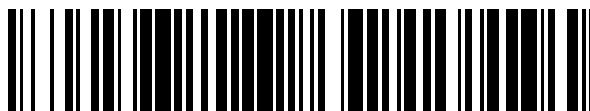


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 391 653**

51 Int. Cl.:
C07H 17/00 (2006.01)
A61K 31/7042 (2006.01)
A61P 19/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **06842454 .8**
96 Fecha de presentación: **12.12.2006**
97 Número de publicación de la solicitud: **2102226**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **23.09.2009**

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

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
28.11.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
28.11.2012

73 Titular/es:
ZAMBON S.P.A. (100.0%)
VIA LILLO DEL DUCA, 10
20091 BRESSO MI, IT

72 Inventor/es:
MEREU, ANDREA;
MORIGGI, ERMANNO;
NAPOLETANO, MAURO y
PELLACINI, FRANCO

74 Agente/Representante:
CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 391 653 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 macrólidos con actividad antiinflamatoria y, más concretamente, se refiere a 3'-amida cetólidos con actividad antiinflamatoria, a sus sales farmacéuticamente aceptables y a las composiciones farmacéuticas que los contienen como principio activo. Se sabe que diversos antibióticos, en particular la clase de macrólidos de 14 átomos basados en eritromicina, están dotados de propiedades antiinflamatorias además de su actividad antibacteriana [*Clin. Immunother.*, (1996), 6, 454-464].

10 La eritromicina es un macrólido natural (The Merck Index, 13ª edición, nº 3714, página 654) que ha demostrado una utilización clínica muy amplia en el tratamiento de las infecciones producidas por bacterias Gram-positivas, unas pocas bacterias Gram-negativas o micoplasmas.

15 El interés de la comunidad científica se ha desplazado recientemente hacia las actividades inmunomoduladoras y antiinflamatorias de la eritromicina y sus derivados [*Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, (1998), 41, Supl. B, 37-46].

20 Se ha descubierto que los macrólidos son eficaces en el tratamiento de patologías inflamatorias tales como la panbronquiolitis [*Thorax*, (1997), 52, 915-918], el asma bronquial [*Chest*, (1991), 99, 670-673] y la fibrosis quística [*The Lancet*, (1998), 351, 420].

25 La actividad *in vitro* de los macrólidos se encontró que era específicamente eficaz en la modulación de las funciones metabólicas de numerosas células del sistema inmunitario tales como los neutrófilos [*The Journal of Immunology*, (1997), 159, 3395-4005] y los linfocitos T [*Life Sciences*, (1992), 51, PL 231-236] y en la modulación de mediadores de la inflamación tales como la interleucina-8 (IL8) [*Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, (1997), 156, 266-271] o la interleucina-5 (IL-5) [solicitudes de patentes EP 0 775 489 y EP 0 771 564 a nombre de Taisho Pharmaceutical Co., Ltd].

30 Los neutrófilos en particular son la primera estirpe celular incorporada en el sitio de la infección o de lesión de tejido en las primeras fases de una respuesta inflamatoria.

35 Una acumulación no fisiológica de neutrófilos en el tejido inflamado, su activación, la posterior liberación de proteasas y el aumento en la producción de metabolitos de oxígeno reactivo caracterizan unas pocas formas de respuesta inflamatoria que, más a menudo, degeneran en afecciones patológicas.

40 Por lo tanto, aunque los neutrófilos son esenciales en la defensa inmunitaria y en el proceso inflamatorio, se sabe que están implicados en patologías derivadas de la mayoría de las enfermedades inflamatorias crónicas y las lesiones isquémicas de reperfusión (Inflammation and fever; Viera 'Stvrtinová, Jan Jakubovsky e Ivan Hùlin, Academic Electronic Press, 1995).

45 El mismo artículo da a conocer patologías para las que se confirma la influencia de la alteración de la funcionalidad de los neutrófilos durante su génesis y/o desarrollo: entre ellas, se hace mención de la aterosclerosis, lesión por reperfusión isquémica, artritis reumatoide, psoriasis, vasculitis y glomerulonefritis autoinmunitaria, enfermedad de Crohn e inflamaciones pulmonares crónicas tales como ARDS (síndrome disneico agudo del adulto).

50 La COPD (neumopatía obstructiva crónica) es una patología crónica caracterizada por la inflamación y la destrucción gradual del tejido pulmonar causada por la presencia masiva de neutrófilos activados con la consiguiente liberación de metaloproteasas y un aumento en la producción de radicales de oxígeno [*Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1996, 153, 530-534] [*Chest*, 2000, 117 (2 Supl.), 10S-14S].

55 La administración de macrólidos a individuos asmáticos está acompañada por una reducción de la hipersecreción y de la hipersensibilidad bronquial consiguiente a su interacción antioxidante y antiinflamatoria con fagocitos y en particular con neutrófilos; esta interacción se cree que impide a muchos lípidos bioactivos, que participan en la patogenia del asma bronquial, que lleven a cabo su actividad proinflamatoria desestabilizadora de la membrana (Inflammation, vol. 20, nº 6, 1996).

60 El tratamiento con eritromicina a bajas dosis, durante períodos prolongados, se describe que es eficaz en la reducción de la hipersensibilidad bronquial en el caso de los asmáticos (Miyatake H. *et al. Chest*, 1991, 99, 670-673, ya citado).

65 En otro estudio, se demuestra que el mismo tratamiento, en el caso de los pacientes con COPD, puede reducir significativamente la frecuencia y el riesgo de empeoramiento causado por infecciones respiratorias agudas (*CHEST* 2001, 120, 730-733).

Los resultados obtenidos no son atribuibles a la actividad antibiótica de los macrólidos, sino a la inhibición de la

expresión y la liberación de citocinas inflamatorias.

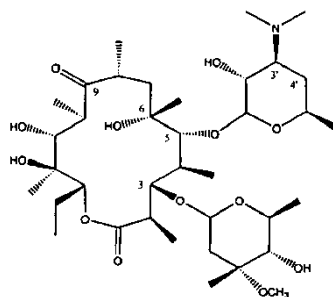
Este tratamiento, según el artículo mencionado anteriormente, debe restringirse preferentemente a pacientes con alto riesgo de empeoramiento de COPD debido al riesgo potencial de desarrollo de cepas patógenas resistentes.

La particular eficacia terapéutica de los macrólidos en patologías en las que los fármacos antiinflamatorios convencionales, por ejemplo los corticosteroides, han demostrado ser ineficaces [*Thorax*, (1997), 52, 915-918, mencionado anteriormente] justifica el interés apreciable en lo que respecta a esta nueva clase potencial antiinflamatorios.

Sin embargo, que los macrólidos ordinarios tengan una potente actividad antibacteriana no permite su utilización ampliada al tratamiento crónico de procesos inflamatorios no producidos por microorganismos patógenos, y puede deberse a que puede dar lugar al rápido desarrollo de cepas resistentes.

Por tanto, sería deseable disponer de nuevas sustancias con una estructura de macrólido que presenten actividad antiinflamatoria y que estén libres a la vez de las propiedades antibióticas.

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



En la bibliografía, se describen numerosas clases de derivados de eritromicina con actividad antibacteriana.

En particular, la telitromicina (The Merck Index, 13ª edición, nº 9199, página 1627) Es un derivado semisintético de la eritromicina A y es la primera molécula que pertenece a una nueva familia de agentes antibacterianos de amplio espectro estrechamente relacionados con los macrólidos, que son conocidos como cetólidos.

Se ha demostrado que la telitromicina inhibe la producción de citoquinas inflamatorias de la toxina Shiga monocitos humanos de sangre periférica estimulados por (Stx) [*Biochem. Biophys. Res. Commun.* 310, (2003), 1194-1199].

Además, la telitromicina tiene actividad inmunomoduladora, como resultado de la disminución de la producción de citocinas proinflamatorias por monocitos humanos [*Antimicrob. Agents Chemother.*, (2002), 46:10, págs. 3327-3330].

La telitromicina se utiliza como un tratamiento de segunda elección en infecciones extrahospitalarias mantenidas por cepas resistentes a la penicilina y resistentes a macrólidos, en particular por estreptococos del grupo A beta-hemolítico y también es activa contra bacterias intracelulares y atípicas.

La solicitud de patente WO 99/16779 a nombre de Abbott Laboratories da a conocer numerosas clases de cetólidos a base de eritromicina modificados en la posición 3' y sustituidos en 6-O, y sales y ésteres de los mismos, con actividad antibacteriana.

La bibliografía también da a conocer numerosas clases de derivados de eritromicina con actividad antiinflamatoria.

Por ejemplo, las solicitudes de patente europeas mencionadas anteriormente en nombre de Taisho reivindican derivados de eritromicina modificados en las posiciones 3, 9, 11 y 12, como potentes inhibidores de la síntesis de IL-5.

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

La solicitud de patente WO 00/42055 en nombre del presente solicitante da a conocer macrólidos de 3'-desdimetilamino-9-oxima dotados de actividad antiinflamatoria y sin actividad antibiótica.

La solicitud de patente WO 04/013153 en nombre del presente solicitante da a conocer derivados de macrólidos sin

cladinosa en la posición 3, que están dotadas de actividad antiinflamatoria.

La solicitud de patente WO 04/039821 en nombre del presente solicitante da a conocer 9a-azalidas sin cladinosa en la posición 3, que están dotados de actividad antiinflamatoria.

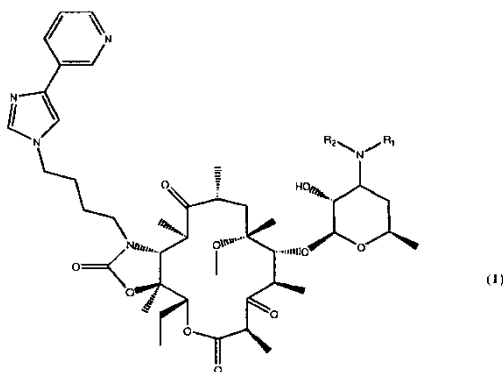
La solicitud de patente WO 2005/075494 en nombre del presente solicitante da a conocer derivados de eritromicina sin cladinosa en la posición 3, que están dotados de actividad anti-inflamatoria.

La solicitud de patente WO 2005/085266 da a conocer compuestos macrocíclicos útiles como agentes antiinfecciosos, antiproliferantes, antiinflamatorios y procinéticos.

Se ha descubierto, sorprendentemente, que los derivados de cetólidos estructuralmente modificados en el grupo dimetilamino en la posición 3' no tienen actividad antibacteriana y, al mismo tiempo, han declarado propiedades antiinflamatorias.

En particular, se ha descubierto, sorprendentemente, una nueva clase de derivados de telitromicina 3'-amida que están dotados de actividad antiinflamatoria y carecen sustancialmente de propiedades antibióticas.

Un objeto de la presente invención es por lo tanto los compuestos de fórmula

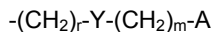


en la que

R₁ es un grupo -X-R₃ en el que

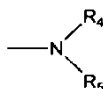
X es un grupo -C(=O)-, -C(=O)-NH- o -SO₂ y

R₃ es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo(C₁-C₁₀), un grupo alquilo(C₁-C₄)alcoxi(C₁-C₄), un grupo cicloalquilo (C₅-C₇), un fenilo, un heteroarilo seleccionado de entre pirrol, tiofeno, furano, imidazol, pirazol, tiazol, isotiazol, isoxazol, oxazol, piridina, pirazina, pirimidina, piridazina, triazol y tiadiazol, un grupo alquilo(C₁-C₄)fenilo o un grupo alquil(C₁-C₄) heteroarilo opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados de entre un grupo alquilo(C₁-C₄), un grupo alcoxi(C₁-C₄) y halógeno, o una cadena de fórmula



en la que

A es un fenilo o un heteroarilo seleccionado de entre pirrol, tiofeno, furano, imidazol, pirazol, tiazol, isotiazol, isoxazol, oxazol, piridina, pirazina, pirimidina, piridazina, triazol y tiadiazol, ambos opcionalmente sustituidos con 1 a 3 sustituyentes seleccionados de entre un grupo alquilo(C₁-C₄), un grupo alcoxi(C₁-C₄) y halógeno; o un grupo



en la que

R₄ y R₅, independientemente uno de otro, son un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo(C₁-C₆), un grupo bencilo, un grupo alcoxi(C₁-C₄)carbonilo o un grupo benciloxicarbonilo;

Y representa O, S o NR₆ en el que

R₆ es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo(C₁-C₃) lineal o ramificado, un grupo alcoxi(C₁-C₃)carbonilo

o un grupo benciloxicarbonilo;

r es un número entero entre 1 y 3;

5 m es un número entero entre 0 y 3;

R₂ es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo(C₁-C₆), un grupo bencilo o tiene los significados dados para el sustituyente R₁,

10 y sus sales farmacéuticamente aceptables.

Los compuestos de fórmula I son macrólidos antiinflamatorios libres de actividad antibiótica y por lo tanto son útiles en el tratamiento y la profilaxis de patologías inflamatorias.

15 Otro objeto de la presente invención es la utilización de un compuesto de fórmula I como medicamento, en particular en el tratamiento de patologías inflamatorias.

Se prefiere la utilización de un compuesto de fórmula I en la preparación de un medicamento para el tratamiento de patologías gastrointestinales de naturaleza inflamatoria, por ejemplo, colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn.

20 Los ejemplos específicos de grupos alquilo(C₁-C₁₀) son metilo, etilo, n-propilo, i-propilo, n-butilo, s-butilo, t-butilo, n-pentilo, 1-metilbutilo, 2-etilpropilo, 3-metilbutilo, 3-metil-2-butilo, n-hexilo, heptilo, octilo, nonilo, decilo y similares.

La expresión "grupo cicloalquilo(C₅-C₇)" significa ciclopentilo, ciclohexilo y cicloheptilo.

25 El término "halógeno" significa un átomo de flúor, cloro, bromo o yodo.

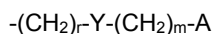
La expresión "heteroarilo de 5 ó 6 eslabones que contiene de 1 a 3 heteroátomos seleccionados de entre nitrógeno, oxígeno y azufre" significa heterociclos tales como pirrol, tiofeno, furano, imidazol, pirazol, tiazol, isotiazol, isoxazol, oxazol, piridina, pirazina, pirimidina, piridazina, triazol y tiadiazol.

35 Resulta evidente para los expertos en la materia que la sustitución con formas parcial o totalmente saturadas de los heteroarilos y también la presencia de otros sustituyentes en los anillos aromáticos (fenilo o heteroarilo) previstos en los significados de R₁ y R₂ da lugar a compuestos que no se apartan del espíritu de la invención.

Los compuestos preferidos de fórmula I son aquellos en los que R₁ tiene el significado dado en la fórmula I y R₂ es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo(C₁-C₆) o un grupo bencilo.

Dentro de este grupo, los compuestos en los que R₂ es un grupo alquilo(C₁-C₃) son aún más preferidos.

40 Los compuestos pertenecientes a este último grupo, que también son preferidos son aquellos en los que R₁ es un grupo -X-R₃ en el que X es un grupo -C(=O)-, -C(=O)-NH- o -SO₂- y R₃ es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo(C₁-C₆), un grupo alquilo(C₁-C₄)alcoxi(C₁-C₄), un grupo cicloalquilo(C₅-C₇), un fenilo, un heteroarilo de cinco o seis eslabones que contiene de uno a tres heteroátomos seleccionados de entre nitrógeno, oxígeno y azufre un grupo alquil(C₁-C₄)fenilo o un grupo alquil(C₁-C₄)heteroarilo opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados de entre un grupo alquilo(C₁-C₄), un grupo alcoxi(C₁-C₄) y halógeno, o una cadena de fórmula



50 en la que

A es un fenilo o un heteroarilo de cinco o seis eslabones que contiene de uno a tres heteroátomos seleccionados de entre nitrógeno, oxígeno y azufre, ambos opcionalmente sustituidos con 1 a 3 sustituyentes seleccionados de entre un alquilo(C₁-C₄), un grupo alcoxi(C₁-C₄) y halógeno, o un grupo



en la que

60 R₄ y R₅, independientemente uno del otro, son un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo(C₁-C₄) o un bencilo;

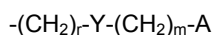
Y representa O, S o NR₆ en el que R₆ es un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo(C₁-C₃);

r es un número entero entre 1 y 3; y

m es un número entero entre 0 y 3.

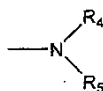
5 Dentro del alcance de este grupo, los compuestos que son aún más preferidos son aquellos en los que R₁ es un grupo -X-R₃ en el que R₃ es un alquilo(C₁-C₆); un grupo alquil(C₁-C₃)metoxi, un grupo cicloalquilo(C₅-C₇), un fenilo, un heteroarilo seleccionado de entre furano, tiofeno, oxazol y piridina, un grupo bencilo o alquil(C₁-C₄)heteroarilo opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados de entre un grupo alquilo(C₁-C₄), un grupo metoxi y halógeno, o una cadena de fórmula

10



en la que

15 A es un fenilo o un heteroarilo seleccionado de entre furano, tiofeno, oxazol y piridina, ambos opcionalmente sustituidos con un sustituyente seleccionado de entre un grupo alquilo(C₁-C₄), un grupo metoxi y halógeno; o un grupo:



20

en la que

R₄ y R₅, independientemente uno de otro, son un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo(C₁-C₄);

25 Y representa O, S o NR₆ en el que R₆ es un átomo de hidrógeno;

r es un número entero entre 1 y 3; y

m es un número entero entre 0 y 2.

30

Dentro del alcance de este último grupo, los compuestos que son aún más preferidos son aquellos en los que R₁ es un grupo -X-R₃ en el que X es un grupo -C(=O)- y R₃ es un grupo alquilo(C₁-C₄) o un fenilo.

35 Los ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula I son 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.

40 Otra clase preferida de compuestos que son objeto de la presente invención es esa en la que R₂ es un grupo metilo, R₁ es un grupo -X-R₃ en el que X es un grupo -C(=O)-, -C(=O)-NH- o -SO₂- y R₃ es un átomo de hidrógeno, un grupo metoximetilo, un grupo ciclohexilo, un fenilo, un bencilo, un 4-metilfenilo, 4-metoxifenilo, un 4-fluorofenilo, un 2-furilo, un 3-piridilo, un 2-tienilo, un 2-cloro-3-piridilo, un 2-tienilmetilo, un 3-metil-5-oxazolilo, un grupo (4-metoxi-2-piridilmetil) oximetilo, un grupo feniltiometilo, un (N,N-dimetilaminoetil)aminometilo, metilo, etilo, t-butilo o heptilo.

45 Los compuestos:

3'-desmetil-3'-acetiltelitromicina; y
3'-desmetil-3'-benzoiltelitromicina,

50 también son particularmente preferidos.

Los compuestos de fórmula I que son objeto de la presente invención se preparan según un esquema de síntesis que conlleva desmetilación del grupo dimetilamino de la telitromicina en la posición 3', seguido de la reacción de amidación del grupo amino primario o secundario formado de este modo para proporcionar los compuestos de

55

La expresión "reacción de amidación" significa la operación para la introducción de los sustituyentes X y R₃, definida en la fórmula I en los significados de R₁ y R₂, en una o más etapas de síntesis.

60 Las indicaciones para realizar las modificaciones estructurales mencionadas anteriormente en los derivados cetóidos se describen con mayor detalle a continuación.

La telitromicina es un compuesto conocido, comercializado y se prepara según técnicas convencionales, por ejemplo las descritos en la patente EP 0 680 967 en nombre de Hoechst Marion Roussel.

Partiendo de este sustrato, los compuestos de fórmula I se preparan por desmetilación del grupo dimetilamino en la posición 3' según técnicas convencionales.

5 Así, por ejemplo, la telitromicina se trata con acetato de sodio y yodo en presencia de un disolvente orgánico como se describe en la patente US nº 3.725.385 en nombre de Abbott Laboratories.

Alternativamente, dicho sustrato se hace reaccionar con un azodicarboxilato de dialquilo en acetona como se describe en la patente US nº 6.433.151 en nombre de Aventis Pharma.

10 La funcionalización del grupo amina primaria o secundaria obtenida en la posición 3' se realiza mediante la utilización de técnicas de amidación conocidas por los expertos en la materia.

15 En particular, estas técnicas de síntesis se refieren a las preparaciones comunes de amidas, sulfonamidas, ureas, sulfonilureas y uretanos de un sustrato de amina.

Como se ha mencionado anteriormente, la reacción de amidación se completa mediante la introducción de los sustituyentes X y R₃ definidos en la fórmula I.

20 Generalmente, los sustituyentes X y R₃ se introducen simultáneamente en la molécula de macrólido.

25 Así, por ejemplo, la preparación de derivados de amida o sulfonamida se realiza generalmente por tratamiento del cetólido desmetilado en 3' con cloruros de acilo o cloruros de sulfonilo adecuados según técnicas convencionales, por ejemplo reacción de los compuestos mencionado anteriormente en presencia de una base tal como trietilamina y un disolvente orgánico, por ejemplo diclorometano o tetrahidrofurano.

Además, la preparación de los derivados de urea se realiza preferentemente mediante la utilización de isocianatos adecuados en presencia de un disolvente orgánico, por ejemplo diclorometano.

30 Alternativamente, la preparación de derivados de amida con cadenas de estructura más compleja se realiza generalmente por síntesis según los procedimientos por etapas.

35 Así, por ejemplo, el derivado 3'-desmetilado se trata con un ácido omega-cloroalcanoico (ácido acético, ácido propiónico o ácido butírico) y N-ciclohexilcarbodiimida en presencia de un disolvente orgánico, por ejemplo tetrahidrofurano, y el compuesto obtenido se utiliza como sustrato para la introducción de la parte final de la cadena de amida, en particular de los compuestos de fórmula I en la que X es un grupo -C(=O)- y R₃ es una cadena de fórmula - (CH₂)_r-Y-(CH₂)_m-A.

40 Las opciones de procedimiento se determinarán, como y cuando sea necesario, por exigencias técnicas finalmente que por último tienen el propósito de optimizar el proceso de síntesis del producto en consideración.

Como se ha indicado anteriormente, los compuestos de fórmula I que son objeto de la presente invención están dotados de actividad antiinflamatoria y carecen de actividad antibiótica.

45 La actividad farmacológica de los compuestos de fórmula I se evaluó en modelos de inflamación cutánea en comparación con macrólidos conocidos, tales como eritromicina, telitromicina y azitromicina, que están dotados tanto de actividad antiinflamatoria como de actividad antibiótica.

50 La actividad antiinflamatoria se evaluó por medio de la inhibición del edema en oreja de ratón inducida con PMA (miristato acetato de forbol).

En todos los experimentos, los compuestos que son objeto de la presente invención resultaron ser muy activos como agentes antiinflamatorios y la actividad antiinflamatoria resultó ser mayor que la de los compuestos comparativos.

55 Se evaluó "*in vitro*" la actividad antibiótica como la capacidad para inhibir el crecimiento de cepas bacterianas sensibles a la eritromicina y la telitromicina.

60 En particular, se evaluó la actividad antibiótica de los compuestos por análisis turbidimétrico en el que la medida del crecimiento bacteriano es determinada por el aumento de la turbidez/absorbancia registrada por espectrofotometría en el caldo de cultivo.

Se utilizaron los antibióticos eritromicina y telitromicina simultáneamente con los compuestos de ensayo como patrones de referencia para la actividad bacteriana inhibidora de crecimiento.

65 Todos los compuestos de ensayo resultaron ser inactivos para el crecimiento bacteriano, mientras que, para los antibióticos de referencia eritromicina y telitromicina, se midió la inhibición sustancial del desarrollo bacteriano

asociada a las concentraciones utilizadas.

Los compuestos de la presente invención no muestran ninguna actividad antibiótica y por lo tanto puede utilizarse en tratamientos crónicos de los procesos inflamatorios sin dar lugar a ningún fenómeno de resistencia indeseados.

Por tanto, es obvio para un experto en la materia que los compuestos de fórmula I, que están dotados de actividad antiinflamatoria y carecen de actividad antibiótica, pueden ser útiles en el tratamiento tanto agudo como crónico y en la profilaxis de patologías inflamatorias, en particular de patologías relacionadas con la funcionalidad celular alterada de los neutrófilos, por ejemplo artritis reumatoide, vasculitis, glomerulonefritis, psoriasis, dermatitis atópica, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, lesión por reperfusión isquémica, choque séptico, aterosclerosis, ARDS, 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; las dosis terapéuticas generalmente estarán comprendidas entre aproximadamente 10 y 2.000 mg/día y preferentemente entre aproximadamente 30 y 1500 mg/día.

Los compuestos de la presente invención para su la utilización en el tratamiento y/o la profilaxis de las patologías mencionadas anteriormente se utilizarán preferentemente en una forma farmacéutica adecuada para administración oral, rectal, sublingual, parenteral, tópica, transdérmica e inhalados.

Un objeto adicional de la presente invención son por lo tanto, las formulaciones farmacéuticas que contienen una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I o una sal del mismo mezclado con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Las formulaciones farmacéuticas que son objeto de la presente invención pueden ser líquidos adecuados para administración oral y/o parenteral, por ejemplo, gotas, jarabes, soluciones o soluciones inyectables que están listas para su utilización o se preparan por dilución de un liofilizado, pero preferentemente son sólidas o semisólidas, por ejemplo, comprimidos, cápsulas, gránulos, polvos, bolitas, óvulos, supositorios, cremas, pomadas, geles y ungüentos; o soluciones, suspensiones, emulsiones u otras formas adecuadas para la administración inhalada y transdérmica.

Dependiendo del tipo de formulación, además de una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más compuestos de fórmula I, estas composiciones contendrán excipientes sólidos o líquidos o diluyentes de utilización farmacéutica y opcionalmente otros aditivos utilizados normalmente en la preparación de formulaciones farmacéuticas, por ejemplo, espesantes, agentes aglomerantes, lubricantes, disgregadores, aromatizantes y colorantes.

Las formulaciones farmacéuticas que son objeto de la invención se pueden producir según técnicas convencionales.

Se obtuvieron espectros de ^1H -RMN en soluciones de CDCl_3 o d_6 -DMSO, utilizando un espectrómetro de 200 MHz Varian Gemini. Los desplazamientos químicos se indican en unidades δ utilizando CHCl_3 o DMSO como patrón interno.

Los análisis de HPLC/MS se realizaron utilizando una máquina Gilson que contiene una columna Gilson Xterra RP18 (5 μm , 4,6 x 50 mm) y utilizando como detector un conjunto de diodos UV (220 nm), un espectrómetro de masas Finnigan AQA (pulverización electrónica, ionización positiva o negativa) y un detector ELSD.

Condiciones utilizadas: caudal: 1,2 ml/min; temperatura de la columna: 40°C; gradiente de elución A/B (eluyente A: 0,5% de ácido fórmico en agua, eluyente B: 0,5% de ácido fórmico en acetonitrilo): t = 0 min., A/B = 95:5, t = 8 min., A/B = 5:95.

Los ejemplos siguientes son proporcionados para ilustrar la presente invención más claramente.

Ejemplo 1

Preparación de 3'-desmetil-3'-acetiltelitromicina (compuesto 1)

A una solución de 3'-desmetiltelitromicina (200 mg, 0,25 mmol) y trietilamina (70 μl , 0,5 mmol) en CH_2Cl_2 (3 ml) se le añadió gota a gota una solución de cloruro de acetilo (19,6 mg, 0,25 mmol) en CH_2Cl_2 (1 ml), y la mezcla resultante se agitó durante 2 horas. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo (50 ml) y la fase orgánica se lavó con NH_4Cl 2 N (3 x 30 ml), K_2CO_3 al 10% (2 x 30 ml), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se filtró, y el disolvente se evaporó. Se obtuvo el compuesto 1 (168 mg, 80% de rendimiento) como un sólido blanco.

$[\text{M} + 1]^+ 840,77$;

HPLC-ELSD: Rt = 4,63, 99,0% de pureza;

¹H-NMR (CDCl₃): δ 8,94 (d, 1H, J = 1,7, C²H piridina); 8,43 (dd, 1H, J₁= 4,9, J₂= 1,5, C⁶H piridina); 8,06 (dt, 1H, J₁= 8,0, J₂= 2,0, C⁴H piridina); 7,52 (s, 1H, NCHN imidazol); 7,24-7,38 (m, 2H, C⁵H piridina + CHC imidazol); 4,9 (m, 1H); 4,36 (d, 1H, J = 7,5); 4,20 (d, 1H, J = 8,4); 4,00 (t, 2H, J = 7,3, CH₂N imidazol); 2,54 (m, 4H, CH₃N + CH); 1,24 (d, 3H, J = 6,9); 0,98 (d, 3H, J = 7,0); 0,81 (t, 3H, J = 7,4; H₁₅).

5

Ejemplo 2

Preparación de 3'-desmetil-3'-benzoiltelitromicina (compuesto 2)

10 A una solución de 3'-desmetiltelitromicina (200 mg, 0,25 mmol) y trietilamina (70 µl, 0,5 mmol) en CH₂Cl₂ (3 ml) se añadió gota a gota una solución de cloruro de benzoílo (35,2 mg, 0,25 mmol) en CH₂Cl₂ (1 ml), y la mezcla resultante se agitó durante 2 horas. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo (50 ml) y la fase orgánica se lavó con NH₄Cl 2 N (3 x 30 ml) y con K₂CO₃ al 10% (2 x 30 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se filtró, y se evaporó el disolvente. Después de la purificación por cromatografía Biotage (columna de cartucho 12M, eluyente CH 100/5/0,5

15 CH₂Cl₂/ MeOH/NH₃), compuesto 2 (205 mg, 91% de rendimiento) se obtuvo como un sólido blanco.

[M + 1]⁺ 902,79;

HPLC-ELSD: Rt = 5,38; 99,9% de pureza;

20

¹H-NMR (CDCl₃): δ 8,93 (d, 1H, J = 1,9, C²H piridina); 8,41 (dd, 1H, J₁= 4,8, J₂= 1,6, C⁶H piridina); 8,05 (dt, 1H, J₁= 8,1, J₂= 2,0, C⁴H piridina); 7,51 (s, 1H, NCHN imidazol); 7,20-7,38 (m, 7H, C⁵H piridina + CHC + imidazol + fenilo); 4,9 (m, 1H); 4,7 (m, 1H); 3,97 (t, 2H, J = 7,3, CH₂N imidazol); 3,53 (s, 1H, H₁₁); 3,05 (t, 2H, J = 7,5, CH₂); 2,86 (s, 3H, CH₃N); 2,59 (m, 4H, CH₂CH₂); 1,11 (d, 3H, J = 6,9); 0,97 (d, 3H, J = 6,9); 0,80 (t, 3H, J = 7,5; H₁₅).

25

Ejemplo 3

Actividad farmacológica *in vivo*

30 A) dermatitis de contacto aguda

• Animales

Se utilizaron grupos de 5 ratones CD1 (18 a 24 g)

35

• Administración de los compuestos

Todos los derivados macrólidos se disolvieron en un sistema de suministro en fase trans (TPDS), un vehículo que contiene 10% de alcohol bencílico, 40% de acetona y 50% de isopropanol.

40

Se aplicaron por vía tópica a la superficie interna de una oreja, 15 microlitros de los compuestos (500 µg/oreja), disueltos en TPDS, 30 minutos después, se aplicaron a la misma zona 12 microlitros de una solución de acetato de tetradecanoilforbol (TPA) a una concentración de 0,01% disuelto en acetona.

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

• Evaluación de los resultados

El grado de edema se calculó restando el peso de una sección especificada de la oreja no tratada de la del oído contralateral tratado. Para determinar el grado de remisión del edema, la diferencia de peso de los grupos tratados con TPA + macrólidos se comparó entonces con los grupos tratados con TPA solo.

50

La actividad de los macrólidos se midió utilizando el método modificado de Zunic *et al.* (1998): MDL (lisil) GDP, un derivado dipeptídico de muramilo inocuo inhibe la producción de citocinas por los macrófagos activados y protege a los ratones de la inflamación producida por el éster de forbol y oxazolona (*J. Invest. Dermatol.*, 111 (1), 77-82).

55

Los resultados obtenidos para los compuestos de fórmula I son proporcionados en la Tabla 1 a continuación.

60

Tabla 1

Compuesto	Edema (% de inhibición)
Eritromicina	42
Azitromicina	40
Telitromicina	79,7
1	81,7
2	81,8

Ejemplo 4Actividad farmacológica *in vitro*

5 A) actividad antibiótica:

La actividad antibiótica de los compuestos se evaluó por medio de análisis turbidimétrico como se describe en la bibliografía (Keller R., Pedroso MZ *et al.* *Occurrence of virulence-associated properties in Enterobacter cloacae*. Infection and Immunity, págs. 645-649, Feb. 1998), (Saiman L., Burns J.L. *et al.* Evaluation of reference dilution test methods for antimicrobial susceptibility testing of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from patients with cystic fibrosis. *Journal of Clinical Microbiology*, págs. 2987-2991, Sept. 1999).

La determinación turbidimétrica del crecimiento bacteriano es determinada por el aumento de la transmitancia/absorbancia registrada por espectrofotometría en el caldo de cultivo de ensayo. La actividad antibacteriana se evaluó como la concentración del compuesto que es capaz de inhibir el desarrollo de un caldo de cultivo de la cepa bacteriana *Escherichia coli* (ATCC 25922) incubada en placas de 96 pocillos. Los antibióticos eritromicina y telitromicina se utilizaron simultáneamente con los compuestos de ensayo como patrones de referencia para la actividad inhibidora del crecimiento bacteriano. Los compuestos y los antibióticos de referencia se ensayaron a 8 concentraciones obtenidas por medio de diluciones 1:2 en serie en la placa de incubación, comenzando con una concentración de 100 μ M.

• Preparación de los compuestos:

Para cada compuesto de ensayo, se preparó una concentración 200 μ M (doble con relación a la concentración de incubación), diluyendo 10 μ l de una solución madre 10 mM en DMSO, en 0,5 ml de caldo de soja tripsínico (TSB).

Se distribuyeron 200 μ l de las soluciones preparadas en una placa de 96 pocillos y, por medio de diluciones 1:2 en serie con TSB, se obtuvieron las concentraciones sucesivas. La placa resultante al final de las diluciones contenía, en un volumen de 100 μ l/pocillo, un compuesto por columna en 8 concentraciones correspondientes a 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,13, 1,56 y 0,78 μ M en incubación. Para las referencias positivas (crecimiento bacteriano) y referencias negativas (blanco/control de esterilidad) en los pocillos con dos columnas, se distribuyeron 100 μ l/pocillo de TSB sin compuestos.

35 • Ejecución de la prueba

La incubación se inició distribuyendo 100 μ l/pocillo de la suspensión bacteriana, utilizando una pipeta multicanal, en las columnas que contienen compuestos de ensayo, macrólidos de referencia y referencia positiva. Se distribuyeron 100 μ l de TSB en el control de esterilidad/columna del blanco.

40 Se midió el crecimiento bacteriano leyendo la absorbancia a 570 nm utilizando un lector de placas de 96 pocillos. Las lecturas se tomaron al inicio de la incubación y cada 30 minutos desde 2 horas hasta 5 horas de incubación.

• Evaluación de los datos

45 Los valores de absorbancia de cada pocillo, medidos al inicio de la incubación, se restaron de las lecturas tomadas en los tiempos de incubación posteriores. A partir de los valores obtenidos, se calcularon las inhibiciones como un porcentaje de la falta de crecimiento bacteriano en relación con 100% de crecimiento medido en los pocillos de control no inhibidos en los tiempos de incubación respectivos. Los valores de las concentraciones que inhiben el desarrollo bacteriano en un 20%, 50% y 80% (CI 20, 50, 80%) se calcularon utilizando por lo menos 3 tiempos de incubación para los que el aumento de la absorbancia parecían ser la más lineal entre la concentraciones (generalmente entre 150 y 240 minutos de incubación). Para cada tiempo seleccionado, utilizando las series emparejadas de concentraciones e inhibiciones, se calcularon las concentraciones inhibidoras mediante un ajuste sigmoideo. Los valores de las concentraciones inhibidoras indicadas son la media de los valores calculados para tres tiempos por lo menos de incubación seleccionados. Para los compuestos inactivos, se indica una CI > 100, en el sentido de que a la concentración máxima de ensayo (100 μ M), no se pudo calcular la inhibición.

Los resultados obtenidos para los macrólidos antibióticos de referencia y para los compuestos de fórmula I, expresados en nmol/ml de las concentraciones (CI) que inhiben el crecimiento de la cepa bacteriana *Escherichia coli* (ATCC 25922) por 20, 50 y 80%, son proporcionados en la Tabla 2 a continuación:

Tabla 2

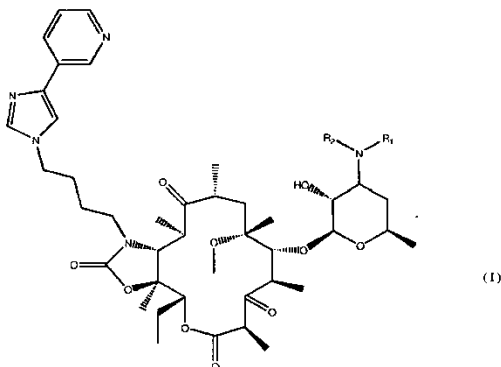
Compuesto	CI 20%	CI 50%	CI 80%
Eritromicina	3,0	7,8	24,3
Telitromicina	2,7	5,7	14,9
1	> 100	> 100	> 100
2	> 100	> 100	> 100

5 Los datos proporcionados en la Tabla 2 indican claramente que los compuestos de fórmula I, que son objeto de la presente invención, carecen sustancialmente de actividad antibiótica.

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula

5



en la que

10 R₁ es un grupo -X-R₃ en el que

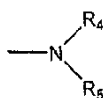
X es un grupo -C(=O)-, -C(=O)-NH- o -SO₂- y

15 R₃ es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo(C₁-C₁₀); un grupo alquilo(C₁-C₄)alcoxi(C₁-C₄); un grupo cicloalquilo (C₅-C₇); un fenilo, un heteroarilo seleccionado de entre pirrol, tiofeno, furano, imidazol, pirazol, tiazol, isotiazol, isoxazol, oxazol, piridina, pirazina, pirimidina, piridazina, triazol y tiadiazol, un grupo alquilo(C₁-C₄)fenilo o un grupo alquilo(C₁-C₄) heteroarilo opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados de entre un grupo alquilo(C₁-C₄), un grupo alcoxi(C₁-C₄) y halógeno; o una cadena de fórmula

20 $-(CH_2)_r-Y-(CH_2)_m-A$

en la que

25 A es un fenilo o un heteroarilo seleccionado de entre pirrol, tiofeno, furano, imidazol, pirazol, tiazol, isotiazol, isoxazol, oxazol, piridina, pirazina, pirimidina, piridazina, triazol y tiadiazol, ambos opcionalmente sustituidos con 1 a 3 sustituyentes seleccionados de entre un grupo alquilo(C₁-C₄), un grupo alcoxi(C₁-C₄) y halógeno; o un grupo



30

en la que

R₄ y R₅, independientemente uno de otro, son un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo(C₁-C₆), un grupo bencilo, un grupo alcoxi(C₁-C₄)carbonilo o un grupo benciloxycarbonilo;

35

Y representa O, S o NR₆ en el que

R₆ es un átomo de hidrógeno, un alquilo(C₁-C₃) lineal o ramificado, un grupo alcoxi(C₁-C₃)carbonilo o un grupo benciloxycarbonilo;

40

r es un número entero entre 1 y 3;

m es un número entero entre 0 y 3;

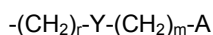
45 R₂ es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo(C₁-C₆), un grupo bencilo o tiene los significados dados para el sustituyente R₁,

y sus sales farmacéuticamente aceptables.

50 2. Compuesto según la reivindicación 1, en el que R₂ es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo(C₁-C₆) o un grupo bencilo.

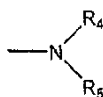
3. Compuesto según la reivindicación 2, en el que R₂ es un grupo alquilo(C₁-C₃).

4. Compuesto según la reivindicación 3, en el que R₁ es un grupo -X-R₃ en el que X es un grupo -C(=O)-, -C(=O)-NH- o -SO₂- y R₃ es un átomo de hidrógeno; un grupo alquilo(C₁-C₆); un grupo alquilo(C₁-C₄)alcoxi(C₁-C₄); un grupo cicloalquilo(C₅-C₇); un fenilo, un heteroarilo seleccionado de entre pirrol, tiofeno, furano, imidazol, pirazol, tiazol, isotiazol, isoxazol, oxazol, piridina, pirazina, pirimidina, piridazina, triazol y tiadiazol, un grupo alquilo(C₁-C₄)fenilo o un grupo alquil(C₁-C₄)heteroarilo opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados de entre un grupo alquilo(C₁-C₄), un grupo alcoxi(C₁-C₄) y halógeno; o una cadena de fórmula



en la que

A es un fenilo o un heteroarilo seleccionado de entre pirrol, tiofeno, furano, imidazol, pirazol, tiazol, isotiazol, isoxazol, oxazol, piridina, pirazina, pirimidina, piridazina, triazol y tiadiazol, ambos sustituidos opcionalmente con 1 a 3 sustituyentes seleccionados de entre un grupo alquilo(C₁-C₄), un grupo alcoxi(C₁-C₄) y halógeno; o un grupo



en el que

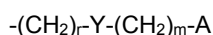
R₄ y R₅, independientemente uno de otro, son un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo(C₁-C₄), o un bencilo;

Y representa O, S o NR₆ en el que R₆ es un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo(C₁-C₃);

r es un número entero entre 1 y 3; y

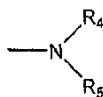
m es un número entero entre 0 y 3.

5. Compuesto según la reivindicación 4, en el que R₁ es un grupo -X-R₃ en el que R₃ es un grupo alquilo(C₁-C₆); un grupo alquil(C₁-C₃)metoxi; un grupo cicloalquilo(C₅-C₇); un fenilo, un heteroarilo seleccionado entre furano, tiofeno, oxazol y piridina, un grupo bencilo o alquil(C₁-C₄)heteroarilo opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados de entre un grupo alquilo(C₁-C₄), un grupo metoxi y halógeno; o una cadena de fórmula



en la que

A es un fenilo o un heteroarilo seleccionado de entre furano, tiofeno, oxazol y piridina, ambos opcionalmente sustituidos con un sustituyente seleccionado de entre un grupo alquilo(C₁-C₄), un grupo metoxi y halógeno; o un grupo:



en el que

R₄ y R₅, independientemente uno de otro, son un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo(C₁-C₄);

Y representa O, S o NR₆ en el que R₆ es un átomo de hidrógeno;

r es un número entero entre 1 y 3; y

m es un número entero entre 0 y 2.

6. Compuesto según la reivindicación 5, en el que R₁ es un grupo -X-R₃ en el que X es un grupo -C(=O)- y R₃ es un grupo alquilo (C₁-C₄) o un fenilo.

7. Compuesto según la reivindicación 1, en el que R₂ es un metilo y R₁ es un grupo -X-R₃ en el que X es un grupo -C(=O)- y R₃ es un metilo.

8. Compuesto según la reivindicación 1, en el que R₂ es un metilo y R₁ es un grupo -X-R₃ en el que X es un grupo

-C(=O)- y R₃ es un fenilo.

9. Procedimiento para preparar un compuesto de fórmula I según la reivindicación 1, que comprende:

- 5 a. la desmetilación del grupo dimetilamino de telitromicina en la posición 3';
- b. la reacción de amidación del grupo amina primaria o secundaria así formado como un producto de la reacción en el punto a.
- 10 10. Composición farmacéutica que contiene una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto según la reivindicación 1 mezclada con un vehículo farmacéuticamente aceptable.
11. Composición farmacéutica según la reivindicación 10, que es útil para el tratamiento de las patologías inflamatorias.
- 15 12. Composición farmacéutica según la reivindicación 11, que es útil para el tratamiento de las patologías respiratorias.
13. Composición farmacéutica según la reivindicación 11, que es útil para el tratamiento de las patologías gastrointestinales.
- 20