



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 364 647**

51 Int. Cl.:
C07H 17/08 (2006.01)
A61K 31/7048 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **03750405 .7**
96 Fecha de presentación : **29.07.2003**
97 Número de publicación de la solicitud: **1529053**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **11.05.2005**

54 Título: **Compuestos macrólidos dotados de actividad antiinflamatoria.**

30 Prioridad: **01.08.2002 IT MI02A1726**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
08.09.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
08.09.2011

73 Titular/es: **ZAMBON S.p.A.**
Via Lillo del Duca, 10
20091 Bresso, MI, IT

72 Inventor/es: **Napoletano, Mauro;**
Moriggi, Ermanno;
Mereu, Andrea;
Ornaghi, Fernando;
Morazzoni, Gabriele;
Longoni, Roberto;
Riva, Carlo;
Pacchetti, Luciano y
Pellacini, Franco

74 Agente: **Curell Aguilá, Marcelino**

ES 2 364 647 T3

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

DESCRIPCIÓN

Compuestos macrólidos dotados de actividad antiinflamatoria.

5 La presente invención se refiere a compuestos macrólidos dotados de actividad antiinflamatoria, y más particularmente se refiere a derivados macrólidos que no presentan cladinosa en la posición 3, que presentan actividad antiinflamatoria, a sales farmacéuticamente aceptables de los mismos y a composiciones farmacéuticas que los contienen a modo de ingrediente activo.

10 Es conocido que muchos antibióticos, en particular la clase de los macrólidos basados en la eritromicina que presentan 14 átomos anulares, presentan propiedades antiinflamatorias además de su actividad antibacteriana [Clin. Immunother. 6:454-464, (1996)].

15 La eritromicina es un macrólido natural (The Merck Index, 13^a edición, nº 3714, página 654) que ha sido ampliamente utilizado clínicamente en el tratamiento de infecciones causadas por bacterias Gram-positivas, varias bacterias Gram-negativas y micoplasmas.

Recientemente el interés de la comunidad científica se ha desplazado hacia las propiedades antiinflamatorias e inmunomoduladoras de la eritromicina y de los derivados de la misma [Journal of Antimicrobial Chemotherapy 41 (supl. B):37-46, (1998)].

Esta actividad se encuentra bien documentada tanto en estudios clínicos como en experimentos *in vivo* e *in vitro*.

25 Por ejemplo, se ha encontrado que los macrólidos resultan efectivos en el tratamiento de enfermedades inflamatorias tales como la panbronquiolitis [Thorax 52:915-918, (1997)], el asma bronquial [Chest 99:670-673, (1991)] y la fibrosis quística [The Lancet 351:420, (1998)], tanto en modelos animales de inflamación, por ejemplo la peritonitis inducida por zimosano en ratones [Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 30:339-348, (1992)] y la acumulación inducida por endotoxinas de neutrófilos en la tráquea de la rata [Antimicrobial Agents and Chemotherapy 38:1641-1643, (1994)], y en estudios *in vitro* en células del sistema inmunológico tales como neutrófilos [The Journal of Immunology, 159:3395-4005, (1997)] y linfocitos T [Life Sciences 51:PL 231-236, (1992)] o sobre la modulación de citoquinas tales como la interleuquina-8 (IL-8) [Am. J. Respir. Crit. Care Med. 156:266-271, (1997)] o la interleuquina-5 (IL-5) [solicitudes de patente EP 0 775 489 y EP 0 771 564, a nombre de Taisho Pharmaceutical Co., Ltd.].

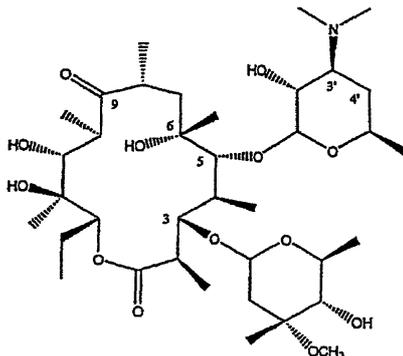
35 La administración de compuestos macrólidos en individuos asmático se acompaña de una reducción de la hipersecreción e hipersensibilidad bronquiales (Inflammation 20 nº 6), 1996) como consecuencia de su interacción con los neutrófilos; se cree que esta interacción impide que muchos lípidos bioactivos, implicados en la patogénesis del asma bronquial, expresen su actividad proinflamatoria desestabilizadora de las membranas.

40 La eficacia terapéutica particular de los compuestos macrólidos en enfermedades en las que se ha encontrado que los fármacos antiinflamatorios convencionales, por ejemplo los corticoesteroides, resultan ineficaces [Thorax 52:915-918, (1997), citado anteriormente] justifica el gran interés en esta nueva clase potencial de antiinflamatorios.

45 Sin embargo, el hecho de que los compuestos macrólidos convencionales presenten una fuerte actividad antibacteriana no permite su utilización más amplia en el tratamiento crónico de procesos inflamatorios no causados por microorganismos patogénicos, debido a que ello podría dar lugar al rápido desarrollo de cepas resistentes.

50 Por lo tanto, resultaría deseable disponer de nuevas sustancias de estructura macrólida que mostrasen actividad antiinflamatoria y que simultáneamente se encontrasen libres de propiedades antibióticas.

Para una mayor claridad, se proporciona la fórmula de la eritromicina, en la que se indica la numeración adoptada en la presente solicitud de patente.



Se describen en la literatura muchas clases de compuestos de eritromicina dotados de actividad antibacteriana y caracterizados por una mayor estabilidad frente a los ácidos y, de esta manera, que presentan mejores propiedades farmacocinéticas.

5 La solicitud de patente WO 96/18633 a nombre de Zambon Group da a conocer compuestos de 9-[O-(aminoalquil)oxima]-eritromicina A dotados de actividad antibiótica contra los microorganismos Gram-positivos y Gram-negativos.

10 Los cetólidos, derivados de la eritromicina, modificados en la posición 3' y 6-O-sustituídos, utilizados en el tratamiento de las infecciones bacterianas se dan a conocer en la solicitud de patente WO 99/16779 a nombre de Abbott Laboratories.

15 Los compuestos de 9-oximino-eritromicina esterificados en la posición 3 y 3'-modificados, que resultan útiles como agentes antibacterianos y antiulcerativos, se dan a conocer en la solicitud de patente JP nº 2001/181294 (Hokuriku Pharmaceutical Co.).

Entre los compuestos macrólidos descritos en la literatura, pocos son derivados 3'-desdimetilamino-9-oximino.

20 La solicitud de patente EP 0 254 534 (Robinson, William S.) reivindica una clase muy amplia de compuestos macrólidos, entre los que se da a conocer la 9-O-metiloxima del eritronólido A y los derivados 9-oximino de la eritromicina A, incluyendo la 9-O-metiloxima de la 3'-desdimetilamino-3',4'-dehidroeritromicina A.

La solicitud de patente anteriormente mencionada reivindica compuestos que presentan actividad antivírica.

25 La 9-oxima de 3'-desdimetilamino-3',4'-dehidroeritromicina A y la 9-oxima de eritronólido A se da a conocer en la patente US nº 3.928.387 (Hoffmann-La Roche Inc.) como intermediarios que resultan útiles para preparar el antibiótico 1745A/X.

30 Se describen en la literatura varias clases de compuestos de eritromicina dotados de actividad antiinflamatoria.

Por ejemplo, los compuestos de eritromicina modificados en las posiciones 3, 9, 11 y 12 se reivindican, por ejemplo, en las solicitudes de patente europea anteriormente mencionadas a nombre de Taisho, como potentes inhibidores de la síntesis de IL-5.

35 La utilización de eritromicina como antiinflamatorio que actúa mediante la reducción de la liberación de la interleuquina 1 mediante la inhibición de la glucoproteína de mamífero mdr-P se reivindica en la solicitud de patente WO 92/16226 a nombre de Smith-Kline Beecham Corporation.

40 Los compuestos 3'-desdimetilamino-9-oximino de macrólido dotados de actividad antiinflamatoria y que no presentan actividad antibiótica se dan a conocer en la solicitud de patente WO 00/42055 a nombre de Zambon Group.

Una contribución eficaz para la actividad antiinflamatoria ejercida por los compuestos macrólidos se relaciona con los cambios realizados por ellos en varias funciones metabólicas de los neutrófilos.

45 En particular, en varios estudios se ha demostrado que los compuestos macrólidos intervienen en la exocitosis [Journal of Antimicrobial Chemotherapy 38:81, 1996] y en la producción de sustancias oxidantes por parte de los leucocitos polimorfonucleares (PMNL) (Journal of Antimicrobial Chemotherapy 24:561, 1989).

50 El papel del elemento estructural clave en la modulación de las actividad metabólicas-funcionales anteriormente mencionadas de los neutrófilos se ha atribuido a la presencia de L-cladinoso en la posición 3 del anillo de los compuestos macrólidos [The Journal of Immunology 159:3395-4005, 1997, anteriormente citado].

55 La acción del sacárido, según el artículo mencionado anteriormente, podría estar relacionada con la importancia que presenta este azúcar en la incorporación celular de los compuestos macrólidos, o con su interacción con una diana celular implicada en ambas actividades metabólicas de los neutrófilos.

60 A modo de confirmación de lo expuesto anteriormente, este azúcar neutro, la L-cladinoso, con independencia de su inclusión en la estructura de macrólido global, se ha descrito que está dotado de una actividad antiinflamatoria pronunciada.

Las formulaciones farmacéuticas que contienen cladinoso o L-cladinoso como producto medicinal para el tratamiento de las afecciones inflamatorias se describen en la patente FR 2.735.694 a nombre de Roussel Uclaf.

65 Ahora los presentes inventores han encontrado, inesperadamente, que mediante la eliminación de la cladinoso en la posición 3 de los derivados de macrólido, se obtienen compuestos dotados de actividad inflamatoria y sustancialmente libres de propiedades antibióticas.

Por lo tanto, es un objetivo de la presente invención proporcionar un compuesto según la reivindicación 1.

5 Los compuestos de fórmula I, en la que R es un átomo de hidrógeno o un grupo metilo, R₁ es un grupo dimetilamino y R₂ es un átomo de hidrógeno, se conocen como entidades químicas. Es decir, el compuesto en el que R es un átomo de hidrógeno, R₁ es un grupo dimetilamino y R₂ es un átomo de hidrógeno, ha sido dado a conocer por Max V. Sigal *et al*, J. Am. Chem. Soc. 78:388-395, 1956, como producto de degradación de la eritromicina A. Además, tanto los compuestos en los que R es un átomo de hidrógeno o un grupo metilo, R₁ es un grupo dimetilamino y R₂ es un átomo de hidrógeno, han sido dados a conocer en el documento EP-A-0-941-998 como productos de partida en la preparación de macrólidos dotados de actividad antibiótica.

Sin embargo, su actividad antiinflamatoria no ha sido dada a conocer hasta el momento. Por lo tanto, todavía son nuevos como fármacos antiinflamatorios.

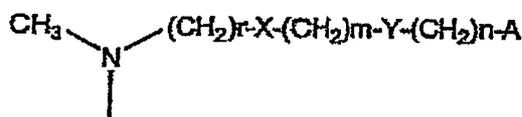
15 Los compuestos de fórmula I son macrólidos antiinflamatorios que no presentan actividad antibiótica y por lo tanto resultan útiles en el tratamiento y la profilaxis de enfermedades inflamatorias, también en el caso de que R sea un átomo de hidrógeno o un grupo metilo, R₁ sea un grupo dimetilamino y R₂ sea un átomo de hidrógeno.

20 La expresión "alquilo C₁-C₅ lineal o ramificado" pretende referirse a un grupo seleccionado de entre metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo, terc-butilo, n-pentilo e isopentilo.

25 La expresión "anillo heteroarilo de cinco o seis elementos que presentan entre uno y tres heteroátomos seleccionados de entre nitrógeno, oxígeno y azufre" pretende referirse a anillos heterociclos tales como pirrol, tiofeno, furano, imidazol, pirazol, tiazol, isotiazol, isoxazol, piridina, pirazina, pirimidina, piridazina, triazol o tiadiazol.

30 Resultará evidente para el experto en la materia que la sustitución de los anillos heteroarilo por formas parcial o totalmente saturadas de los mismos, así como la presencia de sustituyentes en los anillos aromáticos (fenilo o heteroarilo) contemplados en los significados de A e Y, da lugar a compuestos que se encuentran comprendidos dentro del alcance de la invención.

35 Son compuestos preferidos de fórmula I aquellos en los que R₁ es un átomo de hidrógeno, un grupo N-alquil (C₁-C₃)-N-metilamino, un grupo N-alquil (C₁-C₃)-N-metilamino-N-óxido, un grupo N-bencil-N-metilamino, un grupo N-acil (C₁-C₄)-N-metilamino, un grupo N-[N,N-dimetilamino-alquil (C₁-C₄)-amino]acetil-N-metilamino o una cadena de fórmula:



en la que:

40 A es un átomo de hidrógeno, un fenilo o un anillo heteroarilo de cinco o seis elementos que presenta entre uno y tres heteroátomos seleccionados de entre nitrógeno, oxígeno y azufre,

X es O o NR₆ y R₆ es un átomo de hidrógeno o un alquilo C₁-C₃ lineal o ramificado,

45 Y, en el caso de que n sea 0, es un grupo C₆H₄ o un anillo heteroarilo de cinco o seis elementos que presenta entre uno y tres heteroátomos seleccionados de entre nitrógeno, oxígeno y azufre, o, en el caso de que n no sea 0, es O o NR₆, y R₆ es un átomo de hidrógeno o un alquilo C₁-C₃ lineal o ramificado,

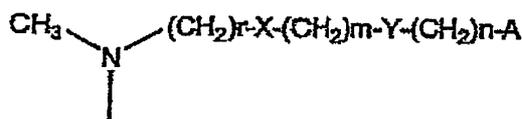
r es un número entero comprendido entre 1 y 3,

50 m es el número entero 1 ó 2,

n es un número entero comprendido entre 0 y 2,

o R₁ forma un enlace conjuntamente con R₂.

55 Los compuestos que resultan todavía más preferentes dentro de este grupo son aquellos en los que R₁ es un átomo de hidrógeno, un grupo N,N-dimetilamino-N-óxido, un grupo N-bencil-N-metilamino, un grupo N-acetil-N-metilamino, un grupo N-[N,N-dimetilamino-alquil (C₁-C₂)-amino]acetil-N-metilamino o una cadena de fórmula:



en la que:

5 A es un átomo de hidrógeno, un fenilo o un anillo heteroarilo de cinco o seis elementos seleccionado de entre pirrol, tiofeno, furano, imidazol, oxazol, tiazol, piridina, pirimidina, triazol y tiadiazol,

X es O o NR₆ y R₆ es un átomo de hidrógeno,

10 Y es, en el caso de que n sea 0, un grupo C₆H₄ o un anillo heteroarilo de cinco o seis elementos seleccionado de entre pirrol, tiofeno, furano, imidazol, oxazol, tiazol, piridina, pirimidina, triazol y tiadiazol, o, en el caso de que n sea 1, NR₆ y R₆ son átomos de hidrógeno,

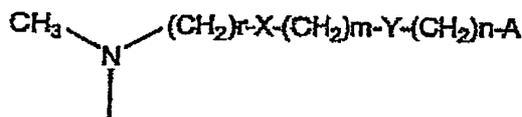
r es un número entero comprendido entre 1 y 3,

15 m es el número entero 1 ó 2,

n es el número entero 0 ó 1,

o R₁ forma un enlace conjuntamente con R₂.

20 Los compuestos de este grupo que resultan todavía más preferentes son aquellos en los que R₁ es un átomo de hidrógeno, un grupo N,N-dimetilamino-N-óxido, un grupo N-bencil-N-metilamino, un grupo N-acetil-N-metilamino, un grupo N-[N,N-dimetilaminoetilamino]cetil-N-metilamino o una cadena de fórmula:



25

en la que:

30 A es un átomo de hidrógeno, un fenilo o un anillo heteroarilo seleccionado de entre tiofeno, furano, tiazol, piridina y triazol,

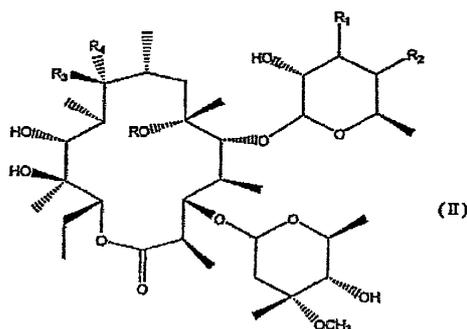
X es NR₆ y R₆ es un átomo de hidrógeno,

35 Y es, en el caso de que n sea 0, un grupo C₆H₄ o un anillo heteroarilo seleccionado de entre tiofeno, furano, tiazol, piridina y triazol, o, en el caso de que n sea 1, NR₆ y R₆ son átomos de hidrógeno,

o R₁ forma un enlace conjuntamente con R₂.

40 Son ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula I las sales con ácidos orgánicos o minerales tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido yodhídrico, ácido nítrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido acético, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido succínico y ácido glutárico.

45 Los compuestos de fórmula I de la presente invención se preparan según una ruta sintética que implica la eliminación del grupo L-cladinoso en posición 3 de los compuestos de fórmula:



en la que:

R, R₁, R₂, R₃ y R₄ presentan los significados proporcionados para los compuestos de fórmula I.

5 La eliminación del grupo cladinosa preferentemente se lleva a cabo mediante una reacción de hidrólisis ácida catalizada en presencia de un ácido mineral, por ejemplo ácido sulfúrico o ácido clorhídrico, y un solvente orgánico prótico, por ejemplo agua, metanol o etanol.

10 Los intermediarios de fórmula II son nuevos, con la excepción de aquellos en los que (i) R₁ es un grupo N,N-dimetilamino, e (ii) R es un átomo de hidrógeno y R₁ es un grupo N,N-dimetilamino-N-óxido.

15 Por ejemplo, el compuesto de fórmula II en la que R es un átomo de hidrógeno o un grupo metilo, y R₁ es un grupo N,N-dimetilamino han sido dados a conocer como agentes antibacterianos por R. Faghih *et al.*, J. of Antibiotics 43:1334-36, 1990.

20 Los compuestos de fórmula II se obtienen a partir de eritromicina A o 6-O-metileritromicina A (nombre común: claritromicina) mediante la acción sobre el grupo cetona en posición 9, y opcionalmente sobre el grupo dimetilamino en la posición 3'. Preferentemente, la acción inicialmente se dirige al grupo cetona en la posición 9; éste puede reducirse para proporcionar un compuesto hidroxilo.

25 Las posibles modificaciones en el grupo dimetilamino en posición 3' incluyen la oxidación, la eliminación o la desmetilación y posterior funcionalización (alquilación y acilación).

30 Resultará evidente para el experto en la materia que, con el fin de evitar la interferencia con los grupos funcionales que pueden encontrarse presentes en las tres posiciones en las que deben realizarse modificaciones estructurales, resultará más o menos convenientes y apropiado seleccionar una prioridad dada en las modificaciones sintéticas que deban llevarse a cabo.

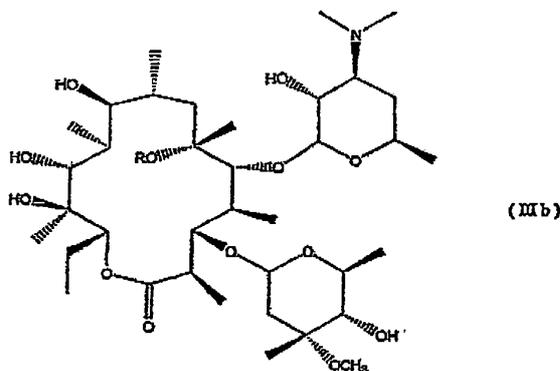
35 A título de ejemplo adicional, con respecto a la eliminación de la cladinosa, ésta puede llevarse a cabo tras las modificaciones del grupo cetona en posición 9, puede realizarse después o antes de la posible modificación del grupo dimetilamino o puede terminar el procedimiento de síntesis.

40 Preferentemente, la reacción de hidrólisis del azúcar se lleva a cabo después de las modificaciones del grupo cetona en posición 9 en el anillo macrólido para evitar que quede cladinosa en el medio de reacción y requiera una posterior separación del producto final y no respecto de los intermediarios de síntesis; sin embargo, en general, no se producen interacciones que eviten la eliminación de la cladinosa en otra etapa intermedia o al final del procedimiento de síntesis.

45 Dichas elecciones de procedimiento se encontrarán dictadas en cada caso por las necesidades técnicas destinadas a optimizar el procedimiento de síntesis del producto de interés.

Se describen con mayor claridad posteriormente en la presente memoria modos de llevar a cabo las modificaciones estructurales anteriormente indicadas de los macrólidos.

50 Los derivados hidroxilo, en posición 9, de la eritromicina son conocidos, y pueden obtenerse según técnicas convencionales mediante tratamiento de la eritromicina A con agentes reductores, por ejemplo hidruros (borohidruro sódico, borohidruro sódico, cianoborohidruro sódico o hidruro de litio-aluminio) (Faghih, Journal of Antibiotics, 1334-1336, 1990) o mediante procedimientos de hidrogenación catalítica, proporcionando los compuestos de fórmula:



50

en la que:

R presenta los significados proporcionados en la fórmula I.

La eliminación del grupo dimetilamino se lleva a cabo mediante oxidación, pirrólysis y posible reducción, según métodos conocidos, por ejemplo aquellos descritos en la solicitud de patente internacional WO 00/42055 a nombre de Zambon Group, o en la patente US nº 3.928.387 a nombre de Hoffmann-La Roche Inc., ambas citadas anteriormente.

La conversión en N-óxidos tiene lugar, según un método conocido, mediante tratamiento con perácidos, por ejemplo peróxido de hidrógeno o ácido meta-cloroperbenzoico en presencia de un solvente orgánico (patente US nº 3.928.387, Hoffmann-La Roche Inc., citado anteriormente) (J. Am. Chem. Soc. 76:3121, 1954).

La desmetilación del grupo dimetilamino en posición 3' puede llevarse a cabo mediante técnicas convencionales, por ejemplo el tratamiento con acetato sódico y yodo en presencia de un solvente orgánico, tal como se describe en la patente US nº 3.725.385 a nombre de Abbott Laboratories; la posterior acilación o alquilación de la amina secundaria obtenida de esta manera se lleva a cabo según las técnicas convencionales de síntesis.

Además, los compuestos de fórmula I en la que $R_1=R_2=H$ pueden prepararse mediante reducción de los compuestos correspondientes de fórmula I en la que R_1 y R_2 conjuntamente forman un enlace.

Los compuestos macrólidos han sido ampliamente utilizados terapéuticamente como agentes antibacterianos; en cada caso, los datos clínicos y experimentales indican que se encuentran implicados en la modulación de la respuesta inflamatoria.

Existe un cuerpo sustancial de evidencia, derivado de estudios tanto *in vitro* como *in vivo*, que sugiere que, aparte de inhibir la liberación de las citoquinas, los efectos moduladores de los compuestos macrólidos se dirigen hacia dianas celulares importantes tales como los linfocitos y los neutrófilos.

Estas células, en particular, son una primera línea de defensa frente a los patógenos, expresándose esta función por medio de la fagocitosis, la liberación de enzimas hidrolíticos y la producción de metabolitos tóxicos del oxígeno.

Aunque los neutrófilos resultan esenciales en la defensa inmunológica, es conocido que una liberación excesiva, no fisiológica, de sustancias oxidantes y de enzimas hidrolíticos podría encontrarse implicada en muchas afecciones patológicas, por ejemplo, la aterosclerosis, el daño isquémico por reperfusión, la artritis reumatoide, el choque séptico y las inflamaciones pulmonares crónicas tales como el ARDS (síndrome de distrés respiratorio del adulto), COPD y asma (inflamación y fiebre; Viera "Stvrtinová, Jan Jakubovsky e Ivan Hulin, Academic Electronic Press, 1995).

El tratamiento con eritromicina a dosis bajas durante periodos prolongados se describe como efectivo para reducir la hipersensibilidad bronquial en pacientes asmáticos (Miyatake H. *et al.*, Chest 99:670-673, 1991, citado anteriormente).

En un estudio adicional, se ha demostrado que el mismo tratamiento en pacientes que sufren de COPD, puede reducir significativamente la frecuencia y el riesgo de exacerbación, causado por las infecciones respiratorias agudas, de esta enfermedad (CHEST 120:730-733, 2001).

Los resultados obtenidos no se deben a la actividad antibiótica del macrólido, sino a la inhibición de la expresión y de la liberación de las citoquinas inflamatorias.

Dicho tratamiento, según el artículo citado anteriormente, debe restringirse preferentemente a los pacientes con un alto riesgo de exacerbación de COPD debido al riesgo potencial de emergencia de cepas patogénicas resistentes.

Los compuestos de fórmula I de la presente invención están dotados de actividad antiinflamatoria y no presentan actividad antibiótica.

Se evaluó la actividad farmacológica de los compuestos de fórmula I en modelos de inflamación cutánea y pulmonar en comparación con los compuestos macrólidos conocidos, tales como eritromicina y azitromicina, que están dotados de actividad tanto inflamatoria como antibiótica.

Se evaluó la actividad antiinflamatoria tanto mediante la inhibición del edema inducido por PMA en el oído del ratón como mediante la reducción de la acumulación inducida por LPS de neutrófilos en los pulmones de la rata.

En todos los experimentos, se encontró que los compuestos de la presente invención eran altamente activos como agentes antiinflamatorios y la actividad antiinflamatoria era similar o superior que la de los compuestos de comparación.

Se evaluó la actividad antibiótica *in vitro* a partir de la capacidad de inhibir el crecimiento de las cepas bacterianas

sensibles a eritromicina.

Además, los compuestos de la presente invención no mostraban actividad antibiótica, tal como demuestran los ensayos realizados, y por lo tanto pueden utilizarse en tratamientos crónicos de procesos inflamatorios sin que surjan fenómenos no deseados de resistencia.

De esta manera, resulta evidente que los compuestos de fórmula I, dotados de actividad antiinflamatoria y que no presentan actividad antibiótica, pueden utilizarse en el tratamiento agudo y crónico y en la profilaxis de enfermedades inflamatorias, en particular de enfermedades relacionadas con una funcionalidad celular alterada de los neutrófilos, por ejemplo la artritis reumatoide, el daño isquémico por reperfusión, el choque séptico, la aterosclerosis, la ARDS, la COPD y el asma.

Las cantidades terapéuticamente eficaces dependerán de la edad y del estado fisiológico general del paciente, de la vía de administración y de la formulación farmacéutica utilizada; la dosis terapéuticas generalmente se encuentran comprendidas entre aproximadamente 10 y 2.000 mg/día y preferentemente entre aproximadamente 30 y 1.500 mg/día.

Los compuestos de la presente invención para la utilización en el tratamiento y/o profilaxis de las enfermedades anteriormente indicadas preferentemente se utilizan en una forma farmacéutica que resulta adecuada para la administración oral, rectal, sublingual, parenteral, tópica, transdérmica y por inhalación.

Por lo tanto, es un objetivo adicional de la presente invención proporcionar formulaciones farmacéuticas que contienen una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I o una sal del mismo conjuntamente con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

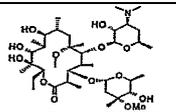
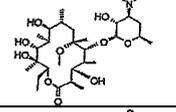
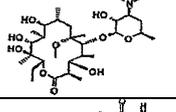
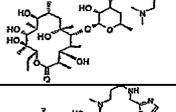
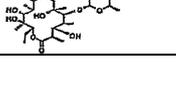
Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención pueden ser líquidas, adecuadas para la administración oral y/o parenteral, por ejemplo gotas, jarabes, soluciones, soluciones inyectables listas para la utilización o preparadas mediante dilución de un liofilizado, aunque preferentemente son sólidas, por ejemplo tabletas, cápsulas, gránulos, polvos, pellets, pesarios, supositorios, cremas, pomadas, geles o ungüentos; o alternativamente soluciones, suspensiones, emulsiones u otras formas adecuadas para la inhalación y la administración transdérmica.

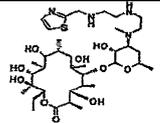
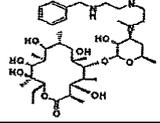
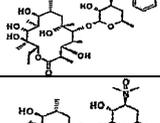
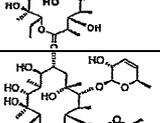
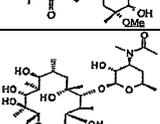
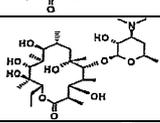
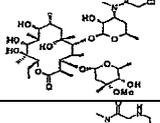
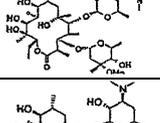
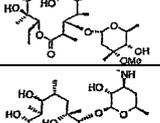
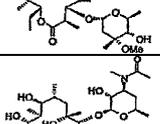
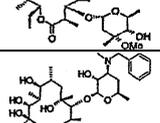
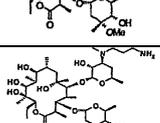
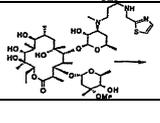
Dependiendo del tipo de formulación, estas formulaciones contienen, aparte de una cantidad terapéuticamente eficaz de uno (o más) compuestos de fórmula I, excipientes sólidos o líquidos o diluyentes para la utilización farmacéutica, y opcionalmente, otros aditivos utilizados normalmente en la preparación de formulaciones farmacéuticas, por ejemplo espesantes, agentes agregantes, lubricantes, desintegrantes, saborizantes y colorantes.

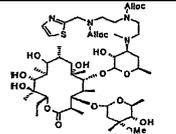
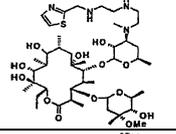
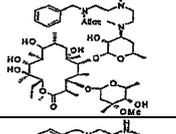
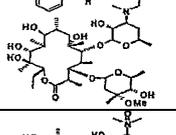
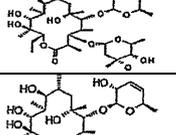
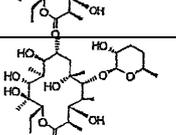
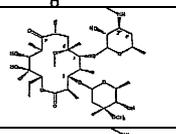
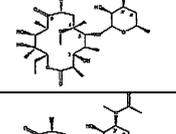
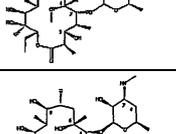
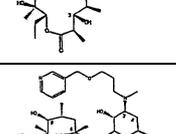
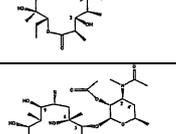
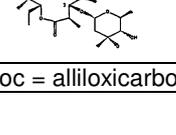
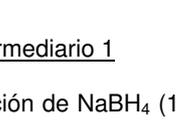
Las formulaciones farmacéuticas de la invención pueden producirse según técnicas convencionales.

Los ejemplos posteriormente se proporcionan a continuación con el fin de ilustrar la presente invención con mayor claridad.

Las estructuras químicas y la caracterización analítica de los intermediarios, así como los compuestos de fórmula I se proporcionan en la tabla a continuación.

Intermediario 38		CDCl ₃ : 5,19-5,24 (m, 1-H, H ₁₃), 4,98 (d, 1H, J=4,6, H ₁ "); 4,50 (d, 1H, J=7,1, H ₁ "); 3,38 (s, 3H, cladinosa CH ₃ O); 3,35 (s, 3H, H ₇ "); 2,29 (s, 6H, Me ₂ N); 0,85 (t, 3H, J=7,2, H ₁₅)
Compuesto 27		D ₂ O: 5,06-5,11 (m, 1H, H ₁₃); 3,84 (s, 1H, H ₁₁); 3,06 (s, 3H, CH ₃ claritrom); 2,64 y 2,74 (2s, 6H, Me ₂ N); 0,68 (t, 3H, J=7,1, H ₁₅),
Compuesto 28		CDCl ₃ : 4,65 (m, 1H, H ₁ "); 3,95 (s, 1H, H ₁₁); 3,20 y 3,16 (2s, 6H, Me ₂ N[OD]; 3,14 (s, 3H, CH ₃ claritrom); 0,81 (t, 3H, J=7,4, H ₁₅),
Compuesto 6		CDCl ₃ : 4,83-4,92 (m, 1H, H ₁₃); 2,38 (s, 1H, H ₁₁); 2,77 y 2,72 (2s, 3H, confórmeros MeN); 2,10 (s, 6H, NMe ₂); 0,73 (m, 3H, H ₁₅),
Compuesto 5		D ₂ O: 7,66 (m, 1H, Th); 7,47 (m, 1H, Th); 4,91 (m, 1H, H ₁₃); 4,53 (d, 1H, J=8,0, H ₁ "); 4,12 (m, 2H, CH ₂ Th); 2,52 (s, 3H, MeN); 0,72 (t, 3H, J=7,2, H ₁₅),

Compuesto 7		CDCl_3 : 7,72 (m, 1H, Th); 7,31 (m, 1H, Th); 4,21 (m, 2H, CH_2Th); 3,87 (s, 1H, H_{11}); 2,37 (s, 3H, MeN); 0,89 (t, 3H, $\text{J}=7,2$, H_{15}),
Compuesto 8		CDCl_3 : 7,30-7,40 (m, 5H, Ph); 4,40 (d, 1H, $\text{J}=7,4$, H_1'); 3,87 (s, 1H, H_{11}); 3,80 (m, 2H, CH_2Ph); 2,34 (s, 6H, Me_2N); 0,92 (t, 3H, $\text{J}=7,1$, H_{15}),
Compuesto 4		CDCl_3 : 7,4-7,2 (m, 5H, Ph); 4,55 (m, 1H, H_{19}); 4,44 (d, 1H, $\text{J}=7,7$, H_1'); 3,89 (s, 1H, H_{11}); 2,20 (s, 3H, MeN); 0,93 (t, 3H, $\text{J}=7,2$, H_{15}),
Compuesto 3		CDCl_3 : 4,51 (d, 1H, $\text{J}=7,2$, H_1'); 3,19 y 3,16 (2s, 6H, NMe_2 [O]); 0,88 (t, 3H, $\text{J}=7,2$, H_{15}),
Intermediario 16		CDCl_3 : 5,5 (m, 2H, H_3 y H_4'); 5,00-5,04 (m, 1H, H_{13}); 3,81 (s, 3H, H_{11}); 0,91 (t, 3H, $\text{J}=7,4$, H_{15}),
Compuesto 1		CDCl_3 : 2,96 y 2,86 (2s, 3H, confórmers MeN); 2,21 y 2,17 (2s, 3H, CH_3CO); 0,93 (t, 3H, $\text{J}=7,4$, H_{15}),
Compuesto 2		CDCl_3 : 4,50 (m, 1H, H_{13}); 4,34 (d, 1H, $\text{J}=7,4$, H_1'); 3,89 (s, 1H, H_{11}); 2,29 (s, 6H, Me_2N), 0,93 (t, 3H, $\text{J}=7,4$, H_{15}),
Intermediario 10		CDCl_3 : 3,33 y 3,31 (2s, 3H, H_7''); 3,03 y 2,88 (2s, 3H, MeN); 0,92 (m, 3H, H_{15}),
Intermediario 11		pMSO_d6: 4,95 (m, 2H, $\text{C}[\text{O}]\text{CH}_2\text{N}$); 4,83 (m, 1H, H_1'); 2,09 (s, 6H, Me_2N); 0,77 (m, 3H, H_{15})
Intermediario 1		CDCl_3 : 4,98 (d, 1H, $\text{J}=4,1$, H_1''); 4,91 (m, 1H, H_{13}); 4,54 (d, 1H, $\text{J}=7,2$, H_1'); 3,75 (s, 1H, H_{11}); 3,32 (s, 3H, H_7''); 2,30 (s, 6H, Me_2N); 0,89 (t, 3H, $\text{J}=7,4$, H_{15}),
Intermediario 2		CDCl_3 : 5,62 (m, 1H, H_{13}); 4,78 (d, 1H, $\text{J}=4,0$, H_1''); 4,49 (d, 1H, $\text{J}=7,4$, H_1'); 3,79 (s, 1H, H_{11}); 3,29 (s, 3H, H_7''); 2,44' (s, 3H, MeN); 0,91 (t, 3H, $\text{J}=7,6$, H_{15}),
Intermediario 3		CDCl_3 : 3,33 y 3,29 (2s, 3H, H_7''); 2,93 y 2,88 (2s, 3H, MeN); 2,18 y 2,14 (2s, 3H, $\text{N}[\text{CO}]\text{CH}_3$); 0,91 (t, 3H, $\text{J}=7,1$, H_{15}),
Intermediario 7		CDCl_3 : 7,25-7,40 (m, 5H, Ph); 5,02 (d, 1H, $\text{J}=4,3$, H_1''); 4,87 (m, 1H, H_{13}); 4,55 (d, 1H, $\text{J}=7,2$, H_1'); 3,12 (s, 3H, H_7''); 2,28 (s, 3H, MeN); 0,90 (t, 3H, $\text{J}=7,5$, H_{15})
Intermediario 8		D_2O : 4,88 (d, 1H, $\text{J}=4,3$, H_1''); 4,78 (m, 1H, H_{13}); 4,55 (d, 1H, $\text{J}=7,3$, H_1'); 3,11 (s, 3H, H_7''); 2,16 (s, 3H, MeN); 0,74 (t, 3H, $\text{J}=7,3$, H_{15})
Intermediario 9		CDCl_3 : 7,73 (m, 1H, Th); 7,27 (m, 1H, Th); 5,01 (d, 1H, $\text{J}=4,2$, H_1''); 4,90 (m, 1H, H_{13}); 4,55 (d, 1H, $\text{J}=7,1$, H_1'); 4,12 (m, 2H, CH_2Th); 3,33 (s, 3H, H_7''); 2,28 (s, 3H, MeN); 0,90 (t, 3H, $\text{J}=7,4$, H_{15}),

Intermediario 12		CDCl ₃ : 7,10 (m, 1H, Th); 7,28 (m, 1H, Th); 5,8-6,1 (m, 2H, =CH aliilo); 5,02 (d, 1H, J=4,1, H ^{1''}); 4,90 (m, 1H, H ₁₃); 3,77 (s, 1H, H ₁₁); 3,30 (s, 3H, H _{7''}); 2,31 (s, 3H, MeN); 0,89 (t, 3H, J=7,2, H ₁₅),
Intermediario 13		CDCl ₃ : 7,70 (m, 1H, Th); 7,26 (m, 1H, Th); 4,98 (d, 1H, J=4,2, H _{1''}); 4,90 (m, 1H, H ₁₃); 4,53 (d, 1H, J=7,1, H _{1'}); 4,13 (m, 2H, CH ₂ Th); 3,73 (s, 1H, H ₁₁); 3,32 (s, 3H, H _{7''}); 2,29 (s, 3H, MeN); 0,88 (t, 3H, J=7,1, H ₁₅),
Intermediario 14		CDCl ₃ : 7,20-7,32 (m, 5H, Ph); 5,8-6,1 (m, 2H, =CH aliilo); 5,00 (d, 1H, J=4,0, H _{1''}); 4,90 (m, 1H, H ₁₃); 3,75 (s, 1H, H ₁₁); 3,32 (s, 3H, H _{7''}); 2,29 (s, 3H, MeN); 0,90 (t, 3H, J=7,5, H ₁₅),
Intermediario 15		CDCl ₃ : 7,25-7,35 (m, 5H, Ph); 5,00 (d, 1H, J=3,9, H _{1''}); 4,89 (m, 1H, H ₁₃); 4,55 (d, 1H, J=7,2, H _{1'}); 3,8,2 (m, 2H, CH ₂ Ph); 3,77 (s, 1H, H ₁₁); 3,34 (s, 3H, H _{7''}); 2,30 (s, 3H, MeN); 0,91 (t, 3H, J=7,5, H ₁₅),
Intermediario 5		CDCl ₃ : 5,03 (d, 1H; J=3,9, -H _{1''}); 4,83 (m, 1H, H ₁₃); 4,69 (d, 1H, J=7,0, H _{1'}); 3,76 (s, 1H, H ₁₁); 3,41 (s, 6H, Me ₂ N[O]); 3,23 (s, 3H, H _{7''}); 0,91 (t, 3H, J=7,5, H ₁₅),
Compuesto 9		CDCl ₃ : 5,69 (m, 2H, H _{3'} y H _{4'}); 4,59 (m, 1H, H ₁₃); 4,51, (d, 1H, J=6,9, H _{1'}); 3,85 (s, 3H, H ₁₁); 0,92 (t, 3H, J=7,4, H ₁₅),
Compuesto 10		CDCl ₃ : 4,58 (m, 1H, H ₁₃); 4,36 (d, 1H, J=7,6, H _{1'}); 3,86 (s, 3H, H ₁₁); 1,35 (s, 3H, H _{11B}); 0,92 (t, 3H, J=7,4, H ₁₅),
intermediario 39		CDCl ₃ : 5,05 (m, 1H, H ₁₃); 4,92 (d, 2H, J=4,5, H _{1''}); 4,41 (d, 2H, J=7,5, H _{1'}); 3,98 (s, 1H, H ₁₁); 3,32 (s, 3H, H _{7''}); 3,03 (s, 3H, CH ₃ claritrom); 2,41 (s, 3H, MeN); 0,84 (t, 3H, J=7,4, H ₁₅)
Intermediario 40		CDCl ₃ , 5,97 (m, 1H, H ₁₃); 4,41 (d, 2H, J=8,1, H _{1'}); 2-96 (s, 3H, CH ₃ claritrom): 2,42 (s, 3H, MeN); 0,83 (t, 3H, J=7,5, H ₁₅)
Intermediario 41		CDCl ₃ : 4,50 (d, 2H, J=7,4, H _{1'}); 3,93 (s, 1H, H ₁₁); 2,96 (s, 3H, CH ₃ claritrom); 2,91 (s, 3H, MeN); 2,15 y 2,12 (2s, 3H, confórmersos CH ₃ CO); 0,83 (t, 3H, J=., H ₁₅)
Intermediario 4		HPLC: Rt 3,01 min
Compuesto 30		CDCl ₃ : 8,62, 8,56, 7,75 y 7,30 (4m, 4H, Py); 4,74 (s, 2H, CH ₂ Py); 3,89 (s, 1H, H ₁₁); 2,97 (s, 3H, CH ₃ N); 0,87 (m, 3H, H ₁₅)
intermediario 6		HPLC: Rt 6,17 min

Clave de la tabla: Alloc = alliloxicarbonil

Ejemplo 1

Preparación del intermediario 1

5

Se añadió una solución de NaBH₄ (11,3 g, 300 mmoles) en H₂O (75 ml) gota a gota (durante más de 20 minutos) a

una solución de eritromicina (100 g, 136,3 mmoles) en THF (1,5 litros) mantenida a 0°C. La mezcla de reacción se agitó durante 1 hora a 0°C y durante 3 horas a temperatura ambiente. La evaporación del THF bajo vacío proporcionó un producto crudo, que se disolvió en acetato de etilo (0,5 l) y ácido cítrico (1 l de una solución acuosa al 5%). Se extrajo la fase acuosa, se lavó con acetato de etilo (3x0,5 l) y se neutralizó con K₂CO₃. La extracción con acetato de etilo (3x1 l) proporcionó una fase orgánica, que se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se evaporó bajo vacío, proporcionando el intermediario 1 (72,1 g, rendimiento de 72%, 89,6% d.e.) en forma de sólido blanco.

[M+1]⁺: 736

10 Ejemplo 2

Preparación del intermediario 2

Se mantuvo una solución del intermediario 1 (10,3 g, 14 mmoles) en metanol (120 ml) bajo un flujo de nitrógeno y se añadieron secuencialmente a la misma acetato sódico (5,7 g, 70 mmoles) y yodo (4,28 g, 16,9 mmoles). Se mantuvo la mezcla de reacción bajo agitación y se irradió con una lámpara de UV de 400 vatios durante 6 horas, manteniendo la temperatura entre 20°C y 30°C con un baño de hielo. Se eliminó el metanol mediante evaporación bajo vacío y se introdujo el residuo en acetato de etilo y se extrajo con metabisulfato sódico al 5%. La fase acuosa agrupada se trató con solución de NaOH al 10% hasta alcanzar un pH alcalino y se extrajo con acetato de etilo (4x0,5 l). Tras secar con sulfato sódico, se filtró la fase orgánica y se evaporó bajo vacío, proporcionando 10 g de un producto crudo sólido blanco, que se disolvió en acetato de etilo (40 ml a 50°C) y se cristalizó, proporcionando el intermediario 2 (5,3 g, rendimiento de 53%) en forma de un sólido blanco.

[M+1]⁺: 722.

25 Ejemplo 3

Preparación del intermediario 3

Se añadió una solución de anhídrido acético (31 µl, 0,33 mmoles) disuelta en dioxano (1 ml) a una solución de intermediario 2 (200 mg, 0,277 mmoles) y K₂CO₃ (76 mg, 0,554 mmoles) en dioxano (4 ml) y agua (5 ml). Tras 3 horas, se añadió metanol y la solución se evaporó bajo vacío. Se disolvió el sólido crudo en acetato de etilo (20 ml) y se lavó con ácido cítrico al 5% (2x10 ml) y K₂CO₃ al 10% (2x10 ml). La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico y se filtró, y el solvente se eliminó mediante evaporación, proporcionando el intermediario 3 (130 mg, rendimiento de 62%) en forma de un sólido blanco.

[M-1]: 763.

40 Ejemplo 4

Preparación del compuesto 1 (1ª ruta de síntesis)

Se añadió HCl concentrado (0,5 ml) gota a gota a una solución de intermediario 3 (470 mg, 0,618 mmoles) en metanol (50 ml) y la mezcla de reacción se agitó durante 1 hora. Tras neutralizar con NH₃ concentrado, la solución se evaporó, se disolvió en CH₂Cl₂, se separaron las sales inorgánicas mediante filtración y se eliminó el solvente mediante evaporación bajo vacío. La purificación mediante cromatografía Biotage (cartucho de sílice 40 M, CH₂Cl₂/MeOH 30/1) proporcionó el compuesto 1 (329 mg, rendimiento de 90%) en forma de un sólido blanco.

[M-1]: 604.

50 Ejemplo 5

Preparación del intermediario 4

Se añadió HCl concentrado (5 µl) a una solución heterogénea de intermediario 2 (1 g, 1,38 mmoles) en H₂O (10 ml) y la mezcla de reacción se agitó vigorosamente durante 5 días. Se añadió 1 ml de NH₃ concentrado (pH>8) a la solución, seguido de extracción con acetato de etilo (3x10 ml). La fase orgánica agrupada se lavó con solución de NaCl (10 ml, al 20%), se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se evaporó bajo vacío, proporcionando el intermediario 4 (0,73 g, rendimiento de 90%) en forma de un sólido blanco.

[M+1]⁺: 565.

HPLC-MS: Zorbax SB-C18, 2,1x50 mm, columna de 3,5 mm; temperatura de la columna: 45°C; fase móvil A: ácido fórmico al 0,1% en H₂O, B: ácido fórmico al 0,1% en acetonitrilo; gradiente 0 min. 5% de B, 8 min. 95% de B; caudal: 1 ml/min.; volumen de inyección: 2 µl; concentración de muestra: 0,5 a 1 mg/ml; detector del espectrómetro de masas dotado de una fuente de ionización por electropulverización, ionización positiva; tiempo de retención: 3,01

min., que corresponde a 3,22 para el compuesto 2; tiempo total de análisis: 8 min. más 2 min. de reequilibrado.

Ejemplo 6

5 Preparación del compuesto 1 (2ª ruta de síntesis)

Se preparó el compuesto 1 a partir del intermediario 4 (0,73 g, 0,97 mmoles) y anhídrido acético (91 ml, 0,97 mmoles) siguiendo el procedimiento descrito para la obtención del intermediario 3. Tras 3 horas, se diluyó la mezcla de reacción con metanol y se evaporó bajo vacío. El producto crudo sólido se disolvió en solución acuosa de ácido cítrico al 5% y se extrajo con acetato de etilo. Las fases orgánicas agrupadas se lavaron con solución acuosa de NaCl al 20%, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se evaporaron bajo vacío, proporcionando el compuesto 1 (0,56 g, rendimiento de 95%) en forma de un sólido blanco.

15 [M-1]: 604.

Ejemplo 7

Preparación del compuesto 2

20 Se preparó el compuesto 2 a partir del intermediario 1 (322 mg, 0,438 mmoles) según el procedimiento descrito para obtener el compuesto 1. Tras neutralizar con NH₃ concentrado, se evaporó la solución. Se disolvió el producto crudo en HCl 1 N, se lavó con CH₂Cl₂ (3x10 ml) y se añadió a la fase de K₂CO₃ acuoso hasta alcanzar un pH alcalino. La extracción con acetato de etilo proporcionó una fase orgánica, que se secó sobre sulfato sódico y se filtró, proporcionando el compuesto 2 (225 mg, rendimiento de 89%) en forma de un sólido blanco.

25 [M+1]⁺: 578.

Ejemplo 8

30 Preparación del intermediario 5

Se añadió ácido meta-cloroperbenzoico (1,35 g, 6,06 mmoles) por partes a una solución del intermediario 1 (4,4 g, 6 mmoles) en cloroformo (250 ml) y la mezcla de reacción se diluyó con solución de bicarbonato sódico al 5% hasta alcanzar un pH básico. Se separó la fase orgánica y se lavó la fase acuosa con CH₂Cl₂ (3x50 ml). La solución orgánica agrupada se lavó con solución de NaCl al 20%, se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se evaporó, proporcionando un sólido amarillo. La purificación mediante cromatografía Biotage (cartucho de sílice 40 M, eluyente CH₂Cl₂/MeOH/NH₃ 20/1/0,1), proporcionando cristales blancos de intermediario 5 (1,3 g, rendimiento de 70%).

40 [M+1]⁺: 753.

Ejemplo 9

Preparación del compuesto 3

45 Se preparó compuesto 3 a partir del intermediario 5 (2,07 g, 0,275 mmoles) siguiendo los procedimientos descritos para el compuesto 1. La purificación mediante cromatografía Biotage (cartucho de sílice 40 M, eluyente CH₂Cl₂/MeOH/NH₃ 16/1/0,1) proporcionó el compuesto 3 (1,44 g, rendimiento de 88%) en forma de un sólido blanco.

50 [M+1]⁺: 595.

Ejemplo 10

Preparación del intermediario 6

55 Se añadió anhídrido acético (26 ml, 276 mmoles) gota a gota a una solución de intermediario 5 (70 g, 95 mmoles) en CH₂Cl₂ (0,5 l) y la mezcla de reacción se agitó durante 1 día. Aunque todavía se encontraba presente una cantidad reducida de material de partida no reaccionado, la reacción se neutralizó mediante la adición de solución de NaHCO₃ al 5% (1 litro) y se agitó durante 10 minutos adicionales. La solución se diluyó con CH₂Cl₂ (0,5 litros); se separó la fase orgánica y se lavó con solución de K₂CO₃ al 10% (3x0,5 litros), solución de ácido cítrico al 5% (3x0,5 litros) y solución de NaCl al 20% (0,3 litros). La solución se evaporó, proporcionando producto crudo sólido blanco (50 g), que, aunque contenía 40% de material no reaccionado, se utilizó directamente para la etapa de síntesis siguiente.

65 [M-1]: 805.

HPLC-MS: Zorbax SB-C18, 2,1x50 mm, columna de 3,5 mm; temperatura de la columna: 45°C; fase móvil A: ácido

fórmico al 0,1% en H₂O, B: ácido fórmico al 0,1% en acetonitrilo; gradiente 0 min. 5% de B, 8 min. 95% de B; caudal: 1 ml/min.; volumen de inyección: 2 µl; concentración de muestra: 0,5 a 1 mg/ml; detector del espectrómetro de masas dotado de una fuente de ionización por electropulverización, ionización negativa; tiempo de retención: 6,17 min., que corresponde a 3,22 para el compuesto 2; tiempo total de análisis: 8 min. más 2 min. de reequilibrado.

5

Ejemplo 11Preparación del intermediario 3 (2ª ruta de síntesis)

10 Se añadió K₂CO₃ (34 g, 250 mmoles) a una solución de intermediario 6 (50 g de mezcla cruda) en metanol (500 ml) y agua (160 ml), y la mezcla se agitó a 60°C durante 8 horas. Tras enfriar a 0°C en un baño de hielo-agua, se añadió HCl (120 ml de una solución 2 N) hasta pH 7. La solución se evaporó bajo vacío para eliminar el metanol y se extrajo con CH₂Cl₂ (4x0,5 litros). La fase orgánica agrupada se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se evaporó, proporcionando un producto crudo sólido blanco (36 g). La purificación mediante cromatografía flash (sílice, CH₂Cl₂/MeOH 25/1) proporcionó el intermediario 3 (14 g, rendimiento global de 20% durante las últimas 2 etapas).

15

[M-1]⁻: 763.**Ejemplo 12**

20

Preparación del intermediario 7

25 Se añadieron secuencialmente tamices moleculares de 4 Å (0,2 g), benzaldehído (0,060 ml, 0,56 mmoles), ácido acético (0,04 ml, 0,7 mmoles) y triacetoxiborohidruro de tetrametilamonio (306 g, 1,16 mmoles) a una solución de intermediario 2 (336 mg, 0,465 mmoles) en dicloroetano (15 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 1 día, se filtró a través de una almohadilla de Celite, lavando simultáneamente con CH₂Cl₂ (20 ml), y se diluyó con solución de NaHCO₃ al 5% (10 ml) y solución de NaCl al 20% (10 ml). La capa orgánica se separó y la fase acuosa se extrajo con CH₂Cl₂ (3x20 ml). La fase orgánica agrupada se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se evaporó bajo vacío. La purificación mediante cromatografía Biotage (cartucho de sílice 12 M, eluyente CH₂Cl₂/MeOH/NH₃ 30/1/0,1) proporcionó el intermediario 7 (250 mg, rendimiento de 67%).

30

[M+1]⁺: 813.**Ejemplo 13**

35

Preparación del compuesto 4

Se preparó el compuesto 4 a partir de intermediario 2 (200 mg, 0,868 mmoles) siguiendo los procedimientos descritos para el compuesto 1. La purificación mediante cromatografía Biotage (cartucho de sílice 12 M, eluyente de CH₂Cl₂/MeOH/NH₃ 30/1/0,1) proporcionó el compuesto 4 (92 mg, rendimiento de 57%).

40

[M+1]⁺: 654.**Ejemplo 14**

45

Preparación del intermediario 8

Una solución de intermediario 2 (530 mg, 0,734 mmoles) en acrilonitrilo (10 ml) se sometió a reflujo durante 6 horas. El exceso de acrilonitrilo se evaporó bajo vacío, proporcionando el producto crudo del derivado N-metil-N-[2-(ciano)etilo], que se disolvió en una solución 1,5 M de NH₃ en metanol (10 ml), se transfirió a un matraz de alta presión y, tras añadir el catalizador de rodio (al 5% en Al₂O₃, 100 mg) y 3 ciclos de hidrogenación, se agitó durante 4 horas bajo una atmósfera de hidrógeno de 50 psi. La purificación mediante cromatografía Biotage (cartucho de sílice 12 M, eluyente de CH₂Cl₂/MeOH/NH₃ 90/10/1) proporcionó el intermediario 8 (310 mg, rendimiento de 55% tras las dos etapas).

50

55

[M+1]⁺: 780.**Ejemplo 15**

60

Preparación del intermediario 9

Se añadieron secuencialmente tamices moleculares de 3 Å (1 g) y una solución de 2-tiazol-carboxaldehído (45 mg, 0,4 mmoles) en etanol (1 ml) a una solución de intermediario 8 (306 mg, 0,397 mmoles) en etanol absoluto (5 ml). Tras 6 horas, la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de sílice lavando simultáneamente con etanol (5 ml) y se transfirió a un matraz de alta presión, a la que se añadieron ácido acético (0,5 ml) y Pd/C al 10% (150 mg). Utilizando un aparato de Parr, se agitó la solución bajo una atmósfera de hidrógeno a 50 psi durante la

65

noche. La filtración a través de una almohadilla de Celite, la evaporación bajo vacío y la purificación mediante cromatografía Biotage (cartucho de sílice 12 M, eluyente de CH₂Cl₂/MeOH/NH₃ 20/1/0,1) proporcionó intermediario 9 (140 g, rendimiento de 41%) en forma de un sólido blanco.

5 [M+1]⁺: 877.

Ejemplo 16

Preparación del compuesto 5

10 Se preparó el compuesto 5 a partir del intermediario 9 (70 mg, 0,08 mmoles) siguiendo los procedimientos descritos para el compuesto 1. La mezcla de reacción se diluyó con agua destilada (20 ml), se evaporó el solvente y la fase acuosa se lavó con CH₂Cl₂ (3x10 ml), se añadió amonio acuoso concentrado hasta pH>7, y la mezcla se extrajo con CH₂Cl₂ (3x10 ml). La fase orgánica agrupada se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se evaporó bajo vacío, proporcionando el compuesto 5 (50 mg, rendimiento de 87%).

15 [M+1]⁺: 719.

Ejemplo 17

20 Preparación del intermediario 10

Se centrifugó una mezcla de N-ciclohexilcarbodiimida y N-metilpoliestireno (1,8 g, 1,69 mmoles/g) en CH₂Cl₂ (40 ml) durante 5 minutos, y se añadieron secuencialmente ácido cloroacético (216 mg, 2,28 mmoles) e intermediario 2 (1,5 g, 2,078 mmoles) y la mezcla se centrifugó a 300 rpm durante 40 horas. La solución se filtró de la resina lavando con metanol, y el filtrado se evaporó bajo vacío. La purificación mediante cromatografía en Varian Mega Bond Elut (cartucho de 10 g de sílice/60 ml), eluyendo con CH₂Cl₂ y metanol (gradiente de 0% a 10%), proporcionando el intermediario 10 (1,1 g, rendimiento de 66%) en forma de un sólido blanco.

30 [M+1]⁺: 799.

Ejemplo 18

Preparación de intermediario 11

35 Una solución de intermediario 10 (500 mg, 0,626 mmoles), trietilamina (0,35 ml, 2,5 mmoles) y dimetilaminoetilenamina (0,082 ml, 0,75 mmoles) en THF (10 ml) se sometió a reflujo durante 16 horas. La mezcla de reacción se vaporó y se purificó mediante cromatografía Biotage (cartucho de sílice 40S, eluyente de CH₂Cl₂/MeOH/NH₃ 20/1/0,1), proporcionando el intermediario 11 (400 mg, rendimiento de 75%) en forma de un sólido blanco.

40 [M+1]⁺: 851.

Ejemplo 19

45 Preparación del compuesto 6

Se preparó el compuesto 6 a partir del intermediario 11 (270 mg, 0,323 mmoles) según los procedimientos descritos para el compuesto 1. La purificación mediante HPLC preparativa y la elución a través de un cartucho C18 proporcionaron el compuesto 6 (100 mg, rendimiento de 45%).

50 [M+1]⁺: 693.

Ejemplo 20

Preparación del intermediario 12

55 Se preparó el intermediario 12 a partir del intermediario 2 (488 mg, 0,67 mmoles) y a partir de [2-(aliloxicarbonil-2-tiazolilmetil-amino)etil](2-oxoetil)carbamato de alilo (248 mg, 0,67 mmoles) siguiendo los procedimientos descritos para el intermediario 7. La purificación mediante cromatografía Biotage (cartucho de sílice 40 M, eluyente de CH₂Cl₂/MeOH/NH₃ 20/1/0,1) proporcionó el intermediario 12 (390 mg, rendimiento de 55%) en forma de un aceite marrón.

60 [M+1]⁺: 1.074.

Ejemplo 21Preparación del intermediario 13

5 Se añadieron secuencialmente pirrolidina (0,083 ml, 1 mmol) y tetrakis(trifenilfosfina)paladio (20 mg, 0,02 mmoles) a una solución de intermediario 12 (380 mg, 0,354 mmoles) en CHCl_3 (5 ml) mantenida bajo una atmósfera de argón. La mezcla de reacción se agitó durante 2 horas, se neutralizó con agua (10 ml), se separó la fase orgánica y la fase acuosa se extrajo con CH_2Cl_2 (2x10 ml). La fase orgánica agrupada se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se evaporó bajo vacío, proporcionando un aceite crudo. La purificación mediante cromatografía Biotage (cartucho de sílice 12 M, eluyente de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{NH}_3$ 15/1/0,1) proporcionó el intermediario 13 (180 mg, rendimiento de 56%).

[M+1]⁺: 906.

Ejemplo 22Preparación del compuesto 7

15 Se preparó el compuesto 7 a partir del intermediario 13 (128 mg, 0,141 mmoles) siguiendo el procedimiento descrito para el compuesto 1. La mezcla de reacción se diluyó con agua destilada (20 ml) y se eliminó el metanol mediante evaporación bajo vacío, proporcionando una fase acuosa, que se lavó con CH_2Cl_2 (3x10 ml), se añadió amonio acuoso concentrado hasta alcanzar un pH>7, y la mezcla se extrajo con CH_2Cl_2 (3x10 ml). La fase orgánica agrupada se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se evaporó bajo vacío, proporcionando el compuesto 7 (50 mg, rendimiento de 47%).

25 [M+1]⁺: 748.

Ejemplo 23Preparación del intermediario 14

30 Se preparó el intermediario 14 a partir del intermediario 2 (500 mg, 0,693 mmoles) y a partir de [2-(aliloxicarbonil-fenilmetilamino)etil](2-oxoetil)carbamato de alilo (256 mg, 0,7 mmoles) siguiendo los procedimientos descritos anteriormente para el intermediario 7. La purificación mediante cromatografía Biotage (cartucho de sílice 40 M, eluyente de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{NH}_3$ 40/1/0,1) proporcionó el intermediario 14 (600 mg, rendimiento de 82%) en forma de aceite.

35 [M+1]⁺: 1.067.

Ejemplo 24Preparación del intermediario 15

40 Se preparó el intermediario 15 a partir del intermediario 14 (594 mg, 0,557 mmoles) siguiendo los procedimientos descritos para el intermediario 13. La purificación mediante cromatografía Biotage (cartucho de sílice 40S, eluyente de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{NH}_3$ 30/1/0,1) proporcionó el intermediario 15 (310 mg, rendimiento de 62%) en forma de un sólido blanco.

45 [M+1]⁺: 899.

Ejemplo 25Preparación del compuesto 8

50 Se preparó el compuesto 8 a partir del intermediario 15 (250 mg, 0,278 mmoles) siguiendo los procedimientos descritos para el compuesto 1. La purificación mediante cromatografía Biotage (cartucho de sílice 12 M, eluyente de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{NH}_3$ 30/1/0,1) proporcionó el compuesto 8 (110 mg, rendimiento de 54%) en forma de un sólido blanco.

55 [M+1]⁺: 741.

Ejemplo 26Preparación del intermediario 16

60 Se añadió NaBH_4 (160 mg, 4,2 mmoles) en partes a una solución de 3'-desdimetilamino-3',4'-dehidroeritromicina A (1,3 g, 1,9 mmoles) preparada tal como se describe en J. Am. Chem. Soc. 103(11):3213-3215, 1981, en THF (10 ml)

y metanol (20 ml). La mezcla de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente, se neutralizó mediante la adición de ácido acético (1 ml) y, tras la agitación durante 30 minutos adicionales, se añadió NH₃ concentrado hasta alcanzar un pH básico. Se eliminó el solvente mediante evaporación bajo vacío, y la mezcla cruda se disolvió en acetato de etilo (100 ml) y se lavó con una solución de NaCl al 20% (3x100 ml). La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se evaporó bajo vacío. La purificación mediante cromatografía Biotage (cartucho de sílice 40 M, eluyente de CH₂Cl₂/MeOH 35/1) proporcionó el intermediario 16 (800 mg, rendimiento de 65%) en forma de un sólido blanco.

[M+1]⁺: 692.

Ejemplo 27

Preparación del compuesto 9

Se preparó el compuesto 9 a partir del intermediario 16 (600 mg, 0,868 mmoles) siguiendo los procedimientos descritos para el compuesto 1. La purificación mediante cromatografía Biotage (cartucho de sílice 40 M, eluyente de CH₂Cl₂/MeOH 37/1) proporcionó el compuesto 9 (380 mg, rendimiento de 82%) en forma de un sólido blanco.

[M+1]⁺: 534.

Ejemplo 28

Preparación del compuesto 10

Se añadió PtO₂ (10 mg) en un crisol de alta presión a una solución de compuesto 9 (300 mg, 0,56 mmoles) en etanol absoluto. Tras una secuencia de 3 ciclos de hidrogenación, la mezcla de reacción se mantuvo bajo una atmósfera de hidrógeno a 45 psi. Tras 4 horas, la mezcla se filtró a través de una almohadilla de Celite y se evaporó bajo vacío, proporcionando el compuesto 10 (300 mg, rendimiento de 99,9%) en forma de un sólido blanco amorfo.

[M+1]⁺: 536.

Ejemplo 29

Preparación de 2-[2-[(2-tiazolilmetil)amino]etilamino]etanol

(Intermediario 21)

Se añadieron secuencialmente tamices moleculares 3 Å (22,5 g) y una solución de 2-tiazol-carboxaldehído (14,5 g, 128 mmoles) en etanol (90 ml) a una solución de 2-(2-aminoetilamino)etanol (13,35 g, 128 mmoles) en etanol anhidro. La mezcla de reacción se agitó durante 4 horas, se filtró a través de una almohadilla de Celite lavando simultáneamente con etanol (100 ml) y se introdujo en un matraz de alta presión. Tras añadir ácido acético (3 ml) y Pd (al 10% sobre C, 2 g), la solución se introdujo en un aparato de Parr y, tras varios ciclos de hidrogenación, se agitó durante 2 días bajo una atmósfera de hidrógeno a 40 psi. La mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de Celite, se evaporó bajo vacío y se purificó mediante cromatografía flash (sílice, eluyente de CH₂Cl₂/MeOH/NH₃ 80/20/10), proporcionando 2-[2-[(2-tiazolilmetil)amino]etilamino]etanol (15,4 g, rendimiento de 60%) en forma de un aceite marrón.

[M+1]⁺: 202.

Ejemplo 30

Preparación de [2-(aliloxicarbonil-2-tiazolilmetilamino)etil](2-hidroxietil)carbamato de alilo

(Intermediario 22)

Una solución, a 0°C, de formato de alilo (1,22 ml, 11,5 mmoles) en CH₂Cl₂ (30 ml) se añadió gota a gota durante 30 minutos a una solución de intermediario 21 (1,16 g, 5,76 mmoles) y K₂CO₃ (1,14 g, 8,4 mmoles) en CH₂Cl₂ (30 ml) y H₂O (50 ml). Tras agitar a temperatura ambiente durante 16 horas y diluir con K₂CO₃ (50 ml de una solución acuosa al 10%), se separó la capa orgánica y se extrajo la fase acuosa con CH₂Cl₂ (2x40 ml). La fase orgánica agrupada se lavó con ácido cítrico (50 ml de una solución acuosa al 5%), se secó sobre sulfato sódico y se filtró, se eliminó el solvente mediante evaporación y se purificó el residuo mediante cromatografía flash (sílice, eluyente de CH₂Cl₂/MeOH 18/1), proporcionando el intermediario 22 (1,27 g, rendimiento de 60%) en forma de un aceite marrón.

[M+1]⁺: 370.

Ejemplo 31Preparación de 2-[aliloxicarbonil][2-(aliloxicarbonil-2-tiazolilmetilamino)etil]amino]metanosulfonato de etilo5 (Intermediario 23)

Se añadió una solución, a 0°C, de cloruro de mesilo (3,64 ml, 47 mmoles) en CH₂Cl₂ (10 ml) durante 15 minutos a una solución de intermediario 22 (12,96 g, 35 mmoles) y trietilamina (9,74 ml, 70 mmoles) en CH₂Cl₂ (130 ml). Tras 1 hora, el material de partida había reaccionado y la mezcla de reacción se diluyó con CH₂Cl₂ (50 ml) y se lavó con 10 50 ml de ácido cítrico al 5%, 50 ml de NaHCO₃ al 5% y una solución de NaCl al 20% (50 ml). La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico y se filtró, y el solvente se eliminó mediante evaporación bajo vacío, proporcionando el intermediario 23 (1,6 g, rendimiento cuantitativo) en forma de un aceite rojo, que se utilizó inmediatamente en la reacción siguiente.

15 [M+1]⁺: 448.**Ejemplo 32**Preparación del intermediario 38

20 Se preparó el intermediario 38 a partir de claritromicina (1 g, 1,33 mmoles) siguiendo los procedimientos descritos para el intermediario 16. La purificación mediante cromatografía flash (sílice, eluyente de CH₂Cl₂/MeOH/NH₃ 90/10/1) proporcionó el intermediario 38 (500 mg, rendimiento de 50%) en forma de un sólido blanco.

25 [M+1]⁺: 751.**Ejemplo 33**Preparación del compuesto 27

30 Se preparó el compuesto 27 a partir del intermediario 38 (202 mg, 0,27 mmoles) siguiendo los procedimientos descritos para el compuesto 1. La purificación mediante HPLC preparativa (fase móvil: agua/acetonitrilo de entre 95/5 y 60/40 durante 10 minutos) proporcionó el compuesto 27 (55 mg, rendimiento de 36%) en forma de un sólido blanco.

35 [M+1]⁺: 592.**Ejemplo 34**Preparación del compuesto 28

40 Se preparó el compuesto 28 a partir del compuesto 27 (26 mg, 0,034 mmoles) siguiendo los procedimientos descritos para la preparación del N-óxido de oxima de eritromicina A (solicitud de patente internacional WO 00/42055 a nombre de Zambon Group). La mezcla de reacción se diluyó con agua y se eliminó el solvente mediante 45 evaporación (tres veces, para eliminar el H₂O₂ por completo), y se secó, proporcionando el compuesto 28 (26 g, rendimiento de 95%) en forma de un sólido blanco.

[M+1]⁺: 609.**Ejemplo 35**Preparación del intermediario 39

55 Se mantuvo una suspensión de claritromicina (5 g, 6,7 mmoles) en metanol (150 ml) bajo un flujo suave de N₂ bajo agitación mecánica. Se añadieron acetato sódico (0,66 g, 8 mmoles) y yodo (2,03 g, 8 mmoles) y la mezcla resultante se expuso a la luz de una lámpara de 400 vatios, procurando mantener la temperatura entre 10°C y 20°C con un baño de hielo-agua. Tras 6 horas, se eliminó el solvente mediante evaporación bajo presión reducida, se introdujo el producto crudo en acetato de etilo y metabisulfito sódico acuoso al 5%, se extrajo la fase acuosa y después se basificó mediante la adición de amonio acuoso, seguido de la extracción con diclorometano. Tras secar 60 la fase orgánica sobre Na₂SO₄ anhidro, filtrar y eliminar el solvente mediante evaporación, se obtuvo un producto crudo (5,1 g), que se purificó mediante cromatografía Biotage (cartucho de sílice 40 M, eluyente: CH₂Cl₂/MeOH/NH₃ 100/3/0,3 y después 100/5/0,5), proporcionando el intermediario 39 (3,2 g, rendimiento de 65%).

[M+1]⁺: 734,5.

Ejemplo 36Preparación del intermediario 40

5 Se disolvió el intermediario 39 (2 g, 2,72 mmoles) en solución N de HCl (50 ml, 50 mmoles) y se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. Se basificó la solución con NH₃ concentrado y después se extrajo con acetato de etilo (3x50 ml). La fase orgánica obtenida se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se filtró, y el solvente se eliminó mediante evaporación, proporcionando el intermediario 40 (1,56 g, rendimiento de 90%).

10 [M+1]⁺: 576,3.

Ejemplo 37Preparación del intermediario 41

15 Se añadió gota a gota una solución de anhídrido acético (0,168 ml, 1,78 mmoles) en dioxano (3 ml) a una solución de intermediario 40 (0,93 g, 1,62 mmoles) en dioxano (30 ml) y H₂O (4 ml) y la mezcla resultante se agitó durante 8 horas. La reacción se trató finalmente mediante la adición de metanol y se eliminó el solvente mediante evaporación bajo presión reducida. El producto crudo obtenido de esta manera se diluyó con HCl 2 N (50 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3x50 ml).

20

Ejemplo 38Preparación del intermediario 42

25 Se introdujo una solución de piridín-metanol (0,5 g, 4,7 mmoles) en DMF (20 ml) en un matraz de fondo redondo de dos cuellos convenientemente seco mantenido bajo una atmósfera de argón, seguido de la adición de hidruro sódico (al 60%, 0,4 g, 10 mmoles). Se obtuvo una solución heterogénea, que se agitó durante 15 minutos. A continuación, se añadió una solución de 2-(2-bromoetil)-1,3-dioxano (0,92 g, 4,7 mmoles) en DMF (3 ml) gota a gota y la mezcla resultante se dejó reaccionar durante 16 horas a 60°C. Se diluyó el medio de reacción con acetato de etilo (100 ml) y se lavó con Na₂CO₃ acuoso al 10% (3x50 ml). La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se filtró, y el solvente se eliminó mediante evaporación, proporcionando un producto de reacción crudo (1 g), que se purificó mediante cromatografía (columna de sílice Varian Mega Bond Elut; eluyente: entre 100% de CH₂Cl₂ y CH₂Cl₂/MeOH 25/1), proporcionando el intermediario 2 (650 mg, rendimiento de 31%) en forma de un líquido incoloro.

30

35 [M+1]⁺: 633,4.

Rt=1,4 min.

40 RMN-¹H (CDCl₃): 8,59, 8,53, 8,01 y 7,25 (4m, 4H, Py); 4,70 (t, 1H, C-CH[-O]₂); 4,52 (s, 2H, CH₂Py), 4,09 (m, 2H, O-CH₂-C), 3,79 (m, 2H, C-CH₂-C), 3,60 (m, 2H, CH₂ dioxano), 2,05, 1,92 y 1,3 (3m, 4H, dioxano).

Ejemplo 39Preparación del intermediario 43

45 Se añadió un exceso de ácido trifluoroacético (2 ml) a la solución de intermediario 42 (150 mg, 0,67 mmoles) en CHCl₃ (4 ml), y la mezcla resultante se dejó reaccionar a temperatura ambiente durante 48 horas. Se diluyó el medio de reacción con CH₂Cl₂ (50 ml) y se lavó con Na₂CO₃ acuoso al 10% (3x20 ml). La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se filtró, y el solvente se eliminó mediante evaporación. La purificación mediante cromatografía Biotage (columna de cartucho 12M, eluyente de CH₂Cl₂/MeOH/NH₃ 30/1/0,1), proporcionando el intermediario 43 (45 mg, rendimiento de 40%), que se utilizó directamente para la reacción siguiente.

50

55 [M+1]⁺: 166,4.

Rt=2,5 min.

60 Los análisis de HPLC/MS se llevaron a cabo con un aparato Gilson dotado de una columna C18 Zorbax SBC18 (3,5 µm, 2,1x50 mm) y utilizando como detector una red de diodos de UV (220 nm), un espectrómetro de masas Finnigan Aqa (electropulverización, ionización positiva o negativa) y un revelador ELSD. Condiciones:

Caudal: 1 ml/minuto

Temperatura de la columna: 40°C

65 Gradiente de elución A/B (eluyente A: ácido fórmico al 0,5% en agua; eluyente B: ácido fórmico al 0,5% en

acetonitrilo): t=0 min., A/B=95:5, t=8 min., A/B=5:95.

Ejemplo 40

5 Preparación del compuesto 30

10 Se añadieron tamices moleculares (4 Å, 100 mg), ácido acético (16 µl, 0,267 mmoles) y después hidruro de terc-butil-aluminio (120 mg, 0,445 mmoles) a una solución de intermediarios 4 (100 mg, 0,178 mmoles) y 43 (30 mg, 0,178 mmoles) en dicloroetano (10 ml). Se dejó que reaccionase la mezcla durante 48 horas a temperatura ambiente y después se filtró a través de Celite y se diluyó el filtrado con Na₂CO₃ al 10% (20 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (3x20 ml). Los extractos orgánicos agrupados se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, y el solvente se eliminó mediante evaporación bajo presión reducida. La purificación mediante cromatografía Biotage (columna de cartucho 12 M, eluyente de CH₂Cl₂/MeOH/NH₃ 30/1/0,1) proporcionó el compuesto 30 (50 mg, rendimiento de 39%).

15 [M-1]: 714,5.

Ejemplo 43

20 Actividad farmacológica *in vivo*

A) Dermatitis aguda por contacto

- Animales

25 Se utilizó un grupo de 5 a 6 ratones CD1 (18 a 24 g).

- Administración de los compuestos

30 Todos los compuestos macrólidos se disolvieron en sistema transfase de administración (TPDS), un vehículo formado de 10% de alcohol bencílico, 40% de acetona y 50% de isopropanol.

35 Se aplicaron 15 microlitros de los compuestos (500 µg), disueltos en TPDS, tópicamente en la superficie interna de un oído; 30 minutos después, se aplicaron 12 microlitros de una solución de acetato de tetradecanoilforbol (TPA) a una concentración de 0,01% disuelto en acetona, en el mismo área.

Seis horas después, se sacrificaron los animales mediante inhalación de CO₂.

- Evaluación de los resultados

40 Se utilizaron dos métodos para evaluar el edema auricular:

a) Peso de una parte dada del pabellón auricular.

45 b) Medición del grosor auricular utilizando calibradores de muelle de precisión.

Se estimó el grado del edema restando el peso o el grosor del oído no tratado del del oído tratado contralateral. Para determinar el grado de remisión del edema, seguidamente se comparó la diferencia (peso o grosor) de los grupos tratados con TPA+macrólidos con los grupos tratados con TPA solo.

50 Se midió la actividad de los compuestos macrólidos mediante la utilización del método modificado de Zunic *et al.* (1998): el MDL (lisil) GDP, un derivado dipéptido muramilo no tóxico inhibe la producción de citoquinas por parte de los macrófagos activados y protege a los ratones frente a la inflamación inducida por éster de forbol y oxazolona (J. Invest. Dermatol. 111(1):77-82).

55 Los datos referentes a la eritromicina y la azitromicina se refieren al tratamiento con una única dosis de 500 µg/oído.

Los resultados obtenidos para varios compuestos de fórmula I, representativos de la clase completa, se proporcionan en la tabla a continuación:

Compuesto	Edema (% de inhibición)	Método para medir el edema
Eritromicina	42	a
Azitromicina	40	a
3	65,2	a
1	65,6	a
2	36,2	a
6	30,9	a
5	53,4	a
7	45,0	a
9	32,4	a
30	39,8	a

B) Inflamación pulmonar inducida por LPS en ratas

5 • Administración

Las ratas recibieron endotraquealmente, mediante la vía peroral, una única dosis de 0,4 mg/kg de LPS (*E. coli*, serotipo 026:6). La instilación traqueal se llevó a cabo bajo anestesia con halotano y, 20 horas después de la administración endotraqueal de LPS/solución salina, se sacrificaron los animales por medio de una sobredosis de uretano.

• Lavado

Se lavaron los pulmones con 4 alícuotas de 5 ml cada una de solución salina con 10 IU/ml de heparina. La suspensión celular se concentró mediante centrifugación a baja velocidad y se suspendió el pellet celular.

• Recuento de las células y diferenciación

Se llevó a cabo el recuento de células totales en un hemocitómetro

El recuento diferencial se llevó a cabo en preparaciones para citocentrífuga Cytospin teñidas con May-Grunwald-Giemsa (Tamaoki J., Tagaya E., Yamawaki I., Sakai N., Nagai A., Konno K., Effect of erythromycin on endotoxin-induced microvascular leakage in the rat trachea and lungs, Am. J. Respir. Crit. Care Med. 151:1582-8, 1995). Las ratas recibieron los compuestos de ensayo oralmente en dosis de 100, 40 y 10 μ moles/kg en forma de una única dosis administrada oralmente una hora antes de la exposición a LPS.

El valor ED₅₀ es la dosis que induce una reducción de 50% del recuento de neutrófilos en el líquido de lavado bronquial.

Los datos referentes a la eritromicina se refieren a un tratamiento oral con una única dosis de 130 μ moles/kg.

Los resultados obtenidos para varios compuestos de fórmula I representativos de la clase completa se proporcionan en la tabla a continuación.

Compuesto	ED ₅₀ (μ moles/kg)
Eritromicina	No activo
1	7

35

Ejemplo 78

40 Actividad farmacológica *in vitro*

Actividad antibiótica

• Preparación del ensayo

45 Todos los compuestos se disolvieron en DMSO en forma de una solución concentrada 100X a una concentración de 12,8 mg/ml. La solución concentrada se diluyó hasta 1:100 en el medio de incubación hasta una concentración final de 128 μ g/ml (concentración final en DMSO del 1%). Para evaluar la MIC, se realizaron diluciones 1:2 sucesivas en DMSO de la solución concentrada 100X y se diluyeron hasta 1:100 en el medio de incubación.

50 • Método experimental

La MIC (concentración inhibidora mínima) o la actividad antibiótica de los compuestos se evaluó a 128 µg/ml.

Se determinaron los valores de MIC en tierra líquida según el método descrito en "Manual of Clinical Microbiology, 7ª edición, 1999, American Society for Microbiology".

5

Las cepas bacterianas utilizadas fueron:

Streptococcus pneumoniae ATCC nº 49619

Staphylococcus aureus ATCC nº 29213 o ATCC nº 6538

10

Enterococcus faecalis ATCC nº 29212

Streptococcus pyogenes ATCC nº 19615

- Evaluación de los datos

15

Los resultados se expresan como la MIC (µg/ml), evaluada como la concentración más baja de la sustancia de ensayo que inhibe totalmente el crecimiento visible al ojo desnudo.

Los resultados obtenidos para varios compuestos de fórmula I representativos de la clase completa se proporcionan en la tabla a continuación.

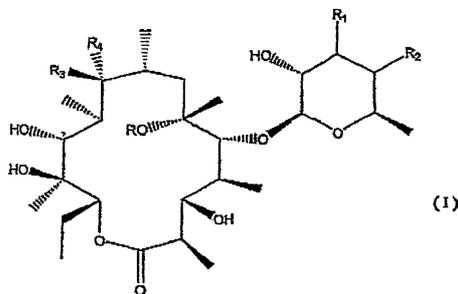
20

Compuestos	MIC (µg/ml)	MIC (µg/ml)	MIC (µg/ml)
	<i>S. aureus</i> ATCC nº 29213	<i>S. pneumoniae</i> ATCC nº 49619	<i>E. faecalis</i> ATCC nº 29212
Eritromicina	0,25	0,12	1
27	>128	>128	>128
3	>128	>128	>128
1	>128	>128	>128
2	>128	>128	>128
Compuestos	<i>S. aureus</i> ATCC nº 6538 128 (µg/ml)	<i>S. pyogenes</i> ATCC nº 19615 128 (µg/ml)	<i>E. faecalis</i> ATCC nº 29212 128 (µg/ml)
Eritromicina	0,25 mg/ml MIC)	0,12 mg/ml (MIC)	1 mg/ml (MIC)
3	no activo	no activo	no activo
1	no activo	no activo	no activo
2	no activo	no activo	no activo

Los datos proporcionados en la tabla demuestran claramente que los compuestos de fórmula I de la presente invención se encuentran sustancialmente libres de actividad antibiótica.

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula:



5

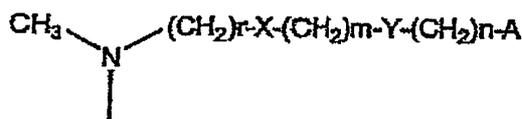
en la que:

R es un átomo de hidrógeno o un grupo metilo,

10

R₁ es un átomo de hidrógeno, un grupo N,N-dialquilamino (C₁-C₃), un grupo N,N-dialquilamino (C₁-C₃)-N-óxido, un grupo N-alquil (C₁-C₃)-N-bencilamino, un grupo N-acil (C₁-C₄)-N-alquilamino (C₁-C₃), un grupo N-[N,N-dimetilamino-alquilamino (C₁-C₄)]acetil-N-alquilamino (C₁-C₃),

15 o una cadena de fórmula:



en la que:

20

A es un átomo de hidrógeno, un fenilo o un anillo heteroarilo de cinco o seis elementos que presenta entre uno y tres heteroátomos seleccionados de entre nitrógeno, oxígeno y azufre,

25

X es O, S, SO, SO₂ y NR₆, y R₆ es un átomo de hidrógeno, un alquilo C₁-C₃ lineal o ramificado, un grupo alcoxicarbonilo C₁-C₃ o un grupo benciloxycarbonilo,

30

Y es un grupo C₆H₄, un anillo heteroarilo de cinco o seis elementos que presenta entre uno y tres heteroátomos seleccionados de entre nitrógeno, oxígeno y azufre, o es O, S, SO, SO₂ o NR₆ en el que R₆ presenta los significados proporcionados anteriormente,

r es un número entero comprendido entre 1 y 3,

m es un número entero comprendido entre 1 y 6,

35

n es un número entero comprendido entre 0 y 2,

o R₁ forma un enlace conjuntamente con R₂,

R₂ es un átomo de hidrógeno o forma un enlace conjuntamente con R₁,

40

R₃ es un grupo hidroxilo,

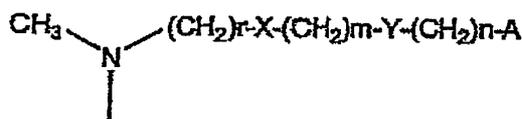
R₄ es un átomo de hidrógeno,

45

y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, con la condición, sin embargo, de que R₁ no sea un grupo dimetilamino en el caso de que R₂ sea un átomo de hidrógeno.

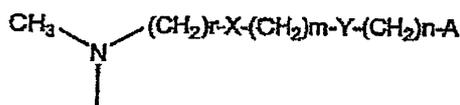
50

2. Compuesto según la reivindicación 1, en el que R₁ es un átomo de hidrógeno, un grupo N-alquil (C₁-C₃)-N-metilamino, un grupo N-alquil (C₁-C₃)-N-metilamino-N-óxido, un grupo N-bencil-N-metilamino, un grupo N-acil (C₁-C₄)-N-metilamino, un grupo N-[N,N-dimetilamino-alquilamino (C₁-C₄)]acetil-N-metilamino o una cadena de fórmula:



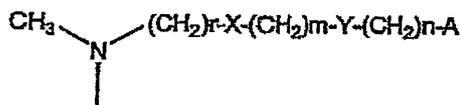
en la que:

- 5 A es un átomo de hidrógeno, un fenilo o un anillo heteroarilo de cinco o seis elementos que presenta entre uno y tres heteroátomos seleccionados de entre nitrógeno, oxígeno y azufre,
- X es O o NR₆, y R₆ es un átomo de hidrógeno o un alquilo C₁-C₃ lineal o ramificado,
- 10 Y, en el caso de que n sea 0, es un grupo C₆H₄ o un anillo heteroarilo de cinco o seis elementos que presenta entre uno y tres heteroátomos seleccionados de entre nitrógeno, oxígeno y azufre, o, en el caso de que n no sea 0, es O o NR₆, y R₆ es un átomo de hidrógeno o un alquilo C₁-C₃ lineal o ramificado, r es un número entero entre 1 y 3,
- m es el número entero 1 ó 2,
- 15 n es un número entero comprendido entre 0 y 2,
- o R₁ forma un enlace conjuntamente con R₂.
- 20 3. Compuesto según la reivindicación 2, en el que R₁ es un átomo de hidrógeno, un grupo N,N-dimetilamino-N-óxido, un grupo N-bencil-N-metilamino, un grupo N-acetil-N-metilamino, un grupo N-[N,N-dimetilamino-alquilamino (C₁-C₂)]acetil-N-metilamino o una cadena de fórmula:



25 en la que:

- A es un átomo de hidrógeno, un fenilo o un anillo heteroarilo de cinco o seis elementos seleccionado de entre pirrol, tiofeno, furano, imidazol, oxazol, tiazol, piridina, pirimidina, triazol y tiadiazol,
- 30 X es O o NR₆, y R₆ es un átomo de hidrógeno,
- Y es, en el caso de que n sea 0, un grupo C₆H₄ o un anillo heteroarilo de cinco o seis elementos seleccionado de entre pirrol, tiofeno, furano, imidazol, oxazol, tiazol, piridina, pirimidina, triazol y tiadiazol, o, en el caso de que n sea 1, NR₆ y R₆ son un átomo de hidrógeno,
- 35 r es un número entero comprendido entre 1 y 3,
- m es el número entero 1 ó 2,
- 40 n es el número entero 0 ó 1,
- o R₁ forma un enlace conjuntamente con R₂.
- 45 4. Compuesto según la reivindicación 3, en el que R₁ es un átomo de hidrógeno, un grupo N,N-dimetilamino-N-óxido, un grupo N-bencil-N-metilamino, un grupo N-acetil-N-metilamino, un grupo N-[N,N-dimetilaminoetilamino]acetil-N-metilamino o una cadena de fórmula:



50 en la que:

- A es un átomo de hidrógeno, un fenilo o un anillo heteroarilo seleccionado de entre tiofeno, furano, tiazol, piridina y triazol,
- 55

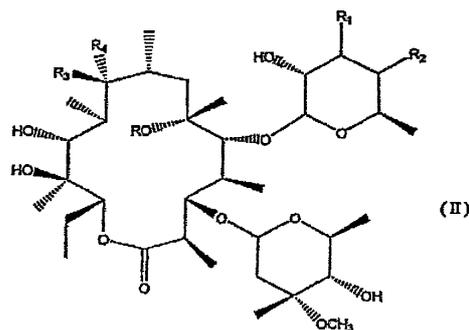
X es NR₆ y R₆ es un átomo de hidrógeno,

Y es, en el caso de que n sea 0, un grupo C₆H₄ o un anillo heteroarilo seleccionado de entre tiofeno, furano, tiazol, piridina y triazol,

5 o, en el caso de que n sea 1, NR₆ y R₆ son un átomo de hidrógeno,

o R₁ forma un enlace conjuntamente con R₂.

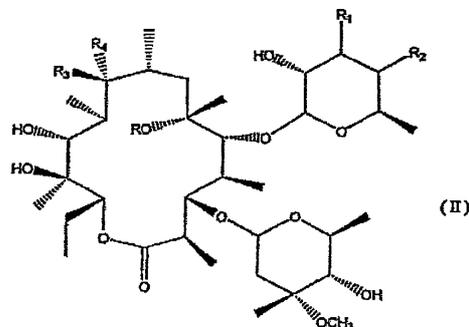
10 5. Procedimiento para preparar un compuesto según la reivindicación 1, caracterizado porque el grupo L-cladinoso en posición 3 se elimina de los compuestos de eritromicina A de fórmula:



15 en la que R, R₁, R₂, R₃ y R₄ son tal como se definen en la reivindicación 1, mediante una reacción de hidrólisis.

6. Procedimiento según la reivindicación 5, en el que la eliminación de la cladinoso se lleva a cabo mediante una reacción de hidrólisis ácida catalizada en presencia de un ácido mineral y un solvente orgánico prótico.

20 7. Compuesto de fórmula:



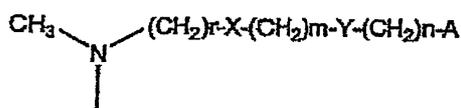
en la que:

25 R es un átomo de hidrógeno o un grupo metilo,

R₁ es un átomo de hidrógeno, un grupo N,N-dialquilamino (C₁-C₃), un grupo N,N-dialquilamino (C₁-C₃)-N-óxido, un grupo N-alquil (C₁-C₃)-N-bencilamino, un grupo N-acil (C₁-C₄)-N-alquilamino (C₁-C₃), un grupo N-[N,N-dimetilamino-

30 alquilamino (C₁-C₄)]acetil-N-alquilamino (C₁-C₃),

o una cadena de fórmula:



35 en la que:

A es un átomo de hidrógeno, un fenilo o un anillo heteroarilo de cinco o seis elementos que presenta entre uno y tres heteroátomos seleccionados de entre nitrógeno, oxígeno y azufre,

40

X es O, S, SO, SO₂ y NR₆, y R₆ es un átomo de hidrógeno, un alquilo C₁-C₃ lineal o ramificado, un grupo alcóxicarbonilo C₁-C₃ o un grupo benciloxycarbonilo,

5 Y es un grupo C₆H₄, un anillo heteroarilo de cinco o seis elementos que presenta entre uno y tres heteroátomos seleccionados de entre nitrógeno, oxígeno y azufre, o es O, S, SO, SO₂ o NR₆, en el que R₆ presenta los significados proporcionados anteriormente,

r es un número entero comprendido entre 1 y 3,

10 m es un número entero comprendido entre 1 y 6,

n es un número entero comprendido entre 0 y 2,

o R₁ forma un enlace conjuntamente con R₂,

15 R₂ es un átomo de hidrógeno o forma un enlace conjuntamente con R₁,

R₃ es un grupo hidroxilo,

20 R₄ es un átomo de hidrógeno,

y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos,

25 con la condición, sin embargo, de que R₁ no sea un grupo N,N-dimetilamino, o un grupo N,N-dimetilamino-N-óxido en el que R es un átomo de hidrógeno.

8. Compuesto según la reivindicación 7, en el que R es un átomo de hidrógeno y R₁ forma un enlace conjuntamente con R₂.

30 9. Compuesto según la reivindicación 7, en el que R es un átomo de hidrógeno y R₁ es un grupo N-bencil-N-metilamino.

10. Compuesto según la reivindicación 7, en el que R es un átomo de hidrógeno y R₁ es un grupo N-acetil-N-metilamino.

35 11. Compuesto según la reivindicación 7, en el que R es un átomo de hidrógeno y R₁ es un grupo N-[N,N-dimetilaminoetilamino]acetil-N-metilamino.

40 12. Compuesto según la reivindicación 7, en el que R es un átomo de hidrógeno y R₁ es un grupo N-metil-N-3-[(2-tiazolilmetil)amino]propilamino.

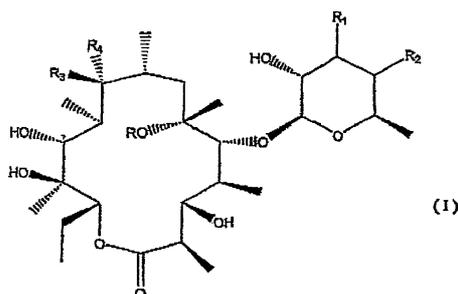
13. Compuesto según la reivindicación 7, en el que R es un átomo de hidrógeno y R₁ es un grupo N-2-[2-[(2-tiazolilmetil)amino]etilamino]etil-N-metilamino.

45 14. Compuesto según la reivindicación 7, en el que R es un átomo de hidrógeno y R₁ es un grupo N-2-[2-(bencilamino)etilamino]etil-N-metilamino.

15. Compuesto según la reivindicación 7, que es de(N-metil)-9-dihidroeritromicina A.

50 16. Compuesto según la reivindicación 7, que es de(N-metil)-descladinosil-9-dihidro-eritromicina A.

17. Composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula:

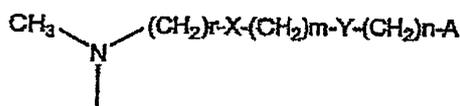


55 en la que:

R es un átomo de hidrógeno o un grupo metilo,

5 R₁ es un átomo de hidrógeno, un grupo N,N-dialquilamino (C₁-C₃), un grupo N,N-dialquilamino (C₁-C₃)-N-óxido, un grupo N-alkil (C₁-C₃)-N-bencilamino, un grupo N-acil (C₁-C₄)-N-alkilamino (C₁-C₃), un grupo N-[N,N-dimetilamino-alkilamino (C₁-C₄)]acetil-N-alkilamino (C₁-C₃),

o una cadena de fórmula:



10

en la que:

15 A es un átomo de hidrógeno, un fenilo o un anillo heteroarilo de cinco o seis elementos que presenta entre uno y tres heteroátomos seleccionados de entre nitrógeno, oxígeno y azufre,

X es O, S, SO, SO₂ y NR₆, y R₆ es un átomo de hidrógeno, un alquilo C₁-C₃ lineal o ramificado, un grupo alcoxycarbonilo C₁-C₃ o un grupo benciloxycarbonilo,

20 Y es un grupo C₆H₄, un anillo heteroarilo de cinco o seis elementos que presenta entre uno y tres heteroátomos seleccionados de entre nitrógeno, oxígeno y azufre, o es O, S, SO, SO₂ o NR₆ en el que R₆ presenta los significados proporcionados anteriormente,

r es un número entero comprendido entre 1 y 3,

25

m es un número entero comprendido entre 1 y 6,

n es un número entero comprendido entre 0 y 2,

30 o R₁ forma un enlace conjuntamente con R₂,

R₂ es un átomo de hidrógeno o forma un enlace conjuntamente con R₁,

R₃ es un grupo hidroxilo,

35

R₄ es un átomo de hidrógeno,

o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos,

40 conjuntamente con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

18. Composición farmacéutica según la reivindicación 17 para la utilización en el tratamiento de enfermedades inflamatorias.

45 19. Composición farmacéutica según la reivindicación 17 para la utilización en el tratamiento de enfermedades respiratorias.

50 20. Utilización de un compuesto de fórmula (I) tal como se muestra en la reivindicación 1, en la que R₁ es un grupo dimetilamino, R₂ es H, y R, R₃ y R₄ presentan los significados indicados en la reivindicación 1, y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos para la preparación de un medicamento como fármaco antiinflamatorio.