



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

⑪ Número de publicación: **2 191 704**

⑤① Int. Cl.<sup>7</sup>: C07D 498/18, A61K 31/435

//(C07D 498/18, C07D 311:00

C07D 273:00, C07D 221:00)

⑫

TRADUCCION DE PATENTE EUROPEA

T3

⑧⑥ Número de solicitud europea: **95915671.2**

⑧⑥ Fecha de presentación: **14.04.1995**

⑧⑦ Número de publicación de la solicitud: **0 763 039**

⑧⑦ Fecha de publicación de la solicitud: **19.03.1997**

⑤④ Título: **Hidroxiéster de rapamicina, procedimiento para su preparación y composiciones farmacéuticas que lo contienen.**

③⑩ Prioridad: **18.04.1994 US 229261**

④⑤ Fecha de la publicación de la mención BOPI:  
**16.09.2003**

④⑤ Fecha de la publicación del folleto de patente:  
**16.09.2003**

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

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

⑦④ Agente: **Curell Suñol, Marcelino**

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

## DESCRIPCION

Hidroxiéster de rapamicina, procedimiento para su preparación y composiciones farmacéuticas que lo contienen.

5

**Fundamento de la invención**

Esta invención se refiere al 42-éster de la rapamicina con el ácido 2,3-bis(hidroxiometil)propanoico y a sales farmacéuticamente aceptables del mismo con actividad antitumoral.

10

La rapamicina es un antibiótico triénico macrocíclico producido por el *Streptomyces hygroscopicus* que se halló que tenía actividad antifúngica, particularmente contra la *Candida albicans*, tanto *in vitro* como *in vivo* [C. Vezina *et al.*, J. Antibiot., 28, 721 (1975); S. N. Sehgal *et al.*, J. Antibiot, 28, 727 (1975); H. A. Baker *et al.*, J. Antibiot., 31, 539 (1978); documento US-A-3.929.992; y documento US-A-3.993.749].

15

Se ha mostrado que la rapamicina sola (documento US-A-4.885.171) o en combinación con el picibanil (documento US-A-4.401.653) tiene actividad antitumoral. R. Martel *et al.* [Can. J. Physiol. Pharmacol., 55, 48 (1977)] dieron a conocer que la rapamicina es eficaz en el modelo de encefalomiелitis alérgica experimental, un modelo para la esclerosis múltiple; en el modelo de la artritis adyuvante, un modelo para la artritis reumatoide; y que inhibía eficazmente la formación de anticuerpos del tipo IgE.

20

Los efectos inmunosupresores de la rapamicina se han dado a conocer en FASEB 3, 3411 (1989). La ciclosporina A y el FK-506, otras moléculas macrocíclicas, también han mostrado ser eficaces como agentes inmunosupresores, por consiguiente, útiles en prevenir el rechazo de trasplantes [FASEB 3, 3411 (1989); FASEB 3, 5256 (1989); R. Y. Calne *et al.*, Lancet, 1183 (1978); y documento US-A-5.100.899].

25

La rapamicina también ha manifestado ser útil en prevenir o en tratar el lupus eritematoso sistémico [documento US-A-5.078.999], la inflamación pulmonar [documento US-A-5.080.899], la diabetes mellitus dependiente de la insulina [Fifth Int. Conf. Inflamm. Res. Assoc., 121 (resumen), (1990)], la proliferación de las células de la musculatura lisa y el espesamiento de la túnica íntima que siguen a una lesión vascular (Morris, R. J., Heart Lung Transplant, 11 (parte 2): 197 (1992)], el linfoma leucemia T pleomórfico del adulto [documento EP-A-525.960] y la inflamación ocular [documento EP-A- 532.862].

30

Los derivados mono- y di-acilados de la rapamicina (esterificados en las posiciones 28 y 43) han mostrado ser útiles como agentes antifúngicos (documento US-A- 4.316.885) y se han utilizado para hacer profármacos de aminoácido de la rapamicina solubles en agua (documento US-A-4.650.803). Recientemente, se ha cambiado la convención de numeración para la rapamicina; por consiguiente, de acuerdo con la nomenclatura del Chemical Abstracts, los ésteres anteriormente descritos estarían en las posiciones 31 y 42. Ésteres de ácidos 42-carboxílicos de la rapamicina, útiles en el rechazo de trasplantes, se dan a conocer en el documento WO-A-9205179. 42-Alcoxiésteres de la rapamicina, útiles en el rechazo de trasplantes, se dan a conocer en el documento US-A-5.233.036. La preparación del 42-hemisuccinato de rapamicina por la hidrólisis, mediada por lipasas, de los ésteres metílico y bencílico del 42-hemisuccinato de rapamicina se describe en Tetrahedron Letters, Vol. 35, No. 7, páginas 1019-1022, 1994.

35

40

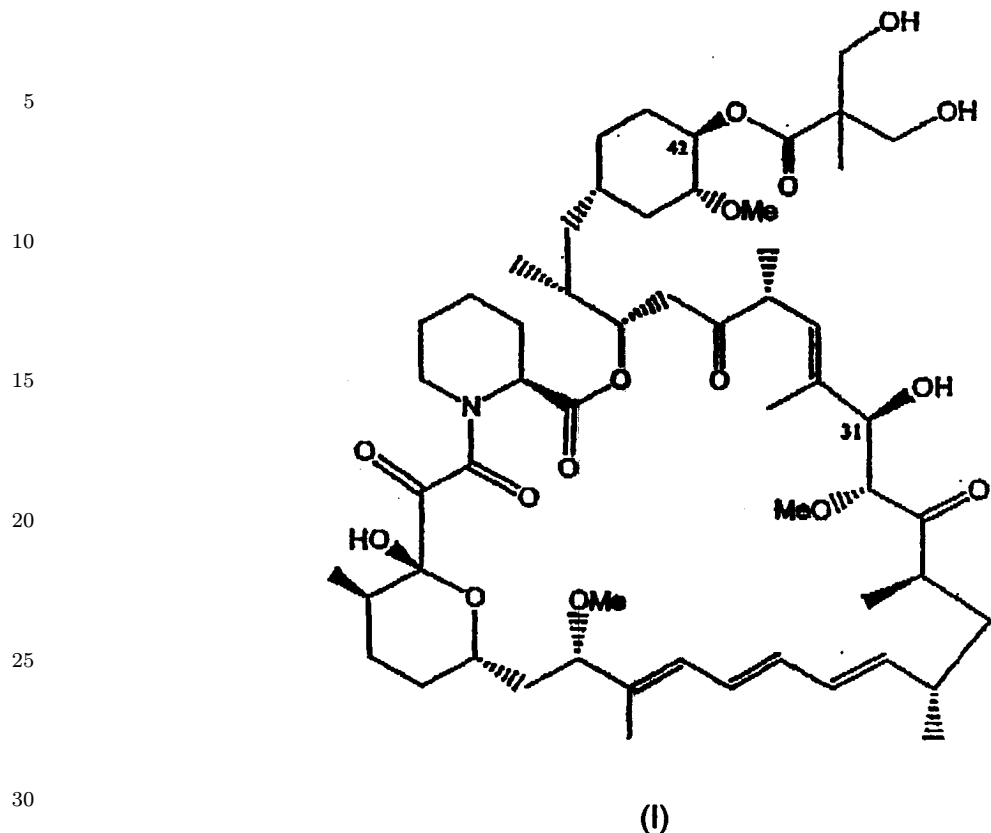
45 **Descripción de la invención**

Esta invención proporciona un derivado de rapamicina que es útil como agente antitumoral y que tiene la estructura:

50

55

60



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

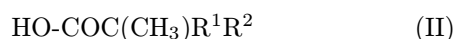
35 Las sales farmacéuticamente aceptables son aquéllas derivadas de cationes inorgánicos tales como el sodio, el potasio, y análogos; y de bases orgánicas tales como mono-, di- y tri-alquilaminas de 1-6 átomos de carbono por grupo alquilo, y mono-, di- y tri-hidroxialquilaminas de 1-6 átomos de carbono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

40 El término alquilo de 1-6 átomos de carbono incluye cadenas carbonadas tanto rectas como ramificadas:

El compuesto de esta invención se puede preparar por acilación de la rapamicina utilizando el correspondiente dihidroxiácido o ácido dialcoxycarboxílico, protegido, previamente activado, seguido por  
 45 la eliminación de los grupos protectores del alcohol. En el estado de la técnica se conocen varios procedimientos para la activación del carboxilato, pero los métodos preferidos utilizan carbodiimidas, anhídridos mixtos o cloruros de ácido. Por ejemplo, el ácido carboxílico correspondiente se puede activar como un anhídrido mixto, con un grupo acilante tal como el cloruro de 2,4,6-triclorobenzofilo. El tratamiento de la rapamicina con el anhídrido mixto bajo condiciones ligeramente básicas proporciona  
 50 el compuesto deseado. Alternativamente, la reacción de acilación se puede conseguir con clorhidrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida y dimetilaminopiridina. Las mezclas de ésteres en posiciones 42 y 31,42 se pueden separar por cromatografía.

De acuerdo con lo expuesto, la invención proporciona un procedimiento para preparar el 42-éster de  
 55 la rapamicina con el ácido 2,2-bis(hidroximetil)propanoico, de la fórmula I anterior, que comprende:

acilar la rapamicina con un agente acilante que es un derivado reactivo de un ácido de fórmula:



60 en la que:

R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son cada uno de ellos -CH<sub>2</sub>OR;

## ES 2 191 704 T3

o  $R^1$  y  $R^2$  se pueden tomar juntos para formar 5-(2,2-di(alquilo  $C_{1-6}$ ))[1,3]dioxanilo o 5-(2-espiro(cicloalquilo  $C_{3-8}$ )) [1,3]dioxanilo;

R es tri(alquilo  $C_{1-6}$ )sililo, tri(alquilo  $C_{1-6}$ )sililetilo, trifenilmetilo, bencilo, alcoximetilo de 2-7 átomos de carbono, tri(alquilo  $C_{1-6}$ )sililetoximetilo, cloroetilo o tetrahidropiraniolo;

y después de la reacción eliminar cualquier grupo protector presente.

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

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

El procedimiento de la proliferación de timocitos inducida por comitógenos (LAF) se utilizó como una medida *in vitro* de los efectos inmunosupresores del compuesto. Brevemente, células del timo de ratones BALB/c normales se cultivan durante 72 horas con PHA e IL-1 y se pulsan con timidina tritiada durante las últimas seis horas. Las células se cultivan con y sin varias concentraciones de rapamicina, ciclosporina A o el compuesto de ensayo. Las células se cosechan y se determina la radiactividad incorporada. La inhibición de la proliferación de linfocitos se evalúa en forma de cambio porcentual en los recuentos por minuto con respecto a los controles no tratados con el fármaco. Para cada compuesto evaluado, también se evaluó la rapamicina con propósitos de comparación. Se obtuvo una  $CI_{50}$  para el compuesto de ensayo así como para la rapamicina. Cuando se evaluó como base de comparación para los compuestos representativos de esta invención, la rapamicina tenía una  $CI_{50}$  que iba de 0,6 a 1,5 nM. Los resultados obtenidos se proporcionan como una  $CI_{50}$  y como la inhibición porcentual de la proliferación de linfocitos T a 0,1  $\mu$ M. Los resultados obtenidos para el compuesto de esta invención también se expresaron como una razón comparativa con la rapamicina. Una razón positiva indica actividad inmunosupresora. Una razón mayor que 1 indica que el compuesto de ensayo inhibía la proliferación de timocitos en mayor grado que la rapamicina. El cálculo de la razón se muestra a continuación.

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

El compuesto de esta invención también se evaluó en un procedimiento de ensayo *in vivo* diseñado para determinar el tiempo de supervivencia de un injerto de un trozo de piel de donantes BALB/c macho trasplantado a receptores  $C_3H$ (H-2K) macho. El método está adaptado de Billingham R. E. y Medawar P. B., J. Exp. Biol., 28: 385-402, (1951). En resumen, un injerto de un trozo de piel del donante se injertó sobre el lomo del receptor a modo de aloinjerto, y se utilizó un injerto isogénico como control en la misma región. Los receptores se trataron con concentraciones variables de los compuestos de ensayo ya sea por vía intraperitoneal ya sea por vía oral. La rapamicina se utilizó como control del ensayo. Los receptores no tratados sirven como control del rechazo. El injerto se monitorizó a diario y se registraron las observaciones hasta que el injerto se volvió seco y formó una costra ennegrecida. Éste fue considerado como el día de rechazo. El tiempo de supervivencia medio del injerto (número de días  $\pm$  D.E.) del grupo de tratamiento con el fármaco se comparó con el del grupo control. La tabla siguiente muestra los resultados que se obtuvieron. Los resultados se expresan en forma de tiempo de supervivencia medio en días. Los injertos de un trozo de piel no tratados (control) normalmente se rechazan en 6-7 días. Los compuestos se ensayaron utilizando una dosis de 4 mg/kg.

El procedimiento de ensayo farmacológico estándar de la artritis adyuvante mide la capacidad de los compuestos de ensayo para prevenir la inflamación mediada inmunológicamente e inhibir o tratar la artritis reumatoide. A continuación se describe brevemente el procedimiento de ensayo utilizado. Un grupo de ratas (Wistar Lewis ingénitas macho) se pretratan con el compuesto a ensayar (1 hora antes del antígeno) y luego se inyectan con adyuvante completo de Freund (FCA) en la pata trasera derecha para inducir la artritis. Las ratas se tratan luego por vía oral siguiendo una pauta de administración de

## ES 2 191 704 T3

lunes, miércoles y viernes desde el día 0 hasta día 14, por un total de 7 dosis. Ambas patas traseras se miden los días 16, 23, y 30. Se determina la diferencia en el volumen de la pata (ml) entre el día 16 y el día 0, y se obtiene un cambio porcentual con respecto al control. La inflamación de la pata trasera izquierda (la pata no inyectada) es causada por la inflamación mediada por los linfocitos T y viene consignada en la tabla anterior (% de cambio con respecto al control). Por otra parte, la inflamación de la pata trasera derecha es causada por una inflamación no específica. Los compuestos se ensayaron a una dosis de 5 mg/kg. Los resultados se expresan como el cambio porcentual observado el día 16 en la pata no inyectada con respecto al control; cuanto más negativo sea el cambio porcentual, tanto más potente será el compuesto. La rapamicina proporcionó un cambio de entre -70 % y -90 % frente al control, lo que indicaba que las ratas tratadas con rapamicina tenían entre el 70 y el 90 % menos de inflamación inducida inmunológicamente que las ratas control.

Los resultados obtenidos en estos procedimientos de ensayo farmacológico estándar se aportan después del procedimiento para preparar el compuesto específico que se ensayó.

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

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

Debido al perfil de actividad obtenido, también se considera que el compuesto de esta invención tiene actividades antitumorales y antifúngicas, así como actividades antiproliferativas. Por consiguiente, el compuesto de esta invención también es útil en tratar tumores sólidos, el linfoma leucemia T pleomórfico del adulto, infecciones fúngicas y enfermedades vasculares hiperproliferativas tales como la reestenosis y la aterosclerosis. Cuando se utiliza para la reestenosis, se prefiere que el compuesto de esta invención se utilice para tratar la reestenosis que tiene lugar tras un proceso de angioplastia. Cuando se utiliza para este propósito, el compuesto de esta invención se puede administrar antes del proceso, durante el proceso, después del proceso, o cualquier combinación de los anteriores.

Cuando se administra para el tratamiento o inhibición de los estados patológicos anteriores, el compuesto de esta invención se puede administrar a un mamífero por las vías oral, parenteral, intranasal, intrabronquial, transdérmica, tópica, intravaginal o rectal.

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

El compuesto de esta invención se puede formular sin mezcla o con un portador farmacéutico, y administrar a un mamífero que lo precise. El portador farmacéutico puede ser sólido o líquido. Cuando se formula por vía oral, se ha hallado que un 0,01% de Tween 80 en PHOSAL PG-50 (concentrado de fosfolípidos con 1,2-propilenglicol, A. Nattermann & Cie. GmbH) proporciona una formulación oral  
5 aceptable.

Un portador sólido puede incluir una o más sustancias que también pueden actuar como agentes aromatizantes, lubricantes, solubilizantes, agentes suspensionantes, cargas, deslizantes, adyuvantes de compresión, aglutinantes o agentes desintegradores de comprimidos; también puede ser un material de encapsular. En los polvos, el portador es un sólido finamente dividido que está íntimamente mezclado con el principio activo finamente dividido. En los comprimidos, el principio activo se mezcla, en las proporciones adecuadas, con un portador que tiene las propiedades de compresión necesarias y luego se compacta en la forma y el tamaño deseados. Los polvos y los comprimidos contienen preferentemente hasta el 99% de principio activo. Por ejemplo, portadores sólidos adecuados incluyen el fosfato cálcico, el estearato magnésico, el talco, azúcares, lactosa, dextrina, almidón, gelatina, celulosa, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, polivinilpirrolidona, ceras de bajo punto de fusión y resinas intercambiadoras de iones.  
10  
15

Los portadores líquidos se utilizan en preparar soluciones, suspensiones, emulsiones, jarabes, elixires y composiciones presurizadas. El principio activo se puede disolver o poner en suspensión en un portador líquido farmacéuticamente aceptable tal como el agua, un disolvente orgánico, una mezcla de ambos, o aceites o grasas farmacéuticamente aceptables. El portador líquido puede contener otros aditivos farmacéuticos adecuados tales como solubilizantes, emulsionantes, tampones, conservantes, edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes suspensionantes, agentes espesantes, colorantes, reguladores de la viscosidad, estabilizantes o reguladores de la presión osmótica. Ejemplos adecuados de portadores líquidos para la administración oral y parenteral incluyen el agua (que contiene parcialmente aditivos como los anteriormente mencionados, por ejemplo derivados de celulosa, preferentemente una disolución de carboximetilcelulosa sódica), alcoholes (incluidos los alcoholes monohidroxílicos y los alcoholes polihidroxílicos como, por ejemplo, los glicoles) y sus derivados, y aceites (por ejemplo, aceite de coco y aceite de cacahuete fraccionados). Para la administración parenteral, el portador puede ser también un éster aceitoso como el oleato de etilo y el miristato de isopropilo. Los portadores líquidos estériles son útiles en las composiciones estériles en forma de líquido para la administración parenteral. El portador líquido para las composiciones presurizadas puede ser un hidrocarburo halogenado u otro propulsor farmacéuticamente aceptable.  
20  
25  
30

Las composiciones farmacéuticas líquidas que son disoluciones o suspensiones estériles pueden utilizarse, por ejemplo, por inyección intramuscular, intraperitoneal o subcutánea. Las disoluciones estériles también pueden administrarse por vía intravenosa. El compuesto también se puede administrar por vía oral en forma de una composición tanto líquida como sólida.  
35

El compuesto de esta invención se puede administrar por vía rectal en forma de un supositorio convencional. Para la administración por inhalación o insuflación intranasal o intrabronquial, el compuesto de esta invención se puede formular a manera de disolución acuosa o parcialmente acuosa que puede utilizarse luego en forma de aerosol. El compuesto de esta invención también se puede administrar por vía transdérmica utilizando un parche transdérmico que contiene el compuesto activo y un portador que sea inerte frente al compuesto activo, no sea tóxico para la piel, y que permita la cesión del agente para la absorción sistémica en el torrente circulatorio a través de la piel. El portador puede tomar cualquier número de formas tales como cremas y pomadas, pastas, geles y dispositivos oclusivos. Las cremas y las pomadas pueden ser un líquido viscoso o emulsiones semisólidas del tipo aceite-en-agua o agua-en-aceite. También pueden resultar adecuadas las pastas constituidas por polvos absorbentes dispersados en petróleo, o petróleo hidrófilo, que contienen el principio activo. Cabe utilizar una variedad de dispositivos oclusivos para ceder el principio activo al torrente circulatorio, tales como una membrana semipermeable que cubre un depósito que contiene el principio activo con o sin un portador, o una matriz que contiene el principio activo. En la literatura se conocen otros dispositivos oclusivos.  
40  
45  
50

Además, el compuesto de esta invención se puede emplear en forma de solución, crema o loción, por formulación con vehículos farmacéuticamente aceptables que contienen el 0,1-5 por ciento, preferentemente el 2%, de compuesto activo, que se puede administrar a una zona afectada por hongos.  
55

Los requisitos de dosificación varían con las composiciones particulares empleadas, la vía de administración, la gravedad de los síntomas presentados y el sujeto particular bajo tratamiento. Basándose en los resultados obtenidos en los procedimientos de ensayo farmacológico estándar, las dosis diarias proyectadas de compuesto activo serían de 0,1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ -100  $\text{mg}/\text{kg}$ , preferentemente de 0,001-25  $\text{mg}/\text{kg}$ , y más preferentemente de 0,01-5  $\text{mg}/\text{kg}$ . El tratamiento generalmente se comenzará con pequeñas dosis,  
60

menores que la dosis óptima del compuesto. Después de esto, la dosis se aumenta hasta que se alcanza el efecto óptimo en las circunstancias particulares; el médico tratante, basándose en la experiencia con el sujeto individual tratado, determinará las dosis precisas para la administración oral, parenteral, nasal o intrabronquial. Preferentemente, la composición farmacéutica está en forma de dosificación unitaria, por ejemplo en forma de comprimidos o cápsulas. En tal forma, la composición está subdividida en dosis unitarias que contienen cantidades apropiadas del principio activo; las formas de dosificación unitaria pueden ser composiciones acondicionadas, por ejemplo, polvos empaquetados, viales, ampollas, jeringas prellenadas o sobres que contienen líquidos. Por ejemplo, la forma de dosificación unitaria puede ser una cápsula o un comprimido por sí mismos, o puede estar constituida por el número apropiado de cualquiera de tales composiciones en forma envasada.

El Ejemplo 2 que se aporta a continuación ilustra la preparación y las actividades biológicas del compuesto de esta invención.

Ejemplo 1 (producto intermedio)

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

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

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

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ : 4,57 (m, 1H, C(42)H), 4,02 (d, 2H), 3,60 (d, 2H), 1,34 (s, 3H), 1,24 (s, 3H), 1,06 (s, 3H).

<sup>13</sup>C-RMN (100,6 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ : 173,2, 99,0, 65,0, 22,2,18,1.

Ejemplo 2

*42-Éster de la rapamicina con el ácido 2,2-bis(hidroxiometil)propiónico*

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

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

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ : 4,5 (m, 1H, C(42)H), 3,45 (s, 4H), 1,04 (s, 3H).

<sup>13</sup>C-RMN (100,6 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ : 174,2, 63,7, 63,6, 49,9, 16,8.

Resultados obtenidos en los procedimientos de ensayo farmacológico estándar:

CI<sub>50</sub> en el ensayo LAF: 0,80 y 1,80 nM.

Razón en el ensayo LAF: 1,00 y 0,44.

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

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

REIVINDICACIONES

1. 42-Éster de la rapamicina con el ácido 2,2-bis(hidroximetil)propiónico, de estructura

5

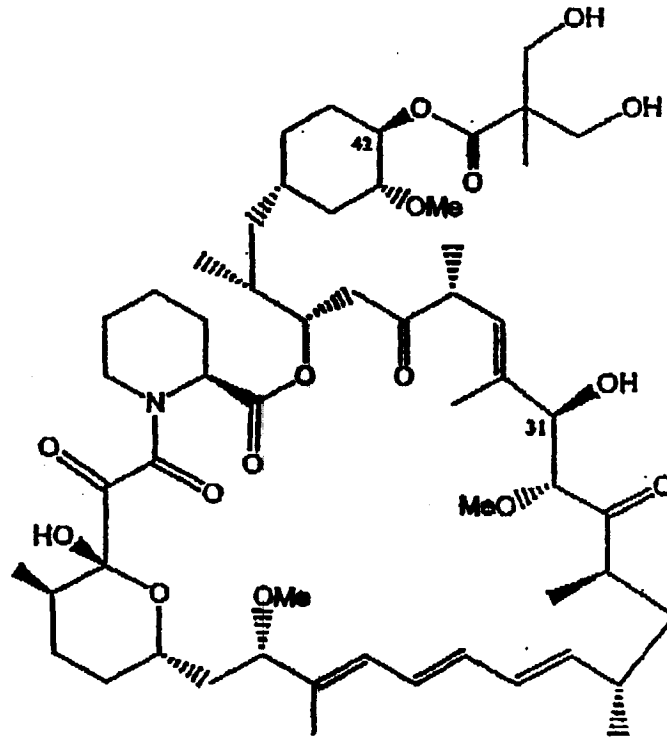
10

15

20

25

30



(I)

35

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

40

2. Compuesto según la reivindicación 1 para la utilización como producto farmacéutico.

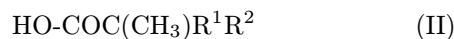
3. Utilización de un compuesto según la reivindicación 1 en la preparación de un medicamento para tratar un tumor en un mamífero.

45

4. Composición farmacéutica que comprende un compuesto según la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un portador farmacéutico.

5. Procedimiento para preparar el 42-éster de la rapamicina con el ácido 2,2-bis(hidroximetil)propiónico, de estructura según la reivindicación 1, que comprende acilar la rapamicina con un agente acilante que es un derivado reactivo de un ácido de fórmula II:

50



en la que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son cada uno de ellos CH<sub>2</sub>OR, o R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se pueden tomar juntos para formar 5-(2,2-di(alquilo C<sub>1-6</sub>))[1,3]dioxanilo o 5-(2-espiro(cicloalquilo C<sub>3-8</sub>)) [1,3]dioxanilo;

55

60



## ES 2 191 704 T3

R es tri(alquilo C<sub>1-6</sub>)sililo, tri(alquilo C<sub>1-6</sub>)sililetilo, trifenilmetilo, bencilo, alcoximetilo de 2-7 átomos de carbono, tri(alquilo C<sub>1-6</sub>)sililetoximetilo, cloroetilo o tetrahidropiraniilo;

y después de la reacción eliminar cualquier grupo protector presente.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

---

**NOTA INFORMATIVA:** Conforme a la reserva del art. 167.2 del Convenio de Patentes Europeas (CPE) y a la Disposición Transitoria del RD 2424/1986, de 10 de octubre, relativo a la aplicación del Convenio de Patente Europea, las patentes europeas que designen a España y solicitadas antes del 7-10-1992, no producirán ningún efecto en España en la medida en que confieran protección a productos químicos y farmacéuticos como tales.

55

60

Esta información no prejuzga que la patente esté o no incluida en la mencionada reserva.

---