

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 548 261**

51 Int. Cl.:

C07D 207/50	(2006.01) A61P 31/04	(2006.01)
C07D 231/12	(2006.01) A61P 33/06	(2006.01)
C07D 239/20	(2006.01)	
C07D 241/12	(2006.01)	
C07D 261/02	(2006.01)	
C07D 261/04	(2006.01)	
C07D 263/32	(2006.01)	
C07D 265/02	(2006.01)	
C07C 237/26	(2006.01)	
A61K 31/65	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.12.2007 E 12151178 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.06.2015 EP 2450347**

54 Título: **Derivados de tetraciclina para el tratamiento de infecciones bacterianas, virales y parasitarias**

30 Prioridad:

21.12.2006 US 876313 P
08.06.2007 US 943003 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
15.10.2015

73 Titular/es:

PARATEK PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)
75 Kneeland Street
Boston, MA 02111, US

72 Inventor/es:

ABATO, PAUL;
BHATIA, BEENA;
BOWSER, TODD y
VERMA, ATUL K.

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 548 261 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

Derivados de tetraciclina para el tratamiento de infecciones bacterianas, virales y parasitarias

Antecedentes de la invención

5 El desarrollo de los antibióticos de tetraciclina fue el resultado directo de una selección sistemática de las muestras de suelo recolectadas en muchas partes del mundo en busca de la evidencia de microorganismos capaces de producir composiciones bactericidas y/o bacteriostáticas. El primero de estos nuevos compuestos se introdujo en 1948 bajo el nombre clortetraciclina. Dos años más tarde, la oxitetraciclina se pudo a su disposición. La elucidación de la estructura química de estos compuestos confirmó su similitud y proporcionó las bases analíticas para la producción de un tercer miembro de este grupo en 1952, la tetraciclina. Una nueva familia de los compuestos de tetraciclina, sin el grupo metilo unido al anillo presente en las tetraciclinas anteriores, se elaboró en 1957 y se puso a disposición del público en el año 1967; y la minociclina estuvo en uso en 1972.

15 Recientemente, los esfuerzos de investigación se han centrado en el desarrollo de nuevas composiciones de antibiótico de tetraciclina eficaces bajo diferentes condiciones terapéuticas y rutas de administración. También se han investigado nuevos análogos de tetraciclina que pueden llegar a ser iguales o más eficaces que los compuestos de tetraciclina originalmente introducidos. Ejemplos incluyen las Patentes de los Estados Unidos Nos. 2,980,584; 2,990,331; 3,062,717; 3,165,531; 3,454,697; 3,557,280; 3,674,859; 3,957,980; 4,018,889; 4,024,272; y 4,126,680. Estas patentes son representativas del rango de composiciones de tetraciclinas farmacéuticamente activas y análogas de las tetraciclinas.

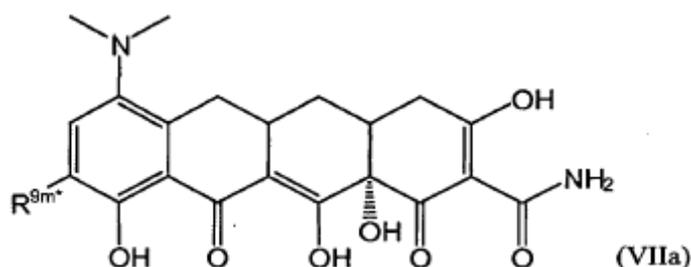
20 Históricamente, poco después de su desarrollo inicial e introducción, se encontró que las tetraciclinas son altamente eficaces farmacológicamente contra rickettsiae; un número de bacterias gram-positivas y gram-negativas; y los agentes responsables de linfogranuloma venéreo, conjuntivitis de inclusión y la psitacosis. Por lo tanto, las tetraciclinas se conocían como antibióticos de "amplio espectro". Con el posterior establecimiento de su actividad antimicrobiana in vitro, efectividad en infecciones experimentales, y propiedades farmacológicas, las tetraciclinas como una clase llegaron a ser ampliamente utilizadas rápidamente para fines terapéuticos. Sin embargo, este uso generalizado de las tetraciclinas para tanto enfermedades principales y secundarias como enfermedades condujo directamente a la aparición de la resistencia a estos antibióticos, incluso entre especies bacterianas altamente susceptibles tanto comensales como patógenas (por ejemplo, neumococos y Salmonella). El surgimiento de organismos resistentes a la tetraciclina se ha traducido en una disminución general en el uso de tetraciclinas como antibióticos de elección.

30 En el documento WO-A-2004064728 se describen los métodos y compuestos para el tratamiento de enfermedades con compuestos de tetraciclina que tiene una actividad terapéutica diana.

El documento WO-A-03057169 está relacionado con nuevos compuestos de tetraciclina 4-dedimetilamino sustituida. Estos compuestos de tetraciclina pueden ser utilizados para tratar numerosos estados sensibles a compuestos de tetraciclina, tales como infecciones bacterianas y neoplasias, así como otras 15 aplicaciones conocidas para los compuestos de minociclina y tetraciclina en general, tales como el bloqueo de flujo de salida de la tetraciclina y la modulación de la expresión génica.

Resumen de la invención

La presente invención se refiere, al menos en parte, a compuestos de tetraciclina sustituida de fórmula VIIa:



40 en donde R^{9m+} es oxazolilo no sustituido o sustituido, oxadiazolilo no sustituido o sustituido, isoxazolilo no sustituido o sustituido, pirazolilo no sustituido o sustituido, tiazolilo no sustituido o sustituido, metilimidazolilo, o $-CONR^{9ma}R^{9mb}$;

R^{9ma} es hidrógeno y R^{9mb} es hidroxilo, alquilo, hidroxialquilo, arilo o alcoxi; o R^{9ma} es alquilo y R^{9mb} es alquilo o hidroxilo; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

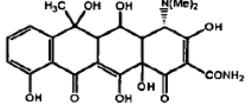
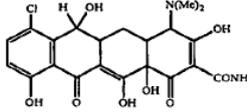
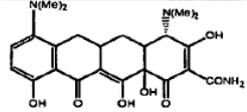
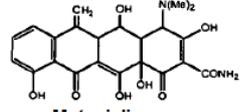
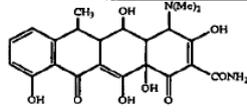
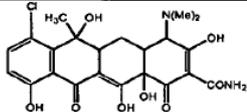
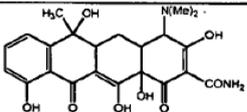
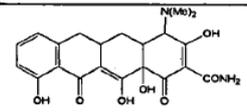
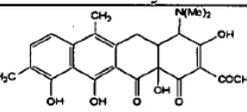
En una realización, la invención se refiere, al menos en parte, a una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de tetraciclina sustituida de Fórmula VIIa y un portador farmacéuticamente aceptable.

En otra realización adicional, la invención se refiere, al menos en parte, a un compuesto de tetraciclina sustituida de Fórmula VIIa para el uso en métodos para el tratamiento de sujetos para los estados sensibles a la tetraciclina, por ejemplo, mediante la administración a ellos de una cantidad eficaz de dicho compuesto de tetraciclina sustituida.

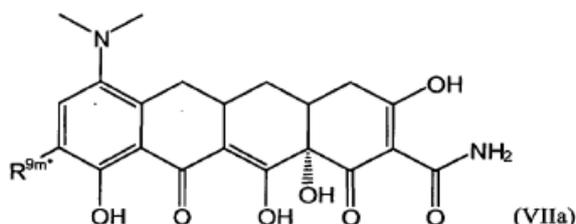
Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere, al menos en parte, a nuevos compuestos de tetraciclina sustituida como se ha descrito anteriormente. Estos compuestos de tetraciclina pueden ser utilizados para tratar numerosos estados sensibles a compuestos de tetraciclina, tales como infecciones bacterianas, inflamación y neoplasias, así como otras aplicaciones conocidas para los compuestos de minociclina y tetraciclina en general, tales como el bloqueo de flujo de salida de la tetraciclina y la modulación de la expresión génica. El término "compuesto de tetraciclina" incluye muchos compuestos con una estructura de anillo similar a la tetraciclina. Ejemplos de compuestos de tetraciclina incluyen: clortetraciclina, oxitetraciclina, demeclociclina, metaciclina, sanciclina, quelocardina, rolitetraciclina, limeciclina, apiciclina; clomociclina, guameciclina, megluciclina, mepiliciclina, penimepiciclina, pipaciclina, etamociclina, penimociclina, etc. También se incluyen otros derivados y análogos que comprenden una estructura de cuatro anillos similar (Véase Rogalski, "Chemical Modifications of Tetracyclines,"). La Tabla 1 representa la tetraciclina y varios otros derivados de tetraciclina conocidos.

Tabla 1

 Oxitetraciclina	 Demeclociclina	 Minociclina
 Metaciclina	 Doxiciclina	 Clortetraciclina
 Tetraciclina	 Sanciclina	 Quelocardina

Los compuestos de tetraciclina sustituida de la invención incluyen compuestos de Fórmula VIIa:



en donde

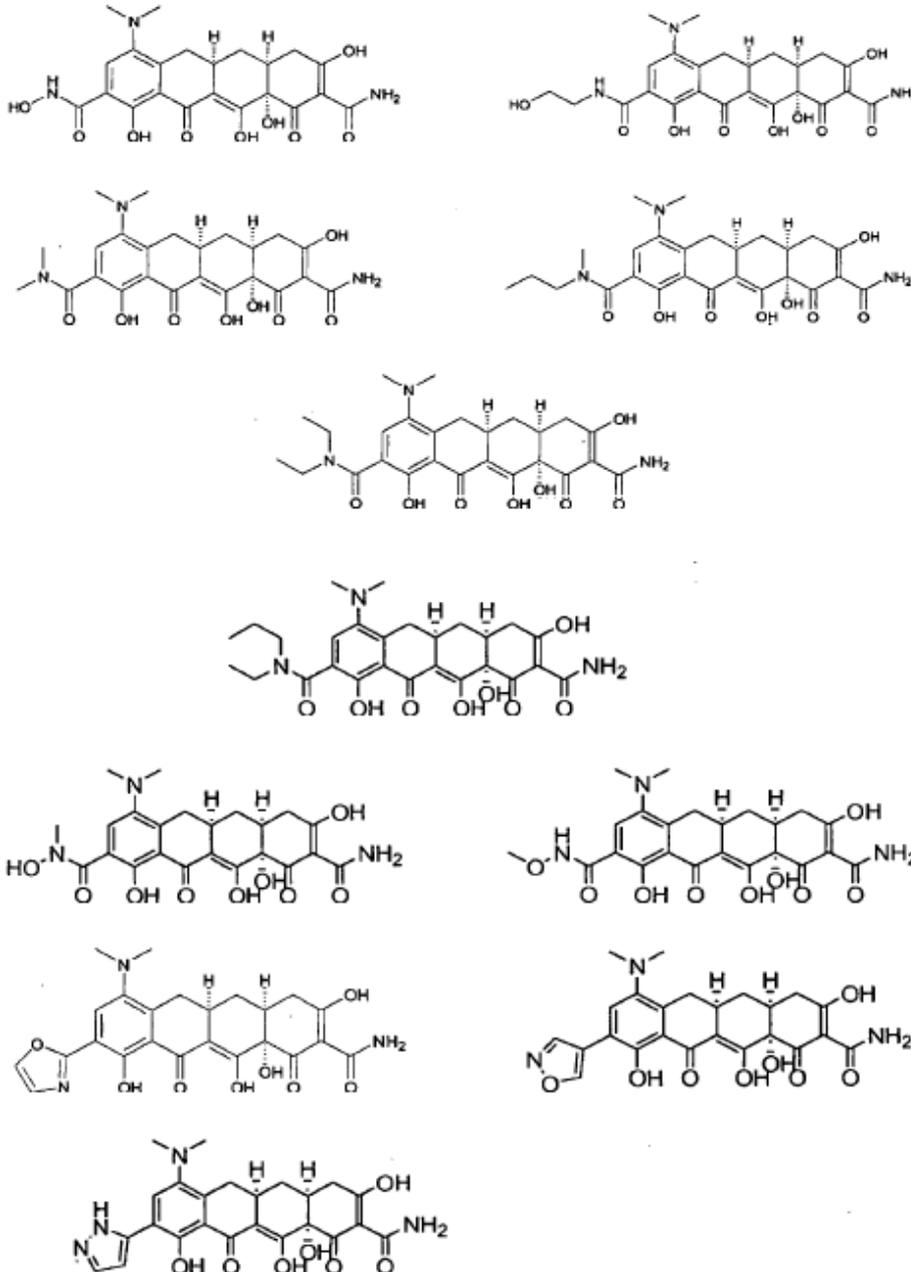
R^{9m*} es oxazolilo no sustituido o sustituido, oxadiazolilo no sustituido o sustituido, isoxazolilo no sustituido o sustituido, pirazolilo no sustituido o sustituido, tiazolilo no sustituido o sustituido, metilimidazolilo, o -CONR^{9ma}R^{9mb}; y

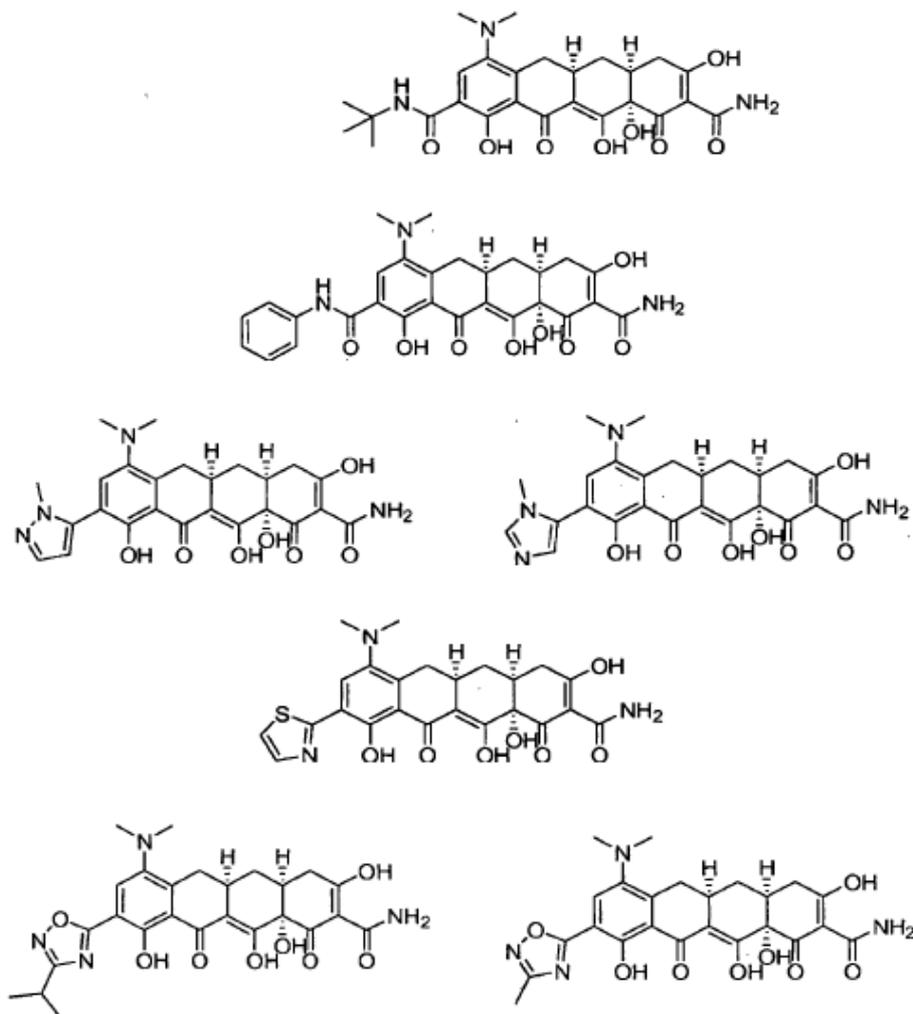
R^{9ma} es hidrógeno y R^{9mb} es hidroxilo, alquilo, hidroxialquilo, arilo o alcoxi; o R^{9ma} es alquilo y R^{9mb} es alquilo o hidroxilo; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En aún otra realización adicional, R^{9m^*} es oxazolilo no sustituido o sustituido, oxadiazolilo no sustituido o sustituido (por ejemplo, oxadiazolilo sustituido por un alquilo, tal como oxazolilo sustituido por isopropilo o metilo), isoxazolilo no sustituido o sustituido, pirazolilo no sustituido o sustituido, tiazolilo no sustituido o sustituido, metilpirazolilo, o metilimidazolilo.

- 5 En aún otra realización más, R^{9m^*} es $-\text{CONR}^{9ma}\text{R}^{9mb}$; R^{9ma} es hidrógeno y R^{9mb} es hidroxilo, hidroxialquilo (por ejemplo, hidroxietilo), alcoxi (por ejemplo, metoxi), arilo (por ejemplo, fenilo) o alquilo (por ejemplo, t-butilo). En una realización adicional, R^{9ma} es alquilo (por ejemplo, metilo, etilo o propilo) y R^{9mb} es alquilo (por ejemplo, metilo, etilo o propilo) o hidroxilo.

Los ejemplos de compuestos de tetraciclina sustituida de las Fórmulas VIIa incluyen:



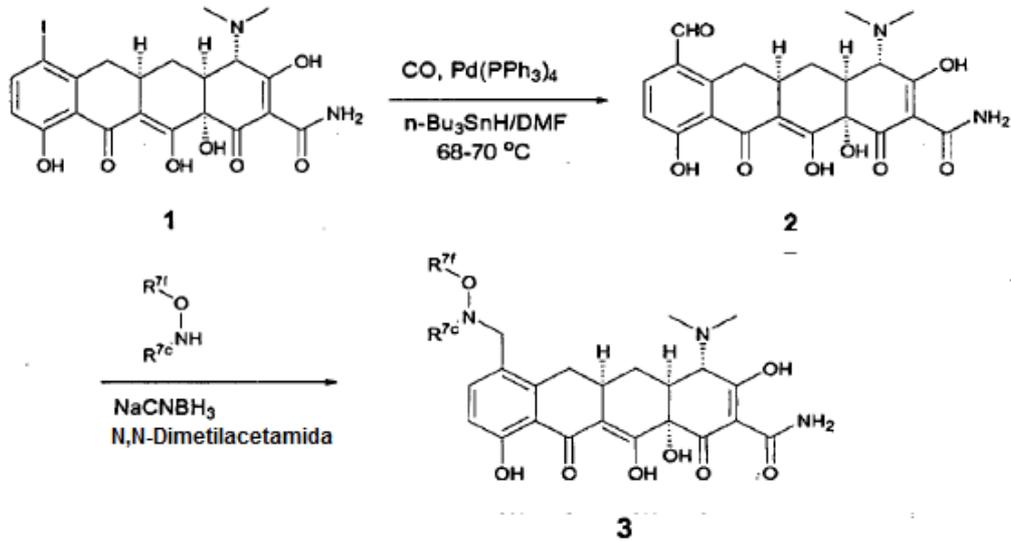


y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Métodos para sintetizar los compuestos de tetraciclina de la invención

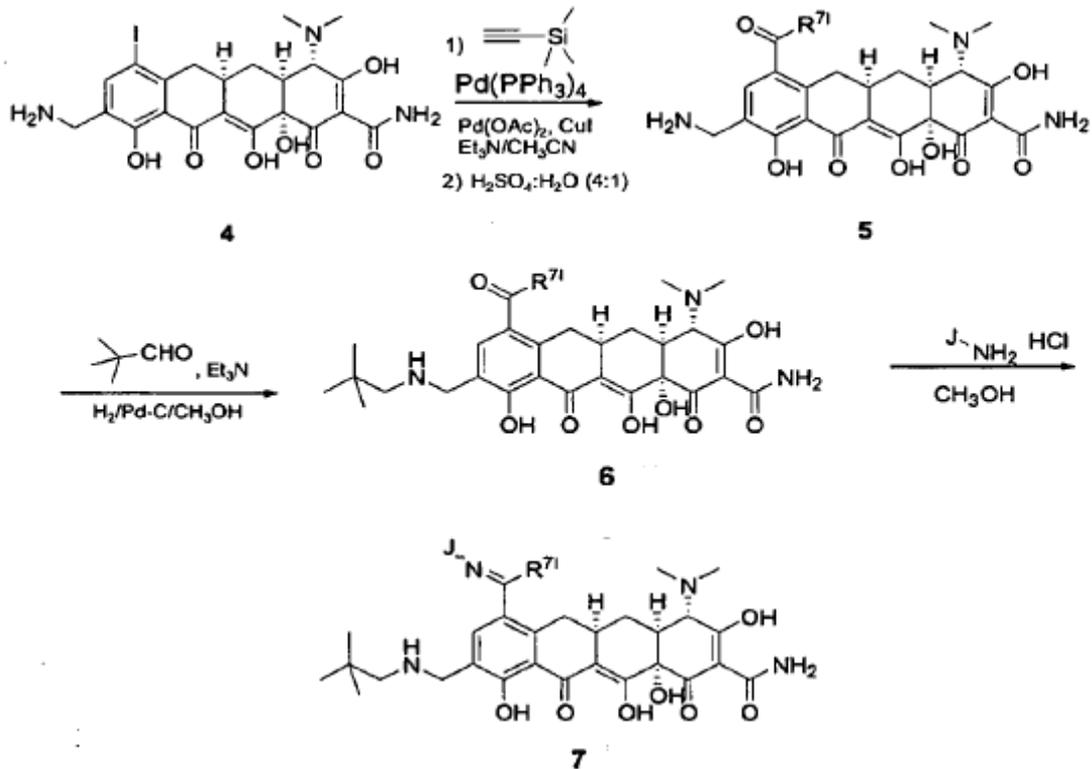
- 5 Los compuestos de tetraciclina sustituida de la invención se pueden sintetizar utilizando los métodos descritos en los siguientes esquemas y mediante el uso de técnicas reconocidas en el arte. Todos los nuevos compuestos de tetraciclina sustituida, descritos en este documento se incluyen en la invención como compuestos.

En el Esquema 1, se muestra un esquema de síntesis general para la síntesis de tetraciclinas 7- sustituidas. Se realiza un acoplamiento catalizado por paladio de un yodosanciclina (1) para formar un intermedio aldehído 7-sustituido (2). El intermedio aldehído se reduce en presencia de una hidroxilamina para proporcionar el producto deseado (3).



Esquema 1

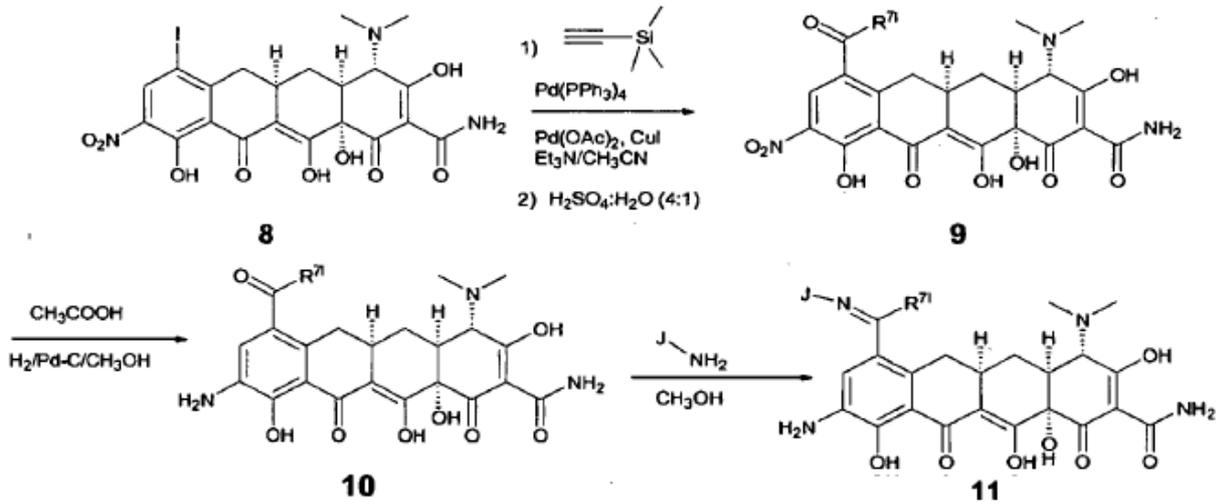
5 los compuestos de tetraciclina 7- y 9- sustituida se pueden sintetizar haciendo reaccionar el derivado 7-yodo-9-aminoalquilo sanciclina (4) con trimetilsilileno en presencia de un catalizador de paladio para producir el intermedio alquinilo 7-sustituido. La posterior hidrólisis ácida produce el intermedio 7-acilo (5). La derivación adicional de la posición 9 se puede lograr por alquilación reductora del grupo amino con aldehído t-butilo, hidrógeno y paladio sobre carbono para formar el compuesto 6, que luego se puede hacer reaccionar con una hidroxilamina primaria para formar la oxima 7.



Esquema 2

los compuestos de tetraciclina 7- y 9- sustituida también se pueden preparar como se muestra en el Esquema 3. A partir de un sanciclina 7-yodo-9-nitro sustituida (8), un acoplamiento de Hiyama seguido por la hidrólisis ácida produce un intermedio 7-acilo-9-nitro (9). La fracción nitro se puede reducir al grupo amino por medio de gas de hidrógeno en presencia de un catalizador de paladio (10). La reacción del grupo acilo con una hidroxilamina primario provee el producto 11.

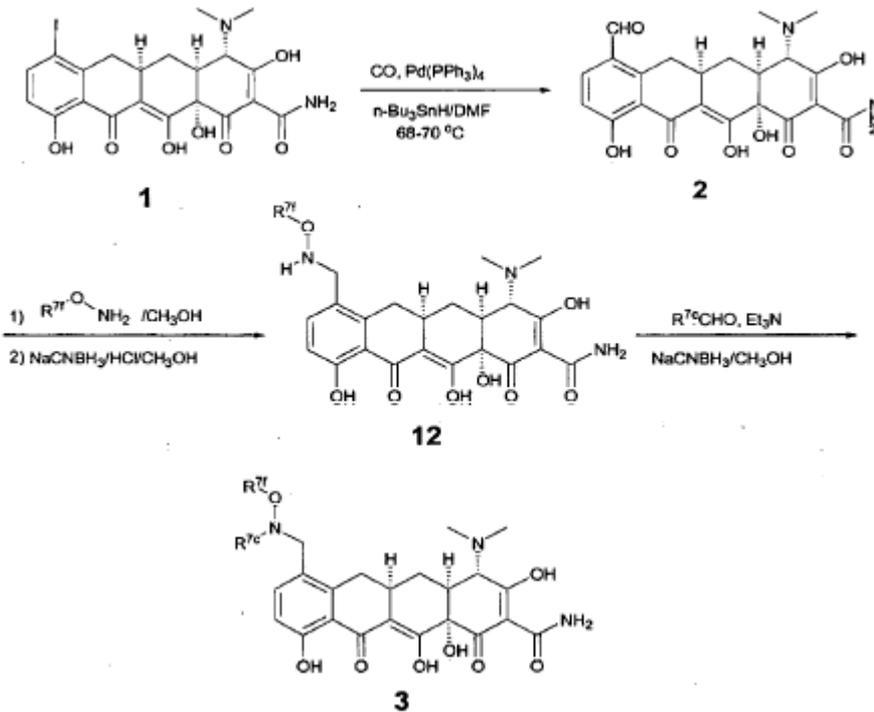
5



Esquema 3

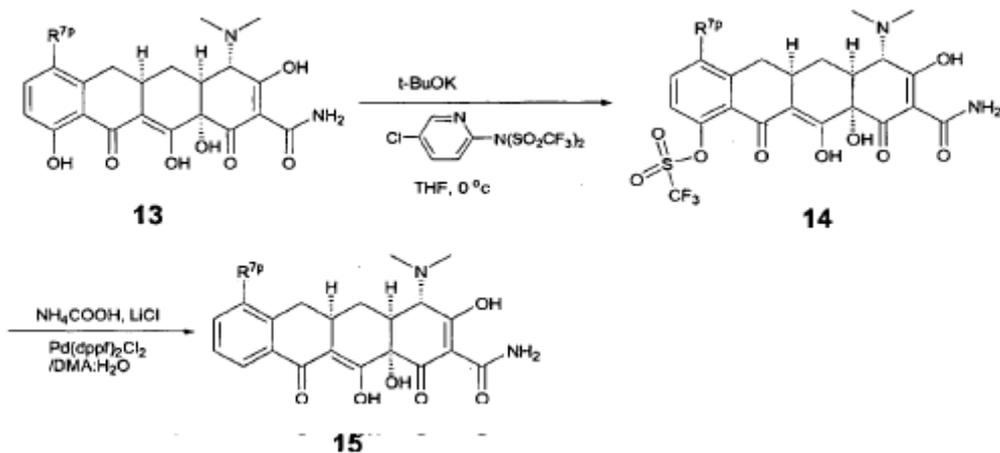
El Esquema 4, también provee un método para la síntesis de tetraciclinas 7-sustituidas. Como se ha descrito anteriormente, se realiza una carbonilación catalizada con paladio de una yodosanciclina (1) para formar un intermedio de aldehído 7-sustituido (2). El intermedio aldehído se reduce en presencia de una hidroxilamina para proporcionar el compuesto 12, que luego se puede hacer reaccionar con formaldehído y trietilamina, seguido por la reducción para proporcionar el producto deseado (3).

10



Esquema 4

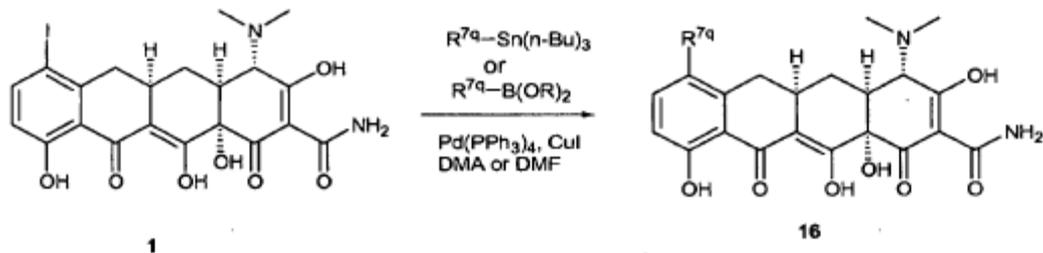
El Esquema 5 detalla la síntesis de las tetraciclinas sustituidas con hidroxilo en la posición 10. Un compuesto de tetraciclina 7-sustituida se puede hacer reaccionar con N-(5-cloro-2-piridil) bis (trifluorometanosulfonimida) para formar un intermedio trifluorometano sustituido (14), que luego se puede hacer reaccionar con formiato de amonio en presencia de un catalizador de paladio para formar el producto deseado (15).



5

Esquema 5

El Esquema 6 describe la síntesis general de las tetraciclinas 7-sustituidas. Un derivado de 7-yodo sanciclina (1) puede someterse a un acoplamiento de Stille o un acoplamiento de Suzuki por medio de la reacción con un derivado de alquilo estaño o un derivado de ácido borónico en presencia de un catalizador de paladio para formar el producto deseado (16).

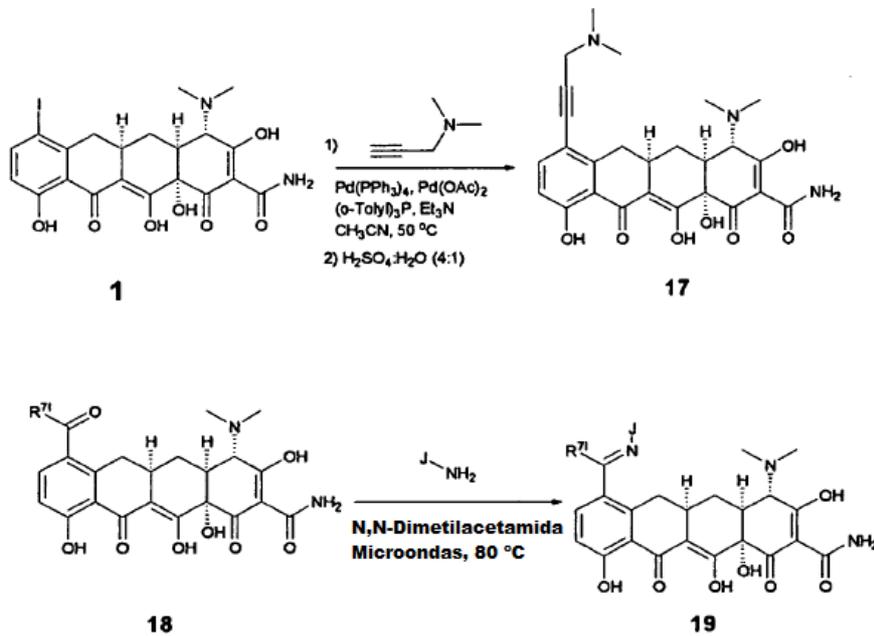


10

Esquema 6

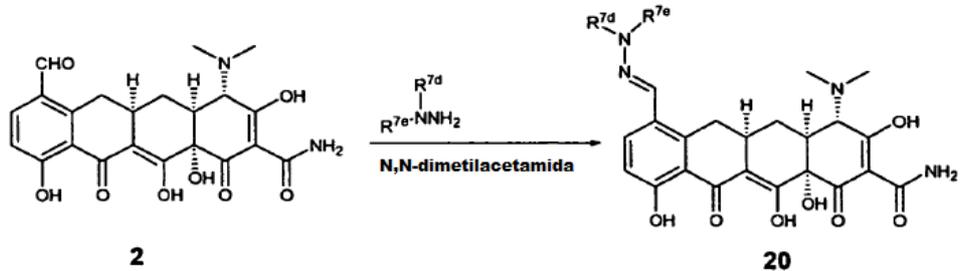
Los derivados de oxima sustituidos en 7 también se pueden preparar como se muestra en el Esquema 7. Un derivado de 7-yodo sanciclina (1) se puede hacer reaccionar con un alquino sustituido en presencia de paladio para sintetizar el derivado alquenilo 17. El compuesto 17 se puede convertir en el compuesto acilo sustituido 18 por cualquier técnica conocida en la técnica. El producto oxima deseado 19 se puede obtener mediante la reacción de la fracción acilo con una hidroxilamina primaria.

15



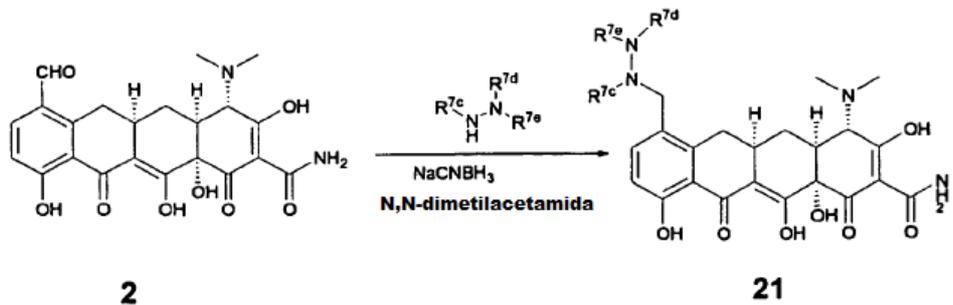
Esquema 7

El Esquema 8 es un esquema de síntesis general que muestra la síntesis de los compuestos de hidrazona 7-sustituida. Un derivado de aldehído tetraciclina 7- sustituida, preparada como se describe anteriormente en el Esquema 4, se combina con una hidrazona primaria para formar el producto deseado 20.



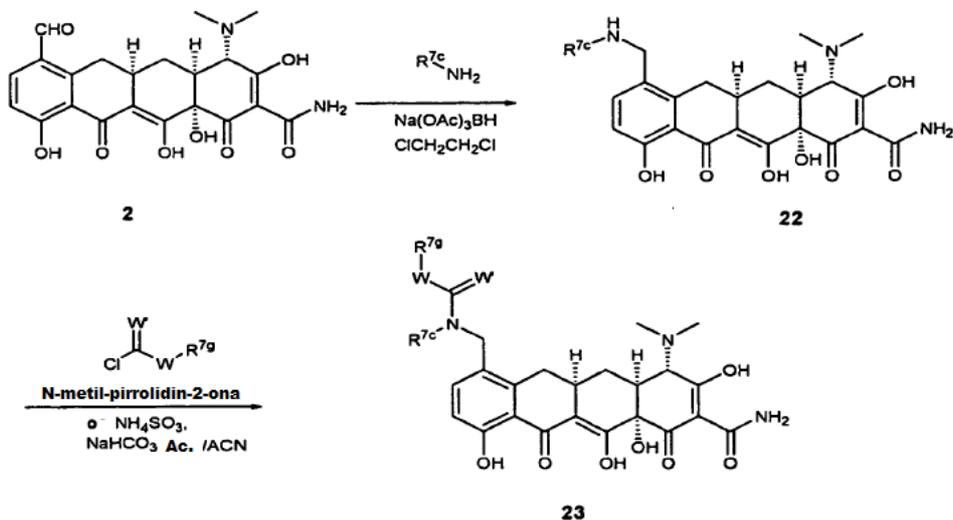
Esquema 8

Las hidrazinas 7-sustituidas también pueden ser sintetizadas como se muestra en el Esquema 9. Iniciando con el compuesto 2, sintetizado como se describe anteriormente en el Esquema 4, se puede hacer reaccionar con una hidrazina secundaria en presencia de un agente reductor para formar el compuesto 21.



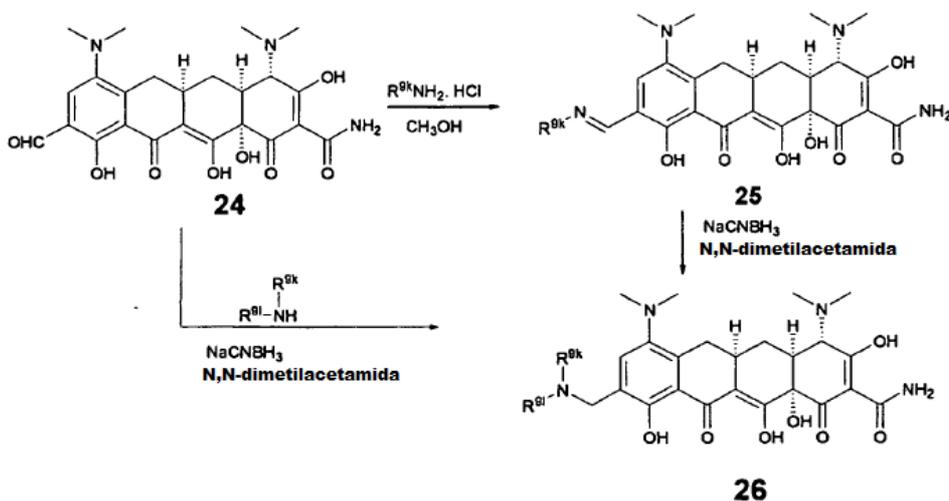
Esquema 9

El Esquema 10 representa además un método de síntesis de un compuesto de tetraciclina aminoalquilo 7-sustituida. El compuesto 2 se hace reaccionar con una amina primaria en presencia de un agente reductor para formar el intermedio de amina secundaria (22), que se mezcla a continuación con un cloruro ácido para formar el compuesto 23.



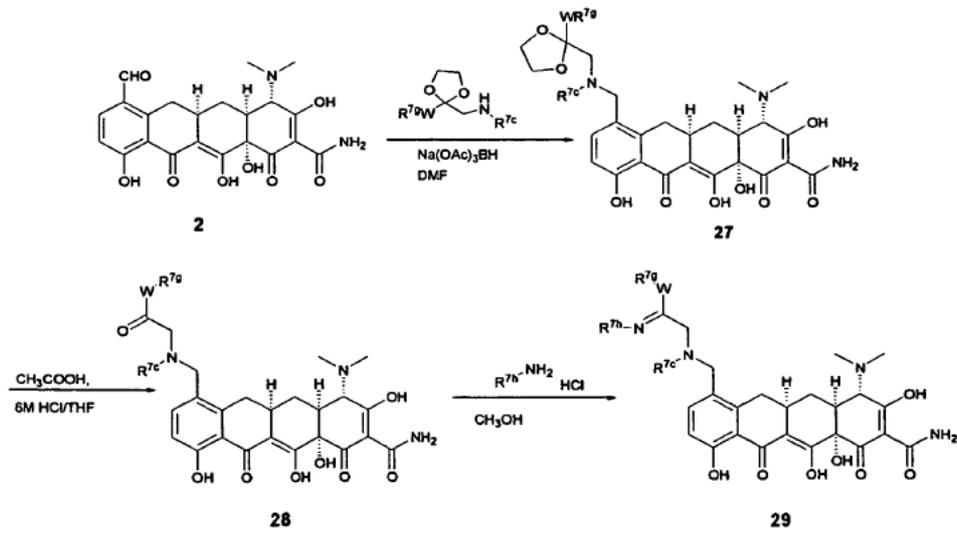
Esquema 10

El Esquema 11 describe un método general de preparación de los compuestos tetraciclina sustituida aminoalquilo 9-sustituida. El compuesto 24 se puede hacer reaccionar directamente con una amina secundaria para formar los compuestos similares a 26. Alternativamente, el compuesto 24 se puede mezclar con una amina primaria para producir la imina sustituida 25, la cual además puede reducirse para producir el compuesto de aminoalquilo 26.



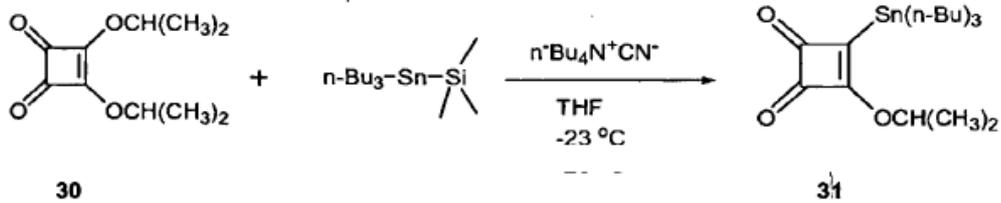
Esquema 11

La tetraciclina 7-sustituida también se puede preparar como se muestra en el Esquema 12. Iniciando otra vez con el compuesto 2, la alquilación reductora con una dioxalanil amina secundaria produce el intermedio 27. Posteriormente la exposición del 27 a condiciones ácidas elimina el grupo protector para formar el intermedio 28, que luego se puede hacer reaccionar con una amina primaria para formar el producto 9.



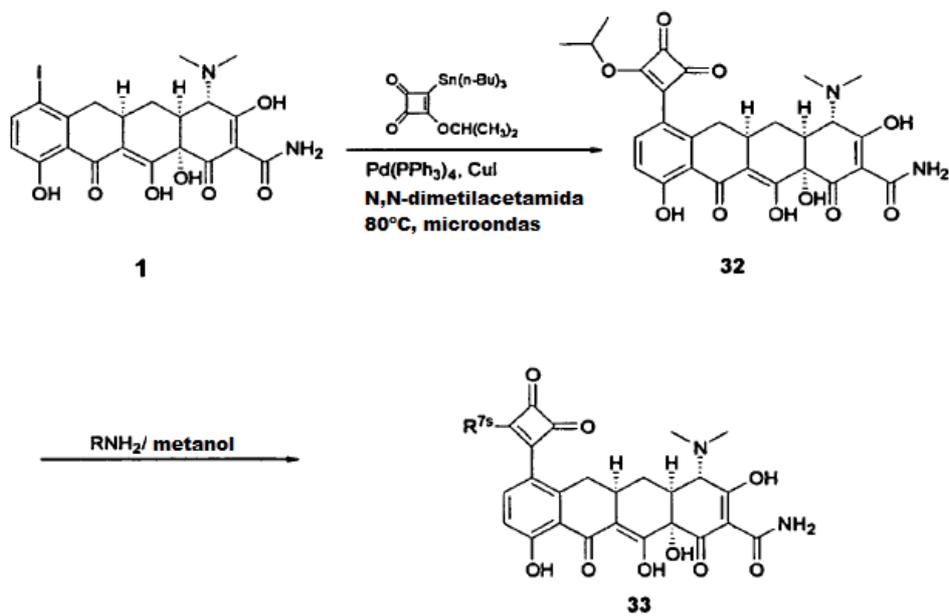
Esquema 12

5 Los Esquemas 13 y 14 ilustran la síntesis general de los compuestos de tetraciclina ciclobuteno 7-sustituidos. A partir de 30, el reactivo de estaño 31 se sintetiza mediante la reacción de 30 con un derivado de alquilo estaño trimetilsilil sustituido.



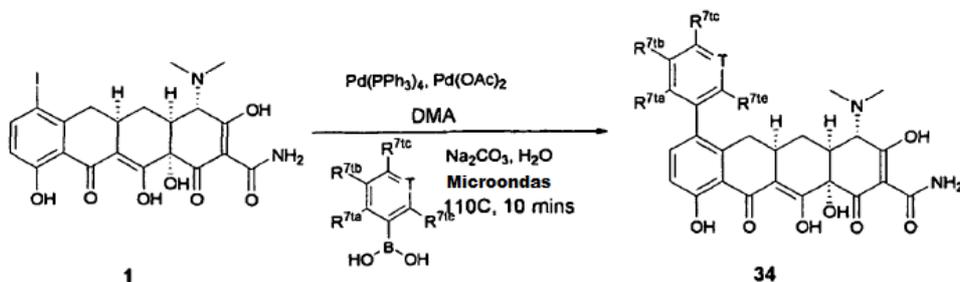
Esquema 13

10 El siguiente Esquema 14, muestra la síntesis de los compuestos de tetraciclina 7-sustituidas ciclobutenodiona, por medio de la reacción de bloque de construcción 31 con sanciclina 7-yodo sustituida (1) en una reacción de acoplamiento de Stille para formar 32. La sustitución amino del producto 33 se logra mediante la reacción de 32 con una amina primaria en metanol.



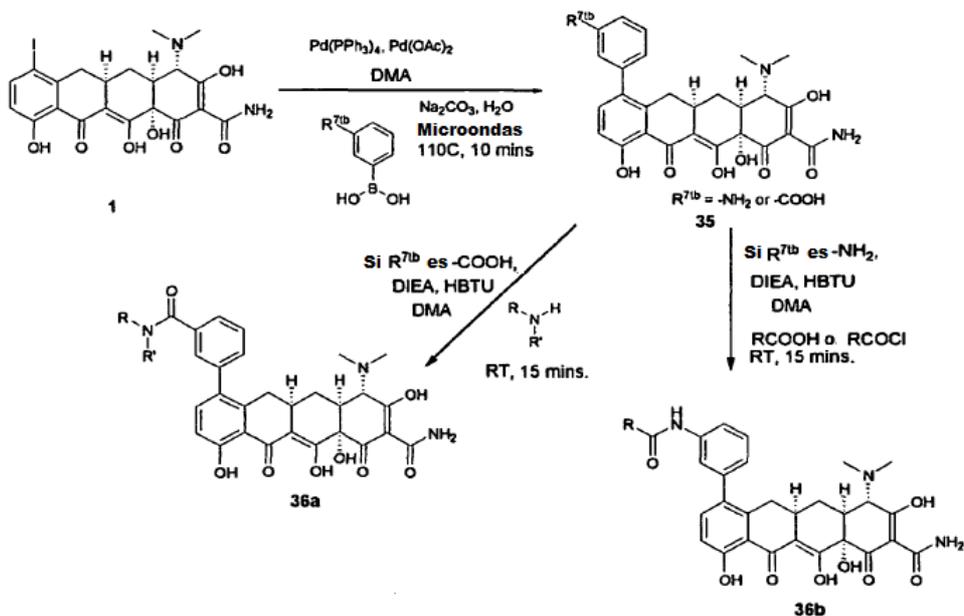
Esquema 14

El Esquema 15 representa generalmente la síntesis de los compuestos de tetraciclina 7-sustituidas aromáticos sustituidos. A partir de 1 y realizando una reacción de acoplamiento Suzuki en presencia de un ácido bórico y un catalizador de paladio, se forman los compuestos de fórmula general 34.



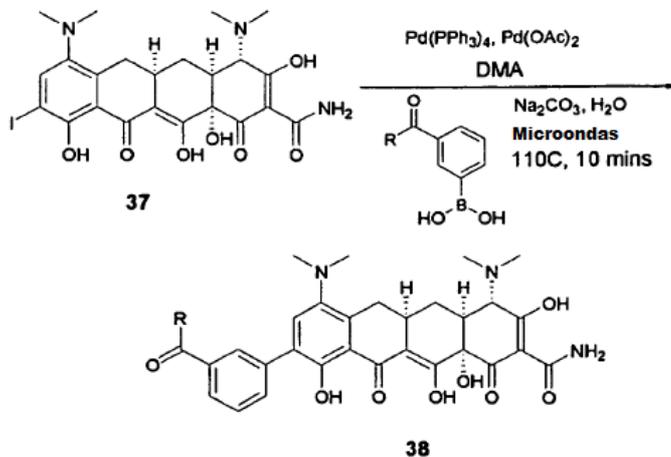
Esquema 15

El Esquema 16 también representa la síntesis de los compuestos de tetraciclina 7-sustituidas aromáticos sustituidos. Una vez más, a partir de sanciclina 7-yodo sustituida (1), una reacción de acoplamiento de Suzuki se lleva a cabo con un ácido borónico en la presencia de un catalizador de paladio para proporcionar el intermedio 35 en donde R7^{ib} es ya sea una amina o un ácido carboxílico. Si R7^{ib} es una fracción de ácido carboxílico, un acoplamiento de una amina secundaria en presencia de una base y un reactivo de acoplamiento típico para formar las tetraciclinas 7-sustituidas similares a 36a. Si R7^{ib} es una fracción amino, un acoplamiento con un cloruro de ácido o ácido carboxílico en presencia de una base y un reactivo de acoplamiento típico para formar las tetraciclinas 7-sustituidas similares a 36b.



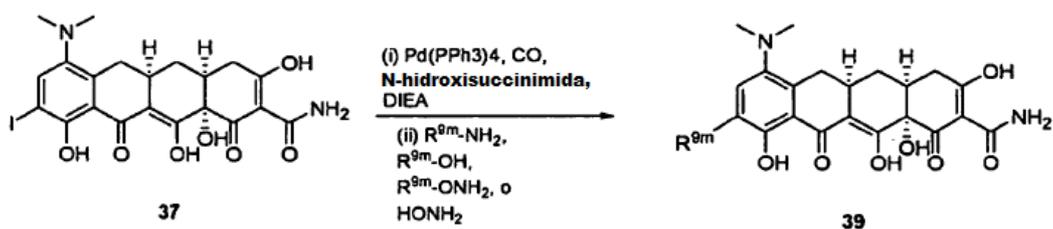
Esquema 16

El Esquema 17 representa un método para sintetizar los compuestos de tetraciclina 9-sustituidos aromáticos sustituidos. Un derivado de 9- yodo tetraciclina se hace reaccionar en condiciones de Suzuki mediante la mezcla con un ácido borónico en presencia del catalizador de paladio apropiado, para proporcionar los compuestos similares al compuesto 38.



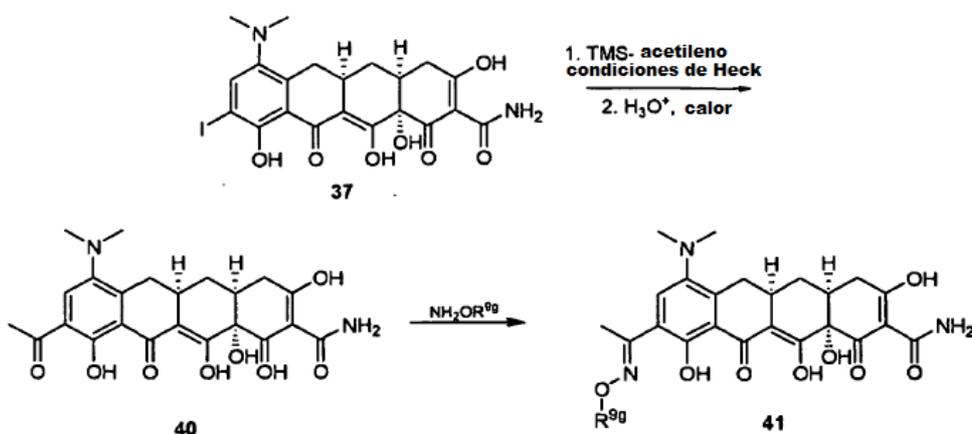
Esquema 17

El Esquema 18 también ilustra un método para sintetizar los compuestos de tetraciclina 9-sustituidas por medio de la reacción de 37 con un catalizador de paladio y monóxido de carbono en presencia de N-hidroxisuccinimida para generar un intermedio de éster activado. La reacción de este intermedio con compuestos nucleofílicos tales como alcoholes, hidroxilaminas o aminas produce el éster deseado, el ácido hidroxámico o amida, respectivamente, similar a la 39.



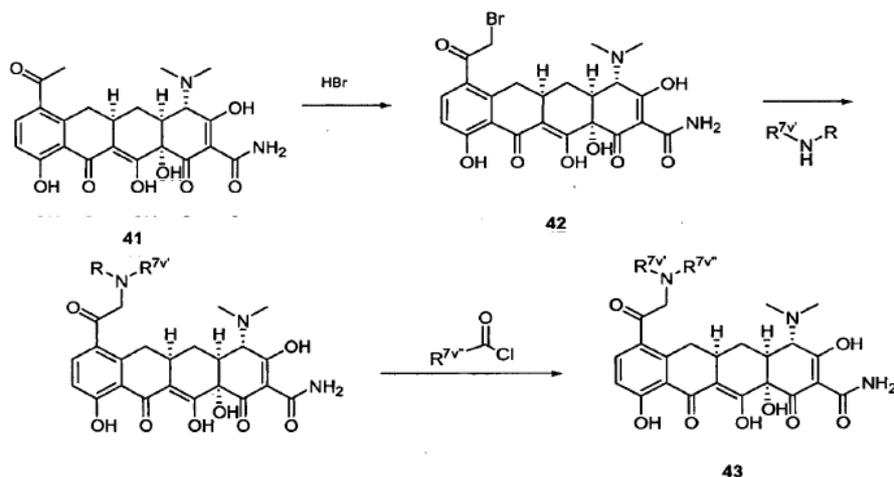
Esquema 18

5 Los compuestos de tetraciclina oxima 9-sustituida, se pueden preparar como se muestra en el Esquema 19. Un derivado de tetraciclina 9-yodo sustituida se somete a las condiciones de Heck para formar un alquino intermedio que se convierte en 40 por medio de hidrólisis ácida. El intermedio 40 se hace reaccionar posteriormente con una hidroxilamina apropiada para proporcionar el producto deseado 41.



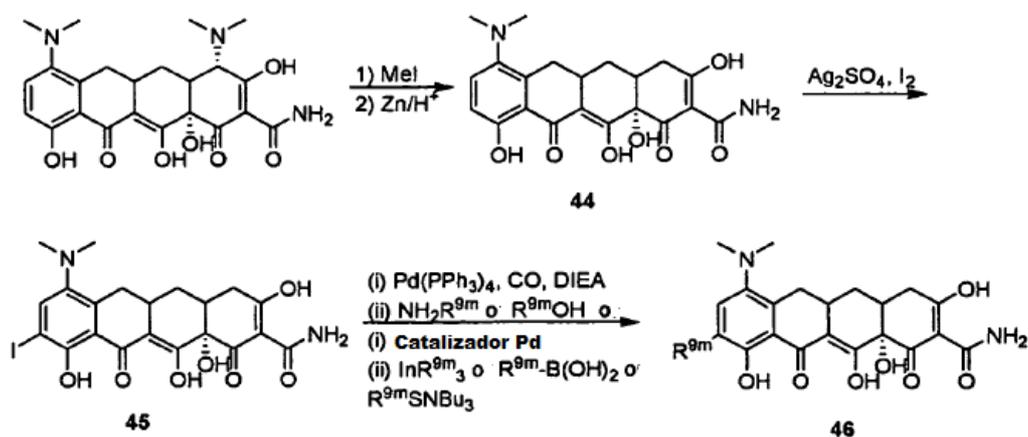
Esquema 19

10 Como se muestra en el Esquema 20, los compuestos de tetraciclina 7-sustituida, también se pueden preparar mediante la reacción del intermedio acilo 41 con bromuro de hidrógeno para formar la tetraciclina α-bromocetona sustituida 42. Por medio de la reacción de la tetraciclina bromada con una amina secundaria, seguido de la exposición a un cloruro de ácido, se puede formar el producto deseado 43.



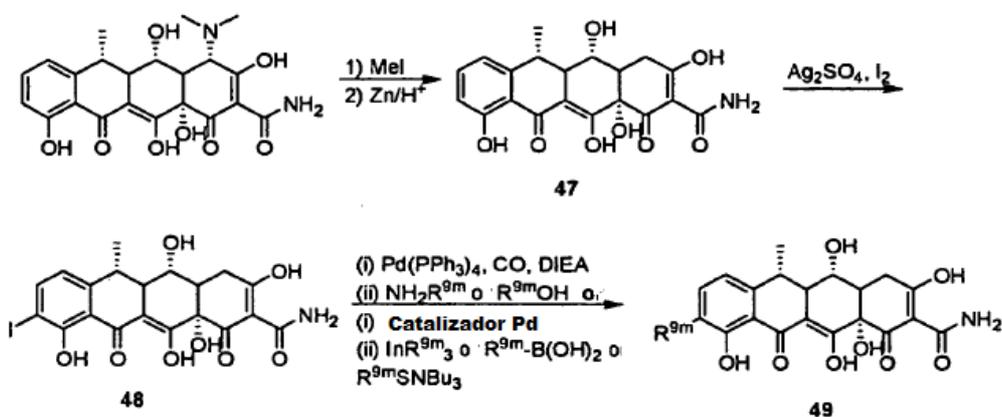
Esquema 20

Como se muestra en el Esquema 21, los compuestos de tetraciclina 9-sustituída-4-desdimetilamino, se pueden sintetizar a partir de la minociclina, que se exponen a las condiciones desdimetilamino de yoduro de metilo y zinc para formar la 4-desdimetilsanciclina 44. Intermedio 44 es halogenado en la posición 9 para formar el intermedio 45, y bajo la exposición de 45 a las condiciones apropiadas de paladio, se forman los compuestos similares a 46. Los compuestos BQ, BR, BW, BX, BY, CA, CC, CD, EI, EJ, CI, CJ, CK, EN, EO, ES, FM y FN se pueden sintetizar como se muestra en el Esquema 21.



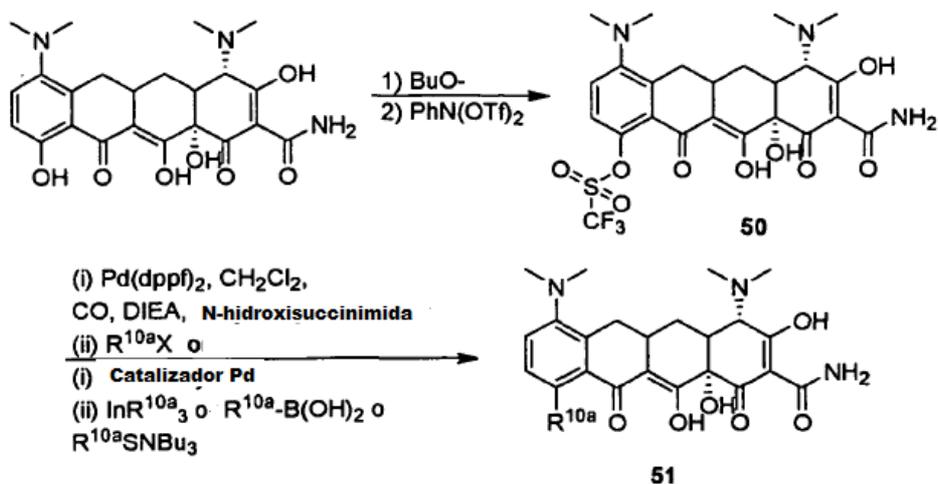
Esquema 21

Como se muestra en el Esquema 22, los compuestos de doxiciclina-4-desdimetilamino 9-sustituída se pueden sintetizar a partir de la doxiciclina, que se expone a las condiciones desdimetilamino de yoduro de metilo y zinc para formar 4-desdimetildoxiciclina 47. El intermedio 47 es halogenado en la posición 9 para formar el intermedio 48, y sobre la exposición de 48 a las apropiadas condiciones de paladio, se forman los compuestos similares a 49.



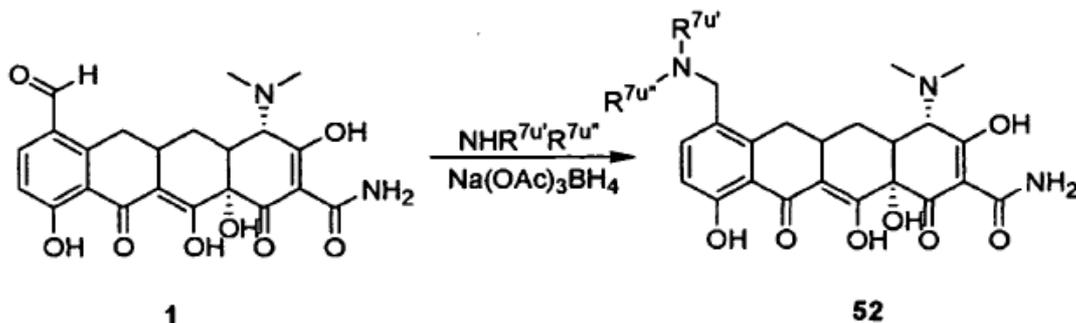
Esquema 22

El Esquema 23 ilustra la síntesis de los compuestos de tetraciclina 10-sustituída. A partir de la minociclina, el hidróxido de la posición 10 es desprotonado en presencia de una base fuerte, seguido por la adición de triflato para formar el intermedio 50, que a continuación se somete a cualquiera de las condiciones de Stille o Suzuki o las condiciones de carbonilación para formar los compuestos similares a los compuestos 10-sustituídos 51.



Esquema 23

El Esquema 24 ilustra la síntesis de los compuestos de tetraciclina sustituida 7-aminometilo. El compuesto 1 se expone a una amina secundaria en presencia de un agente reductor para formar los compuestos similares a 52.

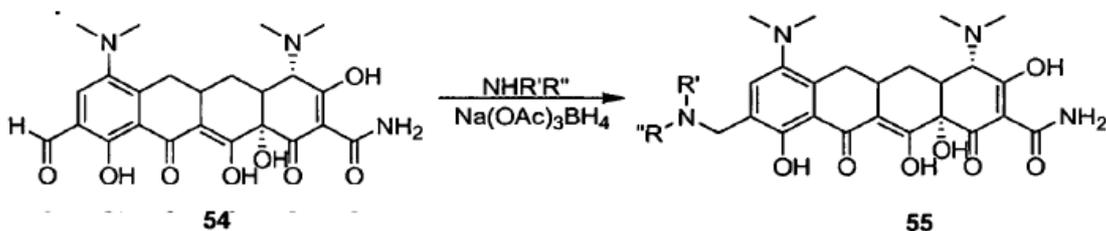


5

Esquema 24

El Esquema 25 provee un método para sintetizar los compuestos de tetraciclina 9-aminometil sustituida. El compuesto 9-formil sustituido 54 se hace reaccionar con una amina secundaria en presencia de un agente reductor para proporcionar los compuestos de tetraciclina 9-aminometil sustituida 55. Los compuestos FD, FE, FF, FG, FH, FI, FJ, FK y FL pueden ser sintetizados como se ilustra en el Esquema 25.

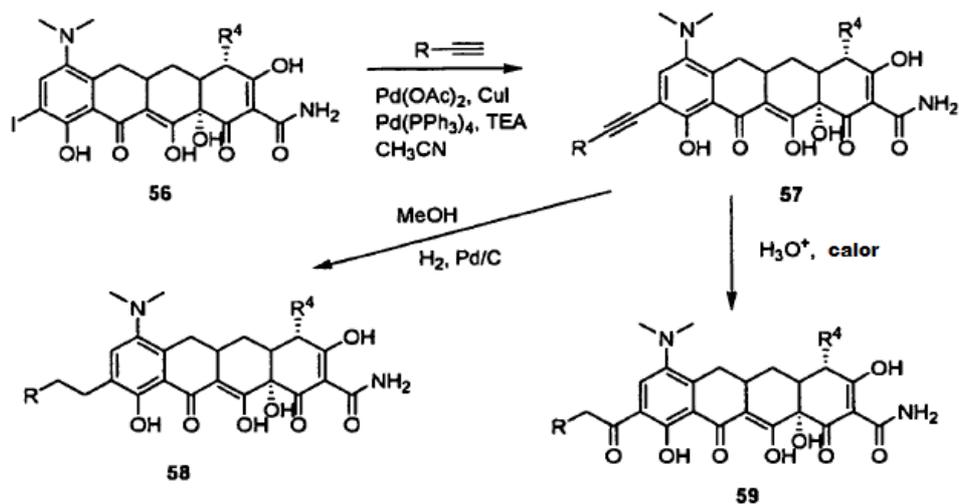
10



Esquema 25

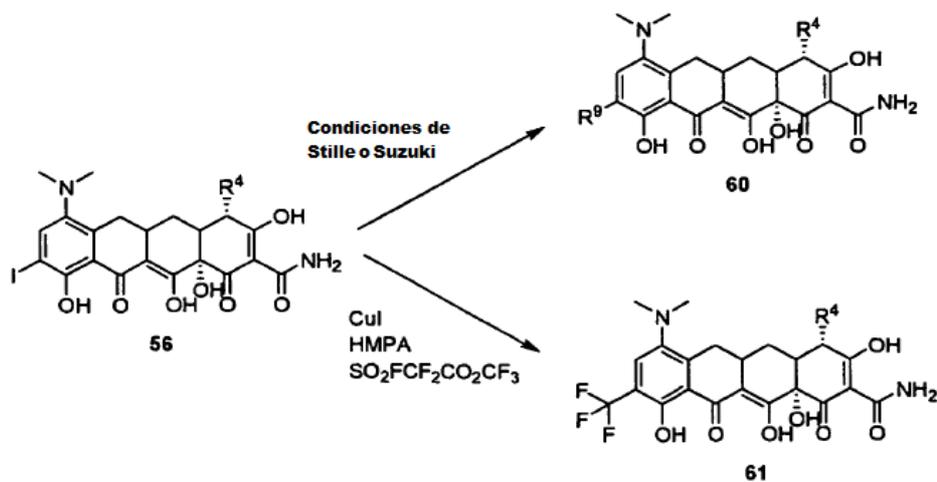
El Esquema 26 ilustra los métodos para sintetizar los compuestos de tetraciclina 9-alquilo o 9-carbonil sustituida a partir del compuesto 9-yodominociclina o 9-yodo-4-desdimetilminociclina 56, la alquilación catalizada con paladio para formar el intermedio 57. El intermedio 57 puede someterse ya sea a hidrogenólisis para formar los compuestos de tetraciclina 9-alquilo sustituidas (58) o hidrólisis catalizada por ácido para formar el compuesto de tetraciclina 9-carbonil sustituida (59).

15



Esquema 26

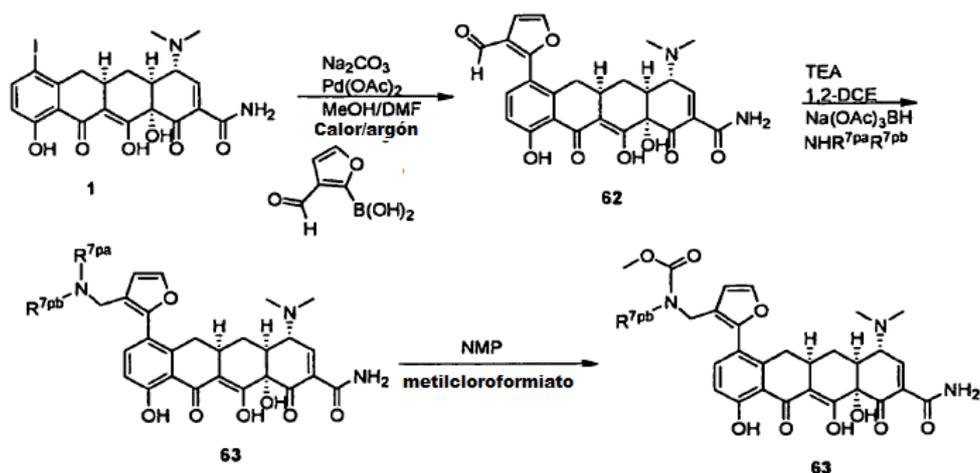
Los compuestos de tetraciclina 9-Alquilo sustituida también se pueden sintetizar como se muestra en el Esquema 27. Una vez más a partir del compuesto 9-yodominociclina o 9-yodo-4-desdimetilminociclina 56, cualquiera de las condiciones de acoplamiento de Suzuki o de Stille puede producir los compuestos de tetraciclina 9-alquilo sustituida (60) o la reacción con yoduro de cobre con un compuesto de éster fluorado produce el compuesto 9-trifluoroalquil sustituido 61.



Esquema 27

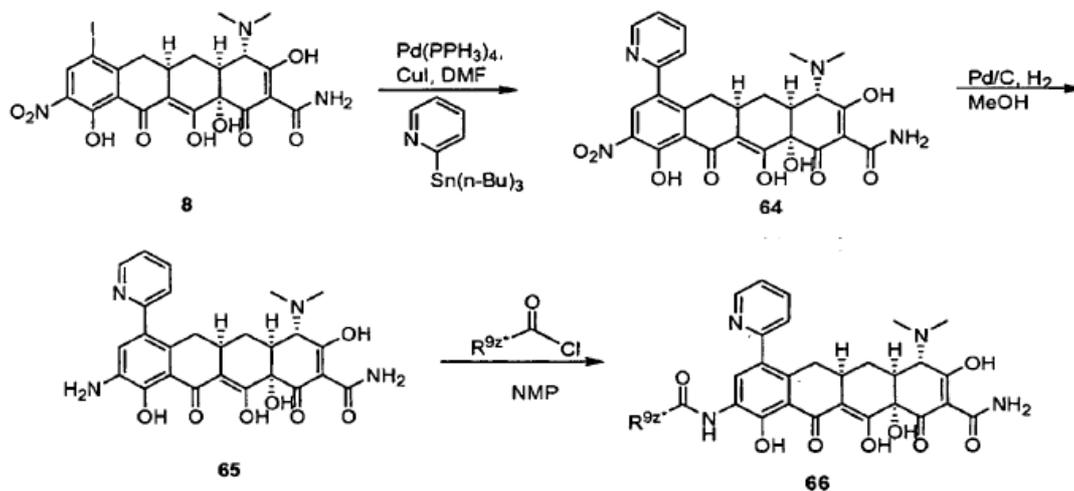
10 Los compuestos de tetraciclina 7-furanil sustituida se pueden sintetizar como se ilustra en el Esquema 28. La 7-yodosanciclina (1) se somete a un ácido borónico furanil formilo sustituido en la presencia de acetato de paladio (II) y carbonato de sodio para producir el intermedio 62. Una aminación reductiva se lleva a cabo entonces en presencia de un agente reductor apropiado y una amina secundaria para convertir la fracción formilo a una alquilamina terciaria (63). Los sustituyentes de la amina terciaria se puede derivar adicionalmente, como se muestra por la reacción del compuesto 63 con metilcloroformiato para formar el compuesto 64.

15



Esquema 28

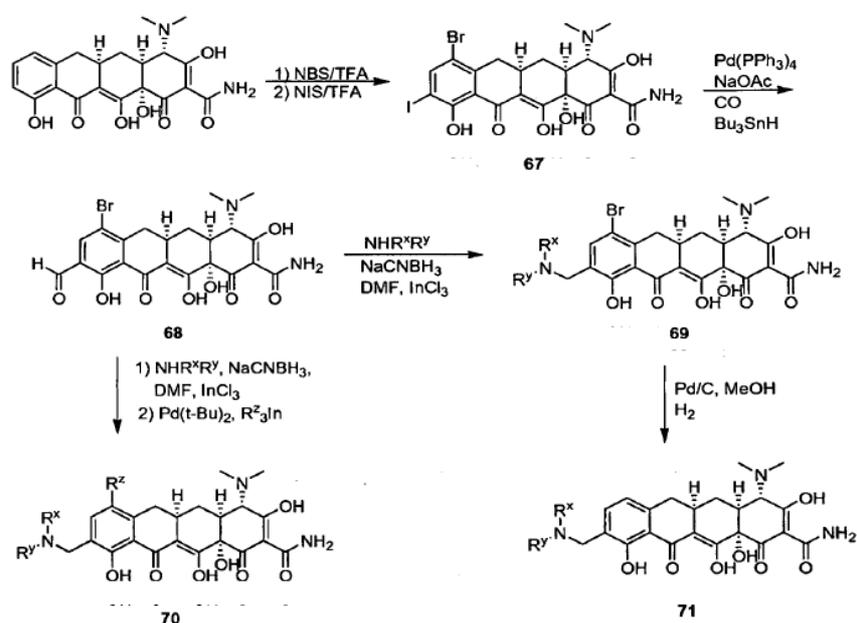
5 Las tetraciclinas 7-piridinil-9-aminocarbonilo sustituidas se pueden sintetizar como se muestra en el Esquema 29. La posición 7 del compuesto de tetraciclina 7-yodo-9-nitro (8) se hace reaccionar con las condiciones de Stille para formar el intermedio 7-piridinil 64, que después se somete a condiciones de reducción para formar el compuesto de tetraciclina 7-piridinil-9-amino 65. La fracción amino del compuesto 65 se hace reaccionar con un cloroformiato para formar el sustituyente aminocarbonilo deseado en la posición 9 (66).



Esquema 29

10 El Esquema 30 ilustra los métodos de preparación de ambos los compuestos de sanciclina 9-aminometil sustituida y los compuestos de tetraciclina 7- sustituida-9-aminometil. La sanciclina es bromada en la posición 7 con N-bromosuccinimida y yodada en la posición 9 con N-yodosuccinimida para formar el intermedio reactivo dihalogenado 67, que luego experimenta la formulación en la posición 9 para proporcionar un compuesto de tetraciclina 7-bromo-9-formilo sustituida (68). El compuesto 68 puede entonces experimentar un procedimiento de aminación reductora en presencia de una amina secundaria apropiada y un agente reductor para formar el compuesto 69. La fracción bromo en la posición 7 puede entonces ser eliminada mediante la exposición de 69 a paladio sobre carbono en presencia de gas de hidrógeno para proporcionar los compuestos de 9-aminometil sanciclina (71). Alternativamente, el intermedio reactivo 68 primero se puede exponer a condiciones de aminación reductiva como se describe anteriormente, seguido por una reacción de acoplamiento cruzado palio-indio para formar compuestos de tetraciclina 7-sustituido-9-aminometil (70).

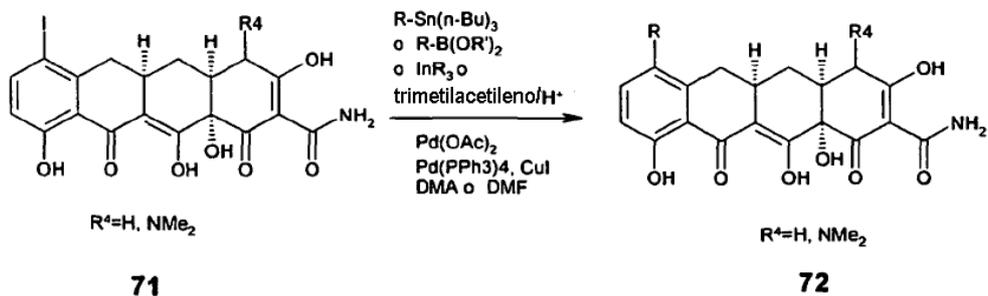
15



Esquema 30

Compuestos de tetraciclina 7-sustituída generalmente se pueden sintetizar, como se muestra en el Esquema 31. Un compuesto de 7-yodo tetraciclina (71) se puede hacer reaccionar con las reacciones de acoplamiento cruzadas indio-paladio, Suzuki o Stille para formar los compuestos de tetraciclina 7- sustituída.

5



Esquema 31

El término "alquilo" incluye grupos alifáticos saturados, incluyendo grupos alquilo de cadena lineal (por ejemplo, metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo, decilo, etc.), grupos alquilo de cadena ramificada (isopropilo, tert-butilo, isobutilo, etc.), grupos cicloalquilo (alíclicos) (ciclopropilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo), grupos cicloalquilo sustituidos por un alquilo y grupos alquilo sustituidos por un cicloalquilo. En ciertas realizaciones, alquilo de cadena lineal o cadena ramificada tiene 6 o menos átomos de carbono en su esqueleto (por ejemplo, C₁-C₆ de cadena lineal, C₃-C₆ de cadena ramificada), y más preferiblemente 4 o menos. Así mismo, los cicloalquilos preferidos tienen de 3-8 átomos de carbono en su estructura de anillo, y más preferiblemente tienen 5 o 6 carbonos en la estructura de anillo. El término C₁-C₆ incluye grupos alquilo que contienen 1 a 6 átomos de carbono.

10

15

Adicionalmente, el término alquilo incluye tanto "alquilos no sustituidos" como "alquilos sustituidos", los últimos de los cuales se refieren a fracciones alquilo que tienen sustituyentes que reemplazan un hidrógeno sobre uno o más carbonos del esqueleto de hidrocarburo. Tales sustituyentes pueden incluir, por ejemplo, alqueno, alquino, halógeno, hidroxilo, alquilcarboniloxi, arilcarboniloxi, alcoxicarboniloxi, ariloxicarboniloxi, carboxilato, alquilcarbonilo, arilcarbonilo, alcoxicarbonilo, aminocarbonilo, alquilaminocarbonilo, dialquilaminocarbonilo, alquiltiocarbonilo, alcoxi, fosfato, fosfonato, fosfinato, ciano, amino (incluyendo alquil amino, dialquilamino, arilamino, diarilamino, y alquilarilamino), acilamino (incluyendo alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, carbamoilo y ureido), amidino, imino, sulfhidrilo, alquiltio, ariltio, tiocarboxilato, sulfatos, alquilsulfino, sulfonato, sulfamoilo, sulfonamido, nitro, trifluorometilo, ciano, azido, heterociclilo, alquilarilo o una fracción aromática o heteroaromática. Los cicloalquilos además pueden ser sustituidos,

20

por ejemplo, con los sustituyentes descritos anteriormente. Una fracción "alquilarilo" o una "arilalquilo" es un alquilo sustituido con un arilo (por ejemplo, fenilmetilo (bencilo)).

5 El término "arilo" incluye grupos, incluyendo grupos aromáticos de anillos únicos de 5- y 6-miembros que pueden incluir de cero a cuatro heteroátomos, por ejemplo, benceno, fenilo, pirrol, furano, tiofeno, tiazol, isotiazol, imidazol, triazol, tetrazol, pirazol, oxazol, isooxazol, piridina, pirazina, piridazina, y pirimidina, y similares. Adicionalmente, el término "arilo" incluye grupos arilo multicíclicos, por ejemplo, tricíclico, bicíclico, por ejemplo, naftaleno, benzoxazol, benzodioxazol, benzotiazol, benzoimidazol, benzotiofeno, metilendioxfenilo, quinolina, isoquinolina, naftiridina, indol, benzofurano, purina, benzofurano, deazapurina, o indolizina. Los grupos arilo que tienen heteroátomos en la estructura del anillo también pueden ser denominados como "heterociclos de arilo", "heterociclos", "heteroarilos" o "heteroaromáticos". El anillo aromático puede ser sustituido en una o más posiciones en el anillo con tales sustituyentes como se describe anteriormente, como por ejemplo, halógeno, hidroxilo, alcoxi, alquilcarboniloxi, arilcarboniloxi, alcoxycarboniloxi, ariloxycarboniloxi, carboxilato, alquilcarbonilo, alquilaminocarbonilo, arilalquilo aminocarbonilo, alquenilaminocarbonilo, alquilcarbonilo, arilcarbonilo, arilalquilcarbonilo, alquenilcarbonilo, alcoxycarbonilo, aminocarbonilo, alquiltiocarbonilo, fosfato, fosfonato, fosfinato, ciano, amino (incluyendo alquilo amino, dialquilamino, arilamino, diarilamino, y alquilarilamino), acilamino (incluyendo alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, carbamoilo y ureido), amidino, imino, sulfhidrilo, alquiltio, ariltio, tiocarboxilato, sulfatos, alquilsulfinito, sulfonato, sulfamoilo, sulfonamido, nitro, trifluorometilo, ciano, azido, heterociclico, alquilarilo o una fracción aromática o heteroaromática. Los grupos arilo también se pueden fusionar o conectar con anillos alicíclicos o heterocíclicos que no son aromáticos de manera que forman un policiclo (por ejemplo, tetralina).

20 El término "alquenilo" incluye grupos alifáticos insaturados análogos en longitud y posible sustitución con los alquilos descritos anteriormente, pero que contienen al menos un doble enlace.

25 Por ejemplo, el término "alquenilo" incluye grupos alquenilo de cadena lineal (por ejemplo, etenilo, propenilo, butenilo, pentenilo, hexenilo, heptenilo, octenilo, nonenilo, decenilo, etc.), grupos alquenilo de cadena ramificada, grupos cicloalquenilo (alicíclico) (ciclopropenilo, ciclohexenilo, cicloheptenilo, ciclooctenilo), grupos cicloalquenilo sustituidos por alquilo o alquenilo y grupos alquenilo sustituidos por un cicloalquilo o cicloalquenilo. En ciertas realizaciones, un grupo alquenilo de cadena lineal o de cadena ramificada tiene 6 o menos átomos de carbono en su esqueleto (por ejemplo, C₂-C₆ de cadena lineal o, C₃-C₆ de cadena ramificada). Del mismo modo, los grupos cicloalquenilo pueden tener de 3-8 átomos de carbono en su estructura de anillo, y más preferiblemente tienen 5 o 6 carbonos en la estructura del anillo. El término C₂-C₆ incluye grupos alquenilo que contienen 2 a 6 átomos de carbono.

30 Además, el término alquenilo incluye tanto "alquenos no sustituidos" como "alquenos sustituidos", los últimos de los cuales se refieren a fracciones alquenilo que tienen sustituyentes que reemplazan un hidrógeno en uno o más carbonos del esqueleto de hidrocarburo. Tales sustituyentes pueden incluir, por ejemplo, grupos alquilo, grupos alquino, halógenos, hidroxilo, alquilcarboniloxi, arilcarboniloxi, alcoxycarboniloxi, ariloxycarboniloxi, carboxilato, alquilcarbonilo, arilcarbonilo, alcoxycarbonilo, aminocarbonilo, alquilaminocarbonilo, dialquilaminocarbonilo, alquiltiocarbonilo, alcoxilo, fosfato, fosfonato, fosfinato, ciano, amino (incluyendo alquilo amino, dialquilamino, arilamino, diarilamino, y alquilarilamino), acilamino (incluyendo alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, carbamoilo y ureido), amidino, imino, sulfhidrilo, alquiltio, ariltio, tiocarboxilato, sulfatos, alquilsulfinito, sulfonato, sulfamoilo, sulfonamido, nitro, trifluorometilo, ciano, azido, heterociclico, alquilarilo o una fracción aromática o heteroaromática.

40 El término "alquino" incluye grupos alifáticos insaturados análogos en longitud y sustitución posible a los alquilos descritos anteriormente, pero que contienen al menos un triple enlace.

45 Por ejemplo, el término "alquino" incluye grupos alquino de cadena lineal (por ejemplo, etinilo, propinilo, butinilo, pentinilo, hexinilo, heptinilo, octinilo, noninilo, decinilo, etc.), grupos alquino de cadena ramificada, y grupos alquino sustituidos por un cicloalquilo o cicloalqueno. En ciertas realizaciones, un grupo alquino de cadena lineal o de cadena ramificada tiene 6 o menos átomos de carbono en su esqueleto (por ejemplo, C₂-C₆ de cadena lineal, cicloalquilo C₃-C₆ de cadena ramificada). El término C₂-C₆ incluye grupos alquino que contienen 2 a 6 átomos de carbono.

50 Además, el término alquino incluye tanto "alquinos no sustituidos" como "alquinos sustituidos", los últimos de los cuales se refieren a las fracciones alquino que tienen sustituyentes que reemplazan un hidrógeno en uno o más carbonos del esqueleto de hidrocarburo. Tales sustituyentes pueden incluir, por ejemplo, grupos alquilo, grupos alquino, halógenos, hidroxilo, alquilcarboniloxi, arilcarboniloxi, alcoxycarboniloxi, ariloxycarboniloxi, carboxilato, alquilcarbonilo, arilcarbonilo, alcoxycarbonilo, aminocarbonilo, alquilaminocarbonilo, dialquilaminocarbonilo, alquiltiocarbonilo, alcoxilo, fosfato, fosfonato, fosfinato, ciano, amino (incluyendo alquilo amino, dialquilamino, arilamino, diarilamino, y alquilarilamino), acilamino (incluyendo alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, carbamoilo y ureido), amidino, imino, sulfhidrilo, alquiltio, ariltio, tiocarboxilato, sulfatos, alquilsulfinito, sulfonato, sulfamoilo, sulfonamido, nitro, trifluorometilo, ciano, azido, heterociclico, alquilarilo o una fracción aromática o heteroaromática.

A menos que el número de carbonos se especifique de otra manera, "alquilo inferior" como se utiliza en este documento significa un grupo alquilo, como se definió anteriormente, pero que tiene de uno a cinco átomos de carbono en su estructura de esqueleto. El "alquenilo inferior" y "alquinilo inferior" tienen longitudes de cadena de, por ejemplo, 2-5 átomos de carbono.

5 El término "acilo" incluye los compuestos y fracciones que contienen el radical acilo (CH₃CO-) o un grupo carbonilo. Incluye fracciones acilo sustituidas. El término "acilo sustituido" incluye grupos acilo donde uno o más de los átomos de hidrógeno están reemplazados, por ejemplo, por grupos alquilo, grupos alquinilo, halógenos, hidroxilo, alquilcarbonilo, arilcarbonilo, alcoxycarbonilo, ariloxycarbonilo, carboxilato, alquilcarbonilo, arilcarbonilo, alcoxycarbonilo, aminocarbonilo, alquilaminocarbonilo, dialquilaminocarbonilo, alquiltiocarbonilo, alcoxilo, fosfato, fosfonato, fosfinato, ciano, amino (incluyendo alquil amino, dialquilamino, arilamino, diarilamino, y alquilarilamino), acilamino (incluyendo alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, carbamoilo y ureido), amidino, imino, sulfhidrilo, alquiltio, ariltio, tiocarboxilato, sulfatos, alquilsulfino, sulfonato, sulfamoilo, sulfonamido, nitro, trifluorometilo, ciano, azido, heterociclilo, alquilarilo o una fracción aromática o heteroaromática.

15 El término "acilamino" incluye fracciones en donde una fracción acilo está unida a un grupo amino. Por ejemplo, el término incluye grupos alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, carbamoilo y ureido.

El término "arilo" incluye compuestos y fracciones con una fracción arilo o heteroaromático unida a un grupo carbonilo. Los ejemplos de grupos arilo incluyen fenilcarboxi, naftil carboxi, etc.

20 Los términos "alcoxialquilo", "alquilaminoalquilo" y "tioalcoxialquilo" incluyen grupos alquilo, como se describe anteriormente, que adicionalmente incluyen átomos de oxígeno, nitrógeno o azufre sustituyendo uno o más carbonos del esqueleto hidrocarburo, por ejemplo, átomos de oxígeno, nitrógeno o azufre.

25 El término "alcoxi" incluye grupos alquilo, alquenilo, y alquinilo sustituidos y no sustituidos unidos covalentemente a un átomo de oxígeno. Los ejemplos de grupos alcoxi incluyen grupos metoxi, etoxi, isopropiloxi, propoxi, butoxi, y pentoxi. Ejemplos de grupos alcoxi sustituidos incluyen grupos alcoxi halogenados. Los grupos alcoxi pueden ser sustituidos con grupos tales como alquenilo, alquinilo, halógeno, hidroxilo, alquilcarbonilo, arilcarbonilo, alcoxycarbonilo, ariloxycarbonilo, carboxilato, alquilcarbonilo, arilcarbonilo, alcoxycarbonilo, aminocarbonilo, alquilaminocarbonilo, dialquilaminocarbonilo, alquiltiocarbonilo, alcoxilo, fosfato, fosfonato, fosfinato, ciano, amino (incluyendo alquil amino, dialquilamino, arilamino, diarilamino, y alquilarilamino), acilamino (incluyendo alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, carbamoilo y ureido), amidino, imino, sulfhidrilo, alquiltio, ariltio, tiocarboxilato, sulfatos, alquilsulfino, sulfonato, sulfamoilo, sulfonamido, nitro, trifluorometilo, ciano, azido, heterociclilo, alquilarilo, o una fracción aromática o heteroaromática. Ejemplos de grupos alcoxi sustituidos con halógeno incluyen fluorometoxi, difluorometoxi, trifluorometoxi, clorometoxi, diclorometoxi, triclorometoxi, etc.

35 El término "amina" o "amino" incluye compuestos donde un átomo de nitrógeno está unido covalentemente a al menos un carbono o heteroátomo. El término incluye "alquil amino" que comprende grupos y compuestos en donde el nitrógeno está unido a al menos un grupo alquilo adicional. El término "dialquil amino" incluye grupos en donde el átomo de nitrógeno está unido a al menos dos grupos alquilo adicionales. El término "arilamino" y "diarilamino" incluye los grupos en donde el nitrógeno está unido a al menos uno o dos grupos arilo, respectivamente. El término "alquilarilamino", "alquilaminoarilo" o "arilaminoalquilo" se refiere a un grupo amino que se une a al menos un grupo alquilo y al menos un grupo arilo. El término "alcaminoalquilo" se refiere a un grupo alquilo, alquenilo, o alquinilo unido a un átomo de nitrógeno que también se une a un grupo alquilo.

40 El término "amida", "amido" o "aminocarbonilo" incluye los compuestos o fracciones que contienen un átomo de nitrógeno que se une al carbono de un grupo carbonilo o un grupo tiocarbonilo. El término incluye grupos "alcaminocarbonilo" o "alquilaminocarbonilo", que incluyen grupos alquilo, alquenilo, arilo o alquinilo unidos a un grupo amino unido a un grupo carbonilo. Incluye grupos arilaminocarbonilo y arilcarbonilamino que incluyen fracciones arilo o heteroarilo unidas a un grupo amino que se une al carbono de un grupo carbonilo o tiocarbonilo. Los términos "alquilaminocarbonilo", "alquenilaminocarbonilo", "alquinilaminocarbonilo", "arilaminocarbonilo", "alquilcarboniloamino", "alquenilcarbonilamino", "alquinilcarbonilamino," y "arilcarbonilamino" se incluyen en el término "amida". Las amidas también incluyen grupos urea (aminocarbonilamino) y carbamatos (oxycarbonilamino).

50 El término "carbonilo" o "carboxi" incluye compuestos y fracciones que contienen un carbono conectado con un doble enlace a un átomo de oxígeno. El carbonilo puede ser sustituido adicionalmente con cualquier fracción que permite que los compuestos de la invención lleven a cabo su función prevista. Por ejemplo, las fracciones carbonilo pueden ser sustituidas con alquilos, alquenilos, alquinilos, arilos, alcoxi, aminos, etc. Ejemplos de fracciones que contienen un carbonilo incluyen aldehídos, cetonas, ácidos carboxílicos, amidas, ésteres, anhídridos, etc.

El término "tiocarbonilo" o "tiocarboxi" incluye compuestos y fracciones que contienen un carbono conectado con un doble enlace a un átomo de azufre.

El término "éter" incluye los compuestos o fracciones que contienen un oxígeno unido a dos diferentes átomos de carbono o heteroátomos. Por ejemplo, el término incluye "alcoialquilo", que se refiere a un grupo alquilo, alquenilo, o alquinilo unido covalentemente a un átomo de oxígeno que se une covalentemente a otro grupo alquilo.

5 El término "éster" incluye los compuestos y fracciones que contienen un carbono o un heteroátomo unido a un átomo de oxígeno que se une al carbono de un grupo carbonilo. El término "éster" incluye grupos alcoxicarboxi tales como metoxicarbonilo, etoxicarbonilo, propoxicarbonilo, butoxicarbonilo, pentoxicarbonilo, etc. Los grupos alquilo, alquenilo, o alquinilo son como se definen anteriormente.

10 El término "tioéter" incluye los compuestos y fracciones que contienen un átomo de azufre unido a dos diferentes átomos de carbono o heteroátomos. Los ejemplos de tioéteres incluyen, alquitolalquilos, alquitolalquenilos, y alquitolalquinilos. El término "alquitolalquilos" incluye los compuestos con un grupo alquilo, alquenilo, o alquinilo unido a un átomo de azufre que se une a un grupo alquilo. De manera análoga, el término "alquitolalquenilos" y alquitolalquinilos" se refiere a los compuestos o fracciones en donde un grupo alquilo, alquenilo, o alquinilo se une a un átomo de azufre que está unido covalentemente a un grupo alquinilo.

El término "hidroxi" o "hidroxilo" incluye los grupos con un -OH o -O-.

15 El término "halógeno" incluye flúor, bromo, cloro, yodo, etc. El término "perhalogenado" generalmente se refiere a una fracción en donde todos los hidrógenos son sustituidos por átomos de halógeno.

20 Los términos "policíclico" o "radical policíclico" se refieren a dos o más anillos cíclicos (por ejemplo, cicloalquilos, cicloalquenilos, cicloalquinilos, arilos y/o heterociclicos) en los que dos o más carbonos son comunes a dos anillos adyacentes, por ejemplo, los anillos son "anillos fusionados". Los anillos que se unen a través de átomos no adyacentes se denominan anillos "conectores". Cada uno de los anillos del policiclo puede ser sustituido con tales sustituyentes como se describen anteriormente, como por ejemplo, halógeno, hidroxilo, alquilcarboniloxi, arilcarboniloxi, alcoxicarboniloxi, ariloxicarboniloxi, carboxilato, alquilcarbonilo, alcoxicarbonilo, alquilaminocarbonilo, arilalquilaminocarbonilo, alquenilaminocarbonilo, alquilcarbonilo, arilcarbonilo, arilalquilo carbonilo, alquenilcarbonilo, aminocarbonilo, alquiltiocarbonilo, alcoxil, fosfato, fosfonato, fosfinato, ciano, amido, amino (incluyendo alquilo amino, dialquilamino, arilamino, diarilamino, y alquilarilamino), acilamino (incluyendo alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, carbamoil y ureido), amidino, imino, sulfhidrilo, alquiltio, ariltio, tiocarboxilato, sulfatos, alquilsulfinito, sulfonato, sulfamoilo, sulfonamido, nitro, trifluorometilo, ciano, azido, heterociclico, alquilo, alquilarilo, o una fracción aromática o heteroaromática.

30 El término "heteroátomos" incluye átomos de cualquier elemento distinto de carbono o hidrógeno. Los heteroátomos preferidos son nitrógeno, oxígeno, azufre y fósforo.

35 El término "fracción profármaco" incluye las fracciones que se pueden metabolizar *in vivo* a un grupo hidroxilo y las fracciones que pueden permanecer ventajosamente esterificadas *in vivo*. Preferiblemente, las fracciones de profármacos se metabolizan *in vivo* por esterasas o por otros mecanismos a grupos hidroxilos u otros grupos ventajosos. Los ejemplos de profármacos y sus usos son bien conocidos en el oficio (Véase, por ejemplo, Berge et al. (1977) "Pharmaceutical Salts" J. Pharm. Sci. 66:1-19). Los profármacos se pueden preparar *in situ* durante el aislamiento y la purificación final de los compuestos, o mediante la reacción por separado del compuesto purificado en su forma de ácido libre o hidroxilo con un agente esterificante apropiado. Los grupos hidroxilo se pueden convertir en ésteres a través de un tratamiento con un ácido carboxílico. Ejemplos de fracciones de profármaco incluyen fracciones éster de alquilo inferior sustituido y no sustituido, ramificado o no ramificado, (por ejemplo, ésteres de ácido propiónico),
40 ésteres de alquenilo inferior, ésteres de alquilo inferior alquilamino di-inferior (por ejemplo, éster dimetilaminoetilo), ésteres acilamino alquilo inferior (por ejemplo, acetiloximetil éster), ésteres aciloxi alquilo inferior (por ejemplo, pivaloiloximetil éster), ésteres de arilo (fenil éster), ésteres de arilo-alquilo inferior (por ejemplo, bencil éster), sustituidos (por ejemplo, con sustituyentes metilo, halo, o metoxi) ésteres de arilo y arilo-alquilo inferior, amidas, amidas de alquilo inferior, amidas de dialquilo inferior, e hidroxi amidas. Las fracciones preferidas de profármacos son los ésteres de ácido propiónico y ésteres de acilo.

50 Se observará que la estructura de algunos de los compuestos de tetraciclina de esta invención incluye átomos de carbono asimétricos. De acuerdo con lo anterior, se debe entender que los isómeros que surgen de tal asimetría (por ejemplo, todos los enantiómeros y diastereómeros) se incluyen dentro del alcance de esta invención, a menos que se indique de otra manera. Tales isómeros se pueden obtener de forma sustancialmente pura mediante técnicas de separación clásicas y mediante síntesis estereoquímicamente controlada. Adicionalmente, las estructuras y otros compuestos y fracciones discutidas en esta solicitud también incluyen todos los tautómeros de los mismos.

Métodos para tratar estados sensibles a la tetraciclina

La invención también se refiere a los compuestos de tetraciclina sustituida de la invención para el tratamiento de un estado sensible a la tetraciclina, tal como una infección bacteriana, una infección viral, una infección parasitaria, la malaria, un proceso inflamatorio, acné, rosácea, o la esclerosis múltiple. El método comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de un compuesto de tetraciclina sustituida de la invención de tal manera que se trata el estado sensible a la tetraciclina.

El término "tratamiento" incluye curar, así como mejorar al menos un síntoma del estado, enfermedad o trastorno, por ejemplo, el estado sensible al compuesto de tetraciclina.

La expresión "estado sensible al compuesto de tetraciclina" o "estado sensible a la tetraciclina" incluye estados que se pueden tratar, prevenir, o de otra manera mejorar mediante la administración de un compuesto de tetraciclina de la invención. Los estados sensibles al compuesto de la tetraciclina incluyen infecciones bacterianas, virales, parasitarias y fúngicas (incluyendo los que son resistentes a otros compuestos de tetraciclina), cáncer (por ejemplo, cánceres de próstata, de mama, colon, melanoma pulmonar y linfoma y otros trastornos caracterizados por una proliferación celular no deseada, incluyendo los descritos en U.S. 6,100,248), la artritis, osteoporosis, diabetes, accidente cerebrovascular, AMI, aneurisma aórtica, enfermedades neurodegenerativas y otros estados para los cuales los compuestos de tetraciclina se ha encontrado que son activos (ver, por ejemplo, las Patentes de los Estados Unidos Nos. 5,789,395; 5,834,450; 6,277,061 y 5,532,227). Los compuestos de la invención se pueden utilizar para prevenir o controlar importantes enfermedades en mamíferos y veterinarias tales como diarrea, infecciones de tracto urinario, infecciones de la piel y estructura de la piel, infecciones del oído, la nariz y de la garganta, infección de la herida, mastitis y similares. Además, los métodos para el tratamiento de neoplasias utilizando los compuestos de tetraciclina de la invención también se describen (van der Bozert et al., Cancer Res., 48:6686-6690 (1988)). En una realización adicional, el estado sensible a la tetraciclina no tiene una infección bacteriana. En otra realización, los compuestos de tetraciclina de la invención esencialmente son no-antibacterianos. Por ejemplo, los compuestos de tetraciclina de la invención no-antibacterianos pueden tener valores de MIC mayores de aproximadamente 4 mg/mL (como se determina, mediante los ensayos conocidos en el oficio y/o el ensayo dado en el Ejemplo 2).

Los estados sensibles al compuesto de la tetraciclina también incluyen estados asociados al proceso inflamatorio (IPAS). El término "estado asociado al proceso inflamatorio" incluye estados en los cuales la inflamación o factores inflamatorios (por ejemplo, metaloproteinasas de matriz (MMPs), óxido nítrico (NO), TNF, interleucinas, proteínas plasmáticas, sistemas de defensa celular, citoquinas, metabolitos de lípidos, proteasas, radicales tóxicos, moléculas de adhesión, etc.), se involucran o están presentes en una zona en cantidades aberrantes, por ejemplo, en cantidades las cuales puede ser ventajoso alterar, por ejemplo, beneficiar el sujeto. El término "estado asociado al proceso inflamatorio" también incluye estados en los cuales existe un aumento en las proteínas de fase aguda (por ejemplo, proteína C-reactiva). El proceso inflamatorio es la respuesta del tejido vivo al daño. La causa de inflamación se puede deber al daño físico, sustancias químicas, micro-organismos, necrosis de los tejidos, cáncer u otros agentes. La inflamación aguda es de corta duración, que dura solo unos pocos días. Sin embargo, si es de mayor duración, entonces se puede denominar como inflamación crónica.

Los estados sensibles a la tetraciclina también incluyen trastornos inflamatorios. Los trastornos inflamatorios se caracterizan generalmente por el calor, enrojecimiento, hinchazón, dolor y pérdida de función. Ejemplos de causas de los trastornos inflamatorios incluyen infecciones microbianas (por ejemplo, las infecciones bacterianas y fúngicas), los agentes físicos (por ejemplo, quemaduras, radiación y traumatismo), agentes químicos (por ejemplo, toxinas y sustancias cáusticas), necrosis de los tejidos y diversos tipos de reacciones inmunológicas.

Los ejemplos de trastornos inflamatorios incluyen la osteoartritis, la artritis reumatoide, infecciones agudas y crónicas (bacterianas y fúngicas, incluyendo la difteria y pertussis); bronquitis agudas y crónica, sinusitis, e infecciones respiratorias superiores, incluyendo el resfriado común; colitis y gastroenteritis aguda y crónica; cistitis y uretritis aguda y crónica; dermatitis aguda y crónica; conjuntivitis aguda y crónica; serositis aguda y crónica (pericarditis, peritonitis, sinovitis, pleuritis y tendinitis); pericarditis urémicas; colecistitis aguda y crónica; vaginitis aguda y crónica; uveítis aguda y crónica; reacciones a los fármacos; mordeduras de animales (por ejemplo, picaduras de arañas, picaduras de serpientes, picaduras de insectos y similares); quemaduras (térmicas, químicas y eléctricas); trastorno intestinal inflamatorio (IBD); enfermedad común pulmonar obstructiva (COPD); síndrome de dificultad respiratoria aguda (ARDS); vasculitis; asma; sepsis; nefritis; pancreatitis; hepatitis; lupus; infecciones virales; infecciones parasitarias; y quemaduras de sol.

Los estados sensibles al compuesto de la tetraciclina también incluyen estados asociados con NO. El término "estado asociado con NO" incluye estados que implican o se asocian con óxido nítrico (NO) u óxido nítrico sintasa inducible (NOSi). El estado asociado con NO incluye los estados que se caracterizan por cantidades aberrantes de NO y/o NOSi. Preferiblemente, el estado asociado con NO se puede tratar por la administración de los compuestos de tetraciclina de la invención. Los trastornos, enfermedades y estados descritos en las Patentes de los Estados Unidos Nos. 6,231,894; 6,015,804; 5,919,774; y 5,789,395, también se incluyen como estados asociados con NO.

Otros ejemplos de estados sensibles a los compuestos de tetraciclina incluyen malaria, senescencia, diabetes, accidente cerebrovascular, accidente cerebrovascular hemorrágico, enfermedades neurodegenerativas (enfermedad de Alzheimer y la enfermedad de Huntington), enfermedad cardíaca (lesiones asociadas con la reperfusión después de un infarto), diabetes juvenil, trastornos inflamatorios, osteoartritis, artritis reumatoide, infecciones agudas, recurrentes y crónicas (bacteriana, viral y fúngica); bronquitis aguda y crónica, sinusitis e infecciones respiratorias, incluyendo el resfriado común; gastroenteritis y colitis aguda y crónica; cistitis y uretritis aguda y crónica; dermatitis aguda y crónica; conjuntivitis aguda y crónica; serositis aguda y crónica (pericarditis, peritonitis, sinovitis, pleuritis y tendinitis); pericarditis urémicas; colecistitis aguda y crónica; fibrosis quística, vaginitis aguda y crónica; uveítis aguda y crónica; reacciones a los fármacos; picaduras de insectos; quemaduras (térmicas, químicas y eléctricas); y quemaduras de sol.

El término "estado asociado con el proceso inflamatorio" también incluye los estados asociados con metaloproteinasas de la matriz (MMPAS). Los MMPAS incluyen estados caracterizados por cantidades aberrantes de MMP o actividad de MMP. Éstos también se incluyen como estados sensibles a los compuestos de tetraciclina.

Los ejemplos de otros estados sensibles a los compuestos de la tetraciclina incluyen arteriosclerosis, angiogénesis, ulceración de la córnea, enfisema, osteoartritis, esclerosis múltiple (Liedtke et al., *Ann. Neurol.* 1998, 44:35-46; Chandler et al., *J. Neuroimmunol.* 1997, 72:155-71), osteosarcoma, osteomielitis, bronquiectasias, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfermedades de la piel y los ojos, periodontitis, osteoporosis, la artritis reumatoide, colitis ulcerosa, trastornos inflamatorios, crecimiento e invasión de (Stetler-Stevenson et al., *Annu. Rev. Cell Biol.* 1993, 9:541-73; Tryggvason et al., *Biochim. Biophys. Acta* 1987, 907:191-217; Li et al., *Mol. Carcinog.* 1998, 22:84-89), metástasis, la lesión pulmonar aguda, accidente cerebrovascular, isquemia, diabetes, aneurismas de la aorta o vasculares, heridas en el tejido de la piel, ojo seco, degradación del cartílago y el hueso (Greenwald et al., *Bone* 1998, 22:33-38; Ryan et al., *Curr. Op. Rheumatol.* 1996, 8:238-247). Otros MMPAS incluyen los descritos en las Patentes de los Estados Unidos Nos. 5,459,135; 5,321,017; 5,308,839; 5,258,371; 4,935,412; 4,704,383, 4,666,897, y RE 34,656.

Otro estado sensible al compuesto de tetraciclina es el cáncer. Ejemplos de cánceres para los que los compuestos de tetraciclina de la invención pueden ser útiles para tratar incluyen todos los tumores sólidos, i.e., carcinomas, por ejemplo, adenocarcinomas y sarcomas. Los adenocarcinomas son carcinomas derivados de tejido glandular o en el cual las células tumorales forman estructuras glandulares reconocibles. Los sarcomas incluyen ampliamente tumores cuyas células están incrustadas en una sustancia fibrilar u homogénea como el tejido conectivo embrionario. Los ejemplos de carcinomas que se pueden tratar utilizando los métodos de la invención incluyen los carcinomas de próstata, mama, ovario, testículo, pulmón, colon y mama. Los métodos descritos en el presente documento no se limitan al tratamiento de estos tipos de tumores, sino que se extienden a cualquier tumor sólido derivado de cualquier sistema de órganos. Los ejemplos de cánceres tratables incluyen el cáncer de colon, cáncer de vejiga, cáncer de mama, melanoma, carcinoma de ovario, carcinoma de próstata, cáncer de pulmón, y una variedad de otros tipos de cáncer también. Los métodos descritos en este documento también pueden permitir la inhibición del crecimiento del cáncer en adenocarcinomas, tales como, por ejemplo, los de la próstata, mama, riñón, ovario, testículos, y colon.

Como se señaló anteriormente, otro estado sensible a la tetraciclina es el cáncer. Se describe en este documento un método para tratar un sujeto que padece o está en riesgo de padecer cáncer, mediante la administración de una cantidad eficaz de un compuesto de tetraciclina sustituida, de tal manera que se produce la inhibición del crecimiento de células de cáncer, i.e., se disminuye, ralentiza o detiene la proliferación celular, invasividad, metástasis o la incidencia del tumor. La inhibición puede resultar de la inhibición de un proceso inflamatorio, inhibición de la expresión de un proceso inflamatorio, algún otro mecanismo o una combinación de mecanismos. Alternativamente, los compuestos de tetraciclina pueden ser útiles para la prevención de la recurrencia del cáncer, por ejemplo, para tratar el cáncer residual tras la resección quirúrgica o la radioterapia. Los compuestos de tetraciclina útiles de acuerdo con la invención pueden ser sustancialmente no tóxicos en comparación con otros tratamientos contra el cáncer. Los compuestos de la invención se pueden administrar en combinación con la terapia del cáncer estándar, tal como quimioterapia.

Otros ejemplos de estados sensibles al compuesto de tetraciclina, incluyen trastornos neurológicos que incluyen tanto los trastornos neuropsiquiátricos como neurodegenerativos tales como la enfermedad de Alzheimer, demencias relacionadas con la enfermedad de Alzheimer (tales como enfermedad de Pick), enfermedad de Parkinson y otras enfermedades de cuerpos de Lewy difusos, demencia senil, enfermedad de Huntington, el síndrome de Gilles de la Tourette, la esclerosis múltiple (por ejemplo, incluyendo recaída y remisión de esclerosis múltiple, esclerosis múltiple primaria progresiva y esclerosis múltiple secundaria progresiva), la esclerosis lateral amiotrófica (ELA), parálisis supranuclear progresiva, epilepsia y enfermedad de Creutzfeldt-Jakob; trastornos de la función autonómica tales como hipertensión y trastornos del sueño, y trastornos neuropsiquiátricos, tales como depresión, esquizofrenia, trastorno esquizoafectivo, psicosis de Korsakoff, manía, trastornos de ansiedad, o trastornos fóbicos; trastornos de aprendizaje o de memoria, por ejemplo, amnesia o pérdida de la memoria relacionada con la edad, trastorno de déficit de atención, trastorno distímico, trastorno depresivo mayor, manía, trastorno obsesivo-compulsivo, trastornos por consumo de sustancias psicoactivas, ansiedad, fobias, trastorno de pánico, así como el trastorno afectivo bipolar, por ejemplo, trastorno afectivo bipolar grave (estado de ánimo) (BP-1), trastornos neurológicos afectivos bipolares, por ejemplo, migraña y obesidad. Otros trastornos neurológicos incluyen, por ejemplo, los enumerados en el American Psychiatric

Association's Diagnostic and Statistical manual of Mental Disorders (DSM), la versión más actualizada de la que se incorpora en este documento como referencia en su totalidad. Otros ejemplos de estados sensibles al compuesto de tetraciclina se describen en el documento WO 03/005971A2, U.S.S.N. 60/421,248, and U.S.S.N. 60/480,482.

5 La expresión "en combinación con" otro agente terapéutico o tratamiento incluye coadministración del compuesto de tetraciclina, (por ejemplo, inhibidor) y con el otro agente terapéutico o tratamiento, administración del compuesto de tetraciclina primero, seguido por el otro agente terapéutico o tratamiento y administración del otro agente terapéutico o tratamiento primero, seguido por el compuesto de tetraciclina. El otro agente terapéutico puede ser cualquier agente que se conoce en la técnica para tratar, prevenir, o reducir los síntomas de un estado particular sensible a la tetraciclina. Adicionalmente, el otro agente terapéutico puede ser cualquier agente del beneficio al paciente cuando se administra en combinación con la administración de un compuesto de tetraciclina. Los cánceres que se pueden tratar mediante los métodos descritos en el presente documento incluyen los descritos en las Patentes de los Estados Unidos Nos. 10 6,100,248; 5,843,925; 5,837,696; o 5,668,122.

15 Otro estado sensible al compuesto de tetraciclina es la diabetes, por ejemplo, la diabetes juvenil, diabetes mellitus, diabetes tipo I, o diabetes tipo II. La glicosilación de proteínas puede no ser afectada por la administración de los compuestos de tetraciclina de la invención. El compuesto de tetraciclina se puede administrar en combinación con terapias diabéticas estándar, tal como la terapia de insulina. El IPAS incluye trastornos como se describe en las Patentes de los Estados Unidos Nos. 5,929,055; y 5,532,227.

20 Otro estado sensible al compuesto de tetraciclina es un trastorno de la masa ósea. Los trastornos de la masa ósea incluyen trastornos los trastornos y estados donde la formación, reparación o remodelación del hueso es ventajosa. Por ejemplos de trastornos masa ósea se incluyen la osteoporosis (por ejemplo, una disminución de la resistencia y la densidad ósea), fracturas óseas, la formación de hueso asociada con procedimientos quirúrgicos (por ejemplo, reconstrucción facial), osteogénesis imperfecta (enfermedad de los huesos frágiles), hipofosfatasa, enfermedad de Paget, displasia fibrosa, osteopetrosis, enfermedad ósea de mieloma, y el agotamiento de calcio en los huesos, tal como el que se relaciona con hiperparatiroidismo primario. Los trastornos de masa ósea incluyen todos los estados en los que 25 la formación, reparación o remodelación de hueso es ventajoso para el sujeto así como todos los otros trastornos asociados con los huesos o sistema esquelético de un sujeto que se puede tratar con los compuestos de tetraciclina de la invención. Trastornos masa ósea incluyen los descritos en las Patentes de los Estados Unidos Nos. 5,459,135; 5,231,017; 5,998,390; 5,770,588; RE 34,656; 5,308,839; 4,925,833; 3,304,227; y 4,666,897.

30 Otro estado sensible al compuesto de tetraciclina es la lesión pulmonar aguda. Las lesiones pulmonares agudas incluyen el síndrome de distensión respiratoria del adulto (ARDS), el síndrome post-bomba (PPS), adelectasis (por ejemplo, pulmón colapsado) y traumatismo. El traumatismo incluye cualquier lesión al tejido vivo causada por un agente o evento extrínseco. Ejemplos de traumatismo incluyen lesiones por aplastamiento, contacto con una superficie dura, o de corte u otros daños a los pulmones.

35 Se describe en este documento un método para tratar la lesión pulmonar aguda mediante la administración de un compuesto de tetraciclina sustituida de la invención.

Otros estados sensibles a la tetraciclina incluyen trastornos pulmonares crónicos. Se describen en este documento métodos para el tratamiento de trastornos pulmonares crónicos mediante la administración de un compuesto de tetraciclina, tales como los descritos en el presente documento. El método incluye administrar a un sujeto una cantidad eficaz de un compuesto de tetraciclina sustituida de manera que el trastorno pulmonar crónico sea tratado. Los ejemplos 40 de trastornos pulmonares crónicos incluyen el asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), fibrosis quística, y enfisema. Los compuestos de tetraciclina de la invención se pueden usar para tratar trastornos pulmonares agudos y/o crónicos, tales como los descritos en las Patentes de los Estados Unidos No. 5,977,091; 6,043,231; 5,523,297; y 5,773,430.

45 Otro estado sensible al compuesto de tetraciclina es la isquemia, accidente cerebrovascular, accidente cerebrovascular hemorrágico o ictus isquémico. Se describe en este documento un método para tratar la isquemia, accidente cerebrovascular, accidente cerebrovascular hemorrágico o accidente cerebrovascular isquémico mediante la administración de una cantidad eficaz de un compuesto de tetraciclina sustituida de la invención. Los compuestos de tetraciclina de la invención se pueden usar para tratar tales trastornos como se describe en las Patentes de los Estados Unidos No. 6,231,894; 5,773,430; 5,919,775 o 5,789,395.

50 Otro estado sensible al compuesto de tetraciclina es una herida en la piel. Se describe en este documento un método para mejorar la respuesta de curación del tejido epitelializado (por ejemplo, piel, mucosas) para lesión traumática aguda (por ejemplo, corte, quemadura, raspado, etc.). El método puede incluir el uso de un compuesto de tetraciclina de la invención (que puede o no tener actividad antibacteriana) para mejorar la capacidad del tejido epitelializado para curar 55 heridas agudas. El método puede aumentar la tasa de acumulación de colágeno del tejido de cicatrización. El método también puede disminuir la actividad proteolítica en el tejido epitelializado, disminuyendo la actividad colagenolítica y/o

gelatinolítica de las MMPs. El compuesto de tetraciclina de la invención se puede administrar a la superficie de la piel (por ejemplo, por vía tópica). El compuesto de tetraciclina de la invención puede ser utilizado para tratar una herida en la piel, y otros trastornos como se describe en, por ejemplo, las Patentes de los Estados Unidos Nos. 5,827,840; 4,704,383; 4,935,412; 5,258,371; 5,308,8391 5,459,135; 5,532,227; y 6,015,804.

5 Otro estado sensible al compuesto de tetraciclina es un aneurisma aórtica o vascular en el tejido vascular de un sujeto (por ejemplo, un sujeto que tiene o está en riesgo de tener un aneurisma aórtica o vascular, etc.). El compuesto de tetraciclina puede ser efectivo para reducir el tamaño del aneurisma vascular o puede ser administrado al sujeto antes de la aparición del aneurisma vascular de tal manera que se impide el aneurisma. En una realización, el tejido vascular es una arteria, por ejemplo, la aorta, por ejemplo, la aorta abdominal. En una realización adicional, los compuestos de tetraciclina de la invención se usan para tratar los trastornos descritos en las Patentes de los Estados Unidos Nos..
10 6,043,225 y 5,834,449.

Las infecciones bacterianas se pueden causar por una amplia variedad de bacterias gram positivas y gram negativas. Algunos de los compuestos de la invención son útiles como antibióticos contra organismos que son resistentes y/o sensibles a otros compuestos de tetraciclina. La actividad antibiótica de los compuestos de tetraciclina de la invención se puede medir utilizando el método estándar de dilución en caldo *in vitro* descrito en Waitz, J.A., CLSI, Documento M7-A2, vol. 10, no. 8, pp. 13-20, 2ª edición, Villanova, PA (1990).
15

Los compuestos de tetraciclina también se pueden usar para tratar infecciones tradicionalmente tratados con compuestos de tetraciclina tales como, por ejemplo, rickettsiae; un número de bacterias gram-positivas y gram-negativas; y los agentes responsables de linfogranuloma venéreo, conjuntivitis de inclusión o psitacosis. Los compuestos de tetraciclina se pueden usar para tratar infecciones de, por ejemplo, *K. pneumoniae*, *Salmonella*, *E. hirae*, *A. baumannii*, *B. catarrhalis*, *H. influenzae*, *P. aeruginosa*, *E. faecium*, *E. coli*, *S. aureus* o *E. faecalis*. En una realización, el compuesto de tetraciclina se usa para tratar una infección bacteriana que es resistente a otros compuestos antibióticos de tetraciclina. El compuesto de tetraciclina de la invención se puede administrar con un portador farmacéuticamente aceptable.
20

25 La expresión "cantidad eficaz" del compuesto es la cantidad necesaria o suficiente para tratar o prevenir un estado sensible al compuesto de tetraciclina. La cantidad eficaz puede variar dependiendo de factores tales como el tamaño y el peso del sujeto, el tipo de enfermedad, o el compuesto de tetraciclina particular. Por ejemplo, la elección del compuesto de tetraciclina puede afectar lo que constituye una "cantidad eficaz". Un experto en la técnica sería capaz de estudiar los factores mencionados anteriormente y hacer la determinación con respecto a la cantidad eficaz del compuesto de tetraciclina sin la experimentación indebida.
30

La invención también permite los métodos de tratamiento contra infecciones por microorganismos y enfermedades asociadas. Los métodos incluyen la administración de una cantidad eficaz de uno o más compuestos de tetraciclina a un sujeto. El sujeto puede ser una planta o, ventajosamente, un animal, por ejemplo, un mamífero, por ejemplo, un ser humano.

35 En los métodos terapéuticos, uno o más compuestos de tetraciclina de la invención se pueden administrar solos a un sujeto, o más normalmente un compuesto de la invención se administrará como parte de una composición farmacéutica en mezcla con excipiente convencional, i.e., sustancias portadoras farmacéuticamente orgánicas o inorgánicas aceptables apropiadas para la administración parenteral, oral u otra administración deseada, y que no reaccionan perjudicialmente con los compuestos activos y no sean perjudiciales para el receptor de los mismos.

40 Composiciones farmacéuticas de la invención

La invención también se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de tetraciclina de la fórmula VIIa y un portador farmacéuticamente aceptable.

La expresión "portador farmacéuticamente aceptable" incluye sustancias capaces de ser coadministradas con el o los compuestos de tetraciclina, y que permiten tanto llevar a cabo su función prevista, por ejemplo, tratar o prevenir un estado sensible a la tetraciclina. Los portadores farmacéuticamente aceptables adecuados incluyen agua, soluciones salinas, alcohol, aceites vegetales, polietilenglicoles, gelatina, lactosa, amilosa, estearato de magnesio, talco, ácido silícico, parafina viscosa, aceite de perfume, monoglicéridos y diglicéridos de ácidos grasos, ésteres de ácidos grasos petroetral, hidroximetil-celulosa, polivinilpirrolidona, etc. Las preparaciones farmacéuticas se pueden esterilizar y, si se desea, mezclarse con agentes auxiliares, por ejemplo, lubricantes, conservantes, estabilizantes, agentes humectantes, emulsionantes, sales para influir en la presión osmótica, soluciones reguladoras, colorantes, saborizantes y/o sustancias aromáticas y similares, que no reaccionen perjudicialmente con los compuestos activos de la invención.
45
50

Los compuestos de tetraciclina de la invención que son básicos en la naturaleza son capaces de formar una amplia variedad de sales con diversos ácidos inorgánicos y orgánicos. Los ácidos que se pueden usar para preparar las sales

de adición de ácido farmacéuticamente aceptables de los compuestos de tetraciclina de la invención que son básicos en la naturaleza son aquellos que forman sales de adición de ácido no-tóxicas, i.e., sales que contienen aniones farmacéuticamente aceptables, tales como sales clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, nitrato, sulfato, bisulfato, fosfato, fosfato ácido, isonicotinato, acetato, lactato, salicilato, citrato, citrato ácido, tartrato, pantotenato, bitartrato, ascorbato, succinato, maleato, gentisinato, fumarato, gluconato, glucaronato, sacarato, formiato, benzoato, glutamato, metanosulfonato, etanosulfonato, bencenosulfonato, p-toluenosulfonato y pamoato [i.e., 1,1'-metilenobis-(2-hidroxi-3-naftoato)]. Aunque tales sales deben ser farmacéuticamente aceptables para la administración a un sujeto, por ejemplo, un mamífero, a menudo es deseable en la práctica aislar inicialmente un compuesto de tetraciclina de la invención a partir de la mezcla de reacción como una sal farmacéuticamente inaceptable y a continuación simplemente convertir esta última de nuevo en el compuesto base libre por tratamiento con un reactivo alcalino y posteriormente convertir la última base libre en una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable. Las sales de adición de ácido de los compuestos básicos de esta invención se preparan fácilmente tratando el compuesto base con una cantidad sustancialmente equivalente del ácido mineral u orgánico en un medio solvente acuoso o en un solvente orgánico apropiado, tal como metanol o etanol. Después de la evaporación cuidadosa del solvente, se obtiene fácilmente la sal sólida deseada. La preparación de otros compuestos de tetraciclina de la invención no se describen específicamente en la sección experimental anterior se pueden lograr utilizando combinaciones de las reacciones descritas anteriormente que serán evidentes para los expertos en la técnica.

La preparación de otros compuestos de tetraciclina de la invención no se describe específicamente en la sección experimental precedente, se puede lograr utilizando las combinaciones de las reacciones descritas anteriormente que serán evidentes para los expertos en la técnica.

Los compuestos de tetraciclina de la invención que son ácidos en la naturaleza son capaces de formar una amplia variedad de sales de bases. Las bases químicas que se pueden usar como reactivos de preparación de sales de bases farmacéuticamente aceptables de los compuestos de tetraciclina de la invención que son ácidos en la naturaleza son aquellas que forman sales de bases no tóxicas con tales compuestos. Tales sales de base no-tóxicas incluyen las derivadas de dichos cationes farmacéuticamente aceptables, tales como cationes de metal alcalino (por ejemplo, potasio y sodio) y cationes de metal alcalinotérreo (por ejemplo, calcio y magnesio), amonio o sales de adición de amina soluble en agua tales como N-metilglucamina-(meaglulina), y el alcanolamonio inferior y otras sales base de aminas orgánicas farmacéuticamente aceptables. Las sales de adición de base farmacéuticamente aceptables de los compuestos de tetraciclina de la invención que son ácidos en la naturaleza se pueden formar con cationes farmacéuticamente aceptables mediante métodos convencionales. De esta manera, estas sales se pueden preparar fácilmente por el tratamiento del compuesto de tetraciclina de la invención con una solución acuosa del catión deseado farmacéuticamente aceptable y evaporando la solución resultante a sequedad, preferiblemente bajo presión reducida. Alternativamente, una solución de alcohol de alquilo inferior del compuesto de tetraciclina de la invención se puede mezclar con un alcóxido del metal deseado y la solución posteriormente se evapora a sequedad.

La preparación de otros compuestos de tetraciclina de la invención no se describen específicamente en la sección experimental precedente, se puede lograr utilizando combinaciones de las reacciones descritas anteriormente que serán evidentes para los expertos en la técnica.

Los compuestos de tetraciclina de la invención y las sales de estos farmacéuticamente aceptables se pueden administrar a través de cualquier vía oral, parenteral o tópica. En general, estos compuestos se administran más deseablemente en dosificaciones eficaces, dependiendo del peso y la condición del sujeto que está siendo tratado y de la vía particular de administración elegida. Las variaciones pueden ocurrir dependiendo de la especie del sujeto que está siendo tratado y de su respuesta individual a dicho medicamento, así como del tipo de formulación farmacéutica elegida y el período de tiempo e intervalo en el cual dicha administración se lleva a cabo.

Las composiciones farmacéuticas de la invención se pueden administrar solas o en combinación con otras composiciones conocidas para tratar estados sensibles a la tetraciclina en un sujeto, por ejemplo, un mamífero. Los mamíferos preferidos incluyen mascotas (por ejemplo, gatos, perros, hurones, etc.), animales de granja (vacas, ovejas, cerdos, caballos, cabras, etc.), los animales de laboratorio (ratas, ratones, monos, etc.) y primates (chimpancés, humanos, gorilas). La expresión "en combinación con" una composición conocida tiene la intención de incluir la administración simultánea de la composición de la invención y la composición conocida, la administración de la composición de la invención primero, seguido de la composición conocida y la administración de la composición conocida primero, seguido por la composición de la invención.

Los compuestos de tetraciclina de la invención pueden ser administrados solos o en combinación con portadores o diluyentes farmacéuticamente aceptables por cualquiera de las rutas previamente mencionadas, y la administración se puede llevar a cabo en dosis únicas o múltiples. Por ejemplo, los nuevos agentes terapéuticos de esta invención se pueden administrar ventajosamente en una amplia variedad de formas de dosificación diferentes, i.e., se pueden combinar con diversos portadores inertes farmacéuticamente aceptables en forma de comprimidos, cápsulas, comprimidos para deshacerse en la boca, comprimidos medicinales, caramelos duros, polvos, atomizadores (por

ejemplo, aerosoles, etc.), cremas, pomadas, supositorios, jaleas, geles, pastas, lociones, ungüentos, suspensiones acuosas, soluciones inyectables, elixires, jarabes, y similares. Tales portadores incluyen diluyentes sólidos o cargas, medios acuosos estériles y diversos solventes orgánicos no tóxicos, etc. Además, las composiciones farmacéuticas orales se pueden edulcorar y/o aromatizar. En general, los compuestos terapéuticamente eficaces de esta invención están presentes en tales formas de dosificación a niveles de concentración que oscilan de aproximadamente 5.0% a aproximadamente 70% en peso.

Para la administración por vía oral, los comprimidos que contienen diversos excipientes tales como celulosa microcristalina, citrato sódico, carbonato cálcico, fosfato dicálcico y glicina se pueden emplear junto con diversos disgregantes tales como almidón (y preferiblemente almidón de maíz, almidón de patata o tapioca), ácido algínico y ciertos silicatos complejos, junto con aglutinantes de granulación como polivinilpirrolidona, sacarosa, gelatina y goma arábica. Adicionalmente, agentes lubricantes tales como estearato de magnesio, lauril sulfato de sodio y talco son a menudo muy útiles para propósitos de fabricación de comprimidos. Las composiciones sólidas de un tipo similar también se pueden emplear como agentes de carga en cápsulas de gelatina; los materiales preferidos a este respecto también incluyen lactosa o azúcar de la leche así como polietilenglicoles de alto peso molecular. Cuando se desean suspensiones y/o elixires acuosos para la administración por vía oral, el ingrediente activo se puede combinar con diversos agentes edulcorantes o aromatizantes, materia colorante o tintes, y, si así se desea, agentes emulsionantes y/o de suspensión también, junto con dichos diluyentes como agua, etanol, propilenglicol, glicerina y diversas combinaciones similares de los mismos. Las composiciones de la invención se pueden formular de tal manera que las composiciones de tetraciclina se liberan durante un periodo de tiempo después de la administración.

Para la administración parenteral (incluyendo inyección intraperitoneal, subcutánea, intravenosa, intradérmica o intramuscular), se pueden emplear soluciones de un compuesto terapéutico de la presente invención en ya sea aceite de ajonjolí o de cacahuete o en propilenglicol acuoso. Las soluciones acuosas deben ser reguladas apropiadamente (preferiblemente pH mayor de 8) si es necesario y el diluyente líquido primero se debe hacer isotónico. Estas soluciones acuosas son apropiadas para fines de inyección intravenosa. Las soluciones oleosas son apropiadas con fines de inyección intraarticular, intramuscular y subcutánea. La preparación de todas estas soluciones bajo condiciones estériles se logra fácilmente por medio de técnicas farmacéuticas estándar bien conocidas para los expertos en la técnica. Para la aplicación parenteral, ejemplos de preparaciones apropiadas incluyen soluciones, preferiblemente soluciones oleosas o acuosas así como suspensiones, emulsiones, o implantes, incluyendo supositorios. Los compuestos terapéuticos se pueden formular en forma estéril en formatos de dosis unitarias o múltiples tales como ser dispersados en un portador líquido tal como solución salina fisiológicamente estéril o soluciones al 5% de dextrosa salinas comúnmente utilizados con inyectables.

Además, también es posible administrar los compuestos de la presente invención por vía tópica cuando se tratan afecciones inflamatorias de la piel. Ejemplos de métodos de administración tópica incluyen aplicación transdérmica, bucal o sublingual. Para las aplicaciones tópicas, los compuestos terapéuticos se pueden mezclar de forma apropiada en un portador tópico farmacológicamente inerte tal como un gel, un ungüento, una loción o una crema. Tales portadores tópicos incluyen agua, glicerol, alcohol, propilenglicol, alcoholes grasos, triglicéridos, ésteres de ácidos grasos, o aceites minerales. Otros portadores tópicos posibles son petrolato líquido, palmitato de isopropilo, polietilenglicol, etanol 95%, polioxietileno monolaurato al 5% en agua, lauril sulfato de sodio al 5% en agua, y similares. Además, si se desea, también se pueden adicionar materiales tales como antioxidantes, humectantes, estabilizadores de la viscosidad y similares.

Para la aplicación enteral, son particularmente apropiadas los comprimidos, grageas o cápsulas que tienen talco y/o ligante portador de carbohidrato o similar, siendo el portador preferiblemente lactosa y/o almidón de maíz y/o almidón de patata. Un jarabe, elixir o similar se pueden usar en donde se emplea un vehículo edulcorado. Composiciones de liberación sostenida se pueden formular incluyendo aquellas en donde el componente activo está protegido con recubrimientos diferencialmente degradables, por ejemplo, mediante microencapsulación, recubrimientos múltiples, etc.

Además del tratamiento de los sujetos humanos, los métodos terapéuticos tendrán importantes aplicaciones veterinarias, por ejemplo, para el tratamiento de animales de granja como ganado, ovejas, cabras, vacas, cerdos y similares; aves de corral como pollos, patos, gansos, pavos y similares; caballos; y los mascotas como perros y gatos. Además, los compuestos de la invención se pueden usar para tratar sujetos no animales, tales como plantas.

Se apreciará que las cantidades reales preferidas de compuestos activos usados en una terapia dada variarán de acuerdo con el compuesto específico que se utilice, las composiciones particulares formuladas, el modo de aplicación, el sitio particular de administración, etc. Las velocidades de administración óptimas para un protocolo de administración dado pueden determinarse fácilmente para los expertos en la técnica utilizando ensayos de determinación de dosificación convencionales realizados con respecto a las anteriores directrices.

En general, los compuestos de la invención para utilizar en el tratamiento se pueden administrar a un sujeto en las dosificaciones utilizadas en las terapias de tetraciclina previas. Véase, por ejemplo, the Physicians' Desk Reference. Por

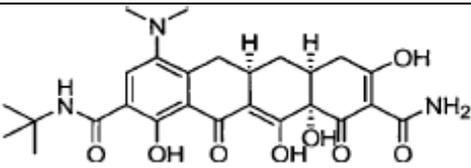
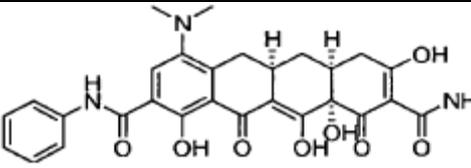
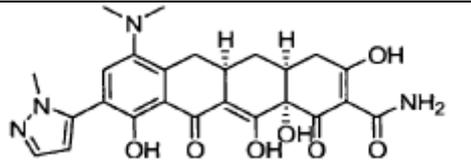
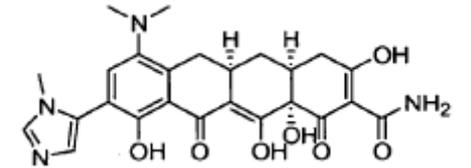
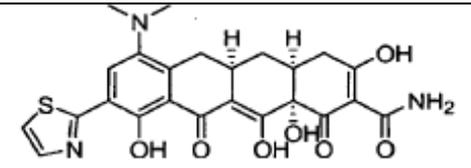
ejemplo, una dosis efectiva apropiada de uno o más compuestos de la invención está en el rango de 0.01 a 100 miligramos por kilogramo de peso corporal del receptor por día, preferiblemente en el rango de 0.1 a 50 miligramos por kilogramo de peso corporal del receptor por día, más preferiblemente en el rango de 1 a 20 miligramos por kilogramo de peso corporal del receptor por día. La dosis deseada se administra adecuadamente una vez al día, o varias subdosis, por ejemplo, 2 a 5 subdosis, se administran a intervalos apropiados a lo largo del día, u otro horario apropiado.

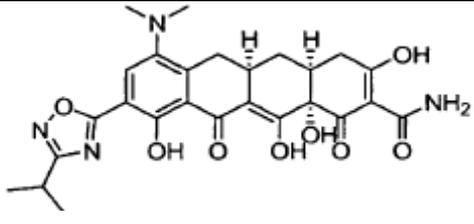
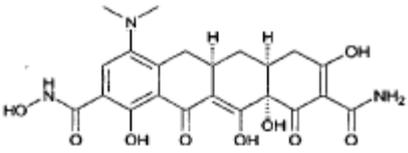
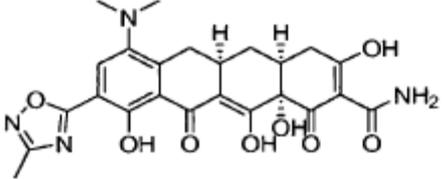
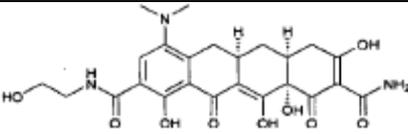
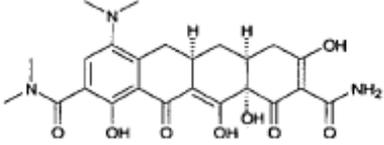
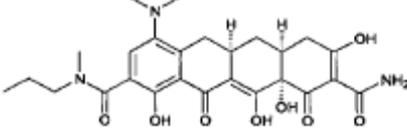
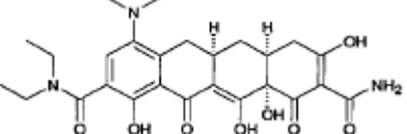
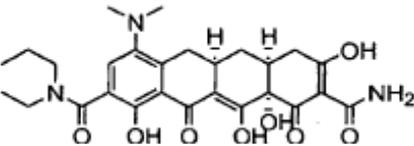
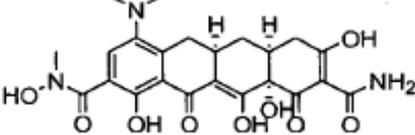
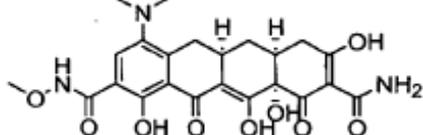
También se entenderá que, se tomarán precauciones normales conocidas convencionalmente en relación con la administración de las tetraciclinas, en general para garantizar su eficacia en circunstancias de uso normales. Especialmente cuando se emplean para el tratamiento terapéutico de seres humanos y animales *in vivo*, el médico debe tomar todas las precauciones sensibles para evitar las contradicciones conocidas convencionalmente y efectos tóxicos. Por lo tanto, las reacciones adversas reconocidas convencionalmente de malestar gastrointestinal e inflamaciones, la toxicidad renal, reacciones de hipersensibilidad, cambios en la sangre, y deterioro de la absorción a través de iones de aluminio, calcio, y magnesio debe ser tenido en cuenta como es debido de la manera convencional.

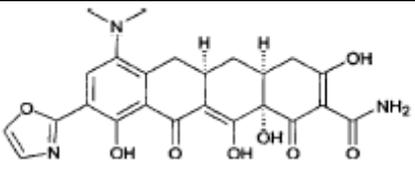
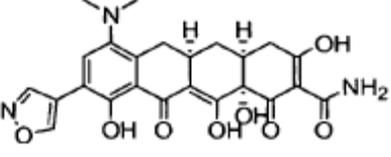
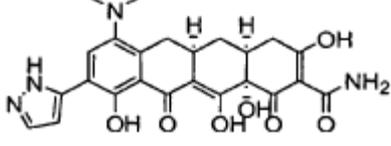
También se describe en este documento el uso de un compuesto de tetraciclina de la Fórmula VIIa para la preparación de un medicamento. El medicamento puede incluir un portador farmacéuticamente aceptable y el compuesto de tetraciclina en una cantidad eficaz, por ejemplo, una cantidad eficaz para tratar un estado sensible a la tetraciclina.

En una realización, el compuesto de tetraciclina sustituido es un compuesto de la Tabla 2.

Tabla 2

Código	Compuesto	Código	Compuesto
		EI	
		EJ	
		EN	
		EO	
		ES	

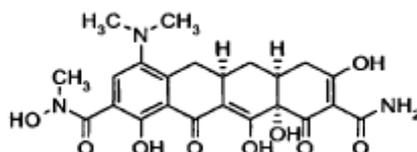
		FM	
BQ		FN	
BR			
BW			
BX			
BY			
CA			
CC			
CD			

CI			
CJ			
CK			

Ejemplificación de la invención

Ejemplo 1: Síntesis de los compuestos selectos de la invención

5 2-Amida 9-(hidroxi-metil-amida) del ácido (4aS,5aR,12aS)-7-dimetilamino-3,10,12,12a-tetrahidroxi-1,11-dioxo-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-octahidro-naftaceno- 2,9- dicarboxílico ácido 4-dedimetilamino-minociclina-9-N-metilhidroxámico (Compuesto CC)



10 La minociclina/sal de HCl (200 g, 0.406 mol) se suspendió en 3 L de agua y se adicionó una cantidad de NaHCO₃ (34 g, 0.406 mol) en 3 porciones y el pH se ajustó a 6.5-7.0. A continuación, la solución se extrajo con 2 x 1.5 L de CH₂Cl₂. La solución se concentró a sequedad para proporcionar la minociclina como base libre, a continuación, se volvió a disolver en THF (1.6 L) y se cargó en un matraz de 3 bocas de 3L, equipado con un agitador superior y una sonda de temperatura, con argón al mismo tiempo. Se adicionó una cantidad de yoduro de metilo (289 g, 2.03 mol) y la solución se calentó a 40-45 °C, durante aproximadamente 16 horas, momento en el cual se verificó por HPLC que ninguna minociclina quedara en solución. A continuación, la solución se vertió en 6 L de heptano, en baño de hielo y se agitó durante al menos 20 minutos a <5 °C. El precipitado se filtró y se lavó con hexano (400 mL). El sólido se secó bajo presión reducida a un peso constante. Una cantidad de 186 g de sal de metilamonio de la minociclina fue aislada.

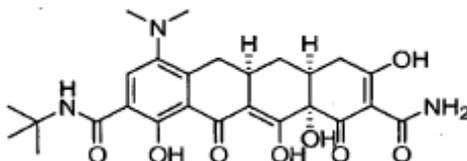
20 En un RBF de 3 bocas de 3L, equipado con un agitador superior y una sonda de temperatura, se enfrió una mezcla de 200 mL de DMF, 50 mL de TFA, y 15 mL de agua, en un baño de hielo a <5 °C. Se adicionó una cantidad de 4-metilamonio minociclina (100 g) al matraz. Después de la disolución, se adicionó polvo de Zn (14 g, malla 100) en 6 porciones aproximadamente cada 30 minutos (~2.33 g cada adición). La reacción se controló por HPLC. Cuando menos de aproximadamente el 10% de 4- trimetilamonio minociclina se mantuvo, la solución se filtró a través de un lecho de Celita y se lavó con 500 mL de agua. A continuación, la solución se vertió en 2 L de agua y se ajustó el pH con amoniaco acuoso a un pH de 3.5. La solución acuosa se extrajo primero con 1 L de diclorometano (dos veces) y las capas orgánicas combinadas se volvieron a lavar con 1 L de agua, se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y concentró bajo presión reducida hasta un aceite, para producir la 4-dedimetilamino minociclina (48 g).

30 Se cargó una cantidad de 4-dedimetil minociclina (48 g, 0.115 mol) en un matraz en atmósfera de argón y se adicionó ácido metanosulfónico (350 mL). Se adicionaron Ag₂SO₄ (75 g, 0.24 mol) y yodo (61.5 g, 0.24 mol) y la mezcla se agitó durante 3 horas. Después de confirmar por HPLC la terminación de la reacción, la mezcla se vertió en sulfito de sodio acuoso al 4% (3.5 L) y se agitó durante al menos una hora. La solución se filtró a través de un lecho de Celita, después se lavó con 200 mL de agua. La capa acuosa se cargó en una columna que contiene resina de divinilbencilo. Un gradiente de 20-60% orgánico (1:1 metanol:acetonitrilo) en agua con un ácido trifluoroacético total al 1.0% se utilizó para

eluir el compuesto 4-dedimetilamina-9-yodo minociclina. Las fracciones combinadas se redujeron de fase orgánica, el pH se ajustó con NaHCO_3 acuoso a un pH de 7 y se extrajo con cloruro de metileno para proporcionar 20 g de la 4-dedimetilamina-9-yodo minociclina como la base libre.

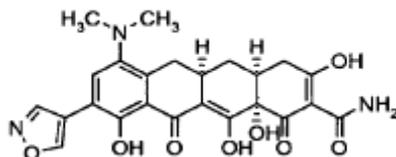
5 A un matraz de 500 mL, se le adicionaron 4-dedimetilamino-9-yodo minociclina (2.00 g) base libre y NMP (37 mL), N-hidroxisuccinimida (3.9 g). Para eliminar el agua residual de los reactivos anteriores, se adicionó tolueno (37 mL), se colocó el matraz en el evaporador rotatorio (35 mm Hg, 45 °C) hasta que todo el tolueno se evaporó. El matraz se relleno con argón y a continuación el contenido fue transferido mediante una cánula a un matraz de 500 L seco. Al matraz de 500 mL, se le adicionaron tetrakis(trifenilfosfina)paladio(O) (2.00 g) y DIEA (2.60 mL). El matraz se colocó bajo vacío (20 mm de Hg) y se purgó 3 veces con monóxido de carbono. El matraz se calentó a 60 °C, en 1.0 atm de monóxido de carbono y se dejó en agitación, durante 1 hora. Posteriormente, se adicionaron metilhidroxilamina (1.7 mL) y DIEA (0.5 mL) y la reacción se calentó en un reactor de microondas durante 1 minuto a 100 °C. La reacción se adicionó en agua (1.0 L) y el pH se bajó a 2 utilizando ácido trifluoroacético. A continuación, la solución se filtró a través de Celita, se cargó en una columna de fase reversa y el producto en bruto se purificó por HPLC de fase reversa (C18, gradiente lineal 10-30% de MeCN en agua con 0.1% de TFA). Las fracciones que contenían el producto final se cargaron en un tapón de DVB, se lavó con HCl acuoso (1.0 L, 0.01 N) y se eluyeron con acetonitrilo para proporcionar la sal de HCl del ácido 4-dedimetilamino-9-N-metilhidroxámico minociclina (1000 mg, 44%). $^1\text{HRMN}$ (300 MHz, los desplazamientos químicos en ppm con TMS como referencia interna en 0 ppm) δ 1.5-1.7 (m, 1H), 2.1-2.25 (m, 1H), 2.35-2.7 (m, 3H), 2.9-3.1 (m, 1H), 3.2-3.3 (brs, 7H), 3.35 (s, 2H), 3.45 (s, 2H), 7.91 (s, 1H). MW calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_9$ 487.46, ESIMS obs. m/z 488.25 (MH⁺). Los compuestos BQ, BR, BW, BX, BY, CA, CD y EJ, se prepararon como se describe anteriormente.

2-Ámida 9-tert-butilamida del ácido (4aS,5aR,12aS)-7-dimetilamino-3,10,12,12a-tetrahidroxi-1,11-dioxo-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-octahidro-naftaceno-2,9- dicarboxílico (Compuesto EI)

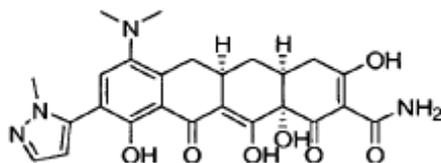


25 Se adicionó 4-dedimetilamina-9-yodo minociclina base libre (2.00 g, 4.30 mmol) a un matraz de 500 mL (véase la síntesis del compuesto CC), NMP (37 mL), N-hidroxisuccinimida (3.9 g, 38 mmol). Para eliminar el agua residual a partir de los reactivos anteriores, se adicionó tolueno (37 mL), se colocó el matraz en el evaporador rotatorio (5 mm de Hg, 45 °C) hasta que todo el tolueno se evaporó. El matraz se relleno con argón y los contenidos fueron transferidos a continuación mediante una cánula a un matraz de 500 L seco. Al matraz de 0.5 L, se le adicionó tetrakis (trifenilfosfina) paladio (O) (2.00 g, 1.67 mmol) y DIEA (2.60 mL, 1.48 mmol). El matraz se colocó bajo vacío (20 mm de Hg) y se purgó 3 veces con monóxido de carbono. A continuación, el matraz se calentó a 60 °C bajo 1.0 atm de monóxido de carbono y se dejó en agitación durante 1 hora hasta que toda la 4-dedimetilamino-9- yodo minociclina se consumió y se formó un pico para el correspondiente intermedio NHS-éster (M+1) de 556 M/Z como se determina por LCMS. Posteriormente, se adicionaron tert-butilamina (4.0 mL, 38 mmol) y DIEA (4.0 mL, 38 mmol) y la reacción se calentó en un reactor de microondas durante 1 minuto a 100 °C. A la reacción, se le adicionó acetonitrilo (150 mL) seguido por el agua (0.8 L) y el pH se redujo a pH 2, utilizando ácido trifluoroacético. A continuación, la solución se filtró a través de Celita para eliminar el catalizador, se cargó en una columna de fase reversa y el producto en bruto se purificó por HPLC (C18, gradiente lineal 30-45% de acetonitrilo en agua con ácido fórmico 0.2%). Las fracciones que contenían el producto final se cargaron en el tapón de DVB, se lavó con HCl acuoso (1.0 L, 0.01 N) y se eluyó con metanol para proporcionar la sal de HCl de 4-dedimetil-9-tertbutilcarboxalido minociclina (500 mg, 0.91 mmol, 20%). $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, los desplazamientos químicos en ppm con TMS como referencia interna en 0 ppm) δ 1.4 (s, 9H), 1.6-1.8 (m, 1H), 2.1-2.25 (m, 1H), 2.35-2.7 (m, 3H), 2.9-3.1 (m, 1H), 3.15-3.3 (m, 1H), 3.38 (s, 1H), 8.45 (s, 1H). MS (electro-aspersión) calculado para $\text{C}_{26}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_8$ 513.54, encontrado (MH⁺) 514.25. Los compuestos BQ, BR, BW, BX, BY, CA, CD y EJ se prepararon como se describe anteriormente.

45 Ácido (4aS,5aR,12aS)-7-dimetilamino-3,10,12,12a-tetrahidroxi-9-isoxazol-4-il-1,11-dioxo-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-octahidro-naftaceno-2-carboxílico (Compuesto CJ)

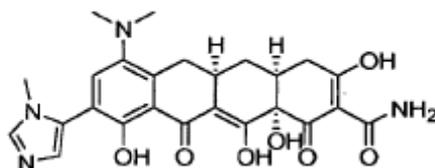


- 5 A la 9-yodo-4-dedimetilaminominciclina (2.0 g), se le adicionó una DMF (15 mL) previamente purgada con argón para eliminar cualquier oxígeno, una solución previamente preparada de Na₂CO₃ (784 mg) en agua (5.0 mL), dicloro (1,1'-bis-difenilfosfina) (Ferroceno)Pd(0) complejado con DCM (541mg) y éster del ácido 4-isoxazoleborónico de pinacol (1.08 g). La reacción se sometió a irradiación de microondas durante 1 minuto a una temperatura de 100 °C. Después, se adicionó la reacción a una solución acuosa que contiene acetonitrilo (20%) y TFA (0.2%). A continuación, la solución se filtró a través de Celita para eliminar el catalizador, se cargó en una columna de fase reversa C18 y el producto en bruto se purificó por HPLC de fase reversa (C18, gradiente lineal 20-40% de MeCN en agua con 0.1% de TFA). Las fracciones que contenían el producto final se cargaron en el tapón de DVB, se lavó con HCl acuoso (1.0 L, 0.01 N) y se eluyó con metanol para proporcionar la sal de HCl de 4-dedimetilamino-9-(isoxazol-4-il)-minociclina (1000 mg, 1.93 mmol, 51%). ¹H-RMN (espectrómetro Bruker DPX300 300 MHz, los desplazamientos químicos en ppm con TMS como referencia interna en 0 ppm) δ 1.6-1.8 (m, 1H), 2.1-2.25 (m, 1H), 2.35-2.7 (m, 3H), 2.9-3.1 (m, 1H), 3.18-3.3 (m, 2H), 3.35-3.45 (m, 6H), 8.3 (s, 1H), 9.15 (s, 1H), 9.35 (s, 1H). MW calculado para C₂₄H₂₃N₃O₈ 481.47, ESIMS encontrado m/z 482 (MH⁺). Los compuestos CI, CK y ES se prepararon de esta manera.
- 10
- 15 Amida del ácido (4aS,5aR,12aS)-7-dimetilamino-3,10,12,12a-tetrahidroxi-9-(2-metil-2H-pirazol-3-il)-1,11-dioxo-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-octahidro-naftaceno-2-carboxílico (Compuesto EN)



- 20 A la 9-yodo-4-dedimetil minociclina (1.5 g, 2.78 mmol, véase la síntesis del compuesto CC), se le adicionó N-etilpirrolidona (10 mL, previamente purgada con argón para eliminar cualquier oxígeno), una solución previamente preparada de NaCO₃ (584 mg, 5.56 mmol) en agua (4.0 mL, también purgado previamente con argón), complejo 1,1'-Bis (difenilfosfino) ferroceno dicloropaladio (II) con diclorometano 1:1 (400 mg, 0.556 mmol) y 1-metil-4- (4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan- 2-il) -1H-pirazol (867 mg, 4.17 mmol). La reacción se sometió a irradiación de microondas durante 2 minutos a temperatura de 100 °C. Después, se adicionó la reacción a una solución acuosa que contiene acetonitrilo (10%) y TFA (0.2%). A continuación, la solución se filtró a través de Celita para eliminar el catalizador, se cargó en una columna de fase reversa y se purificó por HPLC (C18, gradiente lineal 15-25% de acetonitrilo en agua con 0.1% de TFA). Las fracciones que contenían el producto final se cargaron en el tapón de DVB, se lavó con HCl acuoso (1.0 L, 0.01 N) y se eluyó con metanol para proporcionar la sal de HCl de 4-dedimetil-9-(1-metil-pirazol) minociclina (510 mg , 0.96 mmol, 35%). ¹H-NMR (espectrómetro Bruker DPX300 300 MHz, los desplazamientos químicos en ppm con TMS como referencia interna en 0 ppm) δ 1.6-1.8 (m, 1H), 2.1-2.25 (m, 1H), 2.35-2.65 (m, 3H), 2.8-3.2 (m, 6H), 3.2-3.3 (m, 1H), 3.79 (s, 3H), 6.4 (s, 1H), 7.55 (s, 1H), 7.75 (brs, 1H). MS (electro-aspersión) calculado para C₂₅H₂₆N₄O₇ 494.50, encontrado (M+1) 495.20. Los compuestos CI, CK y ES se prepararon de esta manera.
- 25
- 30

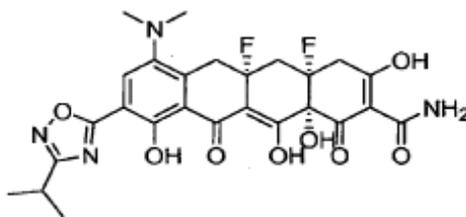
Amida del ácido (4aS,5aR,12aS)-7-dimetilamino-3,10,12,12a-tetrahidroxi-9-(,3-metil-3H-imidazol-4-il)-1,11-dioxo-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-octahidro-naftaceno-2-carboxílico (Compuesto EO)



- 35 A un matraz de fondo redondo de 100 mL se le adicionaron 9-yodo 4-dedimetil minociclina (1.5 g, 2.78 mmol, véase la síntesis del compuesto CC), N-metilpirrolidona (10 mL) y tolueno (10 mL). El tolueno y el agua residual de la solución

concentrada que contienen la 9-yodo-4 dedimetil minociclina se separaron después por evaporación rotatoria (5.0 mm de Hg, 45 °C) y se rellenaron con argón para proporcionar 10 mL de una solución concentrada 0.28 M de 9-yodo 4-dedimetil minociclina en NMP. A un vial de microondas de 20 mL, se le adicionó tris (dibencildienoacetona)dipaladio(O) (250 mg, 0.28 mmol), tri-2-furilfosfina (645 mg, 2.8 mmol), Cul (53 mg, 0.28 mmol), y la solución concentrada de 9-yodo-4-dedimetil minociclina seguido por 1-metil-5-tributilstannanil-1H-imidazol (2.0 g, 5.56 mmol). El vial de microondas se tapó, se calentó a 100 °C, durante 15 minutos utilizando un reactor de microondas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se adicionó a agua (1.0 L) y el pH se redujo a pH 2, utilizando ácido trifluoroacético. A continuación, la solución se filtró a través de Celita para eliminar el catalizador, se cargó en una columna de fase reversa y el producto en bruto se purificó por HPLC (C18, gradiente lineal 10-25% de acetonitrilo en agua con 0.1% de TFA). Las fracciones que contenían el producto final se cargaron en un tapón de DVB, se lavaron con HCl acuoso (1.0 L, 0.01 N) y se eluyeron con acetonitrilo para proporcionar la sal HCl (510 mg, 0.96 mmol, 35%). ¹H-RMN (espectrómetro 300 MHz, los desplazamientos químicos en ppm con TMS como referencia interna en 0 ppm) δ 1.6-1.8 (m, 1H), 2.1-2.25 (m, 1H), 2.3-2.65 (m, 3H), 2.8-3.0 (m, 7H), 3.4-3.5 (m, 2H), 3.89 (s, 3H), 7.7 (d, J = 7.4 Hz, 2H), 9.1 (s, 1H). MS (electro-aspersión) calculado para C₂₆H₂₅N₃O₇ 494.50, encontrado (M+1) 495.20. Los compuestos CI, CK, y ES, se prepararon de esta manera.

Amida del ácido (4aS,5aR,12aS)-7-dimetilamino-3,10,12,12a-tetrahidroxi-9-(3-isopropil-[1,2,4]oxadiazol-5-il)-1,11-dioxo-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-octahidro-naftaceno-2-carboxílico (Compuesto FM)



A un matraz de 500 mL, se le adicionó (4.00 g, 8.60 mmol) de 4-dedimetilamina-9-yodo minociclina de base libre (véase la síntesis del compuesto CC), NMP (50 mL), N-hidroxisuccinimida (3.9 g, 38 mmol). Al matraz de reacción se le adicionó una barra de agitación, tetrakis (trifenilfosfina) paladio (O) (2.00 g, 1.67 mmol) y DIEA (3.0 mL, 1.7 mmol). El matraz se colocó bajo vacío (20 mm de Hg) y se purgó 3 veces con monóxido de carbono. A continuación, el matraz se calentó a 60 °C, bajo 1.0 atm de monóxido de carbono y se agitó durante 1 hora, hasta que se consumió la 4-dedimetilamina-9-yodo minociclina y se formó un pico para el correspondiente intermedio 9-NHS-éster 4-dedimetilamino minociclina [(M + 1) de 556 M/Z] como se observó por LCMS. A continuación, el intermedio NHS-éster se hizo reaccionar con N'-hidroxi-2-metilpropanimidamida (2.0 g, 19.6 mmol) a temperatura ambiente durante 2 horas para proporcionar el intermedio no ciclado [(M+1) de 543 M/Z] según lo determinado por LCMS. El intermedio no ciclado se aisló mediante la adición a 50 mL de acetonitrilo seguido por dilución de la mezcla de reacción con agua hasta un volumen total de 2.0 L. Posteriormente, el agua se ajustó a un pH de 2, utilizando ácido trifluoroacético. A continuación, la solución acuosa se filtró y se cargó sobre un tapón de resina de divinilbenceno y se purificó (10-60% de MeCN, 0.1% de TFA) para proporcionar 1 g de intermedio no ciclado en bruto. Al intermedio no ciclado (2.0 g, 3.7 mmol) en un matraz de 500 mL de fondo redondo se le adicionaron NMP (80 mL) y tolueno (80 mL). Para evitar la hidrólisis durante la posterior etapa de ciclación, el agua residual se eliminó a partir del intermedio no ciclado sometándolo a evaporador rotatorio (5 mm de Hg, 45 °C) hasta que se evaporó todo el tolueno/agua. A continuación, el matraz se rellenó con argón y diisopropilamina (2 mL, 1,13 mmol). Para facilitar la ciclación los contenidos se calentaron a 125 °C, durante 8 minutos a través de la irradiación de microondas. A continuación, la reacción se adicionó a acetonitrilo, se diluyó con agua hasta un volumen final de dos litros y se adicionó ácido trifluoroacético a un pH final de 2. A continuación, la solución se filtró a través de Celita para eliminar el catalizador, se cargó en una columna de fase reversa y el producto en bruto se purificó por HPLC (C18, un gradiente lineal 30-40% de acetonitrilo en agua con 0.1% de TFA). Las fracciones que contenían el producto final se cargaron en un tapón de DVB, se lavaron con HCl acuoso (1.0 L, 0.01 N) y se eluyeron con metanol para proporcionar la sal de HCl de 9-(3-isopropil-1,2,4-oxadiazol)-4-dedimetilamino minociclina (280 mg, 0,53 mmol, 12%). ¹H-RMN (300 MHz, los desplazamientos químicos en ppm con TMS como referencia interna en 0 ppm) δ 1.47 (d, J = 7.5 Hz, 6H), 1.55-1.75 (m, 1H), 2.0-2.2 (m, 1H), 2.15-2.6 (m, 3H), 2.6-2.9 (m, 7H), 3.05-3.19 (m, 1H), 3.20-3.45 (m, 3H), 8.00 (s, 1H). ESI-MS (electro-aspersión) calculado para C₂₆H₂₈N₄O₈ 524.54, encontrado (M+1), 525.25. El compuesto FN también se sintetizó de una manera similar.

Ejemplo de Referencia 2. Actividad Antibacteriana

Las actividades antibacterianas gram (+) y gram (-) de los compuestos de tetraciclina utilizados en los métodos de la invención se pueden evaluar de acuerdo con el siguiente método.

Los valores de concentración inhibidora mínima (MIC) antibacteriana gram (-) y gram (+) ($\mu\text{g/mL}$) fueron obtenidos utilizando la metodología CLSI para la prueba de susceptibilidad antibacteriana. En cada día de la prueba, se prepararon diluciones en serie de los compuestos en placas de microdilución utilizando una estación de trabajo robótica Tecan. Los cultivos en caldo Mueller Hinton de cepas gram negativas sensibles y resistentes representativas se cultivan o ajustan para que coincidan con la turbidez de un estándar McFarland 0.5. Se preparan las diluciones en serie 1:200 diluciones en un caldo apropiado (caldo de Mueller Hinton suplementado con cationes) para permitir un inóculo final de 1×10^5 cfu. Las placas se incubaron a 35°C en aire ambiental durante 18-24 horas, se leyeron espectrofotométricamente y se controlaron manualmente en busca de la evidencia de crecimiento bacteriano. La dilución más baja del compuesto que inhibió el crecimiento se registró como la MIC. Se utilizó sangre de caballo lisada para suplementar el caldo para la prueba de *S. pneumoniae*. La MIC para cada compuesto se evaluó contra *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *P. acnes*, *E. coli* y *B. theta*. Los resultados de minociclina y doxiciclina se muestran en la Tabla 3. La buena actividad antibacteriana (por ejemplo, menos de aproximadamente $4 \mu\text{g/mL}$) se indica mediante "****", modesta actividad antibacteriana (entre aproximadamente 4 y $8 \mu\text{g/mL}$) se indica por "***", o débil o ninguna actividad antibacteriana (mayor de aproximadamente $8 \mu\text{g/mL}$) se indica por "**". El símbolo "-" indica que no se obtuvo ningún dato.

Tabla 3

Código compuesto	<i>S. aureus</i> RN450	<i>S. pneumoniae</i> 157E – Strep	<i>P. acnes</i> ATCC 6919	<i>P. acnes</i> ATCC 11827	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>E. coli</i> MG 1655	<i>B. theta</i> taomicron ATCC 29741
Doxiciclina	***	***	***	***	***	***	**
Minociclina	***	***	***	***	***	***	**

Ejemplo de Referencia 3: Perfil de Toxicidad

La citotoxicidad de los compuestos de tetraciclina utilizados en los métodos de la invención se puede evaluar de acuerdo con el siguiente método.

Se evaluó la citotoxicidad de las células de mamífero para evaluar los riesgos potenciales *in vivo* asociados con los compuestos de tetraciclina de la invención. Para evaluar el efecto del compuesto de tetraciclina sobre el metabolismo celular, se utilizó un tinte redox no tóxico, soluble ("Resazurin"; Alamar Blue). En el inicio del experimento, los cultivos de células de mamífero COS-1 o CHO se lavaron, tripsinizaron, y recogieron. Las suspensiones celulares se prepararon, se sembraron en placas de microtitulación de paredes negras de 96 pozos, y se incubaron durante la noche a 37°C , en CO_2 al 5% y aproximadamente 95% de humedad. Al día siguiente, se prepararon diluciones en serie del fármaco de prueba bajo condiciones estériles y se transfirieron a las placas celulares. A continuación, las placas se incubaron bajo las condiciones anteriores, durante 24 horas. Después del periodo de incubación, el medio/fármaco se aspiró, y se le adicionaron $50 \mu\text{L}$ de resazurina. Las placas luego se incubaron bajo las condiciones anteriores, durante 2 horas y luego en la oscuridad a temperatura ambiente por otros 30 minutos. Las mediciones de fluorescencia se tomaron (excitación 535 nm , emisión 590 nm) y efectos tóxicos en células tratadas versus control se compararon basándose en el grado de fluorescencia en cada pozo. Los resultados para minociclina y doxiciclina se muestran en la Tabla 4. Los compuestos que muestran citotoxicidad a concentraciones de menos de aproximadamente $35 \mu\text{g/mL}$ se indican mediante "****," compuestos que muestran citotoxicidad a concentraciones comprendidas entre aproximadamente 35 y $75 \mu\text{g/mL}$ se indican mediante "***", y los compuestos que muestran una mínima o ninguna citotoxicidad se indican con "*" (por ejemplo, a concentraciones mayores que aproximadamente $75 \mu\text{g/mL}$).

Tabla 4

Compuesto	COS-1 Citotoxicidad IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	CHO Citotoxicidad IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Minociclina	*	*
Doxiciclina	*	*

Ejemplo de Referencia 4: Potencial fototóxico

El potencial fototóxico de los compuestos de tetraciclina utilizados en los métodos de la invención puede ser evaluado de acuerdo con el siguiente método. En particular, se recogieron las células de fibroblasto 3T3 y se colocaron en placas a una concentración de 1×10^5 células/mL y las placas se incubaron durante la noche a 37°C, en CO² al 5% y aproximadamente 95% de humedad. Al día siguiente el medio se retiró de las placas y se reemplazó con Solución salina Equilibrada de Hanks (HBSS). Se hicieron diluciones del fármaco en HBSS y se adicionaron a las placas. Para cada compuesto evaluado, se preparó un duplicado de la placa que no se expuso a la luz como un control para la toxicidad del compuesto. Las placas luego se incubaron en un cajón oscuro (para los controles), o bajo la luz UV (lectura de medidores de 1.6-1.8 mW/cm²), durante 50 minutos. Las células luego se lavaron con HBSS, se le adicionó medio fresco, y las placas se incubaron durante la noche como se describe anteriormente. Al siguiente día se le adicionó rojo neutro como un indicador de la viabilidad celular. Las placas luego se incubaron, durante unas 3 horas más. Las células luego se lavaron con HBSS y se transfirieron sobre un papel absorbente para eliminar el exceso de líquido. Se adicionó una solución de EtOH al 50%, ácido acético glacial al 10% y después 20 minutos de incubación, y se leyó la absorbancia de las placas a 535 nm utilizando un espectrofotómetro Wallace Victor 5. La fototoxicidad reflejó la diferencia entre los cultivos tratados con luz y control. Los resultados para el derivado de la tetraciclina COL-3, como la doxiciclina y la minociclina también se muestran en la Tabla 5 para la comparación. Los compuestos que muestran fototoxicidad se indican mediante "*****" (por ejemplo, menos de 5 µg/mL), los compuestos que muestran fototoxicidad moderada se indican mediante "****" (por ejemplo, más de aproximadamente 5 µg/mL y menos de aproximadamente 25 µg/mL), los compuestos que muestran alguna fototoxicidad se indican mediante "***" (por ejemplo, más de aproximadamente 25 µg/mL y menos de aproximadamente 75 µg/mL) y los compuestos que muestran una mínima o ninguna fototoxicidad se indican mediante "*" (por ejemplo, más de aproximadamente 75 µg/mL).

Tabla 5

Código Compuesto	Dark Tox50 (µM)	UV Tox50 (µM)
Minociclina	*	*
Doxiciclina	*	***
COL-3	**	****

Ejemplo de referencia 5. Determinación de la vida media de la Oxidación

La vida media de minociclina y un compuesto de tetraciclina de la invención se evaluaron bajo condiciones oxidativas, como se describe en Nilges, *et al.* (Nilges M, Enochs W, Swartz H. J. Org. Chem. 1991, 56, 5623-30). Sin estar limitado por la teoría, se cree que la tinción de tejidos puede ser causada por la inestabilidad oxidativa. Los compuestos de tetraciclina se sometieron a oxidación acelerada en un microrreactor de flujo continuo utilizando un exceso de peryodato de sodio 15 molar a pH 11 y 22 °C. Alícuotas de cada mezcla de reacción se apagaron en diversos momentos con ácido ascórbico y la desaparición de cada compuesto se determinó por RP-HPLC. Las constantes de velocidad de primer orden y los valores t_{1/2} fueron obtenidos a partir de los registros de log (Ao-At/Ao) contra el tiempo, donde Ao es el área de HPLC determinada para cada compuesto en el tiempo = 0 y At es el área de HPLC en el tiempo = t. Los resultados indicaron que la minociclina tuvo una vida media para la oxidación de 8.2 segundos.

Ejemplo de Referencia 6: La actividad antibacteriana in vivo con modelo S. aureus

La actividad antibacteriana in vivo de los compuestos de tetraciclina utilizados en los métodos de la invención se puede evaluar de acuerdo con el siguiente método.

Grupos de cinco ratones fueron inyectados por vía intraperitoneal con una dosis letal de *S. aureus* RN450 en un medio de mucina. Los ratones se evaluaron a las 24 horas para determinar la supervivencia. Los animales no tratados experimentaron un 100% de mortalidad. El tratamiento por vía subcutánea con una dosis única de minociclina, doxiciclina o el compuesto de prueba resultó en un 100% de supervivencia. En algunos casos, se llevó a cabo un estudio dosis respuesta con el compuesto, de tal manera que se podría calcular una PD₅₀ (una dosis del compuesto que protege el 50% de los animales). Los resultados se muestran en la Tabla 6. Los resultados para minociclina y doxiciclina se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6

Compuesto	Dosis (mg/kg)	Porcentaje de supervivencia	PD ₅₀ (mg/kg)
No tratados	-	0(0/5)	--
Minociclina	5	100 (5/5)	0.72
Doxociclina	5	100 (5/5)	0.13

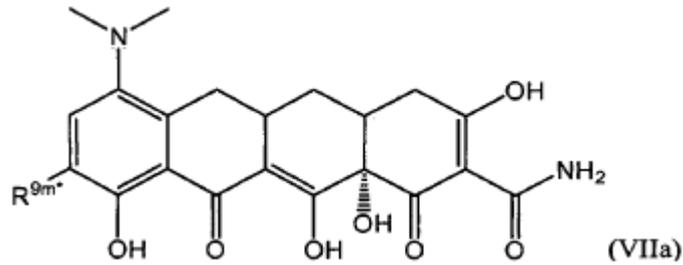
Ejemplo de Referencia 7: Actividad antiinflamatoria *in vivo* con modelo inflamatorio de edema de la pata inducido por carragenina en ratas

- 5 Para evaluar el potencial anti-inflamatorio de los compuestos de tetraciclina utilizados en los métodos de la invención, los compuestos de tetraciclina se evaluaron en un modelo de inflamatorio de edema de pata inducido por la carragenina en ratas. El modelo utilizó una inyección sub-plantar de carragenina en la rata para inducir una respuesta inflamatoria. El compuesto de prueba o la solución salina (control) se administró IP 30 minutos antes de una inyección de carragenina subplantar (1.5 mg/0.1 mL). Se midió el volumen de la pata (mm²) antes de la inyección subplantar y de nuevo 3 horas después de la inyección de carragenina utilizando un pletismómetro.
- 10

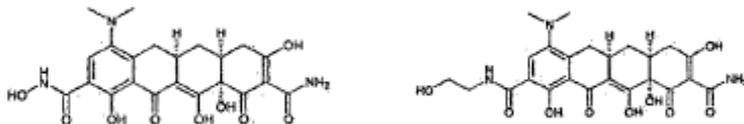
Las diferencias significativas según lo determinado por un Kruskal-Wallis One Way ANOVA se observan entre la inflamación de los controles no tratados contra los animales tratados ($p = 0.5$).

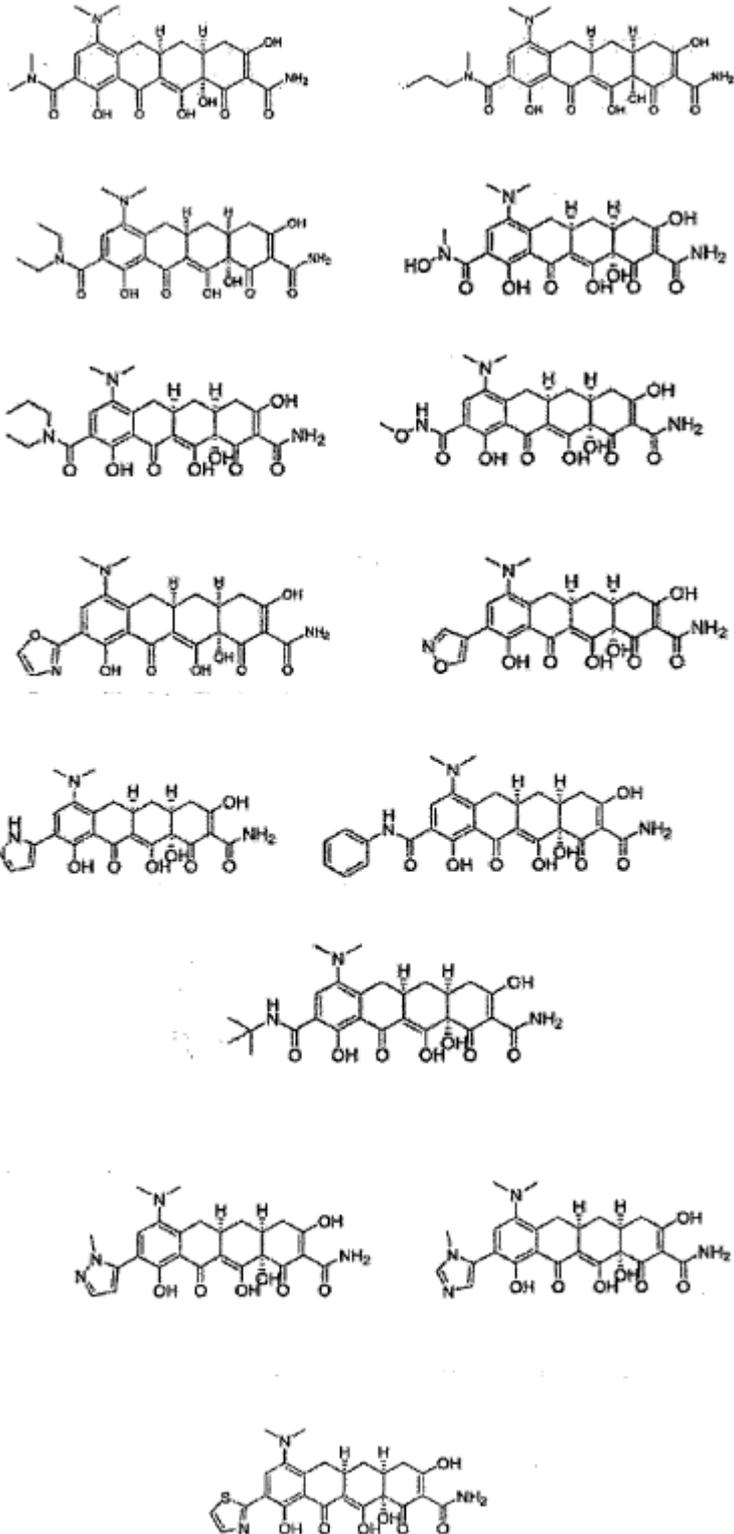
REIVINDICACIONES

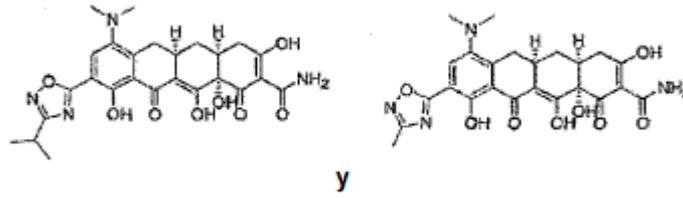
1. Un compuesto de tetraciclina sustituida de fórmula (VIIa):



- 5 En donde R^{9m+} es oxazolilo no sustituido o sustituido, oxadiazolilo no sustituido o sustituido, isoxazolilo no sustituido o sustituido, pirazolilo no sustituido o sustituido, tiazolilo no sustituido o sustituido, metilimidazolilo, o $-\text{CONR}^{9ma}\text{R}^{9mb}$; y R^{9ma} es hidrógeno y R^{9mb} es hidroxilo, alquilo, hidroxialquilo, arilo o alcoxi; o R^{9ma} es alquilo y R^{9mb} es alquilo o hidroxilo; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
2. El compuesto de la reivindicación 1, en donde R^{9m+} es oxazolilo no sustituido o sustituido.
3. El compuesto de la reivindicación 1, en donde R^{9m+} es oxadiazolilo no sustituido o sustituido.
- 10 4. El compuesto de la reivindicación 1, en donde R^{9m+} es isoxazolilo no sustituido o sustituido.
5. El compuesto de la reivindicación 1, en donde R^{9m+} es pirazolilo no sustituido o sustituido.
6. El compuesto de la reivindicación 1, en donde R^{9m+} es tiazolilo no sustituido o sustituido.
7. El compuesto de la reivindicación 1, en donde R^{9m+} es metilimidazolilo.
8. El compuesto de la reivindicación 1, en donde R^{9m+} es $-\text{CONR}^{9ma}\text{R}^{9mb}$, en el cual R^{9ma} es hidrógeno y R^{9mb} es hidroxilo, hidroxialquilo, alcoxi, fenilo, o alquilo.
- 15 9. El compuesto de la reivindicación 1, en donde R^{9m+} es $-\text{CONR}^{9ma}\text{R}^{9mb}$, en el cual R^{9ma} es alquilo y R^{9mb} es alquilo o hidroxilo.
10. El compuesto de la reivindicación 1, en donde dicho compuesto se selecciona entre el grupo que consiste de:

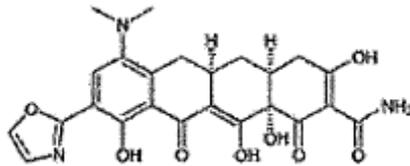






o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

11. El compuesto de la reivindicación 1, en donde dicho compuesto es:



5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

12. Un compuesto de tetraciclina sustituida de acuerdo con cualquier reivindicación precedente para uso en un método para tratar un estado sensible a la tetraciclina en un sujeto, opcionalmente en donde el estado sensible a la tetraciclina es una infección bacteriana, una infección viral, una infección parasitaria, la malaria, un proceso inflamatorio, el acné, la rosácea, o la esclerosis múltiple.

10 13. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de tetraciclina, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-11 y un portador farmacéuticamente aceptable.