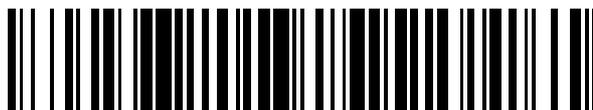


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 560 080**

51 Int. Cl.:

C07D 405/12 (2006.01)

C07D 323/02 (2006.01)

C07D 417/06 (2006.01)

C07D 405/06 (2006.01)

A61P 33/06 (2006.01)

A61K 31/357 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.08.2004 E 04254821 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.10.2015 EP 1514871**

54 Título: **Diespiro 1,2,4-trioxolanos como agentes antimalaria**

30 Prioridad:

18.08.2003 US 642721

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

17.02.2016

73 Titular/es:

**MMV MEDICINES FOR MALARIA VENTURE
(100.0%)
20 route de Pré-Bois, ICC
1215 Geneva, CH**

72 Inventor/es:

**VENNERSTROM, JONATHAN L.;
TANG, YUANQUING;
DONG, YUXIANG;
MATILE, HUGHES;
CHARMAN, WILLIAM N.;
CHOLLET, JAQUES;
PADMANILAYAM, MANIYAN;
YATENDRA, KUMAR y
GYAN, CHAND YADAV**

74 Agente/Representante:

LÓPEZ CAMBA, María Emilia

ES 2 560 080 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

5 Diespiro 1,2,4 - trioxolanos como agentes antimalaria.

CAMPO DE LA INVENCION

10 Esta invención se refiere a composiciones y métodos para el tratamiento de la malaria. Específicamente, esta invención se refiere a composiciones farmacéuticas que incluyen espiro- y diespiro- trioxolanos, y métodos para su uso y elaboración.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

15 La malaria es una enfermedad infecciosa aguda y a menudo crónica que resulta de la presencia de parásitos protozoarios en los glóbulos rojos de la sangre. Causada por parásitos mono-celulares del género *Plasmodium*, la malaria se transmite de una persona a otra por la picadura de mosquitos hembras.

20 Aunque en el pasado estuvo extendida en Norteamérica y otras zonas templadas del mundo, la malaria se produce hoy principalmente en países tropicales y subtropicales. Cada año, entre 400 millones y 600 millones de personas contraen la enfermedad, y de 1,5 millones a 2,7 millones mueren de esta enfermedad.

25 Cuatro especies de protozoos *Plasmodium* son generalmente responsables de la malaria, que incluyen *Plasmodium vivax*, *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae* y *Plasmodium ovale*. De los cuatro, el *Plasmodium falciparum* es el más peligroso, suponiendo la mitad de todos los casos clínicos de malaria y un 90% de las muertes por esta enfermedad.

30 La transmisión de la malaria comienza cuando un mosquito hembra pica a un ser humano ya infectado con el parásito de la malaria. Cuando el mosquito infectado pica a otro ser humano, los esporozoitos en la saliva del mosquito se transfieren a la sangre, y seguidamente se desplazan hasta el hígado. En el hígado, los esporozoitos se dividen rápidamente, y seguidamente entran en la corriente sanguínea en donde que invaden los glóbulos rojos. Dentro de estos glóbulos rojos, los merozoitos se multiplican rápidamente hasta que provocan que los glóbulos rojos estallen, liberando en la corriente sanguínea una nueva generación de merozoitos que infectan seguidamente otros glóbulos rojos.

35 Los síntomas asociados con la malaria están generalmente asociados con el estallido de los glóbulos rojos. La destrucción de los glóbulos rojos expulsa residuos, toxinas y otros desechos en la sangre. Esto provoca a su vez una intensa fiebre que puede dejar al individuo infectado exhausto y obligado a permanecer en la cama. Más síntomas graves asociados con infecciones repetidas y/o infección por *Plasmodium falciparum* incluyen anemia, cefaleas graves, convulsiones, delirio y, en algunos casos, la muerte.

40 El tratamiento de la malaria ha sido especialmente difícil debido a la capacidad de la malaria para desarrollar resistencia a los fármacos. La quinina, un compuesto antimalaria que se extrae de la corteza de quina de Sudamérica, es uno de los productos farmacéuticos más antiguos y eficaces que existen. El aspecto negativo de la quinina es que es de corta actuación y no consigue prevenir las recaídas de la enfermedad. Además, la quinina está asociada con efectos secundarios que varían desde mareos hasta sordera.

50 La cloroquina es un producto químico sintético análogo a la quinina. Se convirtió en el fármaco de elección contra la malaria cuando fue desarrollado en la década de 1940 debido a su eficacia, facilidad de elaboración y ausencia general de efectos secundarios. Sin embargo, en las últimas décadas, los parásitos de la malaria en muchas zonas del mundo se han hecho resistentes a la cloroquina.

55 La mefloquina es otro análogo sintético de la quinina que se ha usado en el tratamiento de la malaria. Sin embargo, los parásitos de la malaria han desarrollado también resistencia a la mefloquina. La mefloquina está asociada también a efectos secundarios indeseables sobre el sistema nervioso central en algunos pacientes, tales como alucinaciones y pesadillas intensas.

60 Los fármacos de antifolato son eficaces contra los parásitos de malaria, ya que inhiben su reproducción. Aunque los parásitos han desarrollado también una resistencia a los fármacos de antifolato, los fármacos pueden usarse eficazmente en combinación con otros tipos de productos antimalaria. Sin embargo, el uso de terapias combinadas en el tratamiento de la malaria tiene la desventaja de que es un método inapropiado y caro.

65 Los desarrollos más recientes en el tratamiento de la malaria han incluido el uso del grupo funcional peróxido, como se ilustra mediante el fármaco artemisinina, que contiene un farmacóforo heterocíclico único de 1,2,4-trioxano. La acción antimalaria de la artemisinina se debe a su reacción con el hierro en las hemomoléculas libres en el parásito de la malaria, con la generación de radicales libres que conducen a la destrucción celular.

El descubrimiento de la artemisinina (qinghaosu), una endoperóxido-sesquiterpeno-lactona que se produce de forma natural (Meshnick et al., 1996; Vroman et al., 1999; Dhingra et al., 2000) inició un esfuerzo sustancial para dilucidar su mecanismo molecular (Jeffrod, 1997; Cumming et al., 1997) e identificar nuevos peróxidos antimalaria (Dong y Vennerstrom, 2001). Se han preparado muchos 1,2,4-trioxanos, 1,2,4,5-tetraoxanos sintéticos y otros endoperóxidos.

Aunque los derivados de artemisinina semisintéticos clínicamente útiles son fármacos antimalaria de acción rápida y potentes, tienen varias desventajas, tales como recrudescencia, neurotoxicidad (Wesche et al., 1994) e inestabilidad metabólica (White, 1994). Un número considerable de estos compuestos son bastante activos *in vitro*, pero la mayoría poseen una baja actividad por vía oral (White, 1994; van Agtmael et al., 1999). Aunque desde entonces se han preparado muchos 1,2,4-trioxanos antimalaria sintéticos (Cumming et al., 1996; Jeffrod, 1997), existe una necesidad en la técnica de identificar nuevos agentes antimalaria de peróxidos, en particular los que se puedan sintetizar fácilmente, estén desprovistos de neurotoxicidad y posean propiedades farmacocinéticas mejoradas, por ejemplo, estabilidad mejorada, absorción oral, etc.

Consecuentemente, es un objetivo principal de la presente invención proporcionar composiciones para la profilaxis y el tratamiento de la malaria usando espiro- y diespiro-1,2,4-trioxolanos.

Un objetivo adicional de la presente invención es el de proporcionar una composición y un método para la profilaxis y el tratamiento de la malaria usando espiro- y diespiro-1,2,4-trioxolanos que sean no tóxicos.

Un objetivo adicional de la presente invención es el de proporcionar una composición y un método para la profilaxis y el tratamiento de la malaria usando espiro- y diespiro-1,2,4-trioxolanos que sean metabólicamente estables y activos por vía oral.

Otro objetivo adicional de la presente invención es el de proporcionar una composición para la profilaxis y el tratamiento económico de la malaria usando espiro- y diespiro-1,2,4-trioxolanos que no impliquen un tratamiento de más de tres días.

Un objetivo adicional de la presente invención es el de proporcionar composiciones y métodos para la profilaxis y el tratamiento de la malaria usando espiro- y diespiro-1,2,4-trioxolanos que puedan ser usados como medicamentos aislados o en combinación con otros agentes.

Otro objetivo adicional de la presente invención es el de proporcionar nuevos intermedios para sintetizar composiciones para la profilaxis y el tratamiento de la malaria.

El método y los medios para cumplir con cada uno de los objetivos anteriores y otros más serán evidentes a partir de la descripción detallada de la invención que sigue a continuación.

SUMARIO DE LA INVENCION

La invención describe un método y una composición para tratar la malaria con espiro- y diespiro-1,2,4-trioxolanos, sus profármacos y análogos. Los trioxolanos de esta invención tienen un impedimento estérico en un lado del heterociclo de trioxolano con el fin de proporcionar estabilidad química y metabólica al anillo de trioxolano para una mejor actividad *in vivo*. En una de las realizaciones, los espiro- y diespiro-trioxolanos tienen un impedimento estérico con un grupo espiro-cicloalquilo de C₅-C₁₂ sin sustituir o mono-, di- o poli-sustituido, que podría ser espiroadamantano. En esta realización, los espiro- y diespirotrioxolanos pueden incluir también un espirociclohexilo que está funcionalizado o sustituido en la posición 4 o un anillo de espiropiperidilo que está funcionalizado o sustituido en el átomo de nitrógeno. En otra realización, los trioxolanos de esta invención incluyen un grupo alquilo en puente en la posición 4 del anillo espirociclohexilo que conecta un sustituyente que es preferiblemente una base débil. La invención abarca aquirales, diastereómeros aquirales, mezclas racémicas, así como formas enantiómeras de los compuestos.

Los trioxolanos de esta invención poseen una excelente potencia y eficacia contra parásitos *Plasmodium*, y un bajo grado de neurotoxicidad. Además, muchos de los trioxolanos se pueden administrar tanto por vía oral como no oral. Es más, en comparación con los derivados semisintéticos de artemisinina, los compuestos de esta invención son estructuralmente sencillos, fáciles y económicos para sintetizar y pueden usarse eficazmente solos o conjuntamente con otros productos antimalaria.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA REALIZACIÓN PREFERIDA

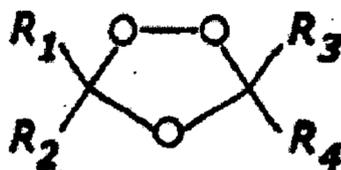
La presente invención se refiere al desarrollo de espiro- y diespiro-1,2,4-trioxolanos para su uso en la profilaxis y el tratamiento de la malaria. La presente invención está basada en el descubrimiento inesperado de que los trioxolanos que tienen un impedimento estérico relativo en al menos un lado del heterociclo de trioxolano proporcionan una estabilidad metabólica y química al anillo de trioxolano, proporcionando así una

mejor actividad *in vivo*, especialmente con respecto a una administración oral.

Análogamente, la expresión "cantidad eficaz de tratamiento" se refiere a una concentración de compuesto que es eficaz para tratar la malaria en términos de prevenir un aumento de la concentración de parásitos de malaria, disminuir la concentración de parásitos de malaria y/o "curar" una infección de malaria, es decir, la supervivencia durante 30 días después de la infección.

Los trioxolanos tetrasustituídos son compuestos peroxídicos relativamente estables basados en la bibliografía precedente (Griesbaum et al., 1997a; 1997b). Esto puede deberse, en parte, a la ausencia de átomos de hidrógeno α . Los presentes inventores han sintetizado nuevos compuestos de la clase de los trioxolanos que tienen una potencia antimalaria y una eficacia por vía oral superiores. Además, los compuestos de esta invención tienen una baja toxicidad, y semividas conductoras al tratamiento de la malaria que se cree que permitirán regímenes de tratamiento a corto plazo que se comparan favorablemente con otros fármacos de tipo artemisinina. Estos compuestos pueden usarse también en la profilaxis de la malaria.

En la aplicación previa, los presentes inventores divulgaron determinados trioxolanos tetrasustituídos nuevos, cuya fórmula estructural es la siguiente:



en la que R₁, R₂, R₃ y R₄ representan combinaciones de sistemas de anillos, sistemas acíclicos y grupos funcionales que proporcionan un suficiente impedimento estérico alrededor del anillo de trioxolano con el fin de proporcionar la estabilidad química y metabólica del anillo. R₁, R₂, R₃ y R₄ pueden ser iguales o diferentes, y pueden ser un grupo alquilo, arilo o alcarilo lineal o ramificado que esté opcionalmente sustituido. De forma alternativa, R₁ y R₂ tomados conjuntamente y/o R₃ y R₄ tomados conjuntamente pueden formar un grupo alicíclico que esté opcionalmente interrumpido con uno o más átomos de oxígeno, azufre o nitrógeno, y cuyo grupo esté opcionalmente sustituido. En ningún caso, R₁, R₂, R₃ ni R₄ pueden ser hidrógeno.

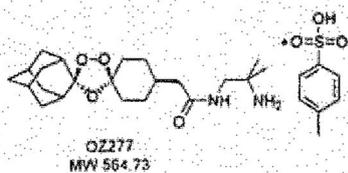
En una realización, los compuestos incluyen aquellos por los que R₁ y R₂ tomados conjuntamente y/o R₃ y R₄ tomados conjuntamente son un grupo espirocicloalquilo de C₅-C₁₂ que está opcionalmente interrumpido con uno o más átomos de oxígeno, azufre o nitrógeno, y grupo que está opcionalmente sustituido. En otra realización, R₁ y R₂ tomados conjuntamente o R₃ y R₄ son espiroadamantano.

Estos trioxolanos tienen una IC₅₀ entre 1 y 5 ng/ml contra *P. falciparum in vitro*, y presumiblemente poseen buenos índices terapéuticos, ya que no hay evidencia de toxicidad para ningún compuesto en una línea celular de neuroblastoma o a dosis únicas de 640 mg/kg en ratones en el ensayo de Rane. Estos resultados contrastan con los datos publicados (de Almeida Barbosa et al., 1992; 1996) que describen la débil potencia antimalaria *in vitro* de numerosos trioxolanos tricíclicos, el mejor de los cuales tiene una IC₅₀ de 2000 ng/ml contra *P. falciparum in vitro*.

Una característica destacada de estos trioxolanos en comparación con los derivados semisintéticos de artemisinina es su simplicidad estructural. Una ventaja potencial de los trioxolanos sobre los trioxanos (Jafford, 1997; Cumming et al., 1997) y los tetraoxanos (Vennerstrom et al., 2000) es un acceso más conveniente a compuestos estructuralmente diversos, no simétricos y, en muchos casos, aquirales.

A continuación se muestran varios diespiro-1,2,4-trioxolanos sintetizados de acuerdo con las exposiciones de esta invención. "OZ" es una denominación interna para estos compuestos que se usará en todo el resto de la solicitud por motivos de conveniencia. Las estructuras de OZ01-OZ270 se han divulgado en las solicitudes anteriores con Núm. de serie estadounidense 09/886,666 (patente estadounidense Núm. 6,486,199) y PCT/02/19767, y por ello no se repetirán en este documento.

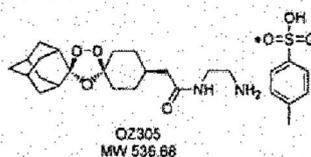
El documento WO 03/0003676 se refiere a los 1,2,4-trioxolanos como agentes antimalaria (OZ1 a OZ 09); el documento US 2004/039008 también se refiere al agente antimalaria de los espiro- o diespiro-1,2,4-trioxolanos. Según un aspecto concreto, se proporciona un espiro- o diespiro-1,2,4-trioxolano, en donde el espiro- o diespiro-1,2,4-trioxolano se selecciona a partir del grupo formado por: (OZ277), (OZ305), (OZ315), (OZ338), (OZ339), *cis*-adamantano-2-espiro-3'-8'-[[[(2'-amino-2'-metil propil) amino] carbonil] metil]-1',2',4'-trioxaspiro [4.5] decano y sales biológicamente activas del mismo. Según un aspecto concreto, el espiro- o diespiro-1,2,4-trioxolano de la invención es(OZ277).



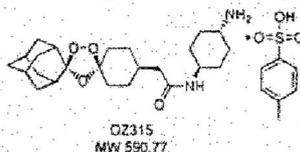
Según otro aspecto, se proporciona una composición farmacéutica para su uso en la profilaxis y el tratamiento de la malaria que se compone de: una cantidad eficaz para el tratamiento de la malaria o la profilaxis de la malaria de un *

* espiro- o diespiro-1,2,4-trioxolano e isómeros ópticos de los mismos, seleccionados a partir del grupo formado por OZ277),(OZ305), (OZ315),(OZ338),(OZ339), cis-adamantano-2-espiro-3'-8'-[[[(2'-amino-2'-metil propil) amino] carbonil] metil]-1',2', 4'-trioxaspiro [4.5] decano y las sales biológicamente activas del mismo.

Según un aspecto determinado, se proporciona una composición farmacéutica para su uso en la profilaxis y el tratamiento de la malaria en donde el trioxolano es cis-adamantano-2-espiro-3'-8'-[[[(2'-amino-2'-metil propil) amino] carbonil] metil]- 1',2',4'-trioxaspiro [4.5] decano p-tosilato.

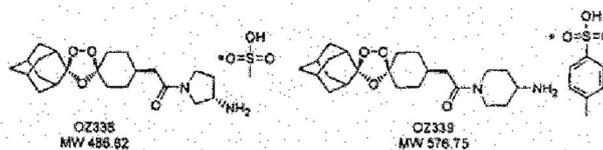


Según otro aspecto determinado, se proporciona un espiro- o diespiro-1,2,4-trioxolano según la invención en un vehículo aceptable en términos farmacéuticos para su uso en la prevención o el tratamiento de la malaria. Según otro aspecto determinado, se proporciona un espiro- o diespiro-1,2,4-trioxolano para su uso según la reivindicación 5, en donde el trioxolano es cis-adamantano-2- espiro-3'-8'-[[[(2'-amino-2'-metil propil) amino] carbonil] metil]-1',2', 4'-trioxaspiro [4.5] decano p-tosilato.



Según otro aspecto determinado, se proporciona un método de elaboración de una composición para su uso en la profilaxis y el tratamiento de la malaria que consiste en: mezclar una cantidad eficaz para el tratamiento de la malaria o profilaxis de la malaria de un espiro- o diespiro-1,2,4-trioxolano acorde a la invención y los isómeros ópticos de los mismos con un vehículo aceptable en términos farmacéuticos.

Según otro aspecto determinado, se proporciona un espiro- o diespiro-1,2,4-trioxolano acorde a la invención en un vehículo aceptable en términos farmacéuticos para su uso en el tratamiento contra el cáncer.



Según otro aspecto determinado, se proporciona un espiro- o diespiro-1,2,4-trioxolano acorde a la invención en un vehículo aceptable en términos farmacéuticos para su uso en el tratamiento contra el cáncer en donde el trioxolano es cis-adamantano-2-espiro-3'-8'-[[[(2'-amino-2'-metil propil) amino] carbonil] metil]-1',2',4'-trioxaspiro [4.5] decano p-tosilato.

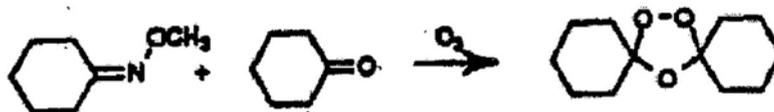
Según otro aspecto determinado, se proporciona un espiro- o diespiro-1,2,4-trioxolano en un vehículo aceptable en términos farmacéuticos acorde a la invención para su uso en la profilaxis o el tratamiento de la esquistosomiasis.

Según otro aspecto determinado, se proporciona un espiro- o diespiro-1,2,4-trioxolano en un vehículo aceptable en términos farmacéuticos acorde a la invención para su uso en la profilaxis o el tratamiento de la esquistosomiasis en donde el trioxolano es cis-adamantano-2-espiro-3'-8'-[[[(2'-amino-2'-metil propil) amino] carbonil] metil]-1',2',4'-trioxaspiro [4.5] decano p- tosilato.

Los compuestos preferidos son OZ277, OZ305, OZ315, OZ338, OZ339, entre los que OZ277 es el mejor de dichos compuestos identificados hasta el momento. En general, la mayor potencia in vitro contra parásitos de la malaria se obtiene para trioxolanos funcionalizados o sustituidos en la posición 4 del anillo espirociclohexilo. Como norma

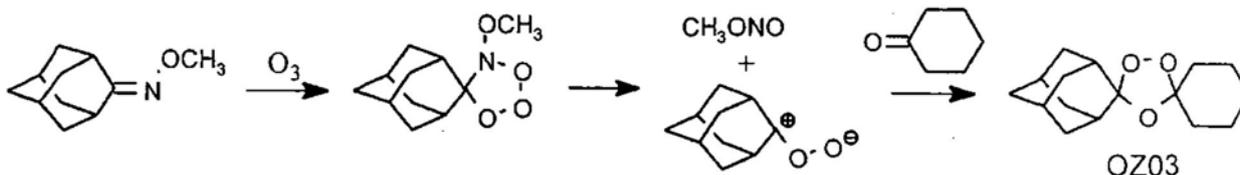
general, se prefieren los trioxolanos no simétricos y aquirales.

Las características destacadas de estos espiro- y diespiro-1,2,4-trioxolanos en comparación con los derivados semisintéticos de artemisinina son su simplicidad estructural y facilidad de síntesis. Por ejemplo, los diespiro-trioxolanos pueden sintetizarse fácilmente mediante la coozonólisis de las O-metil-oximas de cicloalcanonas en presencia de los derivados de cicloalcanona necesarios según el método de Griesbaum et al. (1997a; 1997b) como se ilustra a continuación para el diespiro-ciclohexil-trioxolano simétrico:



Si los rendimientos son bajos en esta reacción de coozonólisis, los rendimientos pueden mejorar enormemente cuando la O-metiloxima y la cetona se "invierten". Este nuevo procedimiento proporciona un método único conveniente para sintetizar espiro- y diespiro-trioxolanos. Las ventajas de la vía del éter de oxima sobre el enfoque de los alquenos son la síntesis conveniente de los materiales de partida (éteres de oxima contra alquenos tetrasustituidos), un mayor rendimiento y selectividad de formación de los trioxolanos deseados por la selección juiciosa de los sustratos pareados de reacción. Los trioxolanos pueden purificarse mediante cristalización o cromatografía de columna rápida. Sus estructuras y pureza pueden confirmarse mediante HPLC analítica, ^1H y ^{13}C NMR, IR, punto de fusión y análisis elemental.

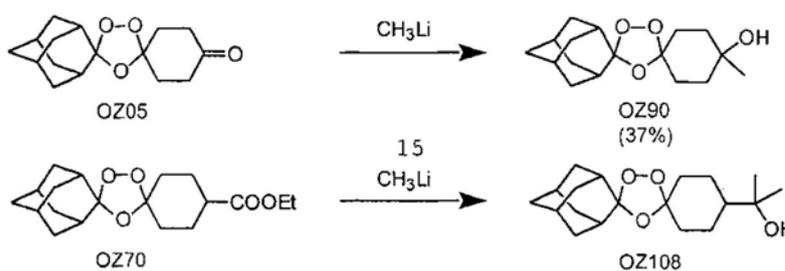
La formación de un trioxolano a partir de un éter de oxima y una cetona se supone que es un procedimiento de tres etapas. La secuencia comienza mediante la adición electrofílica de ozono al enlace doble de la oxima para formar un ozónido primario. En segundo lugar, el aducto primario muy inestable se fragmenta para dar un óxido de carbonilo reactivo accionado en parte por la expulsión concomitante del nitrilo de metilo relativamente estable. En tercer lugar, el óxido de carbonilo experimenta una cicloadición [3+2] con una cetona para proporcionar el ozónido secundario o 1,2,4-trioxolano.



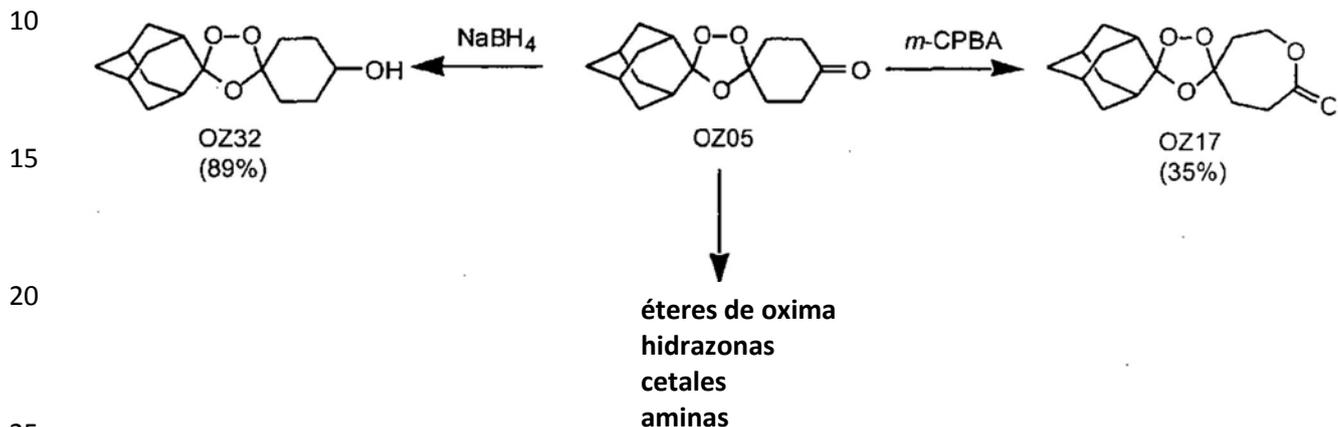
Queda por determinar si esto es un procedimiento por etapas o de recombinación concertada.

Como se ilustra con anterioridad mediante la síntesis de OZ03, la mayoría de los nuevos diespiro-trioxolanos contienen un espiroadamantano y pueden ser sintetizados mediante la coozonólisis de adamantanona-O-metil-oxima en presencia del derivado de cicloalcanona necesario. Los disolventes de reacción preferidos para las reacciones de coozonólisis son disolventes hidrocarbonados como pentano o ciclohexano; los disolventes más polares tienden a disminuir el rendimiento de la reacción. Cuando las cetonas no son fácilmente solubles en pentano o ciclohexano, puede usarse un disolvente mixto (pentano/cloruro de metileno) o cloruro de metileno solo. Existen varios factores que regulan la relación de éter de oxima respecto a cetona. En algunas reacciones, con el fin de evitar la formación de diperoxido (1,2,4,5-tetraoxano), para impedir la formación de diozónido a partir de dicetonas y para favorecer la reacción con cetonas fácilmente solubles en pentano se usa cetona en exceso (2:1). Más comúnmente en la etapa de síntesis descubierta, y especialmente en los casos en que las cetonas no son fácilmente solubles en pentano, es caro o difícil de separar en el tratamiento de la reacción, puede usarse una relación 1:1 de cetona respecto a éter de oxima. En síntesis de trioxolano a gran escala, puede usarse una cantidad de oxima-éter en exceso de 1,5 veces para conseguir conversiones superiores de cetona en los trioxolanos del producto deseado sin provocar problemas de purificación.

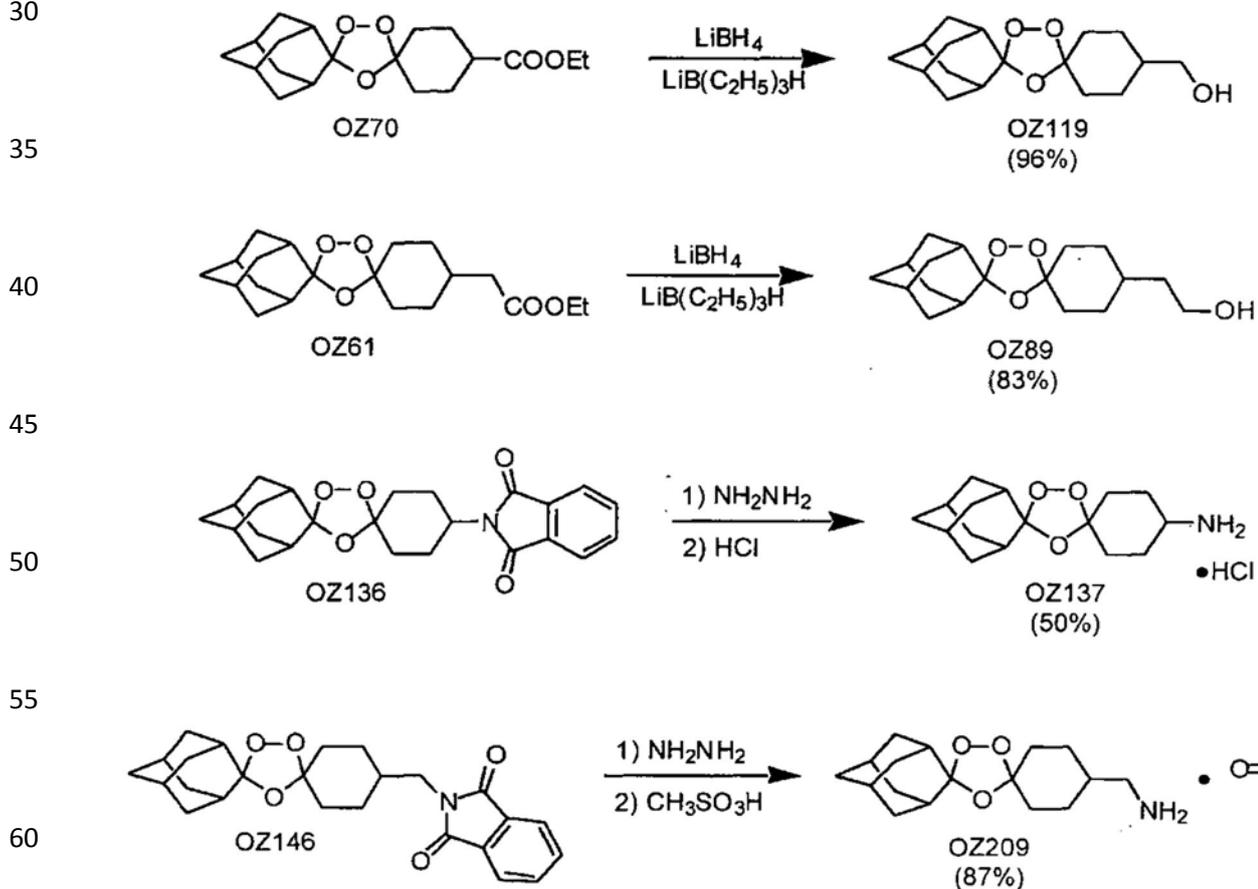
Hay varios ejemplos en los que se usaron transformaciones post-ozonólisis para obtener compuestos objetivo de trioxolanos difíciles o, en algunos casos, imposibles de obtener directamente (Kashima et al., 1987) mediante el método de coozonólisis. Los alcoholes terciarios de trioxolanos OZ90 y



OZ108 pueden obtenerse mediante tratamiento con metil-litio de trioxolano-cetona OZ05 y éster de trioxolano OZ70, respectivamente. En otras reacciones, se obtuvieron trioxolano-lactona OZ17 y alcohol de trioxolano OZ32 mediante tratamiento de OZ05 con *m*-CPBA y borohidruro de sodio, respectivamente. Además, se obtuvieron también diversos éteres de oxima, hidrazonas, cetales y aminas (aminación reductora con triacetoxiborohidruro de sodio) a partir de trioxolano-cetona OZ05 con rendimientos buenos a excelentes. En los ejemplos anteriormente indicados, es evidente que la trioxolano-cetona OZ05 es un intermedio clave ya que su grupo funcional cetona proporciona un medio conveniente para la transformación de grupos funcionales.



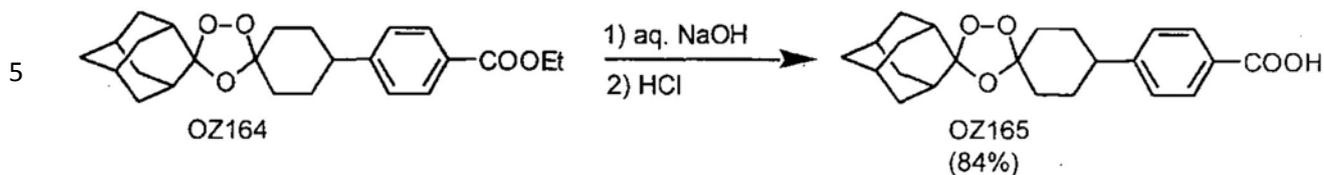
Otra prueba de la estabilidad de estos trioxolanos para reducir agentes se demuestra por la reducción de ésteres de trioxolano OZ70 y OZ61 a sus correspondientes alcoholes de trioxolanos OZ119 y OZ89 con una mezcla de borohidruro de litio y trietilborohidruro de litio, y la hidrazinólisis de las ftalimidas de trioxolanos OZ136 y



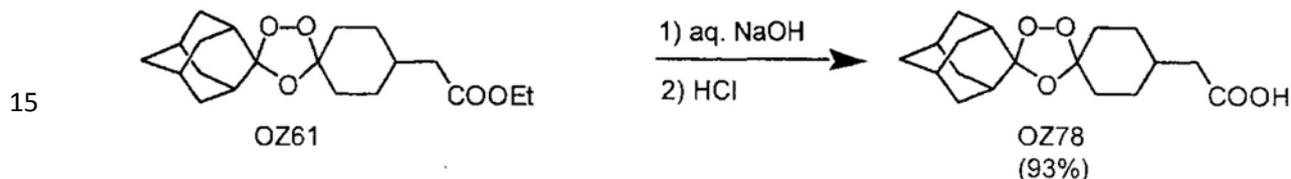
OZ146 en sus correspondientes trioxolano-aminas OZ137 y OZ209.

Como se muestra en los ejemplos siguientes, los ésteres de trioxolanos pueden ser convenientemente

convertidos en sus correspondientes ácidos de trioxolanos.



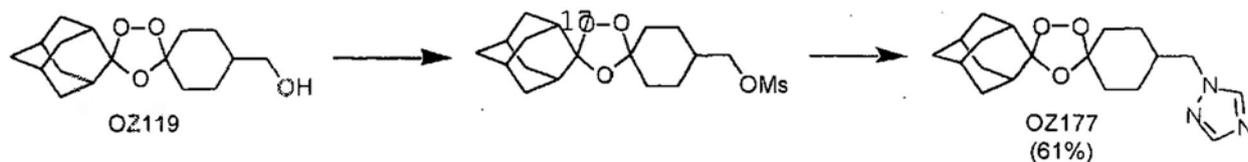
10



20

Además de la trioxolano-cetona OZ05, la trioxolano-amina OZ209 y el ácido de trioxolano OZ78, los alcoholes de trioxolano OZ119 y OZ89 y sus correspondientes mesilatos (sin OZ asignadas) son y continuarán siendo intermedios claves para las transformaciones sintéticas de post-ozonolisis. Un ejemplo reciente es la síntesis de trioxolano-triazol OZ177 en una reacción entre el derivado de mesilato de OZ119 y la sal de sodio de 1,2,4-triazol.

25



30

Se ha descubierto que el método de coozonolisis usando oxima-metil-éteres ofrece un acceso rápido, flexible y predecible a trioxolanos estructuralmente diversos. De hecho, se han preparado a gran escala diversos trioxolanos claves que han servido como bloques constructores importantes, incluidos OZ05 (100 mmol), OZ61 (100 mmol) y OZ146 (60 mmol), sin disminución de los rendimientos de reacción por encima de la escala habitual de 5-10 mmol. Además, tanto OZ61 como OZ146 pueden ser convenientemente aislados en forma de sólidos blancos mediante la adición de etanol a las mezclas de reacción en bruto.

35

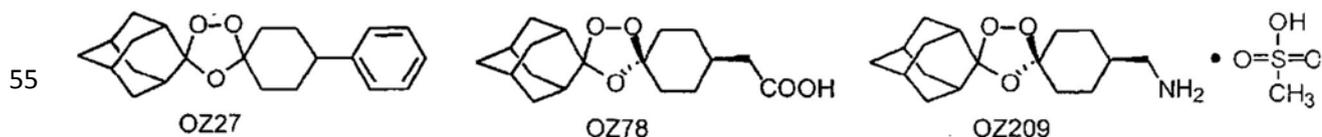
Experimentos de calorimetría de exploración diferencial (DSC) (Cammenga y Epple, 1995) ponen de manifiesto que estos compuestos tienen una buena estabilidad térmica, comparable a la artemisinina. La T_m media fue de $160 \pm 15^\circ\text{C}$ en comparación con una T_m de 181°C para la artemisinina. Se supone que la descomposición térmica de estos trioxolanos se inició mediante la formación de un di-radical 1,5 mediante escisión homolítica del enlace de peróxido del anillo de trioxolano.

40

Como la mayoría de los trioxolanos objetivo contienen el marco estructural simétrico de espiroadamantano, su estereoquímica es en gran medida una función de la estructura de la cetona del material de partida o los reactivos usados en la reacciones de post-ozonolisis. Para OZ27 y otros trioxolanos análogamente sustituidos en 1,4, son posibles dos diastereómeros aquirales. Sin embargo, como se ilustra mediante OZ27, la mayoría de estos trioxolanos fueron aislados como diastereómeros aquirales únicos en lugar de como mezclas de dos diastereómeros aquirales. Por ejemplo, en OZ27 no está presente ninguna quiralidad, ya que el anillo de trioxolano y el sustituyente de fenilo están en una relación 1,4 en un anillo de seis miembros. Estos compuestos poseen un plano de simetría.

45

50



Tal como se comprueba mediante cristalografía de rayos X, se determinó que la asignación de la estereoquímica para OZ78, OZ209 y sus derivados era *cis* cuando los átomos de oxígeno de peróxidos están en una posición axial.

60

El material de partida 2-adamantanona puede obtenerse de Aldrich Chemical Co. o de TCI American Organic Chemicals o también puede sintetizarse. Los expertos en la técnica podrán determinar fácilmente otros medios apropiados para sintetizar compuestos y materiales de partida de acuerdo con la invención.

65

Las composiciones de espiro- y diespiro-trioxolanos de la presente invención pueden usarse para la profilaxis

5 y el tratamiento de la malaria. Las composiciones de trioxolanos de la presente invención se administran junto con un vehículo aceptable en términos farmacéuticos. En general, puede usarse cualquier vehículo aceptable en términos farmacéuticos para estos fines, con la condición de que el vehículo no interfiera significativamente con la estabilidad o la biodisponibilidad de los compuestos de trioxolanos de esta invención.

10 Los trioxolanos de esta invención pueden administrarse de cualquier forma eficaz y aceptable en términos farmacéuticos en animales de sangre caliente, como seres humanos y otros sujetos animales por ejemplo por vía tópica, lavado, oral, en supositorio, por vía parenteral, o en forma de dosis por infusión, como spray tópico, bucal, sublingual o nasal o en cualquier otra forma que sirva para suministrar los agentes. La vía de administración estará diseñada preferentemente para optimizar el suministro y/o la localización de los agentes en las células objetivo.

15 Además de los compuestos activos, es decir, los trioxolanos, las composiciones farmacéuticas de esta invención pueden contener excipientes y adyuvantes adecuados que puedan facilitar el tratamiento de los compuestos activos en forma de preparaciones que puedan usarse en términos farmacéuticos. Las formas de dosificación oral abarcan comprimidos, cápsulas y gránulos. Las preparaciones que pueden administrarse por vía rectal son supositorios. Otras formas de dosificación son soluciones adecuadas para una administración por vía parenteral u oral, y composiciones que puedan ser administradas por vía bucal o sublingual.

20 Las preparaciones farmacéuticas de la presente invención se elaboran de una manera que ya es de por sí bien conocida en la técnica. Por ejemplo, las preparaciones farmacéuticas pueden prepararse mediante procedimientos de mezcladura, granulación, preparación de grageas, disolución o liofilización convencionales. El procedimiento que va a utilizarse dependerá en última instancia de las propiedades físicas del ingrediente activo usado.

25 Los excipientes adecuados son, en particular, materiales de carga como azúcares como, por ejemplo, lactosa o sacarosa, manitol o sorbitol, preparaciones de celulosa y/o fosfatos de calcio, por ejemplo, fosfato de tricalcio o hidrógeno-fosfato de calcio, así como aglutinantes como almidón, pasta, usando, por ejemplo, almidón de maíz, almidón de trigo, almidón de arroz, almidón de patatas, gelatina, goma de tragacango, metil-celulosa, hidroxipropilometilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio y/o polivinilpirrolidona. Si se desea, pueden añadirse agentes disgregantes, como los almidones anteriormente mencionados, así como carboximetil-almidón, polivinilpirrolidona reticulada, agar, ácido alginico o una sal del mismo, como alginato de sodio. Los adyuvantes son agentes reguladores de flujo y lubricantes, por ejemplo, sílice, talco, ácido esteárico o sus sales, como estearato de magnesio o estearato de calcio y/o polietilenglicol. Las formas de dosificación oral pueden proporcionarse con revestimientos adecuados que, si se desea, pueden ser resistentes a los jugos gástricos.

35 Con este fin pueden usarse soluciones de azúcares concentrados, que pueden contener opcionalmente goma arábiga, talco, polivinilpirrolidona, polietilenglicol y/o dióxido de titanio, soluciones de lacas y disolventes orgánicos adecuados o mezclas de disolventes. Con el fin de producir revestimientos resistentes a los jugos gástricos, pueden añadirse soluciones de preparaciones adecuadas de celulosa como ftalato de acetil-celulosa o ftalato de hidroxipropilmetil-celulosa; pueden añadirse colorantes y pigmentos a los revestimientos de los comprimidos, por ejemplo, para una identificación o con el propósito de caracterizar una combinación diferente de dosis de compuesto.

40 Otras preparaciones farmacéuticas que pueden usarse por vía oral son cápsulas encajadas hechas de gelatina, así como cápsulas herméticas blandas hechas de gelatina y un plastificante como glicerol o sorbitol. Las cápsulas ajustadas pueden contener los compuestos activos en forma de gránulos que pueden mezclarse con materiales de carga como lactosa, aglutinantes como almidones y/o lubricantes como talco o estearato de magnesio y, opcionalmente, estabilizantes. En las cápsulas blandas, los compuestos activos preferentemente se disuelven o se ponen en suspensión en líquidos adecuados, como aceites grasos, parafina líquida o polietilenglicoles líquidos. Además, pueden añadirse estabilizantes. Las posibles preparaciones farmacéuticas que pueden usarse por vía rectal son, por ejemplo, supositorios, que están formados por una combinación de los compuestos activos con la base para supositorios. Las bases para supositorios adecuadas son, por ejemplo, triglicéridos naturales o sintéticos, hidrocarburos de parafinas, polietilenglicoles o alcanoles superiores. Además, también es posible usar cápsulas rectales de gelatina formadas por una combinación de los compuestos activos con una base. Un posible material de base son, por ejemplo, triglicéridos líquidos, polietilenglicoles o hidrocarburos de parafinas.

45 50 55 60 65 Las formulaciones adecuadas para una administración parenteral son soluciones acuosas de compuestos activos en forma soluble o dispersable en agua. Además, pueden administrarse suspensiones de los compuestos activos en forma de suspensiones apropiadas de inyecciones aceitosas. Los disolventes o vehículos lipófilos adecuados son aceites grasos como, por ejemplo, aceite de sésamo o ésteres de ácidos grasos sintéticos, por ejemplo, oleato de etilo o triglicéridos. Las suspensiones para inyecciones acuosas pueden contener sustancias que aumenten la viscosidad de la suspensión que incluyen, por ejemplo, carboximetil-celulosa de sodio, sorbitol y/o dextrano. Estas composiciones pueden comprender también adyuvantes como agentes conservantes, humectantes, emulsionantes y dispersantes. También pueden esterilizarse, por ejemplo, mediante filtración a través de un filtro que retenga

bacterias o añadiendo agentes esterilizantes en las composiciones. Pueden elaborarse también en la forma de composiciones sólidas esterilizadas que puedan ser disueltas o puestas en suspensión de agua esterilizada, solución salina u otro medio inyectable antes de la administración.

- 5 Además de la administración por vehículos convencionales, pueden administrarse ingredientes activos mediante una diversidad de técnicas especializadas de suministro de fármacos conocidas por los expertos en la técnica, como bombas de infusión portátiles.

10 Las composiciones de trioxolanos de la presente invención se administran junto con un vehículo aceptable en términos farmacéuticos en una cantidad suficiente para evitar una infección de malaria y/o tratar una infección activa. Los compuestos de trioxolanos de esta invención tienen una toxicidad extremadamente baja y un grado bajo de efectos secundarios incluso a dosis elevadas. El intervalo de dosificación de las composiciones de trioxolanos variará dependiendo de un cierto número de factores, como si se usan para la profilaxis o el tratamiento de una infección activa, la vía de administración, el esquema de dosificación, etc. En general, la dosis terapéutica de trioxolano puede variar aproximadamente de 0,1 a 1000 mg/kg/día, aunque la dosis preferida es entre 15 aproximadamente 1-100 mg/kg/día. Las dosis anteriores pueden administrarse en forma de una dosis única o pueden dividirse en dosis múltiples de administración. Las composiciones de trioxolanos pueden administrarse una o varias veces al día. Para la prevención de la malaria, un esquema de dosificación típico podría ser, por ejemplo, 20 de 2,0 a 1000 mg/kg a la semana, comenzando 1-2 semanas antes de exposición a la malaria, y hasta 1-2 semanas después de exposición.

Los espiro- y diespiro trioxolanos de esta invención pueden administrarse como cualquier sal eficaz en términos farmacéuticos. Dichas sales son bien conocidas en la técnica, y algunos ejemplos son: acetatos, adipatos, 25 alginatos, citratos, aspartatos, benzoatos, fenilsulfonatos, bisulfatos, butiratos, alcanforatos, alcanforsulfonatos, digluconatos, glicerofosfatos, hemisulfatos, heptanoatos, hexanoatos, fumaratos, hidroclouros, hidrobromuros, hidroyoduros, 2-hidroxi-etanosulfonatos (isotionatos), lactatos, maleatos, metansulfonatos, nicotinos, 2-naftalensulfonatos, oxalatos, palmitatos, pectinatos, persulfatos, 3-fenilpropionatos, picratos, pivalatos, propionatos, succinatos, tartratos, tiocianatos, fosfatos, glutamatos, bicarbonatos, p-toluensulfonatos y undecanoatos. Las sales preferidas son aquellas que aumentan la biodisponibilidad de los compuestos de trioxolano. Esto dependerá de una 30 serie de factores, como la estructura química del trioxolano, con vehículo incorporado, la vía de administración, etc.

Se ha descubierto que los espiro- y diespiro-trioxolanos de esta invención son eficaces en el tratamiento de la esquistosomiasis. La esquistosomiasis se sitúa en segundo lugar después de la malaria en términos de 35 importancia socioeconómica y pública en zonas tropicales y subtropicales. La enfermedad es endémica en 74 países en vías de desarrollo, e infecta a más de 200 millones de personas en zonas agrícolas rurales y periurbanas. Se estima que 500-600 millones de personas en todo el mundo están en riesgo de contraer la enfermedad.

Las principales formas de esquistosomiasis humana están provocadas por cinco especies de gusanos planos transportados por agua, o duelas de la sangre, denominadas esquistosomas. Una es estas especies es 40 *Schistosoma mansoni*, que se ha manifestado en 53 países de África, Mediterráneo oriental, el Caribe y Sudamérica. Los parásitos entran en el cuerpo por contacto con la superficie del agua infectada, principalmente entre gente dedicada a la agricultura y la pesca. Normalmente, los parásitos infectan al hospedante durante la cercarí, o fase de larva. Una vez dentro del hospedante, la cercarí se desarrolla 45 hasta la etapa adulta o esquistosoma.

Los tratamientos actuales para la esquistosomiasis se han centrado principalmente en la profilaxis, es decir, la prevención de la infección del hospedante por cercarias. Actualmente, el praziquantel es el fármaco más 50 utilizado para el tratamiento de la esquistosomiasis. Aunque el arteméter ha demostrado actividad en la profilaxis de la esquistosomiasis, no ha mostrado ninguna actividad contra *S. mansoni* adultos.

Se ha descubierto ahora inesperadamente que los espiro- y diespiro-trioxolanos de esta invención son activos tanto 55 contra cercaria y *S. mansoni* adulto, *S. japonicum* cuando se administran en las dosificaciones y la manera anteriormente indicadas con respecto al tratamiento de parásitos de malaria. Se cree también que los trioxolanos de esta invención serán activos contra *S. haematobium*.

Los niveles de dosificación preferidos de los espiro- y diespiro-trioxolanos son de 100 a 200.

Los espiro- y diespiro-trioxolanos de esta invención pueden ser también eficaces en el tratamiento del cáncer. Los 60 compuestos que tienen un resto de endoperóxido que es reactivo con hemoglobina y hierro han mostrado la capacidad de destruir células cancerígenas (véase, por ejemplo, la patente de EE.UU. n.º 5.578.637, cuya descripción se incorpora por referencia al presente documento). Como se indicó con respecto a la artemisinina, el mecanismo de acción de los trioxolanos contra los parásitos de la malaria está basado en la capacidad de los compuestos de trioxolanos para reaccionar con el hierro en las hemomoléculas libres en parásitos de la malaria, con 65 la generación de radicales libres que conducen a la destrucción celular. Análogamente, los trioxolanos son selectivos contra las células de cáncer debido a la mayor concentración de receptores de transferrina en las membranas de las

células de cáncer que recogen hierro a una velocidad mayor que las células normales. En presencia de los trioxolanos de esta invención, las células de cáncer acumularán concentraciones elevadas de radicales libres, conduciendo a la muerte celular. Para el tratamiento del cáncer, los trioxolanos de esta invención pueden administrarse en las dosis y en la manera anteriormente indicadas.

5 También pueden añadirse al vehículo otros fármacos aparte de los trioxolanos que sean compatibles con los ingredientes portadores. Los expertos en la técnica pueden determinar fácilmente estos fármacos y pueden ser, por ejemplo, antibióticos, otros productos antimalaria, agentes antiinflamatorios, etc.

10 Debe entenderse que la presente invención contempla el uso no solamente de los compuestos de trioxolanos anteriormente mencionados en sí mismos, sino también de sus profármacos que se metabolizan al compuesto y los análogos y formas de sales biológicamente activas del mismo, así como los isómeros ópticos que proporcionen los mismos resultados farmacéuticos.

15 Los siguientes ejemplos se ofrecen para ilustrar la invención sin limitarla. Por tanto, se presentan a sabiendas de que se pueden hacer diversas modificaciones de la formulación, así como del método de suministro, y a pesar de ello seguir estando dentro del alcance de la invención.

20 Los siguientes ejemplos incluyen realizaciones que no están cubiertas por las reivindicaciones. El alcance de la protección está definido por las reivindicaciones dependientes.

EJEMPLO 1

Actividad antimalaria de OZ271-OZ369

25 Ensayos antimalaria

30 En el ensayo de microdilución semiautomatizado se experimentó con diversos compuestos OZ contra formas intraeritrocitarias de *Plasmodium falciparum* derivadas de cultivos madre asincrónicos. El medio de cultivo utilizado fue RPMI 1640 complementado con 10 % de suero humano de tipo A+, 25 mM HEPES, 25 mM NaHCO₃ (pH 7.3). Los eritrocitos humanos de tipo A+ sirvieron como células huésped. El cultivo se mantuvo a 37 °C en una atmósfera de 3 % O₂, 4 % CO₂ y 93 % N₂ en cámaras modulares humidificadas.

35 Los compuestos se disolvieron en DMSO (10 mg/ml), prediluido en el medio de cultivo completo, y calibrado en duplicado en diluciones duales seriales sobre un rango de 64 veces en microplacas de 96 pocillos. Después de añadir los cultivos del parásito con una parasitemia inicial (expresada como el porcentaje de eritrocitos infectados) de 0.75 % en una suspensión de eritrocitos de 2.5 %, las placas del experimento se incubaron en las condiciones descritas anteriormente durante 72 h. El crecimiento de los cultivos de parásitos se midió mediante la incorporación de [3H]-hipoxantina radiomarcada añadida 16 h antes de la finalización del experimento. El análisis de regresión logística calculó un cincuenta por ciento de concentración inhibitoria (IC50). Los compuestos se probaron contra las cepas de referencia de *P. falciparum*, cepas de K1 (resistentes en Tailandia a la cloroquina) y cepas NF54 (una cepa transportada por el aire de origen desconocido que es sensible a los antimalaria normales).

45 En la selección *in vivo* de STI de dosis única, se usaron ratones SPR o NMRI Moro infectados con la cepa ANKA de *P. berghei* (grupos de 3 a 5 ratones). Se les administraron trioxolanos en forma de dosis orales únicas (po) de 3 mg/kg y 10 mg/kg en un vehículo suspensor estándar (SSV). El SSV está compuesto de 0,5 % p/v de CMC, 0,5% v/v de alcohol bencílico, 0,4% v/v de Tween 80 y 0,9% w/v de cloruro de sodio en agua. La actividad antimalaria se midió en reducción de porcentaje de parasitemia en el tercer día después de la infección y los tiempos de supervivencia se compararon con un grupo testigo sin tratar. La supervivencia a los 30 días después de la infección se considera que es una curación. En PCT/02/19767, en la Tabla 1 se presentaron los datos para los trioxolanos OZ01-OZ270 junto con los testigos, fenozano, artemisinina, arteéter, artemetero y artesunato. Los datos mostraron que la actividad antimalaria cae tanto cuando el enlace de peróxido de trioxolano está demasiado como si es estéricamente inaccesible a las especies de hierro (II). Otros factores que ejercen una influencia sobre la actividad antimalaria incluyen la estabilidad de los radicales carbonados formados por la β -escisión que sigue a la transferencia de electrones inicial al enlace de peróxido y la influencia de los efectos estéricos remotos del enlace de peróxido sobre las interacciones entre los radicales carbonados y los fármacos objetivo potenciales. Los datos demuestran también que los ácidos trioxolano-carboxílicos son habitualmente menos activos que sus equivalentes de hidrocarburos, ésteres y ácidos hidroxámicos.

60 A continuación se muestran los datos de actividad para OZ271-OZ369.

ES 2 560 080 T3

Tabla 1

	Comp.	IC ₅₀ (ng/ml) K1/NF54	Actividad (%) 10/3mg/kg	Supervivencia (días) 10/3 mg/kg
5	NONE	---	0	5.6 ± 0.3
	OZ277	0.57/0.58	99.98/99.28	9.3/9.6
	OZ278	23/39	56/ND	7.3/ND
	OZ279	0.21/0.24	99.98/99.42	9.3/8.4
10	OZ280	1.2/1.4	0/ND	5.7ND
	OZ281	0.50/0.30	99.87/96	8.7/10.2
	OZ282	2.0/2.4	98.5/53	8.3/7.2
	OZ283	1.7/2.0	99.81/56	8.3/8.2
15	OZ284	1.0/1.4	97/61	9.0/7.8
	OZ285	1.3/1.8	99.81/72	8.7/7.6
	OZ286	0.94/1.6	99.73/60	8.7/7.0
	OZ287	0.49/0.83	95/68	8.3/7.2
20	OZ288	1.7/2.7	99.96/82	11.0/8.0
	OZ289	0.40/0.56	99.94/92	13.4/7.4
	OZ290	0.42/0.45	99.64/95	9.0/7.0
	OZ291	0.52/0.72	98/34	8.0/6.8
25	OZ292	0.19/0.26	74/46	7.0/6.6
	OZ293	0.25/0.34	99.58/77	8.8/7.4
	OZ294	0.39/0.63	99.79/70	8.6/7.4
	OZ295	0.44/0.75	47/35	7.0/6.4
30	OZ296	0.60/0.89	99.22/90	10.0/9.2
	OZ297	0.49/0.76	99.69/83	9.8/7.6
	OZ298	2.0/3.0	99.95/98	9.4/9.0
	OZ299	6.8/6.3	36/0	6.6/6.4
35	OZ300	71/97	6/0	6.8/7.0
	OZ301	2.1/2.8	100/97	11.8/8.4
	OZ302	1.9/2.9	99.60/88	9.0/9.0
	OZ303	1.6/2.4	99.01/69	8.6/7.6
	OZ304	1.6/2.3	98/61	8.2/8.8
	OZ305	1.8/1.9	99.93/96	9.2/9.6
	OZ306	3.9/3.6	99.58/87	9.2/8.2
	OZ307	0.62/0.88	98/74	9.4/7.8
	OZ308	1.2/1.7	86/30	7.8/6.6
	OZ309	11/17	99.80/86	8.8/7.8
	OZ310	0.82/1.1	81/38	7.8/8.2
	OZ311	1.2/1.8	80/40	8.6/7.0
	OZ312	19/27	43/13	7.2/6.2
	OZ313	0.55/0.76	98.9/58	10.4/7.4
	OZ314	11/17	13/11	6.6/6.6
	OZ315	2.8/3.0	99.97/92	11.2/9.6
	OZ316	1.0/1.7	69/7	10.0/8.0
	OZ317	0.33/0.36	99.92/99.20	9.8/10.0
	OZ318	0.56/0.82	88/29	12.4/7.6
	OZ319	0.41/0.91	99.92/99.14	10.6/10.8
	OZ320	0.68/1.30	99.76/92	10.4/11.8

ES 2 560 080 T3

(continuación)

	Comp.	IC ₅₀ (ng/ml) K1/NF54	Actividad (%) 10/3mg/kg	Supervivencia (días) 10/3 mg/kg
5	OZ321	0.58/0.97	99.77/64	14.0/9.8
	OZ322	0.90/1.5	98/61	10.0/9.4
	OZ323	0.85/1.1	99.98/99.92	15.6/9.2
	OZ324	2.4/3.4	60/26	9.4/7.4
10	OZ325	0.62/1.4	99.43/30	8.8/6.2
	OZ326	0.65/1.2	80/7	7.4/6.0
	OZ327	0.85/1.1	97/72	9.8/7.0
	OZ328	1.4/3.0	99.77/75	8.6/7.6
15	OZ329	0.43/0.68	99.97/99.50	11.2/9.2
	OZ330	0.55/1.2	99.96/82	12.2/7.2
	OZ331	0.50/1.2	99.47/66	9.0/7.0
	OZ332	1.7/2.5	8/0	6.0/6.0
20	OZ333	0.24/0.44	99.86/96	9.2/8.0
	OZ334	28/20	47/13	6.8/6.6
	OZ335	0.29/0.28	99.95/97	9.2/10.0
	OZ336	1.4/0.91	99.93/98	9.2/9.6
25	OZ337	0.29/0.25	99.92/97	8.6/11.6
	OZ338	0.38/0.45	99.93/99.80	9.8/8.0
	OZ339	0.35/0.39	99.95/99.65	10.2/9.2
	OZ340	4.9/2.9	93/36	9.2/6.4
30	OZ341	2.4/2.0	97/32	8.0/7.0
	OZ343	0.46/0.49	99.94/99.21	9.4/10.0
	OZ344	1.2/2.1	17/0	7.8/7.4
	OZ345	1.9/2.4	75/0	9.2/6.6
35	OZ346	3.8/4.7	85/51	8.8/7.6
	OZ347	11/11	2/0	6.6/7.6
	OZ348	3.2/3.5	97/24	9.2/6.6
	OZ349	0.70/1.3	99.92/99.88	11.2/9.6
40	OZ350	1.1/2.2	99.17/69	10.4/9.6
	OZ351	0.40/0.54	99.90/99.69	9.4/9.0
	OZ352	19/20	99.66/77	8.2/7.2
	OZ353	0.35/0.56	99.96/99.91	9.2/9.6
45	OZ354	0.55/0.82	99.97/99.63	9.6/10.0
	OZ355	0.29/0.42	71/0	7.0/6.2
	OZ356	1.4/1.1	99.64/87	8.6/8.0
	OZ357	0.56/0.79	99.99/99.81	10.2/8.8
50	OZ358	0.22/0.36	99.96/99.02	10.4/9.6
	OZ359	0.40/0.52	99.94/96	9.4/8.8
	OZ360	58/59	38/0	6.8/6.2
	OZ361	3.5/2.3	99.90/85	8.4/7.8
55	OZ362	0.81/0.31	98/58	9.8/7.0
	OZ363	46/55	40/10	6.8/6.0
	OZ364	8.4/6.2	63/80	7.0/7.3
	OZ365	0.79/0.25	99.57/92	8.0/8.0
60	OZ366	1.4/0.74	84/62	8.2/7.0
	OZ367	0.66/0.25	96/59	8.6/6.8
	OZ368	0.63/0.43	99.94/99	9.0/9.2
	OZ369	0.69/0.54	99.90/0	8.4/5.8
	AM	0.45/0.36	99.75/79	9.4/8.7

(continuación)

Comp.	IC ₅₀ (ng/ml) K1/NF54	Actividad (%) 10/3mg/kg	Supervivencia (días) 10/3 mg/kg
AS	1.4/1.5	87/66	7.0/8.0
CQ	76/4.4	99.92/82	9.0/8.0
MFQ	2.2/5.0	99.11/9	17/6.3

5 Para un análisis comparativo, se presentan también los datos para los fármacos para el control antimalaria artemetero (AM), artesunato (AS), cloroquina (CQ) y mefloquina (MFQ).

15 Los nuevos datos de actividad demuestran que los ácidos trioxolano-carboxílicos son normalmente menos activos que sus equivalentes de hidrocarburos, ésteres, amidas y ácidos hidroxámicos. La posición de grupos funcionales ionizables como los ácidos carboxílicos y las aminas también es crítico para la actividad. La mejor combinación de elevada potencia intrínseca y buena actividad oral se encuentra cuando un grupo funcional de base débil está presente.

20 **EJEMPLO 2**

Aparición de la acción y la recrudescencia de OZ11, OZ27, OZ78, OZ156, OZ175, OZ177, OZ207, OZ209, OZ277 y OZ279

25 Experimentos de aparición de la acción y la recrudescencia

30 La aparición de la acción del fármaco se determinó después de una dosis fija única de 100 mg/kg (vehículo de SSV) po a grupos de cinco animales en el día 3 después de la infección (día 0). Las parasitemias en este momento fueron habitualmente entre 25-40%. Los testigos infectados no sobrevivieron más allá del día 6 después de la infección. La reducción de la parasitemia se verifica 12, 24 y 48 h después del tratamiento, y el tiempo de recrudescencia (>5 % de parasitemia) es valorado mediante sangrías diarias durante 14 días, seguidas de valoración intermitente durante hasta 60 días.

35 La parte de aparición de este experimento pone de manifiesto lo rápidamente que un compuesto reduce el contenido de parásitos; la parte de recrudescencia del experimento proporciona información sobre la eficacia del compuesto contra el parásito. Un largo retraso de la recrudescencia puede deberse a un efecto antiparásito muy bueno del compuesto o a un compuesto con una semivida larga.

40 Tanto los trioxolanos como las artemisininas produjeron una rápida disminución de la parasitemia, conformando que son agentes antimalaria de acción rápida. En contraste con los productos antimalaria de cloroquina o peroxídicos, la mefloquina tiene una lenta aparición de la acción. La recrudescencia (>5 % de parasitemia) se produce de forma bastante rápida para la artemisinina y el artesunato. El tiempo de recrudescencia aumentó para los derivados de artemisinina más lipófilos, artemetero y arteéter.

45 En contraste con el artemetero, la recrudescencia se produjo mucho más lentamente para los trioxolanos lipófilos OZ11 y OZ27; el tiempo de recrudescencia para OZ27 fue especialmente destacado, superior al de la mefloquina. Sin embargo, los tiempos de recrudescencia para los trioxolanos relativamente polares OZ78, OZ175 y OZ277 fueron muy similares a los del artemetero. El trioxolano más lipófilo (OZ156) y el par OZ156/OZ177 produjeron el retraso más largo en la recrudescencia, mayor que el de la cloroquina, pero menor que el de la mefloquina. El tiempo de recrudescencia para OZ177 y OZ279 fue aproximadamente equivalente al de la cloroquina.

50 Sorprendentemente, no se observó ninguna recrudescencia para OZ207 ni OZ209, dos formas de sales diferentes (OZ207 - tosilato, OZ209 - mesilato) de aminometil-trioxolano OZ163 (hidrocloruro). Los datos de recrudescencia para estos trioxolanos sugieren que o bien son agentes antimalaria más potentes o tienen semividas más largas que cualquiera de las artemisininas semisintéticas.

Tabla 2

Compuesto	Tiempo de recrudescencia (días)
OZ11	22.2
OZ27	22.0 (3/5), > 60 (2/5)
OZ78	11.2
OZ156	19.0 (4/5), > 60 (1/5)
OZ175	13.0
OZ177	18.5
OZ207	> 60

(continuación)

Compuesto	Tiempo de recrudescencia (días)
OZ209	> 60
OZ277	13.0
OZ279	15.0
Artemisinina	8.4
Artesunato	8.6
Artemetero	12.0
Arteéter	11.4
Cloroquina	17.8
Mefloquina	28.0

EJEMPLO 3

Efecto de trioxolanos sobre especies de *Schistosoma*

Efecto de trioxolano OZ207 sobre *Schistosoma japonicum*

Tabla 3

Efecto comparativo de OZ207 y artemetero en ratones infectados con *Schistosoma japonicum*

Fármaco	Edad del gusano	Dosis (mg/kg × 1)	Ratones sin gusanos hembra	MTWB/ x±SD	WRR/ %	MFWB/ x±SD	FWR R/ %
Control	-	-	0/8	26.6 ± 4.2	-	11.6 ± 2.4	-
OZ207	35 días	200	4/7	9.1 ± 3.9	66	0.6 ± 0.7	95
OZ207	35 días	400	4/6	4.3 ± 1.2	84	0.7 ± 1.2	94
Artemetero	35 días	400	0/7	10.1 ± 4.4	62	3.4 ± 1.6	71
OZ207	7 días	200	0/8	5.4 ± 2.4	81	2.1 ± 1.0	82

MTWB = carga total media de gusanos; WRR = velocidad de reducción de gusanos; MFWB = carga media de gusanos hembra; FWR R = velocidad de reducción de gusanos hembra.

La Tabla 3 ilustra que la carga total media de gusanos y la carga media de gusanos en hembras en el grupo de 400 mg/kg de OZ207 eran significativamente inferiores a los del grupo de 400 mg/kg de artemetero ($P < 0.01$). La carga media de gusanos hembras en el grupo de 200 mg/kg de OZ207 era también significativamente inferior que en el grupo de artemetero ($P < 0.01$).

Efecto de los trioxolanos sobre esquistosómulos de 21 días

Los ratones fueron infectados con 100 cercarias *Schistosoma mansoni* en el día 21 después del tratamiento. Cada

grupo fue tratado por os con trioxolanos a una dosis única de 200 mg/kg. Ratones sin tratar sirvieron como testigos. Todos los grupos fueron sacrificados 4 semanas después del tratamiento y se les extirparon y separaron el hígado y los intestinos. El hígado y el intestino se comprimieron, y se pudo observar y contar a los gusanos macho y hembra vivos. El efecto de los compuestos se evaluó por la carga media total y de gusanos hembras. Los resultados se muestran en la Tabla 4.

Efecto de trioxolanos sobre esquistosomas adultos (de 49 días)

Los ratones fueron infectados con 100 cercarias *Schistosoma mansoni* en el día 49 después del tratamiento. Cada grupo fue tratado por os con compuestos OZ a dosis únicas de 200, 400 y 600 mg/kg. Ratones sin tratar sirvieron como testigos. Todos los grupos fueron sacrificados 4 semanas después del tratamiento y se les extirparon y separaron el hígado y el intestino. El hígado y el intestino se comprimieron, y se pudo observar y contar a los gusanos macho y hembra vivos. El efecto de los compuestos se evaluó por la carga media total y de gusanos hembras, y los resultados se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4

ACTIVIDAD IN VIVO CONTRA SCHISTOSOMA MANSONI (RATONES hembra INFECTADOS)					
COMPUESTOS OZ PROBADOS	% de reducción del crecimiento de esquistosómulos en el día 21 después de la aplicación por os de 200 mg/kg		% de reducción del crecimiento de los gusanos adultos en el día 49 después de la aplicación per os de mg/kg		
	TWR (%)	FWR (%)	200	400	600
			TWR (%)/ DEAD WORM (%)		
OZ 271	88	86		0 / 6	
OZ 277	91	92		0 / 0	17 / 14
OZ 279	86	88		0 / 12	33 / 20
OZ 281	91	90		12 / 15	
OZ 285 líquido	86	85		17 / 22	
OZ 288	95	96		52 / 45	
OZ 296	85	85		1 / 13	
OZ 309	97	100		19 / 17	
OZ 312	94	93		16 / 9	
OZ 323	95	97		20 / 23	
OZ 329	90	90		15 / 6	
OZ 349	ND	ND		36 / 16	
OZ 352	89	91		16 / 26	
OZ 360	17	13		0 / 0	
ARTEMETERO	(n4) 85	(n4) 85	(n2)	53 / 29	
PRAZIQUANTEL	0	0	(n2)	96 / 96	100 / 100

1 x
600
sc39
/
17

1 x
600
sc21
/
27

EJEMPLO 4**Actividad de trioxolanos contra *P. berghei***

5 En las determinaciones de dosis únicas de ED₅₀/ED₉₀/ED₉₉, ratones SPF o NMRI Moro (grupo de tres) infectados con la cepa ANKA de *Plasmodium berghei* fueron tratados en el día uno después de la infección. Los trioxolanos fueron disueltos o puestos en suspensión en el vehículo suspensor estándar (SSV)* y administrados a
 10 dosis únicas de 10, 6, 3, 1, 0,3 y 0,1 mg/kg po y sc. El SSV está compuesto de 0,5 % w/v de CMC, 0,5 % v/v de alcohol bencílico, 0,4 % v/v de Tween 80 y 0,9 % w/v de cloruro de sodio en agua. La actividad antimalaria se midió en reducción porcentual de parasitemia en el día tres después de la infección. Los valores de ED₅₀/ED₉₀ se calcularon mediante ajuste no lineal.

Tabla 5

Compuesto	ED ₅₀ (mg/kg)	ED ₉₀ (mg/kg)	ED ₉₉ (mg/kg)
OZ277	0.78	2.0	4.4
OZ279	0.63	1.8	3.9
Artesunato	4.7	19	60
Artelinato	4.8	10	18
Artemetero	2.2	4.2	7.1
Cloroquina	1.8	3.5	5.9
Mefloquina	4.0	5.4	6.8

30 La tabla 5 muestra datos de ED₅₀/ED₉₀/ED₉₉ obtenidos mediante administración po de trioxolanos en la formulación de SSV. El artemetero relativamente lipófilo es sustancialmente más activo que el artesunato más polar y el artelinato. Por el contrario, los trioxolanos más activos (OZ181, OZ207, OZ209) - diferentes formas de sales del mismo aminotrioxolano, y amino y amidatrioxolanos OZ277 y OZ279, son compuestos relativamente polares.

EJEMPLO 5**Dosificación de OZ279, OZ277, OZ256 y OZ209**

40 Basado en los resultados de la dosificación de OZ279, OZ277, OZ256 y OZ209 en ratas y perros, los inventores decidieron la dosificación óptima prevista de los mismos compuestos en humanos. El artesunato se incluye como un compuesto de referencia.

Tabla 6

Parámetro	Ideal	Aceptado	Artes	OZ 279	OZ 277	OZ 256	OZ 209
Datos en ratones							
IV t1/2 (10 mg/kg)	180 min	60 min	40 (DHA)	100.5	77.2	94.0	150.0
Oral Biodisponibilidad	>30%	>20%	no realizado	37.2	36.9	18.6	12.4
10 mg/kg	>30%	>20%	21	71.1	44.1	51.9	22.4
25 mg/kg			(DHA)				
Oral t1/2 (25 mg/kg)	180 min	60 min	no realizado	166.8	90.5	73.3	101.5
Datos en perros							
IV t1/2 (10 mg/kg)	180 min	60 min	no realizado	177.5	95.0	85.4	182.8
Oral Biodisponibilidad	>30%	>20%	no realizado	32.8 (V)	87.9	42.0 (V)	24.5 (V)
10 mg/kg	>30%	>20%	no realizado	55.7 (V)	96.1	38.3 (V)	15.9 (V)
25 mg/kg							
Oral t1/2 (10 mg/kg)	180 min	60 min	no realizado	195.3	148.1	82.8	127.3
Datos en humanos							
Dosis diaria prevista mg/día (% BA)	150 mg	300 mg	150-300 (real)	105-154 (30%)	28-56 (30%)	91-133 (20%)	35-70 (20%)

EJEMPLO 6**Eficacia de los compuestos OZ seleccionados en el tratamiento y la profilaxis de las infecciones de malaria**

Los ratones macho NMRI Moro (libres del patógeno específico Fū Albino) con un peso de 18 ± 2 g fueron infectados por vía intravenosa (i.v.) con 2×10^7 eritrocitos infectados por la cepa *P. berghei* ANKA de los ratones donantes en el día 0 del experimento. Con ratones donantes con aproximadamente 30 % de parasitemia, se extrajo sangre heparinizada y se diluyó en salino fisiológico en 108 eritrocitos parasitados por ml. Una parte proporcional (0.2 ml) de esta suspensión se inyectó por vía intravenosa en grupos experimentales y de control de ratones. En los ratones de control no tratados, la parasitemia aumentó de forma regular de 40 a 50 % en el día 3 después de la infección y de 70 a 80 % en el día 4 después de la infección. Los ratones murieron entre los días 5 y 7 después de la infección. Durante los experimentos, los ratones estuvieron en grupos de tres a cinco animales en jaulas Makrolon de tipo II en un cuarto de animales con aire acondicionado a una temperatura de 22 a 23 °C. Se proporcionó una dieta con ácido p-aminobenzóico (PABA) de 45 mg (NAFAG FUTTER© alimento N.º 9009 PAB-45) por kg de peso corporal, y hay agua del grifo *ad libitum*.

Se prepararon compuestos OZ a una concentración adecuada, bien como solución o suspensión con SSV (0.5 % w/v de CMC, 0.5 % v/v de alcohol bencílico, 0.4 % v/v de Tween 80 y 0.9 % w/v de cloruro de sodio en agua). Se administraron por os (p.o.) en un volumen total de 0.01 ml por gramo de ratón. La actividad del compuesto se determinó mediante una serie de métodos descritos en las secciones siguientes. También se registró el tiempo de supervivencia, y la supervivencia hasta el día 30 después de la infección se consideró como curación.

El primer experimento consistió en la administración de una dosis dividida de 3×10 mg/kg p.o. en los días 1, 2 y 3 después de la infección contra una única dosis de 1×30 mg/kg po administrada en el día 1 después de la infección. En el día 4 después de la infección, se prepararon muestras de sangre de todos los animales y se les realizó una tinción de Giemsa. La parasitemia se estableció a nivel microscópico y la diferencia entre el valor medio del grupo de control (tomado como el 100 %) y los de los grupos experimentales se calculó y expresó como una reducción porcentual. Los compuestos se administraron por vía oral en el vehículo SSV. Los resultados se muestran en la Tabla 7 a continuación:

Tabla 7

5

10

15

20

25

30

35

	1 x 30 mg/kg			3 x 10 mg/kg		
	Actividad %	Supervivencia (días)	Curas	Actividad %	Supervivencia (días)	Curas
OZ	p.o. SSV			p.o. SSV		
209	100	>30	0/5	100	>30	3/3
271	99.97	14	0/5	100	27.8	4/5
277	99.92	10.4	0/5	100	27.6	4/5
279	99.95	14.8	0/5	100	25.4	3/5
301	NA	NA	NA	100	>30	5/5
315	NA	NA	NA	100	>30	5/5
CQ	99.94	9.5	0/5	99.99	14.3	0/5
MFQ	99.94	20.3	0/5	99.92	23.3	0/5
AS	83.83	9	0/5	98.62	11	0/5

Como se muestra en la Tabla 7, una dosis de 3 x 10 mg/kg de estos trioxolanos curó entre 3/5 y 5/5 de los ratones infectados. Con esta misma dosis, ninguno de los fármacos antimalaria estándar curó ninguno de los ratones infectados. Con la dosis de 1 x 30 mg/kg, todos los trioxolanos sometidos al experimento mostraron actividades > 99.9 % en el día 3 después del tratamiento.

El segundo experimento consiste en la administración de dosis po divididas de 3 x 3 mg/kg y 3 x 1 mg/kg administradas los días 1, 2 y 3 después de la infección. En el día 4 después de la infección, se prepararon muestras de sangre de todos los animales y se les realizó una tinción de Giemsa. La parasitemia se estableció a nivel microscópico y la diferencia entre el valor medio del grupo de control (tomado como el 100 %) y los de los grupos experimentales se calculó y expresó como una reducción porcentual. Los compuestos se administraron por vía oral en el vehículo SSV. Los resultados se muestran en la Tabla 8.

ES 2 560 080 T3

Tabla 8

	3x3 mg/kg			3x1 mg/kg	
	Actividad %	Supervivencia (días)	Curas	Actividad %	Supervivencia (días)
OZ	p.o. SSV			p.o. SSV	
209	100	16.4	0\5	99.51	9.4
271	99.99	16.2	0\5	87	8.8
277	100	14	0\5	83	9.4
279	100	14.8	0\5	83	8.8
281	100	12.4	0\5	92	13
288	99	10.2	0\5	49	8.4
289	100	17.2	0\5	41	7.4
290	93	10.6	0\5	14	6.8
296	94	9.4	0\5	49	7.8
297	89	9.4	0\5	22	6.4
298	99.99	16.4	0\5	93	11
301	100	23	1\5	58	8.8
302	99.51	13.4	0\5	87	13.4
305	99.91	12.2	0\5	87	9.6
306	99.75	7.6	0\5	85	11
309	99	9.2	0\5	66	9.4
315	99.99	22	0\5	81	12.2
317	100	16.8	0\5	73	11.4
319	99.97	11.2	0\5	92	13
320	96	9.6	0\5	50	8.6
323	99.95	14.4	0\5	66	14.4
329	100	27	2\5	99.86	11
330	99	12.6	0\5	45	9.2
333	99	10.2	0\5	64	9.4
335	99.99	15.4	0\5	98	10
336	100	20.8	0\5	99.14	10.4
337	99.98	14.4	0\5	96	9.4
338	100	25.6	0\5	98	9.4
339	100	27	3\5	97	9.2
343	100	22.2		87	9.4
349	99.98	25.2	2\5	98	9.4
351	100	22.8		99	9.6
343	100	22.2		87	9.4
349	99.98	25.2	2\5	98	9.4
351	100	22.8		99	9.6
353	99.99	16.4		91	10

5

10

(continuación)

	3x3 mg/kg			3x1 mg/kg	
	Actividad %	Supervivencia (días)	Curas	Actividad %	Supervivencia (días)
OZ	p.o. SSV			p.o. SSV	
354	99.99	24.4		95	8
357	100	22.4	1\5	98	9.2
358	99.98	9.8		79	9.8
359	99.65	8.6		79	8
365	99.96	12		79	8.4
368	99.99	22.2		91	8.6
CQ	99.54	10		25	7.2
MFQ	98	12		2	6.2
AM	86	9.4		51	7.2
AS	78	9.4		39	6.8

Como se muestra en la Tabla 8, con la dosis de 3 x 3 mg/kg, catorce trioxolanos tuvieron actividades de 100 % y produjeron elevadas cifras de supervivencia. De estos, OZ301, OZ329, OZ339, OZ349 y OZ357 curaron 1/5, 2/5, 3/5, 2/5 y 1/5 de los ratones infectados, respectivamente. Con la dosis de 3 x 1 mg/kg, la mayoría de los trioxolanos fueron más potentes que los fármacos antimalaria de referencia; dieciséis de ellos tuvieron actividades ≥ 90 %. OZ209, OZ329 y OZ336 fueron los únicos trioxolanos con actividades superiores al 99 % en la dosis de 3 x 1 mg/kg. Todos los OZ343-OZ368 que se sometieron al experimento fueron más activos que los fármacos antimalaria de referencia.

Las actividades de profilaxis de los compuestos se compararon después de administrar la dosis po única de 100 mg/kg a distintos grupos de cinco animales en distintos tiempos antes de la infección. Todos los grupos, incluido un grupo de control no tratado, se infectaron al mismo tiempo. La parasitemia se controló en cada animal en el día 3 después de la infección, y se determinó el porcentaje de reducción del nivel de parasitemia comparado con los niveles de animales a los que no se les dio ningún fármaco. Los resultados se muestran en la Tabla 9.

Tabla 9

	AM	AS	CQ	<u>Actividad de profilaxis (%)</u>						
				MFQ	209	256	271	277	279	281
72 h-				99.97	99.92	13	99.89	9	14	8
48 h-			57.49	99.92	99.9	29	99.98	7	27	45
24h-	0	6.28	99.92	100	100	82	100	25	97	99.23
0 h	100	92.44	100	100	100	100	100	100	100	100

La propiedad de profilaxis única de OZ209 (protección de 3 días, la misma que MFQ) se encontró también en OZ271.

EJEMPLO 7

Propiedades químicas de las sales OZ277

Se sintetizaron las siguientes sales de tosilato, maleato, hidrocloreto, tartarato y succinato de la forma base de OZ277:

cis-Adamantano-2-espiro-3'-8'-[[[(2'-amino-2'-metilpropil)amino]carbonil]metil]-1',2',4'-trioxaspiro[4.5]decano *p*- tosilato

hidrogenmaleato de *cis*-Adamantano-2-espiro-3'-8'-[[[(2'-amino-2'-metilpropil)amino]carbonil]metil]-1',2',4'-trioxaspiro[4.5]decano

5 hidrocloreuro de *cis*-Adamantano-2-espiro-3'-8'-[[[(2'-amino-2'-metilpropil)amino]carbonil]metil]-1',2',4'-trioxaspiro[4.5]decano

10 hidrogenotartarato de *cis*-Adamantano-2-espiro-3'-8'-[[[(2'-amino-2'-metilpropil)amino]carbonil]metil]-1',2',4'-trioxaspiro[4.5]decano

hidrogenosuccinato de *cis*-Adamantano-2-espiro-3'-8'-[[[(2'-amino-2'-metilpropil)amino]carbonil]metil]-1',2',4'-trioxaspiro[4.5]decano

Sus propiedades se muestran en la Tabla 10:

Tabla 10

<u>Criterios de selección</u>	<u>Maleato</u>	<u>Tosilato</u>	<u>HCl</u>	<u>Tartarato</u>	<u>Succinato</u>
Solubilidad en agua	5 mg/mL	0.4 mg/mL	2.5 mg/mL	2 mg/mL	1.4 mg/mL
Cristalinidad	Cristalino	Cristalino	Cristalino	Más tirando a amorfo	Cristalino
Higroscopicidad	No-higroscópico	No-higroscópico	No-higroscópico	Higroscópico	No-higroscópico
Estabilidad	Estable	Estable	Estable	Comparat.	Estable
Química				menos estable	
Estabilidad física	Estable	Estable	Estable	Estable	Estable
Tamaño de las partículas (90% de partículas menos que)	~100 mm	~50 mm	~230 mm	~200 mm	~150 mm
Estabilidad en solución analítica (hasta 24 h)	Estable	Estable	Estable	Estable	Estable
Sabor	No amargo	No amargo	No amargo	No amargo	No amargo

EJEMPLO 8

Preparación de la sal de maleato OZ277

Materias primas:

<u>Descripción</u>	<u>Cantidad</u>	<u>Mol equivalente</u>
OZ277 (forma base)	60.00 g	1.00
Ácido maleico	17.40 g	0.98
Etanol	240 ml	
Heptano	780 ml	

Proceso:

- Cargar etanol (150 ml) a 20-25°C;
- Cargar OZ277 (60 gm) a 20-25°C sin parar de mezclar;
- Mezclar a 20-25°C durante 10 min hasta alcanzar una solución transparente;
- Añadir la solución de ácido maleico (17.4 g en 90 ml de etanol) gota a gota a 20-25 °C mezclando

durante 1 h.;

- Cargar heptano (720 ml) a 20-25 °C sin parar de mezclar;
- 5
- Mezclar durante 4 h a 20-25°C;
 - Filtrar el sólido y lavar con heptano (60 ml);
- 10
- Escurrir el producto hasta secar;
 - Secar el producto al vacío a 20-25°C.

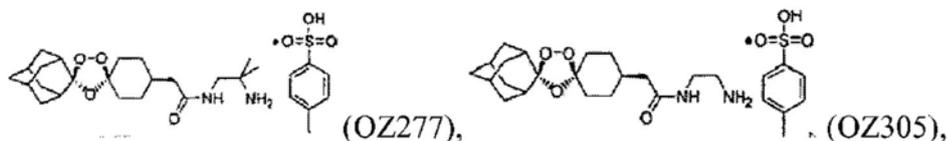
El peso del producto resultante es de 65-70 gramos.

- 15
- Se debería tener en cuenta que las composiciones de espiro- y diespiro 1,2,4-trioxolano de esta invención podrían contener trioxolanos dentro del alcance de las fórmulas descritas anteriormente, o una mezcla racémica de la forma D o L. La invención también pretende incluir todas las formas de sales biológicamente activas de los compuestos. Por tanto, se pueden realizar una menor dosificación y modificaciones en la formulación de la composición y los rangos expresados en el presente documento y aun así entrar dentro del alcance de la presente invención.
- 20

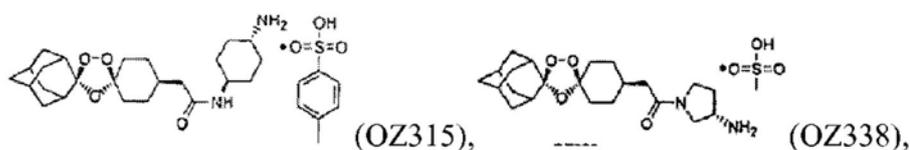
REIVINDICACIONES

1. Un espiro- o diespiro-1,2,4-trioxolano, en donde el espiro- o diespiro-1,2,4-trioxolano se selecciona del grupo formado por:

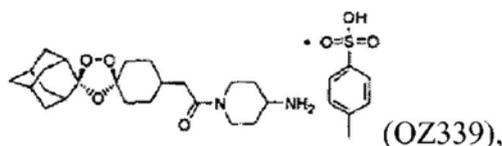
5



10



15

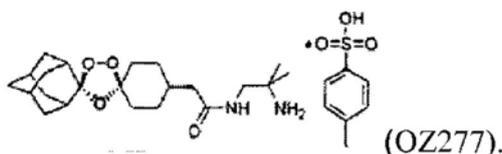


20

25 *cis*-adamantano-2-espiro-3'-8'-[[[(2'-amino-2'-metilpropil)amino]carbonil]metil]-1',2',4'-trioxaspiro[4.5]decano y las formas de sales biológicamente activas del mismo.

2. El espiro o diespiro-1,2,4-trioxolano de la reivindicación 1 que es

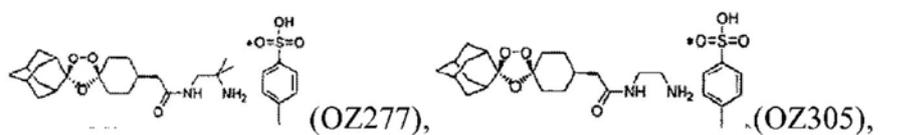
30



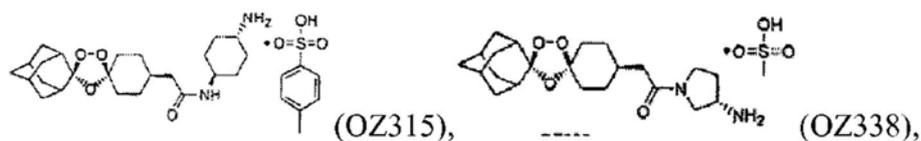
35

3. Una composición farmacéutica para su uso en la profilaxis y el tratamiento de la malaria que consta de: una cantidad eficaz para el tratamiento de la malaria o la profilaxis de la malaria de un espiro o diespiro-1,2,4-trioxolano e isómeros ópticos del mismo, seleccionados del grupo formado por

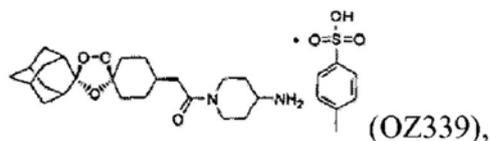
40



45



50



60

cis-adamantano-2-espiro-3'-8'-[[[(2'-amino-2'-metilpropil)amino]carbonil]metil]-1',2',4'-trioxaspiro[4.5]decano y formas de sales biológicamente activas del mismo y un vehículo aceptable en términos farmacéuticos.

- 5 4. La composición para el uso establecido en la reivindicación 3 en donde el trioxolano es *cis*-adamantano-2-espiro-3'-8'-[[[(2'-amino-2'-metilpropil)amino]carbonil]metil]-1',2',4'-trioxaspiro [4.5]decano p-tosilato.
5. Un espiro o diespiro-1,2,4-trioxolano según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2 en un vehículo aceptable en términos farmacéuticos para su uso en la prevención o el tratamiento de la malaria.
- 10 6. Un espiro o diespiro-1,2,4-trioxolano para el uso establecido según la reivindicación 5, en donde el trioxolano es *cis*-adamantano-2-espiro-3'-8'-[[[(2'-amino-2'-metilpropil)amino] carbonil]metil]-1',2',4'-trioxaspiro [4.5]decano p-tosilato.
- 15 7. Un método de elaboración de una composición para su uso en la profilaxis y el tratamiento de la malaria que consta de: la mezcla de una cantidad eficaz para el tratamiento de la malaria o la profilaxis de la malaria de un espiro o diespiro-1,2,4-trioxolano según cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 2 y los isómeros ópticos del mismo, con un vehículo aceptable en términos farmacéuticos.
- 20 8. Un espiro o diespiro-1,2,4-trioxolano según cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 2 en un vehículo aceptable en términos farmacéuticos para su uso en el tratamiento del cáncer.
- 25 9. Un espiro o diespiro-1,2,4-trioxolano para su uso según la reivindicación 8, en donde el trioxolano es *cis*-adamantano-2-espiro-3'-8'-[[[(2'-amino-2'-metilpropil)amino] carbonil]metil]-1',2',4'-trioxaspiro [4.5]decano p-tosilato.
- 30 10. Un espiro o diespiro-1,2,4-trioxolano en un vehículo aceptable en términos farmacéuticos según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2 para su uso en la profilaxis o el tratamiento de la esquistosomiasis.
11. Un espiro o diespiro-1,2,4-trioxolano para su uso según la reivindicación 10, en donde el trioxolano es *cis*-adamantano-2-espiro- 3'-8'-[[[(2'-amino-2'-metilpropil)amino] carbonil]metil]-1',2',4'-trioxaspiro [4.5]decano p-tosilato.