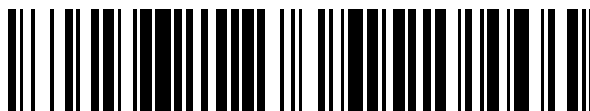


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 375 730**

51 Int. Cl.:  
**C07D 498/18** (2006.01)  
**A61K 31/435** (2006.01)  
**C07D 311/00** (2006.01)  
**C07D 273/00** (2006.01)  
**C07D 221/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **06026307 .6**  
96 Fecha de presentación: **14.04.1995**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1760083**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **07.03.2007**

54 Título: **HIDROXIÉSTERES DE RAPAMICINA, PROCEDIMIENTO PARA SU PREPARACIÓN Y COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS QUE LOS CONTIENEN.**

30 Prioridad:  
**18.04.1994 US 229261**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**05.03.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**05.03.2012**

73 Titular/es:  
**WYETH LLC  
FIVE GIRALDA FARMS  
MADISON, NJ 07940, US**

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

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 375 730 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

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

**Antecedentes de la invención**

5 La presente invención se refiere a hidroxiésteres de rapamicina y a un procedimiento para usarlos para inducir inmunodepresión, y en el tratamiento de rechazo de trasplante, enfermedad de injerto contra huésped, enfermedades autoinmunitarias, enfermedades de inflamación, de leucemia/linfoma de linfocitos T en adultos, tumores sólidos, infecciones fúngicas y trastornos vasculares hiperproliferativos.

10 La rapamicina es un antibiótico de trieno macrocíclico producido por *Streptomyces hygroscopicus*, que se encontró que tenía actividad antifúngica, en particular contra *Candida albicans*, tanto *in vitro* como *in vivo* [C. Vezina et al., J. Antibiot. 28, 721 (1975); S.N. Sehgal et al., J. Antibiot. 28, 727 (1975); H. A. Baker et al., J. Antibiot. 31, 539 (1978); patente de los EE. UU. n.º 3.929.992; y patente de los EE. UU. n.º 3.993.749].

15 La rapamicina sola (patente de los EE. UU. n.º 4.885.171) o en combinación con picibanil (patente de los EE. UU. n.º 4.401.653) ha demostrado que tiene actividad antitumoral. R. Martel et al. [Puede. 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 artritis coadyuvante, un modelo para la artritis reumatoide; e inhibió eficazmente la formación de anticuerpos similares a IgE.

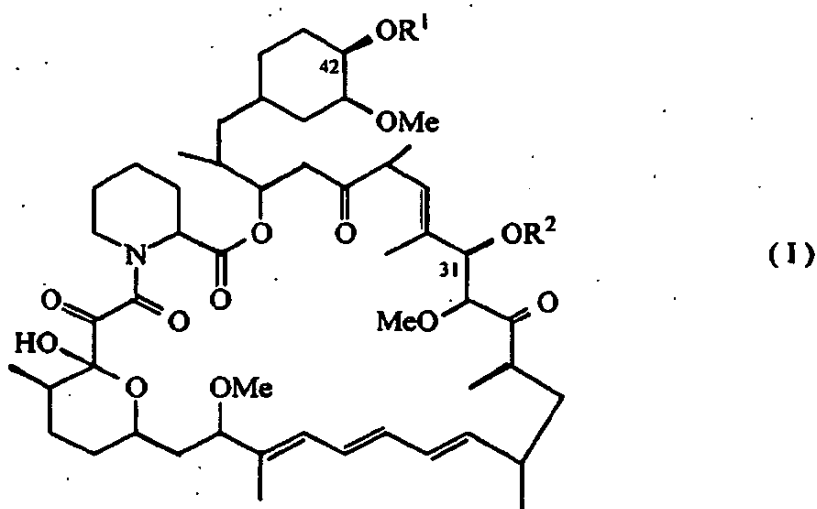
20 Los efectos inmunodepresores de la rapamicina se han dado a conocer en FASEB 3, 3411 (1989). La ciclosporina A y FK-506, otras moléculas macrocíclicas, también han demostrado que son eficaces como agentes inmunodepresores, útiles por lo tanto en la prevención de rechazo de trasplante [FASEB 3, 3411 (1989); FASEB 3, 5256 (1989); R. Y. Calne et al., Lancet 1183 (1978); y patente de los EE. UU. n.º 5.100.899].

25 La rapamicina también ha demostrado que es útil en la prevención o en el tratamiento de lupus eritematoso sistémico [patente de los EE. UU. n.º 5.078.999], inflamación pulmonar [patente de los EE. UU. n.º 5.080.899], diabetes mellitus dependiente de insulina [Fifth Int. Conf. Inflamm. Res. Assoc. 121 (Abstract), (1990)], proliferación de las células de músculo liso y engrosamiento de la íntima después de daño vascular [Morris, R. J. Heart Lung Transplant 11 (pt. 2): 197 (1992)] leucemia/linfoma de linfocitos T en adultos [solicitud de patente europea n.º 525.960 A1] e inflamación ocular [solicitud de patente europea n.º 532.862 A1].

30 Los derivados mono- y diacilados de rapamicina (esterificada en las posiciones 28 y 43) han demostrado que son útiles como agentes antifúngicos (patente de los EE. UU. n.º 4.316.885) y se han usado para preparar profármacos de aminoacilo solubles en agua de rapamicina (patente de los EE. UU. n.º 4.650.803). Los ésteres de ácido carboxílico de rapamicina se dan en el documento WO 92/05179. Recientemente, se ha cambiado a convención de numeración para rapamicina; por lo tanto, de acuerdo con la nomenclatura de Chemical Abstracts, los ésteres descritos anteriormente estarían en las posiciones 31 y 42.

**Descripción de la invención**

35 La presente invención proporciona derivados de rapamicina que son útiles como agentes inmunodepresores, antiinflamatorios, antifúngicos, antiproliferativos y antitumorales, que tienen la estructura



en la que  $R^1$  es hidrógeno o  $-\text{COCR}^7\text{R}^8\text{R}^9$  y  $R^2$  es  $-\text{COCR}^7\text{R}^8\text{R}^9$ ;

$R^3$  y  $R^4$  son cada uno, independientemente, hidrógeno, alquilo de 1-6 átomos de carbono, alqueno de 2-7 átomos de carbono, alquino de 2-7 átomos de carbono, trifluorometilo, o  $-\text{F}$ ;

5  $R^7$  es hidrógeno, alquilo de 1-6 átomos de carbono, alqueno de 2-7 átomos de carbono, alquino de 2-7 átomos de carbono,  $-(\text{CR}^3\text{R}^4)_i\text{OR}^{10}$ ,  $-\text{CF}_3$ ,  $-\text{F}$ ;

$R^8$  y  $R^9$  son cada uno, independientemente, hidrógeno, alquilo de 1-6 átomos de carbono,  $-(\text{CR}^3\text{R}^4)_i\text{OR}^{10}$ , o  $R^8$  y  $R^9$  se pueden tomar conjuntamente formando X;

10  $R^{10}$  es hidrógeno, alquilo de 1-6 átomos de carbono, alqueno de 2-7 átomos de carbono, alquino de 2-7 átomos de carbono, tri-(alquilo de 1-6 átomos de carbono)sililo, tri-(alquilo de 1-6 átomos de carbono)sililetilo, trifenilmetilo, bencilo, alcoximetilo de 2-7 átomos de carbono, tri-(alquilo de 1-6 átomos de carbono)sililetoximetilo, cloroetilo o tetrahidropiraniolo;

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

y

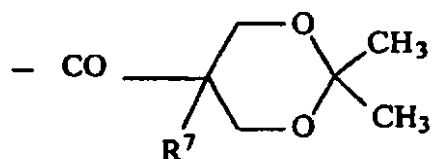
f = 0-6

con la condición de que  $R^1$  o bien  $R^2$  contenga al menos un  $-(\text{CR}^3\text{R}^4)_i\text{OR}^{10}$  o X, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

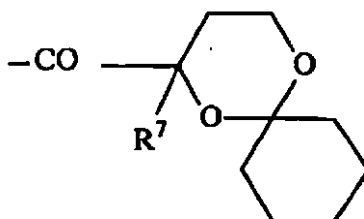
20 Las sales farmacéuticamente aceptables son aquellas derivadas de dichos cationes inorgánicos, tales como sodio, potasio y similares; y bases orgánicas tales como: mono-, di- y trialquil aminas de 1-6 átomos de carbono, por grupo alquilo y mono-, di- y trihidroxialquil aminas de 1-6 átomos de carbono por grupo alquilo, y similares.

25 Los términos alquilo de 1-6 átomos de carbono, alqueno de 2-7 átomos de carbono, y alquino de 2-7 átomos de carbono, incluyen tanto cadena lineal como cadenas de carbono ramificadas. Como los compuestos de esta invención pueden contener más de un grupo  $-(\text{CR}^3\text{R}^4)_i\text{OR}^{10}$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ , f y  $R^{10}$  pueden ser iguales o diferentes. De forma similar, cuando se repiten otras descripciones de sustituyentes genéricas en la misma estructura, éstos pueden ser iguales o diferentes.

30 Para un compuesto en el que  $R^1$  contiene  $R^8$  y  $R^9$  tomados conjuntamente formando X, en el que X es 5-(2,2-di-(alquilo de 1-6 átomos de carbono))[1,3] dioxanilo, el grupo alquilo de X contiene 1 átomo de carbono, y  $R^1$  tendrá la siguiente estructura.



De forma similar, para un compuesto en el que  $R^1$  contiene  $R^8$  y  $R^9$  tomados conjuntamente formando X, en el que X es 4-(2-espiro(cicloalquilo de 3-8 átomos de carbono))[1,3] dioxanilo, el grupo cicloalquilo de X contiene 6 átomos de carbono, y d = 0,  $R^1$  tendría la siguiente estructura.



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

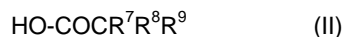
5 Cuando R<sup>10</sup> no es hidrógeno, alquilo, alqueno ni alquino, se desea que R<sup>10</sup> sea un grupo que pueda servir como un grupo protector de alcohol. Así, estos grupos son intermedios de compuestos hidroxilados libres, además de ser biológicamente activos por sí mismos. R<sup>10</sup> cubre los grupos tri-(alquilo de 1-6 átomos de carbono)sililo, tri-(alquilo de 1-6 átomos de carbono)sililetilo, trifenilmetilo, bencilo, alcoximetilo de 2-7 átomos de carbono, tri-(alquilo de 1-6 átomos de carbono)sililetoximetilo, cloroetilo y tetrahidropirano. Los expertos en la técnica conocen otros grupos protectores de alcohol y también se consideran parte de esta invención.

10 Los compuestos de esta invención que tienen el grupo éster -COCR<sup>7</sup>R<sup>8</sup>R<sup>9</sup> en las posiciones 31, 42 se pueden preparar por acilación de la rapamicina usando ácidos hidroxilo y polihidroxilo protegidos, ácidos alcoxi o polialcoxi carboxílicos que se han activado, seguido de la retirada de los grupos protectores de alcohol, si así se desea. En la técnica se conocen varios procedimientos para la activación de carboxilato, pero los procedimientos preferidos utilizan carbodiimidas, anhídridos mixtos, o cloruros de ácido. Por ejemplo, un ácido carboxílico apropiadamente sustituido se puede activar como un anhídrido mixto, con un grupo de acilación tal como cloruro de 2,4,6-triclorobenzoilo. El Tratamiento de rapamicina con el anhídrido mixto bajo condición levemente básica proporciona los compuestos deseados. De forma alternativa, la reacción de acilación se puede llevar a cabo con clorhidrato de 15 1-(3-dimetilamino-propil)-3-etilcarbodiimida y dimetilaminopiridina. Las mezclas de ésteres 42 y 31, 42 se pueden separar por cromatografía.

En consecuencia, la invención también proporciona un procedimiento para preparar los compuestos de rapamicina de esta invención. En concreto, esta invención proporciona un procedimiento para preparar hidroxilo ésteres de rapamicina que incluyen los de la fórmula I, como se define anteriormente, que comprende:

- 20 a) acilar rapamicina con un agente de acilación;  
o  
b) acilar secuencialmente rapamicina con dos agentes de acilación;

seleccionando dicho(s) agente(s) de acilación a partir de ácidos de fórmula



25 o un derivado reactivo de los mismos, en la que R<sup>7</sup>-R<sup>9</sup> son como se definen anteriormente con la condición de que los grupos hidroxilo libres estén protegidos; protegiendo si se desea la posición 42 de rapamicina con un grupo protector adecuado y retirando después de la reacción cualquier grupo protector presente, según se requiera.

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

35 Los compuestos de 31-éster-42-hidroxilo de esta invención se pueden preparar protegiendo el alcohol 42 de rapamicina con un grupo protector, tal como con un grupo terc-butil dimetilsilil, seguido de la esterificación de la posición 31 por los procedimientos descritos anteriormente. La preparación de 42-silil éteres de rapamicina se describe en la patente de los EE. UU. n.º B1 5.120.842, que se incorpora en el presente documento por referencia. La retirada del grupo protector proporciona los compuestos esterificados en la posición 31. En el caso del grupo protector terc-butil dimetilsilil, la desprotección se puede llevar a cabo bajo condiciones levemente ácidas, tal como ácido acético / agua / THF. El procedimiento de desprotección se describe en el ejemplo 15 de la patente de los EE. UU. 5.118.678, que se incorpora en el presente documento por referencia

40 Con la posición 31 esterificada y la posición 42 desprotegida, la posición 42 se puede esterificar usando un agente de acilación diferente del que se hace reaccionar con el alcohol 31, para dar compuestos que tienen ésteres diferentes en las posiciones 31 y 42. De forma alternativa, los compuestos esterificados en la posición 42, preparados como se describe anteriormente, se pueden hacer reaccionar con un agente de acilación diferente para proporcionar compuestos que tienen ésteres diferentes en las posiciones 31 y 42.

45 La actividad inmunodepresora para los compuestos representativos de esta invención se evaluó en un procedimiento de prueba farmacológico estándar *in vitro* para medir la inhibición de la proliferación de linfocitos (LAF) y en dos procedimientos de prueba farmacológica estándar *in vivo*. El procedimiento de prueba de injerto de piel de pellizco mide la actividad inmunodepresora del compuesto sometido a prueba así como la capacidad del compuesto sometido a prueba para inhibir o tratar el rechazo del trasplante. El procedimiento de prueba farmacológica estándar de artritis coadyuvante, que mide la capacidad del compuesto sometido a prueba para inhibir la inflamación mediada por el sistema inmunitario. El procedimiento de prueba de artritis coadyuvante es un procedimiento de prueba farmacológica estándar para la artritis reumatoide. Los procedimientos para estos procedimientos de prueba farmacológica estándar se proporcionan a continuación.

El procedimiento de proliferación de timocitos inducida por comitógenos (LAF) se usó como una medida *in vitro* de los

efectos inmunodepresores de los compuestos representativos. En resumen, las células del timo de ratones BALB/c normales se cultivan durante 72 horas con PHA e IL-1 y se sometieron a pulsos con timidina tritiada durante las últimas seis horas. Las células se cultivan con y sin diferentes concentraciones de rapamicina, ciclosporina A o compuesto de prueba. Las células se cosechan y se determina la radiactividad incorporada. La inhibición de la linfoproliferación se evalúa como el cambio en porcentaje en los recuentos por minuto de controles no tratados con fármaco. Para cada compuesto evaluado, también se evaluó la rapamicina con el propósito de comparación. Se obtuvo una  $CI_{50}$  para cada compuesto de prueba así como para rapamicina. Cuando se evaluó como un comparador para los compuestos representativos de esta invención, la rapamicina tuvo una  $CI_{50}$  que oscilaba desde 0,6 - 1,5 nM. Los resultados obtenidos se proporcionan como una  $CI_{50}$  y como el porcentaje de inhibición de proliferación de linfocitos T a 0,1  $\mu$ M. Los resultados obtenidos para los compuestos representativos de esta invención también se expresan como una proporción en comparación con rapamicina. Una proporción positiva indica actividad inmunodepresora. Una proporción de más de 1 indica que el compuesto de prueba inhibió la proliferación de timocitos en mayor medida que rapamicina. El cálculo de la proporción se muestra a continuación.

$$CI_{50} \text{ de rapamicina}$$


---


$$CI_{50} \text{ de compuesto de prueba}$$

Los compuestos representativos de esta invención también se evaluaron en un procedimiento de prueba *in vivo* diseñado para determinar el tiempo de supervivencia de injerto de piel de pellizco de donantes BALB/c machos trasplantados a receptores C<sub>3</sub>H(H-2K) machos. El procedimiento se adapta de Billingham R.E. y Medawar P.B., J. Exp. Biol. 28:385-402, (1951). En resumen, un injerto de piel de pellizco del donante se injertó sobre el dorso del receptor como un aloinjerto, y se usó un isoinjerto como control en la misma región. Los receptores se trataron con concentraciones variables de los compuestos de prueba por vía intraperitoneal o bien por vía oral. Se usó rapamicina como control de prueba. Los receptores no tratados sirven como control del rechazo. El injerto se monitorizó diariamente y se registraron las observaciones hasta que el injerto se volvió seco y se formó una contra ennegrecida. Esto se consideró como el día de rechazo. El tiempo de supervivencia de injerto medio (número de días  $\pm$  D.E.) del grupo de tratamiento con fármaco se comparó con el grupo de control. La tabla siguiente muestra los resultados que se obtuvieron. Los resultados se expresan como el tiempo de supervivencia medio en días. Los injertos de piel de pellizco no tratados (control) se rechazan normalmente dentro de 6-7 días. Los compuestos se sometieron a prueba usando una dosis de 4 mg/kg.

El procedimiento de prueba farmacológica estándar de artritis coadyuvante mide la capacidad de los compuestos de prueba para prevenir la inflamación mediada por el sistema inmunitario e inhibir o tratar la artritis reumatoide. Lo siguiente describe brevemente el procedimiento de prueba usado. Se trató previamente un grupo de ratas (ratas de Lewis y Wistar endogámicas macho) con el compuesto que se va a probar (1 h antes del antígeno) y después se inyectaron con coadyuvante completo de Freud (FCA) en la pata trasera derecha para inducir artritis. Después, se dosifican por vía oral las ratas con una pauta de administración de lunes, miércoles, viernes desde el día 0-14 durante un total de 7 dosis. Se miden ambas patas traseras los días 16, 23 y 30. Se determina la diferencia en el volumen de la pata (ml) del día 16 al día 0 y se obtiene un cambio en porcentaje frente al control. La inflamación de la pata trasera izquierda (pata no inyectada) está provocada por inflamación mediada por linfocitos T y se registra en la tabla anterior (% de cambio frente al control). La inflamación de la pata trasera derecha, por otra parte, está provocada por una inflamación no específica. Se sometieron a prueba los compuestos a una dosis de 5 mg/kg. Los resultados se expresan como el cambio en porcentaje en la pata no inyectada el día 16 frente al control; cuanto más negativo sea el cambio en porcentaje, más potente es el compuesto. La rapamicina proporcionó entre un -70 % y -90 % de cambio frente al control, lo que indica que las ratas tratadas con rapamicina tuvieron entre un 70-90 % menos inflamación inducida por el sistema inmunitario que las ratas de control.

Los resultados obtenidos en estos procedimientos de prueba farmacológica estándar se proporcionan siguiendo el procedimiento para preparar los compuestos específicos que se probaron.

Los resultados de estos procedimientos de prueba farmacológica estándar demuestran la actividad inmunosupresora tanto *in vitro* como *in vivo* para los compuestos de esta invención. Los resultados obtenidos en el procedimiento de prueba de LAF indican la supresión de proliferación de linfocitos T, demostrando de este modo la actividad inmunosupresora de los compuestos de esta invención. La demostración adicional de la utilidad de los compuestos de esta invención como agentes inmunosupresores se demostró por los resultados obtenidos en los procedimientos de prueba farmacológica estándar de injerto de piel y artritis coadyuvante. Adicionalmente, los resultados obtenidos en el procedimiento de prueba de injerto de piel demuestran además la capacidad de los compuestos de esta invención para tratar o inhibir el rechazo de trasplante. Los resultados obtenidos en el procedimiento de prueba farmacológica estándar de artritis coadyuvante demuestran además la capacidad de los compuestos de esta invención para tratar o inhibir la artritis reumatoide.

En base a los resultados de estos procedimientos de prueba farmacológica estándar, los compuestos son útiles en el tratamiento o la inhibición de rechazo de trasplante, tal como aloinjertos de riñón, corazón, hígado, pulmón, médula ósea, páncreas (islotos pancreáticos), córnea, intestino delgado y piel, y xenoinjertos de válvulas cardíacas; en el tratamiento o la inhibición de enfermedades autoinmunitarias tales como lupus, artritis reumatoide, diabetes mellitus,

miastenia gravis, y esclerosis múltiple; y enfermedades de inflamación tales como psoriasis, dermatitis, eccema, seborrea, enfermedad inflamatoria intestinal, inflamación pulmonar (incluyendo asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfisema, síndrome de dificultad respiratoria aguda, bronquitis y similares), y uveítis del ojo.

Debido al perfil de actividad obtenido, los compuestos de esta invención también se considera que tienen actividades antitumorales, antifúngicas, y actividades antiproliferativas. Por lo tanto, los compuestos de esta invención también son útiles en el tratamiento de tumores sólidos, leucemia/linfoma de linfocitos T en adultos, infecciones fúngicas y enfermedades vasculares hiperproliferativas, tales como reestenosis y aterosclerosis. Cuando se usa para reestenosis, se prefiere que los compuestos de esta invención se usen para tratar la reestenosis que se produce después de un procedimiento de angioplastia. Cuando se usa para este propósito, los compuestos de esta invención se pueden administrar antes del procedimiento, durante el procedimiento, después del procedimiento, o cualquier combinación de los anteriores.

Cuando se administra para el tratamiento o la inhibición de los estados de enfermedad anteriores, los compuestos de esta invención se pueden administrar a un mamífero por vía oral, parenteral, intranasal, intrabronquial, transdérmica, tópica, intravaginal o rectal.

Se contempla que cuando los compuestos de esta invención se usan como un agente inmunosupresor o antiinflamatorio, se pueden administrar conjuntamente con uno o más de otros agentes inmunorreguladores. Otros agentes inmunorreguladores incluyen, pero no se limitan a azatioprina, corticosteroides, tales como prednisona y metilprednisolona, ciclofosfamida, rapamicina, ciclosporina A, FK-506, OKT-3 y ATG. Combinando los compuestos de esta invención con dichos otros fármacos o agentes para inducir inmunosupresión o tratar afecciones inflamatorias, se requieren las menores cantidades de cada uno de los agentes para lograr el efecto deseado. Se estableció la base para este tratamiento de combinación por Stepkowski, cuyos resultados mostraron que el uso de una combinación de la rapamicina y ciclosporina A en dosis subterapéuticas prolongaba significativamente el tiempo de supervivencia de aloinjertos de corazón. [Transplantation Proc. 23: 507 (1991)].

Los compuestos de esta invención se pueden formular puros o con un vehículo farmacéutico a un mamífero que lo necesite. El vehículo farmacéutico puede ser sólido o líquido. Cuando se formulan por vía oral, se ha encontrado que un 0,01% de Tween 80 en PHOSAL PG-50 (concentrado de fosfolípido con 1,2-propilenglicol, A. Nattermann y Cie. GmbH) proporciona una formulación oral aceptable.

Un vehículo sólido puede incluir una o más sustancias que también pueden actuar como agentes aromatizantes, lubricantes, solubilizantes, agentes de suspensión, cargas, deslizantes, coadyuvantes de compresión, aglutinantes o agentes disgregantes de comprimidos; también puede ser un material encapsulante. En polvos, el vehículo es un sólido finamente dividido que está mezclado con el ingrediente activo finamente dividido. En comprimidos, el ingrediente activo se mezcla con un vehículo que tiene las propiedades de compresión necesarias en proporciones adecuadas y se compacta en la forma y el tamaño deseados. Los polvos y los comprimidos contienen preferentemente hasta un 99% del ingrediente activo. Los vehículos sólidos adecuados incluyen, por ejemplo, fosfato de calcio, estearato de magnesio, talco, azúcares, lactosa, dextrina, almidón, gelatina, celulosa, metilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, polivinilpirrolidina, ceras de bajo punto de fusión y resinas de intercambio iónico.

Se usan vehículos líquidos para preparar soluciones, suspensiones, emulsiones, jarabes, elixires y composiciones presurizadas. El ingrediente activo se puede disolver o suspender en un vehículo líquido farmacéuticamente aceptable tal como agua, un disolvente orgánico, una mezcla de ambos o aceites o grasas farmacéuticamente aceptables. El vehículo líquido puede contener otros aditivos farmacéuticamente adecuados, tales como solubilizantes, emulsionantes, tampones, conservantes, edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes de suspensión, agentes espesantes, colorantes, reguladores de la viscosidad, estabilizantes u osmorreguladores. Los ejemplos adecuados de vehículos líquidos para administración oral y parenteral incluyen agua (que contiene parcialmente aditivos como los anteriores, por ejemplo, derivados de celulosa, preferentemente solución de carboximetilcelulosa de sodio), alcoholes (incluidos alcoholes monohídricos y alcoholes polihídricos, por ejemplo glicoles) y sus derivados, y aceites (por ejemplo, aceite de coco fraccionado y aceite de cacahuete). Para administración parenteral, el vehículo también puede ser un éster oleoso, tal como oleato de etilo y miristato de isopropilo. En composiciones estériles para administración parenteral en forma líquida son útiles los vehículos líquidos estériles. El vehículo líquido para composiciones presurizadas puede ser hidrocarburo halogenado u otro propelente farmacéuticamente aceptable.

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

Los compuestos de esta invención se pueden administrar por vía rectal en forma de un supositorio convencional. Para administración por inhalación o insuflación intranasal o intrabronquial, los compuestos de esta invención se pueden formular en una solución acuosa o parcialmente acuosa que después se puede utilizar en forma de un aerosol. Los compuestos de esta invención también se pueden administrar por vía transdérmica mediante el uso de un parche transdérmico que contiene el compuesto activo y un vehículo que es inerte al compuesto activo, no es tóxico para la

piel y permite la administración del agente por absorción sistémica en el torrente sanguíneo a través de la piel. El vehículo puede tomar muchas formas, tales como cremas y pomadas, pastas, geles y dispositivos oclusivos. Las cremas y pomadas pueden ser líquidos viscosos o emulsiones semisólidas de tipo aceite en agua o bien de agua en aceite. También pueden ser adecuadas pastas que comprenden polvos absorbentes dispersados en petróleo o petróleo hidrófilo que contienen el ingrediente activo. Se puede usar una variedad de dispositivos oclusivos para liberar el ingrediente activo en el torrente sanguíneo, tales como una membrana semipermeable que cubre un depósito que contiene el ingrediente activo con o sin un vehículo o una matriz que contiene el ingrediente activo. Se conocen otros dispositivos oclusivos en la literatura.

Además, los compuestos de esta invención se pueden emplear en forma de solución, crema o loción por formulación con vehículos farmacéuticamente aceptables que contienen un 0,1 – 5 por ciento, preferentemente un 2%, de compuesto activo que se pueden administrar a una zona afectada de forma fúngica.

Los requerimientos de dosificación varían con las composiciones particulares empleadas, la vía de administración, la gravedad de los síntomas presentados y el sujeto particular que se está tratando. En base a los resultados obtenidos en los procedimientos de prueba farmacológica estándar, las dosificaciones planeadas diariamente del compuesto activo serían de 0,1 µg/kg - 100 mg/kg, preferentemente entre 0,001 - 25 mg/kg, y más preferentemente entre 0,01 - 5 mg/kg. En general, el tratamiento se iniciará con dosis pequeñas inferiores a la dosis óptima del compuesto. Posteriormente la dosificación se incrementa hasta que se logra el efecto óptimo en las circunstancias; las dosificaciones precisas para administración oral, parenteral, nasal o intrabronquial se determinarán por el médico administrador de acuerdo con la experiencia con el sujeto individual tratado. Preferentemente, la composición farmacéutica está en forma de dosis unitaria, por ejemplo, comprimidos o cápsulas. En esta forma, la composición se subdivide en una dosis unitaria que contiene las cantidades apropiadas del ingrediente activo; las formas de dosificación unitaria pueden ser composiciones envasadas, por ejemplo, polvos envasados, viales, ampollas, jeringuillas precargadas o sobrecitos que contienen líquidos. La forma de dosificación unitaria puede ser, por ejemplo, una cápsula o comprimido en sí mismo, o puede ser el número apropiado de cualquiera de tales composiciones en forma de envase.

Los siguientes ejemplos ilustran la preparación y las actividades biológicas de compuestos representativos de esta invención. El ejemplo 1A es un ejemplo de referencia.

### Ejemplo 1

#### 31,42-diéster de rapamicina con ácido 2,2-dimetil[1,3]dioxalano-4-carboxílico

Se añadió cloruro de 2,4,6-triclorobenzoílo (0,56 ml, 3,61 mmol) por medio de una jeringuilla a una solución de isopropiliden cetal del ácido 2,3-dihidroxiopropiónico (0,527 g, 3,61 mmol) y trietilamina (0,50 ml, 3,61 mmol) en 10 ml de THF a 0 °C en nitrógeno. Se agitó la mezcla 4 h a temperatura ambiente. Se retiró el precipitado blanco por filtración a vacío y se concentró el filtrado con una corriente de nitrógeno y baño de agua templada. Se disolvió el residuo en 15 ml de benceno y rapamicina (3,00 g, 3,28 mmol), después se añadió DMAP (0,441 g, 3,61 mmol) y se agitó la mezcla durante toda una noche a temperatura ambiente. Se diluyó la mezcla con EtOAc, se lavó con HCl (ac) 1N frío, solución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (ac) y salmuera, se secó sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró hasta una espuma amarilla. Cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (elución por gradiente: 50-60-75-100 % de EtOAc-hexano, 4X con un 65% de EtOAc-hexano) proporcionó el compuesto del título y 42-éster de rapamicina con ácido 2,2-dimetil[1,3]dioxalano-4-carboxílico. El compuesto del título de 31,42-diéster menos polar (0,415 g) se eluyó en primer lugar y el 42-monoéster más polar (0,601 g, 16%) se eluyó en segundo lugar, y se aislaron como sólido blanco.

(-)FAB-EM  $m/z$  1169,6 (M<sup>+</sup>).

RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, d-6 DMSO) δ 5,3 (m, 1 H, C(31)H), 4,6 (m, 1 H, C(42)H), 4,6 (m, 2 H), 4,19 (t, 1 H), 4,13 (t, 1 H), 3,9 (m, 2 H), 1,36 (s, 3 H), 1,33 (s, 3 H), 1,30 (s, 3 H), 1,28 (s, 3 H).

RMN de <sup>13</sup>C (100,6 MHz, d-6 DMSO) δ 170,5, 169,2, 110,3, 110,2, 73,4, 66,6, 66,5, 25,8, 25,7, 25,4, 25,1.

Resultados obtenidos en procedimientos de prueba farmacológica estándar:

LAF Cl<sub>50</sub>: 1,30 nM

Proporción de LAF: 0,5

### Ejemplo de referencia 1A

#### 42-éster de rapamicina con ácido 2,3-dihidroxiopropiónico

Se agitó una solución del subproducto de 42-monoéster del ejemplo 1 (351 mg, 0,34 mmol) en 10 ml de THF y 10 ml de HCl 1N a temperatura ambiente durante 6 h. Se diluyó la mezcla con EtOAc, se lavó con solución saturada de NaHCO<sub>3</sub> y salmuera, se secó sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró a un aceite. La cromatografía ultrarrápida (1X con EtOAc, 1X con un 10% de MeOH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 1X con un 5% de MeOH-EtOAc) proporcionó el compuesto del título (78 mg, 23 %)

como un sólido blanco. (-)FAB-MS  $m/z$  1001,2 (M-), 590,2 (fragmento sur), 409,1 (fragmento norte).

RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz, d-6 DMSO)  $\delta$  4,5 (m, 1 H, C(42)H), 3,60 (m, 1 H), 3,45 (m, 2 H).

Resultados obtenidos en procedimientos de prueba farmacológica estándar:

LAF  $\text{CI}_{50}$ : 1,4 nM

5 Proporción de LAF: 0,40

## Ejemplo 2

### 31,42-diéster de rapamicina con ácido 3-metil-1,5-dioxa-espiro[5,5]undecano-3-carboxílico

10 Se añadió cloruro de 2,4,6-triclorobenzoílo (0,16 ml, 1,0 mmol) por medio de una jeringuilla a una solución de ciclohexiliden cetal del ácido 2,3-dihidroxiopropiónico (0,214 g, 1,0 mmol) y trietilamina (0,14 ml, 1,0 mmol) en 2,5 ml de THF a 0 °C en nitrógeno. Se agitó la mezcla 4 h a temperatura ambiente. Se retiró el precipitado blanco por filtración a vacío y se concentró el filtrado con una corriente de nitrógeno y baño de agua templada. Se disolvió el residuo en 3 ml de benceno y rapamicina (0,457 g, 0,5 mmol), después se añadió DMAP (0,061 g, 0,5 mmol) y se agitó la mezcla durante toda una noche a temperatura ambiente. Se diluyó la mezcla con EtOAc, se lavó con HCl (ac) 1N frío, solución saturada de  $\text{NaHCO}_3$  (ac) y salmuera, se secó sobre  $\text{MgSO}_4$ , se filtró y se concentró hasta una espuma amarilla. La cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (45-50 % de EtOAc-hexano) proporcionó el compuesto del título y 42-éster de rapamicina con ácido 3-metil-1,5-dioxa-espiro[5,5]undecano-3-carboxílico. El compuesto del título de 31,42-diéster (0,168 g, 26 %) se eluyó en primer lugar y el 42-monoéster más polar (0,301 g, 52 %) se eluyó en segundo lugar, y se aislaron los productos como sólidos blanco.

(-)FAB-EM  $m/z$  1305,6 (M-).

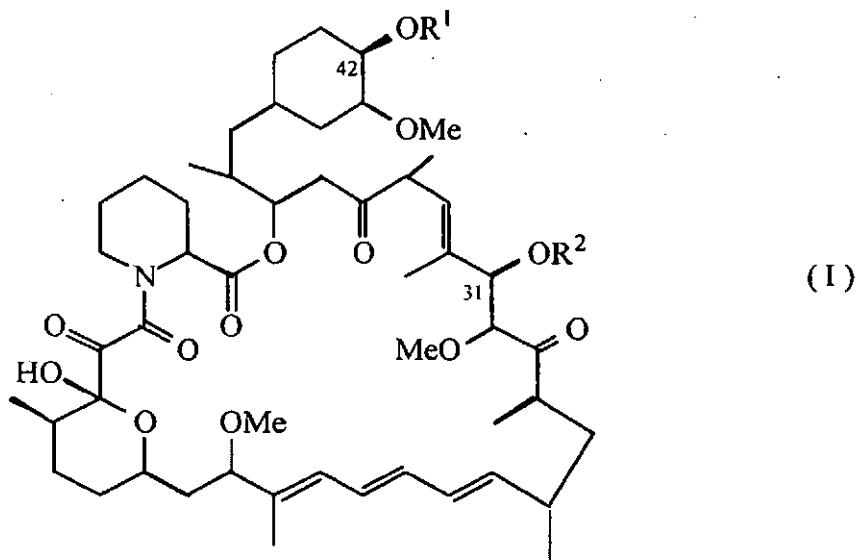
20 RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz, d-6 DMSO)  $\delta$  5,25 (m, 1 H, C(31)H), 4,55 (m, 1 H, C(42)H), 3,64-3,54 (m, 8 H), 1,05 (s, 3 H), 0,97 (s, 3 H). RMN de  $^{13}\text{C}$  (100,6 MHz, d-6 DMSO)  $\delta$  173,2, 172,1, 97,3, 97,2, 64,3, 64,2, 63,9.

Resultados obtenidos en procedimientos de prueba farmacológica estándar: LAF: inhibió la proliferación de linfocitos T en un 43 % a 0,1  $\mu\text{M}$ .



REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la estructura



en la que  $R^1$  es hidrógeno o  $-COCR^7R^8R^9$  y  $R^2$  es  $-COCR^7R^8R^9$ ;

5  $R^3$  y  $R^1$  son cada uno, independientemente, hidrógeno, alquilo de 1-6 átomos de carbono, alquenilo de 2-7 átomos de carbono, alquinilo de 2-7 átomos de carbono, trifluorometilo, o -F;

$R^7$  es hidrógeno, alquilo de 1-6 átomos de carbono, alquenilo de 2-7 átomos de carbono, alquinilo de 2-7 átomos de carbono,  $-(CR^3R^4)_fOR^{10}$ ,  $-CF_3$  o -F;

10  $R^8$  y  $R^9$  son cada uno, independientemente, hidrógeno, alquilo de 1-6 átomos de carbono,  $-(CR^3R^4)_iOR^{10}$ , o  $R^8$  y  $R^9$  se pueden tomar conjuntamente formando X;

15  $R^{10}$  es hidrógeno, alquilo de 1-6 átomos de carbono, alquenilo de 2-7 átomos de carbono, alquinilo de 2-7 átomos de carbono, tri-(alquilo de 1-6 átomos de carbono)sililo, tri-(alquilo de 1-6 átomos de carbono)sililetilo, trifenilmetilo, bencilo, alcoximetilo de 2-7 átomos de carbono, tri-(alquilo de 1-6 átomos de carbono)sililetoximetilo, cloroetilo, o tetrahidropiraniolo; X es 5-(2,2-di-(alquilo de 1-6 átomos de carbono))[1,3]dioxanilo, 5-(2-espiro(cicloalquilo de 3-8 átomos de carbono))[1,3] dioxanilo, 4-(2,2-di-(alquilo de 1-6 átomos de carbono))[1,3]dioxanilo, 4-(2-espiro(cicloalquilo de 3-8 átomos de carbono))[1,3]dioxanilo, 4-(2,2-di-(alquilo de 1-6 átomos de carbono))[1,3]dioxalanilo, o 4-(2-espiro(cicloalquilo de 3-8 átomos de carbono))[1,3]dioxalanilo;

y

20  $f = 0-6$

con la condición de que  $R^1$  o bien  $R^2$  contenga al menos un  $-(CR^3R^4)_iOR^{10}$  o X, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. El compuesto de la reivindicación 1, que es 31,42-diéster de rapamicina con ácido 2,2-dimetil[1,3]dioxalano-4-carboxílico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

25 3. El compuesto de la reivindicación 1, que es 31,42-diéster de rapamicina con ácido 3-metil-1,5-dioxa-espiro[5,5]undecano-3-carboxílico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

4. Uso de un compuesto como se reivindica en la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la preparación de un medicamento para tratar el rechazo de trasplante o la enfermedad de injerto contra huésped en un mamífero.

30 5. Uso de un compuesto como se reivindica en la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la preparación de un medicamento para tratar una infección fúngica en un mamífero.

6. Uso de un compuesto como se reivindica en la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

en la preparación de un medicamento para tratar la artritis reumatoide en un mamífero.

7. Uso de un compuesto como se reivindica en la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la preparación de un medicamento para tratar la reestenosis en un mamífero.
- 5 8. Uso de un compuesto como se reivindica en la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la preparación de un medicamento para tratar una inflamación pulmonar en un mamífero.
9. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto como se reivindica en la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo farmacéutico.
10. Un procedimiento para preparar hidroxí ésteres de fórmula I, como se define en la reivindicación 1, que comprende:
- a) acilar rapamicina con un agente de acilación;
- 10 o
- b) acilar secuencialmente rapamicina con dos agentes de acilación; siendo seleccionando(s) dicho(s) agente(s) de acilación a partir de ácidos de fórmula
- $$\text{HO-COCR}^7\text{R}^8\text{R}^9 \quad (\text{II})$$
- 15 o un derivado reactivo de los mismos, en el que  $\text{R}^7\text{-R}^9$  son como se definen en la reivindicación 1, con la condición de que los grupos hidroxilo libres estén protegidos; protegiendo si se desea la posición 42 de rapamicina con un grupo protector adecuado y retirando después de la reacción cualquier grupo protector presente, según se requiera.