (d,  $J = 13,2$  Hz, 1H), 3,59 (dq,  $J = 10,9, 6,8, 5,6$  Hz, 2H), 3,52 (d,  $J = 7,1$  Hz, 1H), 3,46 - 3,33 (m, 7H), 3,30 (m, 3H), 3,18 (m, 3H), 3,10 - 2,82 (m, 3H), 2,39 (t,  $J = 4,1$  Hz, 1H), 2,28 (m, 3H), 2,14 (m, 3H), 1,90-1,77 (m, 4H), 1,74 (m, 4H), 1,66 (d,  $J = 10,4$  Hz, 3H), 1,61 - 1,41 (m, 12H), 1,34 - 1,19 (m, 5H), 1,18 - 1,11 (m, 1H), 1,11 - 0,79 (m, 19H), 0,78 - 0,68 (m, 1H).

50



Ejemplo 16: (R)-C16-(1,1-dioxidoisotiazolidin-2-il)-C32-desoxo-C40-(2-hidroxi-etoxi)-rapamicina



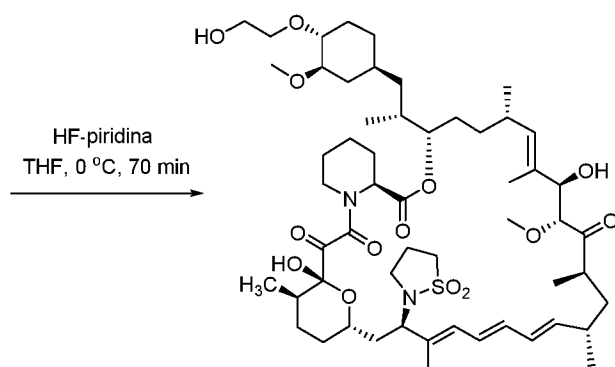
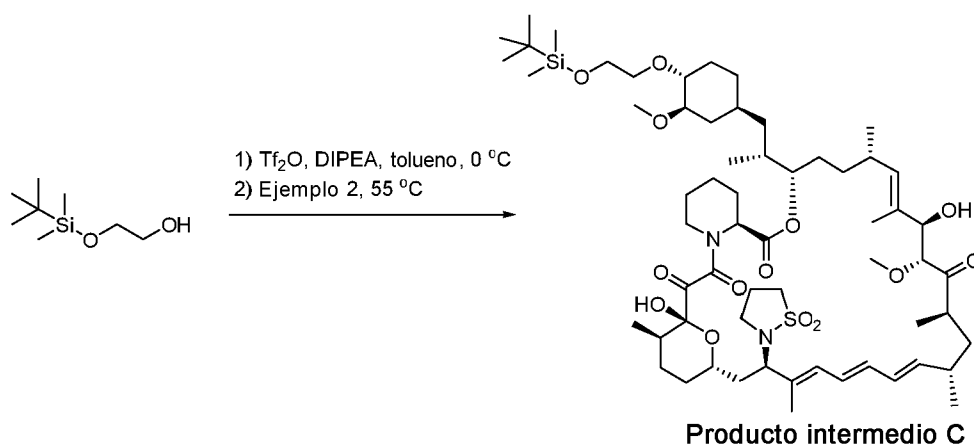
Ejemplo 16

5

Se sabe que la estereoquímica absoluta en C16 es (R) basándose en el uso del ejemplo 2 como material de partida.

10

Se preparó el ejemplo 16 en un procedimiento de dos etapas a partir de 2-((terc-butildimetilsilil)oxi)etanol y ejemplo 2.



Ejemplo 16

15

*Etapas 1. Preparación del producto intermedio C*

20

Se disolvió 2-((terc-butildimetilsilil)oxi)etanol (0,142 g, 0,803 mmol) en tolueno anhidro (0,4 ml). Se añadió *N,N*-diisopropiletilamina (0,147 ml, 0,843 mmol) mediante una jeringa. Se purgó a vacío la mezcla con nitrógeno, luego se enfrió hasta 0 °C en un baño de agua helada. Se añadió anhídrido triflico (0,132 ml, 0,779 mmol) mediante una jeringa durante un periodo de 60 segundos. Se agitó la reacción a 0 °C durante 30 minutos.

Se añadieron *N,N*-diisopropiletilamina (0,147 ml, 0,843 mmol), tolueno (0,5 ml) y ejemplo 2 (0,198 g, 0,200 mmol). Se retiró el baño de hielo y se agitó la reacción durante la noche a 40 °C y luego durante una hora a 55 °C.

Se diluyó la reacción con  $\text{NaHCO}_3$  acuoso saturado y se extrajo cuatro veces con EtOAc. Se combinaron los extractos orgánicos, se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtraron a vacío a través de Celite y se concentraron para dar un aceite incoloro como producto en bruto.

Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía ultrarrápida en columna de gel de sílice (acetona al 0-40 %-heptano, elución en gradiente, columna de 12 g de sílice, CCF en acetona al 30 %-heptano, visualizar bajo UV) para dar el producto intermedio C (0,077 g, 0,067 mmol, 33,5 % de rendimiento) como un sólido de color blanco.

Producto intermedio C: ESI-EM  $[\text{M}+\text{NH}_4]$  1164,7,  $[\text{M}-\text{H}]$  1147,0.

#### *Etapas 2. Preparación del ejemplo 16*

Se combinó el producto intermedio C (0,077 g, 0,067 mmol) con piridina (5,43  $\mu\text{l}$ , 0,067 mmol) en THF anhidro (0,7 ml). Se purgó a vacío la mezcla dos veces con nitrógeno y luego se enfrió hasta 0 °C en un baño de agua helada. Se añadió HF-piridina (0,086 ml, 0,671 mmol) gota a gota mediante una jeringa durante un periodo de 15 segundos. Se agitó la reacción a 0 °C durante 70 minutos.

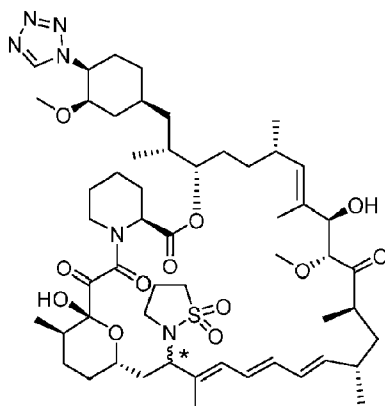
Se extinguió la reacción con  $\text{NaHCO}_3$  acuoso saturado y se extrajo varias veces con EtOAc. Se combinaron los extractos orgánicos, se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtraron a vacío a través de Celite y se concentraron para dar un producto en bruto sólido de color blanco.

Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía ultrarrápida en columna de gel de sílice (acetona al 0-40 %-heptano, elución en gradiente, columna de 12 g de sílice, CCF en EtOAc al 40 %-heptano, visualizar bajo UV) para dar el ejemplo 16 (0,049 g, 0,046 mmol, 69,0 % de rendimiento) como un sólido de color blanco.

Ejemplo 16: ESI-EM  $[\text{M}+\text{NH}_4]$  1050,9,  $[\text{M}-\text{H}]$  1031,9.

$^1\text{H}$ -RMN (600 MHz, cloroformo- $d$ )  $\delta$  6,45 (dd,  $J = 14,6, 10,9$  Hz, 1H), 6,22 (dd,  $J = 14,7, 10,6$  Hz, 1H), 6,13 (dd,  $J = 14,9, 10,6$  Hz, 1H), 5,98 (d,  $J = 10,9$  Hz, 1H), 5,35 (dd,  $J = 14,9, 9,8$  Hz, 1H), 5,20 (d,  $J = 5,9$  Hz, 1H), 5,09 (d,  $J = 9,9$  Hz, 1H), 4,71 (d,  $J = 12,3$  Hz, 1H), 4,62 (m, 1H), 4,46 (s, 1H), 4,11 (d,  $J = 6,8$  Hz, 1H), 3,96 (t,  $J = 11,3$  Hz, 1H), 3,78 (m, 1H), 3,70 (m, 3H), 3,63 - 3,55 (m, 3H), 3,43 (s, 3H), 3,28 (s, 3H), 3,24 - 3,15 (m, 2H), 3,12 - 3,04 (m, 2H), 3,07 - 2,98 (m, 1H), 2,97 (q,  $J = 7,9$  Hz, 1H), 2,75 (m, 1H), 2,44 - 2,33 (m, 1H), 2,30 (m, 2H), 2,23 (m, 1H), 2,16 (m, 2H), 2,09 (d,  $J = 13,1$  Hz, 1H), 2,01 (m, 1H), 1,88 (s, 3H), 1,84 (d,  $J = 13,1$  Hz, 1H), 1,78 - 1,70 (m, 3H), 1,70 - 1,62 (m, 4H), 1,52 (dd,  $J = 11,8, 7,7$  Hz, 1H), 1,50 - 1,41 (m, 2H), 1,43 - 1,32 (m, 1H), 1,34 - 1,27 (m, 1H), 1,30 - 1,17 (m, 8H), 1,04 (dd,  $J = 9,5, 6,6$  Hz, 7H), 1,02 - 0,85 (m, 10H), 0,85 (d,  $J = 6,8$  Hz, 3H), 0,69 (q,  $J = 12,0$  Hz, 1H).

Ejemplo 17: C16-(1,1-dioxidoisotiazolidin-2-il)-C32-desoxo-C40-(S)-(1H-tetrazol-1-il)-rapamicina



Ejemplo 17

\* Estereoquímica absoluta en C16 no asignada

Se combinó el producto intermedio 5 (0,109 g, 0,114 mmol) con 1,1-dióxido de isotiazolidina (0,139 g, 1,145 mmol) en acetonitrilo anhidro (1,1 ml). Se añadió ácido para-toluenosulfónico monohidratado (0,0022 g, 0,011 mmol). Se agitó la reacción a temperatura ambiente durante dos horas.

Se diluyó la reacción con  $\text{NaHCO}_3$  acuoso saturado. Se extrajo la mezcla varias veces con EtOAc. Se combinaron los extractos orgánicos, se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se decantaron y se concentraron para dar un producto en bruto de tipo brea de color amarillo.

- 5 Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía ultrarrápida en columna de gel de sílice (acetona al 0-40 %-heptano, elución en gradiente, columna de 24 g de sílice, CCF en acetona al 40 %-heptano, visualizar bajo UV) para dar el ejemplo 17 (0,053 g, 0,046 mmol, 40,0 % de rendimiento) como un sólido de color blanco.

Ejemplo 17: ESI-EM  $[\text{M}+\text{H}]$  1041,8,  $[\text{M}-\text{H}]$  1039,8.

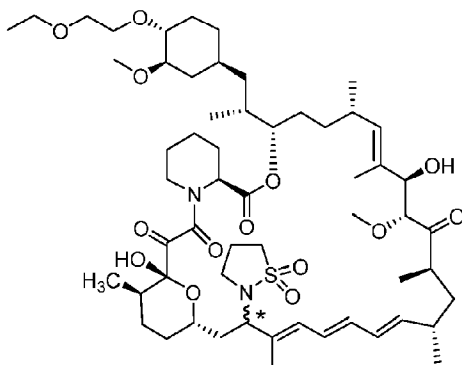
10

EMAR: Calculado para  $\text{C}_{54}\text{H}_{84}\text{N}_6\text{O}_{12}\text{SNa}$ : 1063,5765. Hallado: 1063,5759.

- $^1\text{H}$ -RMN (600 MHz, cloroformo- $d$ )  $\delta$  8,86 (s, 1H), 6,39 (dd,  $J$  = 14,7, 11,0 Hz, 1H), 6,22 (dd,  $J$  = 14,7, 10,7 Hz, 1H), 6,11 (dd,  $J$  = 15,0, 10,5 Hz, 1H), 5,99 (d,  $J$  = 10,9 Hz, 1H), 5,34 (dd,  $J$  = 14,9, 9,8 Hz, 1H), 5,18 (d,  $J$  = 5,7 Hz, 1H), 5,10 (d,  $J$  = 9,8 Hz, 1H), 4,87 (m, 1H), 4,67 (m, 1H), 4,63 (d,  $J$  = 12,2 Hz, 1H), 4,50 (s, 1H), 4,13 (d,  $J$  = 6,1 Hz, 1H), 3,97 (t,  $J$  = 11,4 Hz, 1H), 3,78 (d,  $J$  = 6,2 Hz, 1H), 3,69 - 3,62 (m, 1H), 3,55 (dt,  $J$  = 11,2, 4,0 Hz, 1H), 3,50 - 3,39 (m, 1H), 3,39 (s, 3H), 3,38 - 3,30 (m, 1H), 3,27 (s, 3H), 3,25 - 3,13 (m, 1H), 3,07 (td,  $J$  = 8,4, 3,8 Hz, 1H), 3,01 (m, 1H), 2,96 (q,  $J$  = 7,9 Hz, 1H), 2,70 - 2,63 (m, 2H), 2,39 (m, 1H), 2,35 - 2,21 (m, 3H), 2,18 (d,  $J$  = 13,7 Hz, 1H), 2,16 - 2,09 (m, 1H), 1,95 - 1,81 (m, 3H), 1,82 (s, 3H), 1,75 (m, 3H), 1,65 (s, 3H), 1,60 (m, 6H), 1,58 - 1,50 (m, 1H), 1,53 - 1,34 (m, 2H), 1,32 (m, 1H), 1,29 (m, 1H), 1,25 (m, 6H), 1,12 (m, 1H), 1,05 (d,  $J$  = 6,6 Hz, 3H), 1,05 - 0,78 (m, 12H).

20

Ejemplo 18: C16-(1,1-dioxidoisotiazolidin-2-il)-C32-desoxo-C40-(2-etoxietoxi)-rapamicina



25

Ejemplo 18

\* Estereoquímica absoluta en C16 no asignada

30

Se combinó el producto intermedio 6 (0,090 g, 0,093 mmol) con 1,1-dióxido de isotiazolidina (0,112 g, 0,926 mmol) en diclorometano anhidro (0,93 ml). Se añadió ácido para-toluenosulfónico monohidratado (1,761 mg, 9,26  $\mu\text{mol}$ ) en una porción. Se agitó la reacción a temperatura ambiente durante 100 minutos.

- 35 Se purificó toda la mezcla de reacción mediante cromatografía ultrarrápida en columna de gel de sílice (acetona al 0-40 %-heptano, elución en gradiente, columna de 24 g de sílice, CCF en acetona al 40 %-heptano, visualizar bajo UV) para dar a mezcla del ejemplo 18 y 1,1-dióxido de isotiazolidina sin reaccionar residual.

- 40 Se purificó nuevamente el material mixto mediante cromatografía ultrarrápida en columna de gel de sílice (acetonitrilo al 0-50 %-diclorometano, elución en gradiente, columna de 24 g, CCF en acetonitrilo al 30 %-diclorometano, visualizar bajo UV) para dar el ejemplo 18 (0,021 g, 0,019 mmol, 20,4 % de rendimiento) como un sólido de color blanco.

Ejemplo 18: ESI-EM  $[\text{M}+\text{NH}_4]$  1078,9,  $[\text{M}-\text{H}]$  1059,9.

45

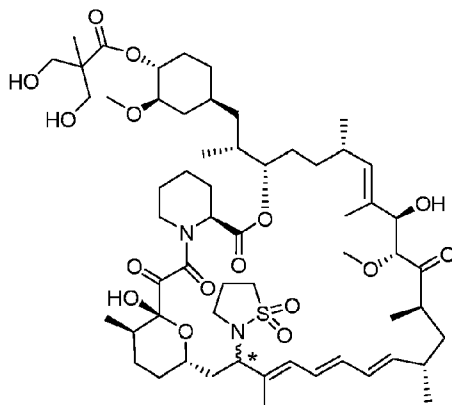
EMAR: Calculado para aducto de sodio de  $\text{C}_{57}\text{H}_{92}\text{N}_2\text{O}_{14}\text{SNa}$ : 1083,6167. Hallado: 1083,6151.

- $^1\text{H}$ -RMN (600 MHz, cloroformo- $d$ )  $\delta$  6,45 (dd,  $J$  = 14,5, 11,0 Hz, 1H), 6,21 (dd,  $J$  = 14,6, 10,7 Hz, 1H), 6,14 (dd,  $J$  = 14,8, 10,8 Hz, 1H), 5,98 (d,  $J$  = 10,9 Hz, 1H), 5,35 (dd,  $J$  = 14,8, 9,8 Hz, 1H), 5,20 (d,  $J$  = 5,8 Hz, 1H), 5,09 (d,  $J$  = 9,8 Hz, 1H), 4,72 (d,  $J$  = 12,1 Hz, 1H), 4,61 (m, 1H), 4,46 (s, 1H), 4,10 (d,  $J$  = 6,9 Hz, 1H), 3,96 (t,  $J$  = 11,4 Hz, 1H), \*\*3,73 (t,  $J$  = 5,5 Hz, 2H), 3,68 (d,  $J$  = 6,9 Hz, 1H), 3,59 (m, 4H), 3,53 (m, 2H), 3,46 (s, 3H), 3,28 (s, 3H), 3,21 (m, 1H), 3,13 (m, 1H), 3,07 (m, 2H), 3,05 - 2,99 (m, 1H), 2,97 (q,  $J$  = 8,0 Hz, 1H), 2,78 (dq,  $J$  = 14,4, 7,1 Hz, 1H), 2,44 - 2,33 (m, 1H), 2,31 (m, 2H), 2,27 - 2,19 (m, 1H), 2,19 - 2,12 (m, 2H), 2,07 - 1,94 (m, 2H), 1,88 (s, 3H), 1,83

50

(d,  $J = 12,9$  Hz, 1H), 1,74 (m, 3H), 1,66 (m, 7H), 1,56 - 1,44 (m, 1H), 1,43 (m, 2H), 1,41 - 1,15 (m, 12H), 1,04 (m, 7H), 0,91 (m, 8H), 0,84 (d,  $J = 6,7$  Hz, 3H), 0,70 (q,  $J = 12,0$  Hz, 1H).

Ejemplo 19: C16-(1,1-dioxidoisotiazolidin-2-il)-C32-desoxo-C40-((3-hidroxi-2-(hidroximetil)-2-metilpropanoil)oxi)-rapamicina



Ejemplo 19

\* Estereoquímica absoluta en C16 no asignada

Se combinó el producto intermedio 7 (0,088 g, 0,087 mmol) con 1,1-dióxido de isotiazolidina (0,105 g, 0,866 mmol) en diclorometano anhidro (0,87 ml). Se añadió ácido para-toluenosulfónico monohidratado (1,647 mg, 8,66  $\mu$ mol). Se agitó la reacción a temperatura ambiente durante 30 minutos.

Se purificó toda la mezcla de reacción mediante cromatografía ultrarrápida en columna de fase normal (acetonitrilo al 0-60 %-diclorometano, elución en gradiente, columna de 12 g de sílice, CCF en acetonitrilo al 30 %-diclorometano) para dar el ejemplo 19 (0,020 g, 0,017 mmol, 19,9 % de rendimiento) como un sólido de color blanco.

Ejemplo 19: ESI-EM  $[M+NH_4]^+$  1123,0,  $[M-H]^-$  1104,0.

EMAR: Calculado para aducto de amonio de  $C_{58}H_{92}N_2O_{16}SNH_4$ : 1122,6511; hallado: 1122,652.

$^1H$ -RMN (600 MHz, cloroformo- $d$ )  $\delta$  6,45 (dd,  $J = 14,7$ , 10,9 Hz, 1H), 6,22 (dd,  $J = 14,7$ , 10,7 Hz, 1H), 6,13 (dd,  $J = 14,9$ , 10,6 Hz, 1H), 5,99 (d,  $J = 10,9$  Hz, 1H), 5,35 (dd,  $J = 14,9$ , 9,8 Hz, 1H), 5,21 (d,  $J = 5,8$  Hz, 1H), 5,10 (d,  $J = 9,9$  Hz, 1H), 4,73 (ddd,  $J = 11,0$ , 9,2, 4,7 Hz, 1H), 4,69 (d,  $J = 12,4$  Hz, 1H), 4,64 (m, 1H), 4,49 (s, 1H), 4,13 (d,  $J = 6,5$  Hz, 1H), 3,97 (t,  $J = 11,3$  Hz, 1H), 3,84 (dd,  $J = 18,5$ , 11,4 Hz, 2H), 3,78 - 3,69 (m, 2H), 3,64 (m, 2H), 3,56 (td,  $J = 13,5$ , 3,0 Hz, 1H), 3,43 - 3,31 (m, 4H), 3,28 (m, 3H), 3,26 - 3,17 (m, 2H), 3,12 - 2,92 (m, 3H), 2,76 - 2,68 (m, 1H), 2,45 - 2,34 (m, 1H), 2,31-2,21 (m, 3H), 2,20 - 2,10 (m, 3H), 2,06 (m, 1H), 1,87 (m, 4H), 1,75 (m, 3H), 1,71 - 1,59 (m, 3H), 1,60 (s, 3H), 1,60 - 1,50 (m, 1H), 1,48 - 1,39 (m, 1H), 1,42 - 1,31 (m, 2H), 1,33 - 1,20 (m, 8H), 1,11 (s, 3H), 1,11 - 1,05 (m, 2H), 1,03 (dd,  $J = 18,2$ , 6,6 Hz, 6H), 0,99 - 0,82 (m, 10H), 0,79 (q,  $J = 12,0$  Hz, 1H).

## Ejemplo 20: Ensayos y datos biológicos

La actividad de un compuesto según la divulgación se evaluó mediante los siguientes métodos *in vitro* e *in vivo*.

### Caracterización farmacológica

#### Materiales y métodos

Ensayo basado en células para la determinación de la potencia de rapálogos. La potencia de rapálogos se determinó usando un ensayo basado en células MEF TSC1 $^{-/-}$ . Las células MEF TSC1 $^{-/-}$  son fibroblastos embrionarios de ratón deficientes en la proteína de esclerosis tuberosa TSC1, que regula negativamente la señalización de mTORC1 y, por tanto, muestra activación constitutiva de mTORC1, dando como resultado la fosforilación (activación) de moléculas aguas abajo. Este ensayo basado en células se usa para medir la inhibición (desfosforilación) de S6 y 4EBP1 por rapálogos u otros inhibidores de mTOR.

Las células MEF TSC1 $^{-/-}$  se sembraron en placas Griener de fondo transparente de 384 pocillos recubiertas de poli-D-lisina y se incubaron durante la noche a 37 °C, el 5 % de CO<sub>2</sub>. Al día siguiente, las células se lavaron

8 veces con disolución "Hard starve" (1 l de DPBS + 1 g de D-(+)-glucosa + 10 ml de bicarbonato de sodio al 7,5 % + 20 ml de HEPES 1 M) y se incubaron durante 2 horas adicionales en la misma disolución. A continuación, las células se trataron con compuestos con concentraciones decrecientes (8 puntos a diluciones de 3,16 veces) y se incubaron durante 2 horas a 37 °C, el 5 % de CO<sub>2</sub>. Las células se fijaron con paraformaldehído al 4 % durante 30 min y se lavaron 5 veces con TBS-EDTA seguido de inmunotinción con anticuerpos marcados con etiqueta fluorescente contra pS6 (Ser240/244) (Cell Signaling #9468) y p4EBP1 (Thr37/46) (Cell Signaling #5123). Los núcleos se visualizaron con tinción de Hoechst (ThermoFisher Scientific #H3570). Se obtuvieron imágenes de las células (InCell 600) usando los canales de fluorescencia respectivos y la potencia de los inhibidores de mTOR se definió por la CI<sub>50</sub> (nM) de pS6.

Mantenimiento de los animales, tratamiento con compuestos y recogida de tejidos. Todos los procedimientos que implicaban animales fueron aprobados por el comité institucional para el cuidado y uso de animales de los Institutos de Investigación Biomédica de Novartis, Cambridge, MA, EE. UU. Las ratas macho Sprague Dawley (SD) adultas se adquirieron de Envigo (Indianápolis, EE. UU.) o Charles River (EE. UU.). Una vez importadas, las ratas se mantuvieron en las instalaciones específicas libres de patógenos con temperatura y luz controladas (22 °C, ciclo de 12 h de luz/12 h de oscuridad: luces encendidas a las 06:00 h/luces apagadas a las 18:00 h) y con acceso libre a pienso y agua. Las ratas se aclimataron durante al menos 3 días antes de comenzar los experimentos.

El ejemplo 2 y RAD001 se formularon para dosificación oral (vía oral, p.o.). Las formulaciones de blanco (sin ejemplo 2 o RAD001) sirvieron como controles de vehículo. Las ratas recibieron una única dosis del ejemplo 2, RAD001 o un vehículo respectivo p.o. En momentos predeterminados tras el tratamiento, las ratas se anestesiaron con isoflurano al 3,5 % y se sacrificaron. Se recogieron diversos órganos y se congelaron en nitrógeno líquido. Se extrajo sangre a través de una vena de la cola o una punción cardiaca (terminal) y se congeló para los análisis farmacocinéticos adicionales. Todos los tejidos se almacenaron a -80 °C hasta su análisis.

Determinación de las concentraciones de ejemplo 2 y RAD001 en sangre y tejidos. Las concentraciones se determinaron usando HPLC/espectrometría de masas.

Extracción de proteínas e inmunotransferencia. Para la extracción de proteínas, los tejidos ultracongelados se sometieron a lisis en tampón de lisis MSD (MSD, Rockville, Maryland), complementado con comprimidos completos de inhibidor de proteasas libre de EDTA e inhibidor de fosfatasas PhosSTOP (Roche, Mannheim, Alemania), y se centrifugaron a 13.000 g durante 20 min a 4 °C. El sobrenadante resultante se usó para la inmunotransferencia. La proteína se cuantificó con el ensayo de proteínas BCA (Thermo Scientific, MA). Las muestras se resolvieron en geles proteicos Criterion™ TGX™ Precast Midi al 4-20 % (Bio-Rad, CA) y se transfirieron a membranas de nitrocelulosa (Bio-Rad, CA) usando un sistema de transferencia Trans Turbo (Bio-Rad, CA). La inmunotransferencia se realizó con anticuerpos contra p-S6 y t-S6 de Cell Signaling Technologies (todos 1:1000 en TBS-T con BSA al 5 %). Los prefijos "p" y "t" significan las formas "fosforilada" y "total", respectivamente. Los anticuerpos secundarios conjugados con HRP contra IgG de conejo (#7074) eran de Cell Signaling Technologies, MA. La señal de quimioluminiscencia se generó usando sustrato quimioluminiscente potenciado SuperSignal™ West Femto (#34095, Thermo Scientific, MA) o sustrato quimioluminiscente potenciado Western Lightning® Plus-ECL (NEL103001EA, Perkin Elmer, MA) y se capturó usando el sistema de obtención de imágenes ChemiDoc MP (Bio-Rad). Las imágenes digitales resultantes se convirtieron en un formato TIFF y se cuantificaron usando el software de obtención de imágenes.

Generación de células con FKBP12 atenuado. Se transfectó en células 293T un vector CRISPR/CAS9 que contenía una secuencia de ARNg que selecciona como diana el extremo C-terminal de FKBP12 (GCTTCTAAACTGGAATGAC). La selección se realizó con puromicina durante 48 horas y las células se sembraron en placa para la formación de colonias. Los clones con FKBP12 atenuado se cribaron mediante inmunotransferencia con un anticuerpo anti-FKBP12 (Thermo Scientific, Pierce #PA1-026A). Se seleccionaron los clones con FKBP12 significativamente reducido (reducción de aproximadamente el 80 % con respecto a los niveles en células 293T sin perturbar).

Generación de células con FKBP12 inactivado. Se usó un sistema CRISPR/Cas9 para suministrar complejos de ribonucleoproteínas que contienen una secuencia de ARN guía (ARNg) que selecciona como diana FKBP12 (GCCACTACTCACCGTCTCCT) en células 293T, usando el kit Amaxa® 4D-Nucleofector™ X (Lonza, V4XC-2032). Los clones celulares se cribaron mediante inmunotransferencia con un anticuerpo anti-FKBP12 (Novus, NB300-508) y se seleccionaron los clones individuales que demostraron una inactivación completa de FKBP12 (FKBP12 no medible).

Tratamiento con RAD001 y ejemplo 2 de células 293T de tipo natural (WT), con FKBP12 atenuado y con FKBP12 inactivado. Se sembraron células 293T WT, con FKBP12 atenuado y con FKBP12 inactivado a una densidad de 30.000 células por pocillo en placas de 96 pocillos recubiertas de poli-D-lisina (Corning, #354461) en medio de Eagle modificado por Dulbecco (ThermoFisher, #11995-065) complementado con suero bovino fetal al 10 % (ThermoFisher, #16140-071). Las células se incubaron a 37 °C, el 5 % de CO<sub>2</sub> durante 48 horas hasta que

alcanzaron una confluencia de ~80 %. Las células se trataron con RAD001 y ejemplo 2 usando un intervalo de dosis de 12 puntos desde 1000 nM hasta 0,0033 nM durante 2 horas a 37 °C por duplicado. Como control para ambos compuestos se usó medio complementado con dimetilsulfóxido (DMSO) de blanco. Las cantidades fosforiladas de S6K1(Thr389) se detectaron mediante un kit de ELISA de tipo sándwich (Cell signaling, #7063C) siguiendo el protocolo del fabricante.

Ensayo SPR para determinar la afinidad de unión por proteínas de unión a FK506 (FKBP).

Se expresaron fusiones de FKBP etiquetada con avi-his6 en el extremo N-terminal con FKBP12, FKBP51 y FKBP52 en *E. coli* y se purificaron usando cromatografía convencional. Posteriormente, cada proteína se inmovilizó sobre un chip de estreptavidina en un instrumento Biacore 8K SPR (GE Healthcare). Usando cinética de ciclo único, se hicieron flujos de titulaciones de compuesto a 45 µl/min a lo largo de cada superficie usando fases de asociación de 2 minutos y de disociación de 30 minutos en un tampón que contenía Tris 50 mM pH 7,5/NaCl 150 mM/Tween 20 al 0,01 %/DTT 1 mM/DMSO al 2 %. Los datos se ajustaron usando cinética de ciclo único de bajo peso molecular (LMW). Se notifican las constantes de disociación en equilibrio ( $K_D$ ).

La farmacología diferencial de los rapálogos puede lograrse en diferentes tipos de células o tejidos dependiendo de 1) la abundancia relativa de los homólogos de FKBP en estas células/tejidos y 2) la especificidad de unión a estos diferentes homólogos de FKBP (Mol. Cell Biol. (2013) 33:1357-1367).

## Resultados

La potencia *in vitro* de los inhibidores de mTOR se definió por la  $CI_{50}$  (nM) de pS6 en células MEF TSC1-/-.

Compuesto	$CI_{50}$ (nM)
Rapamicina	0,050
RAD001	0,050
Producto intermedio 1	0,092
Producto intermedio 3	0,0591
Producto intermedio 4	0,066
Producto intermedio 5	0,106
Ejemplo 1	2,4
Ejemplo 2	0,274
Ejemplo 3	1,45
Ejemplo 4	>500
Ejemplo 5	153
Ejemplo 6	0,170
Ejemplo 7	0,300
Ejemplo 8	0,328
Ejemplo 9	1,45
Ejemplo 10	0,557
Ejemplo 11	3,33
Ejemplo 12	0,374
Ejemplo 13	0,656
Ejemplo 14	7,77
Ejemplo 15	3,2
Ejemplo 16	0,645
Ejemplo 17	1,1
Ejemplo 18	1,55

Los valores de  $CI_{50}$  se calculan como el promedio de múltiples ensayos.

Constantes de disociación en equilibrio ( $K_D$ ) con respecto a FKBP12, FKBP51 y FKBP52.

Compuesto	Proteína de unión a FKBP	$K_D$ promedio (nM)
RAD001	FKBP12: FKBP51: FKBP52:	500 811 1765
Ejemplo 1	FKBP12: FKBP51: FKBP52:	0,35 153 174
Ejemplo 2	FKBP12: FKBP51: FKBP52:	16 >10000 >10000
Ejemplo 6	FKBP12: FKBP51: FKBP52:	0,32 39 53
Ejemplo 7	FKBP12: FKBP51: FKBP52:	1,2 287 236
Ejemplo 10	FKBP12: FKBP51: FKBP52:	1,6 95 176
Ejemplo 14	FKBP12: FKBP51: FKBP52:	16 -- 542
Ejemplo 16	FKBP12: FKBP51: FKBP52:	35 4064 4073

Perfil farmacocinético del ejemplo 2 en ratas. Se trataron ratas de 4 meses de edad con una dosis única p.o. del ejemplo 2 a 3 mg/kg y se extrajo sangre a las 0,25, 0,5, 1, 2, 4 y 7 h tras la dosificación. En este experimento, el ejemplo 2 se formuló en polietilenglicol (PEG) 300 al 15 %, Solutol HS15 al 7,5 %, Cremophore EL al 7,5 % en agua MilliQ. Las concentraciones del ejemplo 2 se midieron mediante HPLC-EM (figura 3).

Concentraciones comparativas en sangre y cerebro del ejemplo 2 y RAD001 en ratas.

Se trataron ratas de 4 meses de edad p.o. con el ejemplo 2 (formulado en PEG300 al 15 %, Solutol HS15 al 7,5 %, Cremophore EL al 7,5 % en agua MilliQ) a 3, 10 y 30 mg/kg. En otro experimento, se trataron ratas de 8 semanas de edad p.o. con RAD001 (formulado como una microemulsión al 2 % (p/p) y diluido hasta una concentración final en agua MilliQ) a 3, 10 y 30 mg/kg. Se extrajo sangre y se recogieron tejidos del cerebro a las 3 horas (h) y a las 24 h tras el tratamiento para determinar las concentraciones de los compuestos. Cuando se administraron a las mismas dosis (3, 10 y 30 mg/kg), las concentraciones en sangre y cerebro del ejemplo 2 fueron mayores en comparación con las de RAD001 (figuras 4A y 4B).

Para comparar la biodisponibilidad del ejemplo 2 frente a RAD001 en la rata, los compuestos se formularon como formulaciones en disolución: el ejemplo 1 se formuló en PEG300 al 15 %, Solutol HS15 al 7,5 %, Cremophore EL al 7,5 % en PBS y RAD001 se formuló en PEG300 al 10 %, Solutol HS15 al 10 %, Cremophore EL al 10 % en PBS. Los compuestos se administraron a ratas de 7-9 semanas de edad (N = 3 por grupo) p.o. a 3 mg/kg y por vía intravenosa (i.v.) a 1 mg/kg (figuras 4C y 4D). Para el ejemplo 2 y RAD001, respectivamente, la biodisponibilidad fue del 18 % y el 19 %, la semivida terminal i.v. fue de 9,9 h y 9,5 h, el aclaramiento fue de 9 ml/min/kg y 32 ml/min/kg y el  $V_{dss}$  (volumen de distribución en estado estacionario) fue de 4,4 l/kg y 18,8 l/kg.

El ejemplo 2 inhibe la ruta de mTORC1 en el hígado de las ratas. La capacidad del ejemplo 2 para inhibir la ruta de mTORC1 *in vivo* se determinó en ratas de 4 meses de edad (figuras 5A-5D). Una dosis única del ejemplo 2 a 3, 10 y 30 mg/kg dio como resultado una desfosforilación (inactivación) significativa de S6 en los hígados de las ratas (en comparación con el control de vehículo), tres horas tras la dosificación (figuras 5A y 5B). S6 permaneció inactivado 24 h tras la dosificación con 10 (tendencia:  $p = 0,06$ ) y 30 mg/kg (figuras 5C y 5D).

FKBP12 se requiere para el efecto inhibitor del ejemplo 2, pero no de RAD001. Las cantidades fosforiladas de S6K1(Thr389) se midieron en células 293T WT, con FKBP12 atenuado y con FKBP12 inactivado, tratadas con RAD001 o ejemplo 2. S6K1 es una diana aguas abajo de mTORC1 y la fosforilación de su sitio Thr389 sensible a los rapálogos se usa como lectura funcional de la actividad de mTORC1. Lee, C. H., Inoki, K. y Guan, K. L. (2007). mTOR pathway as a target in tissue hypertrophy. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 47, 443-467. En células 293T WT, tanto RAD001 como el ejemplo 2 fueron eficaces para inhibir S6K1(Thr389) en ~80 % (figura 6A). En células con FKBP12 atenuado, el ejemplo 2 no logró inhibir la fosforilación de S6K1(Thr389) al mismo nivel que RAD001: la inhibición máxima de S6K1(Thr389) por RAD001 fue de ~70 %, mientras que la inhibición lograda por el ejemplo 2 fue de ~40 % (figura 6B). En células con FKBP12 inactivado, el ejemplo 2 no logró inhibir la fosforilación de S6K1(Thr389), mientras que todavía se logró una inhibición de >60 % por RAD001 (figura 6C). Estos resultados indican que los efectos farmacológicos del ejemplo 2 se restringen a FKBP12. Tal especificidad del ejemplo 2 hacia FKBP12 puede facilitar la selección como diana de células y tejidos con niveles relativamente altos de expresión de FKBP12, al tiempo que se evitan (o minimizan) los efectos secundarios en los tejidos en los que FKBP12 se expresa débilmente.

### Equivalentes y alcance

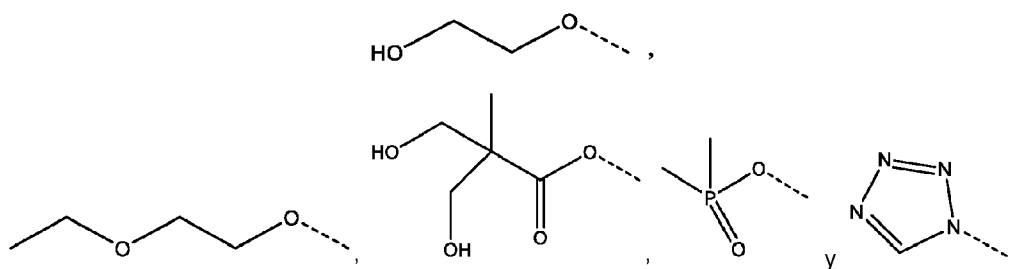
En las reivindicaciones, artículos tales como “un”, “una” y “el/la” pueden significar uno o más de uno, a menos que se indique lo contrario o que resulte evidente a partir del contexto. Se considera que se satisfacen las reivindicaciones o descripciones que incluyen “o” entre uno o más elementos de un grupo si uno, más de uno o la totalidad de los miembros del grupo están presentes en, se emplean en, o por lo demás son relevantes para, un producto o procedimiento dado, a menos que se indique lo contrario o que resulte evidente a partir del contexto. La divulgación incluye realizaciones en las que exactamente un elemento del grupo está presente en, se emplea en, o por lo demás es relevante para, un producto o procedimiento dado. La divulgación incluye realizaciones en las que más de uno o la totalidad de los elementos del grupo están presentes en, se emplean en, o por lo demás son relevantes para, un producto o procedimiento dado.

Además, la divulgación abarca todas las variaciones, combinaciones y permutaciones en las que una o más limitaciones, elementos, cláusulas y términos descriptivos a partir de una o más de las reivindicaciones enumeradas se introducen en otra reivindicación. Por ejemplo, cualquier reivindicación que dependa de otra reivindicación puede modificarse para incluir una o más limitaciones encontradas en cualquier otra reivindicación que dependa de la misma reivindicación base. Cuando los elementos se presentan como listas, por ejemplo, en el formato de grupos de Markush, también se da a conocer cada subgrupo de elementos y puede eliminarse del grupo cualquier elemento. Debe entenderse que, en general, cuando se hace referencia a que la divulgación o los aspectos de la divulgación comprenden elementos y/o características particulares, determinadas realizaciones de la divulgación o aspectos de la divulgación consisten o consisten esencialmente en tales elementos y/o características. También cabe destacar que se pretende que los términos “que comprende” y “que contiene” sean abiertos y permiten la inclusión de elementos o etapas adicionales. Cuando se proporcionan intervalos, se incluyen los puntos finales. Además, a menos que se indique lo contrario o que resulte evidente de otro modo a partir del contexto y la comprensión de un experto en la técnica, los valores que se expresan como intervalos pueden asumir cualquier valor o subintervalo específico dentro de los intervalos indicados en diferentes realizaciones de la divulgación, hasta la décima parte de la unidad del límite inferior del intervalo, a menos que el contexto dicte claramente lo contrario.

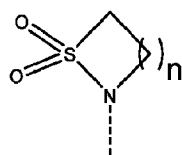
Esta solicitud se refiere a diversas patentes expedidas, solicitudes de patente publicadas, artículos de revistas y otras publicaciones. Si hay un conflicto entre cualquiera de las referencias y la presente memoria descriptiva, prevalecerá la memoria descriptiva. Además, cualquier realización particular de la divulgación que se encuentre dentro de la técnica anterior puede excluirse explícitamente de una cualquiera o más de las reivindicaciones. Dado que tales realizaciones se consideran conocidas por un experto habitual en la técnica, pueden excluirse incluso si la exclusión no se expone explícitamente en el presente documento. Cualquier realización particular de la divulgación puede excluirse de cualquier reivindicación, por cualquier motivo, esté relacionado o no con la existencia de la técnica anterior.



R<sub>1</sub> se selecciona del grupo que consiste en hidroxilo,



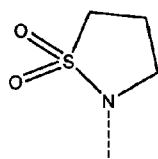
R<sub>2</sub> es



2. Compuesto según la reivindicación 1 o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

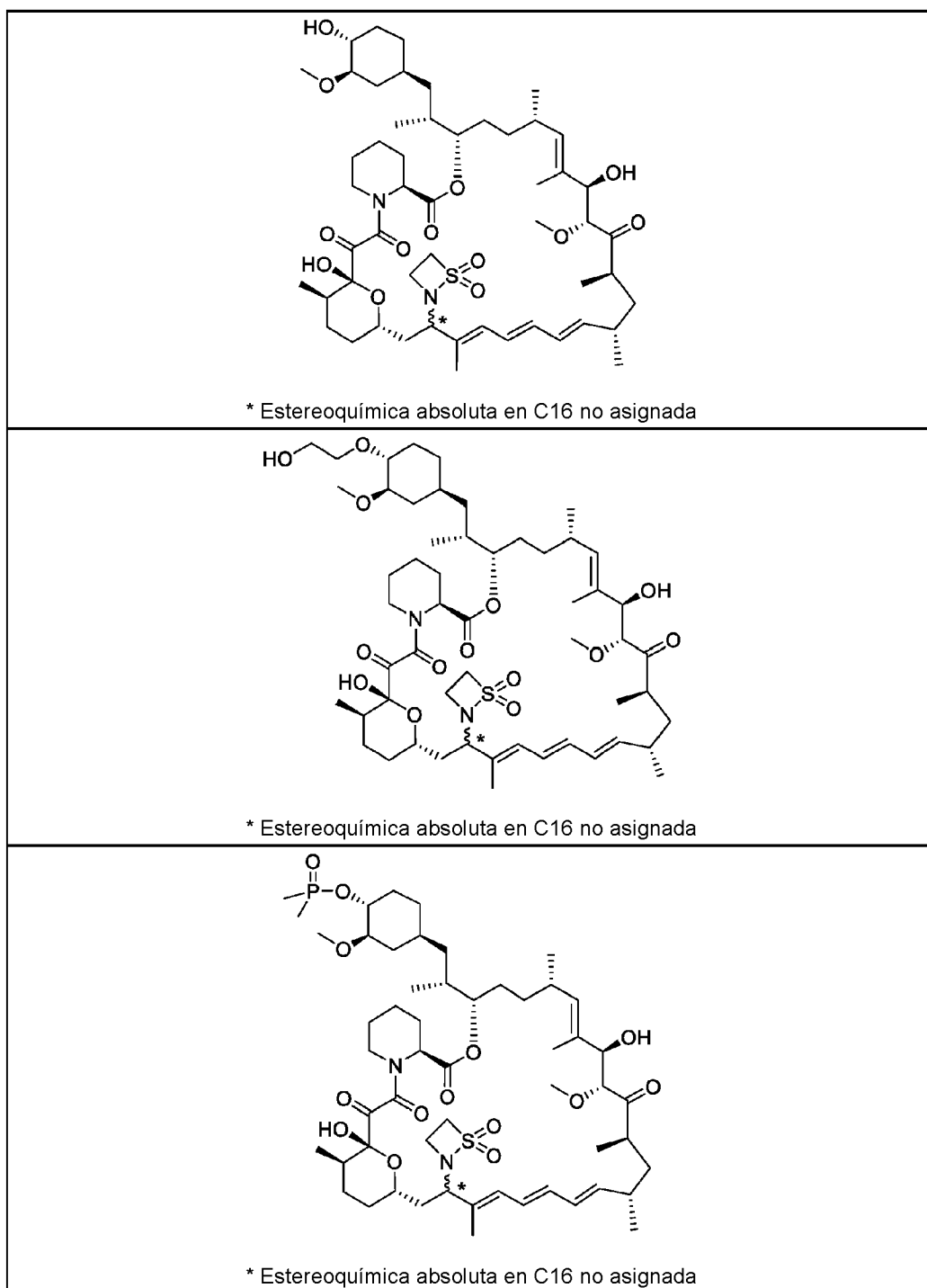
3. Compuesto según la reivindicación 1 ó 2 o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde R<sub>1</sub> es hidroxilo.

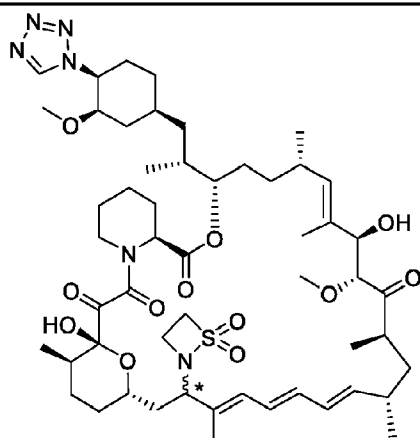
4. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde R<sub>2</sub> es



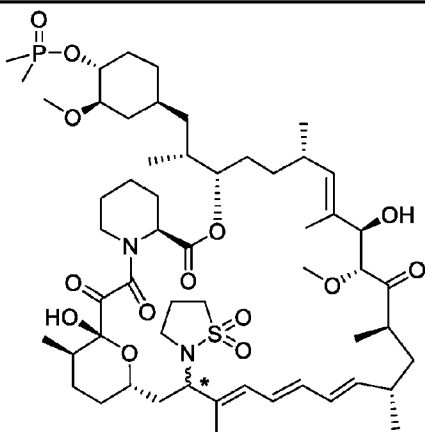
5. Compuesto según la reivindicación 1 o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde dicho compuesto se selecciona de:

5

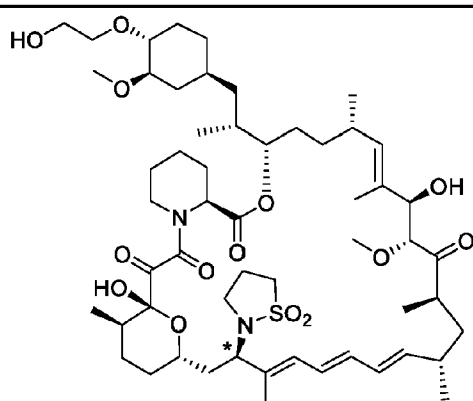


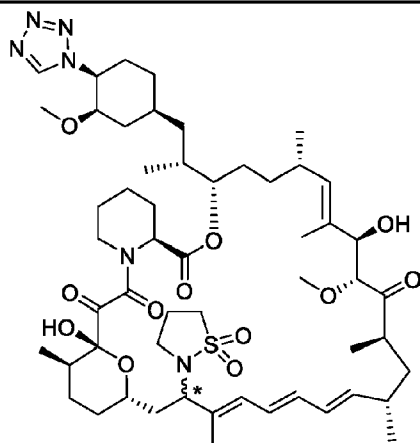


\* Estereoquímica absoluta en C16 no asignada

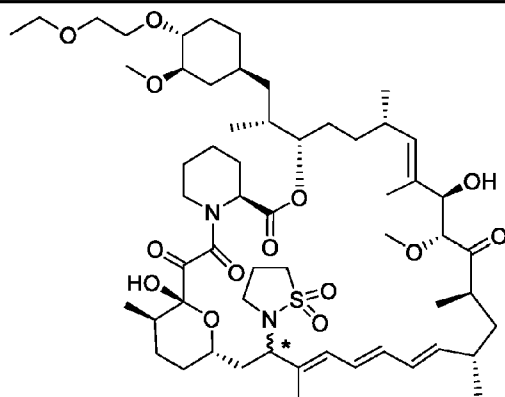


\* Estereoquímica absoluta en C16 no asignada

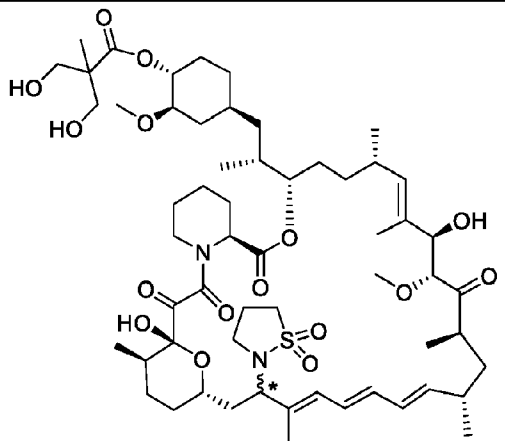




\* Estereoquímica absoluta en C16 no asignada

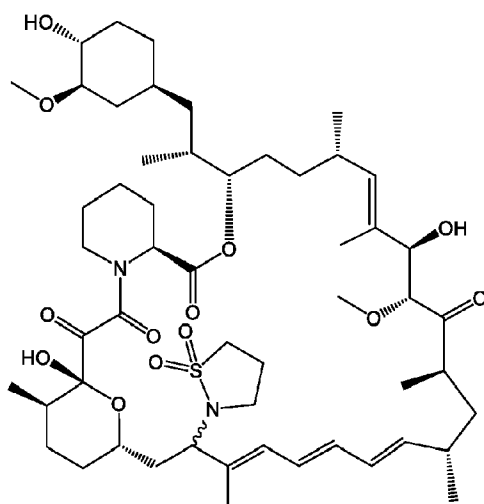


\* Estereoquímica absoluta en C16 no asignada

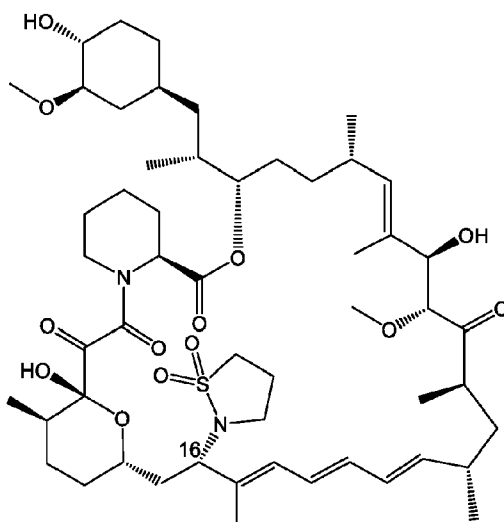


\* Estereoquímica absoluta en C16 no asignada

6. Compuesto según la reivindicación 1 o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde dicho compuesto es



C16-(1,1-dioxidoisotiazolidin-2-il)-C32-desoxo-rapamicina o

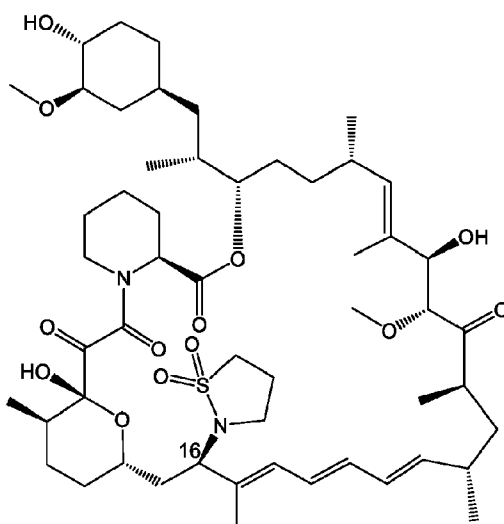


5

(S)-C16-(1,1-dioxidoisotiazolidin-2-il)-C32-desoxo-rapamicina.

7. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde dicho compuesto es

10



(R)-C16-(1,1-dioxidoisotiazolidin-2-il)-C32-desoxo-rapamicina.

- 5 8. Composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y uno o más portadores farmacéuticamente aceptables.
- 10 9. Combinación farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y uno o más agentes terapéuticamente activos.
- 15 10. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso como medicamento.
- 20 11. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en la prevención o el tratamiento de un trastorno o una enfermedad seleccionado de:
  - rechazo de trasplante de órgano o tejido agudo o crónico;
  - vasculopatías por trasplante;
  - proliferación y migración de células de músculo liso que conducen a engrosamiento de la íntima de los vasos, obstrucción de los vasos sanguíneos, aterosclerosis coronaria obstructiva, reestenosis;
  - enfermedades autoinmunitarias y afecciones inflamatorias;
  - asma;
  - infecciones fúngicas;
  - inflamación;
  - infección;
  - enfermedades relacionadas con la edad;
  - enfermedades neurodegenerativas;
  - trastornos proliferativos, en particular cáncer;
  - convulsiones y trastornos relacionados con convulsiones; y
  - miopatía mitocondrial y estrés mitocondrial.
- 45 12. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en la prevención o el tratamiento de un trastorno o una enfermedad que incluye el proceso de fibrosis o inflamación, preferiblemente en donde el trastorno se selecciona de trastornos hepáticos y renales, más preferiblemente en donde el trastorno se selecciona de: fibrosis hepática, que se produce en hepatopatía de estadio terminal; cirrosis hepática; insuficiencia hepática debida a toxicidad; esteatosis hepática no asociada al alcohol o NASH; y esteatosis asociada al alcohol.
- 50 13. Compuesto para su uso según la reivindicación 12, en donde el trastorno renal es fibrosis renal, que se produce como resultado de lesión renal aguda o trastorno renal crónico o nefropatía diabética.
- 55 14. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en la prevención o el tratamiento de un trastorno o una enfermedad relacionado con la edad seleccionado de sarcopenia, atrofia cutánea, hemangiomas capilares, queratosis seborreicas, atrofia cerebral también denominada demencia, aterosclerosis, arterioesclerosis, enfisema pulmonar, osteoporosis, artrosis, tensión arterial elevada, disfunción eréctil, cataratas, degeneración macular, glaucoma, accidente cerebrovascular, enfermedad cerebrovascular (accidentes cerebrovasculares), enfermedad renal crónica, enfermedad renal asociada a la diabetes, disfunción hepática, fibrosis hepática, hepatitis autoinmunitaria, hiperplasia endometrial, disfunción metabólica, enfermedad renovascular, hipoacusia, incapacidad de movilidad, deterioro cognitivo, rigidez de tendones, disfunción cardíaca tal como hipertrofia cardíaca y/o disfunción sistólica y/o diastólica y/o hipertensión, disfunción cardíaca que da como resultado una disminución en la fracción de expulsión, inmunosenescencia, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, cáncer, inmunosenescencia que conduce a cáncer debido a una disminución en la inmunovigilancia, infecciones debidas a una disminución en la función inmunitaria, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), obesidad,
- 65

ageusia, anosmia, artritis y diabetes tipo II incluyendo complicaciones provenientes de la diabetes, tales como insuficiencia renal, amaurosis y neuropatía.

- 5 15. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en la prevención o el tratamiento de cáncer, preferiblemente para su uso en el tratamiento de cáncer renal, carcinoma de células renales, cáncer colorrectal, sarcoma uterino, cáncer uterino endometrial, cáncer endometrial, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de cuello uterino, cáncer gástrico, fibrosarcoma, cáncer de páncreas, cáncer de hígado, melanoma, leucemia, mieloma múltiple, cáncer de nasofaringe, cáncer de próstata, cáncer de pulmón, glioblastoma, cáncer de vejiga, mesotelioma, cáncer de cabeza, rabdomiosarcoma,
- 10 sarcoma, linfoma o cáncer de cuello.

Figura 1A





Figura 1B

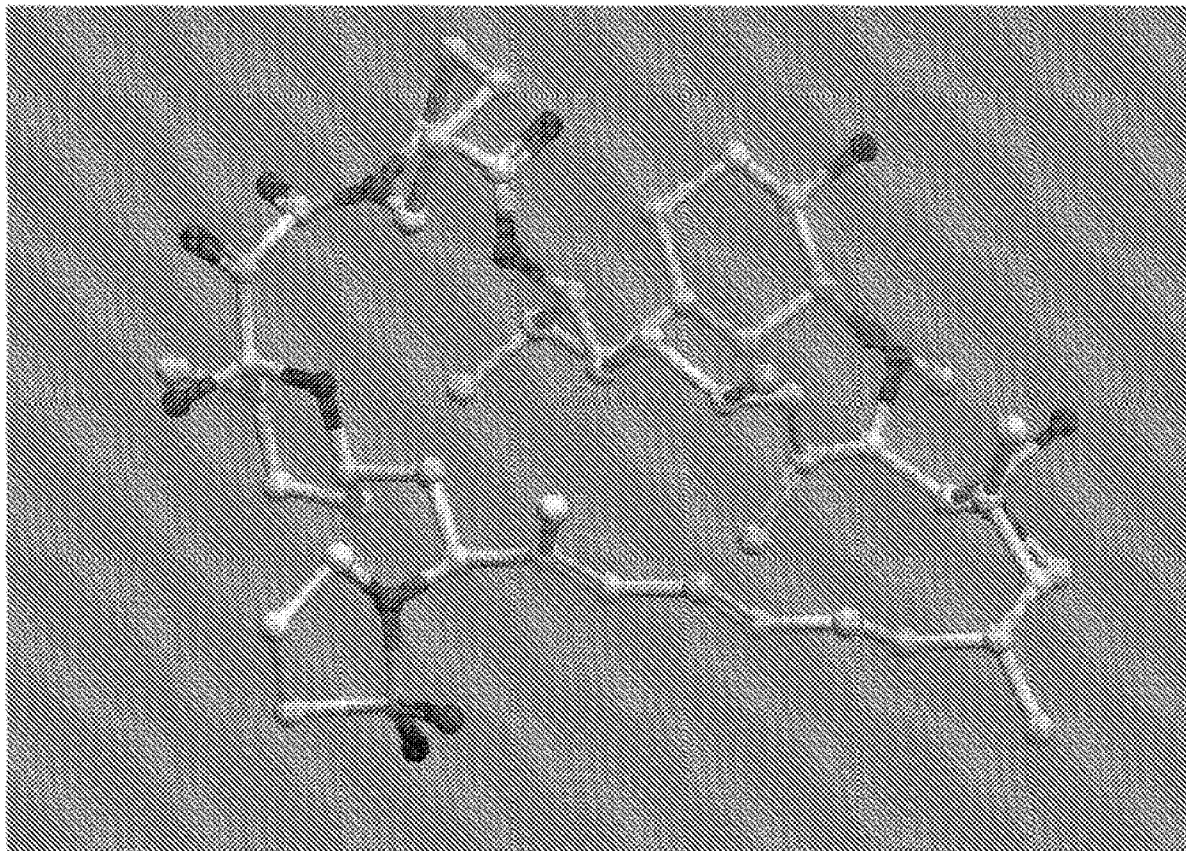


Figura 2A

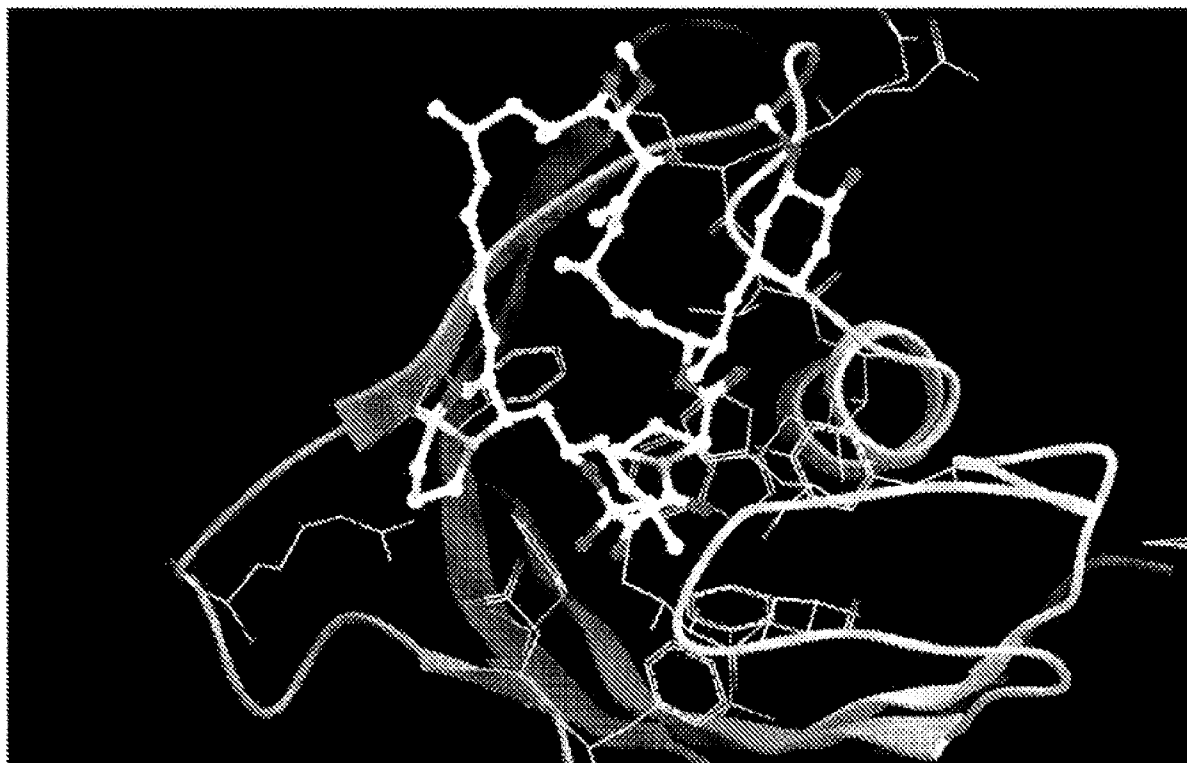


Figura 2B

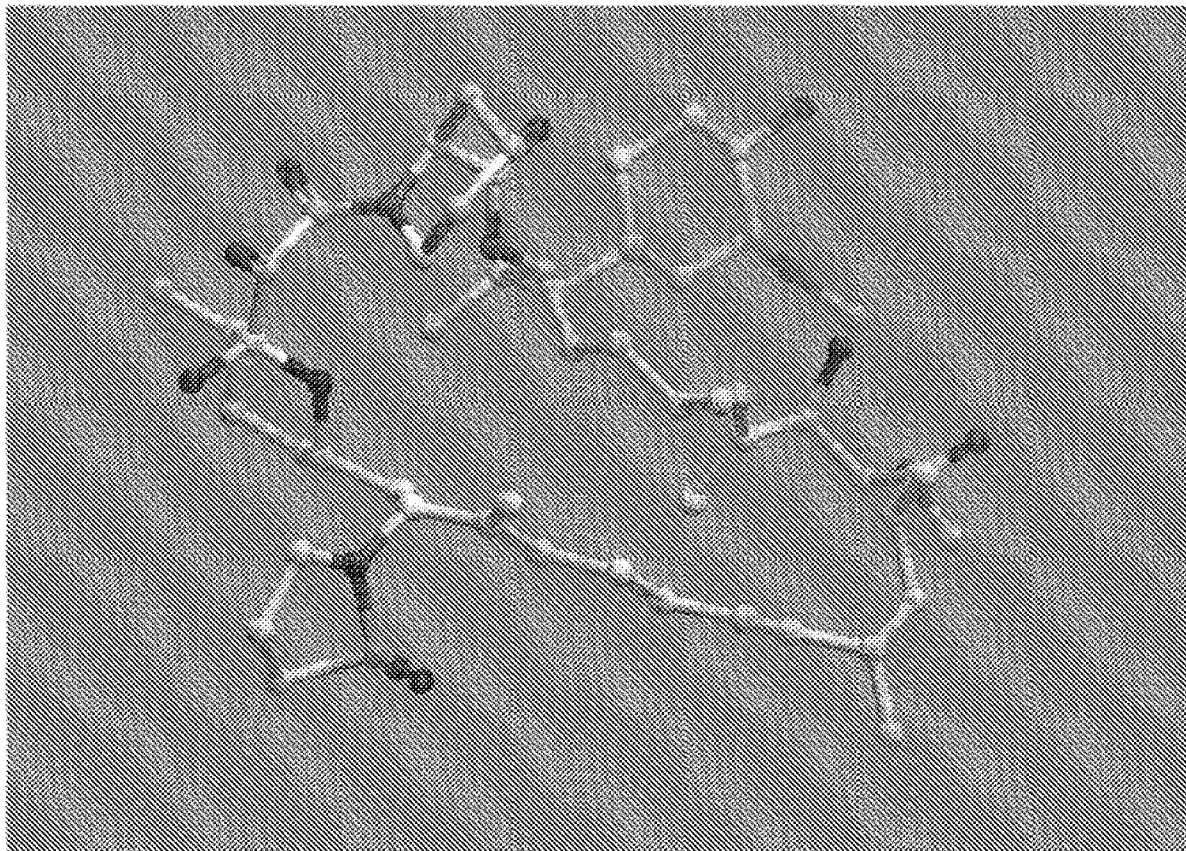


Figura 3

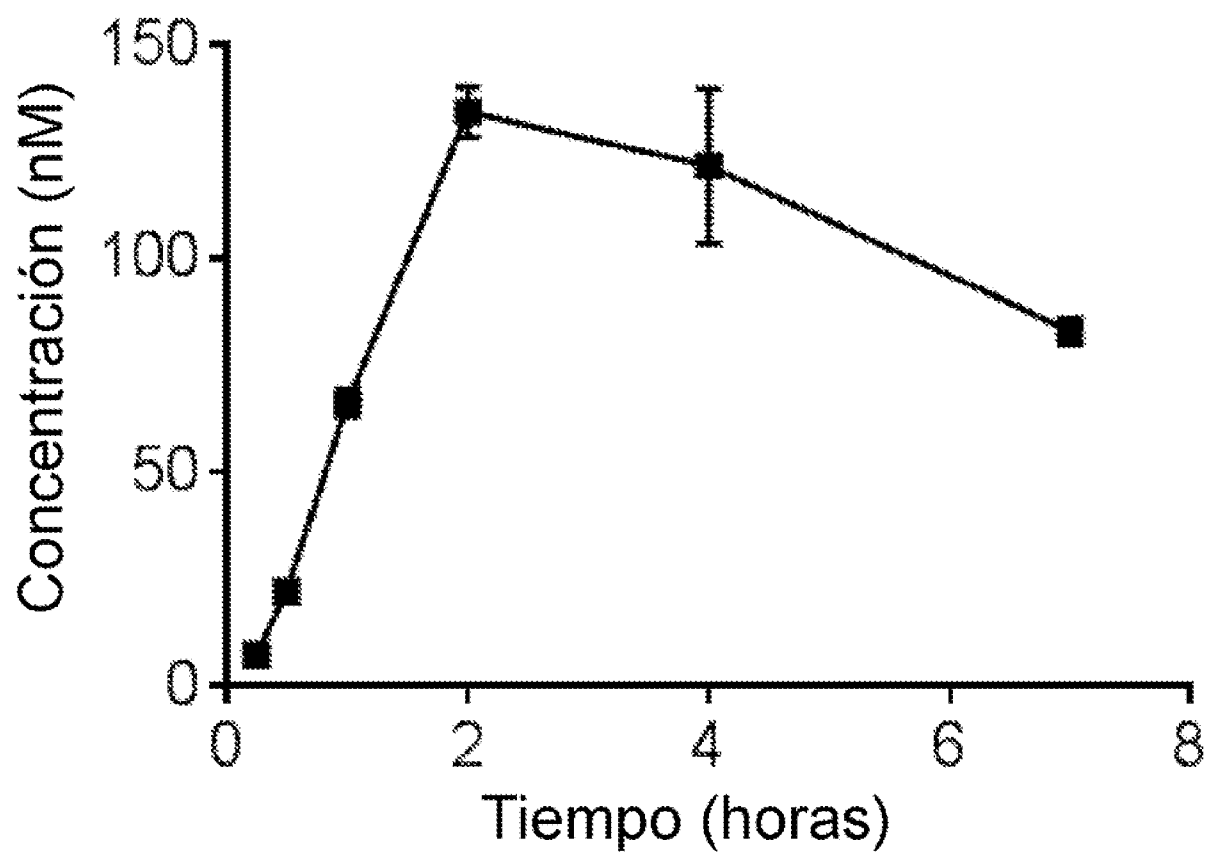


Figura 4A

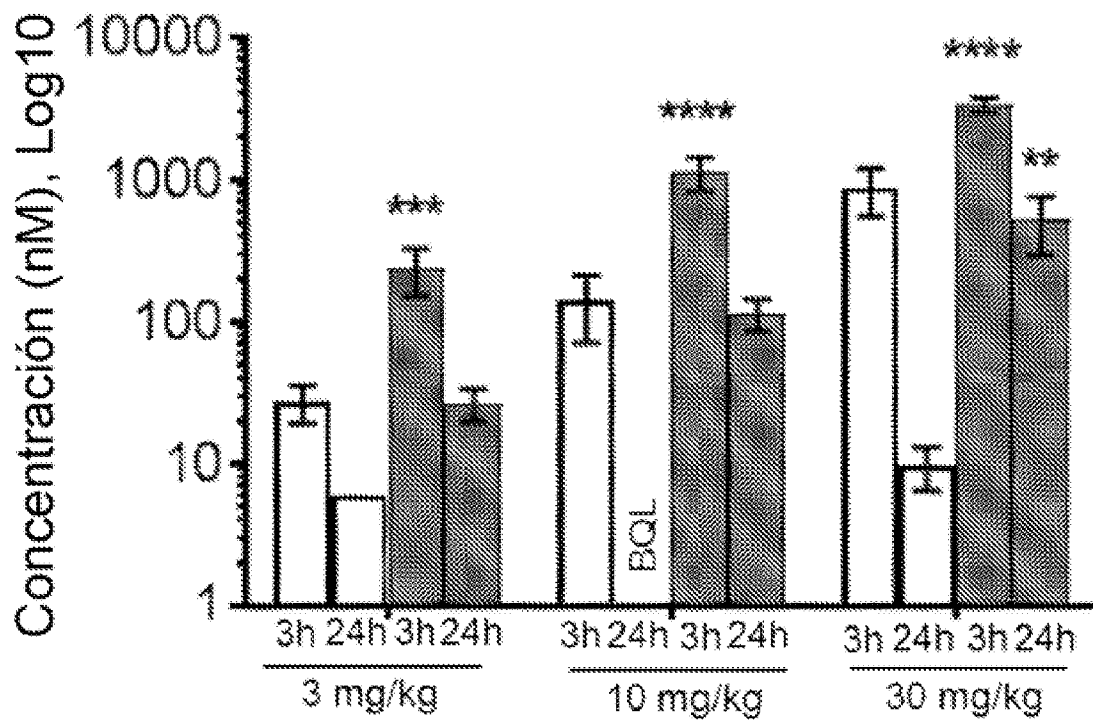


Figura 4B

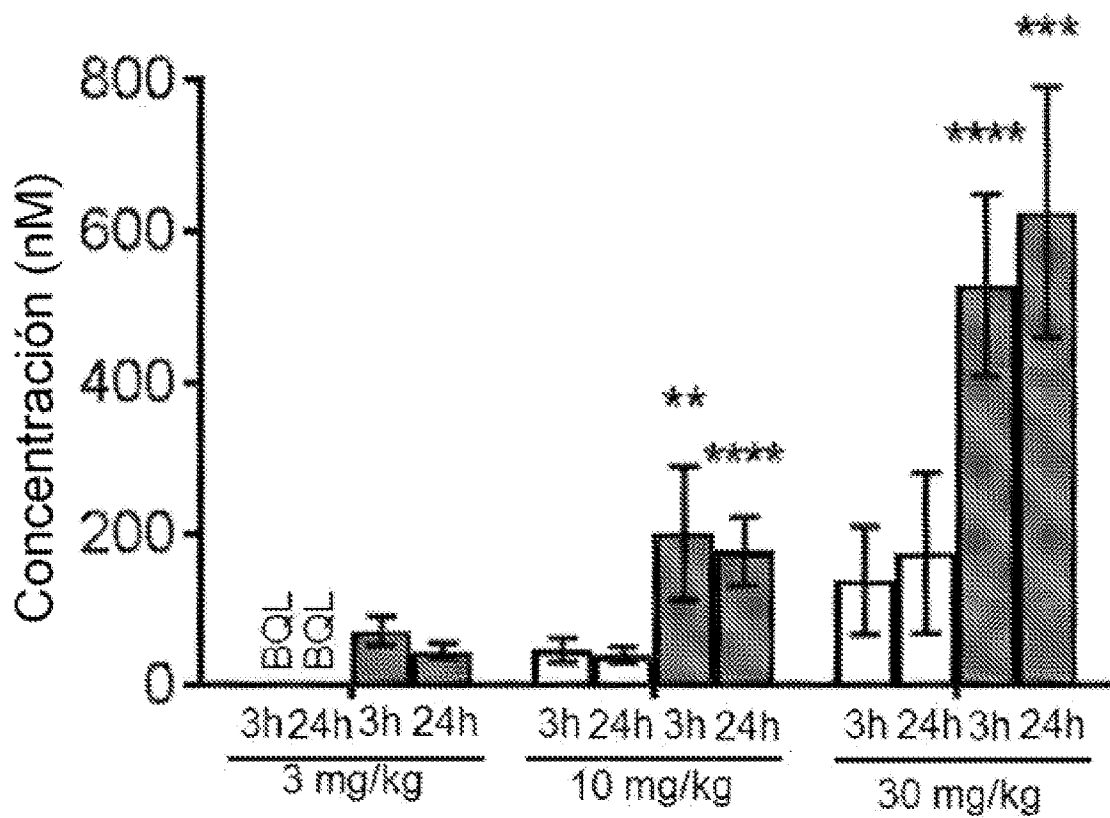


Figura 4C

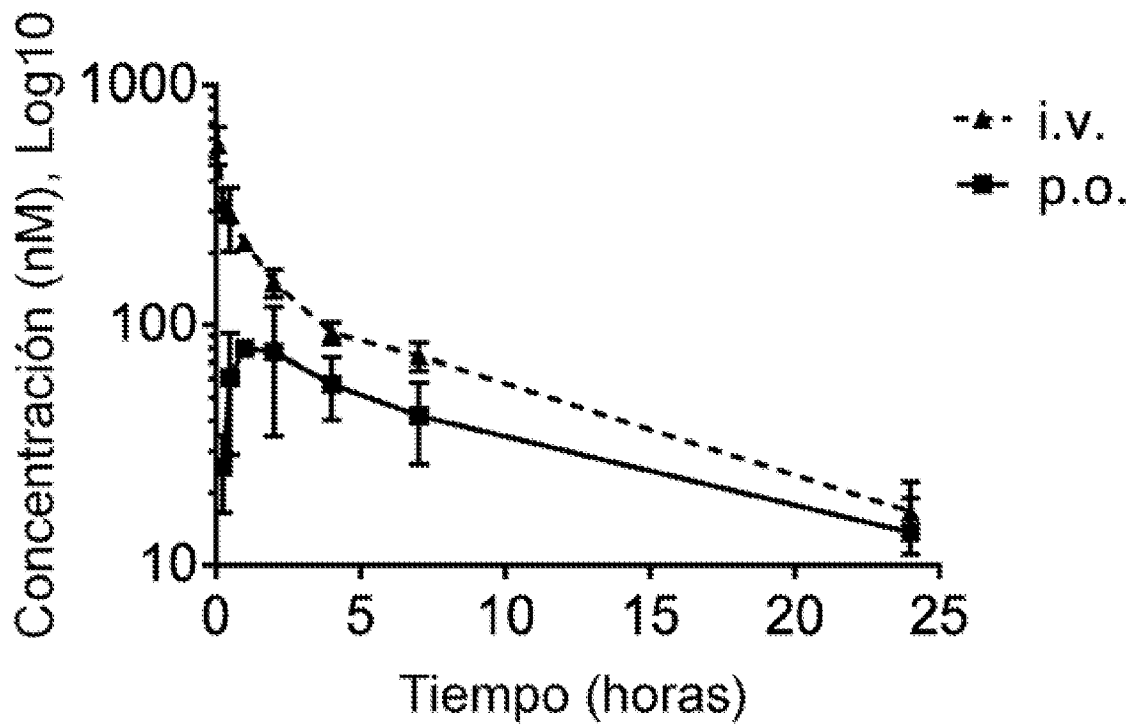


Figura 4D

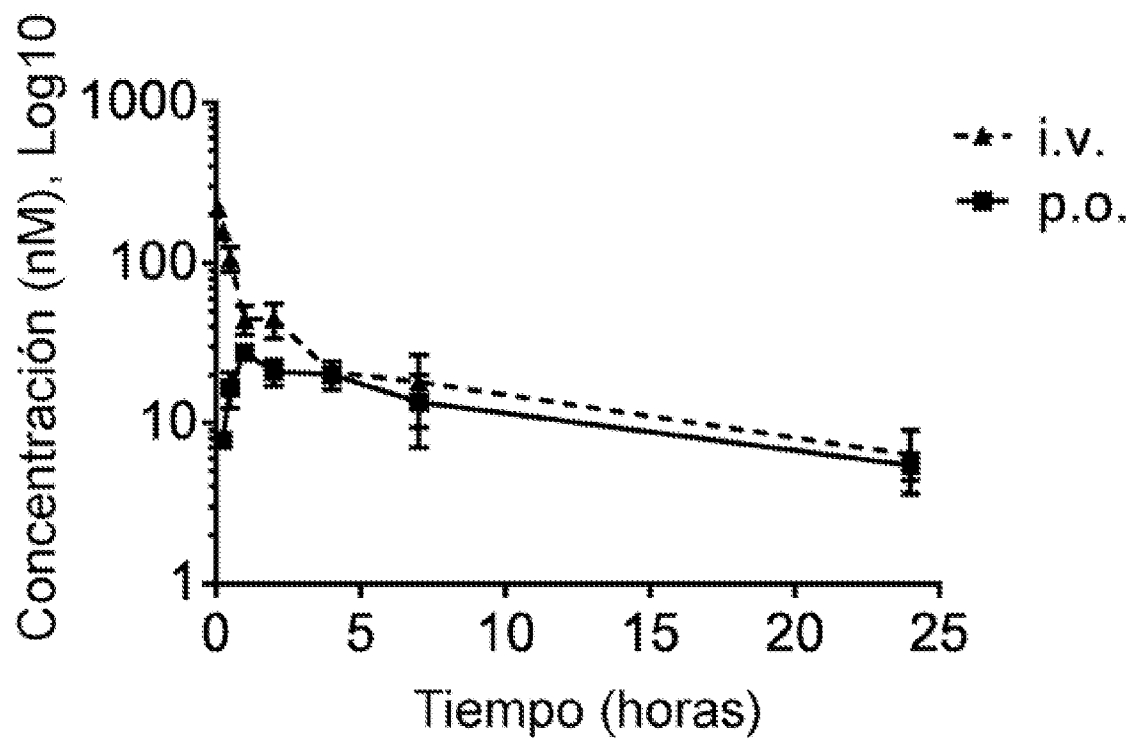


Figura 5A

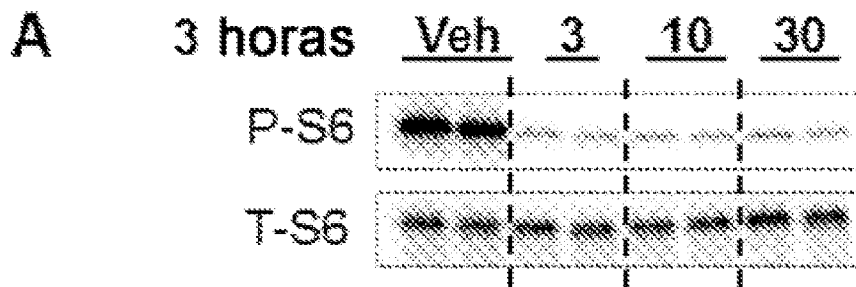


Figura 5B

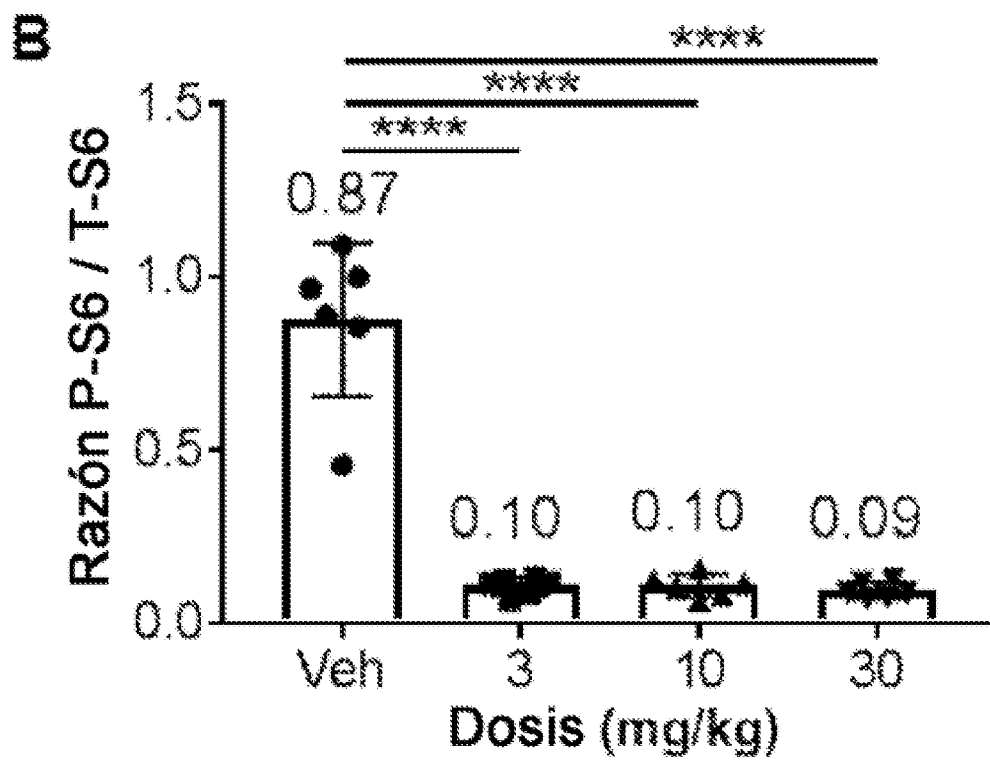


Figura 5C

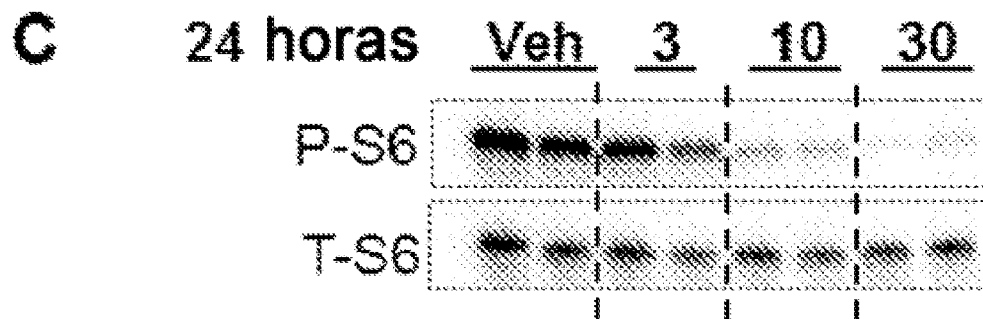


Figura 5D

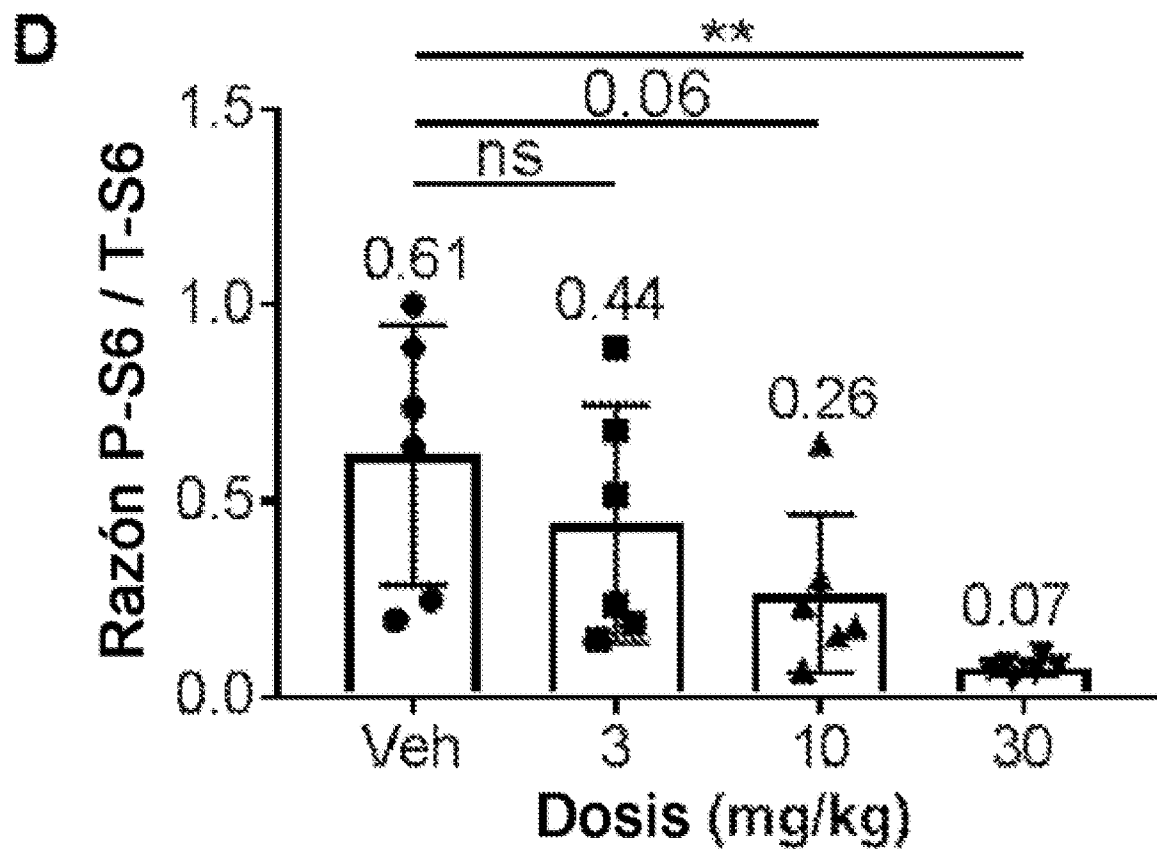




Figura 6A

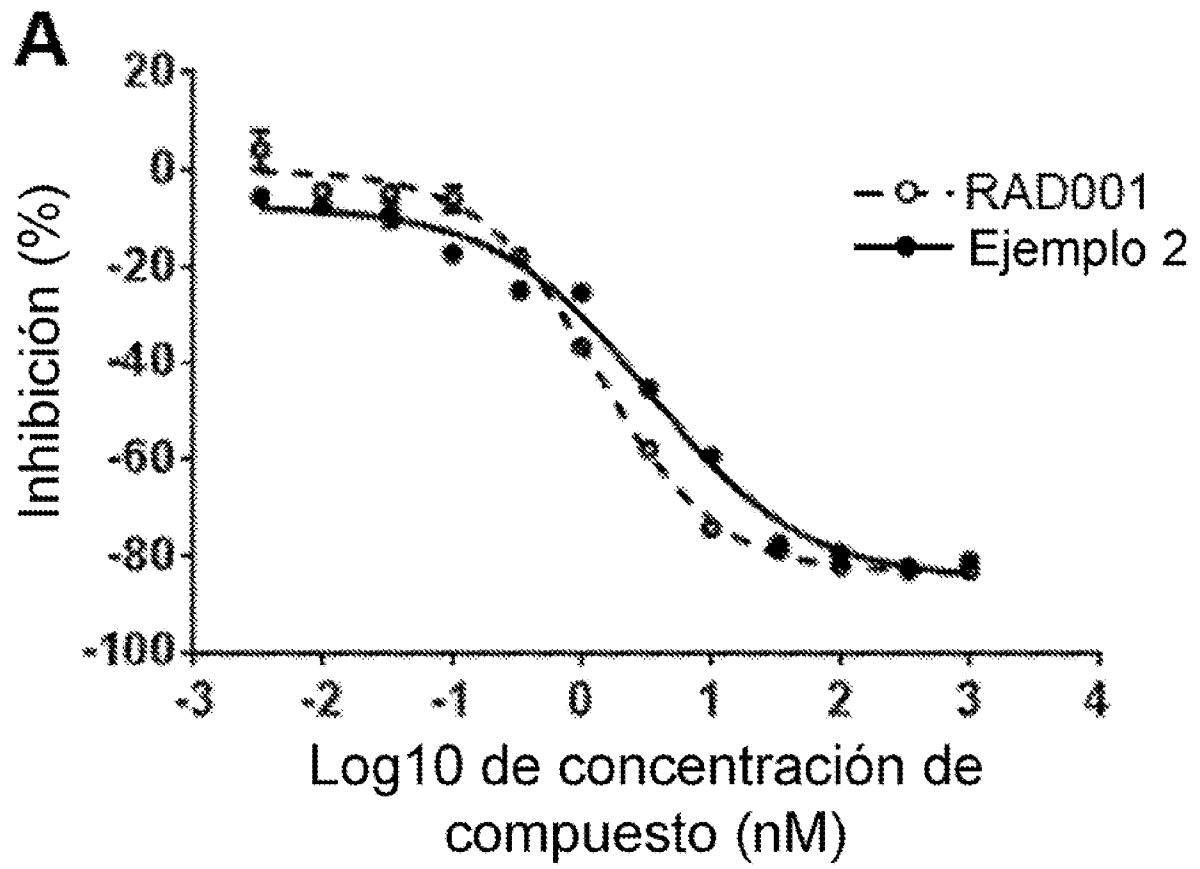


Figura 6B

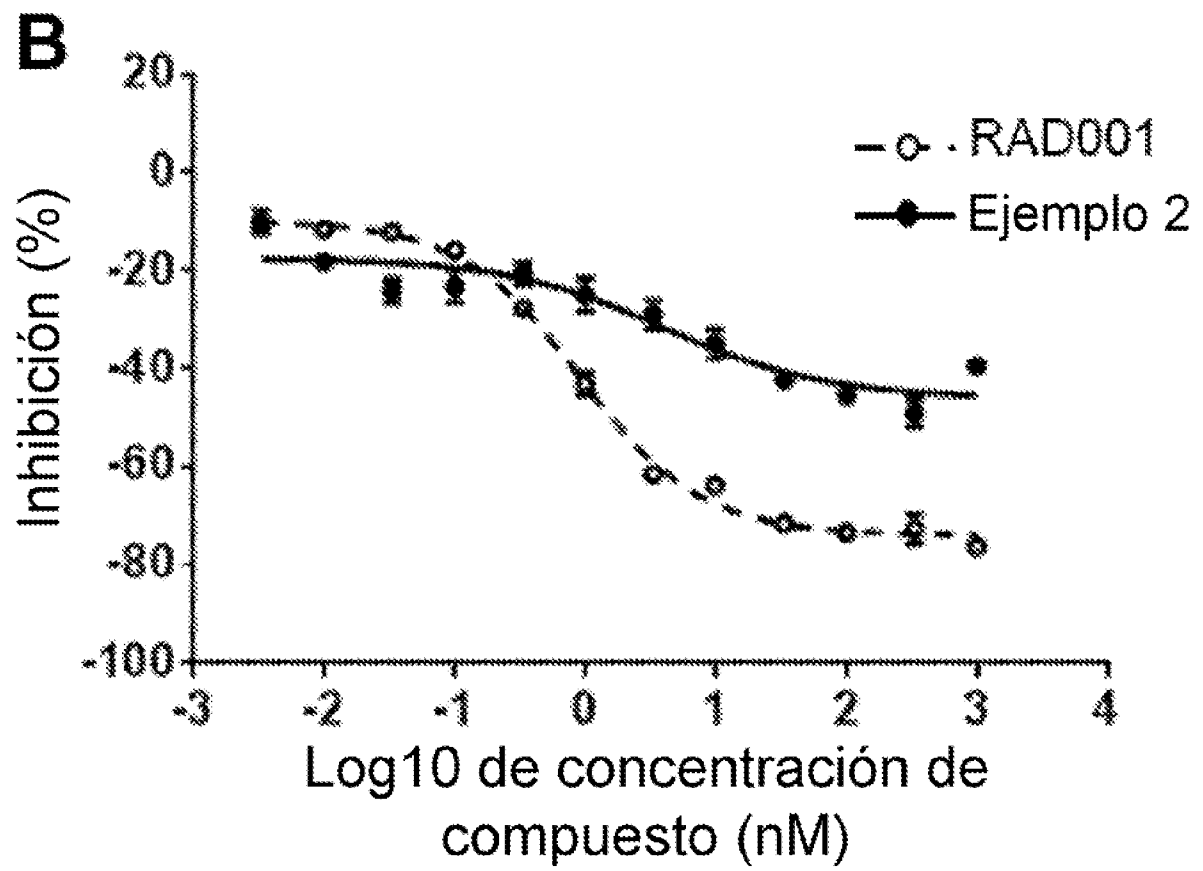


Figura 6C

