



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 693 33 577 T2** 2005.07.21

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 0 867 438 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **693 33 577.7**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **97 114 343.3**

(96) Europäischer Anmeldetag: **24.09.1993**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **30.09.1998**

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: **28.07.2004**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **21.07.2005**

(51) Int Cl.⁷: **C07D 498/18**
C07F 7/18, A61K 31/435

(30) Unionspriorität:
9221220 09.10.1992 GB

(73) Patentinhaber:
Novartis AG, Basel, CH

(74) Vertreter:
Spott & Weinmiller, 80336 München

(84) Benannte Vertragsstaaten:
AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LI, LU, NL, PT, SE

(72) Erfinder:
Cottens, Sylvain, 4108 Witterswil, CH; Sedrani, Richard, 4054 Basel, CH

(54) Bezeichnung: **Rapamycin-Derivate und ihre Verwendung, insbesondere als Immunsuppressoren**

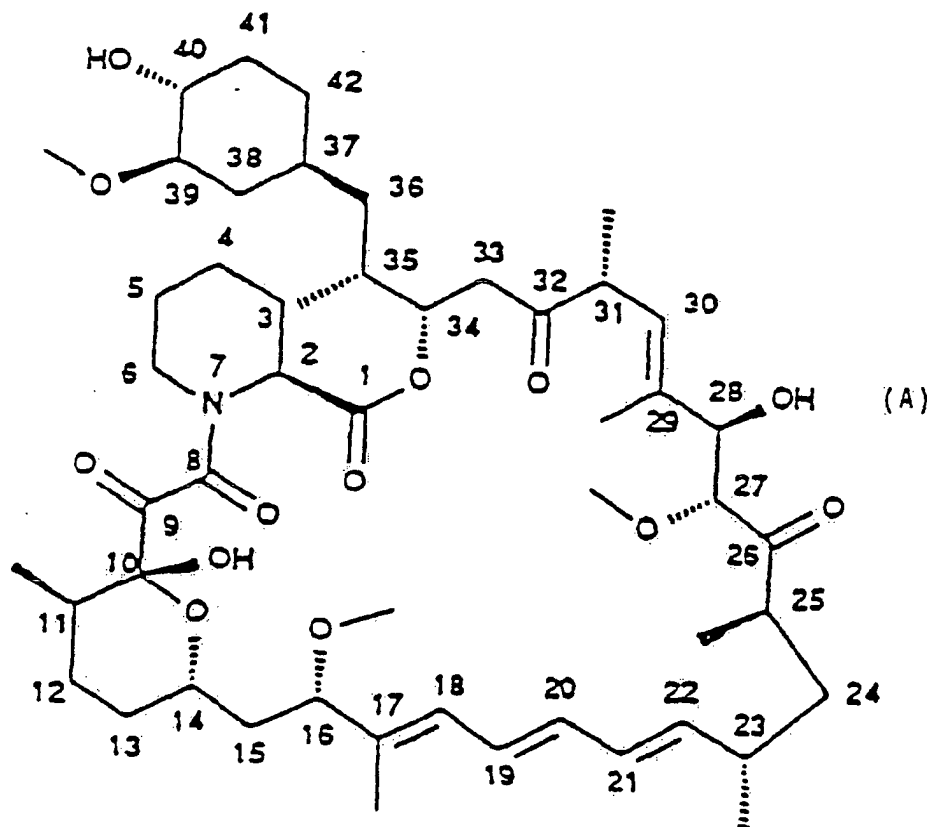
Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

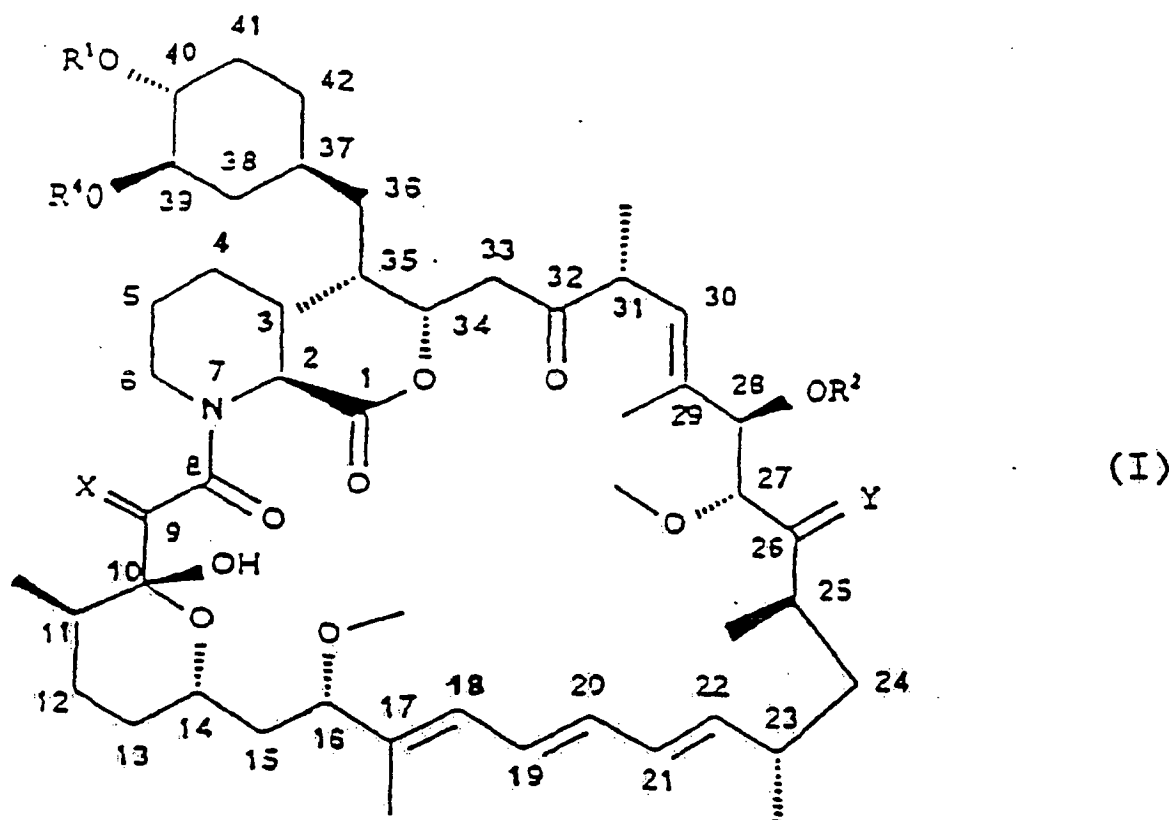
[0001] Die Erfindung betrifft ein neues alkyliertes Rapamycinderivat mit pharmazeutischer Brauchbarkeit, insbesondere als Immunsuppressivum.

[0002] Rapamycin ist ein bekanntes Makrolidantibiotikum, das von *Streptomyces hygroscopicus* gebildet wird und die in Formel A gezeigte Struktur aufweist



Siehe beispielsweise J. B. McAlpine et al., J. Antibiotics (1991) 44: 688, S. L. Schreiber et al., J. Am. Chem. Soc. (1991) 113: 7433, US 3 929 992 A. Rapamycin ist ein extrem starkes Immunsuppressivum und es wurde gezeigt, dass es auch Antitumor- und Antipilzaktivität aufweist. Seine Brauchbarkeit als Pharmazeutikum ist jedoch durch die sehr niedrige und variable Bioverfügbarkeit wie auch seine hohe Toxizität beschränkt. Darüber hinaus ist Rapamycin sehr unlöslich, was die Formulierung von stabilen galenischen Zusammensetzungen schwierig macht.

[0003] Es wurde nun überraschenderweise gefunden, dass bestimmte neue Derivate von Rapamycin, im folgenden auch die neuen Verbindungen genannt, ein verbessertes pharmakologisches Profil gegenüber Rapamycin haben, eine höhere Stabilität und Bioverfügbarkeit aufweisen und eine einfachere Herstellung galenischer Formulierungen erlauben. Diese neuen Verbindungen sind Alkylderivate von Rapamycin, welche die Struktur der folgenden Formel I haben



worin

X für (H, H) oder O steht,

Y für (H, OH) oder O steht,

R¹ und R² unabhängig ausgewählt sind aus

H, Alkyl, Thioalkyl, Arylalkyl, Hydroxyalkyl, Dihydroxyalkyl, Hydroxyalkylarylalkyl, Dihydroxyalkylarylalkyl, Alkoxyalkyl, Acyloxyalkyl, Aminoalkyl, Alkylaminoalkyl, Alkoxycarbonylaminoalkyl, Acylaminoalkyl, Arylsulfonamidoalkyl, Allyl, Dihydroxyalkylallyl, Dioxolanylallyl, Carbalkoxyalkyl und (R³)₃Si, worin die Substituenten R³ jeweils unabhängig ausgewählt sind aus H, Methyl, Ethyl, Isopropyl, t-Butyl und Phenyl, wobei sich die Angaben Alk- oder Alkyl auf C₁-C₆-Alkyl oder verzweigtes oder lineares vorzugsweise C₁-C₃-Alkyl beziehen, worin die Kohlenstoffkette optional durch eine Etherbrücke (-O-) unterbrochen sein kann, und

R⁴ für Methyl steht oder R⁴ und R¹ zusammen C₂-C₄-Alkylen bilden,

mit der Maßgabe, dass R¹ und R² nicht gleichzeitig für H stehen und mit der Maßgabe, dass, falls R¹ für (R³)₃Si oder Carbalkoxyalkyl steht, X und Y nicht gleichzeitig für O stehen.

[0004] Zu bevorzugten neuen Verbindungen gehören die folgenden Verbindungen:

1. 40-O-Benzylrapamycin
2. 40-O-(4'-Hydroxymethyl)benzylrapamycin
3. 40-O-[4'-(1,2-Dihydroxyethyl)]benzylrapamycin
4. 40-O-Allylrapamycin
5. 40-O-[3'-(2,2-Dimethyl-1,3-dioxolan-4(S)-yl)prop-2'-en-1'-yl]rapamycin
6. (2'E,4'S)-40-O-(4',5'-Dihydroxypent-2'-en-1'-yl)rapamycin
7. 40-O-(2-Hydroxy)ethoxycarbonylmethylrapamycin
8. 40-O-(2-Hydroxy)ethylrapamycin
9. 40-O-(3-Hydroxy)propylrapamycin
10. 40-O-(6-Hydroxy)hexylrapamycin
11. 40-O-[2-(2-Hydroxy)ethoxy]ethylrapamycin
12. 40-O-[(3S)-2,2-Dimethyldioxolan-3-yl]methylrapamycin
13. 40-O-[(2S)-2,3-Dihydroxyprop-1-yl]rapamycin
14. 40-O-(2-Acetoxy)ethylrapamycin
15. 40-O-(2-Nicotinoyloxy)ethylrapamycin
16. 40-O-[2-(N-Morpholino)acetoxy]ethylrapamycin
17. 40-O-(2-N-Imidazolylacetoxy)ethylrapamycin
18. 40-O-[2-(N-Methyl-N'-piperazinyl)acetoxy]ethylrapamycin
19. 39-O-Desmethyl-39,40-O,O-ethylenrapamycin

20. (26R)-26-Dihydro-40-O-(2-hydroxy)ethylrapamycin
21. 28-O-Methylrapamycin
22. 40-O-(2-Aminoethyl)rapamycin
23. 40-O-(2-Acetaminoethyl)rapamycin
24. 40-O-(2-Nicotinamidoethyl)rapamycin
25. 40-O-(2-(N-Methylimidazo-2'-ylcarboxamido)ethyl)rapamycin
26. 40-O-(2-Ethoxycarbonylaminoethyl)rapamycin
27. 40-O-(2-Tolylsulfonamidoethyl)rapamycin
28. 40-O-[2-(4',5'-Dicarboethoxy-1',2',3'-triazol-1'-yl)ethyl]rapamycin

[0005] Die als Immunsuppressiva geeigneten neuen Verbindungen sind vorzugsweise die in Position 40-O-substituierten Rapamycine, worin X und Y jeweils zusammen für O stehen, R² für H steht, R⁴ für Methyl steht und R¹ etwas anderes als H ist, insbesondere, worin R¹ ausgewählt ist aus Hydroxyalkyl, Hydroxyalkoxyalkyl, Acylaminoalkyl und Aminoalkyl, und vor allem 40-O-(2-Hydroxy)ethylrapamycin, 40-O-(3-Hydroxy)propylrapamycin, 40-O-[2-(2-Hydroxy)ethoxy]ethylrapamycin und 40-O-(2-Acetaminoethyl)rapamycin.

[0006] Vorzugsweise wird die O-Substitution am C40 oder die 0,0-Disubstitution am C28 und C40 gemäß dem folgenden allgemeinen Verfahren durchgeführt durch Umsetzung von Rapamycin (oder Dihydro- oder Deoxorapamycin) mit einem organischen Rest, der an einer Abgangsgruppe hängt (beispielsweise einem Rest RX, worin R für den organischen Rest steht, beispielsweise für einen Alkyl-, Allyl- oder Benzylrest, der als O-Substituent erwünscht ist, und X für die Abgangsgruppe steht, beispielsweise CCl₃C(NH)O oder CF₃SO₃), unter geeigneten Reaktionsbedingungen, vorzugsweise sauren oder neutralen Reaktionsbedingungen, beispielsweise in Gegenwart einer Säure, wie Trifluormethansulfonsäure, Camphersulfonsäure, p-Toluolsulfonsäure oder deren jeweiligen Pyridinium- oder substituierten Pyridiniumsalzen, wenn X für CCl₃C(NH)O steht, oder in Gegenwart einer Base, wie Pyridin, einem substituierten Pyridin, Diisopropylethylamin oder Pentamethylpiperidin, wenn X für CF₃SO₃ steht. O-Substitutionen nur am C28 lassen sich in der gleichen Weise erreichen, aber unter vorherigem Schutz am C40. Weitere Modifikationen sind möglich. Steht beispielsweise der Substituent für Allyl, dann ist die isolierte monosubstituierte Doppelbindung am Allylrest hoch empfindlich gegenüber einer weiteren Modifikation.

[0007] Die 9-Deoxorapamycinverbindungen werden vorzugsweise hergestellt durch Reduktion eines Rapamycins unter Verwendung von Schwefelwasserstoff, durch Umsetzung von Rapamycin mit Diphenyldiselenid und Tributylphosphin oder durch sonstige geeignete Reduktionsreaktionen.

[0008] Die 26-Dihydrorapamycine werden vorzugsweise hergestellt durch Reduktion von Rapamycinen oder 9-Deoxorapamycinen durch schwache Reduktionsreaktion der Ketogruppe am C26 zu einer Hydroxygruppe, wie einer Reduktionsreaktion mit Borhydrid.

[0009] Die neuen Verbindungen sind besonders brauchbar zur Behandlung der folgenden Zustände:

- a) Behandlung und Verhinderung einer Organ- oder Gewebetransplantatabstoßung, beispielsweise zur Behandlung von Empfängern von beispielsweise Herz-, Lungen-, kombinierten Herz-Lungen-, Leber-, Nieren-, Pankreas-, Haut- oder Corneatransplantaten. Sie sind ferner indiziert zur Verhinderung der Transplantat-gegen-Wirt Erkrankung, wie sie nach einer Knochenmarktransplantation auftreten kann.
- b) Behandlung und Verhinderung einer Autoimmunerkrankung und von Entzündungszuständen, insbesondere Entzündungszuständen mit einer Ätiologie, die eine Autoimmunkomponente umfasst, wie Arthritis (beispielsweise rheumatoide Arthritis, Arthritis chronica progediente und Arthritis deformans) und rheumatischen Erkrankungen. Bestimmte Autoimmunerkrankungen, für die die erfindungsgemäßen Verbindungen verwendet werden können, sind unter anderem autoimmune hämatologische Störungen (einschließlich beispielsweise hämolytischer Anämie, aplastischer Anämie, reiner Erythrozytenanämie und idiopathischer Thrombozytopenie), systemischer Lupus erythematoses, Polychondritis, Skerodermie, Wegener'scher Granulomatose, Dermatomyositis, chronisch aktive Hepatitis, Myasthenia gravis, Psoriasis, Steven-Johnson Syndrom, idiopathische Sprue, autoimmune entzündliche Darmerkrankungen (einschließlich beispielsweise Colitis ulcerosa und Morbus Crohn), endokrine Ophthalmopathie, Graves Erkrankung, Sarkoidose, Multiple Sklerose, primär biliäre Zirrhose, juveniler Diabetes (Diabetes mellitus Typ I), Uveitis (vordere und hintere), Keratokonjunktivitis sicca und Frühlingkonjunktivitis, interstitielle Lungenfibrose, psoriatische Arthritis, Glomerulonephritis (mit und ohne nephrotischem Syndrom, beispielsweise einschließlich einem idiopathisch nephrotischem Syndrom oder der Minimal Change Nephropathie) und juvenile Dermatomyositis.
- c) Behandlung und Verhinderung von Asthma.
- d) Behandlung der Multiarzneimittelresistenz (MDR). Die neuen Verbindungen unterdrücken P-Glykoproteine (PGP), die die mit MDR zusammenhängenden Membrantransportmoleküle sind. MDR ist insbesondere

bei Krebspatienten und AIDS Patienten problematisch, die nicht auf die herkömmliche Chemotherapie ansprechen, da die Medikation durch PGP aus den Zellen gepumpt wird. Die neuen Verbindungen sind daher brauchbar zur Steigerung der Wirksamkeit von anderen chemotherapeutischen Mitteln bei der Behandlung und Kontrolle von Multiarzneimittel-resistenten Zuständen, wie Multiarzneimittel-resistentem Krebs oder Multiarzneimittel-resistentem AIDS.

e) Behandlung von proliferativen Störungen, beispielsweise Tumoren, hyperproliferativen Hautstörungen und dergleichen.

f) Behandlung von Pilzinfektionen.

Behandlung und Verhinderung von Entzündung, insbesondere bei der Potentierung der Wirkung von Steroiden.

h) Behandlung und Verhinderung von Infektion, insbesondere einer Infektion durch Pathogene mit Mip oder Mip-ähnlichen Faktoren.

i) Behandlung von Überdosen an FK-506, Rapamycin, immunsuppressiven neuen Verbindungen und sonstigen Makrophilin-bindenden Immunsuppressiva.

[0010] Die Erfindung liefert daher die hierin beschriebenen neuen Verbindungen zur Verwendung als neue Zwischenprodukte oder als Pharmazeutika, Verfahren zur Behandlung oder Verhinderung der oben beschriebenen Störungen durch Verabreichung einer wirksamen Menge von neuen Verbindungen an einen behandlungsbedürftigen Patienten, die Verwendung der neuen Verbindungen bei der Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung oder Verhinderung der oben beschriebenen Störungen und pharmazeutische Zusammensetzungen, die die neuen Verbindungen in Kombination oder Assoziation mit einem pharmazeutisch annehmbaren Verdünnungsmittel oder Träger enthalten.

[0011] Der Großteil der hierin beschriebenen neuen Verbindungen ist hoch immunsuppressiv, was insbesondere für die neuen Verbindungen gilt, welche am C40 durch O substituiert sind, und diese neuen Verbindungen eignen sich vor allem für die oben unter a) und b) angegebenen Indikationen, aber nicht für die unter i) genannte Indikation. Diejenigen neuen Verbindungen, die weniger immunsuppressiv sind, nämlich insbesondere die Verbindungen, die lediglich am C28 durch O substituiert sind, eignen sich besonders für die oben unter h) und i) angegebenen Indikationen, sind aber weniger bevorzugt für die unter a) oder b) genannten Indikationen.

[0012] Die neuen Verbindungen werden durch Verabreichung einer pharmazeutisch wirksamen Dosis in einer pharmazeutisch annehmbaren Form an einen behandlungsbedürftigen Patienten angewandt. Geeignete Dosierungen der neuen Verbindungen schwanken natürlich in Abhängigkeit vom zu behandelnden Zustand, beispielsweise vom Typ der jeweiligen Krankheit und der Art der Resistenz, sowie von der gewünschten Wirkung und dem Verabreichungsweg.

[0013] Im allgemeinen gelangt man aber zu zufriedenstellenden Ergebnissen bei einer oralen Verabreichung mit Dosierungen im Bereich von 0,05 bis 5 oder bis zu 10 mg/kg/Tag, beispielsweise im Bereich von 0,1 bis 2 oder bis zu 7,5 mg/kg/Tag bei einmal oder in unterteilten Dosen zwei- bis viermal täglicher Verabreichung, oder bei einer parenteralen Verabreichung, beispielsweise einer intravenösen Verabreichung, wie durch intravenöses Eintropfen oder intravenöse Infusion, bei Dosierungen im Bereich von 0,01 bis 2,5 und hinauf bis 5 mg/kg/Tag, beispielsweise im Bereich von 0,05 oder 0,1 bis zu 1,0 mg/kg/Tag. Geeignete Tagesdosen für Patienten liegen daher im Bereich von 500 mg p. o., beispielsweise im Bereich von 5 bis 100 mg p. o., oder im Bereich von 0,5 bis 125 und bis zu 250 mg i. v., beispielsweise im Bereich von 2,5 bis 50 mg i. v.

[0014] Alternativ dazu und sogar bevorzugt wird die Dosierung in einer patientenspezifischen Weise so durchgeführt, dass sich vorbestimmte Mindestblutspiegel ergeben, was sich beispielsweise durch RIA Technik bestimmen lässt. Die Patientendosierung wird daher so eingestellt, dass normale Mindestblutspiegel im Bereich von 50 bis 150 und bis zu 500 oder 1.000 mg/ml bei einer Messung durch RIA erreicht werden, was in Analogie steht zu den Dosierungsverfahren, wie sie derzeit zur immunsuppressiven Therapie mit Ciclosporin verwendet werden.

[0015] Die neuen Verbindungen können als alleiniger Wirkstoff oder zusammen mit anderen Arzneimitteln verabreicht werden. Beispielsweise kann bei immunsuppressiven Anwendungen, wie der Verhinderung und Behandlung der Wirt-gegen-Transplantat Erkrankung, der Transplantatabstoßung oder der Autoimmunerkrankung, die neuen Verbindungen in Kombination mit Ciclosporin, FK-506, oder deren immunsuppressiven Derivaten, Corticosteroiden, Azathiopren, immunsuppressiven monoklonalen Antikörpern, beispielsweise monoklonalen Antikörpern gegen CD3, CD4, CD25, CD28 oder CD45, und/oder anderen immunmodulatorischen Verbindungen verwendet werden. Für antiinflammatorische Anwendungen können die neuen Verbindungen zusammen mit antiinflammatorischen Verbindungen verwendet werden, wie mit Corticosteroiden. Für antiinfekti-

ve Anwendungen können die neuen Verbindungen auch in Kombination mit anderen antiinfektiven Mitteln angewandt werden, beispielsweise mit antiviralen Arzneimitteln oder Antibiotika.

[0016] Die neuen Verbindungen werden durch jeden herkömmlichen Weg verabreicht, insbesondere enteral, beispielsweise oral in Form von Trinklösungen, Tabletten oder Kapseln, oder parenteral, beispielsweise in Form von injizierbaren Lösungen oder Suspensionen. Zur oralen Verabreichung geeignete Einheitsdosierungsformen enthalten beispielsweise 1 bis 50 mg einer erfindungsgemäßen Verbindung, gewöhnlich 1 bis 10 mg. Pharmazeutische Zusammensetzungen, die die neuen Verbindungen enthalten, können analog zu Rapamycin enthaltenden pharmazeutischen Zusammensetzungen hergestellt werden, wie dies beispielsweise in EP 0 041 795 A beschrieben und dem Fachmann bekannt sind.

[0017] Die pharmakologische Aktivität der neuen Verbindungen wird beispielsweise durch die folgenden Versuche gezeigt:

1. Gemischte Lymphozytenreaktion (MLR)

[0018] Die gemischte Lymphozytenreaktion wurde ursprünglich in Zusammenhang mit Allotransplantaten entwickelt, um die Gewebekompatibilität zwischen potentiellen Organspendern und Empfängern zu ermitteln, und diese Reaktion ist eines der am besten etablierten Modelle der Immunreaktion in vitro. Eine MLR im Mausmodell, wie dies beispielsweise beschrieben ist durch T. Meo in „Immunological Methods“, L. Lefkovits und B. Peris, Herausgeber Academic Press, N. Y., Seiten 227 bis 239 (1979), wird zur Demonstration der immunsuppressiven Wirkung der neuen Verbindungen verwendet. Milzzellen ($0,5 \times 10^6$) aus Balb/c Mäusen (weiblich, 8 bis 10 Wochen) werden für 5 Tage mit $0,5 \times 10^6$ bestrahlten (2000 rad) oder Mitomycin C behandelten Milzzellen aus CBA Mäusen (weiblich, 8 bis 10 Wochen) coinkubiert. Die bestrahlten allogenen Zellen induzieren eine proliferative Reaktion in Balb/C Milzzellen, die durch den Einbau eines markierten Vorläufers in die DNA gemessen werden kann. Da die stimulierenden Zellen bestrahlt (oder Mitomycin C behandelt) sind, reagieren sie nicht auf die Balb/c Zellen mit Proliferation, aber behalten ihre Antigenität. Die antiproliferative Wirkung der neuen Verbindungen auf die Balb/c Zellen wird bei verschiedenen Verdünnungen gemessen und die Konzentration, die zu 50% Hemmung der Zellproliferation führt (HK_{50}), wird berechnet. Das Hemmvermögen der Testprobe kann mit Rapamycin verglichen und als relative HK_{50} ausgedrückt werden (d. h. HK_{50} Testprobe/ HK_{50} Rapamycin).

2. Durch IL-6 vermittelte Proliferation

[0019] Das Vermögen der neuen Verbindungen, mit dem Wachstumsfaktor assoziierten Signalwegen wechselzuwirken, wird in einer Interleukin 6 (IL-6) abhängigen Maushybridomzelllinie untersucht. Der Test wird in Mikrotiterplatten mit 96 Vertiefungen durchgeführt. 5000 Zellen/ml werden in serumfreiem Medium kultiviert (wie dies von M. H. Schreiner und R. Tees in Immunological Methods, Herausgeber I. Lefkovits und B. Peris, Academic Press 1981, Band II, Seiten 263 bis 275, beschrieben ist), das mit 1 ng rekombinantem IL-6/ml versetzt ist. Nach einer Inkubation für 66 h in Gegenwart oder Abwesenheit einer Testprobe werden die Zellen mit 1 μ Ci (3 H)-Thymidin/Vertiefung für weitere 6 h versetzt, geerntet und durch Flüssigscintillation gezählt. Der (3 H)-Thymidineinbau in die DNA korreliert mit dem Anstieg der Zellzahl und ist daher ein Maß für die Zellproliferation. Eine Verdünnungsreihe der Testprobe erlaubt die Berechnung der Konzentration, die zu einer Zellproliferationshemmung von 50% führt (HK_{50}). Das Hemmvermögen der Testverbindung kann mit Rapamycin verglichen und als relative HK_{50} ausgedrückt werden (d. h. HK_{50} Testprobe/ HK_{50} Rapamycin).

3. Makrophilinbindungstest

[0020] Von Rapamycin und dem strukturell verwandten Immunsuppressivum FK-506 ist bekannt, dass sie beide in vivo an Makrophilin-12 binden (auch bekannt als FK-506 Bindungsprotein oder FKBP-12) und diese Bindung dürfte mit der immunsuppressiven Aktivität dieser Verbindungen zusammenhängen. Die neuen Verbindungen binden auch stark an Makrophilin-12, wie dies in einem Konkurrenzbindungstest gezeigt wird.

[0021] In diesem Test wird ein an BSA gekuppeltes FK-506 verwendet, um Mikrotiterplatten zu beschichten. Biotinyliertes rekombinantes humanes Makrophilin-12 (biot-MAP) kann in Gegenwart oder Abwesenheit einer Testprobe an das immobilisierte FK-506 binden. Nach dem Waschen (um nicht spezifisch gebundenes Makrophilin zu entfernen), wird gebundenes biot-MAP durch eine Inkubation mit einem Konjugat aus Streptavidin und alkalischer Phosphatase, gefolgt von einem Waschen und einer anschließenden Zugabe von p-Nitrophenylphosphat als Substrat ausgetestet. Die Auswertung erfolgt durch die OD bei 405 nm. Die Bindung einer Testprobe an biot-MAP führt zu einer Abnahme der Menge an biot-MAP, das an das FK-506 gebunden ist und somit

zu einer Verringerung in der OD405. Eine Verdünnungsreihe der Testprobe erlaubt die Bestimmung der Konzentration, die zu 50% Hemmung der biot-MAP Bindung an das immobilisierte FK-506 führt (HK_{50}). Das Hemmvermögen einer Testverbindung wird mit der HK_{50} von freiem FK-506 als Standard verglichen und als relative HK_{50} ausgedrückt (d. h. HK_{50} Testprobe/ HK_{50} freies FK-506).

4. Lokalisierte Transplantat-gegen-Wirt Reaktion (GvH)

[0022] Die in vivo Wirksamkeit der neuen Verbindungen wird in einem geeigneten Tiermodell bewiesen, wie dies beispielsweise beschrieben ist in Ford et al., Transplantation 10 (1970) 258. Milzzellen (1×10^7) von 6 Wochen alten weiblichen Wistar/Furth (WF) Ratten werden am Tag 0 subkutan in die linke hintere Pfote von weiblichen (F344 \times WF) F_1 Ratten injiziert, die etwa 100 g wiegen. Die Tiere werden für vier aufeinander folgende Tage behandelt und die poplitealen Lymphknoten werden am Tag 7 entfernt und gewogen. Der Gewichtsunterschied zwischen den zwei Lymphknoten wird als Parameter für die Ermittlung der Reaktion verwendet.

5. Nierenallotransplantatreaktion in der Ratte

[0023] Eine Niere aus einer weiblichen Fischer 344 Ratte wird auf das Nierengefäß einer unilateral (linke Seite) nephrektomierten WF Empfängerratte mittels einer End-zu-End Anastomose transplantiert. Die Harnleiteranastomose ist ebenfalls End-zu-End. Die Behandlung beginnt am Tag der Transplantation und wird für 14 Tage fortgesetzt. Eine contralaterale Nephrektomie wird sieben Tage nach der Transplantation durchgeführt, wodurch der Empfänger auf die Funktionsfähigkeit der Spenderniere angewiesen ist. Das Überleben des Transplantatempfängers dient als Parameter für ein funktionsfähiges Transplantat.

6. Experimentell induzierte allergische Encephalomyelitis (EAE) bei Ratten

[0024] Die Wirksamkeit der neuen Verbindungen bei der EAE wird beispielsweise durch das in Levine und Wenk, Amer. J. Path. 47 (1965) 61, McFarlin et al., J. Immunol. 113 (1974) 712, Borel, Transplant. & Clin. Immunol. 13 (1981) 3 beschriebene Verfahren gemessen. Die EAE ist ein breit akzeptiertes Modell für die Multiple Sklerose. Männliche Wistar Ratten injiziert man in die hinteren Pfoten ein Gemisch aus Rückenmarkstrang vom Rind und komplettem Freund'schem Adjuvans. Die Symptome dieser Erkrankung (Paralyse des Schwanzes und beider Hinterbeine) entwickelten sich gewöhnlich innerhalb von 16 Tagen. Die Anzahl an erkrankten Tieren wie auch der Zeitpunkt des Einsetzens der Erkrankung werden aufgezeichnet.

7. Arthritis durch Freund Adjuvans

[0025] Die Wirksamkeit gegen experimentell induzierte Arthritis wird unter Verwendung des Verfahrens gezeigt, das beispielsweise beschrieben ist in Winter und Nuss, Arthritis & Rheumatism 9 (1966), 394, Billingham und Davies, Handbook of Experimental Pharmacol. (Herausgeber Vane und Ferreira, Springer Verlag, Berlin) 50/II (1979) 108 bis 144. OFA und Wistar Ratten (männlich oder weiblich, 150 g Körpergewicht) injiziert man i. c. am Schwanzansatz oder in die hintere Pfote 0,1 ml Mineralöl, das 0,6 mg lyophilisiertes hitze-getötetes Mycobacterium smegmatis enthält. Bei der Entwicklung des Arthritismodells wird die Behandlung unmittelbar nach der Injektion des Adjuvans (Tage 1 bis 18) begonnen, beim ausgebildeten Arthritismodell wird die Behandlung am Tag 14 begonnen, wenn die sekundäre Entzündung gut entwickelt ist (Tage 14 bis 20). Am Ende des Experiments wird die Schwellung der Gelenke durch ein Mikrometer gemessen. Die ED_{50} ist die orale Dosis in mg/kg, die die Schwellung (primär oder sekundär) auf die Hälfte der Kontrollen verringert.

8. Antitumor und MDR Aktivität

[0026] Die Antitumoraktivität der neuen Verbindungen und deren Fähigkeit zur Förderung der Wirksamkeit der Antitumormittel durch die Linderung der Multiarzneimittelresistenz wird beispielsweise gezeigt durch die Verabreichung eines Antikrebsmittels, beispielsweise Colchizin oder Etoposid, an multiarzneimittelresistente Zellen und arzneimittlempfindliche Zellen in vitro oder an Tiere, die multiarzneimittelresistente oder arzneimittlempfindliche Tumore oder Infektionen aufweisen, mit oder ohne gleichzeitiger Verabreichung der zu testenden neuen Verbindungen und durch die Verabreichung der neuen Verbindungen allein.

[0027] Solche in vitro Tests werden mittels jeder geeigneten arzneimittelresistenten Zelllinie und Kontrollzelllinie (Ausgangszelllinie) durchgeführt, die erzeugt werden, wie dies beispielsweise beschrieben ist in Ling et al., J. Cell. Physiol. 83, 103 bis 116 (1974), und Bech-Hansen et al., J. Cell. Physiol. 88, 23 bis 32 (1976). Bestimmte ausgewählte Klone sind die multiarzneimittelresistente (beispielsweise Colchizin resistente) Linie CHR (Subklon C5S3.2) und die ursprüngliche, empfindliche Linie AUX B1 (Subklon AB1 S11).

[0028] Die in vivo Antitumor- und Anti-MDR-Aktivität wird beispielsweise bei Mäusen gezeigt, denen multiarzneimittelresistente und arzneimittlempfindliche Krebszellen injiziert werden. Ehrlich Ascitescarcinomsublinien (EA), die gegenüber der Arzneimittelsubstanz DR, VC, AM, ET, TE oder CC resistent sind, werden durch aufeinander folgenden Transfer von EA Zellen auf aufeinander folgende Generationen an Balb/c Wirtsmäusen gemäß den von Slater et al., J. Clin. Invest. 70, 1131 (1982), beschriebenen Verfahren entwickelt.

[0029] Äquivalente Ergebnisse können erhalten werden, wenn die Testmodelle der neuen Verbindungen mit vergleichbarem Design verwendet werden, beispielsweise in vitro, oder durch die Verwendung von Testtieren, die infiziert sind mit arzneimittelresistenten und arzneimittlempfindlichen Virusstämmen, antibiotikumresistenten (beispielsweise Penicillin) und empfindlichen Bakterienstämmen, antipilzmittelresistenten und empfindlichen Pilzstämmen wie auch arzneimittelresistenten Protozoenstämmen, beispielsweise Plasmodienstämmen, wie natürlich vorkommende Unterstämme von Plasmodium falciparum, die eine erworbene Resistenz gegen Chemotherapie und Antimalariaarzneimittel zeigen.

9. Bindung von FKBP

[0030] Bestimmte der neuen Verbindungen sind nicht immunsuppressiv, und zwar insbesondere diejenigen, welche lediglich am C28 durch O substituiert sind, wie 28-O-Methylrapamycin. Dies lässt sich durch Standardversuche in vitro im Vergleich zu FK-506 und Rapamycin zeigen. FK-506 ist beispielsweise als ein starker Inhibitor der Transkription von IL-2 bekannt, was durch einen IL-2 Reporterergenversuch gezeigt werden kann. Rapamycin ist zwar beim IL-2 Reporterergenversuch nicht wirksam, ergibt aber eine starke Hemmung der von IL-6 abhängigen T-Zellproliferation. Beide Verbindungen sind sehr starke Inhibitoren der gemischten Lymphozytenreaktion. Die nicht immunsuppressive Wirkung kann auch anhand der oben unter 1 bis 7 beschriebenen in vitro Modelle gezeigt werden. Selbst diejenigen neuen Verbindungen, die nicht immunsuppressiv sind, binden aber an Macrophilin, was bestimmte Anwendungsmöglichkeiten eröffnet, bei denen eine nicht immunsuppressive Wirkung von Vorteil ist.

[0031] Die neuen Verbindungen, die keine starke Bindung an Macrophilin eingehen und selbst nicht immunsuppressiv sind, lassen sich zur Behandlung von Überdosen an Immunsuppressiva verwenden, welche an Macrophilin binden, wie FK-506, Rapamycin und die immunsuppressiven neuen Verbindungen.

10. Steroidverstärkung

[0032] Die Makrophilinbindungsaktivität der neuen Verbindungen macht sie auch bei der Verstärkung oder Potenzierung der Wirkung von Kortikosteroiden brauchbar. Die kombinierte Behandlung mit den erfindungsgemäßen Verbindungen und einem Kortikosteroid, wie Dexamethason, führt zu einer stark gesteigerten Steroidaktivität. Dies kann beispielsweise im Reportergergentest der Mausbrusttumorstamm-Chloramphenicolacetyltransferase (MMTV-CAT) gezeigt werden, wie er beispielsweise in Ning et al., J. Biol. Chem. (1993) 268, 6073, beschrieben ist. Dieser synergistische Effekt erlaubt verringerte Dosierungen an Corticosteroiden, wobei in manchen Fällen das Risiko für Nebenwirkungen verringert wird.

11. Hemmung des Mip- oder Mip ähnlichen Faktors

[0033] Zusätzlich binden und blockieren die neuen Verbindungen eine Vielzahl an Mip (Makrophageninfektiositätspotenzierer) und Mip ähnliche Faktoren, die zu Macrophilin strukturell ähnlich sind. Mip und Mip ähnliche Faktoren sind Virulenzfaktoren, die von einer großen Vielzahl an Pathogenen gebildet werden, einschließlich denen der Gattung Chlamydia, beispielsweise Chlamydia trachomatis, Neisseria, beispielsweise Neisseria meningitidis, und Legionella, beispielsweise Legionella pneumophila, und auch von den obligat parasitären Vertretern der Ordnung Rickettsiales. Diese Faktoren spielen eine kritische Rolle bei der Etablierung einer intrazellulären Infektion. Die Wirksamkeit der neuen Verbindungen, bei der Verringerung der Infektiosität von Pathogenen, die Mip oder Mip ähnliche Faktoren bilden, kann durch den Vergleich der Infektiosität der Pathogenen in Zellkulturen in Gegenwart und Abwesenheit der Makrolide gezeigt werden, indem man beispielsweise die in Lundemose et al., Mol. Microbiol. (1993) 7, 777, beschriebenen Verfahren verwendet. Die nicht immunsuppressiven erfindungsgemäßen Verbindungen sind zur Verwendung bei dieser Indikation bevorzugt, da sie nicht suppressiv sind und daher die natürlichen Abwehrkräfte des Körpers gegen die Pathogene nicht beeinträchtigen.

[0034] Die neuen Verbindungen sind auch brauchbar in Tests, um das Vorkommen oder die Menge von Macrophilin bindenden Verbindungen zu detektieren, beispielsweise in Konkurrenztests für diagnostische oder Screeningzwecke. Daher liefert die vorliegende Erfindung in einer weiteren Ausführungsform die Verwendung

der neuen Verbindungen als Screeningwerkzeug, um das Vorkommen von Makrophilin bindenden Verbindungen in einer Testlösung zu bestimmen, beispielsweise im Blut, Blutserum oder einer zu screenenden Testlösung. Vorzugsweise wird eine neue Verbindung in Mikrotiterplatten immobilisiert und kann dann in Gegenwart und Abwesenheit einer Testlösung an markiertes Makrophilin 12 (FKBP-12) binden. Alternativ dazu wird das FKBP-12 in Mikrotiterplatten immobilisiert und kann in Gegenwart und Abwesenheit einer Testlösung an eine neue Verbindung binden, die markiert wurde, beispielsweise fluoreszierend, enzymatisch oder radioaktiv markiert, wie eine neue Verbindung, die am C40 und/oder C28 mit einer markierenden Gruppe O-substituiert worden ist. Die Platten werden gewaschen, und die Menge an gebundener markierter Verbindung wird gemessen. Die Menge an Makrophilin bindender Substanz in der Testlösung ist grob umgekehrt proportional zur Menge an gebundener markierter Verbindung. Für eine quantitative Analyse wird eine Standardbindungskurve mittels bekannter Konzentrationen an Makrophilin bindender Verbindung erstellt.

Beispiele

[0035] In den folgenden Beispielen sind charakteristische spektroskopische Daten angegeben, um die Identifizierung zu erleichtern. Die Peaks, die sich nicht signifikant vom Rapamycin unterscheiden, sind nicht enthalten. Die biologischen Daten sind ausgedrückt als relative HK_{50} -Werte verglichen mit Rapamycin im Fall der Tests der gemischten Lymphozytenreaktion (MLR) und der IL-6 abhängigen Proliferation (IL-6 abh. Prol.) und verglichen mit FK-506 im Fall des Makrophilinbindungstests (MBA). Ein höherer HK_{50} -Wert korreliert mit einer niedrigeren Bindungsaffinität.

Beispiel 1: 40-O-Benzylrapamycin

[0036] Eine Lösung von 183 mg (0,200 mmol) Rapamycin in 2,1 ml eines 2 : 1 Gemisches aus Cyclohexan und Methylenchlorid wird unter Rührung mit 75 μ l (0,402 mmol) Benzyltrichloracetimidat und dann mit 2,6 μ l (29 μ mol, 15 mol%) Trifluormethansulfonsäure versetzt, worauf sich das Gemisch sofort gelb färbt. Nach 3 h wird das Gemisch mit Ethylacetat verdünnt und mit 10%igem wässrigem Natriumbicarbonat abgeschreckt. Die Schichten werden voneinander getrennt, und die wässrige Schicht wird zweimal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigte organische Lösung wird mit 10%igem wässrigem Natriumbicarbonat gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und unter verringertem Druck eingeeengt. Der Rückstand wird durch Säulenchromatographie über Silicagel (50 : 50 Hexan-Ethylacetat) gereinigt, wodurch man 40-O-Benzylrapamycin als weißen amorphen Feststoff erhält.

1H NMR ($CDCl_3$) δ 0,73 (1H, dd), 1,65 (3H, s), 1,73 (3H, s), 3,12 (4H, s und m), 3,33 (3H, s), 3,49 (3H, s), 4,15 (1H, bd), 4,65 (1H, d), 4,71 (1H, d), 7,22 bis 7,38 (5H, m).

MS (FAB) m/z 1026 ($[M + Na]^+$), 972 ($[M - OCH_3]^+$), 954 ($[M - (OCH_3 + H_2O)]^+$).

MBA (rel. HK_{50})	1,8
IL-6 abhängige Proliferation (rel. HK_{50})	10
MLR (rel. HK_{50})	110

Beispiel 2: 40-O-(4'-Hydroxymethyl)benzylrapamycin

a) 40-O-[4'-(t-Butyldimethylsilyl)oxymethyl]benzylrapamycin

[0037] Eine gekühlte Lösung ($-78^\circ C$) von 345 μ l (2,0 mmol) Triflicanhydrid in 5 ml Methylenchlorid wird unter Rührung mit einer Lösung von 504 mg (2,0 mmol) 4-(t-Butyldimethylsilyl)oxymethylbenzylalkohol und 820 mg (4,0 mmol) 2,6-Di-t-butyl-4-methylpyridin in 5 ml Methylenchlorid versetzt. Das erhaltene Gemisch wird auf $-20^\circ C$ erwärmt und 0,5 h bei dieser Temperatur weiter gerührt. Sodann wird das Gemisch erneut auf $-78^\circ C$ abgekühlt und mit einer Lösung von 914 mg (1,0 mmol) Rapamycin in 5 ml Methylenchlorid versetzt. Anschließend lässt man das Gemisch über Nacht auf Raumtemperatur erwärmen und schreckt es dann mit 10%igem wässrigem Natriumbicarbonat ab. Die Schichten werden voneinander getrennt, und die wässrige Schicht wird mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigte organische Lösung wird mit gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, unter verringertem Druck filtriert und eingeeengt. Der Rückstand wird durch Säulenchromatographie über Silicagel (50 : 50 Hexan-Ethylacetat) gereinigt, wodurch man 40-O-[4'-(t-Butyldimethylsilyl)oxymethyl]benzylrapamycin als weißen Schaum erhält.

MS (FAB) m/z 1170 ($[M + Na]^+$), 1098 ($[M - (OCH_3 + H_2O)]^+$).

b) 40-O-(4'-Hydroxymethyl)benzylrapamycin

[0038] Eine gekühlte Lösung ($-0^\circ C$) von 98 mg (0,093 mmol) der gemäß Beispiel 2 erhaltenen Verbindung in

2 ml Acetonitril wird unter Rührung mit 0,2 ml HF-Pyridin versetzt. Das erhaltene Gemisch wird während 2 h gerührt, worauf eine Abschreckung mit wässrigem Natriumbicarbonat und anschließende Extraktion mit Ethylacetat erfolgt. Die organische Lösung wird mit Kochsalzlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und eingeeengt. Der Rückstand wird durch Säulenchromatographie über Silicagel gereinigt (20 : 80 Hexan-Ethylacetat), wodurch sich die Titelverbindung als weißer Schaum ergibt.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0,73 (1H, dd), 1,65 (3H, s), 1,74 (3H, s), 3,22 (1H, m), 4,67 (4H, m), 7,35 (4H, m).

MS (FAB) m/z 1056 ($[\text{M} + \text{Na}]^+$), 1002 ($[\text{M} - \text{OCH}_3]^+$), 984 ($[\text{M} - (\text{OCH}_3 + \text{H}_2\text{O})]^+$), 966 ($[\text{M} - (\text{OCH}_3 + 2\text{H}_2\text{O})]^+$), 934 ($[\text{M} - (\text{OCH}_3 + \text{CH}_3\text{OH} + 2\text{H}_2\text{O})]^+$).

MBA (rel. HK_{50})	2,7
IL-6 abhängige Proliferation (rel. HK_{50})	3,9
MLR (rel. HK_{50})	3

Beispiel 3: 40-O-[4'-(1,2-Dihydroxyethyl)]benzylrapamycin

a) 40-O-[4'-(2,2-Dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)]benzylrapamycin

[0039] In 10 ml eines 1 : 1 Gemisches aus Cyclohexan und Methylenchlorid löst man 452 mg (1,24 mmol) 4-(2,2-Dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)benzyltrichloracetimidat und versetzt das Ganze dann mit 0,14 ml (0,64 mmol) 2,6-Di-*t*-butylpyridin und 56 μl (0,64 mmol) Trifluormethansulfonsäure. Das erhaltene Gemisch wird mit einer Lösung von 587 mg (0,64 mmol) Rapamycin in 2 ml Methylenchlorid versetzt. Das Reaktionsgemisch wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt und dann mit wässrigem Natriumbicarbonat abgeschreckt. Die Schichten werden voneinander getrennt, und die wässrige Schicht wird zweimal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigte organische Lösung wird mit gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, filtriert und eingeeengt. Der Rückstand wird durch Säulenchromatographie über Silicagel (50 : 50 Hexan-Ethylacetat) gereinigt, wodurch man 40-O-[4'-(2,2-Dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)]benzylrapamycin als weißen amorphen Feststoff erhält.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0,73 (1H, dd), 1,48 (3H, s), 1,55 (3H, s), 1,65 (3H, s), 1,74 (3H, s), 3,67 (3H, m), 4,28 (1H, dd), 4,62 (1H, d), 4,69 (1H, d), 5,06 (1H, dd), 7,33 (4H, m).

MS (FAB) m/z 1126 ($[\text{M} + \text{Na}]^+$), 1072 ($[\text{M} - \text{OCH}_3]^+$), 1054 ($[\text{M} - (\text{OCH}_3 + \text{H}_2\text{O})]^+$), 1014 ($[\text{M} - (\text{OCH}_3 + \text{CH}_3\text{COCH}_3)]^+$), 996 ($[\text{M} - (\text{OCH}_3 + \text{H}_2\text{O} + \text{CH}_3\text{COCH}_3)]^+$), 978 ($[\text{M} - (\text{OCH}_3 + 2\text{H}_2\text{O} + \text{CH}_3\text{COCH}_3)]^+$).

b) 40-O-[4'-(1,2-Dihydroxyethyl)]benzylrapamycin

[0040] Eine Lösung von 90,7 mg (0,08 mmol) 40-O-[4'-(2,2-Dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)]benzylrapamycin in 4 ml Methanol wird mit 1 ml 1 N wässrigem HCl versetzt. Nach 2 h wird das Gemisch mit wässrigem Natriumbicarbonat abgeschreckt und zweimal mit Ethylacetat extrahiert. Die organische Lösung wird mit Kochsalzlösung gewaschen, über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und eingeeengt. Der Rückstand wird durch Chromatographie über Silicagel gereinigt (Ethylacetat), wodurch man die Titelverbindung als weißen Schaum erhält.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0,73 (1H, dd), 1,65 (3H, s), 1,74 (3H, s), 3,70 (4H, m), 4,63 (1H, d), 4,69 (1H, d), 4,80 (1H, dd), 7,33 (4H, m).

MS (FAB) m/z 1086 ($[\text{M} + \text{Na}]^+$), 1032 ($[\text{M} - \text{OCH}_3]^+$), 1014 ($[\text{M} - (\text{OCH}_3 + \text{H}_2\text{O})]^+$), 966 ($[\text{M} - (\text{OCH}_3 + 2\text{H}_2\text{O})]^+$).

MBA (rel. HK_{50})	0,92
IL-6 abhängige Proliferation (rel. HK_{50})	10,5
MLR (rel. HK_{50})	22

Beispiel 4: 40-O-Allylrapamycin

[0041] Eine gekühlte Lösung (-78°C) von 0,33 ml (2,01 mmol) Triflicanhydrid in 5 ml Methylenchlorid wird unter Rührung langsam mit einer Lösung von 0,14 ml (2,06 mmol) Allylalkohol und 0,42 g (2,04 mmol) 2,6-Di-*t*-butyl-4-methylpyridin in 5 ml Methylenchlorid versetzt. Die erhaltene grünliche Lösung wird 1,5 h gerührt und dann mit einer Lösung von 915 mg (1,00 mmol) Rapamycin und 0,42 g (2,04 mmol) 2,6-Di-*t*-butyl-4-methylpyridin in 5 ml Methylenchlorid versetzt. Sodann wird während 0,5 h bei -78°C weiter gerührt, worauf das Gemisch auf Raumtemperatur erwärmt wird. Nach einer weiteren Stunde wird das Gemisch mit wässrigem Natriumbicarbonat abgeschreckt, worauf die Schichten voneinander getrennt werden. Die wässrige Schicht wird zweimal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigte organische Lösung wird mit wässrigem Natriumbicarbonat und Kochsalzlösung gewaschen, über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, filtriert und eingeeengt. Das erhaltene grüne Öl wird durch Säulenchromatographie über Silicagel (60 : 40 Hexan-Ethylacetat) gereinigt, wodurch sich die Titelverbindung als weißer amorpher Feststoff ergibt.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0,72 (1H, dd), 1,65 (3H, s), 1,74 (3H, s), 3,05 (1H, m), 4,13 (2H, bd), 5,14 (2H, m), 5,27 (2H,

m), 5,92 (2H, m).

MS (FAB) m/z 976 ($[M + Na]^+$), 922 ($[M - OCH_3]^+$), 904 ($[M - (OCH_3 + H_2O)]^+$), 886 ($[M - (OCH_3 + 2H_2O)]^+$), 872 ($[M - (2CH_3OH + OH)]^+$), 854 ($[M - (OCH_3 + CH_3OH + 2H_2O)]^+$).

MBA (rel. HK_{50})	1
IL-6 abhängige Proliferation (rel. HK_{50})	8
MLR (rel. HK_{50})	260

Beispiel 5: 40-O-[3'-(2,2-Dimethyl-1,3-dioxolan-4(S)-yl)-prop-2'en-1'-yl]rapamycin

[0042] Eine gerührte und gekühlte Lösung (-78°C) von 0,64 g (4,00 mmol) E-(4S)-4,5-O,O-Isopropyliden-pent-2-en-1,4,5-triol und 1,26 g (6,00 mmol) 2,6-Di-t-butyl-4-methylpyridin in 20 ml Methylenchlorid wird mit 0,82 ml (5,00 mmol) Triflicanhydrid versetzt. Das erhaltene Gemisch wird 2 h auf dieser Temperatur gerührt und dann mit einer Lösung von 1,82 g (2,00 mmol) Rapamycin und 1,26 g (6,00 mmol) 2,6-Di-t-butyl-4-methylpyridin in 5 ml Methylenchlorid versetzt. Hierauf lässt man das Gemisch über Nacht allmählich auf Raumtemperatur erwärmen und schreckt es dann mit wässrigem Natriumbicarbonat ab. Die Schichten werden voneinander getrennt, und die wässrige Schicht wird dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Die organische Lösung wird mit wässrigem Natriumbicarbonat und Kochsalzlösung gewaschen, über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, filtriert und eingeengt. Das Rückstand wird durch Chromatographie über Silicagel (40 : 60 Hexan-Ethylacetat) gereinigt, wodurch sich die Titelverbindung als weißer Feststoff ergibt.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0,72 (1H, dd), 1,38 (3H, s), 1,42 (3H, s), 1,65 (3H, s), 1,73 (3H, s), 3,06 (1H, m), 3,58 (2H, m), 4,08 (1H, dd), 4,15 (2H, m), 4,52 (1H, bdd), 5,72 (1H, m), 5,88 (1H, m).

MS (FAB) m/z 1076 ($[M + Na]^+$), 1022 ($[M - OCH_3]^+$), 1004 ($[M - (OCH_3 + H_2O)]^+$), 964 ($[M - (OCH_3 + CH_3COCH_3)]^+$), 946 ($[M - (OCH_3 + H_2O + CH_3COCH_3)]^+$), 946 ($[M - (OCH_3 + 2H_2O + CH_3COCH_3)]^+$).

MBA (rel. HK_{50})	0,64
IL-6 abhängige Proliferation (rel. HK_{50})	11
MLR (rel. HK_{50})	8

Beispiel 6: (2'E,4'S)-40-O-(4',5'-Dihydroxypent-2'-en-1'-yl)rapamycin

[0043] Die im Beispiel 3, Stufe b), beschriebenen Bedingungen werden auf die nach dem vorherigen Beispiel erhaltene Verbindung angewandt, wodurch man nach Reinigung durch Säulenchromatographie über Silicagel (95 : 5 Ethylacetat : Methanol) die Titelverbindung als weißen Schaum erhält.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0,68 (1H, dd), 3,04 (1H, m), 4,18 (5H, m), 5,75 (1H, dd), 5,88 (1H, m).

MS (FAB) m/z 1036 ($[M + Na]^+$), 1013 (M^+), 995 ($[M - H_2O]^+$), 982 ($[M - OCH_3]^+$), 964 ($[M - (OCH_3 + H_2O)]^+$), 946 ($[M - (OCH_3 + 2H_2O)]^+$), 832 ($[M - (2CH_3OH - OH)]^+$), 914 ($[M - (OCH_3 + CH_3OH + 2H_2O)]^+$).

MBA (rel. HK_{50})	1,7
IL-6 abhängige Proliferation (rel. HK_{50})	12
MLR (rel. HK_{50})	3,5

Beispiel 7: 40-O-(2-Hydroxy)ethoxycarbonylmethylrapamycin

a) 40-O-[2-(t-Butyldimethylsilyl)oxy]ethoxycarbonylmethylrapamycin

[0044] Eine Lösung von 2,74 g (3,00 mmol) Rapamycin und 30 mg (0,06 mmol) Dirhodiumtetraacetatdihydrat in 30 ml Methylenchlorid wird unter Rührung während 5 h mit einer Lösung von 0,38 ml (3,60 mmol) 2-(t-Butyldimethylsilyl)oxyethylidiaoacetat in 10 ml Methylenchlorid versetzt. Nach beendeter Zugabe wird 1 h weiter gerührt, worauf das Reaktionsgemisch mit 1 N wässriger HCl abgeschreckt wird. Die Schichten werden getrennt, und die wässrige Schicht wird mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigte organische Lösung wird mit wässrigem Natriumbicarbonat und mit Kochsalzlösung gewaschen, über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, filtriert und eingeengt. Der Rückstand wird durch Säulenchromatographie über Silicagel gereinigt (40 : 60 Hexan-Ethylacetat), wodurch man 40-O-[2-(t-Butyldimethylsilyl)oxy]ethoxycarbonylmethylrapamycin erhält.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0,68 (1H, dd), 0,88 (9H, s), 1,64 (3H, s), 1,73 (3H, s), 3,12 (5H, s und m), 3,81 (2H, dd), 4,19 (2H, dd), 4,32 (2H, s).

MS (FAB) m/z 1152 ($[M + Na]^+$), 1080 ($[M - (OCH_3 + H_2O)]^+$).

b) 40-O-(2-Hydroxy)ethoxycarbonylmethylrapamycin

[0045] Eine gekühlte Lösung (0°C) von 81 mg (0,07 mmol) 40-O-[2-(t-Butyldimethylsilyl)oxy]ethoxycarbonyl-

methylrapamycin in 1,5 ml Acetonitril wird unter Rührung mit 0,15 ml HF-Pyridin versetzt. Nach 2 h wird das Reaktionsgemisch mit wässrigem Natriumbicarbonat abgeschreckt. Das Gemisch wird mit Ethylacetat extrahiert. Die organische Lösung wird mit Kochsalzlösung gewaschen, über wässrigem Natriumsulfat getrocknet, filtriert und eingengt. Der Rückstand wird durch präparative Dünnschichtchromatographie gereinigt (Ethylacetat), wodurch sich die Titelverbindung als weißer Feststoff ergibt.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0,70 (1H, dd), 1,65 (3H, s), 1,75 (3H, s), 3,1 (5H, s und m), 3,85 (3H, m), 4,25 (5H, m).

MS (FAB) m/z 1038 ($[\text{M} + \text{Na}]^+$), 984 ($[\text{M} - \text{OCH}_3]^+$), 966 ($[\text{M} - (\text{OCH}_3 + \text{H}_2\text{O})]^+$), 948 ($[\text{M} - (\text{OCH}_3 + 2\text{H}_2\text{O})]^+$).

MBA (rel. HK_{50})	4
IL-6 abhängige Proliferation (rel. HK_{50})	9,7
MLR (rel. HK_{50})	2,1

Beispiel 8: 40-O-(2-Hydroxy)ethylrapamycin

a) 40-O-[2-(t-Butyldimethylsilyl)oxy]ethylrapamycin

[0046] Eine Lösung von 9,14 g (10 mmol) Rapamycin und 4,70 ml (40 mmol) 2,6-Lutidin in 30 ml Toluol wird auf 60°C erwärmt und mit einer Lösung von 6,17 g (20 mmol) 2-(t-Butyldimethylsilyl)oxyethyltriflat und 2,35 ml (20 mmol) 2,6-Lutidin in 20 ml Toluol versetzt. Das Gemisch wird 1,5 h gerührt. Sodann erfolgt ein Zusatz von zwei Ansätzen einer Lösung von 3,08 g (10 mmol) Triflat und 1,2 ml (10 mmol) 2,6-Lutidin in 10 ml Toluol innerhalb eines Abstands von 1,5 h. Nach Zugabe des letzten Ansatzes wird 2 h bei 60°C weiter gerührt, und die erhaltene braune Suspension dann filtriert. Das Filtrat wird mit Ethylacetat verdünnt und mit wässrigem Natriumbicarbonat sowie mit Kochsalzlösung gewaschen. Die wässrige Lösung wird über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, filtriert und eingengt. Der Rückstand wird durch Säulenchromatographie über Silicagel gereinigt (40 : 60 Hexan-Ethylacetat), wodurch man 40-O-[2-(t-Butyldimethylsilyl)oxy]ethylrapamycin als weißen Feststoff erhält.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0,06 (6H, s), 0,72 (1H, dd), 0,90 (9H, s), 1,65 (3H, s), 1,75 (3H, s), 3,02 (1H, m), 3,63 (3H, m), 3,72 (3H, m).

MS (FAB) m/z 1094 ($[\text{M} + \text{Na}]^+$), 1022 ($[\text{M} - \text{OCH}_3]^+$).

b) 40-O-(2-Hydroxy)ethylrapamycin

[0047] Eine gekühlte Lösung (0°C) von 4,5 g (2,2 mmol) 40-O-[2-(t-Butyldimethylsilyl)oxy]ethylrapamycin in 20 ml Methanol wird unter Rührung mit 2 ml 1 N HCl versetzt. Die Lösung wird 2 h gerührt und dann mit wässrigem Natriumbicarbonat neutralisiert. Das Gemisch wird mit drei Anteilen an Ethylacetat extrahiert.

[0048] Die organische Lösung wird mit wässrigem Natriumbicarbonat und mit Kochsalzlösung gewaschen, über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, filtriert und eingengt. Eine Reinigung durch Säulenchromatographie über Silicagel (Ethylacetat) ergibt die Titelverbindung als weißen Feststoff.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0,72 (1H, dd), 1,65 (3H, s), 1,75 (3H, s), 3,13 (5H, s und m), 3,52 bis 3,91 (8H, m).

MS (FAB) m/z 980 ($[\text{M} + \text{Na}]^+$), 926 ($[\text{M} - \text{OCH}_3]^+$), 908 ($[\text{M} - (\text{OCH}_3 + \text{H}_2\text{O})]^+$), 890 ($[\text{M} - (\text{OCH}_3 + 2\text{H}_2\text{O})]^+$), 876 ($[\text{M} - (2\text{CH}_3\text{OH} + \text{OH})]^+$), 858 ($[\text{M} - (\text{OCH}_3 + \text{CH}_3\text{OH} + 2\text{H}_2\text{O})]^+$).

MBA (rel. HK_{50})	2,2
IL-6 abhängige Proliferation (rel. HK_{50})	2,8
MLR (rel. HK_{50})	3,4

Beispiel 9: 40-O-(3-Hydroxy)propylrapamycin

a) 40-O-[3-(t-Butyldimethylsilyl)oxy]propylrapamycin

[0049] Unter Anwendung des im Beispiel 8, Stufe a), beschriebenen Verfahrens und Einsatz von 3-(t-Butyldimethylsilyl)oxyprop-1-yltriflat gelangt man zu 40-O-[3-(t-Butyldimethylsilyl)oxy]propylrapamycin.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0,05 (6H, s), 0,72 (1H, dd), 0,90 (9H, s), 1,65 (3H, s), 1,74 (3H, s), 1,77 (2H, m), 3,03 (1H, m), 3,52 bis 3,73 (7H, m).

MS (FAB) m/z 1108 ($[\text{M} + \text{Na}]^+$), 1036 ($[\text{M} - \text{OCH}_3 + \text{H}_2\text{O}]^+$), 908 ($[\text{M} - (\text{OCH}_3 + \text{H}_2\text{O})]^+$), 890 ($[\text{M} - (\text{OCH}_3 + 2\text{H}_2\text{O})]^+$), 876 ($[\text{M} - (2\text{CH}_3\text{OH} + \text{OH})]^+$), 858 ($[\text{M} - (\text{OCH}_3 + \text{CH}_3\text{OH} + 2\text{H}_2\text{O})]^+$).

b) 40-O-(3-Hydroxy)propylrapamycin

[0050] Durch Behandlung der gemäß Stufe a) erhaltenen Verbindung nach den im Beispiel 8, Stufe b), be-

beschriebenen Bedingungen ergibt sich die Titelverbindung.

^1H NMR (CDCl_3) δ 0,72 (1H, dd), 1,65 (3H, s), 1,75 (3H, s), 1,80 (2H, m), 3,05 (1H, m), 3,55 bis 3,91 (8H, m).
MS (FAB) m/z 994 ($[\text{M} + \text{Na}]^+$), 940 ($[\text{M} - \text{OCH}_3]^+$), 922 ($[\text{M} - (\text{OCH}_3 + \text{H}_2\text{O})]^+$), 904 ($[\text{M} - (\text{OCH}_3 + 2\text{H}_2\text{O})]^+$), 872 ($[\text{M} - (\text{OCH}_3\text{CH}_3\text{OH} + 2\text{H}_2\text{O})]^+$).

MBA (rel. HK_{50})	1,6
IL-6 abhängige Proliferation (rel. HK_{50})	2,7
MLR (rel. HK_{50})	11

Beispiel 10: 40-O-(6-Hydroxy)hexylrapamycin

a) 40-O-[6-(t-Butyldimethylsilyl)oxy]hexylrapamycin

[0051] Das im Beispiel 8, Stufe a), beschriebene Verfahren wird unter Verwendung von 6-(t-Butyldimethylsilyl)oxyhex-1-yltriflat wiederholt, wodurch man 40-O-[6-(t-Butyldimethylsilyl)oxy]hexylrapamycin erhält.

MS (FAB) m/z 1150 ($[\text{M} + \text{Na}]^+$).

b) 40-O-(6-Hydroxy)hexylrapamycin

[0052] Die entsprechend der Stufe a) erhaltene Verbindung wird unter Anwendung der im Beispiel 8, Stufe b), beschriebenen Verbindungen behandelt, wodurch sich die Titelverbindung ergibt.

^1H NMR (CDCl_3) δ 0,72 (1H, dd), 1,38 (2H, m), 1,57 (4H, m), 1,65 (3H, s), 1,74 (3H, s), 3,02 (1H, m), 3,49 bis 3,72 (8H, m).

MS (FAB) m/z 1036 ($[\text{M} + \text{Na}]^+$), 982 ($[\text{M} - \text{OCH}_3]^+$), 964 ($[\text{M} - (\text{OCH}_3 + \text{H}_2\text{O})]^+$), 946 ($[\text{M} - (\text{OCH}_3 + 2\text{H}_2\text{O})]^+$), 914 ($[\text{M} - (\text{OCH}_3 + \text{CH}_3\text{OH} + 2\text{H}_2\text{O})]^+$).

MBA (rel. HK_{50})	0,8
IL-6 abhängige Proliferation (rel. HK_{50})	8,5
MLR (rel. HK_{50})	18

Beispiel 11: 40-O-[2-(2-Hydroxy)ethoxy]ethylrapamycin

a) 40-O-[2-(t-Butyldimethylsilyl)oxyethoxy]ethylrapamycin

[0053] Das im Beispiel 8, Stufe a), beschriebene Verfahren wird unter Verwendung von 2-[2-(t-Butyldimethylsilyl)oxyethoxy]ethyltriflat wiederholt, wodurch sich 40-O-[2-(t-Butyldimethylsilyl)oxyethoxy]ethylrapamycin ergibt.

^1H NMR (CDCl_3) δ 0,06 (6H, s), 0,71 (1H, dd), 0,88 (9H, s), 1,65 (3H, s), 1,74 (3H, s), 3,07 (1H, m), 3,51 bis 3,79 (11H, m).

MS (FAB) m/z 1138 ($[\text{M} + \text{Na}]^+$), 1115 (M^+), 1097 ($[\text{M} - \text{H}_2\text{O}]^+$), 1084 ($[\text{M} - \text{OCH}_3]^+$), 1066 ($[\text{M} - (\text{OCH}_3 + \text{H}_2\text{O})]^+$), 1048 ($[\text{M} - (\text{OCH}_3 + 2\text{H}_2\text{O})]^+$), 1034 ($[\text{M} - (2\text{CH}_3\text{OH} + \text{OH})]^+$), 1016 ($[\text{M} - (\text{OCH}_3 + \text{CH}_3\text{OH} + 2\text{H}_2\text{O})]^+$).

b) 40-O-[2-(2-Hydroxy)ethoxy]ethylrapamycin

[0054] Durch Behandlung der nach der Stufe a) erhaltenen Verbindung unter Anwendung der im Beispiel 8, Stufe b), beschriebenen Bedingungen erhält man die Titelverbindung.

^1H NMR (CDCl_3) δ 0,72 (1H, dd), 1,65 (3H, s), 1,74 (3H, s), 3,05 (1H, m), 3,51 bis 3,77 (11H, m).

MS (FAB) m/z 1024 ($[\text{M} + \text{Na}]^+$), 1001 (M^+), 983 ($[\text{M} - \text{H}_2\text{O}]^+$), 970 ($[\text{M} - \text{OCH}_3]^+$), 952 ($[\text{M} - (\text{OCH}_3 + \text{H}_2\text{O})]^+$), 934 ($[\text{M} - (\text{OCH}_3 + 2\text{H}_2\text{O})]^+$), 920 ($[\text{M} - (2\text{CH}_3\text{OH} + \text{OH})]^+$), 902 ($[\text{M} - (\text{OCH}_3 + \text{CH}_3\text{OH} + 2\text{H}_2\text{O})]^+$).

MBA (rel. HK_{50})	1,2
IL-6 abhängige Proliferation (rel. HK_{50})	3,2
MLR (rel. HK_{50})	2

Beispiel 12: 40-O-[(3S)-2,2-Dimethyldioxolan-3-yl]methylrapamycin

[0055] Das im Beispiel 8, Stufe a), beschriebene Verfahren wird unter Verwendung des Triflats von Glycerinacetonid wiederholt, wodurch sich die Titelverbindung ergibt.

^1H NMR (CDCl_3) δ 0,72 (1H, dd), 1,36 (3H, s), 1,42 (3H, s), 1,65 (3H, s), 1,75 (3H, s), 3,06 (1H, m), 3,55 (2H, m), 3,69 (3H, m), 4,06 (1H, dd), 4,26 (1H, m).

MS (FAB) m/z 1050 ($[\text{M} + \text{Na}]^+$), 996 ($[\text{M} - \text{OCH}_3]^+$), 978 ($[\text{M} - (\text{OCH}_3 + \text{H}_2\text{O})]^+$), 960 ($[\text{M} - (\text{OCH}_3 + 2\text{H}_2\text{O})]^+$).

MBA (rel. HK ₅₀)	0,9
IL-6 abhängige Proliferation (rel. HK ₅₀)	8
MLR (rel. HK ₅₀)	290

Beispiel 13: 40-O-[(2S)-2,3-Dihydroxyprop-1-yl]rapamycin

[0056] Durch Behandlung der gemäß dem vorherigen Beispiel erhaltenen Verbindung nach den im Beispiel 3 beschriebenen Bedingungen ergibt sich die Titelverbindung.

¹H NMR (CDCl₃) δ 0,72 (1H, dd), 1,65 (3H, s), 1,75 (3H, s), 3,07 (1H, m), 3,68 (8H, m).

MS (FAB) m/z 1010 ([M + Na]⁺), 956 ([M – OCH₃]⁺), 938 ([M – (OCH₃ + H₂O)]⁺), 920 ([M – (OCH₃ + 2H₂O)]⁺), 888 ([M – (OCH₃ + CH₃OH + 2H₂O)]⁺).

MBA (rel. HK ₅₀)	0,67
IL-6 abhängige Proliferation (rel. HK ₅₀)	9
MLR (rel. HK ₅₀)	10

Beispiel 14: 40-O-(2-Acetoxy)ethylrapamycin

[0057] Eine gekühlte Lösung (0°C) von 53 mg (0,055 mmol) 40-O-Hydroxyethylrapamycin in 2 ml Methylenchlorid wird unter Rührung mit 0,2 ml Pyridin und dann mit 0,02 ml (0,281 mmol) Acetylchlorid versetzt. Das Gemisch wird während 3 h gerührt und mit Ethylacetat verdünnt, worauf das Ganze mit wässrigem Natriumbicarbonat, kalter 1 N HCl und erneut mit wässrigem Natriumbicarbonat gewaschen wird. Die organische Lösung wird über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, filtriert und eingeeengt. Der Rückstand wird durch Säulenchromatographie über Silicagel gereinigt (30 : 70 Hexan-Ethylacetat), wodurch sich die Titelverbindung als weißer Feststoff ergibt.

¹H NMR (CDCl₃) δ 0,72 (1H, dd), 1,65 (3H, s), 1,75 (3H, s), 2,08 (3H, s), 3,07 (1H, m), 3,78 (2H, dd), 4,20 (2H, dd).

MS (FAB) m/z 1022 ([M + Na]⁺), 999 (M⁺), 982 ([M – OH]⁺), 968 ([M – OCH₃]⁺), 950 ([M – (OCH₃ + H₂O)]⁺), 932 ([M – (OCH₃ + 2H₂O)]⁺), 918 ([M – (2CH₃OH + OH)]⁺), 900 ([M – (OCH₃ + CH₃OH + 2H₂O)]⁺).

MBA (rel. HK ₅₀)	2
IL-6 abhängige Proliferation (rel. HK ₅₀)	7,6
MLR (rel. HK ₅₀)	3,6

Beispiel 15: 40-O-(2-Nicotinoyloxy)ethylrapamycin

[0058] Das im vorherigen Beispiel beschriebene Verfahren wird unter Verwendung von Nicotinoylchloridhydrochlorid wiederholt, wodurch sich die Titelverbindung ergibt.

¹H NMR (CDCl₃) δ 0,72 (1H, dd), 1,65 (3H, s), 1,75 (3H, s), 3,07 (1H, m), 3,94 (2H, dd), 4,49 (2H, t), 7,39 (1H, dd), 8,31 (1H, ddd), 8,78 (1H, ddd), 9,24 (1H, dd).

MS (FAB) m/z 1085 ([M + Na]⁺), 1063 ([M + H]⁺), 1045 ([M – OH]⁺), 1031 ([M – OCH₃]⁺), 1013 ([M – (OCH₃ + H₂O)]⁺).

MBA (rel. HK ₅₀)	1,1
IL-6 abhängige Proliferation (rel. HK ₅₀)	6,9
MLR (rel. HK ₅₀)	5

Beispiel 16: 40-O-[2-(N-Morpholino)acetoxy]ethylrapamycin

a) 40-O-(2-Bromacetoxy)ethylrapamycin

[0059] Das im Beispiel 14 beschriebene Verfahren wird unter Verwendung von Bromacetylchlorid wiederholt, wodurch man 40-O-(2-Bromacetoxy)ethylrapamycin erhält.

¹H NMR (CDCl₃) δ 0,72 (1H, dd), 1,67 (3H, s), 1,76 (3H, s), 3,03 (1H, m), 3,82 (2H, m), 3,87 (2H, s), 4,31 (2H, m).

MS (FAB) m/z 1100, 1102 ([M + Na]⁺), 1077 (M⁺), 1061 ([M – H₂O]⁺), 1046, 1048 ([M – OCH₃]⁺), 1028, 1030 ([M – (OCH₃ + H₂O)]⁺), 1012 ([M – (OCH₃ + 2H₂O)]⁺), 996 ([M – (2CH₃OH + OH)]⁺), 980 ([M – (OCH₃OH + 2H₂O)]⁺).

b) 40-O-[2-(N-Morpholino)acetoxy]ethylrapamycin

[0060] Eine gekühlte Lösung (–45°C) von 54 mg (0,05 mmol) 40-O-(2-Bromacetoxy)ethylrapamycin in 0,5 ml

DMF wird unter Rührung mit einer Lösung von 0,022 ml (0,25 mmol) Morpholin in 0,2 ml DMF versetzt, und das erhaltene Gemisch wird 1 h bei dieser Temperatur gerührt, worauf eine Behandlung mit wässrigem Natriumbicarbonat erfolgt. Das Gemisch wird dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Die organische Lösung wird mit Kochsalzlösung gewaschen, über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, filtriert und eingengt. Der Rückstand wird durch Säulenchromatographie über Silicagel gereinigt (95 : 5 Ethylacetat-Methanol), wodurch sich die Titelverbindung als amorpher weißer Feststoff ergibt.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0,72 (1H, dd), 1,67 (3H, s), 1,76 (3H, s), 2,60 (3H, m), 3,07 (1H, m), 3,24 (2H, s), 3,78 (8H, m), 4,27 (2H, t).

MS (FAB) m/z 1107 ($[\text{M} + \text{Na}]^+$), 1085 ($[\text{M} + \text{H}]^+$), 1067 ($[\text{M} - \text{OH}]^+$), 1053 ($[\text{M} - \text{OCH}_3]^+$), 1035 ($[\text{M} - (\text{OCH}_3 + \text{H}_2\text{O})]^+$).

MBA (rel. HK_{50})	1,3
IL-6 abhängige Proliferation (rel. HK_{50})	4
MLR (rel. HK_{50})	3,5

Beispiel 17: 40-O-(2-N-Imidazolylacetoxylethylrapamycin

[0061] Das im Beispiel 16, Stufe b), beschriebene Verfahren wird unter Verwendung von Imidazol wiederholt, wodurch man die Titelverbindung erhält.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0,72 (1H, dd), 1,67 (3H, s), 1,78 (3H, s), 3,06 (1H, m), 3,80 (2H, m), 4,32 (2H, m), 4,73 (2H, s), 6,97 (1H, dd), 7,09 (1H, dd), 7,52 (1H, dd).

MS (FAB) m/z 1066 ($[\text{M} + \text{H}]^+$), 1048 ($[\text{M} - \text{OH}]^+$), 1034 ($[\text{M} - \text{OCH}_3]^+$), 1016 ($[\text{M} - (\text{OCH}_3 + \text{H}_2\text{O})]^+$).

MBA (rel. HK_{50})	1
IL-6 abhängige Proliferation (rel. HK_{50})	7,6
MLR (rel. HK_{50})	3,4

Beispiel 18: 40-O-[2-(N-Methyl-N'-piperazinyloxy)ethylrapamycin

[0062] Das im Beispiel 16, Stufe b), beschriebene Verfahren wird unter Verwendung von N-Methylpiperazin wiederholt, wodurch sich die Titelverbindung ergibt.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0,72 (1H, dd), 1,67 (3H, s), 1,77 (3H, s), 2,78 (4H, s und m), 3,02 (4H, bs), 3,08 (1H, m), 3,32 (2H, s), 3,80 (2H, dd), 4,27 (2H, t).

MS (FAB) m/z 1098 ($[\text{M} + \text{H}]^+$), 1066 ($[\text{M} - \text{OCH}_3]^+$).

MBA (rel. HK_{50})	2,6
IL-6 abhängige Proliferation (rel. HK_{50})	10,3
MLR (rel. HK_{50})	5

Beispiel 19: 39-O-Desmethyl-39,40-O.O-ethylenrapamycin

[0063] Eine gekühlte Lösung (-20°C) von 48 mg (0,05 mmol) 40-O-Hydroxyethylrapamycin und 0,023 ml (0,20 mmol) 2,6-Lutidin in 0,5 ml Methylenchlorid wird unter Rührung mit 0,008 ml (0,05 mmol) Triflicanhydrid versetzt. Das Gemisch wird 2 h bei dieser Temperatur gerührt, worauf man es auf Raumtemperatur erwärmen lässt und eine weitere Stunde rührt. Sodann wird das Reaktionsgemisch mit wässrigem Natriumbicarbonat abgeschreckt und das erhaltene Gemisch mit drei Anteilen Ethylacetat extrahiert. Die organische Lösung wird mit Kochsalzlösung gewaschen, über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, filtriert und eingengt. Der Rückstand wird durch Säulenchromatographie über Silicagel gereinigt (30 : 70 Hexan-Ethylacetat), wodurch sich die Titelverbindung als weißer Feststoff ergibt.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 1,66 (3H, s), 1,75 (3H, s), 3,14 (3H, s), 3,35 (3H, s), 3,76 (4H, s).

MS (FAB) m/z 948 ($[\text{M} + \text{Na}]^+$), 925 ($[\text{M}]^+$), 908 ($[\text{M} - \text{OH}]^+$), 894 ($[\text{M} - \text{OCH}_3]^+$), 876 ($[\text{M} - (\text{OCH}_3 + \text{H}_2\text{O})]^+$), 858 ($[\text{M} - (\text{OCH}_3 + 2\text{H}_2\text{O})]^+$), 844 ($[\text{M} - (2\text{CH}_3\text{OH} + \text{OH})]^+$), 826 ($[\text{M} - (\text{OCH}_3 + \text{CH}_3\text{OH} + 2\text{H}_2\text{O})]^+$).

MBA (rel. HK_{50})	1,6
IL-6 abhängige Proliferation (rel. HK_{50})	22,9
MLR (rel. HK_{50})	16

Beispiel 20: (26R)-26-Dihydro-40-O-(2-hydroxy)ethylrapamycin

a) (26R)-26-Dihydro-40-O-[2-(t-Butyldimethylsiloxy)]ethylrapamycin

[0064] In 4,5 ml eines 2 : 1 Gemisches aus Acetonitril und Essigsäure löst man 315 mg (1,2 mmol) Tetramethylammoniumtriacetoxymethylborhydrid. Die erhaltene Lösung wird 1 h bei Raumtemperatur gerührt und auf -35°C gekühlt, worauf 161 mg (0,15 mmol) 40-O-[2-(t-Butyldimethylsilyl)oxy]ethylrapamycin zugegeben werden. Das entstandene Gemisch wird über Nacht auf der gleichen Temperatur gerührt und dann durch Zugabe von wässrigem Natriumbicarbonat abgeschreckt. Das Gemisch wird mit drei Anteilen Ethylacetat extrahiert. Die organische Lösung wird mit wässrigem Natriumbicarbonat, zwei Anteilen 30%igem wässrigem Rochelle Salz und mit Kochsalzlösung gewaschen, über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, filtriert und eingeeengt. Der Rückstand wird durch Säulenchromatographie über Silicagel gereinigt (40 : 60 Hexan-Ethylacetat), wodurch sich die Titelverbindung als weißer Feststoff ergibt.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0,06 (6H, s), 0,73 (1H, dd), 0,90 (9H, s), 1,64 (3H, s), 1,67 (3H, s), 3,02 (1H, m), 3,15 (1H, m), 3,64 (3H, m), 3,71 (2H, dd), 3,91 (1H, s).

MS (FAB) m/z 1096 ($[\text{M} + \text{Na}]^+$), 1041 ($[\text{M} - \text{HOCH}_3]^+$), 1024 ($[\text{M} - (\text{OCH}_3 + \text{H}_2\text{O})]^+$), 1006 ($[\text{M} - (\text{OCH}_3 + 2\text{H}_2\text{O})]^+$), 974 ($[\text{M} - (\text{OCH}_3 + \text{CH}_3\text{OH} + 2\text{H}_2\text{O})]^+$).

b) (26R)-26-Dihydro-40-O-(2-hydroxy)ethylrapamycin

[0065] Durch Behandlung der gemäß Stufe a) erhaltenen Verbindung unter Anwendung der Bedingungen, wie sie im Beispiel 8, Stufe b), beschrieben werden, ergibt sich die Titelverbindung.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0,75 (1H, dd), 1,66 (3H, s), 1,70 (3H, s), 3,18 (1H, m), 3,52 bis 3,84 (7H, m).

MS (FAB) m/z 982 ($[\text{M} + \text{Na}]^+$), 928 ($[\text{M} - \text{OCH}_3]^+$), 910 ($[\text{M} - (\text{OCH}_3 + \text{H}_2\text{O})]^+$), 892 ($[\text{M} - (\text{OCH}_3 + 2\text{H}_2\text{O})]^+$).

MBA (rel. HK_{50})	3,9
IL-6 abhängige Proliferation (rel. HK_{50})	53
MLR (rel. HK_{50})	18

Beispiel 21: 28-O-Methylrapamycin

[0066] Eine Lösung von 103 mg (0,1 mmol) 40-O-TBS-Rapamycin (erhalten durch Silylierung von Rapamycin mit 1 Äquivalent TBS Triflat in Methylenchlorid in Gegenwart von 2 Äquivalent 2,6-Lutidin bei 0°C) in 0,5 ml Methylenchlorid wird unter Rührung mit 85,8 mg (0,40 mmol) Protonenschwamm und dann mit 44 mg (0,30 mmol) Trimethyloxoniumtetrafluorborat versetzt. Das erhaltene braune heterogene Gemisch wird über Nacht gerührt, mit wässrigem Natriumbicarbonat abgeschreckt und mit Ethylacetat extrahiert. Die organische Lösung wird mit 1 N HCl, wässrigem Natriumbicarbonat und Kochsalzlösung gewaschen, worauf sie über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, filtriert und eingeeengt wird. Der Rückstand wird durch Säulenchromatographie über Silicagel gereinigt (60 : 40 Hexan-Ethylacetat), wodurch man 40-O-t-Butyldimethylsilyl-28-O-methylrapamycin erhält. Sodann wird diese Verbindung unter den im Beispiel 10, Stufe b), beschriebenen Verbindungen desilyliert, wodurch sich nach präparativer Dünnschichtchromatographie (Ethylacetat) die Titelverbindung als weißer Feststoff ergibt.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0,70 (1H, dd), 1,68 (6H, 2s), 2,95 (1H, m), 3,13 (3H, s), 3,14 (3H, s), 3,28 (wH, s), 3,41 (3H, s).

MS (FAB) m/z 950 ($[\text{M} + \text{Na}]^+$), 927 (M^+), 909 ($[\text{M} - \text{H}_2\text{O}]^+$), 896 ($[\text{M} - \text{OCH}_3]^+$), 878 ($[\text{M} - (\text{OCH}_3 + \text{H}_2\text{O})]^+$), 864 ($[\text{M} - (\text{OCH}_3 + \text{CH}_3\text{OH})]^+$), 846 ($[\text{M} - (2\text{CH}_3\text{OH} + \text{OH})]^+$), 832 ($[\text{M} - (\text{OCH}_3 + 2\text{CH}_3\text{OH})]^+$), 814 ($[\text{M} - (3\text{CH}_3\text{OH} + \text{OH})]^+$).

MBA (rel. HK_{50})	1,58
IL-6 abhängige Proliferation (rel. HK_{50})	1240
MLR (rel. HK_{50})	1300

Beispiel 22: 40-O-(2-Aminoethyl)rapamycin

a) 40-O-(2-Bromomethyl)rapamycin

[0067] Eine Lösung von 914 mg Rapamycin in 5 ml Toluol, welche 0,64 ml 2,6-Lutidin und 1,28 g 2-Bromomethyltriflat enthält, wird während 18 h auf 65°C erhitzt. Das Reaktionsgemisch wird auf Raumtemperatur abgekühlt, auf 20 ml einer gesättigten Bicarbonatlösung gegossen und dreimal mit 20 ml Ethylacetat extrahiert. Die organischen Phasen werden über Natriumcarbonat getrocknet, worauf das Lösemittel unter verringertem Druck auf einem Rotationsverdampfer entfernt wird. Der Rückstand wird über 100 g Silicagel unter Elution mit

einem 3 : 2 Gemisch aus Hexan und Ethylacetat chromatographiert, wodurch man 40-O-(2-Bromethyl)rapamycin als amorphen Feststoff erhält.

MS (FAB) m/z 1044 und 1042 (100%: M + Na): 972 und 970 (55%, M – (MeOH + H₂O)).

¹H NMR (CDCl₃) δ 0,72 (1H, q, J = 12 Hz), 3,13 (3H, s), 3,33 (3H, s), 3,9 (4H, m), 4,78 (1H, m).

b) 40-O-(2-Azidoethyl)rapamycin

[0068] Eine Lösung von 2,4 g 40-O-(2-Bromethyl)rapamycin in 40 ml DMF wird bei Raumtemperatur mit 0,19 g Natriumazid behandelt. Nach 2 h wird das Gemisch in 100 ml gesättigtes Natriumbicarbonat gegossen und dreimal mit 100 ml Ethylacetat extrahiert. Die organischen Schichten werden vereinigt, über Natriumsulfat getrocknet und unter verringertem Druck vom Lösemittel befreit. Das Rohprodukt wird durch Chromatographie über Silicagel unter Elution mit Hexan-Ethylacetat gereinigt, wodurch man 40-O-(2-Azidoethyl)rapamycin erhält.

MS (FAB) m/z 1005 (100%, M + Na), 951 (24%, M – MeOH), 933 (57%, M – (Me – OH + H₂O))

c) 40-O-(2-Aminoethyl)rapamycin

[0069] Eine Lösung von 230 mg 40-O-(Azidoethyl)rapamycin in 3 ml eines 5 : 1 Gemisches aus THF und Wasser wird bei Raumtemperatur mit 307 mg Triphenylphosphin versetzt. Das Reaktionsgemisch wird gelb. Nach 7 h wird das Reaktionsgemisch auf x g Silicagel gegeben und mit einem 50 : 50 : 0,5 Gemisch aus Ethylacetat, Methanol und Essigsäure chromatographiert, wodurch sich die Titelverbindung in Form ihres Acetats ergibt.

MS (FAB) m/z 979 (45%, M + Na), 957 (100%, MH), 925 (63%, M – MeOH), 907 (25%, M – (MeOH + H₂O)).

MBA (rel. HK₅₀) 0,7

IL-6 abhängige Proliferation (rel. HK₅₀) 10

Beispiel 23: 40-O-(2-Acetaminoethyl)rapamycin

[0070] Eine Lösung von 101 mg des Acetats von 40-O-(2-Aminoethyl)rapamycin in 2 ml THF wird mit 0,02 ml Pyridin und 0,07 ml Acetylchlorid versetzt. Das Reaktionsgemisch wird 18 h auf Raumtemperatur gehalten und dann in 7 ml gesättigtes Natriumbicarbonat gegossen. Die wässrige Phase wird dreimal mit 5 ml Ethylacetat extrahiert, worauf die organischen Phasen vereinigt und über Natriumsulfat getrocknet werden. Das Lösemittel wird verdampft und der Rückstand auf 10 g Silicagel chromatographiert, und zwar unter Elution mit zuerst Ethylacetat und dann mit einem 50 : 50 : 0,5 Gemisch aus Ethylacetat, Methanol und Essigsäure, wodurch sich das Titelprodukt ergibt.

MS (FAB) m/z 1021 (20%, M + Na), 967 (28%, M – MeOH), 949 (100%, M – (MeOH + H₂O))

¹H NMR (CDCl₃) δ 0,71 (1H, q, J = 12 Hz), 1,98 (3H, s), 3,13 (3H, s), 3,34 (3H, s), 3,44 (3H, s), 4,75 (1H, s).

MBA (rel. HK₅₀) 1,1

IL-6 abhängige Proliferation (rel. HK₅₀) 2,3

Beispiel 24 40-O-(2-Nicotinamidoethyl)rapamycin

[0071] Man löst 101 mg 40-(2-Aminoethyl)rapamycin in 5 ml Ethylacetat und extrahiert die Lösung zweimal mit gesättigtem Natriumbicarbonat. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet und durch Eindampfung vom Lösemittel befreit. Der Rückstand wird in 2 ml THF gelöst und die Lösung mit 22 mg DCC und 15 mg Nicotinsäure behandelt. Nach 15 h bei Raumtemperatur wird das Reaktionsgemisch eingedampft und der Rückstand über Silicagel chromatographiert, und zwar durch Elution zuerst mit Ethylacetat und dann mit einem 9 : 1 Gemisch aus Ethylacetat und Methanol, wodurch sich das Titelprodukt ergibt.

MS (FAB) m/z 1084 (80%, M + Na), 1062 (40%, MH), 1038 (100%, M – MeOH), 1012 (50%, M – (MeOH + H₂O)).

¹H NMR (CDCl₃) δ 0,72 (1H, q, J = 12 Hz), 3,13 (3H, s), 3,33 (3H, s), 3,37 (3H, s), 7,39 (1H, dd, J = 6 Hz, J = 8 Hz), 8,19 (1H, d, J = 8 Hz), 9,04 (1H, breit s).

MBA (rel. HK₅₀) 1,2

IL-6 abhängige Proliferation (rel. HK₅₀) 2,8

Beispiel 25: 40-O-(2-(N-Methylimidazo-2'-ylcarboxamido)ethyl)rapamycin

[0072] Eine Lösung von 30 mg N-Methylimidazol-2-carbonsäure in 1 ml DMF wird mit 58 mg DCC und 58 mg HOBT versetzt. Nach 2 h gibt man 150 mg 40-O-(2-Aminoethyl)rapamycin zu und rührt das Gemisch während

18 h bei Raumtemperatur. Die Suspension wird filtriert, das Filtrat mit 5 ml Ethylacetat verdünnt und das Ganze zweimal mit 2 ml einer gesättigten wässrigen Bicarbonatlösung gewaschen. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel unter verringertem Druck verdampft. Der Rückstand wird über 10 g Silicagel chromatographiert, wobei zuerst mit einem 1 : 4 Gemisch aus Hexan und Ethylacetat und dann mit Ethylacetat eluiert wird, wodurch sich das Titelprodukt ergibt.

MS (FAB) m/z 1087 (36%, M + Na), 1065 (57%, MH), 1033 (100%, M – MeOH), 1015 (46%, M – (MeOH + H₂O)).

¹H NMR (CDCl₃) δ 0,72 (1H, q, J = 12 Hz), 3,13 (3H, s), 3,33 (3H, s), 3,46 (3H, s), 4,03 (3H, s), 6,93 (1H, breit s), 6,98 (1H, breit s), 7,78 (1H, m).

MBA (rel. HK ₅₀)	1,1
IL-6 abhängige Proliferation (rel. HK ₅₀)	7

Beispiel 26: 40-O-(2-Ethoxycarbonylaminoethyl)rapamycin

[0073] Eine Lösung von 200 mg 40-O-(2-Azidoethyl)rapamycin in 3 ml eines 5 : 1 Gemisches aus THF und Wasser wird mit 267 mg Triphenylphosphin während 7 h bei Raumtemperatur behandelt. Hierauf wird das Ganze zuerst mit 0,4 ml Pyridin und dann mit 194 µl Ethylchlorformiat versetzt. Nach zweistündiger Behandlung bei Raumtemperatur wird das Reaktionsgemisch auf 5 ml Ethylacetat gegossen und der Reihe nach mit 10 ml gesättigtem Natriumbicarbonat, 5 ml Wasser und 5 ml 10%iger Citronensäure versetzt. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel verdampft. Der Rückstand wird über 20 g Silicagel chromatographiert, wobei die Elution zuerst mit Ethylacetat und dann mit einem 9 : 1 Gemisch aus Ethylacetat und Methanol erfolgt, wodurch sich das Titelprodukt ergibt.

MS (FAB) m/z 1051 (35%, M + Na), 997 (30%, M – MeOH), 979 (100%, M – (MeOH + H₂O)).

¹H NMR (CDCl₃) δ 0,71 (1H, q, J = 12 Hz), 1,24 (3H, t, J = 8 Hz), 3,13 (3H, s), 3,34 (3H, s), 3,43 (3H, s), 4,10 (2H, q, J = 8 Hz), 5,48 (1H, m).

MBA (rel. HK ₅₀)	1,1
IL-6 abhängige Proliferation (rel. HK ₅₀)	1,7

Beispiel 27: 40-O-(2-Tolylsulfonamidoethyl)rapamycin

[0074] Eine Lösung von 200 mg 40-O-(2-Aminoethyl)rapamycin in 3 ml THF wird mit 0,4 ml Pyridin und 390 mg Tosylchlorid behandelt, und das Reaktionsgemisch wird während 12 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wird dann auf 5 ml gesättigte Bicarbonatlösung gegossen, worauf die wässrige Phase zweimal mit 5 ml Ethylacetat extrahiert wird. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 5 ml 10%iger Citronensäure und mit 5 ml Wasser gewaschen. Nach Trocknung über Natriumsulfat wird das Lösemittel verdampft und der Rückstand über 20 g Silicagel chromatographiert, und zwar unter Elution mit einem 1 : 1 Gemisch aus Hexan und Ethylacetat, wodurch sich das Titelprodukt in Form eines weißen Schaums ergibt.

MS (FAB) m/z 1133 (100%, M + Na), 1078 (25%, M – MeOH), 1061 (85%, M – (MeOH + H₂O)).

¹H NMR (CDCl₃) δ 0,68 (1H, q, J = 12 Hz), 2,43 (3H, s), 3,13 (3H, s), 3,35 (3H, s), 3,41 (3H, s), 4,76 (1H, s), 5,85 (1H, t, J = 6 Hz), 7,30 (2H, d, J = 8 Hz), 7,75 (2H, d, J = 8 Hz).

MBA (rel. HK ₅₀)	15,9
IL-6 abhängige Proliferation (rel. HK ₅₀)	14

Beispiel 28: 40-O-[2-(4',5'-Dicarbethoxy-1',2',3'-triazol-1'-yl)ethyl]rapamycin

[0075] Man suspendiert 98 mg 40-O-(2-Azidoethyl)rapamycin und 32 mg Diethylacetylendicarboxylat in 0,5 ml Toluol und erhitzt das Ganze während 5 h auf 65°C. Das Reaktionsgemisch wird auf Raumtemperatur abgekühlt, auf 10 g Silicagel gegeben und mit einem 1 : 1 Gemisch aus Hexan und Ethylacetat extrahiert, wodurch sich das Titelprodukt ergibt.

MS (FAB) m/z 1175 (20%, M + Na), 1121 (15%, M – MeOH), 1103 (60%, M – (MeOH + H₂O)).

¹H NMR (CDCl₃) δ 0,62 (1H, q, J = 12 Hz), 1,40 (3H, t, J = 8 Hz), 1,42 (3H, t, J = 8 Hz), 3,13 (3H, s), 3,25 (3H, s), 3,33 (3H, s).

MBA (rel. HK ₅₀)	2,7
IL-6 abhängige Proliferation (rel. HK ₅₀)	12

[0076] Die vorherigen Beispiele können auch durchgeführt werden, indem anstelle von Rapamycin als Ausgangsmaterial 9-Deoxorapamycin, 26-Dihydrorapamycin oder 9-Deoxo-26-dihydrorapamycin verwendet wird.

Alternativ und vorzugsweise können die Rapamycinverbindungen der obigen Beispiele gemäß der Beschreibung von beispielsweise des Beispiels 20 auch unter Anwendung geeigneter Schutzgruppen, falls dies notwendig ist, hydriert oder reduziert werden. Die Reduktion der Ketogruppe am C9 oder Hydrierung der Keto-Gruppe am C26 kann durch die folgenden neuen Verfahren erreicht werden.

Beispiel 29: Entfernung der Ketogruppe am C9

[0077] In eine Lösung von 3,2 g (3,5 mmol) Rapamycin in 50 ml Pyridin und 2,5 ml DMF wird bei Raumtemperatur ein Strom an Schwefelwasserstoff geleitet, wodurch die ursprünglich farblose Lösung gelb wird. Nach 2 h wird die Einleitung von Schwefelwasserstoff gestoppt und das Ganze während 5 Tagen weiter gerührt, wodurch die Lösung allmählich orange wird. Eine anschließende Analyse durch Dünnschichtchromatographie und Hochleistungsflüssigchromatographie belegt einen vollständigen Verbrauch des Ausgangsmaterials und zeigt die Anwesenheit einer einzelnen neuen Verbindung. Die Lösung wird während 1 h mit Stickstoff gespült und unter verringertem Druck eingeeengt. Der Rückstand wird in Ethylacetat aufgenommen und die Lösung der Reihe nach mit kalter 1 N HCl Lösung (dreimal), gesättigter Natriumbicarbonatlösung und gesättigter Kochsalzlösung gewaschen. Die organische Schicht wird über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, filtriert und unter verringertem Druck eingeeengt. Der Rückstand wird in Ether aufgenommen und der ausgefallene Schwefel abfiltriert. Durch Einengung der Etherlösung und anschließende Chromatographie über Silicagel (10 : 4 : 1 Gemisch aus CH_2Cl_2 , $i\text{-Pr}_2\text{O}$ und MeOH) erhält man 9-Deoxorapamycin als farblosen Schaum. Die Identität dieses Produkts wird durch magnetische Kernresonanzspektroskopie (NMR), Massenspektrometrie (MS) und/oder Infrarotspektroskopie (IR) bestätigt. Dabei ergibt sich, dass das erhaltene 9-Deoxorapamycin die folgenden physikalischen Daten aufweist.

^1H NMR (CDCl_3) δ 1,61 (3H, d, $J = 1$ Hz, C17- CH_3), 1,76 (3H, d, $J = 1,2$ Hz, C29- CH_3), 2,42 (1H, d, $J = 14,5$ Hz, H-9), 2,74 (1H, d, $J = 14,5$ Hz, H-9), 3,13 (3H, s, C16- OCH_3), 3,5 (3H, s, C27- OCH_3), 3,40 (3H, s, C39- OCH_3), 5,40 (1H, d, $J = 10$ Hz, H-30), 5,57 (1H, dd, $J_1 = 8,6$ Hz, $J_2 = 15$ Hz, H-22), 5,96 (1H, d, $J = 9$ Hz, H-18), 6,09 (1H, d, $J = 1,7$ Hz, 10-OH), 6,15 (1H, dd, $J_1 = 10$ Hz, $J_2 = 15$ Hz, H-21), 6,37 (1H, dd, $J_1 = 1,5$ Hz, $J_2 = 5$ Hz, H-19), 6,38 (1H, $J = 9,5$ Hz, H-20).

^{13}C NMR (CDCl_3) δ 38,5 (C-9), 98,0 (C-10), 170,7 (C-1), 173,0 (C-8), 208,8 (C-32), 216,9 (C-26).

MS (FAB) m/z 992 8($[\text{M} + \text{Na}]^+$), 899 (M^+), 881 ($[\text{M} - \text{H}_2\text{O}]^+$), 868 ($[\text{M} - \text{OCH}_3]^+$), 850 ($[\text{M} - (\text{H}_2\text{O} + \text{OCH}_3)]^+$).

IR (größere Peaks) (cm^{-1}) 987, 1086, 1193, 1453, 1616, 1717, 1739, 3443.

MBA (rel. HK_{50})	1
IL-6 abhängige Proliferation (rel. HK_{50})	9
MLR (rel. HK_{50})	14

Beispiel 30: Dehydrierung der Ketogruppe am C26

[0078] Eine Lösung von 421 mg (1,6 mmol) Tetramethylammoniumtriacetoxymborhydrid in 2 ml Acetonitril wird unter Rührung mit 2 ml Essigsäure versetzt. Das erhaltene Gemisch wird 30 min bei Raumtemperatur gerührt und dann auf -35°C gekühlt. Bei dieser Temperatur wird eine Lösung von 180 mg (0,2 mmol) 9-Deoxorapamycin in 1 ml Acetonitril zugegeben, und das erhaltene Gemisch wird während 24 h gerührt. Sodann wird das Gemisch mit einer gesättigten Lösung von Natrium/Kaliumtartrat abgeschreckt, worauf man das Ganze auf Raumtemperatur kommen lässt. Die Rührung wird solange fortgesetzt, bis beide Schichten klar sind, worauf Ethylacetat zugegeben wird. Die Schichten werden aufgetrennt, und die wässrige Schicht wird zweimal mit Ethylacetat extrahiert. Die erhaltene organische Lösung wird einmal mit 10%iger Natriumbicarbonatlösung und zweimal mit gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, worauf das Ganze über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, filtriert und unter verringertem Druck eingedampft wird. Sodann wird der erhaltene Rückstand durch Säulenchromatographie über Silicagel gereinigt (90 : 10 Gemisch aus AcOEt und Hexan). In diesem Fall wird als Ausgangsmaterial 9-Deoxorapamycin verwendet, sodass es sich bei der erhaltenen Verbindung um 9-Deoxorapamycin-26-dihydorapamycin in Form eines farblosen Schaums handelt, der die folgenden charakteristischen spektroskopischen Daten aufweist.

^1H NMR (CDCl_3) (größeres Isomer) δ 0,9 (3H, d, $J = 6,9$ Hz, CHCH_3), 0,93 (3H, d, $J = 6,9$ Hz, CHCH_3), 1,00 (3H, d, $J = 6,9$ Hz CHCH_3), 1,07 (3H, d, $J = 6,9$ Hz, CHCH_3), 1,17 (3H, d, $J = 6,9$ Hz, CHCH_3), 1,61 (3H, d, $J = 1$ Hz, C17- CH_3), 1,73 (3H, d, $J = 1,2$ Hz, C29- CH_3), 2,43 (1H, dd, $J = 4,1$ und 16,0 Hz, H-33), 2,46 (1H, d, $J = 13,8$ Hz, H-9), 2,58 (1H, m, H-25), 2,77 (1H, d, $J = 13,8$ Hz, H-9), 2,82 (1H, dd, $J = 8,3$ und 16,0 Hz, H-33), 3,17 (1H, dd, $J = 4,1$ und 9,2 Hz, H-27), 3,61 (2H, m, H-14 und H28), 5,19 (1H, ddd, $J = 4,1$, 4,6 und 8,3 Hz, H-34), 5,49 (1H, breit d, $J = 5,0$ Hz, H-2), 5,56 (1H, d, $J = 9,1$ Hz, H-30), 5,75 (1H, dd, $J = 6,9$ und 14,7 Hz, H-22), 5,76 (1H, s, 10-OH), 5,99 (1H, breit d, $J = 9,2$ Hz, H-18), 6,10 (1H, m, H-21), 6,36 (2H, m, H-19 und H-20).

MS (FAB) m/z 924 ($[\text{M} + \text{Na}]^+$), 852 ($[\text{M} - (\text{H}_2\text{O} + \text{CH}_3\text{O})]^+$), 868 ($[\text{M} - \text{OCH}_3]^+$), 850 ($[\text{M} - (\text{H}_2\text{O} + \text{OCH}_3)]^+$).

MBA (rel. HK ₅₀)	47
IL-6 abhängige Proliferation (rel. HK ₅₀)	78
MLR (rel. HK ₅₀)	134

[0079] Das obige Verfahren wird unter Verwendung von Rapamycin anstelle von 9-Deoxorapamycin wiederholt, wodurch man zu 26-Dihydrorapamycin mit den folgenden charakteristischen spektroskopischen Daten gelangt.

¹³C NMR (CDCl₃) (größeres Isomer) δ = 208,3 (C-32), 194,0 (C-9), 169,3 (C-1), 166,6 (C-8), 140,9 (C-22), 136,5 (C-29), 136,2 (C-17), 133,5 (C-20), 129,1 (C-21), 128,7 (C-18), 126,2 (C-30), 125,3 (C-19), 98,6 (C-10), 84,4 (C-39), 83,9 (C-16), 81,6 (C-27), 75,4 (C-34), 74,3 (C-28), 73,9 (C-40), 72,9 (C-26), 67,4 (C-14), 59,1 (27-OCH₃), 56,6 (39-OCH₃), 55,9 (16-OCH₃), 51,3 (C-2), 46,8 (C-31), 44,3 (C-6), 40,4 (C-33), 40,4 (C-25), 39,5 (C-24), 38,8 (C-15), 38,0 (C-36), 34,3 (C-23), 34,2 (C-38), 33,5 (C-11), 33,3 (C-37), 33,2 (C-35), 31,5 (C-42), 31,3 (C-41), 30,9 (C-13), 27,1 (C-12), 27,0 (C-3), 25,2 (C-5), 21,4 (23-CH₃), 20,7 (C-4), 17,3 (11-CH₃), 16,1 (31-CH₃), 15,9 (35-CH₃), 14,4 (25-CH₃), 14,2 (29-CH₃), 10,3 (17-CH₃).

MS (FAB) m/z 884 (M - OCH₃, 35%), 866 (M - [OCH₃ + H₂O], 100%), 848 (M - [OCH₃ + 2H₂O], 40%). (H₂O + OCH₃)⁺.

MBA (rel. HK ₅₀)	1,7
IL-6 abhängige Proliferation (rel. HK ₅₀)	7,5
MLR (rel. HK ₅₀)	1

Patentansprüche

1. Verwendung von 40-O-(2-Hydroxyethyl)-rapamycin bei der Herstellung eines Arzneimittels zur Verwendung zusammen mit einem immunsuppressiven Wirkstoff.

2. Verwendung von 40-O-(2-Hydroxyethyl)-rapamycin bei der Herstellung eines Arzneimittels zur Verwendung in Kombination mit Ciclosporin, FK-506, Corticosteroiden oder einem immunsuppressiven monoklonalen Antikörper.

3. Verwendung nach Anspruch 2, worin der immunsuppressive monoklonale Antikörper ein monoklonaler Antikörper für CD3, CD4, CD25, CD28 oder CD45 ist.

4. Verwendung von 40-O-(2-Hydroxyethyl)-rapamycin bei der Herstellung eines Arzneimittels zur Verwendung in Kombination mit einer immunmodulatorischen Verbindung.

5. Verwendung von 40-O-(2-Hydroxyethyl)-rapamycin bei der Herstellung eines Arzneimittels zur Verwendung zusammen mit einem antiinflammatorischen Mittel oder einem antiinfektiven Mittel.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen