

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 412 059**

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 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.01.2010 E 10701369 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.04.2013 EP 2384333**

54 Título: **Macróido antiinflamatorio**

30 Prioridad:

30.01.2009 US 148609 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

10.07.2013

73 Titular/es:

**GLAXO GROUP LIMITED (100.0%)
980 Great West Road
Brentford, Middlesex TW8 9GS, GB**

72 Inventor/es:

**DAY, CAROLINE JANE;
DOUILLET, JULIEN BRUNO;
FILIC, DARKO;
KINDON, LEANDA JANE;
KRAGOL, GORAN y
MARUSIC-ISTUK, ZORICA**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 412 059 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

Macrólido antiinflamatorio

Campo técnico

5 La presente invención se refiere a una molécula de macrólido de 6-O-metil 9a lactama, sustituida en posición 4"-O, útil en el tratamiento de enfermedades inflamatorias. Más particularmente, la invención se refiere a 3'-N-desmetil-4"-O-(2-dietilaminoetanoil)-6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A, útil en el tratamiento de enfermedades inflamatorias dominadas por neutrófilos, especialmente en el tratamiento de enfermedades inflamatorias dominadas por neutrófilos que se producen como resultado de infiltración neutrófila y/o enfermedades asociadas con una funcionalidad celular alterada de neutrófilos, a los intermedios para su preparación, a métodos para su preparación, a su uso como un agente terapéutico y a sales de la misma.

Antecedentes

La inflamación es la ruta final común de varias agresiones al cuerpo humano tales como las infecciones, los traumas y las alergias. Se caracteriza por la activación del sistema inmune con reclutamiento y activación de células inflamatorias y producción de mediadores proinflamatorios.

15 La mayoría de las enfermedades inflamatorias se caracterizan por la acumulación aumentada de proporciones diferentes de células inflamatorias, incluyendo los monocitos/macrófagos, granulocitos, células del plasma, linfocitos y plaquetas. Junto con los fibroblastos y las células endoteliales de los tejidos, estas células inflamatorias liberan un conjunto complejo de lípidos, factores de crecimiento, citoquinas y enzimas destructivas que provocan daño local a los tejidos.

20 Una forma de respuesta inflamatoria es la inflamación por neutrófilos que se caracteriza por la infiltración en el tejido inflamado de leucocitos neutrófilos polimorfonucleares (PMN, es decir, neutrófilos), que son un componente principal de la defensa del hospedador. Los neutrófilos se activan por una gran diversidad de estímulos y están implicados en un número de afecciones clínicas y enfermedades, en las que desempeñan un papel central. Dichas enfermedades pueden clasificarse en función del acontecimiento activador de neutrófilos principal (Tabla 3, página 638 de V. Witko-Sarsat et al., *Laboratory Investigation* (2000) 80(5), 617-653). La infección de los tejidos por bacterias extracelulares representa el prototipo de esta respuesta inflamatoria. Por otra parte, varias enfermedades no infecciosas se caracterizan por la aparición extravascular de neutrófilos. Estas enfermedades inflamatorias no infecciosas pueden ser el resultado de una reaparición intermitente (por ejemplo, brotes en enfermedades autoinmunes tales como artritis reumatoide) o de una generación continua (por ejemplo, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC)) de señales inflamatorias que surgen a partir de la disfunción inmune subyacente. Las enfermedades inflamatorias no infecciosas incluyen EPOC, fibrosis quística (CF), panbronquiolitis difusa (DPB), bronquiolitis obliterante (BOS), bronquitis, bronquiectasia, enfisema, síndrome de insuficiencia respiratoria aguda (ARDS, también conocido como síndrome de dificultad respiratoria del adulto o síndrome de dificultad respiratoria, RDS), así como glomerulonefritis, artritis reumatoide, artritis gotosa, colitis ulcerosa, ciertas dermatosis tales como psoriasis y vasculitis. En estas afecciones, se piensa que los neutrófilos juegan un papel crucial en el desarrollo de lesiones de los tejidos que, cuando son persistentes, pueden conducir a la destrucción irreversible de la arquitectura normal de los tejidos, con la consiguiente disfunción de los órganos. Por lo tanto, se demuestra una correlación entre el número de neutrófilos en el esputo o el fluido de lavado bronquioalveolar y la gravedad de la enfermedad y la disminución de la función pulmonar observada en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (Di Stefano et al., *Am J Respir Crit Care Med.* (1998), 158(4): 1277-1285), fibrosis quística (Sagel SD et al., *J Pediatr.* (2002), 141(6): 811-817), panbronquiolitis difusa (Yanagihara K et al., *Int J Antimicrob Agents.* (2001), 18 Supl 1: págs. 83-87), bronquiolitis obliterante (Devouassoux G et al., *Transpl Immunol.* (2002), 10(4): 303-310), bronquitis (Thompson AB et al., *Am Rev Respir Dis.* (1989), 140(6): 1527-1537), bronquiectasia (Sepper R et al., *Chest* (1995), 107(6): 1641-1647), síndrome de insuficiencia respiratoria aguda (Weiland JE et al., *Am Rev Respir Dis.* (1986), 133(2): 218-225), por citar algunas. Además, existen pruebas crecientes de inflamación por neutrófilos en asmáticos, particularmente en pacientes con enfermedad grave y en pacientes que fuman (Jatakanon A et al., *Am J Respir Crit Care Med.* (1999), 160: 1532-1539; Chalmers GW et al., *Chest* (2001), 120: 1917-1922). Las pruebas de la importancia de los neutrófilos en varias enfermedades pulmonares han dado lugar a una búsqueda de fármacos capaces de inhibir la infiltración de neutrófilos en los pulmones y la consiguiente inflamación (revisado en Barnes PJ, *J Allergy Clin Immunol.* (2007), 119(5): 1055-1062).

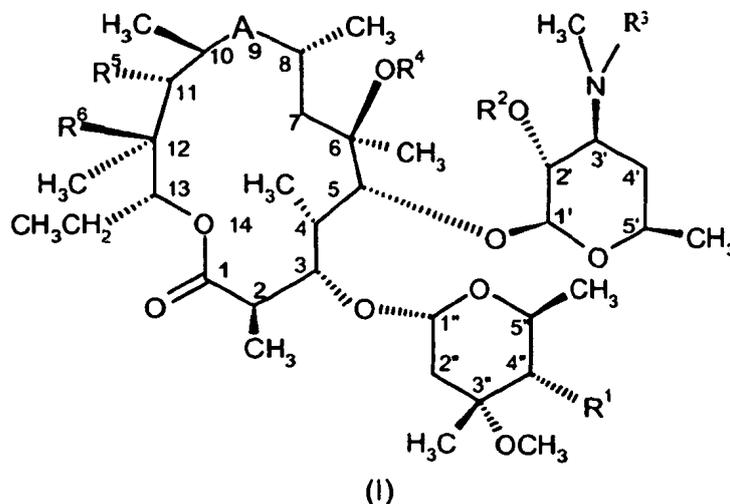
Es sabido que numerosos antibióticos, en particular de la clase de macrólidos basados en eritromicina, poseen propiedades antiinflamatorias además de su actividad antibacteriana (*Clin. Immunother.* (1996) 6,454-464), *J. Antimicrob. Chemother.* (1998) 41, Supl. B 37-46). En la publicación de solicitud de patente internacional WO02/08759 (Pliva) se ha descrito la actividad antiinflamatoria de la azitromicina, un agente antibacteriano de azalida de 15 miembros. Por lo tanto, el interés de la comunidad científica se ha desviado hacia las propiedades antiinflamatorias e inmunomoduladoras de la eritromicina y derivados de la misma (*J. Antimicrob. Chemother.* (1998), 41, Supl. B, 37-46). Esta actividad está bien documentada tanto en estudios clínicos como en experimentos *in vivo* e *in vitro*. Por ejemplo, se ha descubierto que los macrólidos son eficaces en el tratamiento de enfermedades inflamatorias tales como panbronquiolitis (*Thorax* (1997), 52, 915-918), asma bronquial (*Chest*, (1991), 99,670-673)

y fibrosis quística (*The Lancet* (1998) 351, 420), tanto en modelos animales de inflamación, por ejemplo peritonitis inducida por zimosán en ratones (*J. Antimicrob. Chemother.* (1992) 30, 339-348) y acumulación inducida por endotoxina de neutrófilos en la tráquea de la rata (*Antimicrobial Agents and Chemotherapy* (1994) 38,1641-1643], como en estudios *in vitro* sobre células del sistema inmune, tales como neutrófilos (*J. Immunology* (1997) 159, 3395-4005).

La eficacia terapéutica particular de compuestos macrólidos en enfermedades en las que se ha descubierto que los fármacos antiinflamatorios convencionales, por ejemplo corticosteroides, son ineficaces (*Thorax* (1997) 52, 915-918, ya citado) justifica el gran interés en esta nueva clase potencial de antiinflamatorios. Sin embargo, la fuerte actividad antibacteriana que tienen los compuestos macrólidos convencionales no permite su uso más general en el tratamiento crónico de procesos inflamatorios no causados por microorganismos patógenos, ya que esto daría origen al desarrollo rápido de cepas resistentes.

Basándose en lo anterior, existe la necesidad de identificar compuestos que tengan un perfil biológico que demuestre la capacidad de los neutrófilos para inhibir una inflamación dominada por neutrófilos, al tiempo que no tengan actividad antibacteriana. Dichos compuestos también deberían tener una estabilidad que los haga adecuados para el desarrollo como tratamiento terapéutico.

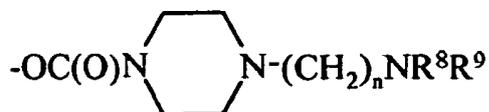
El documento WO06/87644 describe compuestos macrólidos representados por la siguiente Fórmula (I):



en la que

A es un radical bivalente seleccionado de los grupos -C(O)-, -NHC(O)-, -C(O)NH-, -N(R⁷)CH₂-, -CH₂N(R⁷)-, -CH(OH)- y -C(=NOR⁷)-;

R¹ es -OC(O)(CH₂)_nNR⁸R⁹, -O-(CH₂)_nNR⁸R⁹, -OC(O)N(R⁷)(CH₂)_nNR⁸R⁹,



-O(CH₂)_nCN, -OC(O)(CH₂)_n N (CH₂)_nNR⁸R⁹ u -OC(O)CH=CH₂, con la condición de que si R¹ es -OC(O)CH=CH₂, R³ no puede ser metilo;

R² es hidrógeno o un grupo protector de hidroxilo;

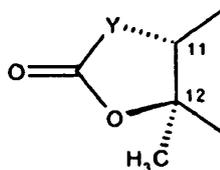
R³ es hidrógeno, alquilo C₁₋₄ no sustituido o alquilo C₁₋₄ sustituido en un átomo de carbono terminal con un grupo CN o NH₂, o alcanóilo C₁₋₅;

R⁴ es hidrógeno, alquilo C₁₋₄ o alqueno C₂₋₆ o un grupo protector de hidroxilo 1;

R⁵ es un grupo hidroxilo, metoxi, -OC(O)(CH₂)_nNR⁸R⁹ -O-(CH₂)_nNR⁸R⁹ u -O(CH₂)_nCN;

R⁶ es hidroxilo; o

R⁵ y R⁶ tomados junto con los átomos pertinentes forman un grupo cíclico que tiene la siguiente estructura:



en la que Y es un radical bivalente seleccionado de los grupos -CH₂-, -CH(CN)-, -O-, -N(R⁷)- y -CH(SR⁷)-;

R⁷ es hidrógeno o alquilo C₁₋₆;

5 R⁸ y R⁹ son, independientemente, hidrógeno, cicloalquilo C₃₋₇, alquilo C₁₋₁₈, en donde alquilo C₁₋₁₈ está:

(i) interrumpido o no con 1-3 grupos radicales bivalentes seleccionados entre -O-, -S- y -N(R⁷)-; y/o

10 (ii) no sustituido o sustituido con 1-3 grupos seleccionados entre halógeno, OH, NH₂, N-alquilamino (C₁-C₆) (preferiblemente N-metilamino o N-etilamino), N,N-di(alquil C₁-C₆)amino (preferiblemente dimetilamino, dietilamino o diisopropilamino), CN, NO₂, OCH₃, un anillo no aromático de miembros C₃₋₈ que es un anillo heterocíclico saturado o insaturado, no aromático, que contiene 2-6 átomos de carbono, que está saturado o insaturado y que contiene 1-2 heteroátomos seleccionados entre oxígeno, azufre y nitrógeno, alquilcarbonilalcoxi y alcocarbonilamino; o

R⁸ y R⁹ tomados junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo heterocíclico no aromático que contiene 2-6 átomos de carbono y que está:

15 i) saturado o insaturado y contiene 0 ó 1 heteroátomo adicional seleccionado entre oxígeno, azufre y nitrógeno; y/o

20 ii) no sustituido o sustituido con 1-2 grupos seleccionados entre alcanolilo C₁₋₅ y alquilo C₁₋₆, en donde el alquilo C₁₋₆ está no interrumpido o interrumpido con 1-3 grupos radicales bivalentes seleccionados entre -O-, -S- y -N(R⁷)-, y/o está no sustituido o sustituido con 1-2 grupos seleccionados entre OH, NH₂, un anillo heterocíclico no aromático que contiene 2-6 átomos de carbono, que está no sustituido o sustituido con un grupo seleccionado entre alquilo C₁₋₄, halo, NH₂, OH, SH, alcoxi C₁₋₆ e hidroxialquilo C₁₋₄, un cicloalquilo C₃₋₇, que está no sustituido o sustituido con un grupo seleccionado entre alquilo C₁₋₄, halo, NH₂, OH, SH, alcoxi C₁₋₆ e hidroxialquilo C₁₋₄;

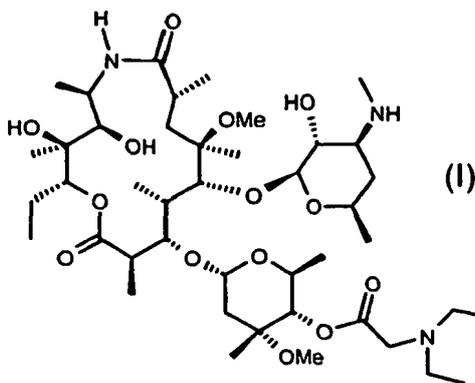
n es un número entero de 1 a 8;

25 y los derivados farmacéuticamente aceptables del mismo. El citado documento describe estos compuestos como poseedores de actividad antiinflamatoria.

Compendio de la Invención

30 Ahora se ha encontrado que el compuesto según la presente invención, descrito genéricamente en el documento WO06/87644, y que tiene un patrón de sustitución específico, muestra un perfil mejorado sobre los compuestos descritos específicamente en el documento WO06/87644.

La presente invención se refiere a 3'-N-desmetil-4"-O-(2-dietilaminoetanoil)-6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A, un compuesto que tiene la Fórmula (I):



o una sal del mismo.

La presente invención también se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden el compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5 Además, la presente invención también se refiere a compuestos para tratar enfermedades inflamatorias dominadas por neutrófilos que se producen como resultado de infiltración neutrófila y/o enfermedades asociadas con una funcionalidad celular alterada de los neutrófilos, que comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a un sujeto que lo necesita.

De acuerdo con otro aspecto, la invención se refiere al compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en terapia médica humana o veterinaria.

10 En otro aspecto, la invención se refiere al compuesto de Fórmula (I) o a una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en el tratamiento de enfermedades inflamatorias dominadas por neutrófilos que se producen como resultado de infiltración neutrófila y/o enfermedades asociadas con una funcionalidad celular alterada de los neutrófilos.

15 En otro aspecto, la invención se refiere al uso del compuesto de Fórmula (I) o a una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la preparación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades inflamatorias dominadas por neutrófilos que se producen como resultado de infiltración neutrófila y/o enfermedades asociadas con una funcionalidad celular alterada de los neutrófilos.

Breve Descripción de los Dibujos

Figuras 1A a 1C: muestran la estabilidad en sangre completa y plasma humanos para los Ejemplos 1, 2 y 3, respectivamente, en 24 horas.

20 Figura 2: muestra la estructura del degradante principal del Ejemplo comparativo 2, obtenida a partir de su espectro de masas.

Figura 3: muestra el patrón de XRPD de la forma amorfa de 3'-N-desmetil-4"-O-(2-dietilaminoetanoil)-6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A.

25 Figura 4: patrón de XRPD de la Forma 1 de 3'-N-desmetil-4"-O-(2-dietilaminoetanoil)-6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A.

Figura 5: DSC de la Forma 1 de 3'-N-desmetil-4"-O-(2-dietilaminoetanoil)-6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A.

Figura 6: TGA de la Forma 1 de 3'-N-desmetil-4"-O-(2-dietilaminoetanoil)-6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A.

Figura 7: muestra el patrón de XRPD de la Forma 2 de 3'-N-desmetil-4"-O-(2-dietilaminoetanoil)-6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A.

30 Figura 8: DSC de la Forma 2 de 3'-N-desmetil-4"-O-(2-dietilaminoetanoil)-6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A.

Figura 9: TGA de la Forma 2 de 3'-N-desmetil-4"-O-(2-dietilaminoetanoil)-6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A.

Figura 10: muestra el patrón de XRPD de la Forma 3 de 3'-N-desmetil-4"-O-(2-dietilaminoetanoil)-6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A.

35 Figura 11: Espectro Raman de la Forma 3 de 3'-N-desmetil-4"-O-(2-dietilaminoetanoil)-6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A.

Figura 12: Espectro Raman de la Forma 4 de 3'-N-desmetil-4"-O-(2-dietilaminoetanoil)-6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A.

Figura 13: Espectro Raman de la Forma 5 de 3'-N-desmetil-4"-O-(2-dietilaminoetanoil)-6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A.

40 Figura 14: Espectro Raman de la Forma 6 de 3'-N-desmetil-4"-O-(2-dietilaminoetanoil)-6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A.

Figura 15: Espectro Raman de la Forma 7 de 3'-N-desmetil-4"-O-(2-dietilaminoetanoil)-6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A.

45 Figura 16: Espectro Raman de la Forma 8 de 3'-N-desmetil-4"-O-(2-dietilaminoetanoil)-6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A.

Descripción de las Realizaciones

Debe entenderse que la presente invención incluye todas las combinaciones de aspectos y grupos adecuados, convenientes y preferidos descritos en la presente memoria.

5 Las referencias en lo sucesivo en la presente memoria a "un compuesto según la invención" o "a compuestos de la presente invención" incluyen tanto el compuesto de Fórmula (I) (en forma solvatada o no solvatada) como sus sales o sus sales farmacéuticamente aceptables (en forma solvatada o no solvatada).

10 A lo largo de la memoria descriptiva y de las reivindicaciones que siguen, a menos que el contexto requiera lo contrario, se entenderá que la palabra "comprender" y sus variaciones tales como "comprende" y "que comprende", implican la inclusión de un número entero o etapa o grupo de números enteros indicados, pero no la exclusión de cualquier otro número entero o etapa o grupo de números enteros o etapas.

15 La expresión "disolvente inerte" o "disolvente inerte a la reacción", como se usa en este documento, se refiere a un disolvente que no puede reaccionar con los compuestos disueltos, e incluye un disolvente no polar tal como hexano, tolueno, éter dietílico, éter diisopropílico, cloroformo, acetato de etilo, THF y diclorometano; disolventes apróticos polares tales como acetonitrilo, acetona, N,N-dimetilformamida, N,N-dimetilacetamida, dimetilsulfóxido y piridina, y disolventes próticos polares tales como alcohol inferior, ácido acético, ácido fórmico y agua.

La expresión "alcohol inferior", como se usa en este documento, se refiere a un alcohol C₁₋₄ tal como, por ejemplo, metanol, etanol, propanol, isopropanol, butanol, t-butanol y similares.

20 En un aspecto, la presente invención proporciona el compuesto de Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde la sal es una sal farmacéuticamente aceptable. Para una revisión de sales adecuadas véase Berge et al., *J. Pharm. Sci.*, 66 (1977) 1-19. Las sales farmacéuticamente aceptables pueden incluir sales de adición de ácidos.

25 Las sales de adición adecuadas se forman a partir de ácidos inorgánicos u orgánicos que forman sales no tóxicas y sus ejemplos son hidrocioruro, hidrobromuro, hidroyoduro, sulfato, bisulfato, nitrato, fosfato, hidrogenofosfato, acetato, trifluoroacetato, maleato, malato, fumarato, lactato, tartrato (por ejemplo, L-tartrato), citrato, formiato, gluconato, succinato, salicilato, propionato, piruvato, hexanoato, oxalato, oxaloacetato, trifluoroacetato, sacarato, glutamato, aspartato, benzoato, alquil o arilsulfonatos (por ejemplo, metanosulfonato, etanosulfonato, bencenosulfonato o p-toluenosulfonato) e isetionato. En un aspecto, el compuesto de Fórmula (I) puede estar en forma de sal hidrocioruro o acetato. En un aspecto adicional, el compuesto de Fórmula (I) puede estar en forma de sal succinato, benzoato, L-tartrato, hidrocioruro (específicamente dihidrocioruro) o fosfato.

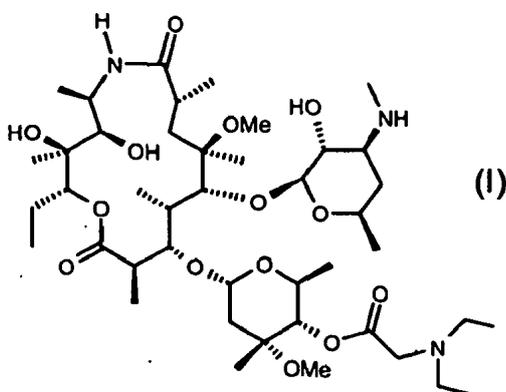
30 Los especialistas en la técnica de la química apreciarán que muchos compuestos orgánicos pueden formar complejos con disolventes en los que se hacen reaccionar o en los que precipitan o cristalizan. Estos complejos se conocen como "solvatos". Por ejemplo, un complejo con agua se conoce como un "hidrato". Los solvatos de los compuestos de la invención están dentro del alcance de la invención. Las sales del compuesto de fórmula (I) pueden formar solvatos (por ejemplo, hidratos) y la invención también incluye todos estos solvatos.

35 En un aspecto, el compuesto de Fórmula (I) puede estar en forma de una sal, solvato o solvato de sal farmacéuticamente aceptables. En un aspecto adicional, el compuesto de Fórmula (I) de la presente invención puede estar en forma de una sal farmacéuticamente aceptable.

Con respecto a los estereoisómeros, el compuesto de fórmula (I) tiene más de un átomo de carbono asimétrico. En la Fórmula (I) que se representa, el enlace con forma de cuña sólida indica que el enlace está por encima del plano del papel. El enlace discontinuo indica que el enlace está por debajo del plano del papel.

40 El compuesto de fórmula (I) puede estar en forma cristalina o amorfa. Además, algunas de las formas cristalinas del compuesto de fórmula (I) pueden existir como polimorfos, que también se incluyen en la presente invención.

En una realización particular, la presente invención se refiere a 3'-*N*-desmetil-4"-*O*-(2-dietilaminoetanoil)-6-*O*-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A, un compuesto que tiene la Fórmula (I):



o una sal del mismo.

5 En un aspecto de la invención, un compuesto que tiene la Fórmula (I) es la Forma 1, caracterizada por el patrón de XRPD expresado en términos de ángulos 2 theta de acuerdo con los procedimientos descritos en la presente memoria y mostrados en la Figura 4. En un aspecto más, el patrón de XRPD expresado en términos de ángulos 2 theta de acuerdo con los procedimientos descritos en la presente memoria comprende ángulos 2 theta ($2\theta/^\circ$) en al menos cinco posiciones seleccionadas entre el grupo que consiste en: 4,6, 5,6, 7,7, 9,6, 10,6, 11,0, 11,6, 11,8, 12,2, 14,1, 15,9, 18,4, 19,0, 20,5, 21,1 y 22,0 grados, que corresponden respectivamente a distancias interplanares *d* a 19,1, 15,9, 11,5, 9,2, 8,4, 8,0, 7,7, 7,5, 7,2, 6,3, 5,6, 4,8, 4,7, 4,3, 4,2 y 4,0 Ångstroms (Å). En otro aspecto más de la invención, el patrón de XRPD expresado en términos de ángulos 2 theta de acuerdo con los procedimientos descritos en la presente memoria comprende ángulos 2 theta ($2\theta/^\circ$) en al menos seis posiciones seleccionadas entre el grupo anterior. En otro aspecto adicional, en al menos siete posiciones.

15 En un aspecto más de la invención, la Forma 1 del compuesto de Fórmula (I), como se usa en la presente memoria, se refiere a cualquiera de:

- 1) un compuesto cristalino de Fórmula (I) caracterizado sustancialmente por el mismo patrón de XRPD que en la Figura 4;
- 2) un compuesto cristalino de Fórmula (I) caracterizado sustancialmente por el mismo termograma de DSC que en la Figura 5; y/o
- 3) un compuesto cristalino de Fórmula (I) caracterizado sustancialmente por la misma curva de TGA que en la Figura 6.

25 En un aspecto de la invención, un compuesto que tiene la Fórmula (I) es la Forma 2, caracterizada por el patrón de XRPD expresado en términos de ángulos 2 theta de acuerdo con los procedimientos descritos en la presente memoria y mostrados en la Figura 7. En un aspecto más, el patrón de XRPD expresado en términos de ángulos 2 theta de acuerdo con los procedimientos descritos en la presente memoria comprende ángulos 2 theta ($2\theta/^\circ$) en al menos cinco posiciones seleccionadas entre el grupo que consiste en: 9,1, 9,4, 10,4, 10,9, 11,5, 12,0, 13,0, 13,4, 14,7, 15,4, 15,7, 16,5, 16,8, 18,7, 19,2, 19,5, 19,8 y 20,8 grados, que corresponden respectivamente a distancias interplanares *d* a 9,7, 9,5, 8,5, 8,1, 7,7, 7,4, 6,8, 6,6, 6,0, 5,8, 5,6, 5,4, 5,3, 4,7, 4,6, 4,6, 4,5 y 4,3 Ångstroms (Å). En otro aspecto más de la invención, el patrón de XRPD expresado en términos de ángulos 2 theta de acuerdo con los procedimientos descritos en la presente memoria comprende ángulos 2 theta ($2\theta/^\circ$) en al menos seis posiciones seleccionadas entre el grupo anterior. En otro aspecto adicional, en al menos siete posiciones.

En un aspecto más de la invención, la Forma 2 del compuesto de Fórmula (I), como se usa en la presente memoria, se refiere a cualquiera de:

- 1) un compuesto cristalino de Fórmula (I) caracterizado sustancialmente por el mismo patrón de XRPD que en la Figura 7;
- 2) un compuesto cristalino de Fórmula (I) caracterizado sustancialmente por el mismo termograma de DSC que en la Figura 8; y/o
- 3) un compuesto cristalino de Fórmula (I) caracterizado sustancialmente por la misma curva de TGA que en la Figura 9.

En un aspecto de la invención, un compuesto que tiene la Fórmula (I) es la Forma 3, caracterizada por el patrón de XRPD expresado en términos de ángulos 2 theta de acuerdo con los procedimientos descritos en la presente

memoria y mostrados en la Figura 10. En un aspecto más, el patrón de XRPD expresado en términos de ángulos 2 theta de acuerdo con los procedimientos descritos en la presente memoria comprende ángulos 2 theta ($2\Theta^\circ$) en al menos cinco posiciones seleccionadas entre el grupo que consiste en: 5,5, 7,3, 7,9, 9,1, 9,5, 10,0, 10,5, 11,0, 11,5, 12,0, 12,6, 14,8, 15,5, 15,8, 16,6, 16,9, 18,2, 18,9 y 19,5 grados, que corresponden respectivamente a distancias interplanares d a 16,0, 12,1, 11,3, 9,7, 9,4, 8,9, 8,4, 8,1, 7,7, 7,4, 7,0, 6,0, 5,7, 5,6, 5,3, 5,2, 4,9, 4,7 y 4,6 Ångstroms (Å). En otro aspecto más de la invención, el patrón de XRPD expresado en términos de ángulos 2 theta de acuerdo con los procedimientos descritos en la presente memoria comprende ángulos 2 theta ($2\Theta^\circ$) en al menos seis posiciones seleccionadas entre el grupo anterior. En otro aspecto adicional, en al menos siete posiciones.

En un aspecto más de la invención, la Forma 3 del compuesto de Fórmula (I), como se usa en la presente memoria, se refiere a cualquiera de:

1) un compuesto cristalino de Fórmula (I) caracterizado sustancialmente por el mismo patrón de XRPD que en la Figura 10; y/o

2) una forma cristalina del compuesto de Fórmula (I) caracterizada sustancialmente por el mismo espectro Raman que en la Figura 11;

En un aspecto más de la invención, la Forma 4 del compuesto de Fórmula (I), como se usa en la presente memoria, se refiere a un compuesto cristalino de Fórmula (I) caracterizado sustancialmente por el mismo espectro Raman que en la Figura 12.

En un aspecto más de la invención, la Forma 5 del compuesto de Fórmula (I), como se usa en la presente memoria, se refiere a un compuesto cristalino de Fórmula (I) caracterizado sustancialmente por el mismo espectro Raman que en la Figura 13.

En un aspecto más de la invención, la Forma 6 del compuesto de Fórmula (I), como se usa en la presente memoria, se refiere a un compuesto cristalino de Fórmula (I) caracterizado sustancialmente por el mismo espectro Raman que en la Figura 14.

En un aspecto más de la invención, la Forma 7 del compuesto de Fórmula (I), como se usa en la presente memoria, se refiere a un compuesto cristalino de Fórmula (I) caracterizado sustancialmente por el mismo espectro Raman que en la Figura 15.

En un aspecto más de la invención, la Forma 8 del compuesto de Fórmula (I), como se usa en la presente memoria, se refiere a un compuesto cristalino de Fórmula (I) caracterizado sustancialmente por el mismo espectro Raman que en la Figura 16.

El compuesto de la presente invención inhibe la infiltración de neutrófilos en el tejido pulmonar inflamado (como se demuestra en lo sucesivo en la presente memoria). Por lo tanto, este compuesto tiene una utilidad potencial en el tratamiento agudo y crónico de patologías inflamatorias, especialmente de aquellas patologías asociadas con una infiltración de neutrófilos considerable en el tejido pulmonar, por ejemplo enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), fibrosis quística (CF), panbronquiolitis difusa (DPB), bronquiolitis obliterante (BOS), bronquitis, bronquiectasia, síndrome de insuficiencia respiratoria aguda (ARDS, también conocido como síndrome de dificultad respiratoria del adulto o síndrome de dificultad respiratoria, RDS), asma severa o resistente a esteroides (Simpson JL et al. (2008) *Am J Respir Crit Care Med*, 177: 148-155), y enfisema o en el tracto respiratorio, por ejemplo rinosinusitis crónica (con o sin poliposis nasal) (Wallwork B et al. (2006) *Laryngoscope*, 116: 189-193). Además, el compuesto de la presente invención puede usarse para el tratamiento de otras enfermedades asociadas con una funcionalidad celular alterada de los neutrófilos, por ejemplo artritis reumatoide (Kitsis E y Weissmann G, *Clin Orthop Relat Res.* (1991), 265: 63-72), artritis gotosa, enfermedad inflamatoria del intestino (tal como colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn), glomerulonefritis (Heinzlmann M et al., *Am J Kidney Dis.* (1999), 34(2): 384-399), lesión de reperfusión isquémica (Kaminski KA et al., *Int J Cardiol.* (2002), 86(1): 41-59), aterosclerosis (Henriksen PA y Sallenave JM. *Int J Biochem Cell* (2008), 40: 1095-1100), dermatosis tales como psoriasis (Terui T et al., *Exp Dermatol.* (2000), 9(1): 1-10) y vasculitis, lupus eritematoso sistémico (SLE), síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS), septicemia, lesión por isquemia-reperfusión, rosácea, periodontitis, hiperplasia gingival y síndrome de prostatitis.

Los términos "tratar" o "tratamiento" de enfermedades inflamatorias dominadas por neutrófilos, especialmente las que se producen como resultado de infiltración neutrófila y/o enfermedades asociadas con una funcionalidad celular alterada de los neutrófilos, se refieren al alivio de los síntomas y/o al retraso de la evolución de la enfermedad, y pueden incluir la supresión de la reaparición de los síntomas en un paciente asintomático.

Las enfermedades inflamatorias que se producen como resultado de infiltración neutrófila y/o enfermedades asociadas con una funcionalidad celular alterada de los neutrófilos, incluyen enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), fibrosis quística (CF), panbronquiolitis difusa (DPB), bronquiolitis obliterante (BOS), bronquitis, bronquiectasia, síndrome de insuficiencia respiratoria aguda (ARDS), asma severa o resistente a esteroides, enfisema, rinosinusitis crónica (con o sin poliposis nasal), artritis reumatoide, artritis gotosa, enfermedad inflamatoria del intestino (colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn), glomerulonefritis, lesión de reperfusión isquémica,

aterosclerosis, dermatosis tales como psoriasis y vasculitis, lupus eritematoso sistémico (SLE), síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS), septicemia, lesión por isquemia-reperfusión, rosácea, periodontitis, hiperplasia gingival y síndrome de prostatitis.

5 En un aspecto, la presente invención proporciona el compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en terapia médica.

10 En un aspecto, la presente invención proporciona el compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en el tratamiento de enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), fibrosis quística (CF), panbronquiolitis difusa (DPB), bronquiolitis obliterante (BOS), bronquitis, bronquiectasia, síndrome de insuficiencia respiratoria aguda (ARDS), asma severa o resistente a esteroides, enfisema, rinosinusitis crónica (con o sin poliposis nasal), artritis reumatoide, artritis gotosa, enfermedad inflamatoria del intestino (colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn), glomerulonefritis, lesión de reperfusión isquémica, aterosclerosis, dermatosis tales como psoriasis y vasculitis, lupus eritematoso sistémico (SLE), síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS), septicemia, lesión por isquemia-reperfusión, rosácea, periodontitis, hiperplasia gingival y síndrome de prostatitis.

15 En otro aspecto, la presente invención proporciona el compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en el tratamiento de enfermedad pulmonar obstructiva crónica, fibrosis quística, panbronquiolitis difusa, bronquiolitis obliterante, bronquitis, bronquiectasia, síndrome de insuficiencia respiratoria aguda, asma severa o resistente a esteroides, enfisema y rinosinusitis crónica (con o sin poliposis nasal).

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona el compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en el tratamiento de enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

20 En un aspecto adicional, la presente invención proporciona el compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en el tratamiento de bronquiolitis obliterante.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona el compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en el tratamiento de asma severa o resistente a esteroides.

25 En un aspecto adicional, la presente invención proporciona el compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en el tratamiento de fibrosis quística.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona el compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en el tratamiento de rinosinusitis crónica (con o sin poliposis nasal).

30 En un aspecto adicional, la presente invención proporciona el uso del compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), fibrosis quística (CF), panbronquiolitis difusa (DPB), bronquiolitis obliterante (BOS), bronquitis, bronquiectasia, síndrome de insuficiencia respiratoria aguda (ARDS), asma severa o resistente a esteroides, enfisema, rinosinusitis crónica (con o sin poliposis nasal), artritis reumatoide, artritis gotosa, enfermedad inflamatoria del intestino (colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn), glomerulonefritis, lesión de reperfusión isquémica, aterosclerosis, dermatosis tales como psoriasis y vasculitis, lupus eritematoso sistémico (SLE), síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS), septicemia, lesión por isquemia-reperfusión, rosácea, periodontitis, hiperplasia gingival y síndrome de prostatitis.

40 En un aspecto adicional de la invención, la presente invención proporciona el uso del compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para uso en el tratamiento de enfermedad pulmonar obstructiva crónica, fibrosis quística, panbronquiolitis difusa, bronquiolitis obliterante, bronquitis, bronquiectasia, síndrome de insuficiencia respiratoria aguda, asma severa o resistente a esteroides, enfisema y rinosinusitis crónica (con o sin poliposis nasal).

45 En un aspecto más, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento de enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

En un aspecto más, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento de bronquiolitis obliterante.

50 En un aspecto más, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento de asma severa o resistente a esteroides.

En un aspecto más, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento de fibrosis quística.

En un aspecto más, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento de rinosinusitis crónica (con o sin poliposis nasal).

5 La presente invención también se refiere a composiciones que comprenden el compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en una cantidad eficaz para el tratamiento terapéutico de enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), fibrosis quística (CF), panbronquiolitis difusa (DPB), bronquiolitis obliterante (BOS), bronquitis, bronquiectasia, síndrome de insuficiencia respiratoria aguda (ARDS), asma severa o resistente a esteroides, enfisema, rinosinusitis crónica (con o sin poliposis nasal), artritis reumatoide, artritis gotosa, enfermedad inflamatoria del intestino (colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn), glomerulonefritis, lesión de reperfusión isquémica, 10 aterosclerosis, dermatosis tales como psoriasis y vasculitis, lupus eritematoso sistémico (SLE), síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS), septicemia, lesión por isquemia-reperfusión, rosácea, periodontitis, hiperplasia gingival y síndrome de prostatitis en un sujeto que necesita dicho tratamiento.

15 En otro aspecto, la presente invención también se refiere a composiciones que comprenden el compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en una cantidad eficaz para el tratamiento terapéutico de enfermedad pulmonar obstructiva crónica, fibrosis quística, panbronquiolitis difusa, bronquiolitis obliterante, bronquitis, bronquiectasia, síndrome de insuficiencia respiratoria aguda, asma severa o resistente a esteroides, enfisema y rinosinusitis crónica (con o sin poliposis nasal), en un sujeto que necesita dicho tratamiento.

20 La presente invención se refiere además a una composición farmacéutica para el tratamiento de enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), fibrosis quística (CF), panbronquiolitis difusa (DPB), bronquiolitis obliterante (BOS), bronquitis, bronquiectasia, síndrome de insuficiencia respiratoria aguda (ARDS), asma severa o resistente a esteroides, enfisema, rinosinusitis crónica (con o sin poliposis nasal), artritis reumatoide, artritis gotosa, enfermedad inflamatoria del intestino (colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn), glomerulonefritis, lesión de reperfusión isquémica, aterosclerosis, dermatosis tales como psoriasis y vasculitis, lupus eritematoso sistémico (SLE), síndrome de 25 respuesta inflamatoria sistémica (SIRS), septicemia, lesión por isquemia-reperfusión, rosácea, periodontitis, hiperplasia gingival y síndrome de prostatitis que comprende el compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

30 La presente invención se refiere además a una composición farmacéutica para el tratamiento de enfermedad pulmonar obstructiva crónica, fibrosis quística, panbronquiolitis difusa, bronquiolitis obliterante, bronquitis, bronquiectasia, síndrome de insuficiencia respiratoria aguda, asma severa o resistente a esteroides, enfisema y rinosinusitis crónica (con o sin poliposis nasal), que comprende el compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

El efecto beneficioso en un sujeto a tratar es estadísticamente significativo o al menos perceptible para el sujeto o el médico.

35 "Sujeto" se refiere a un animal, en particular un mamífero y más particularmente un ser humano o un animal doméstico o un animal que sirve como modelo de una enfermedad (por ejemplo, ratón, mono, etc.). En un aspecto, el sujeto es un ser humano.

40 Una "cantidad terapéuticamente eficaz" significa la cantidad de un compuesto que, cuando se administra a un sujeto para tratar una enfermedad inflamatoria dominada por neutrófilos que se produce como resultado de infiltración neutrófila y/o enfermedades asociadas con una funcionalidad celular alterada de los neutrófilos, es suficiente para efectuar dicho tratamiento. La "cantidad terapéuticamente eficaz" variará dependiendo de la enfermedad y de su gravedad, y de la edad, peso, condición física y sensibilidad del sujeto a tratar y en último término dependerá del criterio del médico.

Composiciones farmacéuticas

45 Aunque es posible que, para uso en los métodos de la invención, el compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo pueda administrarse como la sustancia a granel, es preferible presentar el ingrediente activo en una formulación farmacéutica, por ejemplo, en la que el agente está mezclado con al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable seleccionado con respecto a la vía de administración deseada y la práctica farmacéutica convencional.

50 Por consiguiente, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende a) el compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y b) uno o múltiples vehículos, excipientes o diluyentes farmacéuticamente aceptables.

55 El término "vehículo" se refiere a un diluyente, excipiente y/o vehículo con el que se administra un compuesto activo. Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden contener combinaciones de más de un vehículo. Estos vehículos farmacéuticos pueden ser líquidos estériles, tales como agua, soluciones salinas, soluciones acuosas de dextrosa, soluciones acuosas de glicerol, y aceites, incluyendo los de petróleo, de origen animal, vegetal o sintético, tales como aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo y similares. Preferiblemente se emplean como vehículos agua o disoluciones salinas acuosas y soluciones acuosas de dextrosa y glicerol,

particularmente para soluciones inyectables. Se describen vehículos farmacéuticos adecuados en "*Remington's Pharmaceutical Sciences*" de E.W. Martin, 18ª edición. La elección del vehículo farmacéutico puede seleccionarse con respecto a la vía de administración prevista y a la práctica farmacéutica convencional. Las composiciones farmacéuticas pueden comprender, además del vehículo, cualquier aglutinante, lubricante, agente de suspensión, agente de recubrimiento y/o agente solubilizante adecuado.

La expresión "farmacéuticamente aceptable", como se usa en la presente memoria, se refiere a sales, entidades moleculares y otros ingredientes de dichas composiciones que por lo general son fisiológicamente tolerables y, típicamente, no producen reacciones adversas cuando se administran a un mamífero (por ejemplo, un ser humano). Adecuadamente, como se usa en este documento, la expresión "farmacéuticamente aceptable" significa aprobado por una agencia reguladora del gobierno federal o de un estado o indicado en la Farmacopea de Estados Unidos u otra farmacopea reconocida generalmente para uso en mamíferos, y más particularmente en seres humanos.

Un "excipiente farmacéuticamente aceptable" significa un excipiente que es útil en la preparación de una composición farmacéutica que generalmente es segura, no tóxica y que no es indeseable biológicamente ni de otra manera, e incluye un excipiente que es aceptable para uso veterinario así como para uso farmacéutico humano. Un "excipiente farmacéuticamente aceptable", tal como se usa en la presente solicitud, incluye tanto uno como más de uno de estos excipientes.

La presente invención se refiere además al uso de una composición farmacéutica para el tratamiento de enfermedades inflamatorias dominadas por neutrófilos que se producen como resultado de infiltración neutrófila y/o enfermedades asociadas con una funcionalidad celular alterada de los neutrófilos, que comprende el compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

La presente invención también se refiere además a una composición farmacéutica que comprende a) de 10 a 2000 mg del compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y b) de 0,1 a 2 g de uno o múltiples excipientes farmacéuticamente aceptables. En un aspecto adicional, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende a) de 1 a 2000 mg del compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y b) de 0,1 a 2 g de uno o múltiples excipientes farmacéuticamente aceptables.

Se apreciará que las composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención pueden estar en forma de suspensiones, cápsulas o comprimidos para administración por vía oral, parenteral, transdérmica, inhalación, sublingual, tópica, mediante implantes, nasal o entérica (u otra administración en la mucosa), que se pueden formular de la manera convencional usando uno o múltiples vehículos o excipientes farmacéuticamente aceptables. En un aspecto, la composición farmacéutica se formula para administración oral.

El compuesto de la invención puede administrarse para aplicaciones de liberación inmediata, retardada, modificada, sostenida, por pulsos o controlada.

En un aspecto, las composiciones orales son comprimidos o cápsulas de liberación lenta, retardada o localizada (por ejemplo, liberación entérica, especialmente colónica). Este perfil de liberación puede conseguirse, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento resistente a las condiciones en el interior del estómago, pero que libera el contenido en el colon o en otras partes del tracto GI donde se ha identificado un sitio de lesión o de inflamación. O se puede conseguir una liberación retardada por medio de un recubrimiento que simplemente se disgrega lentamente. O se pueden combinar los dos perfiles (liberación retardada y localizada) en una sola formulación por medio de la elección de uno o múltiples recubrimientos apropiados y otros excipientes. Estas formulaciones constituyen una característica adicional de la presente invención.

Las composiciones adecuadas para formulaciones de liberación retardada o localizada y/o para formulaciones orales con recubrimiento entérico incluyen formulaciones de comprimidos recubiertos con película hecha de materiales que son resistentes al agua, sensibles al pH, que se digieren o emulsionan por los jugos intestinales o que desaparecen a una velocidad lenta pero regular cuando se humedecen. Los materiales de recubrimiento adecuados incluyen, pero sin limitación, hidroxipropil metilcelulosa, etil celulosa, acetato ftalato de celulosa, poli(acetato ftalato de vinilo), ftalato de hidroxipropil metilcelulosa, polímeros de ácido metacrílico y sus ésteres, y combinaciones de los mismos. Pueden usarse plastificantes tales como, pero sin limitación, polietilenglicol, ftalato de dibutilo, triacetina y aceite de ricino. También se puede usar un pigmento para colorear la película. Los supositorios se preparan usando vehículos tales como manteca de cacao, bases de supositorios tales como Suppocire C y Suppocire NA50 (suministrados por Gattefossé Deutschland GmbH, D-Weil am Rhein, Alemania) y otros excipientes de tipo Suppocire obtenidos por interesterificación de aceite de palma hidrogenado y aceite de semilla de palma (triglicéridos C₈-C₁₈), esterificación de glicerol y ácidos grasos específicos, o glicéridos poliglicosilados y *whitepsol* (derivados de aceites vegetales hidrogenados con aditivos). Los enemas se formulan usando el compuesto activo apropiado de acuerdo con la presente invención y disolventes o excipientes para suspensiones. Se producen suspensiones usando compuestos micronizados y un vehículo apropiado que contiene agentes estabilizantes de suspensión, espesantes y emulsionantes tales como carboximetilcelulosa y sales de la misma, poli(ácido acrílico) y sales del mismo, polímeros de carboxivinilo y sales de los mismos, ácido alginico y sales del mismo, alginato de propilenglicol, quitosano, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, etilcelulosa, metilcelulosa, poli(alcohol vinílico),

- polivinilpirrolidona, polímero de N-vinilacetamida, poli(metacrilato de vinilo), polietilenglicol, pluronic, gelatina, copolímero de metil vinil éter-anhídrido maleico, almidón soluble, pululano y un copolímero de acrilato de metilo y acrilato de 2-etilhexilo lecitina, derivados de lecitina, ésteres de ácidos grasos de propilenglicol, ésteres de ácidos grasos de glicerina, ésteres de ácidos grasos de sorbitán, ésteres de ácidos grasos de polioxietilenado, ésteres de ácidos grasos de polietilenglicol, aceite de ricino hidratado polioxietilenado, ésteres de alquilo polioxietilenados y pluronic y un sistema tamponante apropiado en un intervalo de pH de 6,5 a 8. Es adecuado el uso de conservantes y agentes enmascarantes. El diámetro medio de las partículas micronizadas puede estar entre 1 y 20 micrómetros, o puede ser menor que 1 micrómetro. También se pueden incorporar los compuestos en la formulación usando sus formas salinas solubles en agua.
- 5
- 10 Como alternativa, se pueden incorporar materiales en la matriz del comprimido, por ejemplo hidroxipropil metilcelulosa, etilcelulosa o polímeros de ésteres del ácido acrílico y metacrílico. Estos últimos materiales también se pueden aplicar a los comprimidos mediante recubrimiento por compresión.
- Las composiciones farmacéuticas se pueden preparar mezclando una cantidad terapéuticamente eficaz de la sustancia activa con un vehículo farmacéuticamente aceptable que puede tener formas diferentes, dependiendo del modo de administración. Las composiciones farmacéuticas se pueden preparar usando excipientes farmacéuticos y métodos de preparación convencionales. Las formas para administración oral pueden ser cápsulas, polvos o comprimidos, a los que se pueden agregar los vehículos sólidos habituales que incluyen lactosa, almidón, glucosa, metilcelulosa, estearato de magnesio, fosfato dicálcico o manitol, así como excipientes líquidos orales habituales, que incluyen, sin limitaciones, etanol, glicerol y agua. Todos los excipientes se pueden mezclar con agentes disgregantes, disolventes, agentes de granulación, humectantes y aglutinantes. Cuando se usa un vehículo sólido para la preparación de composiciones orales (por ejemplo, almidón, azúcar, caolín, agentes aglutinantes y disgregantes), la preparación puede estar en forma de polvo, cápsulas que contienen gránulos o partículas recubiertas, comprimidos, cápsulas de gelatina duras o gránulos, sin limitación, y la cantidad de vehículo sólido puede variar (entre 1 mg y 1 g). Los comprimidos y las cápsulas son las formas de composición oral preferidas.
- 15
- 20
- 25 Las composiciones farmacéuticas que contienen el compuesto de la presente invención pueden estar en cualquier forma adecuada para el método de administración pretendido, incluyendo, por ejemplo, una solución, una suspensión o una emulsión. Los vehículos líquidos se usan típicamente para preparar soluciones, suspensiones, y emulsiones. Los vehículos líquidos contemplados para su uso en la práctica de la presente invención incluyen, por ejemplo, agua, solución salina, disolvente(s) orgánico(s) farmacéuticamente aceptable(s), aceites o grasas farmacéuticamente aceptables y similares, así como mezclas de dos o más de los mismos. El vehículo líquido puede contener otros aditivos farmacéuticamente aceptables adecuados tales como solubilizantes, emulsionantes, nutrientes, tampones, conservantes, agentes de suspensión, agentes espesantes, reguladores de la viscosidad, estabilizantes y similares. Los disolventes orgánicos adecuados incluyen, por ejemplo, alcoholes monohidroxilados, tales como etanol, y alcoholes polihidroxilados, tales como glicoles. Los aceites adecuados incluyen, por ejemplo, aceite de semilla de soja, aceite de coco, aceite de oliva, aceite de cártamo, aceite de semilla de algodón y similares. Para administración parenteral, el vehículo también puede ser un éster oleoso tal como oleato de etilo, miristato de isopropilo y similares. Las composiciones de la presente invención también pueden estar en forma de micropartículas, microcápsulas, encapsulados liposómicos y similares, así como combinaciones de dos o más cualesquiera de los mismos.
- 30
- 35
- 40 Los ejemplos de disgregantes farmacéuticamente aceptables para composiciones orales útiles en la presente invención incluyen, pero sin limitación, almidón, almidón pregelatinizado, almidón glicolato sódico, carboximetilcelulosa sódica, croscarmelosa sódica, celulosa microcristalina, alginatos, resinas, tensioactivos, composiciones efervescentes, silicatos de aluminio acuosos y polivinilpirrolidona reticulada.
- Los ejemplos de aglutinantes farmacéuticamente aceptables para composiciones orales útiles en la presente memoria incluyen, pero sin limitación, goma arábiga; derivados de celulosa, tales como metilcelulosa, carboximetilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa o hidroxietilcelulosa; gelatina, glucosa, dextrosa, xilitol, polimetacrilatos, polivinilpirrolidona, sorbitol, almidón, almidón pre-gelatinizado, goma de tragacanto, resina xantana, alginatos, silicato de magnesio-aluminio, polietilenglicol o bentonita.
- 45
- Los ejemplos de cargas farmacéuticamente aceptables para composiciones orales incluyen, pero sin limitación, lactosa, lactosa anhidra, lactosa monohidrato, sacarosa, dextrosa, manitol, sorbitol, almidón, celulosa (particularmente celulosa microcristalina), fosfato cálcico dihidratado o anhidro, carbonato cálcico y sulfato cálcico.
- 50
- Los ejemplos de lubricantes farmacéuticamente aceptables útiles en las composiciones de la invención incluyen, pero sin limitación, estearato de magnesio, talco, polietilenglicol, polímeros de óxido de etileno, lauril sulfato sódico, lauril sulfato de magnesio, oleato sódico, fumarato sódico de estearilo y dióxido de silicio coloidal.
- 55 Los ejemplos de saborizantes farmacéuticamente aceptables adecuados para las composiciones orales incluyen, pero sin limitación, aromas sintéticos y aceites aromáticos naturales tales como extractos de aceites, flores, frutas (por ejemplo, plátano, manzana, guinda, melocotón) y combinaciones de los mismos, y aromas similares. Su uso depende de muchos factores, siendo el más importante la aceptabilidad organoléptica para la población que tomará las composiciones farmacéuticas.

Los ejemplos de colorantes farmacéuticamente aceptables adecuados para las composiciones orales incluyen, pero sin limitación, colorantes sintéticos y naturales tales como dióxido de titanio, beta-caroteno y extractos de piel de pomelo.

5 Los ejemplos adecuados de edulcorantes farmacéuticamente aceptables para las composiciones orales incluyen, pero sin limitación, aspartamo, sacarina, sacarina sódica, ciclamato sódico, xilitol, manitol, sorbitol, lactosa y sacarosa.

Los ejemplos adecuados de tampones farmacéuticamente aceptables incluyen, pero sin limitación, ácido cítrico, citrato sódico, bicarbonato sódico, fosfato sódico dibásico, óxido de magnesio, carbonato cálcico e hidróxido de magnesio.

10 Los ejemplos adecuados de tensioactivos farmacéuticamente aceptables incluyen, pero sin limitación, lauril sulfato sódico y polisorbatos.

15 Los ejemplos adecuados de conservantes farmacéuticamente aceptables incluyen, pero sin limitación, diversos agentes antibacterianos y antifúngicos tales como disolventes, por ejemplo etanol, propilenglicol, alcohol bencílico, clorobutanol, sales de amonio cuaternario, y parabenos (tales como metil parabeno, etil parabeno, propil parabeno, etc.).

Ejemplos adecuados de agentes estabilizantes y antioxidantes farmacéuticamente aceptables incluyen, pero sin limitación, ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), tiourea, tocoferol y butil hidroxianisol.

20 El compuesto de la invención también puede formularse, por ejemplo, en forma de supositorios que contienen, por ejemplo, bases de supositorio convencionales para uso en medicina humana o veterinaria o en forma de pesarios que contienen, por ejemplo, bases de pesario convencionales.

El compuesto de acuerdo con la invención puede formularse para administración tópica, para uso en medicina humana y veterinaria, en forma de pomadas, cremas, geles, hidrogeles, lociones, soluciones, champús, polvos (incluyendo polvos de pulverización o de uso externo), pesarios, tampones, pulverizaciones, baños, aerosoles, gotas (por ejemplo, gotas oculares, para el oído o nasales) o formulaciones epicutáneas.

25 Para la aplicación tópica en la piel, el compuesto de la presente invención puede formularse en forma de una pomada adecuada que contiene el compuesto activo suspendido o disuelto, por ejemplo, en una mezcla con uno o múltiples de los siguientes: aceite mineral, vaselina líquida, vaselina blanca, propilenglicol, compuesto de poli(óxido de etileno) poli(óxido de propileno), cera emulsionante, monoestearato de sorbitán, un polietilenglicol, parafina líquida, polisorbato 60, cera de ésteres cetílicos, alcohol cetearílico, 2-octildodecanol, alcohol bencílico y agua. Tales composiciones también pueden contener otros excipientes farmacéuticamente aceptables, tales como polímeros, aceites, vehículos líquidos, tensioactivos, tampones, conservantes, estabilizantes, antioxidantes, humectantes, emolientes, colorantes y saborizantes.

30

35 Los ejemplos de polímeros farmacéuticamente aceptables adecuados para tales composiciones tópicas incluyen, pero sin limitación, polímeros acrílicos; derivados de celulosa tales como carboximetilcelulosa sódica, metilcelulosa o hidroxipropilcelulosa; polímeros naturales tales como alginatos, goma de tragacanto, pectina, xantana y quitosano.

40 Como se ha indicado, el compuesto de la presente invención puede administrarse por vía intranasal o por inhalación y, convenientemente, se administra en forma de un inhalador de polvo seco o una presentación de pulverización de aerosol desde un recipiente a presión, bomba, pulverizador o nebulizador, con el uso de un propulsor adecuado, por ejemplo, un hidrofluoroalcano tal como 1,1,1,2-tetrafluoroetano (HFA 134AT) o 1,1,1,2,3,3,3-heptafluoropropano (HFA 227EA), o una mezcla de los mismos. En el caso de un aerosol presurizado, la unidad de dosificación se puede determinar proporcionando una válvula para suministrar una cantidad medida. El recipiente, bomba, pulverizador o nebulizador presurizado puede contener una solución o suspensión del compuesto activo, por ejemplo, usando una mezcla de etanol y el propulsor como disolvente, que puede contener adicionalmente un lubricante, por ejemplo, trioleato de sorbitán.

45 Las cápsulas y los cartuchos (hechos, por ejemplo, de gelatina) para su uso en un inhalador o insuflador se pueden formular para que contengan una mezcla en polvo del compuesto de la invención y una base en polvo adecuada tal como lactosa o almidón.

Para la administración tópica por inhalación, el compuesto según la invención puede administrarse para uso en medicina humana o veterinaria mediante un nebulizador.

50 Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden contener de 0,01 a 99% en peso por volumen del material activo. Para la administración tópica, por ejemplo, la composición generalmente contendrá 0,01-10%, más preferiblemente 0,01-1% del compuesto activo.

Se puede determinar una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de la presente invención por métodos conocidos en la técnica. Las cantidades terapéuticamente eficaces dependerán de la edad y del estado fisiológico

5 general del sujeto, de la vía de administración y de la formulación farmacéutica usada. Las dosis terapéuticas estarán generalmente entre aproximadamente 1 y 2000 mg/día, entre 5 y 2000 mg/día, entre 10 y 2000 mg/día y adecuadamente entre aproximadamente 30 y 1500 mg/día. Pueden usarse otros intervalos, incluyendo, por ejemplo, 50-500 mg/día, 50-300 mg/día, 50-100 mg/día, 100-200 mg/día, 5-100 mg/día, 5-50 mg/día. La dosis diaria que se
 10 emplea para el tratamiento humano agudo o crónico variará de 0,01 a 250 mg/kg de peso corporal, adecuadamente 0,1-5 mg/kg de peso corporal, adecuadamente 0,1-10 mg/kg de peso corporal, adecuadamente 2-100 mg/kg de peso corporal, o adecuadamente 5-60 mg/kg de peso corporal, que pueden administrarse en una a cuatro dosis al día, por ejemplo, dependiendo de la vía de administración y de la afección del sujeto. Cuando la composición comprende unidades de dosificación, cada unidad contendrá de 1 mg a 2 g de ingrediente activo, adecuadamente
 15 de 10 mg a 2 g de ingrediente activo, adecuadamente de 200 mg a 1 g de ingrediente activo, adecuadamente de 5 a 300 mg de ingrediente activo.

La administración puede ser una vez al día, dos veces al día, o más a menudo, y se puede disminuir durante la fase de mantenimiento de la enfermedad o trastorno, por ejemplo una vez cada dos o tres días en lugar de cada día o dos veces al día. La dosis y la frecuencia de administración dependerán de los signos clínicos con la reducción o
 20 ausencia de al menos uno o múltiples signos clínicos, preferiblemente más de uno de la fase aguda conocida por el especialista en la técnica. En un aspecto de la presente invención, la administración consiste en la dosificación oral una vez al día.

En un aspecto, la presente invención proporciona una combinación que comprende a) el compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y b) uno o múltiples agentes terapéuticamente activos adicionales.

25 Las combinaciones indicadas anteriormente pueden presentarse convenientemente para uso en forma de una composición farmacéutica y, por lo tanto, las composiciones farmacéuticas que comprenden una combinación como se ha definido anteriormente junto con uno o múltiples vehículos farmacéuticamente aceptables de los mismos representan un aspecto adicional de la invención.

Los componentes individuales de tales combinaciones se pueden administrar secuencial o simultáneamente en formulaciones farmacéuticas separadas o combinadas. Los especialistas en la técnica entenderán fácilmente las dosis apropiadas de agentes terapéuticos conocidos.

Método de preparación:

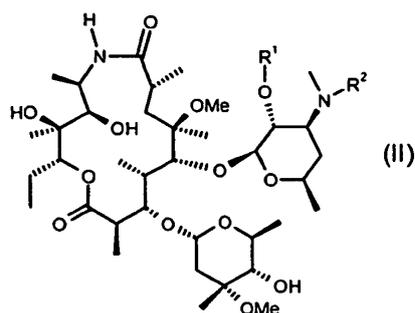
El compuesto de Fórmula (I) y las sales del mismo pueden prepararse por los métodos generales indicados más adelante en la presente memoria, constituyendo dichos métodos un aspecto adicional de la invención.

30 Para un experto en la materia será obvio que, con el fin de evitar interferencia con cualquiera de los grupos funcionales diferentes de aquellos en los que se han de realizar las modificaciones estructurales, debe escogerse una protección apropiada y una prioridad en la ruta sintética.

La síntesis del compuesto diana se completa retirando cualquier grupo protector que esté presente en el penúltimo intermedio usando técnicas convencionales, que son bien conocidas para los expertos en la materia. Después, el
 35 producto final desprotegido se purifica, cuando sea necesario, usando técnicas convencionales tales como cromatografía sobre gel de sílice, HPLC sobre gel de sílice y similares, o por recristalización.

Una discusión exhaustiva de los modos en los que se pueden proteger dichos grupos y de los métodos para escindir los derivados protegidos resultantes se da, por ejemplo, en T.W. Greene y P.G.M Wuts: *Protective Groups in Organic Synthesis* 2^a ed., John Wiley & Son, Inc 1991 y en P.J. Kocienski: *Protecting Groups*, Georg Thieme Verlag
 40 1994. Los ejemplos de grupos protectores de amino adecuados incluyen grupos protectores de tipo acilo (por ejemplo, formilo, trifluoroacetilo y acetilo), grupos protectores de tipo uretano aromático (por ejemplo, benciloxicarbonilo (Cbz) y Cbz sustituido, y 9-fluorenilmetoxicarbonilo (Fmoc)), grupos protectores de uretano alifático (por ejemplo, t-butiloxicarbonilo (Boc), isopropiloxicarbonilo y ciclohexiloxicarbonilo) y grupos protectores de tipo alquilo (por ejemplo, bencilo, tritilo y clorotritilo). Los ejemplos de grupos protectores de oxígeno adecuados
 45 pueden incluir, por ejemplo, grupos alquilsililo, tales como trimetilsililo o terc-butildimetilsililo; éteres de alquilo, tales como tetrahidropiranilo o *terc*-butilo; o ésteres tales como acetato. Los grupos hidroxilo pueden protegerse, por ejemplo, por reacción de anhídrido acético, anhídrido benzoico o un cloruro de trialkilsililo en un disolvente aprótico. Son ejemplos de disolventes apróticos diclorometano, N,N-dimetilformamida, dimetilsulfóxido, tetrahidrofurano y similares.

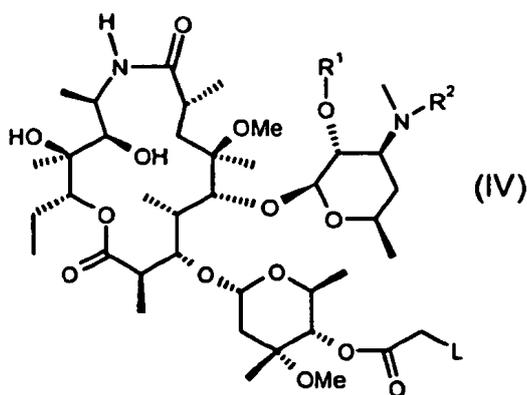
50 El compuesto de Fórmula (I) puede prepararse por reacción del compuesto de Fórmula (II) en la que R¹ es un grupo protector de hidroxilo y R² es un grupo protector de amino, con un ácido carboxílico o un derivado activado adecuado de ácido carboxílico de Fórmula (III), en la que cada uno de R³ y R⁴ es etilo o son independientemente un grupo convertible en etilo, seguido, cuando sea necesario, de la retirada posterior del grupo protector de hidroxilo R¹, el grupo protector de amino R², y la conversión del grupo -NR³R⁴ en -N(CH₂CH₃)₂.



5 Los derivados activados adecuados de Fórmula (III) incluyen los correspondientes haluro de acilo, anhídrido mixto o éster activado, tal como un tiol-éster.

La reacción se lleva a cabo preferiblemente en un disolvente aprótico apropiado tal como un halohidrocarburo (por ejemplo, diclorometano) o N,N-dimetilformamida, opcionalmente en presencia de una carbodiimida tal como hidrocloreuro de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida, dicitohexilcarbodiimida, o una base terciaria tal como 4-(dimetilamino)-piridina o trietilamina, o en presencia de una base inorgánica (por ejemplo, hidróxido sódico) y a una temperatura en el intervalo de 0° a 120°C.

En una realización más de la invención, el compuesto de Fórmula (I) también puede prepararse por reacción de un compuesto de Fórmula (IV) en la que L es un grupo saliente adecuado, R¹ es un grupo protector de hidroxilo y R² es un grupo protector de amino, con una amina de fórmula (V) en la que R³ y R⁴ son como se han definido anteriormente para la Fórmula (III).



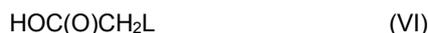
15 La reacción se realiza preferiblemente en un disolvente tal como un halohidrocarburo (por ejemplo, diclorometano), un éter (por ejemplo, tetrahidrofurano o dimetoxietano), acetonitrilo o acetato de etilo y similar, dimetilsulfóxido, N,N-dimetilformamida o 1-metil-pirrolidona y en presencia de una base, seguido, cuando sea necesario, de retirada del grupo protector de hidroxilo R¹, el grupo protector de amino R², y conversión del grupo -NR³R⁴ en -N(CH₂CH₃)₂. Ejemplos de las bases que se pueden emplear incluyen las bases orgánicas, tales como diisopropiletilamina, trietilamina y 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno y las bases inorgánicas tales como hidróxido de potasio, hidróxido de cesio, hidróxido de tetraalquilamonio, hidruro sódico, hidruro potásico y similares. Adecuadamente, L es un haluro (por ejemplo, cloruro, bromuro o yoduro) o un grupo sulfonato (por ejemplo, tosilato, metanosulfonato o triflato).

Los compuestos de Fórmula (II) son conocidos en la técnica o pueden prepararse a partir de la 6-O-metil-eritromicina A 9(E)-oxima por redistribución de Beckman de acuerdo con el procedimiento descrito en el documento WO99/51616, ejemplo 2, página 15, dando 6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A en una primera etapa, y después por mono-desmetilación subsiguiente del grupo 3-NMe₂ por técnicas convencionales, por ejemplo, por reacción con yodo con radiación de UV (preferiblemente con una lámpara halógena de 500 W), en presencia de acetato sódico trihidrato (documentos US 3.725.385 y WO2004/013153), o por reacción de 6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A con N-yodosuccinimida en acetonitrilo a temperatura ambiente (*J. Org. Chem.* 65 (2000) 3875-3876), o con yodo en presencia de morfolina, o por reacción con cloroformiato de bencilo, seguido de eliminación de

los grupos benciloxicarbonilo de las posiciones 2' y 3' tal como se describe en el documento US 5.250.51, y por protección final del grupo hidroxilo en C/2' y el grupo amino en la posición C/3' por técnicas convencionales.

5 Adecuadamente, la mono-desmetilación paralela del grupo 3'-NMe₂ y la inserción de dos grupos protectores de benciloxicarbonilo en las posiciones C/2'-hidroxilo y 3'-amino puede realizarse por reacción de 6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A con clorofornato de bencilo, de acuerdo con el procedimiento que se ha descrito en el documento US 5.250.518. La eliminación de los grupos benciloxicarbonilo de las posiciones 2' y 3' usando el procedimiento que se ha descrito en el documento US 5.250.518 puede llevarse a cabo después de la formación de C/4"-O-(2-dietilaminoetanoilo).

10 Los compuestos de Fórmula (IV) pueden prepararse por reacción de un compuesto de Fórmula (II), con un ácido carboxílico o un derivado activado adecuado del ácido carboxílico de Fórmula (VI)



15 en la que L es un grupo saliente adecuado como se ha definido anteriormente, tal como un haluro (por ejemplo, cloruro, bromuro o yoduro) o un grupo sulfonato (por ejemplo, tosilato, metanosulfonato o triflato). Los derivados activados adecuados del grupo carboxilo son los definidos anteriormente para el ácido carboxílico (III). La reacción se realiza usando las condiciones descritas anteriormente para la reacción de un compuesto de Fórmula (II) con un ácido carboxílico de Fórmula (III).

Los compuestos de Fórmula (III), (V) y (VI) son conocidos en la técnica o pueden prepararse por técnicas bien conocidas en la técnica.

20 Pueden obtenerse sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables, que también representan un objeto de la presente invención, por reacción del compuesto de fórmula (I) con al menos una cantidad equimolar del ácido inorgánico u orgánico correspondiente, tal como ácido clorhídrico, ácido yodhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido acético, ácido trifluoroacético, ácido propiónico, ácido benzoico, ácido bencenosulfónico, ácido metanosulfónico, ácido laurilsulfónico, ácido esteárico, ácido palmítico, ácido succínico, ácido etilsuccínico, ácido lactobiónico, ácido oxálico, ácido salicílico, y ácidos similares, en un disolvente inerte a la reacción. Las sales de adición se aíslan por evaporación del disolvente o, alternativamente, por filtración después de una precipitación espontánea o una precipitación mediante la adición de un codisolvente no polar.

25 Típicamente, una sal farmacéuticamente aceptable puede prepararse fácilmente usando un ácido deseado de acuerdo con métodos conocidos en la técnica. La sal puede precipitar en la solución y se puede recoger por filtración o se puede recuperar por evaporación del disolvente. Por ejemplo, puede añadirse una solución acuosa de un ácido tal como ácido clorhídrico a una suspensión acuosa del compuesto de fórmula (I) y la mezcla resultante puede evaporarse a sequedad o liofilizarse para obtener la sal de adición de ácidos en forma de un sólido. Como alternativa, el compuesto de fórmula (I) puede disolverse en un disolvente adecuado, por ejemplo un alcohol, tal como isopropanol, y el ácido puede añadirse en el mismo disolvente o en otro disolvente adecuado. La sal de adición de ácido resultante se puede precipitar después directamente o mediante la adición de un disolvente menos polar tal como éter diisopropílico o hexano, y se puede aislar por filtración.

Ensayos

40 El potencial para que el compuesto de la presente invención tenga un perfil ventajoso para proporcionar un beneficio terapéutico en el tratamiento de enfermedades inflamatorias dominadas por neutrófilos que se producen como resultado de infiltración neutrófila y/o enfermedades asociadas con una funcionalidad celular alterada de los neutrófilos, puede demostrarse, por ejemplo, usando los siguientes ensayos.

En el texto se utilizan las siguientes abreviaturas: ufc para unidad formadora de colonias, DMSO para dimetilsulfóxido, LPS para lipopolisacárido bacteriano, PBS para solución salina tamponada con fosfato y BAL para lavado bronquioalveolar.

Ensayos de estabilidad

45 Protocolo de estabilidad en sangre y plasma *in vitro*

Se realiza un estudio de estabilidad *in vitro* en sangre completa y plasma humanos en un periodo de 24 horas a 37 °C.

50 Se agrega a sangre y plasma humanos recién recogidos sin fármacos (se usa CPD - citrato-fosfato-dextrosa como anticoagulante para todas las recogidas de sangre) una solución patrón preparada previamente de compuesto de ensayo a una concentración final de 2000 ng/ml. Para cada compuesto, se añade a sangre y plasma por duplicado y se incuba durante 24 horas. Se toman muestras de dos partes alícuotas separadas de sangre o plasma (50 µl) de cada mezcla de incubación a 0, 15, 30, 60, 120, 240 y 1440 minutos. Todas las partes alícuotas se mezclan con un volumen equivalente de agua (50 µl) y se extraen con 300 µl de acetonitrilo/metanol (2:1) que contiene un patrón interno (roxitromicina). Después, las muestras se agitan de forma vorticial, se centrifugan y se analizan mediante

LS/MS/MS (modo MRM). Los resultados se expresan como el porcentaje de compuesto remanente, expresado como la relación de analito/patrón interno.

Protocolo de estabilidad en soluciones de tampón y en medios biocompatibles

- 5 Se controló la estabilidad en soluciones de tampón a de pH 2 a pH 8 a 25°C y en medios biorrelevantes (SGF a pH 1,6, SIF en ayunas a pH 6,5 y SIF con alimentación a pH 5,0) a 37°C, durante 24 horas. Las muestras se analizan mediante LC/MS.

Soluciones de tampón y medios fisiológicamente pertinentes usados en ensayos de estabilidad:

- 10 pH 2 - Tampón fosfato
 pH 3 - Tampón citrato
 pH 4 - Tampón citrato
 pH 5 - Tampón citrato
 pH 6 - Tampón citrato
 pH 7 - Tampón fosfato
 pH 8 - Tampón TRIS
- 15 SGF (Fluido gástrico simulado) pH 1,6
 SIF en ayunas (Fluido intestinal simulado) pH 6,5
 SIF con alimentación (Fluido intestinal simulado) pH 5,0

Condiciones de LC: Instrumento HP1100

Columna: Waters XBridge C18, 2,1 x 50 mm, 3,5 µm

- 20 Columna de resguardo: Waters XBridge C18, 2,1 x 10 mm, 3,5 µm

Fase móvil:

A) HCOOH al 0,1%/H₂O

B) HCOOH al 0,1%/CH₃CN

Tabla de tiempos de gradiente:

t/min	0	3	9	9,01	10	15
% de B	15	30	40	90	15	15

25

Flujo: 0,3 ml/min

Temp. de la columna: 25°C

Temp. de la muestra: 25°C (para el ensayo de estabilidad en soluciones tampón)

37°C (para el ensayo de estabilidad en medios biorrelevantes)

Volumen de inyector: 3 µl (sin programa de inyección)

Condiciones de MS: Instrumento HP MS

API-ES, modo de iones positivos

Intervalo de Masas:		150-1500
Fragmentador:		100
Ganancia:		1,0
Umbral:		150
Tamaño del incremento:		0,20
Temperatura del Gas:		350°C
Flujo del Gas Secante:		13 l/min
Presión del Nebulizador:		35 psig
Voltaje por Capilaridad:	Positivo	4000 V
	Negativo	4000 V

Preparación de las muestras:

a) Para el ensayo de estabilidad en soluciones tampón

- 5 Los compuestos se disuelven en CH₃CN para producir una solución madre de 1 mg/ml. La solución madre se diluye a una concentración de 0,2 mg/ml (1 ml de solución en 4 ml de tampón) con el tampón apropiado para producir una solución de trabajo.

10 Cada solución a cada pH se dispone después en viales que se cierran herméticamente y se almacenan a temperatura ambiente para analizarse en el punto temporal apropiado. Antes del análisis, se comprueban los valores de pH de las soluciones de muestra preparadas y se ajustan en caso necesario.

b) Para el ensayo de estabilidad en medios biorrelevantes

b1) Para ensayo de medios SGF a pH 1,6 :

15 Se disuelven los compuestos en medios SGF a pH 1,6 para dar una solución de 0,2 mg/ml en el caso de los compuestos 1 y 2, y para dar una solución de 0,1 mg/ml en el caso del compuesto 3. Después, las soluciones se almacenan en un baño de agua a 37 °C y se retiran en el punto temporal apropiado para análisis de LC/MS. Antes del análisis, se comprueban los valores de pH de las soluciones de muestra preparadas y se ajustan si es necesario.

b2) Para ensayo de medios SIF en ayunas a pH 6,5 :

20 Se disuelven los compuestos en medios SIF en ayunas a pH 6,5 para dar una solución de 0,2 mg/ml. Después, las soluciones se disponen en viales que se almacenan en un baño de agua a 37°C y se retiran en el punto temporal apropiado y se diluyen 10 veces con CH₃CN para análisis de LC/MS. Antes del análisis, se comprueban los valores de pH de las soluciones de muestra preparadas y se ajustan en caso necesario.

b3) Para ensayo de medios SIF con alimentación a pH 5,0:

25 Se disuelven los compuestos en medios SIF con alimentación a pH 5,0 para dar una solución de 0,2 mg/ml. Después, las soluciones se disponen en viales que se almacenan en un baño de agua a 37°C y se retiran en el punto temporal apropiado y se diluyen 40 veces con CH₃CN para análisis de LC/MS. Antes del análisis, se comprueban los valores de pH de las soluciones de muestra preparadas y se ajustan en caso necesario.

Protocolos de exploración *in vivo*

Neutrofilia pulmonar inducida por lipopolisacárido bacteriano (LPS) en ratones BALB/cJ machos

30 Para la administración por vía intraperitoneal (i.p.) se disuelven los compuestos a una concentración final de 10 mg/ml. La cantidad de compuesto necesaria se disuelve primero en dimetilsulfóxido (DMSO, Sigma) y después se diluye con metilcelulosa al 0,5% (p/v) de modo que la concentración final de DMSO sea del 5% (v/v). La solución obtenida se aplica en un volumen de dosis de 0,2 ml por 10 g de animal. Por lo tanto, la dosis de compuesto es de 200 mg/kg.

35 Ratones BALB/cJ machos (Charles River, Francia) con un peso medio de ~30 g, se agrupan aleatoriamente (n = 8 en el grupo de ensayo, 10 en el control positivo y 8 en el control negativo). Los ratones reciben por vía

intraperitoneal (i.p.) una sola dosis de 200 mg/kg de compuesto de ensayo. Dos horas después de la administración, se administran por vía intranasal 2 µg de LPS (de *Escherichia coli* serotipo 0111:B4, Sigma) disuelto en PBS estéril en un volumen de 60 µl a todos los grupos experimentales, excepto al grupo de control negativo, que recibe el mismo volumen de vehículo (PBS). Los animales se sacrifican aproximadamente 24 horas después de la aplicación del LPS para obtener líquido de lavado bronquioalveolar (BALF), que se usa para determinar el número absoluto de células y el porcentaje de neutrófilos. Los resultados se expresan como porcentaje de disminución en el número total de células y en el número de neutrófilos en BALF de animales tratados en comparación con los del control positivo (expuestos a LPS, pero animales no tratados).

Protocolo de selección *in vitro*

10 Exploración antibacteriana

Se determina la actividad antimicrobiana de compuestos en células completas contra bacterias clínicamente relevantes (*Staphylococcus aureus* ATCC13709, *Streptococcus pneumoniae* ATCC49619, *Streptococcus pyogenes* ATCC700294, *Moraxella catarrhalis* ATCC23246, *Haemophilus influenzae* ATCC49247 y *Escherichia coli* ATCC25922) por microdilución en caldo usando el procedimiento recomendado por el Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (CLSI) (Documento M7-A6A7, *Methods for Dilution Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically*). Los compuestos se disuelven en DMSO para producir una solución madre de 50 mM. La solución madre se diluye a una concentración de 128 µg/ml en medios apropiados (medio de ensayo de *Haemophilus* para *Haemophilus influenzae*, caldo de Mueller-Hinton para *Staphylococcus aureus*, *Moraxella catarrhalis* y *Escherichia coli* y caldo de Mueller-Hinton complementado con suero de caballo al 5% para *Streptococcus pyogenes* y *Streptococcus pneumoniae*) para producir una solución de trabajo. Se usa una estación de trabajo Tecan Genesis 150 (Tecan Group Ltd. Mannedorf, Suiza) para preparar diluciones seriadas de dos veces (partes alícuotas de 50 µl) de la solución de trabajo en una placa de microtitulación de 96 pocillos de fondo en forma de U. Después de diluir los compuestos, se añade una parte alícuota de 50 µl del aislado de ensayo (1×10^6 ufc/ml) a cada pocillo de la placa de microtitulación. Las concentraciones de ensayo finales varían de 0,125 a 64 µg/ml. Las placas inoculadas se incuban a 35°C en aire ambiente durante un periodo de 18 a 24 horas. Se determina la concentración inhibitoria mínima (CIM) como la concentración más baja de compuesto que inhibe el crecimiento visible.

Sin embargo, un especialista en la técnica apreciará que el compuesto de la presente invención puede tener diferentes niveles de actividad contra diferentes cepas de las mismas bacterias.

Ensayo de citotoxicidad en líneas celulares THP-1 y HepG2

30 Se cultivan células THP-1 en medio RPMI 1640 (Institute of Immunology, Zagreb) suplementado con suero bovino fetal al 10% (FBS; BioWest), penicilina 50 U/ml, estreptomycin 50 µg/ml y anfotericina B 2,5 µg/ml (Fungizona) (todos de Gibco).

Se mantienen células HepG2 en medio esencial mínimo de Eagle (MEM; Gibco) que contiene FBS al 10%, piruvato sódico 1mM, aminoácidos no esenciales 0,1mM, penicilina 50 U/ml, estreptomycin 50 µg/ml y anfotericina B 2,5 µg/ml (Fungizona) (todos de Gibco).

Para determinar si la actividad antiinflamatoria de los compuestos de ensayo se debe a la inhibición observada de la producción de citoquinas y no es una consecuencia de la citotoxicidad celular, se realiza una medición de la actividad de succinato deshidrogenasa en células vivas. Las células se cultivan durante 24 h en medio de cultivo tisular apropiado en presencia de los compuestos de ensayo a concentraciones de 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,13, 1,56, 0,78 µM. Después se añade MTT [bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio] (Promega, EE.UU.), un reactivo de detección, y los cultivos se incuban durante 0,5 - 2 h. La cantidad de MTT-formazán producida se determina usando un espectrofotómetro a 492 nm (Mosmann, *J. Immunol Methods*, (1983) 65: 55-63). El porcentaje de inhibición del crecimiento celular se calcula usando la fórmula siguiente:

$$\% \text{ de inhibición del crecimiento celular} = \text{DO}_{492} \text{ de células tratadas} / \text{DO}_{492} \text{ de células no tratadas} \times 100$$

45 **Ejemplos**

En el texto se utilizan las siguientes abreviaturas: EtOAc para acetato de etilo, DCM para diclorometano, EDCxHCl para hidrocloruro de 1-etil-3(3-dimetilaminopropil)carbodiimida, DMAP para 4-(dimetilamino)-piridina, EtOH para etanol, EtOAc para acetato de etilo, DMSO para dimetilsulfóxido, MeOH para metanol, TEA para trietilamina, DEA para dietilamina, MTBE para metil terc-butyl éter, i-PrOH para isopropanol e iPrOAc para acetato de isopropilo.

50 Los compuestos y procedimientos de la presente invención se entenderán mejor en relación con los siguientes ejemplos, que pretenden ser sólo una ilustración y no limitar el alcance de la invención. Para los especialistas en la técnica serán evidentes diversos cambios y modificaciones en las realizaciones descritas y estos cambios y modificaciones incluyendo, sin limitación, los relacionados con las estructuras químicas, sustituyentes, derivados, formulaciones y/o métodos de la invención pueden realizarse sin apartarse del espíritu de la invención ni del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

En los procedimientos que se muestran a continuación, típicamente se hace referencia por un número al producto de un Intermedio o Ejemplo. Esto se proporciona meramente para ayudar al químico especialista a identificar el material de partida usado. El material de partida puede no haberse preparado necesariamente a partir del lote indicado.

5 Puede prepararse 6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A de acuerdo con el procedimiento del documento WO99/51616, ejemplo 2, página 15.

10 Las formas polimórficas del compuesto de la fórmula (I) se pueden caracterizar y diferenciar utilizando una serie de técnicas analíticas convencionales, incluyendo, pero sin limitación, difracción de polvo de rayos X (XRPD), espectroscopia Raman, calorimetría diferencial de barrido (DSC), análisis termogravimétrico (TGA) y espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN). Estas técnicas pueden emplearse solas o junto con otras técnicas para caracterizar una muestra y distinguir una forma de la otra del compuesto de Fórmula (I).

Difracción de rayos X en polvo (XRPD)

Los datos de difracción de polvo de rayos X (XRPD) se adquirieron con un difractómetro de polvo PANalytical X'Pert ProTM, modelo PW3040/60, usando un detector X'Celerator. Las condiciones de adquisición fueron:

15 a) radiación: Cu K α , tensión de generador: 45 kV, corriente del generador: 40 mA, ángulo inicial: 3,0 ° 2 θ , Ángulo final: 40,0 °2 θ , Tamaño del paso: 0,0167 °2 θ , Tiempo por paso: 104,7 segundos; o

b) radiación: Cu K α , tensión de generador: 40 kV, corriente del generador: 45 mA, ángulo inicial: 2,0 °2 θ , Ángulo final: 40,0 °2 θ , Tamaño del paso: 0,0167 °2 θ , Tiempo por paso: 31,75 segundos.

La muestra se preparó montando algunos miligramos de muestra en placas de oblea de Si (fondo cero), produciendo una capa fina de polvo para el análisis.

20 Hay algún margen de error en cada una de las asignaciones de los ángulos 2 theta y de las distancias interplanares d. El margen de error dependerá de una serie de factores, incluyendo la temperatura exacta a la que se miden los valores. El margen de error en los ángulos 2 theta mencionados es de aproximadamente $\pm 0,2$ grados para cada una de las asignaciones de los picos mencionadas. Puesto que es posible algún margen de error en la asignación de los ángulos 2 theta y de las distancias interplanares d, un método útil para comparar los patrones de XRPD con el fin de
25 identificar la forma particular de una muestra del compuesto de Fórmula (I) es superponer el patrón de XRPD de la forma de muestra del compuesto de Fórmula (I) sobre el patrón de XRPD de la otra forma de muestra del compuesto de Fórmula (I).

Espectroscopia Raman

30 Todos los análisis Raman se realizaron en un espectrómetro Raman dispersivo Kaiser Optical Systems HoloWell con una etapa XYZ automatizada. La excitación se proporcionó por un diodo láser a 785 nm. Se pusieron aproximadamente 5-20 mg de muestra en placas vitrificadas con borosilicato o dentro de un vial de muestras de vidrio. Se esperan ligeras variaciones en los picos Raman observados, basadas en el espectrómetro específico empleado y en la técnica de preparación de la muestra por parte del analista. El margen de error en las posiciones de banda anteriores es de $\pm 2\text{cm}^{-1}$. Los espectros Raman proporcionados en la presente memoria muestran en el eje
35 x números de onda en cm^{-1} y en el eje y la intensidad en unidades arbitrarias.

Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

La DSC se realizó en un calorímetro Mettler Toledo DSC 822e equipado con un sistema de enfriamiento refrigerado. La muestra se calentó en un crisol de aluminio perforado a una velocidad de calentamiento de 10°C/minuto de 25 a 300°C. Se mantuvo una purga de nitrógeno a 50 ml/min sobre la muestra.

40 Se esperan variaciones significativas en los endotermos observados con respecto al termograma DSC de cada una de las formas del compuesto de Fórmula (I), basadas en la configuración específica del instrumento y del crisol empleados, en la técnica de preparación de la muestra por parte del analista, y en el tamaño de partícula y peso de la muestra. Normalmente está presente cierto margen de error en las características endotermas, es decir, el margen de error está aproximadamente en el orden de $\pm 2,00^\circ\text{C}$.

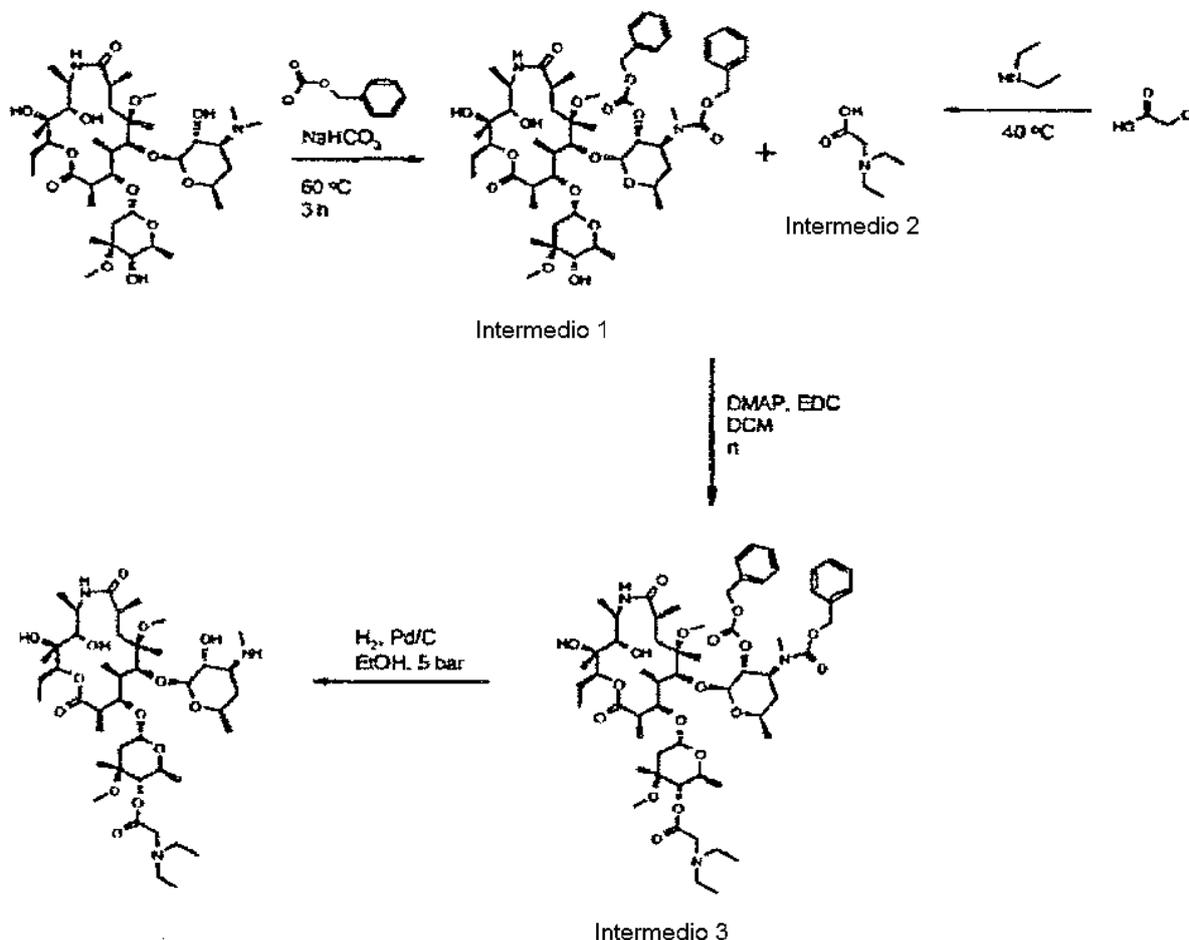
45 Análisis termogravimétrico (TGA)

El TGA se realizó en un sistema Mettler Toledo TGA/SDTA 851e. La muestra se cargó sobre un crisol de aluminio tarado previamente, y se calentó a una velocidad de calentamiento de 10°C/minuto de 25° a 300°C. Se mantuvo una purga de nitrógeno a 50 ml/min sobre la muestra.

Ejemplo 1

50 3'-N-Desmetil-4"-O-(2-dietilaminoetanoil)-6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A

MÉTODO A



Intermedio 1:

3'-*N*-Desmetil-2'-*O*-3'-*N*-di-[[fenilmetil]oxi]carbonil-6-*O*-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A

- 5 A la suspensión calentada (60°C) de NaHCO₃ (13,2 g, 157,3 mmol) en cloroformato de bencilo (30 ml, 209,7 mmol) se le añadió gradualmente 6-*O*-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A (10 g, 13,1 mmol) durante 2 h. La mezcla de reacción se agitó a 60°C durante 1 h más. Después, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se añadieron hexano (150 ml) y agua (150 ml) y el precipitado pegajoso obtenido se retiró por filtración, se disolvió en EtOAc (150 ml) y se lavó con agua (2 x 100 ml). Después de secar sobre Na₂SO₄ anhidro, la capa orgánica se evaporó, al residuo se le añadió éter dietílico (80 ml) y el producto precipitó mediante la adición de hexano (200 ml) con refrigeración con hielo. El precipitado obtenido se filtró y se lavó con hexano frío (50 ml) para producir el Intermedio 1 del título (12,7 g), MS (ES⁺) m/z: 1039,28 [MH + Na]⁺.
- 10

Intermedio 2:

Ácido dietilaminoacético

- 15 Una solución de ácido cloroacético (30 g, 0,32 mol) en dietilamina (230 ml, 2,2 mol) se agitó durante una noche. El precipitado de color blanco obtenido se retiró por filtración. El filtrado se evaporó a sequedad para producir un aceite de color amarillo al que se le añadió EtOAc (300 ml). El precipitado de color blanco obtenido se retiró de nuevo por filtración. El filtrado se evaporó para producir un residuo sólido de color amarillo (44 g) que se lavó con hexano (2 x 100 ml), EtOAc (2 x 50 ml) y de nuevo con hexano (50 ml), y después se secó al vacío para producir el Intermedio 2 del título (38 g).
- 20

¹H RMN (500 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 8,85 (1 H, s a), 3,56 (2 H, s), 3,29 (4 H, c, J = 7,3 Hz), 1,36 (6 H, t, J = 7,3 Hz).

Intermedio 3:

3'-N-Desmetil-4"-O-(2-dietilaminoetanoil)-2'-O-3'-N-di-[[[fenilmetil]oxi]carbonil]-6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A

5 A una solución del Intermedio 1 (12,7 g, 12,5 mmol) en DCM (35 ml) se añadieron EDC x HCl (14,4 g, 74,9 mmol), DMAP (9,15 g, 74,9 mmol) y el Intermedio 2 (ácido dietilaminoacético) (9,83 g, 74,9 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante la noche (aproximadamente 17 horas) a temperatura ambiente, se diluyó con EtOAc (450 ml) y se lavó con NaHCO₃ saturado (3 x 170 ml), NH₄Cl saturado (3 x 170 ml) y salmuera (350 ml). La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, el disolvente se evaporó y el residuo se suspendió en éter de petróleo (250 ml), se agitó durante 2 horas, se filtró y se lavó con éter de petróleo (30 ml), para producir el Intermedio 3 del título (12,2 g), MS (ES+) m/z: 1130,39 [MH]⁺.

3'-N-Desmetil-4"-O-(2-dietilaminoetanoil)-6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A

15 *Método 1.* A una solución del Intermedio 3 (12,2 g, 10,8 mmol) en EtOH (200 ml) se añadió Pd al 10%/C (1,22 g) y la mezcla de reacción se hidrogenó a 5 bar durante una noche (aproximadamente 17 horas). El catalizador se retiró por filtración y el filtrado se evaporó. Al residuo se añadieron DCM (200 ml) y agua (200 ml) y el pH se ajustó (HCl 1 N) a 4,7. Las capas se separaron y la extracción a pH 4,7 se repitió con DCM (3 x 150 ml). A la capa de agua se añadió DCM recién preparado (150 ml) y el pH se ajustó (NaOH 1 N) a 5,7. Las capas se separaron y la extracción a pH 5,7 se repitió con DCM (2 x 20 ml, 7 x 150 ml). Las capas orgánicas combinadas a pH 5,7 se concentraron hasta alcanzar un volumen de 150 ml, se añadió agua (150 ml) y el pH se ajustó (agua/NH₄OH = 1/1) a 9,5. La capa orgánica se separó y se evaporó para producir el producto del título del Ejemplo 1 (7,25 g, MS (ES+) m/z: 862,34 [MH]⁺).

20 *Método 2.* A una solución del Intermedio 3 (11,52 g, 10,2 mmol) en EtOH (200 ml) se añadió Pd al 10%/C (1,15 g) y la mezcla de reacción se hidrogenó a 5 bar durante la noche (aproximadamente 17 horas). El catalizador se retiró por filtración y el filtrado se evaporó. El residuo se disolvió en acetona (25 ml) y el producto precipitó mediante la adición de éter de petróleo (250 ml) para producir el producto del título (6,9 g) que se recristalizó adicionalmente en acetonitrilo para producir el producto del título (4,36 g). La evaporación de las aguas madre y la re-precipitación produjeron una cantidad adicional del producto del título del Ejemplo 1 (2,27 g).

MS (ES+) m/z : 862,11 [MH]⁺.

30 ¹H RMN (500 MHz, CLOROFORMO-d) δ ppm 6,12 (1 H, d, J = 8,2 Hz), 4,88 (1 H, d, J = 4,9 Hz), 4,72 (1 H, d, J = 9,8 Hz), 4,68 (1 H, dd, J = 10,7, 1,5 Hz), 4,55 (1 H, d, J = 7,6 Hz), 4,39 (1 H, m), 4,21 (1 H, dd, J = 6,1, 1,5 Hz), 4,16 (1 H, m), 3,79 (1 H, m), 3,74 (1 H, d, J = 6,4 Hz), 3,43 (1 H, d, J = 17,2 Hz), 3,31 (3 H, s), 3,31 (3 H, s), 3,31 (1 H, d, J = 17,1 Hz), 3,28 (1 H, d, J = 4,3 Hz), 3,21 (1 H, s a), 3,14 (1 H, dd, J = 9,8, 7,3 Hz), 2,83 (1 H, m), 2,69 (4 H, c, J = 7,3 Hz), 2,59 (1 H, ddd, J = 11,5, 9,8, 4,6 Hz), 2,43 (3 H, s), 2,37 (1 H, d, J = 15,0 Hz), 2,22 (1 H, dc, J = 7,3, 7,1 Hz), 2,01 (1 H, dd, J = 15,0, 8,2 Hz), 1,89 (3 H, m), 1,62 (1 H, dd, J = 15,0, 4,9 Hz), 1,56 (1 H, m), 1,33 (3 H, s), 1,29 (1 H, d, J = 13,7 Hz), 1,24 (3 H, d, J = 7,6 Hz), 1,16 (12 H, m), 1,12 (3 H, s), 1,09 (4 H, d, J = 7,1 Hz), 1,07 (6 H, t, J = 7,3 Hz), 0,98 (3 H, d, J = 7,6 Hz), 0,90 (3 H, t, J = 7,5 Hz).

MÉTODO B

Intermedio 1:

3'-N-Desmetil-2'-O-3'-N-di-[[[fenilmetil]oxi]carbonil]-6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A

Etapa a) 6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A

40 Se cargó 6-O-metil eritromicina A 9(E)-oxima (2,0 kg) en un reactor revestido de vidrio de 50 l seguido de acetona (20 l). La mezcla se enfrió a -10°C y se añadió cloruro de tolueno-2-sulfonilo (775 g, 1,55 eq.) en acetona (5,5 l) durante 20 minutos. La temperatura durante la adición aumentó hasta -8°C. Después, se añadió gota a gota NaHCO₃ (460 g) en agua (25 l) durante 1 hora y 40 min, manteniendo la temperatura interna por debajo de 0°C. La mezcla se calentó a 20°C, se agitó durante 2 horas y después se añadió KOH 1 M (6 l). La camisa calefactora se ajustó a 70°C y el volumen de la reacción se redujo al vacío hasta 18 l. La mezcla se enfrió a 10°C y se filtró en un Nutsche (filtro seitz K200) y la torta de filtro se lavó con agua (8 l). El precipitado de color blanquecino intenso se secó al aire en el filtro durante una noche y después al vacío a 32°C para producir el producto del título (1670 g, R = 83,5%, pureza por LC-MS acorde a la referencia).

Etapa b) 3'-N-Desmetil-2'-O-3'-N-di-[[[fenilmetil]oxi]carbonil]-6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A

50 Lote A) Se cargó 6-O-Metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A (1,01 kg) en un reactor de 20 l seguido de dioxano (4 l) y NaHCO₃ (1,49 kg). La temperatura de la camisa se ajustó a 90°C. Cuando la temperatura interna alcanzó 72°C, se inició la adición de cloroformiato de bencilo (800 ml, 4,4 eq. también conocido como cloruro de carbobenzoxi o cloroformiato de fenilmetilo) y se continuó durante 4 horas y 10 min. Después de 30 min, se añadió más cantidad de cloroformiato de bencilo (30 ml). La conversión total se confirmó por LC-MS y la mezcla se enfrió a 20°C, se diluyó

con MTBE (6 l), se inactivó con KOH 0,01 M (5 l) y se agitó durante la noche. La capa acuosa se retiró y la capa orgánica se lavó con agua (2 x 5 l) y salmuera (2 l). El volumen de la capa orgánica fue de 7 l y la solución se transfirió a un embudo de adición. Se cargó heptano (14 l) en el reactor y se enfrió a 10°C. Después, al heptano agitado se le añadió cuidadosamente una solución de MTBE desde el embudo de adición. Después de que se añadieran aprox. 2/3 de la solución, las partículas suspendidas comenzaron a formar un coágulo que dio como resultado un aceite pegajoso en el fondo del reactor. Después de que se retirara casi todo el heptano, se añadieron MTBE (1 l) y DCM (5 l) hasta que todo se disolvió.

La solución obtenida se añadió al Lote B.

Lote B: Se cargó dioxano (11 l) en un reactor de 50 l seguido de 6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A (2,7 kg) y NaHCO₃ (4,0 kg). La camisa se ajustó a 85°C y cuando la temperatura interna alcanzó 70°C, se inició la adición de cloroformiato de bencilo (2,25 l, 4,5 eq. también conocido como cloruro de carbobenzoilo o cloroformiato de fenilmetilo) y se continuó durante 8 horas. Después, se añadió más cantidad de cloroformiato de bencilo (50 ml). La conversión total se confirmó por LC-MS y la mezcla se enfrió a 20°C, se diluyó con MTBE (15 l), se inactivó con KOH 0,01 M (15 l) y se dejó durante el fin de semana. La capa acuosa se retiró, la capa orgánica se lavó con agua (2 x 15 l) y salmuera (10 l), y se combinó con una solución del Lote A. El volumen se redujo al vacío hasta -10 l y la solución se transfirió a un embudo de adición. Se cargó heptano (45 l) en el reactor y se enfrió a 10°C. Después, la solución de MTBE se añadió cuidadosamente a heptano bien agitado durante 10 min. El precipitado amorfo de color blanco resultante se filtró mediante un Nutsche (filtro seitz K200), se lavó con heptano (2 x 5 l) y se secó al aire en el filtro durante 48 horas para producir el producto del título (5,8 kg, pureza por LC-MS acorde a la referencia). El material húmedo se usó en la siguiente reacción sin tratamiento adicional.

Intermedio 2:

Ácido dietilaminoacético

Se cargó dietilamina (9,5 l) en un reactor revestido de vidrio de 20 l y se enfrió a 3°C. Se añadió ácido cloroacético (1,21 kg) en MTBE (1,8 l) durante 1 hora con refrigeración – la temperatura aumentó hasta 16°C durante la adición. La mezcla se calentó a 20°C, se agitó durante una noche y se concentró sobre el evaporador rotatorio, dando un aceite de color amarillo. Este aceite se concentró de nuevo con iPrOAc, se mezcló con iPrOAc (4,5 l) y se agitó durante la noche. El precipitado higroscópico de color blanquecino se filtró, se lavó con iPrOAc (1,5 l) y se puso inmediatamente en un armario de secado para evitar la deliquesencia. Después del secado, se obtuvo el producto del título (820 g, R = 49%).

Intermedio 3:

3'-N-Desmetil-4"-O-(2-dietilaminoetanoil)-2'-O-3'-N-di-[[fenilmetil]oxi]carbonil]-6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A

Se cargó DCM (10 l) en el reactor revestido de vidrio de 50 l y la temperatura interna se ajustó a +5°C. Después, todos los reactivos se cargaron en una porción en el siguiente orden: 3'-N-desmetil-2'-O-3'-N-di-[[fenilmetil]oxi]carbonil]-6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A (2800 g, material húmedo), ácido dietilaminoacético (800 g, 2,2 eq.), DMAP (745 g, 2,2 eq.) y EDCxHCl (1170 g, 2,2 eq.). Esto dio como resultado una disminución de la temperatura endoterma hasta +2°C. La mezcla se agitó durante una noche a +20°C, se enfrió a +10°C, se inactivó con NaHCO₃ acuoso saturado (20 l) y se agitó durante 0,5 horas. Se añadió EtOAc (25 l), la capa acuosa se separó y se desechó y la capa orgánica se lavó con NH₄Cl acuoso saturado (2 x 12 l) y salmuera (10 l). El volumen se redujo al vacío hasta alcanzar -8 l. Se cargó heptano (45 l) en un segundo reactor y se enfrió a 8-10°C. La solución concentrada de DCM/EtOAc se añadió cuidadosamente al heptano enfriado durante 20 minutos con buena agitación. El precipitado amorfo de color blanco resultante se filtró en el Nutsche (filtro seitz K200), se lavó con heptano (8 l) y se secó al aire en el filtro durante una noche para producir el producto del título en bruto (2,5 kg, R = 79%, perfil de LC-MS acorde a la referencia).

El sólido en bruto (2,38 kg) se disolvió en MTBE a temperatura de reflujo (18,3 l) a 50°C y se añadió lentamente heptano (15 l) durante 20 minutos, manteniendo la temperatura interna a aproximadamente 50°C. La mezcla se pipeteó, se dejó enfriar a 20°C y se agitó durante una noche. El precipitado de color blanco se filtró, se lavó con 1:1 de MTBE/heptano (5 l) y después con heptano puro (3 l) y se secó al aire durante 24 horas para producir el producto del título (1,9 kg, R = 63%, perfil de LC-MS acorde a la referencia, pureza por LC de 98,5%).

3'-N-Desmetil-4"-O-(2-dietilaminoetanoil)-6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A

Se disolvió 3'-N-desmetil-4"-O-(2-dietilaminoetanoil)-2'-O-3'-N-di-[[fenilmetil]oxi]carbonil]-6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A (1,9 kg) en MeOH (16 l) y la solución resultante se cargó en un autoclave de 20 l seguido de la adición de Pd al 10%/C (150 g, húmedo, 60% de H₂O) en MeOH (0,5 l). El autoclave se evacuó y se cargó con hidrógeno (se repitió dos veces con el fin de retirar todo el oxígeno residual). Después de recargar el autoclave con hidrógeno, la mezcla se hidrogenó a 1,5-3 bar durante 10 horas. El Pd/C se retiró por filtración a través de celite y la torta se lavó con MeOH (1 l). La solución resultante se cargó en un reactor de 50 l, se añadió eliminador de Pd (Biotage MP-TMT, 50 g) y la mezcla se agitó a la temperatura ambiente durante una noche. Después, la mezcla se

filtró, se transfirió a un recipiente de plástico y se almacenó a -10°C . Después de esto, la mezcla de MeOH se transfirió al reactor y se concentró casi a sequedad. Después, se cargó EtOAc (12,5 l) seguido de agua (10 l) y una solución 1 M de HCl (3 l). La fase orgánica se separó y se desechó. A la fase acuosa se le añadieron NaHCO_3 sólido (280 g) y EtOAc (10 l) y se añadió salmuera (1 l) para conseguir la separación. Después de la separación de las capas, el producto se extrajo con EtOAc (2 x 7 l) y las fases orgánicas combinadas se concentraron al vacío casi a sequedad, se diluyeron con heptano (2 l) y se concentraron de nuevo. Después, se añadió éter dietílico (7 l), la mezcla se agitó durante 3,5 horas, el precipitado de color blanco se filtró, se lavó con aproximadamente 2 l de éter dietílico y se secó al aire durante la noche para dar el producto del título del Ejemplo 1 (946 g, R = 65%, perfil de ^1H RMN acorde a la referencia, con la diferencia en los desplazamientos químicos de varios protones situados alrededor de C/3'-NHCH₃, lo que sugiere la formación de una sal HCl parcial, pureza por HPLC de 97,8%).

Quedó una cantidad considerable de precipitado restante en el reactor. Se disolvió en MeOH y se concentró en el evaporador rotatorio. El residuo oleoso obtenido se suspendió en éter dietílico (2 l), se agitó durante 3 horas, se filtró, se lavó con éter dietílico (300 ml) y se secó al aire durante una noche, dando una cantidad adicional del producto del título en bruto (250 g, R = 17%).

La formación de la base libre se consiguió usando amoniaco acuoso o usando una solución saturada de NaHCO_3 :

El producto (20 g, 10 g de la sal HCl parcial + 10 g de material en bruto) se disolvió en DCM (150 ml), se mezcló con una solución acuosa de amoniaco (al 12,5%, 100 ml) o con una solución saturada de NaHCO_3 (100 ml) y se agitó durante 1,5 horas. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con más cantidad de DCM (75 ml). Las capas orgánicas combinadas se concentraron casi a sequedad, se suspendieron en éter dietílico (100 ml) y el volumen se redujo ligeramente (a aproximadamente 90 ml), lo que dio como resultado una lenta precipitación de la 3'-N-desmetil-4"-O-(2-dietilaminoetanoil)-6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A, Forma 1 (el patrón de XRPD concordó con el patrón de XRPD del Ejemplo 11, Forma 1).

MÉTODO C

Intermedio 1:

3'-N-Desmetil-2'-O-3'-N-di-[[[fenilmetil]oxi]carbonil]-6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A

Etapa a) 6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A

A una solución de 6-O-metil eritromicina A 9(E)-oxima (12,00 kg) en acetona (72,0 l) que se había enfriado a $2,5 \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ se añadió una solución de NaHCO_3 (3,3 kg) en agua (120,0 l) durante 2 horas y la temperatura se mantuvo a $2,5 \pm 2,5^{\circ}\text{C}$. A esta mezcla se añadió una solución de cloruro de p-tolueno sulfonilo (4,79 kg) en acetona (12,0 l) durante 15 minutos con refrigeración, y después se calentó a la temperatura ambiente (1 hora y 15 minutos) y se agitó durante 2 horas. La mezcla de reacción se dividió en dos mitades (aprox. 102,0 l), cada una de las cuales se transfirió a un nuevo reactor, a cada mitad se añadió agua (96,0 l) y la mezcla de reacción se enfrió a $7,5 \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ durante aprox. 1,5 horas. Después, el pH de cada mitad se ajustó a pH 9,0-11,5 mediante la adición de 10,0 l de una solución acuosa preparada previamente de NaOH (1,80 kg en 36,0 l de agua) durante aproximadamente 1 hora. La suspensión resultante se dejó envejecer a $7,5 \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ durante 2 horas, se aisló por filtración centrífuga y se lavó tres veces con agua (24,0 l, 48,0 l y 24,0 l) para producir el producto húmedo (13,50 kg). El producto húmedo se secó a $40 \pm 5^{\circ}\text{C}$ al vacío durante 10 horas para producir el producto del título (10,82 kg, perfil de ^1H RMN conforme a la referencia).

Etapa b) 3'-N-Desmetil-2'-O-3'-N-di-[[[fenilmetil]oxi]carbonil]-6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A

Lote A) Se cargó dioxano (40,0 l) en el reactor, la temperatura se ajustó a $30 \pm 5^{\circ}\text{C}$ y se añadió 6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A (8,00 kg) seguido de NaHCO_3 (10,56 kg). A esta mezcla se le añadió lentamente cloroformiato de bencilo (9,00 kg) durante 30 minutos a $30 \pm 5^{\circ}\text{C}$. Después de la adición, la mezcla se calentó a $60 \pm 5^{\circ}\text{C}$ y se mantuvo durante 2,5 horas. La mezcla de reacción se transfirió a un nuevo reactor, se enfrió a $7,5 \pm 7,5^{\circ}\text{C}$, se diluyó con MTBE (80,0 l) y después se trató lentamente con trietilamina (8,0 l) a $7,5 \pm 7,5^{\circ}\text{C}$. A la mezcla de reacción anterior, se agregó una solución de hidróxido de potasio 0,01N enfriada previamente (4,035 kg en 60,0 l de agua) a $7,5 \pm 7,5^{\circ}\text{C}$ y se agitó durante 10 minutos a $12,5 \pm 2,5^{\circ}\text{C}$. Las capas se separaron y la capa orgánica superior se lavó dos veces con agua (2 x 40,0 l) y después con una solución acuosa de cloruro sódico (8,00 kg en 40,0 l) mientras se mantuvo la temperatura a $12,5 \pm 5^{\circ}\text{C}$.

La capa orgánica se concentró a alto vacío (NLT 650 mm/Hg) por debajo de 60°C hasta que no se observó más destilado. Al residuo se añadió MTBE (16,0 l) y se agitó a $32,5 \pm 7,5^{\circ}\text{C}$ para dar una solución. La solución obtenida se transfirió a un recipiente de adición y se añadió lentamente a hexano (160,0 l) durante 1 hora a $30 \pm 5^{\circ}\text{C}$, enjuagando el recipiente de adición con MTBE (4,0 l). La mezcla se agitó durante 45 minutos a $30 \pm 5^{\circ}\text{C}$, se enfrió a $2,5 \pm 2,5^{\circ}\text{C}$, se dejó envejecer durante 90 minutos y se aisló por filtración centrífuga. La torta se lavó con hexano (16,0 l) y se secó al vacío a $30 \pm 5^{\circ}\text{C}$ durante 5 horas para dar el producto sólido en bruto.

El sólido en bruto se suspendió en una mezcla de MTBE (16,0 l) y trietilamina (8,0 l) y se calentó a $65 \pm 10^{\circ}\text{C}$ durante 12 horas antes de enfriar a temperatura ambiente y diluir con una cantidad adicional de MTBE (16,0 l). La

suspensión se dejó envejecer a temperatura ambiente durante 12 horas más antes del aislamiento por filtración centrífuga. La torta se lavó con MTBE (16,0 l) y se secó al vacío a $30 \pm 5^\circ\text{C}$ durante 10 horas para dar el producto del título (6,95 kg).

5 Lote B) Se cargó dioxano (50,0 l) en el reactor, la temperatura se ajustó a $30 \pm 5^\circ\text{C}$ y se añadió 6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A (10,00 kg) seguida de NaHCO_3 (13,21 kg). A esta mezcla se le añadió lentamente cloroformiato de bencilo (11,25 kg) durante 30 minutos a $30 \pm 5^\circ\text{C}$. Después de la adición, la mezcla se calentó a $60 \pm 5^\circ\text{C}$ y se mantuvo durante varias horas (4 horas). La mezcla de reacción se transfirió a un nuevo reactor, se enfrió a $7,5 \pm 7,5^\circ\text{C}$, se diluyó con MTBE (100,0 l) y después se trató lentamente con trietilamina (10,0 l) a $7,5 \pm 7,5^\circ\text{C}$. A la mezcla de reacción anterior, se agregó una solución de hidróxido de potasio 0,01N enfiada previamente (0,044 kg en 75,0 l de agua) a $7,5 \pm 7,5^\circ\text{C}$ y se agitó durante 15 minutos a $12,5 \pm 2,5^\circ\text{C}$. Las capas se separaron y la capa orgánica superior se lavó dos veces con agua (2 x 50,0 l) y después con una solución acuosa de cloruro sódico (10,00 kg en 50,0 l de agua) mientras se mantuvo la temperatura a $12,5 \pm 2,5^\circ\text{C}$.

15 La capa orgánica se concentró a alto vacío (NLT 650 mm/Hg) por debajo de 60°C hasta que no se observó más destilado. Al residuo se le añadió MTBE (20,0 l) y se agitó a $32,5 \pm 7,5^\circ\text{C}$ para dar una solución. La solución obtenida se transfirió a un recipiente de adición y se añadió lentamente a hexano (200,0 l) durante 1 hora y 20 minutos a $30 \pm 5^\circ\text{C}$, enjuagando el recipiente de adición con MTBE (5,0 l). La mezcla se agitó durante 30 minutos a $30 \pm 5^\circ\text{C}$, se enfrió a $2,5 \pm 2,5^\circ\text{C}$, se dejó envejecer durante 90 minutos y se aisló por filtración centrífuga. La torta se lavó con hexano (20,0 l) y se secó al vacío a $30 \pm 5^\circ\text{C}$ durante 5 horas para dar el producto sólido en bruto.

20 El sólido en bruto se suspendió en una mezcla de MTBE (20,0 l) y trietilamina (10,0 l) y se calentó a $65 \pm 10^\circ\text{C}$ durante 9 horas antes de enfriar a temperatura ambiente y diluir con una cantidad adicional de MTBE (20,0 l). La suspensión se dejó envejecer a temperatura ambiente durante 10 horas más antes del aislamiento por filtración centrífuga. La torta se lavó con MTBE (15,0 l) y se secó al vacío a $65 \pm 10^\circ\text{C}$ durante 8 horas para dar el producto del título (8,75 kg).

Intermedio 2:

25 Ácido dietilaminoacético

Se cargó dietilamina (112,0 l) en el reactor y se enfrió a $2,5 \pm 2,5^\circ\text{C}$. Se añadió en porciones ácido cloroacético (14,00 kg) durante 30 minutos mientras se mantenía la temperatura a $5 \pm 5^\circ\text{C}$. La mezcla se calentó a $30 \pm 5^\circ\text{C}$ durante 1 hora y después se agitó a la misma temperatura durante la noche (aproximadamente 17 horas). La mezcla de reacción se filtró a través de un filtro Nutsche y el filtrado se recogió en un recipiente seco. La torta se lavó con acetato de etilo (28,0 l) y el filtrado se recogió en un contenedor seco.

30 Se cargó acetato de etilo (70,0 l) en un reactor, se añadió la torta húmeda y se suspendió a $30 \pm 5^\circ\text{C}$ durante 20 minutos. La suspensión se filtró a través de un filtro Nutsche y el filtrado se recogió en un contenedor seco. La torta se lavó con acetato de etilo (28,0 l) y el filtrado se recogió en el contenedor seco.

35 Los filtrados recogidos combinados se cargaron en el nuevo reactor y el disolvente se retiró por destilación al vacío por debajo de 60°C hasta que no se observó más destilado. El residuo se enfrió a $30 \pm 5^\circ\text{C}$, se añadió una mezcla de acetonitrilo (14,0 l) y acetona (28,0 l) y se agitó a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 11 horas. El precipitado higroscópico obtenido se filtró en un flujo de nitrógeno. La torta húmeda se lavó con acetona (20,0 l) y se secó al vacío (650 mmHg) a $45 \pm 5^\circ\text{C}$ durante aproximadamente 1,5 días para dar el producto del título (4,32 kg).

Intermedio 3:

40 3'-N-Desmetil-4"-O-(2-dietilaminoetanoil)-2'-O-3'-N-di-[[[fenilmetil]oxi]carbonil]-6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A

Se cargó DCM (40,0 l) en el reactor y la temperatura se ajustó a $30 \pm 5^\circ\text{C}$, se añadió 3'-N-desmetil-2'-O-3'-N-di-[[[fenilmetil]oxi]carbonil]-6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A (8,0 kg) y se agitó hasta que se observó una solución transparente. Después, con agitación y manteniendo la temperatura a $30 \pm 5^\circ\text{C}$, se añadió ácido dietilaminoacético (1,55 kg), seguido de DMAP (0,96 kg). La mezcla de reacción se enfrió a $2,5 \pm 2,5^\circ\text{C}$. Se añadió EDCxHCl (1,50 kg) a esta temperatura para dar una solución transparente. La mezcla de reacción se calentó lentamente a $25 \pm 5^\circ\text{C}$ y se agitó durante 5 horas a $25 \pm 5^\circ\text{C}$. Se añadió más cantidad de DMAP (1,20 kg) y la reacción se enfrió de nuevo a $2,5 \pm 2,5^\circ\text{C}$. Se añadió más cantidad de EDCxHCl (1,88 kg) a esta temperatura para dar una solución transparente. La mezcla de reacción se calentó lentamente a $25 \pm 5^\circ\text{C}$ y se agitó durante 11 horas a $25 \pm 5^\circ\text{C}$.

55 Después, la mezcla se concentró al vacío por debajo de 30°C hasta que no se observó más destilado, el residuo se disolvió en tolueno (80,0 l) y la mezcla se enfrió a $15 \pm 5^\circ\text{C}$. La solución orgánica se lavó dos veces con bicarbonato sódico acuoso (4,00 kg en 40,0 l de agua), manteniendo la capa acuosa después de cada extracción a $15 \pm 5^\circ\text{C}$. La capa orgánica superior se lavó dos veces con cloruro de amonio acuoso (12,00 kg en 40,0 l de agua), manteniendo la capa acuosa después de cada extracción a $10-15^\circ\text{C}$. Los lavados acuosos combinados (bicarbonato sódico y

cloruro de amonio) se extrajeron de nuevo con tolueno (40,0 l) y la capa orgánica se lavó secuencialmente con bicarbonato sódico acuoso (4,00 kg en 40,0 l de agua) y cloruro de amonio acuoso (12,00 kg en 40,0 l de agua).

Las fases orgánicas combinadas se lavaron con cloruro sódico acuoso (12,00 kg en 40,0 l de agua) y la capa orgánica se secó sobre sulfato sódico anhidro, se filtró a través de un filtro Nutsche y se lavó con tolueno (16,0 l).

5 Los filtrados y los lavados combinados se concentraron al vacío por debajo de 50°C hasta conseguir un volumen remanente de aproximadamente 5,0-5,5 dentro del reactor. Se añadió lentamente heptano (80,0 l) durante 30 minutos a 35 ± 5°C y la suspensión resultante se agitó durante 13 horas a 30 ± 5°C. El producto se aisló por filtración centrífuga y se lavó con heptano (16,0 l). El producto se secó a alto vacío (NLT 650 mm/Hg) a 40 ± 5°C durante 11 horas para dar el producto del título (7,30 kg).

10 3'-N-Desmetil-4"-O-(2-dietilaminoetanoil)-6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A

El reactor se evacuó y se enjuagó con nitrógeno (se repitió dos veces). Bajo corriente de nitrógeno, se añadieron i-PrOH (36,0 l) y 3'-N-desmetil-4"-O-(2-dietilaminoetanoil)-2'-O-3'-N-di-[[fenilmetil]oxi]carbonil}-6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A (4,5 kg) y la solución se agitó durante 10 minutos. Después, se añadió Pd al 10%/C (0,225 kg) seguido de trietilamina (1,80 l), el flujo de nitrógeno se interrumpió, el reactor se evacuó y se cargó con hidrógeno hasta que se obtuvo una presión de 137,89 kPa (20 psi) (se repitió dos veces). Después de recargar el reactor con hidrógeno, la mezcla se hidrogenó a 137,89 kPa (20 psi) y 30 ± 5°C durante 2 horas. El paladio carbono se retiró usando un lecho Hyflow en un filtro Nutsche, se lavó con i-PrOH (18,0 l) y los filtrados combinados se concentraron a alto vacío (NLT 650 mm/Hg) hasta que se alcanzó la ausencia de destilado por debajo de 50°C. Al residuo se añadió el i-PrOH recién preparado (9,0 l) y la mezcla se concentró a alto vacío (NLT 650 mm/Hg) hasta que se consiguió la ausencia de destilado por debajo de 50°C.

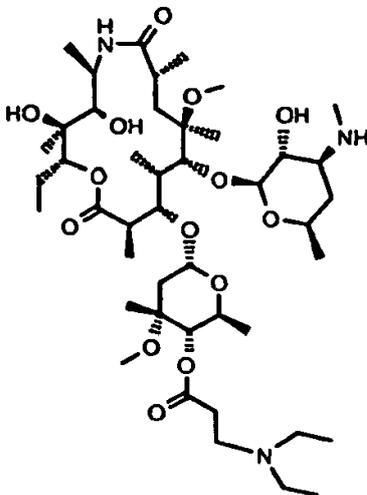
El material concentrado se disolvió en IPA (45,0 l), se transfirió al reactor limpio, se enfrió a 7,5 ± 2,5°C, se trató con tiosílice (0,18 kg) y se agitó durante 3 horas a 7,5 ± 2,5°C. La tiosílice se retiró por filtración a través de un lecho Hyflow sobre un filtro Nutsche, se lavó con i-PrOH (18,0 l) y los filtrados combinados se concentraron a alto vacío (NLT 650 mm/Hg) hasta que se consiguió la ausencia de destilado por debajo de 50°C.

25 A la mezcla anterior se añadió heptano (13,5 l) y se concentró a alto vacío (NLT 650 mm/Hg) hasta que se consiguió la ausencia de destilado por debajo de 50°C. A la mezcla anterior se le añadió más cantidad de heptano (13,5 l) y se concentró a alto vacío (NLT 650 mm/Hg) hasta que se consiguió la ausencia de destilado por debajo de 50°C. A la mezcla anterior se añadió heptano (22,5 l) y la suspensión resultante se agitó durante 90 minutos a 20 ± 5°C. El producto se aisló por filtración centrífuga y se lavó con heptano (9,0 l). La torta húmeda se secó a 30 ± 5°C a alto vacío (NLT 650 mm/Hg) durante 10 horas para producir el producto del título en bruto (2,9 kg).

Recristalización

Una solución de 3'-N-Desmetil-4"-O-(2-dietilaminoetanoil)-6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A en bruto (4,2 kg) en acetato de isopropilo (33,6 l) a 27,5 ± 2,5°C se agitó durante 10 minutos y después se añadió una cantidad adicional de acetato de isopropilo (12,6 l) hasta que se observó una solución transparente. La solución se filtró a través de un filtro Micron, se lavó con acetato de isopropilo (2,1 l), se transfirió al reactor limpio y se sembró con 3'-N-Desmetil-4"-O-(2-dietilaminoetanoil)-6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A, Forma 1 (0,01 kg). La mezcla resultante se agitó durante 30 minutos a 27,5 ± 2,5°C y después se añadió lentamente heptano (96,6 l) durante 2 horas a 27,5 ± 2,5°C. La suspensión se agitó durante 12 horas y 10 minutos a 27,5 ± 2,5°C, se enfrió a 2,5 ± 2,5°C y se agitó durante 2,5 horas a esta temperatura. El producto se aisló por filtración, se lavó con una mezcla de heptano frío:acetato de isopropilo (2:1 de 5,65 l / 2,74 l) y finalmente heptano (8,4 l). El producto se secó a 40 ± 5°C a alto vacío (NLT 650 mm/Hg) hasta alcanzar un peso constante para producir 3'-N-desmetil-4"-O-(2-dietilaminoetanoil)-6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A, Forma 1 (3,46 kg), perfil de 1H RMN acorde con la referencia, pureza por HPLC 98,0%).

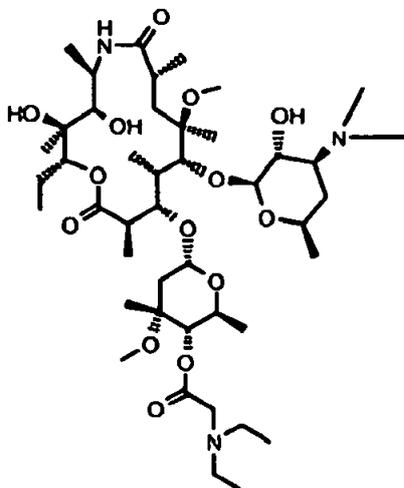
Ejemplo comparativo 2

3'-*N*-Desmetil-4''-*O*-(3-dietilaminopropionil)-6-*O*-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A

5 Usando el procedimiento del Ejemplo 54 en la publicación internacional WO2006/087644, se obtuvo el compuesto del título.

Datos de MS (MS (ES+) m/z: 876,7 [MH⁺]) de acuerdo con los indicados en el documento WO2006/087644.

Ejemplo comparativo 3

4''-*O*-(2-dietilaminoetanoil)-6-*O*-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A

10 Usando el procedimiento del Ejemplo 56 en la publicación internacional WO2006/087644, se obtuvo el compuesto del título.

Datos de MS (MS (ES+) m/z: 877,09 [MH⁺]) de acuerdo con los indicados en el documento WO2006/087644.

Ejemplo 4

Sal acetato de 3'-*N*-desmetil-4''-*O*-(2-dietilaminoetanoil)-6-*O*-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A

15 Se disolvió 3'-*N*-desmetil-4''-*O*-(2-dietilaminoetanoil)-6-*O*-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A (100 mg, 0,116 mmol) en *i*-PrOH (0,7 ml) y se añadió ácido acético (13,9 μ l, 0,244 mmol). La mezcla se enfrió a 0°C y se añadieron gota a gota *n*-hexano (10 ml) y éter diisopropílico (3 ml). Después, los disolventes se evaporaron, produciendo, después del secado, el compuesto del título (103 mg) en forma de un sólido de color blanco.

MS (ES+) m/z: 862,8 (95,3%)

Ejemplo 5

Sal succinato de 3'-*N*-desmetil-4"-*O*-(2-dietilaminoetanoil)-6-*O*-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A

5 Se añadieron 3'-*N*-desmetil-4"-*O*-(2-dietilaminoetanoil)-6-*O*-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A (75 mg), ácido succínico (20 mg) y acetato de *t*-butilo (300 μ l) a un vial y la temperatura se sometió a un ciclo de 0 a 40°C durante 2 días con agitación. La suspensión se aisló y el sólido obtenido se secó al vacío a 40°C durante 60 horas para dar el producto del título.

10 ^1H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 7,61, 6,46, 6,44, 6,12, 6,10, 5,21, 5,08, 5,06, 4,93, 4,92, 4,89, 4,88, 4,75, 4,72, 4,69, 4,67, 4,60, 4,58, 4,54, 4,53, 4,51, 4,49, 4,37, 4,36, 4,34, 4,33, 4,32, 4,21, 4,19, 4,17, 4,15, 4,08, 4,06, 3,82, 3,77, 3,74, 3,72, 3,65, 3,64, 3,61, 3,55, 3,51, 3,48, 3,44, 3,31, 3,31, 3,28, 3,22, 3,06, 3,05, 3,03, 3,01, 2,85, 2,84, 2,82, 2,73, 2,71, 2,69, 2,67, 2,58, 2,56, 2,54, 2,52, 2,41, 2,37, 2,31, 2,24, 2,22, 2,10, 2,07, 2,04, 1,99, 1,97, 1,92, 1,90, 1,88, 1,86, 1,79, 1,66, 1,64, 1,61, 1,59, 1,57, 1,56, 1,52, 1,51, 1,50, 1,48, 1,47, 1,45, 1,43, 1,42, 1,40, 1,32, 1,29, 1,28, 1,26, 1,23, 1,22, 1,18, 1,17, 1,16, 1,14, 1,13, 1,12, 1,10, 1,08, 1,06, 0,99, 0,97, 0,92, 0,90, 0,88.

Ejemplo 6

15 Sal benzoato de 3'-*N*-desmetil-4"-*O*-(2-dietilaminoetanoil)-6-*O*-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A

Se añadieron 3'-*N*-desmetil-4"-*O*-(2-dietilaminoetanoil)-6-*O*-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A (75 mg), ácido benzoico (10.6 mg) y acetato de *t*-butilo (300 μ l) a un vial y la temperatura se sometió a un ciclo de 0 a 40°C durante 2 días con agitación. La suspensión se aisló y el sólido obtenido se secó al vacío a 40°C durante 60 horas para dar el producto del título.

20 ^1H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 8,08, 8,06, 7,52, 7,51, 7,49, 7,44, 7,42, 7,40, 7,27, 6,11, 6,09, 4,89, 4,88, 4,74, 4,71, 4,70, 4,67, 4,60, 4,58, 4,39, 4,38, 4,37, 4,35, 4,34, 4,21, 4,20, 4,18, 4,16, 3,75, 3,74, 3,49, 3,44, 3,40, 3,38, 3,36, 3,35, 3,32, 3,31, 3,22, 2,85, 2,83, 2,82, 2,80, 2,74, 2,72, 2,70, 2,68, 2,59, 2,40, 2,37, 2,24, 2,22, 2,20, 2,05, 2,05, 2,02, 2,01, 1,99, 1,97, 1,88, 1,86, 1,65, 1,64, 1,61, 1,60, 1,57, 1,55, 1,45, 1,41, 1,38, 1,33, 1,30, 1,25, 1,23, 1,22, 1,20, 1,19, 1,17, 1,15, 1,13, 1,11, 1,10, 1,08, 1,06, 0,99, 0,97, 0,92, 0,90, 0,89.

25 Ejemplo 7:

Sal L-tartrato de 3'-*N*-desmetil-4"-*O*-(2-dietilaminoetanoil)-6-*O*-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A

30 Se añadieron 3'-*N*-desmetil-4"-*O*-(2-dietilaminoetanoil)-6-*O*-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A (75 mg), ácido L-tartárico (13.5 mg) y acetato de *t*-butilo (300 μ l) a un vial y la temperatura se sometió a un ciclo de 0 a 40°C durante 2 días con agitación. La suspensión se aisló y el sólido obtenido se secó al vacío a 40°C durante 60 horas para dar el producto del título.

35 ^1H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 7,19, 7,17, 7,10, 7,08, 6,14, 6,12, 4,81, 4,80, 4,66, 4,63, 4,61, 4,59, 4,49, 4,48, 4,32, 4,30, 4,29, 4,28, 4,23, 4,12, 4,11, 4,09, 4,07, 3,72, 3,71, 3,70, 3,67, 3,66, 3,42, 3,38, 3,27, 3,24, 3,12, 2,78, 2,76, 2,75, 2,67, 2,65, 2,63, 2,61, 2,51, 2,32, 2,28, 2,17, 2,15, 2,13, 1,95, 1,93, 1,90, 1,89, 1,82, 1,81, 1,79, 1,61, 1,57, 1,56, 1,53, 1,52, 1,37, 1,25, 1,22, 1,18, 1,16, 1,14, 1,12, 1,10, 1,09, 1,07, 1,05, 1,03, 1,01, 0,99, 0,94, 0,92, 0,85, 0,83, 0,81.

Ejemplo 8

Sal di-hidrocloruro de 3'-*N*-desmetil-4"-*O*-(2-dietilaminoetanoil)-6-*O*-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A

40 Se añadieron 3'-*N*-desmetil-4"-*O*-(2-dietilaminoetanoil)-6-*O*-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A (100 mg) y acetonitrilo (200 μ l) a un vial. La suspensión obtenida se agitó y se calentó a 70°C. Se añadió una cantidad adicional de acetonitrilo (300 μ l) seguido de la adición de ácido clorhídrico (19 μ l, al 37% p/p en agua) que dio como resultado la formación de un sólido y una agitación difícil. Por lo tanto, se añadió una cantidad adicional de acetonitrilo (200 μ l) y la mezcla de reacción se enfrió a 0°C y se mantuvo a esa temperatura durante 15 horas. La suspensión se filtró y el sólido obtenido se secó al vacío a 40°C durante 24 horas para dar el producto del título.

45 ^1H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 7,57, 7,55, 5,10, 5,09, 4,99, 4,98, 4,96, 4,96, 4,93, 4,87, 4,85, 4,83, 4,53, 4,52, 4,49, 4,48, 4,46, 4,45, 4,44, 4,42, 4,14, 4,12, 4,11, 3,82, 3,81, 3,71, 3,69, 3,63, 3,48, 3,48, 3,47, 3,38, 3,36, 3,34, 3,32, 3,31, 3,31, 3,31, 3,30, 3,30, 3,28, 3,25, 3,21, 3,12, 3,11, 3,09, 3,07, 3,06, 2,81, 2,79, 2,78, 2,77, 2,76, 2,72, 2,69, 2,51, 2,47, 2,40, 2,38, 2,38, 2,36, 2,34, 2,26, 2,23, 2,22, 2,20, 2,03, 2,02, 2,00, 1,99, 1,89, 1,88, 1,87, 1,86, 1,85, 1,85, 1,83, 1,83, 1,78, 1,77, 1,75, 1,73, 1,56, 1,55, 1,54, 1,53, 1,52, 1,51, 1,50, 1,48, 1,43, 1,40, 1,37, 1,35, 1,33, 1,31, 1,29, 1,24, 1,23, 1,22, 1,21, 1,19, 1,18, 1,17, 1,15, 1,14, 1,12, 1,06, 1,04, 1,03, 1,01, 0,92, 0,90, 0,88.

50

Ejemplo 9:

Sal fosfato de 3'-*N*-desmetil-4"-*O*-(2-dietilaminoetanoil)-6-*O*-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A

5 Se añadieron 3'-*N*-desmetil-4"-*O*-(2-dietilaminoetanoil)-6-*O*-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A (75 mg), ácido fosfórico (6 µl, 85% p/p en agua) y acetato de *t*-butilo (300 µl) a un vial y la temperatura se sometió a un ciclo de 0 a 40°C durante 2 días con agitación. La suspensión se aisló y el sólido obtenido se secó al vacío a 40°C durante 60 horas para dar el producto del título.

10 ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 7,19, 7,17, 7,10, 7,08, 6,07, 4,81, 4,80, 4,65, 4,62, 4,59, 4,48, 4,46, 4,30, 4,13, 4,11, 4,09, 4,07, 3,65, 3,64, 3,58, 3,54, 3,49, 3,25, 3,23, 3,14, 2,77, 2,75, 2,72, 2,70, 2,51, 2,32, 2,28, 2,16, 2,15, 2,13, 1,96, 1,94, 1,92, 1,89, 1,84, 1,82, 1,80, 1,78, 1,77, 1,61, 1,57, 1,55, 1,53, 1,52, 1,47, 1,45, 1,38, 1,35, 1,25, 1,19, 1,17, 1,16, 1,13, 1,12, 1,10, 1,09, 1,07, 1,05, 1,04, 1,03, 1,02, 1,02, 0,92, 0,90, 0,84, 0,83, 0,81.

Ejemplo 10:

Forma amorfa de 3'-*N*-desmetil-4"-*O*-(2-dietilaminoetanoil)-6-*O*-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A

15 Se disolvió 3'-*N*-desmetil-4"-*O*-(2-dietilaminoetanoil)-6-*O*-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A (1,33 g), obtenida de acuerdo con el procedimiento similar del Ejemplo 1 anterior, Método A, Método 1, en acetona y después se precipitó mediante la adición de éter de petróleo para dar el producto del título (1,2 g) en forma amorfa caracterizada por el patrón de XRPD de la Figura 3.

MS (ES+) *m/z*: 862,47 [MH]⁺.

Ejemplo 11

3'-*N*-Desmetil-4"-*O*-(2-dietilaminoetanoil)-6-*O*-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A – Forma 1

20 Se disolvió 3'-*N*-Desmetil-4"-*O*-(2-dietilaminoetanoil)-6-*O*-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A amorfa, Ejemplo 10 (500 mg) en acetonitrilo (2,5 ml) a temperatura ambiente con agitación. En el intervalo de 1-2 minutos después de que se obtuviera una solución transparente, comenzó a precipitar una sustancia. La suspensión se agitó durante 1,5 horas a temperatura ambiente. El precipitado de color blanco se filtró al vacío, se lavó con acetonitrilo (3 x 0,5 ml) y se secó a temperatura ambiente durante 1 hora para dar el producto del título (307 mg), Forma 1. El material sólido aislado se analizó por XRPD, DSC y TGA.

25 Las condiciones de adquisición para XRPD fueron como se ha especificado bajo el punto a). El patrón de XRPD de la Forma 1 se proporciona en la Figura 4. El DSC de la Forma 1 proporcionado en la Figura 5 muestra una endoterma ancha con comienzo a 148,97°C y pico a 156,21°C. El TGA de la Forma 1 proporcionado en la Figura 6 muestra una pérdida de peso de 0,29%.

30 Ejemplo 12

3'-*N*-Desmetil-4"-*O*-(2-dietilaminoetanoil)-6-*O*-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A – Forma 2

35 Se añadió 3'-*N*-Desmetil-4"-*O*-(2-dietilaminoetanoil)-6-*O*-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A amorfa, Ejemplo 10 (100 mg) a agua desmineralizada (1,0 ml). A la suspensión obtenida se le añadió acetona (1 ml), dando como resultado un material de tipo goma. Se añadió una cantidad adicional de acetona (0,4 ml) y el material de tipo goma se disolvió con calentamiento suave. Se añadió más cantidad de agua desmineralizada (0,4 ml). Aproximadamente 90% de la solución transparente se transfirió a un nuevo vial que después se tapó con Parafilm, y se mantuvo a temperatura ambiente para que cristalizara. Después de 15 días, los cristales obtenidos (cristales únicos, pequeños hexágonos) se aislaron por filtración para dar el producto del título (23 mg), Forma 2.

40 Los cristales aislados se mantuvieron al aire y a temperatura ambiente durante dos horas, y se analizaron por XRPD, DSC y TGA.

Las condiciones de adquisición para XRPD fueron como se ha especificado bajo el punto a). El patrón de XRPD de la Forma 2 se proporciona en la Figura 7.

El DSC de la Forma 2 proporcionado en la Figura 8 muestra una endoterma ancha con comienzo a 144,79°C y pico a 151,65°C. El TGA de la Forma 2 se proporciona en la Figura 9.

45 Ejemplo 13:

3'-*N*-Desmetil-4"-*O*-(2-dietilaminoetanoil)-6-*O*-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A – Forma 3

50 Se puso 3'-*N*-Desmetil-4"-*O*-(2-dietilaminoetanoil)-6-*O*-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A, Forma 1 (700 mg) en un tubo Syn¹⁰ con metanol:agua al 50% (3 ml). La suspensión se sometió a un ciclo de temperatura de 0 a 40°C durante 4 días con agitación. El sólido se retiró por filtración y se secó al vacío a 40°C durante una noche para dar la Forma 3 del producto del título. El material sólido aislado se analizó por ¹H RMN, XRPD y Raman.

¹H RMN (400 MHz, *DMSO-D6*) no mostró la presencia de picos de disolvente.

¹H RMN (400 MHz, *DMSO-D6*) δ ppm 0,81 (t, J = 7,3 Hz, 3 H), 0,89 (d, J = 6,8 Hz, 4 H), 0,92 - 0,99 (m, 9 H), 1,00 - 1,05 (m, 9 H), 1,06 - 1,13 (m, 9 H), 1,22 (s, 3 H), 1,38 (s, 1 H), 1,66 - 1,75 (m, 1 H), 1,75 - 1,87 (m, 2 H), 1,91 (s, 1 H), 2,13 (d, J = 13,9 Hz, 1 H), 2,25 (s, 3 H), 2,31 (d, J = 15,4 Hz, 2 H), 2,53 - 2,62 (m, 4 H), 2,80 - 2,87 (m, 1 H), 3,13 (s, 2 H), 3,14 - 3,20 (m, 1 H), 3,24 (s, 3 H), 3,27 (s, 4 H), 3,36 - 3,44 (m, 1 H), 3,54 (d, J = 6,6 Hz, 1 H), 3,70 (s, 1 H), 3,85 (s, 1 H), 3,94 (d, J = 7,3 Hz, 1 H), 4,30 - 4,39 (m, 3 H), 4,56 (d, J = 9,8 Hz, 1 H), 4,77 (d, J = 4,6 Hz, 1 H), 4,89 (dd, J = 9,8, 2,0 Hz, 1 H), 5,00 (d, J = 4,9 Hz, 1 H), 7,17 (d, J = 8,3 Hz, 1 H).

Las condiciones de adquisición para XRPD fueron como se ha especificado en el punto b). El patrón de XRPD de la Forma 3 se proporciona en la Figura 10. El espectro Raman de la Forma 3 se proporciona en la Figura 11.

10 Ejemplo 14

3'-*N*-Desmetil-4"-*O*-(2-dietilaminoetanoil)-6-*O*-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A – Forma 4

Se añadieron 3'-*N*-desmetil-4"-*O*-(2-dietilaminoetanoil)-6-*O*-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A, Forma 1 (100 mg) e IPA:agua = 1:1 v:v (0,5 ml) a un vial y la temperatura se sometió a un ciclo de 0 a 40°C durante 5 días con agitación. La solución obtenida se evaporó a temperatura ambiente para dar la Forma 4 del producto del título. El material sólido aislado se analizó por ¹H RMN, XRPD y Raman.

¹H RMN (400 MHz, *DMSO-D6*) δ ppm 7,27, 6,09, 4,89, 4,88, 4,74, 4,71, 4,69, 4,67, 4,58, 4,56, 4,40, 4,23, 4,21, 4,07, 4,05, 4,04, 4,02, 4,00, 3,82, 3,81, 3,80, 3,78, 3,77, 3,75, 3,46, 3,42, 3,34, 3,32, 3,30, 3,25, 3,23, 3,20, 3,17, 3,15, 2,87, 2,86, 2,84, 2,82, 2,80, 2,72, 2,71, 2,69, 2,67, 2,65, 2,62, 2,60, 2,59, 2,46, 2,40, 2,36, 2,26, 2,24, 2,22, 2,20, 2,19, 2,05, 2,03, 2,01, 1,99, 1,95, 1,92, 1,90, 1,88, 1,86, 1,84, 1,65, 1,60, 1,34, 1,32, 1,26, 1,24, 1,23, 1,21, 1,19, 1,17, 1,16, 1,13, 1,12, 1,10, 1,08, 1,06, 1,00, 0,98, 0,92, 0,90, 0,89, 0,01.

El espectro Raman de la Forma 4 se proporciona en la Figura 12.

Ejemplo 15:

3'-*N*-Desmetil-4"-*O*-(2-dietilaminoetanoil)-6-*O*-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A – Forma 5

Método A: Se suspendió 3'-*N*-desmetil-4"-*O*-(2-dietilaminoetanoil)-6-*O*-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A, Forma 1 (25 mg) en éter isopropílico (500 µl) y la temperatura se sometió a un ciclo de 0 a 40°C durante 24 horas con agitación. Después, con la temperatura ajustada a 20°C, la mezcla de reacción se agitó durante 2 días. El sólido se retiró por filtración y se secó al vacío durante 1 hora para dar la Forma 5 del producto del título. El material sólido aislado se analizó por Raman. El espectro Raman de la Forma 5 se proporciona en la Figura 13.

Método B: Se suspendió 3'-*N*-desmetil-4"-*O*-(2-dietilaminoetanoil)-6-*O*-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A, Forma 1 (25 mg) en éter *t*-butil metílico (500 µl) y la temperatura se sometió a un ciclo de 0 a 40°C durante 24 horas con agitación. Después, con la temperatura ajustada a 20°C, se añadió mediante puntas de espátula una cantidad adicional de 3'-*N*-Desmetil-4"-*O*-(2-dietilaminoetanoil)-6-*O*-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A, Forma 1 (aprox. 25 mg) para obtener una suspensión espesa que se agitó durante 2 días a 20°C. El sólido se retiró por filtración y se secó al vacío durante 1 hora para producir la Forma 5 del producto del título, que estaba de acuerdo con el espectro Raman coincidente con el material obtenido en el Ejemplo 15, Método A. La ¹H RMN (400 MHz, *DMSO-D6*) no mostró la presencia de picos de disolvente.

¹H RMN (400 MHz, *DMSO-D6*) δ ppm 0,81 (t, J = 7,5 Hz, 3 H), 0,89 (d, J = 6,8 Hz, 4 H), 0,92 - 0,99 (m, 9 H), 1,00 - 1,05 (m, 9 H), 1,06 - 1,14 (m, 9 H), 1,22 (s, 3 H), 1,31 - 1,46 (m, 1 H), 1,63 - 1,73 (m, 1 H), 1,75 - 1,86 (m, 2 H), 1,87 - 1,97 (m, 1 H), 2,11 (s, 1 H), 2,25 (s, 3 H), 2,31 (d, J = 15,4 Hz, 2 H), 2,59 (cd, J = 7,2, 1,6 Hz, 4 H), 2,84 (d, J = 6,1 Hz, 1 H), 3,13 (s, 2 H), 3,15 - 3,19 (m, 1 H), 3,24 (s, 3 H), 3,25 - 3,28 (m, 4 H), 3,35 - 3,45 (m, 1 H), 3,54 (d, J = 6,6 Hz, 1 H), 3,70 (s, 1 H), 3,85 (s, 1 H), 3,96 (d, J = 7,8 Hz, 1 H), 4,30 - 4,40 (m, 3 H), 4,56 (d, J = 10,0 Hz, 1 H), 4,77 (d, J = 4,6 Hz, 1 H), 4,89 (dd, J = 9,9, 2,1 Hz, 1 H), 5,00 (d, J = 4,6 Hz, 1 H), 7,17 (d, J = 8,1 Hz, 1 H).

Ejemplo 16

3'-*N*-Desmetil-4"-*O*-(2-dietilaminoetanoil)-*O*-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A – Forma 6

Una solución de 3'-*N*-Desmetil-4"-*O*-(2-dietilaminoetanoil)-6-*O*-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A, Forma 1 (50 mg) en acetato de metilo (500 µl) se sometió a un ciclo de temperatura de 0 a 40°C durante 24 horas con agitación. Después, con la temperatura ajustada a 20°C, se añadió mediante puntas de espátula una cantidad adicional de 3'-*N*-Desmetil-4"-*O*-(2-dietilaminoetanoil)-6-*O*-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A, Forma 1 (aprox. 50 mg) para obtener una suspensión espesa que se agitó durante 2 días a 20°C. La suspensión se retiró por filtración y 300 µl del filtrado saturado se taparon y se mantuvieron en el frigorífico a aprox. 2°C durante 1 mes para dar la Forma 6 del producto del título, que se aisló por pipeteado cuidadoso de la solución. El sólido se secó brevemente en un flujo de nitrógeno antes del análisis Raman. La ¹H RMN (en *DMSO-d6*) no mostró presencia de disolvente. El Espectro Raman corregido para la medida inicial de la Forma 6 se proporciona en la Figura 14.

Ejemplo 17

3'-N-Desmetil-4"-O-(2-dietilaminoetanoil)-6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A – Forma 7

Se depositó 3'-N-desmetil-4"-O-(2-dietilaminoetanoil)-6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A, Forma 1 (75 mg) en un inserto de vial para HPLC, se colocó en el vial para HPLC que contenía tetrahidrofurano (1,5 ml), se tapó fuertemente y se mantuvo a temperatura ambiente durante 5 días, provocando la deliquesencia del sólido. 1/3 de la solución resultante se depositó en un nuevo inserto de vial para HPLC que se colocó en un vial para HPLC que contuvo n-pentano (1,5 ml) y se dejó a la temperatura ambiente durante dos semanas para producir la Forma 7 del producto del título, que se aisló por pipeteado cuidadoso de la solución. El sólido se secó brevemente en un flujo de nitrógeno antes del análisis Raman. La ¹H RMN (en DMSO-d₆) mostró la presencia de THF (<0,25 eq.). El espectro Raman de la Forma 7 se proporciona en la Figura 15.

Ejemplo 18

3'-N-Desmetil-4"-O-(2-dietilaminoetanoil)-6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A – Forma 8

Una solución de 3'-N-Desmetil-4"-O-(2-dietilaminoetanoil)-6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A, Forma 1 (200 mg) en metanol (500 µl) se sometió a un ciclo de temperatura de 0 a 40°C durante 24 horas con agitación. Después, con la temperatura ajustada a 20°C, se añadió mediante puntas de espátula una cantidad adicional de 3'-N-Desmetil-4"-O-(2-dietilaminoetanoil)-6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A, Forma 1 (aprox. 175 mg) para obtener una suspensión espesa que se agitó durante 2 días a 20°C. La suspensión se retiró por filtración y se diluyeron 200 µl del filtrado con metanol (200 µl). Una alícuota de 200 µl se puso en la placa de evaporación y se dejó evaporar a sequedad para producir la Forma 6 del producto del título. El material sólido aislado se analizó por Raman. El espectro Raman de la Forma 8 se proporciona en la Figura 16.

RESULTADOS

Estabilidad

Estabilidad en sangre y plasma *in vitro*

La estabilidad *in vitro* de los compuestos de los ejemplos 1 a 3 se midió usando la metodología descrita en el Protocolo de estabilidad en sangre y plasma *in vitro*. Los Ejemplos 1 y 3 demostraron ser estables tanto en sangre completa como en plasma durante 24 horas. Después de 24 horas, el Ejemplo 2 mostraba inestabilidad, con aproximadamente 41% de compuesto restante en sangre completa y menos de 2% en plasma (véanse las Figuras 1A-C).

Estabilidad en soluciones de tampón y en medios biorrelevantes

La estabilidad de los compuestos de los Ejemplos 1 a 3 se midió en soluciones de tampón a pH 2 a pH 8 a 25°C y en medios biorrelevantes (SGF a pH 1,6, SIF en ayunas a pH 6,5 y SIF con alimentación a pH 5,0) a 37°C, durante 24 horas usando la metodología descrita en *Protocolo de estabilidad en soluciones de tampón y en medios biorrelevantes*.

Los resultados del ensayo de estabilidad en solución en diferentes tampones se muestran en la Tabla 1 y los del ensayo de estabilidad en solución en medios fisiológicamente relevantes se muestran en la Tabla 2.

ES 2 412 059 T3

Tabla 1: Porcentaje (% de área) del compuesto observado en soluciones tampón a pH 2 hasta pH 8 durante 24 horas a 25°C.

Estabilidad en soluciones tampón a pH 2 hasta pH 8 a 25°C											
Ej.	Inicial	2 h	4 h	6 h	8 h	12 h	14 h	18 h	20 h	22 h	24 h
pH 2											
1	100	97,5	96,9	96,6	96,1	96,1	NA	NA	NA	NA	95,9
2	100	100	100	98,7	98,5	97,6	97,6	97,5	97,3	97,2	97,2
3	100	99,4	99,5	99,5	99,5	99,6	99,6	99,6	99,5	99,5	99,5
pH 3											
1	100	100	99,9	99,9	99,6	99,4	NA	NA	NA	NA	99,4
2	100	100	100	98,8	97,5	97,3	97,3	97,0	97,0	97,0	96,9
3	100	99,8	99,6	99,5	99,8	99,6	99,8	99,7	99,6	99,4	99,4
pH 4											
1	100	100	99,9	100	99,8	99,6	NA	NA	NA	NA	99,5
2	100	100	100	100	99,3	99,0	98,5	98,5	98,4	98,4	98,3
3	100	99,1	99,0	99,1	99,2	99,2	99,2	99,2	98,9	99,1	99,2
pH 5											
1	100	100	100	100	99,8	99,6	NA	NA	NA	NA	99,1
2	100	98,5	98,5	98,4	98,4	98,4	98,3	98,3	98,3	98,3	98,0
3	100	100	99,9	99,9	99,9	99,9	99,9	99,9	99,8	99,9	99,9
pH 6											
1	100	100	99,5	99,5	98,7	98,7	NA	NA	NA	NA	98,7
2	100	99,6	99,4	99,0	99,0	99,0	98,5	98,3	98,2	98,2	98,1
3	100	100	100	100	100	99,9	99,8	NA	99,7	99,7	99,7
pH 7											
1	100	100	100	99,9	99,8	99,8	NA	NA	NA	NA	99,1
2	100	97,8	93,4	89,8	89,3	85,1	84,3	84,0	81,3	79,9	78,4
3	100	100	99,9	99,9	99,9	99,7	99,7	99,8	98,8	99,7	98,7
pH 8											
1	100	100	100	99,9	99,5	99	NA	NA	NA	NA	97,1
2	100	92,0	81,7	77,7	71,7	63,4	60,2	54,2	51,1	47,1	44,6
3	100	99,9	99,9	99,9	99,7	99,5	99,4	98,4	98,3	98,2	98,2

NA = no analizado

Los Ejemplos 1 y 3 mostraron estabilidad en tampones a pH 2 hasta 8.

- 5 De acuerdo con los datos de MS, el degradante principal del Ejemplo 2 a pH 7 y a pH 8 es 3'-N-desmetil-4"-O-acrilolil-6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A (véase la Figura 2).

Tabla 2: Porcentaje (% de área) del compuesto observado en medios biorrelevantes durante 24 horas a 37°C

Ej.	Inicial	Estabilidad en medios biorrelevantes a 37°C															
		1 h	1,5 h	2 h	3 h	4 h	4,3 h	5 h	6 h	8 h	10 h	12 h	15 h	18 h	20 h	21 h	24 h
SGF a pH 1,6																	
1	100	NA	99,7	98,8	98,7	NA	95,6	NA	95,0								
2	100	99,3	NA	99,3	96,6	92,9	NA	92,3	91,1	90,1	87,2	85,4	83,9	82,4	NA	81,0	79,0
3	100	98,5	NA	98,5	98,0	98,0	NA	98,0	95,9	95,7	95,0	95,0	NA	NA	NA	NA	94,5
SIF en ayunas a pH 6,5																	
1	100	NA	99,7	99,6	99,2	NA	98,8	NA	95,4	NA	94,7						
2	100	99,6	NA	98,0	93,0	89,7	NA	86,7	NA	63,7							
3	100	99,2	NA	98,7	98,3	97,8	NA	97,6	NA	95,1							
SIF con alimentación a pH 5,0																	
1	100	99,9	NA	99,9	NA	NA	98,3	NA	99,1								
2	100	99,7	NA	99,6	99,4	98,7	NA	98,6	NA	97,4							
3	100	100	NA	99,9	100	99,9	NA	99,8	NA	99,8							

NA = no analizado

El Ejemplo 2 mostró inestabilidad en soluciones tampón a pH 7 y a pH 8.

Después de 24 horas a 25°C en solución tampón a pH 7, hubo un resto de 78,4% del Ejemplo 2.

Después de 24 horas a 25°C en solución tampón a pH 8, hubo un resto de 44,6% del Ejemplo 2.

Ensayo *In Vitro*

5 La potencia *in vitro* de los compuestos de los ejemplos 1 a 3 como agente antibacteriano se ha medido usando la metodología descrita en el protocolo *in vitro*. Se encontró que los Ejemplos 1 y 2 no tenían actividad mensurable contra ninguna de las seis cepas (CIM > 64 µg/ml en cada caso). Se observó que el Ejemplo 3 mostró actividad antibacteriana, con una concentración inhibitoria mínima (CIM) de 8 µg/ml contra *Moraxella catarrhalis* ATCC23246 y contra *Streptococcus pneumoniae* ATCC49619, aunque no mostró ninguna actividad mensurable contra las otras cuatro cepas (CIM > 64 µg/ml en cada caso).

Ensayo *In Vivo*

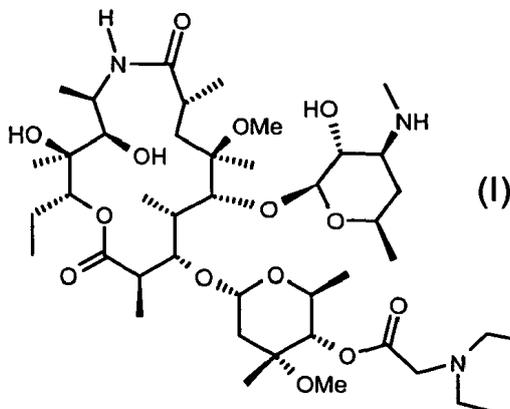
10 La potencia *in vivo* de los compuestos de los ejemplos 1 a 3 como agentes antiinflamatorios se ha medido usando la metodología descrita en el protocolo *in vivo* para *Neutrofilia pulmonar inducida por lipopolisacárido bacteriano en ratones BALB/cJ machos* (como se ha descrito en este documento y anteriormente) y/o en el protocolo *in vivo* para *Neutrofilia pulmonar inducida por lipopolisacárido bacteriano en ratones BALB/cJ machos*, como se describe en la publicación internacional WO2006/087644. Los Ejemplos 1, 2 y 3 mostraron un promedio de inhibición de más de 90% del número total de células. En promedio, el Ejemplo 1 mostró una inhibición de más de 89%, el ejemplo 2
15 mostró una inhibición de más de 70% y el ejemplo 3 mostró una inhibición de más de 79% del número de neutrófilos en BALF de animales tratados que recibieron por vía intraperitoneal (i.p.) una sola dosis de 200 mg/kg de compuesto de ensayo.

Perfil de conjunto

20 El compuesto del Ejemplo 1 tiene un perfil ventajoso en el sentido de que muestra potencia en una exploración antiinflamatoria, no tienen una actividad antibacteriana importante y es estable en plasma, sangre completa, en soluciones de tampón de pH 2 a pH 8 y en medios biorrelevantes, lo que lo hacen altamente adecuado para el desarrollo como agente antiinflamatorio.

REIVINDICACIONES

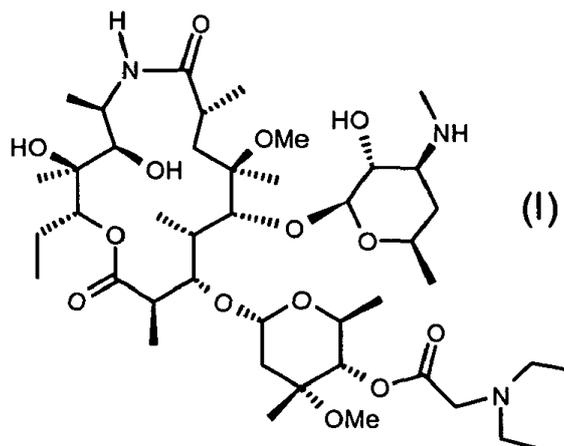
1. El compuesto 3'-N-desmetil-4"-O-(2-dietilaminoetanol)-6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A, que tiene la Fórmula (I):



5 o una sal del mismo.

2. El compuesto de Fórmula (I) según la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

3. Un compuesto según la reivindicación 1, que es 3'-N-desmetil-4"-O-(2-dietilaminoetanol)-6-O-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A, que tiene la Fórmula (I):



10 4. Un compuesto de Fórmula (I) según la reivindicación 1, que es la Forma 1 cristalina, caracterizada por el patrón de XRPD expresado en términos de ángulos 2 theta y obtenido con un difractómetro usando radiación de cobre $K\alpha$, en donde el patrón de XRPD comprende ángulos 2 theta ($2\theta^\circ$) en al menos cinco posiciones seleccionadas entre el grupo que consiste en: 4,6, 5,6, 7,7, 9,6, 10,6, 11,0, 11,6, 11,8, 12,2, 14,1, 15,9, 18,4, 19,0, 20,5, 21,1 y 22,0 grados, que corresponden respectivamente a distancias interplanares d a 19,1, 15,9, 11,5, 9,2, 8,4, 8,0, 7,7, 7,5, 7,2, 6,3, 5,6, 4,8, 4,7, 4,3, 4,2 y 4,0 Ångstroms (Å).

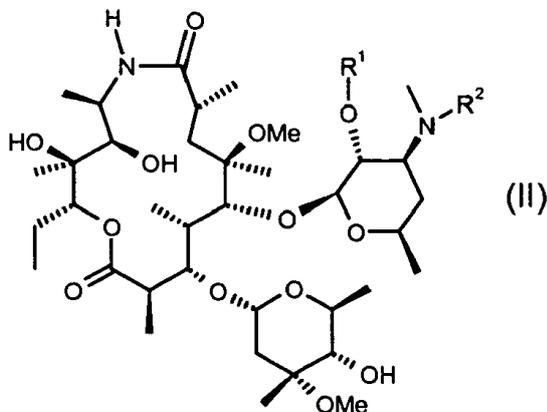
15 5. Un compuesto de Fórmula (I) según la reivindicación 1, que es la Forma 2 cristalina, caracterizado por el patrón de XRPD expresado en términos de ángulos 2 theta y obtenido con un difractómetro usando radiación de cobre $K\alpha$, en donde el patrón de XRPD comprende ángulos 2 theta ($2\theta^\circ$) en al menos cinco posiciones seleccionadas entre el grupo que consiste en: 9,1, 9,4, 10,4, 10,9, 11,5, 12,0, 13,0, 13,4, 14,7, 15,4, 15,7, 16,5, 16,8, 18,7, 19,2, 19,5, 19,8 y 20,8 grados, que corresponden respectivamente a distancias interplanares d a 9,7, 9,5, 8,5, 8,1, 7,7, 7,4, 6,8, 6,6, 6,0, 5,8, 5,6, 5,4, 5,3, 4,7, 4,6, 4,6, 4,5 y 4,3 Ångstroms (Å).

20 6. Un compuesto de Fórmula (I) según la reivindicación 1, que es la Forma 3 cristalina, caracterizado por el patrón de XRPD expresado en términos de ángulos 2 theta y obtenido con un difractómetro usando radiación de cobre $K\alpha$, en donde el patrón de XRPD comprende ángulos 2 theta ($2\theta^\circ$) en al menos cinco posiciones seleccionadas entre el grupo que consiste en: 5,5, 7,3, 7,9, 9,1, 9,5, 10,0, 10,5, 11,0, 11,5, 12,0, 12,6, 14,8, 15,5, 15,8, 16,6, 16,9, 18,2, 18,9 y 19,5 grados, que corresponden respectivamente a distancias interplanares d a 16,0, 12,1, 11,3, 9,7, 9,4, 8,9, 8,4, 8,1, 7,7, 7,4, 7,0, 6,0, 5,7, 5,6, 5,3, 5,2, 4,9, 4,7 y 4,6 Ångstroms (Å).

25

7. Procedimiento para la preparación de un compuesto según la reivindicación 1, que comprende:

a) hacer reaccionar un compuesto de Fórmula II, en la que R¹ es un grupo protector de hidroxilo y R² es un grupo protector de amino,



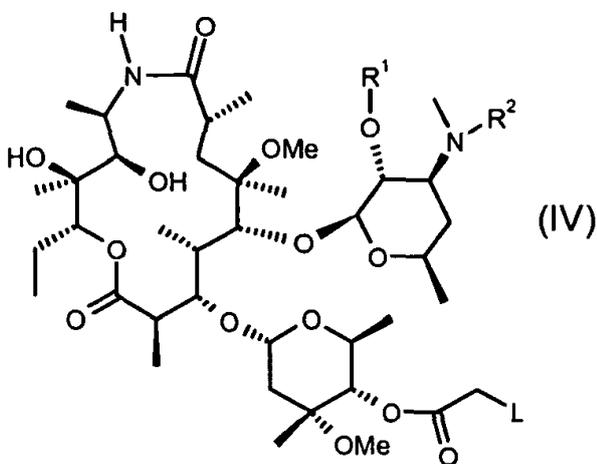
5



con un ácido carboxílico o un derivado activado adecuado de ácido carboxílico de fórmula (III), en la que cada uno de R³ y R⁴ es etilo, o son independientemente un grupo convertible en etilo, seguido de la subsiguiente retirada del grupo protector de hidroxilo R¹, el grupo protector de amino R², y cuando sea necesario, conversión del grupo -NR³R⁴ en -N(CH₂CH₃)₂; o

10

b) reacción de un compuesto de fórmula (IV) en la que L es un grupo saliente adecuado, R¹ es un grupo protector de hidroxilo y R² es un grupo protector de amino,



15



con una amina de fórmula (V) en la que cada uno de R³ y R⁴ es etilo, o son independientemente un grupo convertible en etilo, seguido de la subsiguiente retirada del grupo protector de hidroxilo R¹, el grupo protector de amino R², y cuando sea necesario, conversión del grupo -NR³R⁴ en -N(CH₂CH₃)₂,

20

8. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, junto con al menos un excipiente, diluyente y/o vehículo farmacéuticamente aceptables.

9. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para uso en terapia médica.

25

10. Uso de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 en la preparación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades inflamatorias dominadas por neutrófilos que se producen como resultado de infiltración neutrófila y/o enfermedades asociadas con una funcionalidad celular alterada de los neutrófilos,

- 5 seleccionadas entre enfermedad pulmonar obstructiva crónica, fibrosis quística, panbronquiolitis difusa, bronquiolitis obliterante, bronquitis, bronquiectasia, síndrome de insuficiencia respiratoria aguda, asma severa o resistente a esteroides, enfisema, rinosinusitis crónica, artritis reumatoide, artritis gotosa, enfermedad inflamatoria del intestino, glomerulonefritis, lesión de reperfusión isquémica, aterosclerosis, dermatosis tales como psoriasis y vasculitis, lupus eritematoso sistémico, síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, septicemia, lesión por isquemia-reperfusión, rosácea, periodontitis, hiperplasia gingival y síndrome de prostatitis.
- 10 11. Uso según la reivindicación 10, en donde la enfermedad se selecciona entre enfermedad pulmonar obstructiva crónica, fibrosis quística, panbronquiolitis difusa, bronquiolitis obliterante, bronquitis, bronquiectasia, síndrome de insuficiencia respiratoria aguda, asma severa o resistente a esteroides, enfisema y rinosinusitis crónica.
- 10 12. Una composición farmacéutica según la reivindicación 8, que comprende uno o múltiples agentes terapéuticamente activos adicionales.

Figura 1A

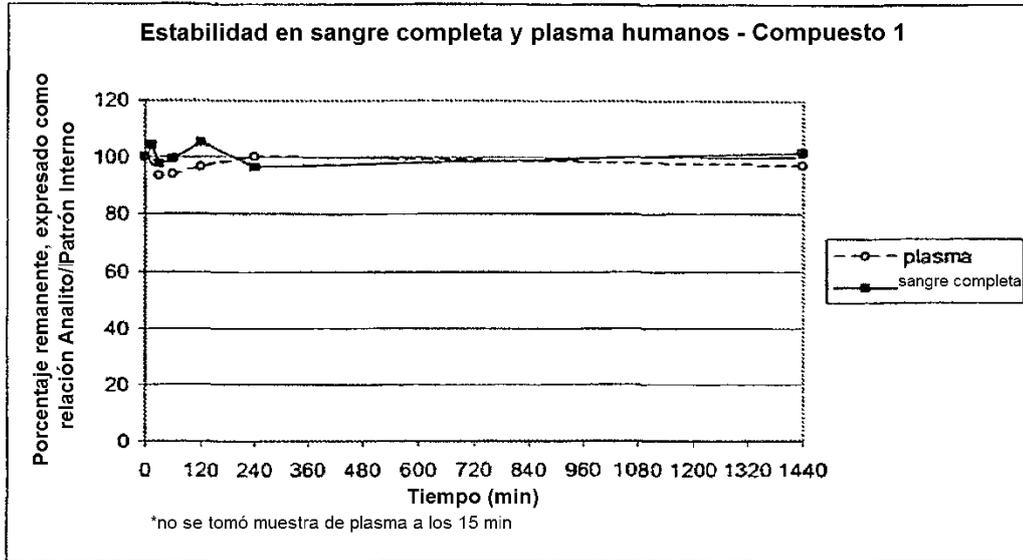


Figura 1B

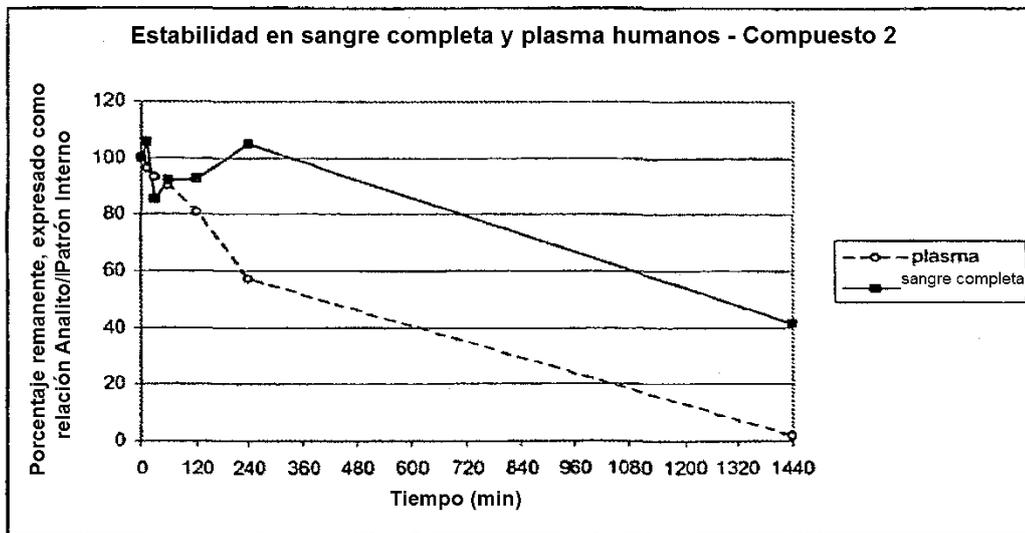


Figura 1C

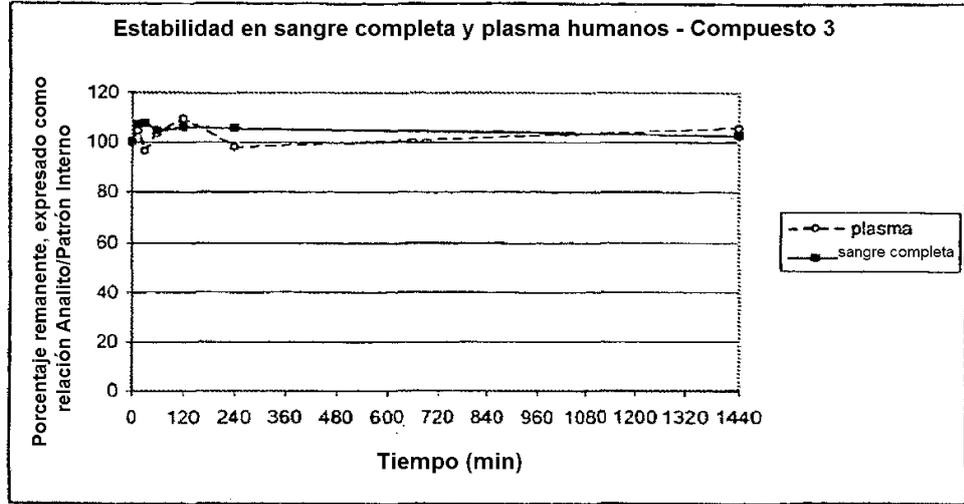


Figura 2: Espectro de masas del pico A de degradación, y estructura molecular derivada

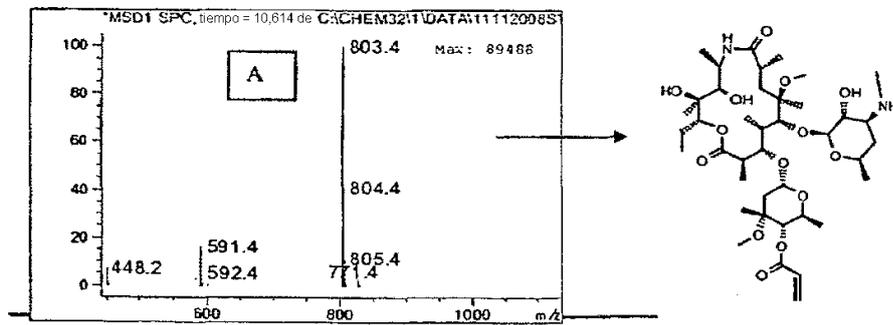


Figura 3: Patrón de XRPD de la forma amorfa

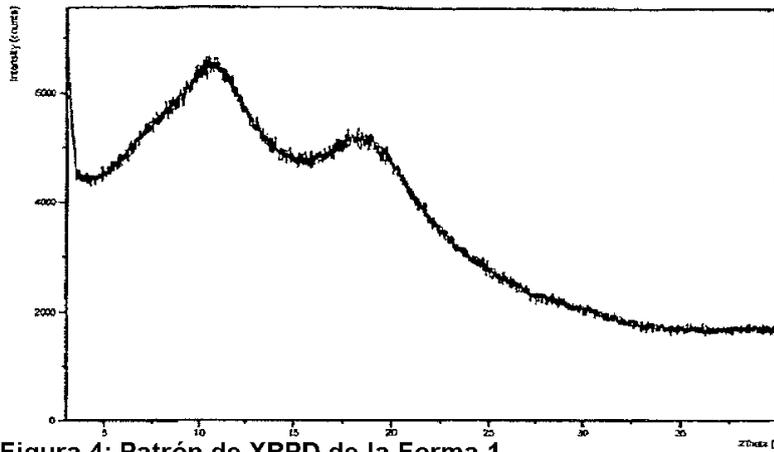


Figura 4: Patrón de XRPD de la Forma 1

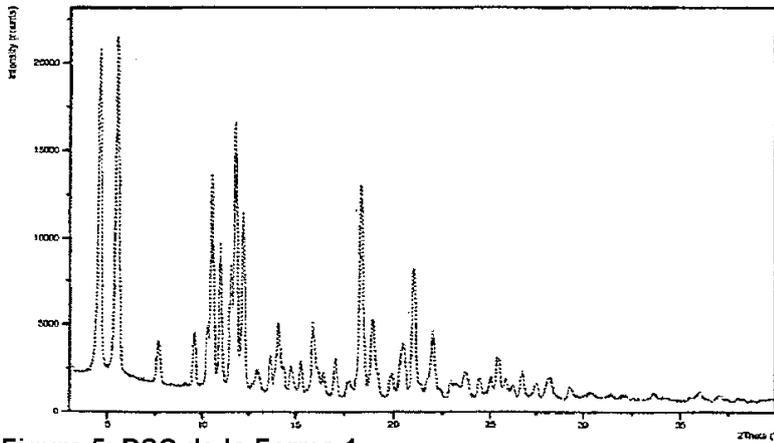


Figura 5: DSC de la Forma 1

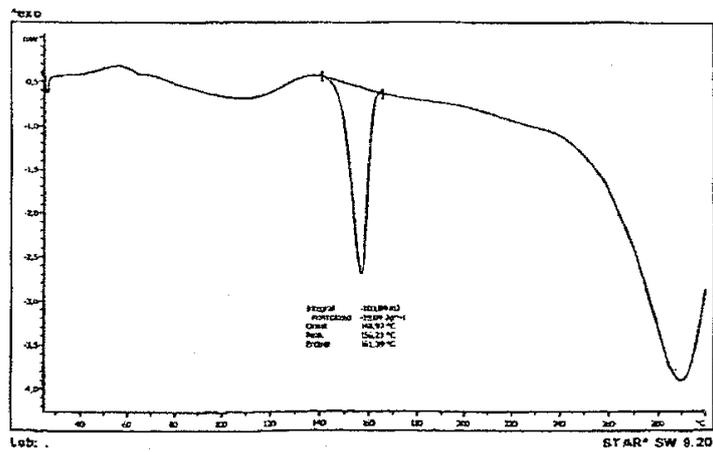


Figura 6: TGA de la Forma 1

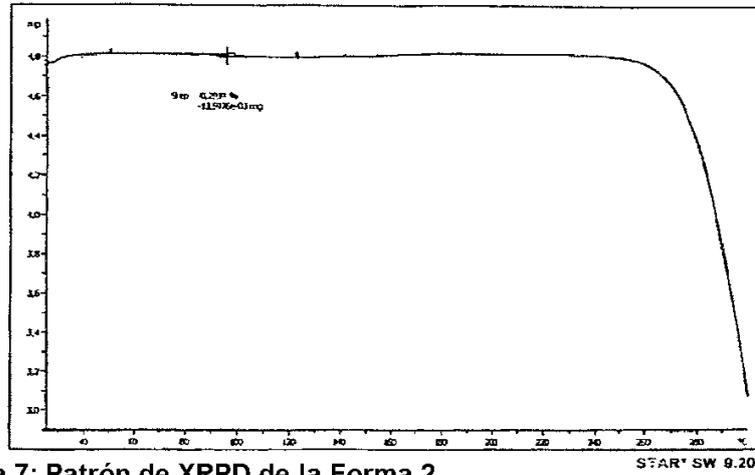


Figura 7: Patrón de XRPD de la Forma 2

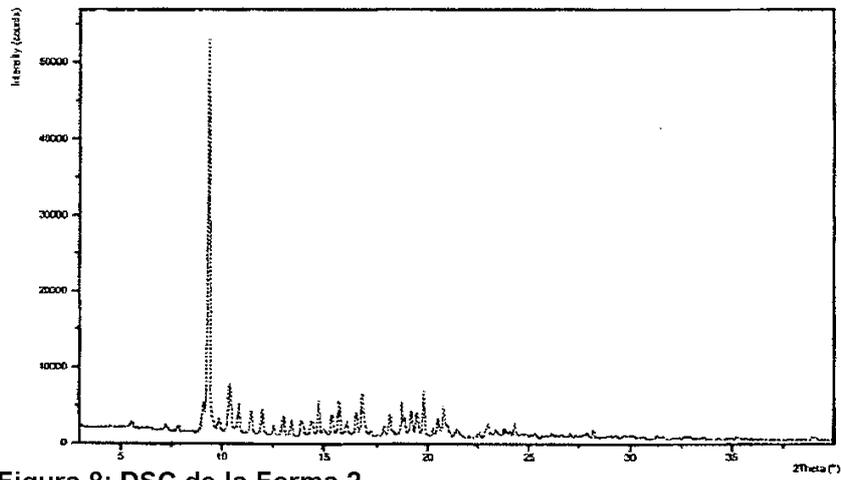


Figura 8: DSC de la Forma 2

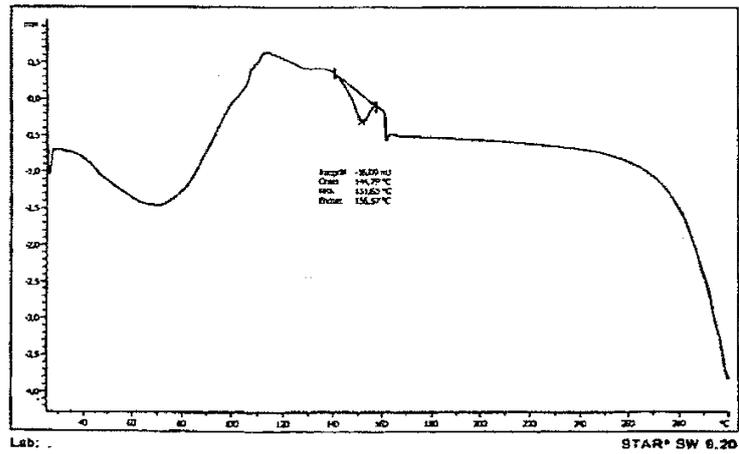


Figura 9: TGA de la Forma 2

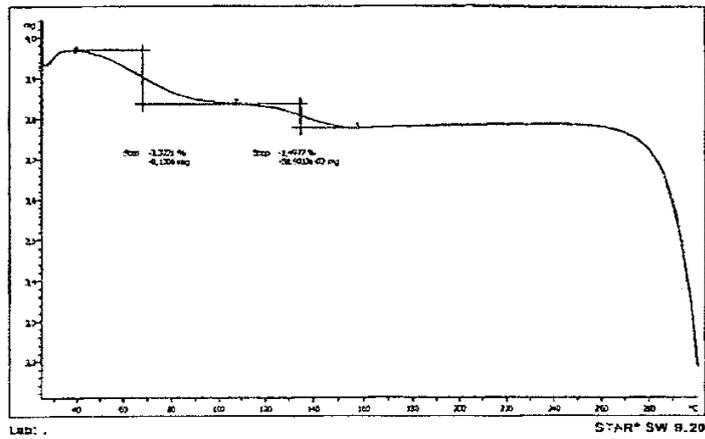


Figura 10: Patrón de XRPD de la Forma 3

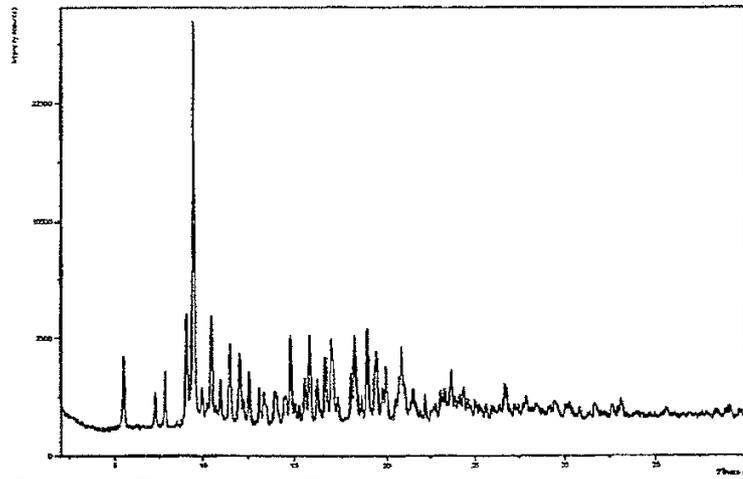


Figura 11: Espectro Raman de la Forma 3

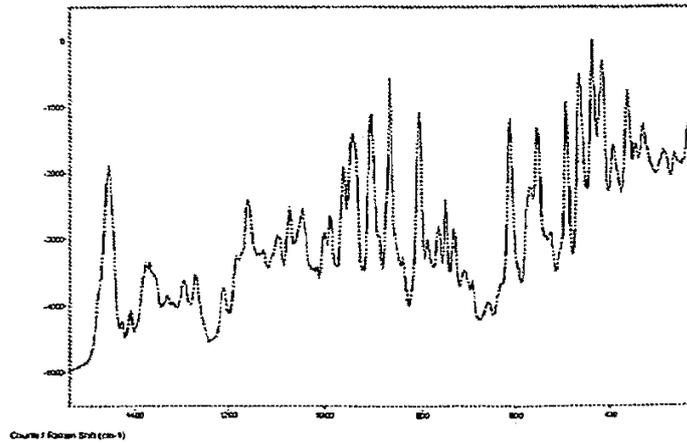


Figura 12: Espectro Raman de la Forma 4

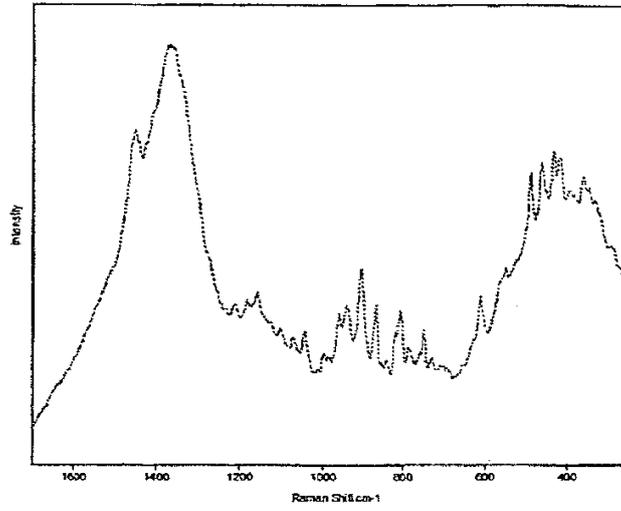


Figura 13: Espectro Raman de la Forma 5

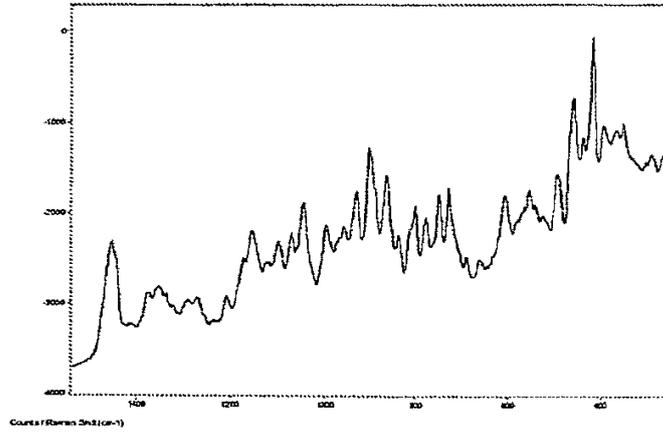


Figura 14: Espectro Raman de la Forma 6

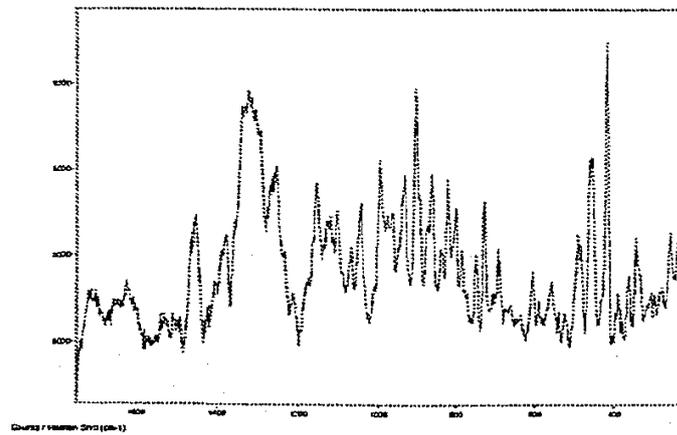


Figura 15: Espectro Raman de la Forma 7

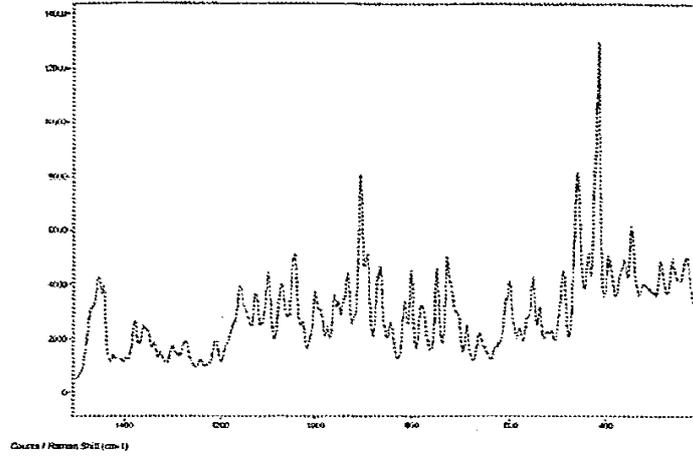


Figura 16: Espectro Raman de la Forma 8

