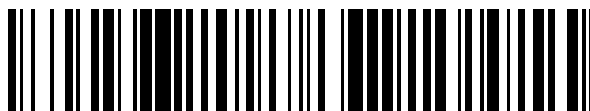


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 607 638**

51 Int. Cl.:

C07H 17/08 (2006.01)

A61K 31/7048 (2006.01)

A61P 11/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.12.2013** **PCT/EP2013/078040**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.07.2014** **WO14102315**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.12.2013** **E 13814988 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.10.2016** **EP 2938623**

54 Título: **Macrólidos seleccionados con actividad inhibidora de PDE4**

30 Prioridad:

31.12.2012 EP 12199801

12.03.2013 EP 13158812

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
03.04.2017

73 Titular/es:

BASILEA PHARMACEUTICA AG (100.0%)
Grenzacherstrasse 487
4005 Basel, CH

72 Inventor/es:

KELLENBERGER, JOHANNES, LAURENZ y
DREIER, JÜRG

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 607 638 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

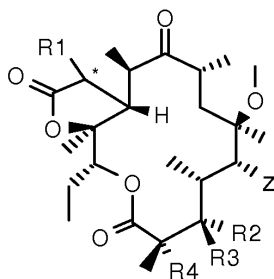
Macrólidos seleccionados con actividad inhibidora de PDE4

- La invención se refiere a un nuevo compuesto macrólido y a dicho compuesto para uso como medicamento, en particular para el tratamiento o la prevención de enfermedades inflamatorias y alérgicas, a composiciones farmacéuticas que contienen dicho compuesto y a un procedimiento para su preparación. La invención se refiere, en particular, a un compuesto macrólido con actividad antiinflamatoria mediada principalmente a través de la inhibición de la fosfodiesterasa 4 (PDE4), que lo hace útil para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades inflamatorias y alérgicas tales como enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), asma, artritis reumatoide, dermatitis atópica, psoriasis o enfermedad intestinal inflamatoria o enfermedades proliferativas tales como el cáncer.
- Monofosfato de adenosina cíclico (cAMP) es un segundo mensajero clave en las células. Se sabe que niveles incrementados de AMP cíclico suprimen las respuestas pro-inflamatorias en diversos tipos de células inflamatorias e inmunes, incluyendo linfocitos, monocitos, macrófagos, neutrófilos, eosinófilos, basófilos y células epiteliales del pulmón. Las concentraciones intracelulares de cAMP son reguladas por la adenilil-ciclase y por fosfodiesterasas de nucleótidos cíclicos (PDEs). Las PDEs son una familia de enzimas que inactivan nucleótidos cíclicos cAMP y cGMP a través de la hidrólisis de AMP y GMP. La enzima PDE4 específica de cAMP es ubicua en células inflamatorias e inmunes. Se ha demostrado que PDE4 está implicada en procesos inflamatorios (véase, p. ej., Lipworth B.J., *Lancet* (2005) 365, p 167; Houslay M.D. et al. *Drug Discovery Today* (2005) 10 (22), p 1503; Halpin D.M.G. *Int. J. COPD* (2008) 3(4), p. 543, o Sanz M.J. et al. *Pharmacology & Therapeutics* (2005) 106, p. 269). Por lo tanto, inhibidores de PDE4 son útiles en el tratamiento y/o la profilaxis de enfermedades inflamatorias y alérgicas tales como asma, bronquitis crónica, enfisema, dermatitis atópica, urticaria, rinitis alérgica, conjuntivitis alérgica, psoriasis, artritis reumatoide, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), choque séptico, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, síndrome de dificultad respiratoria del adulto y esclerosis múltiple. Inhibidores de PDE4 también son útiles para el tratamiento de enfermedades proliferativas tales como el cáncer humano (véase, p. ej., *Cancer Research*, 2007, 67, p. 5248).
- Numerosos inhibidores de PDE4 se han descrito en la bibliografía (véase, por ejemplo, J.O. Odingo, *Expert. Opin. Ther. Patents*, 2005, 15(7), 773; M. Hendrix, C. Kallus, *Methods and Principles in Medicinal Chemistry* (2004), Vol 22 (Chemogenomics in Drug Discovery), 243-288 (Wiley-VCH)). Muchos de los inhibidores de PDE4 conocidos muestran efectos secundarios limitantes de la dosis tales como vómitos y dolor de cabeza.
- Derivados de eritromicina que tienen un anillo de lactona de cinco miembros condensado a las posiciones 11, 12 del anillo de macrolactona se han descrito en, p. ej., los documentos WO 02/16380, WO 03/004509, WO 03/042228, WO 03/072588, WO 03/024986, US 2004/0038915 y en los documentos WO2005067919. WO 02/16380, WO 03/072588, WO 03/024986 y US 2004/0038915 describen exclusivamente los denominados cetólidos que tienen un grupo carbonilo en la posición 3 de la estructura de eritromicina. Los documentos WO 03/042228, WO 03/004509 y WO2005/067919 describen derivados de macrólidos con un anillo de lactona 11,12 condensado a las posiciones 11,12 y un sustituyente de azúcar cladinosa en la posición 3 de la estructura de eritromicina.
- Derivados de eritromicina con un doble enlace en las posiciones 2,3 de la estructura de eritromicina, denominados anhidrolidos, se han descrito, p. ej., en los documentos WO97/42205 y US6720308. Compuestos con un grupo hidroxilo en la posición 3 de la estructura de eritromicina se encuentran como productos intermedios en la síntesis de diversos compuestos mencionados anteriormente y también se describen en, p. ej., el documento WO2004/013153. La formación de derivados de 3-acilo se describe en, p. ej., *J. Med. Chem.* 2003, 46, 2706.
- La administración oral de fármacos se considera generalmente que es la forma más conveniente y más popular de administración de un fármaco. La biodisponibilidad oral de un medicamento es, por consiguiente, un parámetro farmacológico muy importante de un fármaco. La biodisponibilidad oral de los macrólidos difiere fuertemente y es con frecuencia más bien pobre.
- Un problema con el que se topa con frecuencia en el desarrollo de fármacos y también para los fármacos comercializados son los efectos secundarios cardiovasculares. En muchos casos, estos efectos se deben a una prolongación inducida por el compuesto del intervalo QT en el electrocardiograma (ECG), que está asociado con arritmia potencialmente fatal o "torsades des pointes". Varios agentes anti-infecciosos tales como macrólidos, cetólidos y fluoroquinolonas se han asociado con la prolongación de QT.

El intervalo QT es una medida de la duración de la despolarización y re-polarización ventricular que implica varios canales de iones y transportadores de membrana. En muchos casos, la inhibición de la corriente K^+ rectificadora retardada (IKr), que implica al canal de potasio del gen humano relacionado con el éter a-go-go (hERG), ha sido relacionada con una prolongación del QT inducida por fármacos. La inhibición del canal de hERG se utiliza, por lo tanto, para predecir el riesgo de una prolongación de QT inducida por compuestos.

La mayoría de las moléculas descritas en las referencias citadas anteriormente tienen una actividad anti-infecciosa sustancial. Sin embargo, si están previstos derivados de eritromicina para el tratamiento crónico de enfermedades no provocadas por bacterias patógenas, es deseable tener compuestos desprovistos de actividad anti-infecciosa con el fin de evitar el desarrollo de bacterias resistentes a los antibióticos. Se ha informado que modificaciones del resto desosamina pueden conducir a una pérdida de actividad antibacteriana. Diversas modificaciones de la fracción de azúcar desosamina de derivados de eritromicina se han descrito en la bibliografía tal como se ejemplifica por las siguientes publicaciones: WO2007/129646, WO2004/013153 y Bioorg. Med. Chem. 2007, 15, 3266.

El documento WO2009/106419 describe compuestos macrólidos que tiene un anillo de lactona de cinco miembros condensado a la estructura de eritromicina y que está sustituido con cadenas laterales específicas, que los compuestos macrólidos, sin tener actividad antibacteriana significativa, inhiben las fosfodiesterasas y, en particular, inhiben selectivamente PDE4. Estos macrólidos son útiles para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades inflamatorias y alérgicas, así como enfermedades proliferativas tales como, p. ej., el cáncer. Compuestos macrólidos preferidos de acuerdo con el documento WO2009/106419 tienen la siguiente fórmula:



en donde, p. ej.,

R1 es un residuo -Y-X-Q;

Y es S, SO o SO₂;

X es un enlace o un grupo lineal que consiste en átomos de hidrógeno y 1 a 9 átomos seleccionados entre C, N, O y S, de los cuales hasta 2 átomos pueden ser N y un átomo puede ser O o S, un átomo de carbono puede aparecer como un grupo CO y el átomo de azufre puede aparecer como un grupo SO₂ y dos átomos de C adyacentes pueden estar presentes como -CH=CH- o -C≡C- y grupo X que está no sustituido o está sustituido con -COO-W o -CONH-W;

Q es un residuo -V-A1-L-A2-W o -NR₁₀R₁₁, si X no representa un enlace;

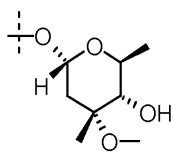
V es un grupo divalente aromático o heterocíclico, opcionalmente sustituido;

W es arilo o heterociclilo opcionalmente sustituido;

A1 y A2, independientemente uno del otro, están ausentes o son un grupo alquileo C₁-C₄;

L es un -O-, -S-, -SO₂-, -NH-, -CO-, -(CO)O-, -O(OC)-, -(CO)NH-, -NH(CO)-, -(SO₂)NH-, HN(SO₂)-, HN(CO)NH-, -O(CO)NH-, -NH(CO)O-, o también puede estar ausente si A1 y/o A2 están presentes;

R2 es OR_{2a} o



en donde  representa el enlace de unión;

R2a es hidrógeno, acetilo, $-(C=O)CH_2NR_2bR_2c$, o $-(C=O)CH_2CH_2NR_2bR_2c$;

5 R2b y R2c, independientemente uno de otro, son hidrógeno o alquilo C1-C6 que puede estar sustituido o no sustituido y en donde hasta dos átomos pueden ser N, O o S y un átomo de carbono puede aparecer como C=O o, tomados junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, forman un anillo de 4-7 miembros, de los cuales hasta dos átomos puede ser N, O o S y un átomo de carbono puede aparecer como C=O;

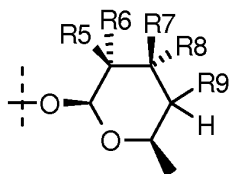
R3 es hidrógeno o

R2 y R3, tomados junto con el átomo de carbono al que están unidos, representan un grupo C=O;

10 R4 es hidrógeno o

R2 y R4, tomados junto con el enlace entre los átomos de carbono a los que están unidos, representan un doble enlace entre dichos átomos de carbono;

Z es



15 en donde  representa el enlace de unión;

R5 es hidrógeno u -OR5a o -NR5bR5c;

R6 es hidrógeno u -OR6a o -NR6bR6c; o

R5 y R6, tomados junto con el átomo de carbono al que están unidos, representan un grupo C=O;

R7 es hidrógeno u -OR7a o -NR7bR7c;

20 R8 es hidrógeno u -OR8a o -NR8bR8c; o

R7 y R8, tomados junto con el átomo de carbono al que están unidos, representan un grupo C=O; o uno de

R5 y R6, tomados junto con uno de

R7 y R8 representan un grupo de fórmula $-NR_56(CO)O-$ u $-O(CO)NR_78-$

R9 es hidrógeno o

R8 y R9, tomados junto con el enlace entre los átomos de carbono a los que están unidos, representan un doble enlace entre dichos átomos de carbono;

5 R5a, R6a, R7a y R8a, independientemente uno de otro, son hidrógeno o alquilo C1-C6 que puede estar sustituido o no sustituido y en donde uno o varios enlaces simples pueden ser reemplazados por enlaces dobles y/o triples y en que un átomo de carbono puede aparecer como C=O y hasta dos átomos pueden ser N, O o S;

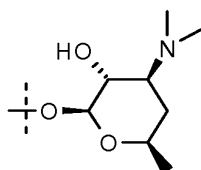
R56 y R78 son hidrógeno o alquilo C1-C6;

10 R5b, R5c, R6b, R6c, R7b, R7c, R8b y R8c, independientemente uno de otro, son hidrógeno, alquilo C1-C6 que puede estar sustituido o no sustituido y hasta dos átomos pueden ser N, O o S y en que un átomo de carbono puede aparecer como C=O, o -(C=O)heterociclilo o , tomados junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, forman un anillo de 4-7 miembros, de los cuales hasta dos átomos pueden ser N, O o S y un átomo de carbono puede aparecer como C=O;

R10 y R11 se seleccionan independientemente de hidrógeno, metilo; de grupos opcionalmente sustituidos, seleccionados de grupos arilo; aralquilo; heterociclilo y heterociclilalquilo, y uno de R10 y R11 también puede ser un grupo -L-A2-W; y

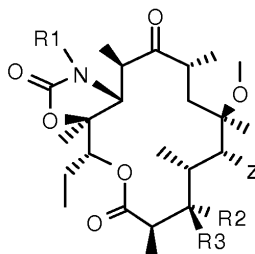
20 * indica un centro quiral que está en la forma (R) o (S); en donde

Z es un resto que no sea el grupo de fórmula



presente en compuestos macrólidos convencionales, que exhiben una actividad antibacteriana sustancial, o una variante hidroxilo-protégida de dicho resto.

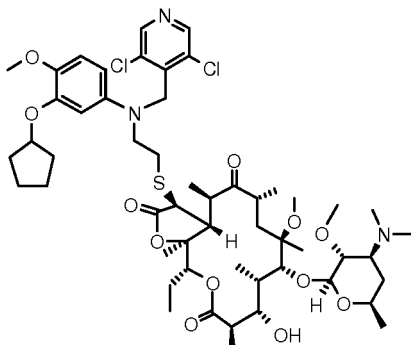
25 El documento WO2011/018510 describe compuestos macrólidos que tienen una subestructura carbamato 11,12-cíclica que tiene la fórmula



30 en donde R1 es un residuo -X-Q y X, Q y Z y los otros residuos tienen el mismo o un significado similar al del documento WO2009/106419. Estos compuestos son también activos como inhibidores de fosfodiesterasa, en particular PDE4, sin tener actividad antibacteriana significativa.

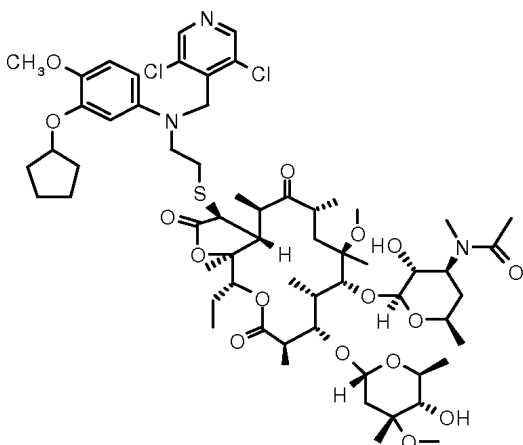
Los compuestos macrólidos descritos en los documentos WO2009/106419 y WO2011/018510 muestran muchas propiedades técnicas de aplicación favorables, pero aún dejan margen de mejora.

Por ejemplo, el compuesto del Ejemplo 9 del documento WO2009/106419, que tiene la siguiente fórmula:



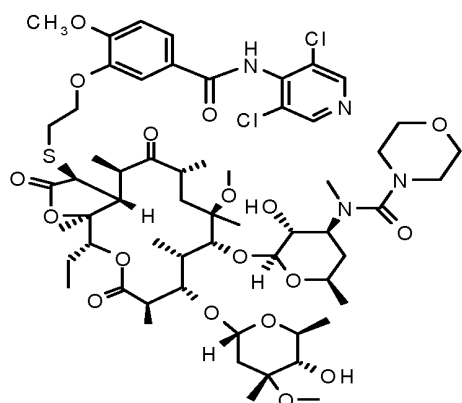
- 5 muestra una actividad inhibidora de PDE4 de buena a moderada, es antibacterianamente inactivo contra muchos tipos de bacterias patógenas, muestra una biodisponibilidad moderada, pero inhibe, por otro lado, la actividad del canal de hERG de forma bastante intensa.

El compuesto del Ejemplo 10 del documento WO2009/106419, que tiene la siguiente fórmula:



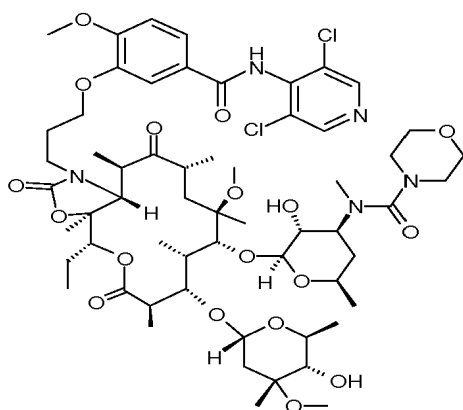
- 10 muestra una excelente actividad inhibidora de PDE4 y, en particular, exhibe una buena biodisponibilidad oral, por otro lado, sin embargo, exhibe todavía una fuerte actividad antibacteriana remanente contra determinados tipos de bacterias.

El compuesto del Ejemplo 15 del documento WO2009/106419, que tiene la siguiente fórmula:



por otra parte, muestra una excelente actividad inhibidora de PDE4, esta vez en combinación con una actividad antibacteriana fuertemente reducida contra un amplio espectro de diferentes tipos de bacterias. Su biodisponibilidad oral, sin embargo, es más bien baja.

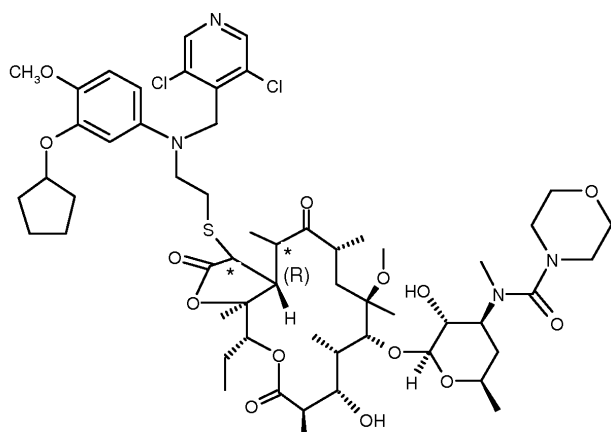
- 5 De manera similar, el compuesto del Ejemplo 2 del documento WO2001/018510, que tiene la fórmula:



- 10 muestra una biodisponibilidad oral de moderada a buena y una actividad inhibidora del canal de hERG aceptable. Su actividad inhibidora de PDE4, por el contrario, aún podría ser mejor y, aunque su actividad antibacteriana es baja contra muchas cepas bacterianas, hay algunas cepas tales como, p. ej., determinadas cepas de *Propionibacterium acnes*, contra las que dicho compuesto es todavía muy activo y en donde, por lo tanto, podría inducir resistencia contra macrólidos.

- 15 Ahora se ha encontrado, que el nuevo compuesto macrólido de fórmula (I) dada a continuación proporciona un excelente perfil farmacéutico global. En particular, muestra una excelente actividad inhibidora de PDE4 combinada con una actividad antibacteriana fuertemente reducida frente a un espectro muy amplio de diferentes tipos de bacterias y, en particular, una buena biodisponibilidad oral. Además, no inhibe la actividad del canal de hERG.

Objeto de la presente invención es, por consiguiente, un compuesto macrólido de fórmula (I):

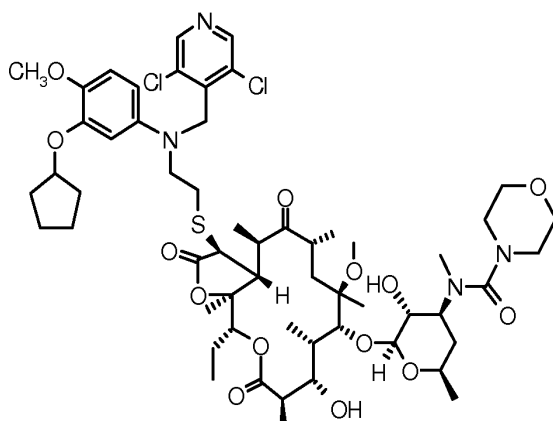


(I)

en donde

* indica un estereocentro que está en la configuración (R) o (S),
o una sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 5 Un objeto más específico de la presente invención es el macrólido de fórmula (I-A):



(I-A)

o una sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo.

La Tabla 1 proporciona una comparación de las propiedades del fármaco mencionadas en comparación con el compuesto macrólido de la técnica anterior, mencionado, estrechamente relacionado y otros derivados de macrólidos de estructura similar:

10

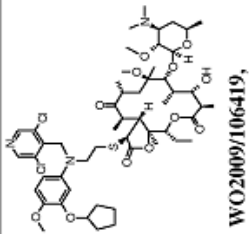
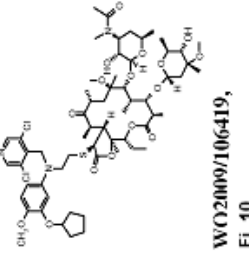
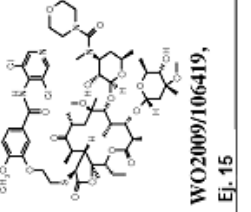
Tabla 1	IC₅₀ PDE4 (μM) (U937)	MIC (μg/ml) S. aureus ATCC29213	MIC (μg/ml) S. pyogenes ATCC19615	MIC (μg/ml) M. catarrhalis QK34	MIC (μg/ml) H. influenzae 3168	MIC (μg/ml) P. acnes EG7NS	MIC (μg/ml) P. granulosum EG13NS	Biodisp. oral (ratón % F)	Bloqueo de hERG a 1 μM (% corriente de cola restante)	Bloqueo de hERG a 10 μM (% corriente de cola restante)
Compuesto  WO2009/106419, Ej. 9	0.30	8	32	>32	>32	4	4	9	23.7	3.7
 WO2009/106419, Ej. 10	0.031	>32	8	8	32	4	2	25.5	95.9	85.5
 WO2009/106419, Ej. 15	0.071	>32	>32	>32	>32	>32	>32	4.6	100	98.6

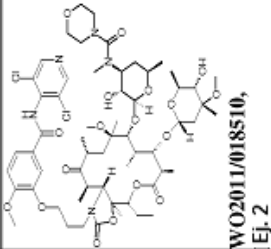
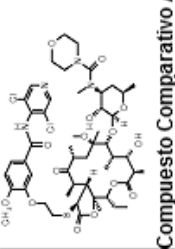
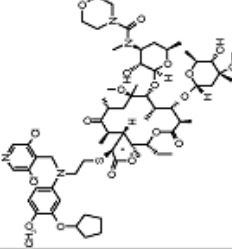
Tabla 1 continúa	IC50 PDE4 (μM) (U937)	MIC (μg/ml) S. aureus ATCC29213	MIC (μg/ml) S. pyogenes ATCC19615	MIC (μg/ml) M. catarrhalis QK34	MIC (μg/ml) H. influenzae 3168	MIC (μg/ml) P. acnes EG7NS	MIC (μg/ml) P. granulosum EG13NS	Biodisp. oral (ratón % F)	Eloqueo de hERG a 1 μM (% corriente de cola restante)	Eloqueo de hERG a 10 μM (% corriente de cola restante)
Compuesto  WO2011/018510, Ej. 2	0.876	>32	>32	>32	>32	2	>32	16.2	99	84
Compuesto Comparativo A 	0.0001	>32	>32	>32	>32	>32	>32	11.5	99.9	100
Compuesto Comparativo B 	0.043	>32	>32	>32	>32	>32	>32	1.5	99.2	82.9

Tabla 1 continúa Compuesto		IC50 PDE4 (μM) (U937)	MIC (μg/ml) S. aureus ATCC29213	MIC (μg/ml) S. pyogenes ATCC19615	MIC (μg/ml) M. catarrhalis QK34	MIC (μg/ml) H. influenzae 3168	MIC (μg/ml) P. acnes EG7NS	MIC (μg/ml) P. granulosum EG13NS	Biodisp. oral (ratón % F)	Bloqueo de hERG a 1 μM (% corriente de cola restante)	Bloqueo de hERG a 10 μM (% corriente de cola restante)
Compuesto		0.035	>32	>32	>32	>32	>32	>32	22.8	99.9	98
Compuesto de Fórmula (I-A) de acuerdo con la presente invención											

Para los fines de la presente invención, se entiende que la expresión "compuesto macrólico" incluye las formas estereoméricas separadas de los compuestos así como mezclas de diastereoisómeros.

El compuesto macrólico de acuerdo con la invención puede, si se desea, estar presente y utilizarse como una sal por adición de ácidos farmacéuticamente aceptable. No sólo entran en consideración las sales con ácidos inorgánicos, sino también sales con ácidos orgánicos. Hidrocloruros, hidrobromuros, sulfatos, incluyendo hidrógeno-sulfatos, nitratos, citratos, acetatos, trifluoroacetatos, maleatos, succinatos, metanosulfonatos, p-toluenosulfonatos y similares son ejemplos de dichas sales.

Los ésteres farmacéuticamente aceptables, tal como se entienden en esta memoria, son, en particular, ésteres escindibles *in vivo* tales como, en particular, ésteres con el grupo 2'-hidroxi del resto azúcar. Ésteres adecuados son, p. ej., acetatos, ésteres de pivaloilo, tartratos, maleatos, succinatos y similares. Particularmente preferido es el compuesto de fórmula (I) como tal, es decir, no en forma de una sal o éster.

El compuesto de la invención exhibe una excelente actividad inhibidora frente a las fosfodiesterasas (PDE), en particular hacia PDE4, en particular fosfodiesterasas (PDEs) humanas y PDE4 humana, que se ha demostrado están implicadas, en particular, en procesos inflamatorios (véase, p. ej., Lipworth B.J., Lancet (2005) 365, p. 167 o Gienbycz M.A., Curr. Opin. Pharmacol. (2005), 5, p. 238). Un compuesto de acuerdo con la presente invención para uso en el tratamiento de enfermedades y trastornos en un sujeto, seleccionado de animales tales como mamíferos y, en particular, seres humanos, que pueden mejorar o aliviar por la inhibición de fosfodiesterasas, en particular la fosfodiesterasa 4 (PDE4) es, por lo tanto, un aspecto adicional de la presente invención. Sobre la base de esta actividad, el compuesto de la presente invención es particularmente útil para la prevención y/o el tratamiento de enfermedades inflamatorias, así como para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades alérgicas y autoinmunes y para la prevención y/o el tratamiento de enfermedades asociadas con un crecimiento incontrolado, proliferación y/o supervivencia de las células de esos sujetos, p. ej., cáncer. Se prefiere el uso para los seres humanos.

Ejemplos particularmente importantes de enfermedades, para las que se puede utilizar el compuesto de la presente invención o sus sales por adición de ácidos o ésteres farmacéuticamente aceptables, son la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), asma, artritis reumatoide, psoriasis, dermatitis atópica, enfermedad inflamatoria intestinal y el tratamiento de enfermedades humanas o animales asociadas con el crecimiento incontrolado, la proliferación y/o la supervivencia de células de esos objetos, es decir, enfermedades cancerosas.

El compuesto de la presente invención y sus sales por adición de ácidos o ésteres farmacéuticamente aceptables pueden, sin embargo, también utilizarse para la prevención y/o el tratamiento de enfermedades tales como bronquitis crónica, enfisema, urticaria, rinitis alérgica, conjuntivitis alérgica, choque séptico, síndrome de insuficiencia respiratoria en adultos y esclerosis múltiple.

El más preferido es un compuesto de la presente invención o sus sales por adición de ácidos o ésteres farmacéuticamente aceptables para uso en el tratamiento de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD) o psoriasis.

Una forma de realización adicional de la presente invención son, por lo tanto, medicamentos que comprenden el Compuesto de Fórmula (I) o una sal por adición de ácidos o éster del mismo farmacéuticamente aceptable para la prevención y, preferiblemente, para el tratamiento de enfermedades inflamatorias, enfermedades alérgicas o autoinmunes o enfermedades asociadas con un crecimiento, proliferación y/o supervivencia incontrolados de células de sujetos seleccionados de animales, p. ej., mamíferos, y preferiblemente seres humanos, en particular en forma de preparaciones farmacéuticas para la administración enteral (oral). Los productos de acuerdo con la invención se pueden administrar, en particular, por vía oral tal como en forma de comprimidos, comprimidos recubiertos con película, comprimidos recubiertos con azúcar, cápsulas duras y blandas, disoluciones, emulsiones o suspensiones, pero también por vía rectal tal como en forma de supositorios, o parenteralmente, p. ej., mediante inyección, o por vía nasal o por inhalación o por vía transdérmica, o localmente, p. ej., por administración tópica. De manera particularmente preferida, los compuestos se administran por vía tópica o, más preferiblemente, por vía oral.

Las composiciones farmacéuticas que contienen el compuesto de acuerdo con la invención o sales farmacéuticamente aceptables o ésteres de los mismos se pueden preparar utilizando procedimientos convencionales, familiares para los expertos en la técnica, tales como mediante la combinación de los ingredientes en una forma de dosificación junto con materiales de soporte inertes, no tóxicos, terapéuticamente sólidos o líquidos compatibles y, si se desea, uno o más de los adyuvantes farmacéuticos habituales.

Se contempla que el compuesto de la presente invención se realice, p. ej., en composiciones de formas de dosificación oral adecuadas. Las composiciones de esta invención pueden contener, como ingredientes opcionales, cualquiera de los diversos adyuvantes que se utilizan habitualmente en la producción de preparaciones farmacéuticas. Así, p. ej., en la formulación de las presentes composiciones en las formas de dosificación orales deseadas, se pueden utilizar, como ingredientes opcionales, cargas tales como celulosa microcristalina, fosfato de calcio o lactosa; agentes disgregantes tales como almidón, carboximetilcelulosa sódica reticulada o polivinilpirrolidona reticulada; y agentes lubricantes, tales como talco, estearato de magnesio, estearato de calcio, y similares. Debe entenderse totalmente, sin embargo, que los ingredientes opcionales nombrados en esta memoria se dan a modo de ejemplo solamente y que la invención no se limita al uso de los mismos. Otros adyuvantes de este tipo, que son bien conocidos en la técnica, se pueden emplear en la realización de esta invención.

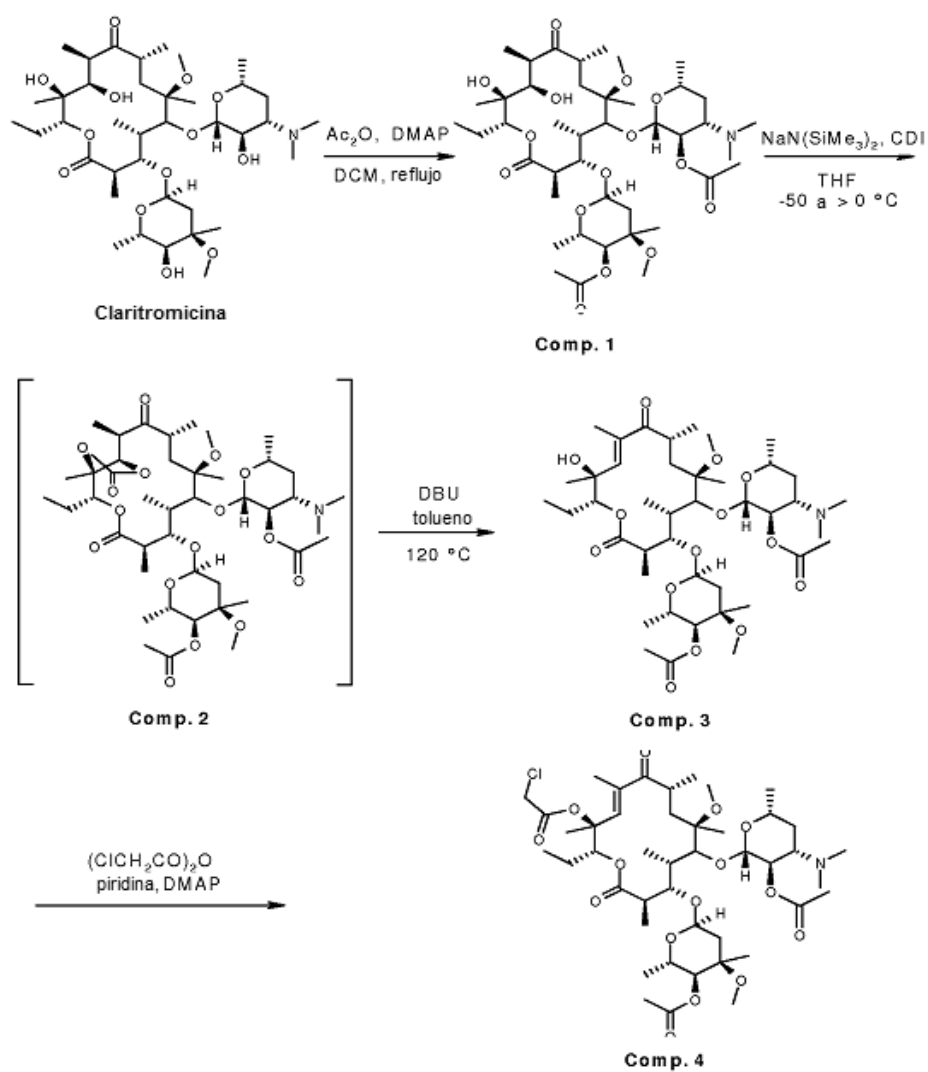
Adecuados como tales materiales de soporte no son sólo materiales de soporte inorgánicos, sino también orgánicos. Por lo tanto, para comprimidos, comprimidos revestidos con película, comprimidos revestidos con azúcar y cápsulas duras se pueden utilizar, p. ej., lactosa, almidón de maíz o derivados de los mismos, talco, ácido esteárico o sus sales. Soportes adecuados para cápsulas blandas son, p. ej., aceites vegetales, ceras, grasas y polioles semisólidos y líquidos (dependiendo de la naturaleza de la sustancia activa). Materiales de soporte adecuados para la preparación de disoluciones y jarabes son, p. ej., agua, alcoholes, polioles, sacarosa, azúcar invertido y glucosa.

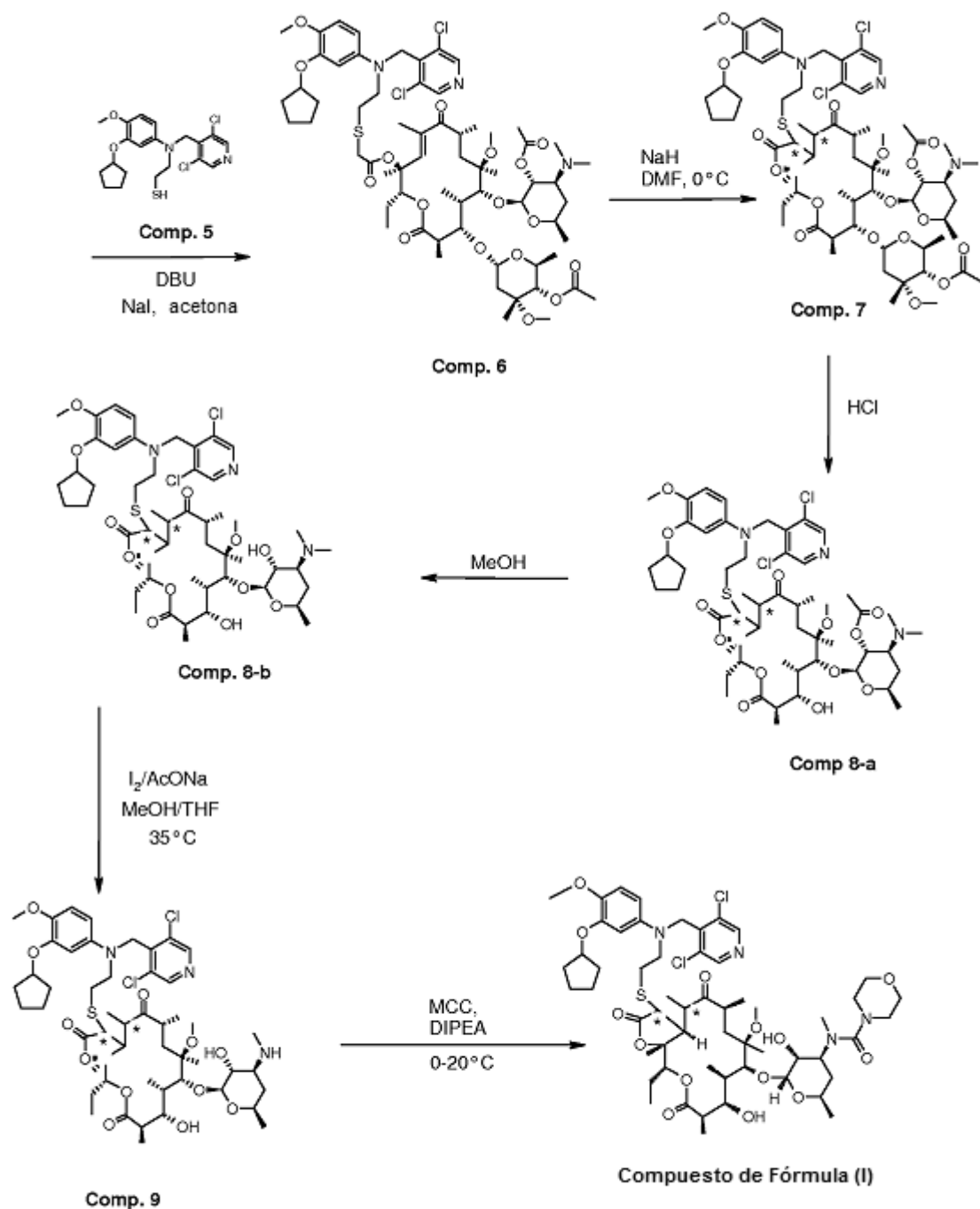
Como adyuvantes farmacéuticos se contemplan los habituales conservantes, solubilizantes, estabilizantes, agentes humectantes, emulsionantes, edulcorantes, colorantes, agentes aromatizantes, sales para ajustar la presión osmótica, tampones, agentes de revestimiento y antioxidantes.

Para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades inflamatorias y alérgicas en mamíferos, humanos y no humanos, es habitual una dosificación diaria de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 2000 mg, en especial de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 1000 mg, en donde los expertos ordinarios en la técnica apreciarán que la dosificación dependerá también de la edad, estados de los mamíferos y el tipo de enfermedades a tratar o prevenir. La dosificación diaria puede administrarse en una dosis única o se puede dividir en varias dosis. Se puede contemplar una dosis única media de aproximadamente 10 mg, 50 mg, 100 mg, 250 mg, 500 mg y 1000 mg.

La preparación del compuesto de fórmula I, p. ej., se puede llevar de acuerdo con o de forma análoga a métodos descritos en el documento WO2009/106419.

Un modo preferido para preparar el compuesto de fórmula (I) de la presente solicitud se muestra en el siguiente esquema de reacción, en el que el asterisco * indica un estereocentro de los compuestos que está en configuración (R) o (S), a partir de claritromicina:





Clarithromicina se convierte en el Compuesto 1 sometiéndola a reflujo en diclorometano (DCM) con anhídrido de ácido acético y 4-dimetilaminopiridina (DMAP).

- 5 El Compuesto 1 se disuelve en THF a -50°C y se trata con una disolución de bis(trimetilsilil)amida de sodio en THF. A continuación, se añade carbonildiimidazol (CDI) en THF. La mezcla de reacción se mantiene a aproximadamente -50°C durante 15 min a 1 hora y después se calienta a 0°C y se mantiene a 0-5°C durante algunas horas (1 a 6) y el Compuesto 2 obtenido se aísla opcionalmente y se purifica opcionalmente.

El Compuesto 2 en THF se calienta a 80 hasta 130°C durante varias horas (5 a 30) en presencia de 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU) y el Compuesto 3 obtenido se aísla y se purifica opcionalmente.

5 El grupo hidroxilo en la posición 12 del Compuesto 3 se esterifica de acuerdo con métodos estándares, mediante tratamiento, por ejemplo, con ácido 2-cloroacético, un agente de activación tal como DCC y DMAP, o con anhídrido 2-cloroacético, piridina, DMAP en un disolvente tal como cloruro de metileno para obtener el Compuesto 4.

El Compuesto 4 se trata después con el Compuesto 5, que se prepara, p. ej., tal como se describe más adelante, en acetona en presencia de una base tal como DBU y yoduro de sodio para dar el Compuesto 6.

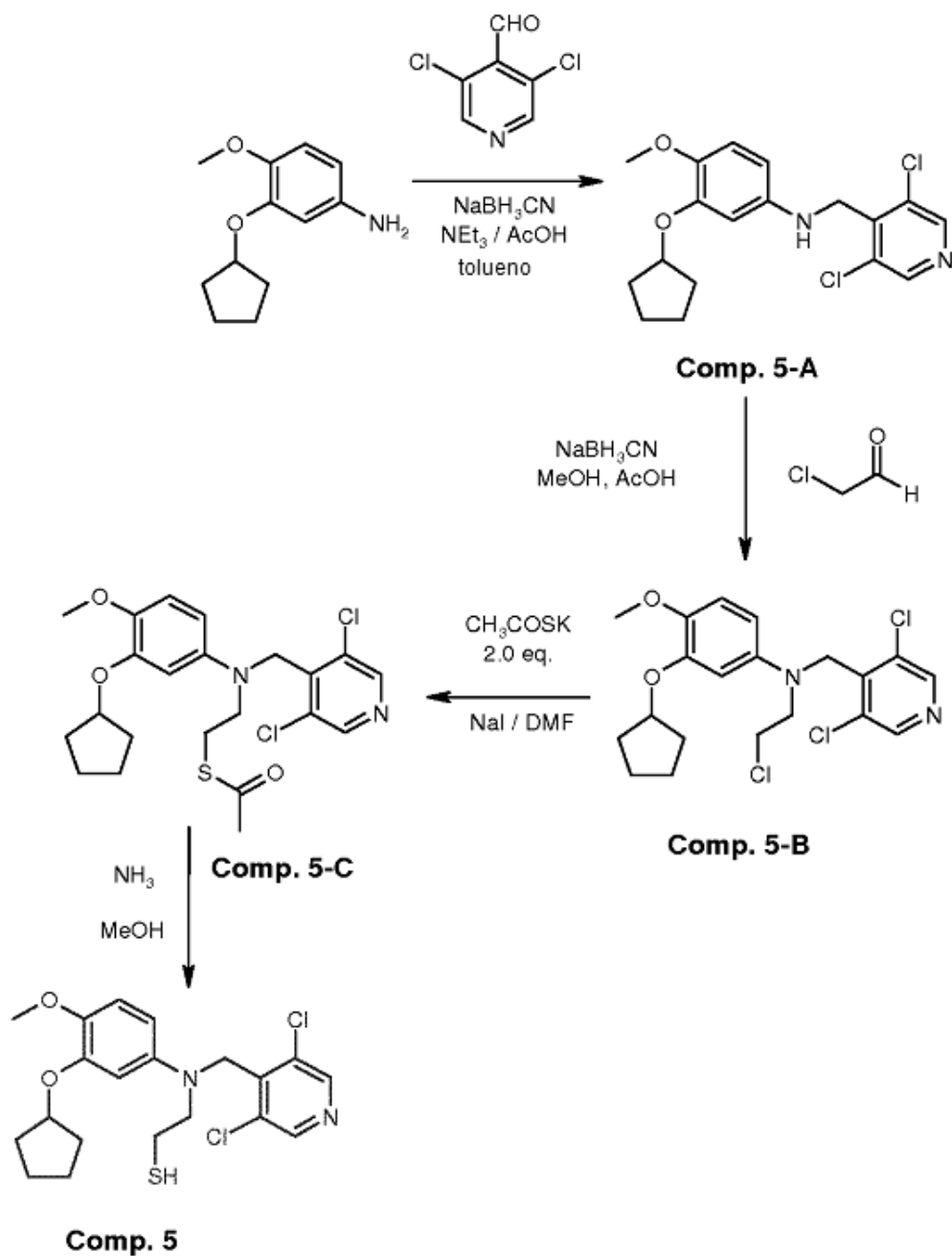
10 El Compuesto 6 se trata a continuación a una temperatura entre aproximadamente -20°C y 5°C con una base de metal alcalino tal como NaH o *terc.*-butóxido de potasio o LDA en un disolvente aprótico tal como DMF o THF para dar el Compuesto 7.

El resto azúcar cladinosa protegido del Compuesto 7 se escinde tratando el Compuesto 7 con un ácido tal como ácido clorhídrico en un disolvente tal como acetonitrilo para dar el Compuesto 8-a, que se desprotege de acuerdo con métodos bien conocidos en la técnica, p. ej., con metanol a una temperatura entre 20°C y 40°C, para dar el Compuesto 8-b.

15 El grupo 3'-dimetilamino del Compuesto 8-b se monodesmetila entonces por reacción con halógeno, preferiblemente yodo, en un disolvente inerte tal como metanol, dioxano, dioxano acuoso, THF, THF acuoso o DMF o una mezcla de los mismos en presencia de una base tal como hidróxido alcalino o, en particular, acetato de sodio, propionato de sodio o benzoato de sodio a una temperatura de aproximadamente -10°C a 50°C durante 5 a 72 horas para proporcionar el Compuesto 9. La conversión se describe, p. ej., en el documento US 3.725.385. Preferiblemente, la
20 conversión se realiza con yodo en una mezcla de metanol y THF en presencia de acetato de sodio como base a una temperatura de aproximadamente 30 a 40°C.

25 El Compuesto 9 se hace reaccionar finalmente con cloruro de 4-morfolincarbonilo (MCC) en presencia de una base tal como NaH o, preferiblemente, diisopropiletilamina (DIPEA) en un disolvente inerte tal como THF o DMF a una temperatura de aproximadamente 0°C a 25°C para proporcionar el producto final deseado del Compuesto de Fórmula (I), que puede entonces, si se desea, convertirse adicionalmente en una sal por adición de ácidos farmacéuticamente aceptable o éster de acuerdo con métodos bien conocidos en la técnica.

El Compuesto 5, requerido para la conversión de Compuesto 4 en Compuesto 6, se puede preparar, p. ej., de acuerdo con el siguiente esquema de reacción:



5 A una mezcla de 3-ciclopentiloxi-4-metoxi-fenilamina (obtenida, p. ej., de acuerdo con Garcia et al., JOC, 2005, 70, p 1050) y 3,5-dicloro-4-piridinacarboxaldehído en un disolvente inerte tal como THF se añadió trietilamina y ácido acético y después se añadió cianoborohidruro de sodio (NaBH_3CN). La mezcla se agita aproximadamente a la temperatura ambiente durante aproximadamente 30 min a aproximadamente 2 horas, para proporcionar el Compuesto 5-A mediante aminación reductora directa.

Compuesto 5-A en metanol disuelto se hace reaccionar a continuación a aproximadamente la temperatura ambiente con una mezcla de cloroacetaldehído y agua en presencia de NaBH_3CN y ácido acético durante aproximadamente 3 a 10 horas para proporcionar el Compuesto 5-B.

El Compuesto 5-B se hace reaccionar con aproximadamente dos equivalentes de tioacetato de potasio en presencia de yoduro de sodio en un disolvente inerte tal como, p. ej., DMF a una temperatura de aproximadamente 50 a 60°C para proporcionar el Compuesto 5-C, que finalmente se saponifica con amoníaco/metanol a una temperatura de aproximadamente 0°C a 20°C para proporcionar el Compuesto 5.

5 Ejemplo:

Abreviaturas: DBU para diazabicycloundecano; DCM para diclorometano; DIPEA para diisopropiletilamina (base de Huenig); DMF para dimetilformamida; MeOH para metanol; THF para tetrahidrofurano; MS para espectrometría de masas; RMN para resonancia magnética nuclear.

Los números de los compuestos a los que se alude en el Ejemplo corresponden a los números de los compuestos mencionados en los esquemas de reacción anteriores.

Síntesis de Compuesto 6

1,8 g (2,02 mmol) de Compuesto 4, preparados de acuerdo con el documento WO2006084410, Ejemplo 1, A] a D], y 0,9 g (2,02 mmol) de Compuesto 5, preparado tal como se describe más adelante, se disuelven en 20 ml de DMF y, a continuación, se añaden 0,92 g (6,06 mmol) de DBU y 121 mg (0,81 mmol) de NaI. La disolución se agita durante 1,0 horas a temperatura ambiente. El disolvente se separa en vacío, el residuo se vierte en 50 ml de disolución de 0,5M ac. de KH_2PO_4 y la mezcla resultante se extrae dos veces con 50 ml de DCM. Las capas orgánicas reunidas se lavan con agua y salmuera, se secan sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentran en vacío para dar el producto bruto, que se purifica mediante cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: DCM/MeOH = 100/1 a 50/1) para dar 1,7 g del producto deseado en forma de una espuma de color amarillo claro.

MS (ESI): 640,9 $[\text{M} + 2\text{H}]^{2+}$
 1H-RMN (CDCl₃): (señales de diagnóstico solamente) 8,44 (s, 2H); 6,74 (d, 1H); 6,59 (s, 1H); 6,50 (s, 1H); 6,48 (dd, 1H); 5,68 (d, 1H); 4,97 (s ancho, 1H); 4,66-4,72 (m, 3H); 4,60 (m, 1H); 4,48 (s, 2H); 4,35 (s ancho, 1H); 3,78 (s ancho, 4H); 3,63 (s ancho, 1H); 3,56 (dd, 1H); 3,20-3,33 (m, 6H); 3,16 (s, 3H); 2,66-2,76 (m, 3H); 2,40 (d, 1H); 2,26 (s ancho, 6H); 2,14 (s, 3H); 2,04 (s, 3H); 0,92-0,99 (m, 3H); 0,85 (t, 3H).

25 Síntesis de Compuesto 7

2,0 g (1,56 mmol) de Compuesto 6 se disuelven bajo atmósfera de nitrógeno en 30 ml de DMF, la disolución se enfría a -20°C, se añaden 54 mg (1,4 mmol, dispersión al 60% en aceite) de NaH y la mezcla se agita a -20°C hasta que la HPLC indicó que no quedaba material de partida. A continuación, se añaden 100 ml de agua, la mezcla se extrae 3 veces con 50 ml de DCM y las capas orgánicas reunidas se lavan con agua y salmuera, se secan sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentra en vacío para dar 2,6 g del producto bruto en forma de aceite de color pardo, que se purifica mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con DCM/MeOH (V/V, 60/1) para proporcionar 1,1 g del producto deseado en forma de espuma de color amarillo.

MS (ESI): 1282,5 $[\text{MH}]^+$ y 641,7 $[\text{M} + 2\text{H}]^{2+}$
 1H-RMN (CDCl₃): (señales de diagnóstico solamente) 8,40 (s, 2H); 6,70 (d, 1H); 6,46 (s, 1H); 6,42 (dd, 1H); 5,38 (d, 1H); 4,93 (s ancho, 1H).

Síntesis de Compuesto 8-a

600 mg (0,47 mmol) de Compuesto 7 se disuelven en 15 ml de acetonitrilo y, a continuación, se añaden 24 ml de ácido clorhídrico 1N. La mezcla de reacción se agita a 30°C durante 16 h. La fase acuosa se ajusta a pH = 7 con disolución ac. de NaHCO_3 2N. La mezcla resultante se extrae dos veces con 30 ml de DCM, las capas orgánicas reunidas se lavan con agua y salmuera, se secan sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentran en vacío para dar 0,5 g del producto bruto en forma de espuma de color amarillo.

MS (ESI): 1080,4 $[\text{MH}]^+$ y 540,9 $[\text{M} + 2\text{H}]^{2+}$

Síntesis de Compuesto 8-b

1,5 g (1,39 mmol) de compuesto 4 se disuelven en 30 ml de MeOH y la disolución se agita durante 16 h a 30°C. A continuación, el disolvente se separa en vacío y el residuo se purifica mediante cromatografía de resolución instantánea en gel de sílice (DCM/MeOH 60: 1) para proporcionar 400 mg del producto deseado.

MS (ESI): 1038,4 [MH]⁺ y 519,9 [M + 2H]²⁺

- 5 1H-RMN (CDCl₃): (señales de diagnóstico solamente) 8,43 (s, 2H); 6,75 (d, 1H); 6,50 (s, 1H); 6,44 (dd, 1H); 5,52 (d, 1H); 4,71 (s ancho, 1H); 4,58-4,61 (m, 3H); 4,40 (s, 1H); 3,77 (s, 3H); 3,71 (s, 1H); 3,47-3,60 (m, 5H); 3,37-3,42 (m, 1H); 2,83-2,88 (m, 1H); 2,47-2,49 (m, 1H); 2,06-2,08 (m, 1H); 1,44 (s, 3H); 1,25-1,38 (m, 9H); 1,08-1,14 (m, 9H); 0,83 (t, 3H).

Síntesis de Compuesto 9

- 10 200 mg (0,15 mmol) de compuesto 5 se disuelven en una mezcla de MeOH y THF (10 ml de MeOH/2 ml de THF) y se añaden 63 mg (0,77 mmol) de acetato de sodio. La mezcla se agita a 30~35°C durante 30 minutos y, a continuación, se añaden 177 mg de I₂ (0,70 mmol). La mezcla de reacción negra se agita a 30-35°C durante 5 h. Se añade disolución ac. saturada de Na₂S₂O₃ hasta que el color de I₂ se desvanece. El disolvente se separa en vacío, el residuo se vierte en 30 ml de agua y se extrae dos veces con 50 ml de DCM. Las capas orgánicas reunidas se lavan
- 15 con agua y salmuera, se secan sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentran en vacío para dar el producto bruto, que se purifica por cromatografía de resolución instantánea en gel de sílice (DCM/MeOH 100:1 - 20:1) para proporcionar 70 mg del producto deseado en forma de espuma de color amarillo.

MS (ESI): 1026,4 [MH]⁺ y 513,8 [M + 2H]²⁺

Síntesis del Compuesto de Fórmula (I) de acuerdo con la invención

- 20 A una disolución de 10,0 g (4,88 mmol) de Compuesto 9 en 150 ml THF se añaden 1,89 g (14,63 mmol) de DIPEA a 0-5°C bajo atmósfera de nitrógeno. La mezcla se agita durante 30 minutos y se añaden 1,46 g (9,75 mmol) de cloruro de 4-morfolinilcarbonilo (MCC). La mezcla se agita a 20°C durante 20 h. El disolvente se separa a presión reducida. El residuo se disuelve en 200 ml de DCM y se lava con agua y salmuera, se seca sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentra en vacío para dar el producto bruto, que se purifica por cromatografía de resolución instantánea en gel
- 25 de sílice (DCM/MeOH = 200:1~ 50:1) para dar 4,6 g del producto deseado en forma de una espuma de color amarillo.

MS (ESI): 1137,5 [M + H]⁺, 569,2 [M + 2H]²⁺

- 30 1H-RMN (DMSO-d₆): 8,59 (s, 1H); 8,59 (s, 1H); 6,79 (d, 1H); 6,49 (d, 1H); 6,44 (dd, 1H); 5,33 (dd, 1H); 5,23 (d, 1H); 4,90 (d, 1H); 4,71 (m, 1H); 4,67 (d, 1H); 4,62 (d, 1H); 4,56 (d, 1H); 4,25 (s, 1H); 3,68 (s, 1H); 3,65 (m, 1H); 3,65 (s, 3H); 3,61 (m, 1H); 3,56 (m, 4H); 3,52 (m, 1H); 3,39 (m, 1H); 3,24 (dd, 1H); 3,20 (m, 1H); 3,12 (m, 2H); 3,08 (m, 1H); 3,05 (m, 2H); 2,93 (m, 1H); 2,88 (s, 3H); 2,78 (m, 1H); 2,71 (s, 3H); 2,59 (s, 1H); 2,56 (dd, 1H); 2,34 (m, 1H); 1,90 (m, 1H); 1,87 (m, 1H); 1,78 (m, 2H); 1,68 (1H); 1,67 (m, 2H); 1,66 (m, 2H); 1,63 (m, 1H); 1,55 (1H); 1,52 (m, 2H); 1,46 (m, 1H); 1,45 (m, 1H); 1,41 (s, 3H); 1,17 (s, 3H); 1,15 (d, 3H); 1,11 (d, 3H); 1,05 (d, 3H); 0,98 (d, 3H); 0,94 (d, 3H); 0,75 (t, 3H).

35 Síntesis del compuesto 5-C

A una disolución de 2,6 g (6,05 mmol) del compuesto 5-B, preparado de acuerdo con el documento WO2009098320, Ejemplo 15, A] y B], en 30 ml de DMF se añaden 1,38 g (12,1 mmol) de tioacetato de potasio y 181 mg de yoduro de sodio (1,21 mmol). La mezcla de reacción se agita a 60°C durante 5 h y después se añaden 100 ml de agua; la mezcla se extrae dos veces con 100 ml de acetato de etilo. Las capas orgánicas reunidas se lavan con agua y

40 salmuera, se secan sobre Na₂SO₄ y se concentran en vacío para dar 2,8 g del producto deseado en forma de un sólido amarillo.

MS (ESI): 469,1 [MH]⁺

Síntesis de Compuesto 5

- 45 8,0 g (17,0 mmol) de Compuesto 5-C se disuelven en 150 ml de metanol y, a continuación, se burbujea gas amoníaco en la disolución a 5°C. La disolución resultante se agita durante 4 horas a esta temperatura bajo una atmósfera de amoníaco, después se evapora en vacío para dar 7,5 g del producto deseado en forma de un sólido amarillo. El producto se almacena bajo una atmósfera de argón.

MS (ESI): 427,2 [MH]⁺

Los datos de la actividad biológica del Compuesto de Fórmula (I) de acuerdo con la presente invención y los compuestos comparativos dados en la Tabla 1 se determinan como sigue:

Preparaciones Enzimáticas:

- 5 PDE4 es parcialmente purificada a partir de células monocíticas humanas (U937) no diferenciadas de acuerdo con Thorpy et al. 1992 (J. Pharmacol Exp Ther 263: 1195). Las células se cultivaron en medio de Dulbecco modificado por Iscove (GIBCO) con suero fetal bovino al 5% (GIBCO) y 100 µg/ml de penicilina-estreptomicina (GIBCO). Las células se rompen mediante tratamiento con ultrasonidos y PDE4 se purifica por cromatografía de intercambio aniónico sobre DEAE-Sepharose CL-6B (GE Healthcare). Las preparaciones finales son específicas para cAMP y no hidrolizan cGMP por encima del límite de detección del ensayo. Además, las preparaciones de PDE4 son validadas mediante estudios de inhibición con inhibidores de PDE4-PDE específicos e inespecíficos.

Ensayos Enzimáticos:

- 15 Las PDEs hidrolizan específicamente cAMP y/o cGMP y liberan el producto AMP y/o GMP. La potencia de inhibición de la PDE por los compuestos de ensayo se determina con un ensayo enzimático in vitro comercialmente disponible (ensayo de Polarización de la Fluorescencia IMAF[®], Molecular Devices Corp.). cAMP o cGMP marcado por fluorescencia es hidrolizado por las preparaciones de PDE y en una segunda etapa, la unión del producto marcado para formar un gran participante de unión permite la detección de productos mediante mediciones con polarización por fluorescencia (FP).
- 20 Las disoluciones patrón de los compuestos de ensayo se hacen en DMSO y se diluyen en tampón de ensayo (Tris-HCl 10 mM, MgCl₂ 10 mM, BSA al 0,1%, NaN₃ al 0,05% pH 7,2) a las concentraciones deseadas. Las disoluciones utilizadas en el ensayo contienen el compuesto de ensayo en tampón de ensayo con DMSO al 2%. 5 µl de esta disolución de compuesto de ensayo diluido previamente se mezclan con 10 µl de sustrato (FL-cAMP o FL-cGMP) en las concentraciones recomendadas por el fabricante y con 5 µl de PDE apropiadamente diluida. 5 µl de tampón de reacción con DMSO al 2% se utilizan para las reacciones de control. La concentración final de DMSO en el ensayo es 0,5%, que no altera significativamente la actividad de PDE. Después de incubación durante 90 minutos a temperatura ambiente, se añaden 60 µl de reactivo de unión tal como se especifica por el fabricante. Se permite que la unión prosiga durante 30 minutos y se mide la polarización de fluorescencia. La dependencia de la dosis de la inhibición de PDE se mide mediante el ensayo de series de diluciones de compuestos de ensayo. Los valores CI₅₀ se determinan a partir de las actividades medidas por ajuste de curvas.

Determinación de MIC:

- 35 Todos los valores de MIC se determinan por microdilución en caldo de acuerdo con las directrices del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, Wayne PA, EE.UU.). *Staphylococcus aureus* ATCC29213 se cultiva en agar de Müller-Hinton (MHA) (Becton Dickinson) y luego en caldo ajustado en cationes de Müller Hinton (CaMHB) (Becton Dickinson) durante 24 h a 37°C. *Streptococcus pyogenes* ATCC19615 y *Moraxella catharrhalis* QK34 se cultivan en MHA con sangre de caballo barnizada al 2,5% (Oxoid). Cultivos líquidos en CaMHB + suero de caballo al 5% (Sigma) se incuban durante 24 h a 35°C en una atmósfera de 5% de CO₂. *Haemophilus influenzae* 3168 se cultiva en MHA + extracto Fildes al 2,5% (Oxoid). Los cultivos líquidos se hacen crecer en CaMHB + extracto Fildes al 5% a 35°C en una atmósfera de 5% de CO₂. *Propionibacteria* se cultivan en agar de Wilkins-Chalgren (WCA) (Oxoid) durante 72 h bajo condiciones anaerobias. Los cultivos líquidos se hacen crecer anaeróticamente en caldo de Wilkins-Chalgren (WCB) (Oxoid) durante 48 h a 35°C. Los valores de MIC se obtienen mediante microdilución en caldo utilizando WCB (Caldo Anaerobio MIC, Difco). Placas de microtitulación se cargan en frascos de incubación anaerobia de 7 L Genbox (BioMerieux), equipados con generadores de atmósfera anaerobia (BioMerieux) y una Tira Indicadora Anaerobia Seca (BBL). En estas condiciones, una concentración de O₂ <0,1% se consigue hacia las 2,5 h, y una concentración de CO₂ > 15% hacia las 24 h. Los valores de MIC se leen después de incubación a 35-37°C durante 48 h.

Biodisponibilidad oral:

Las concentraciones de fármaco en la sangre o plasma se determinan como una función del tiempo en los estudios farmacocinéticos. Los ratones se trataron con el compuesto de ensayo a dosis definidas. 10 mg/kg se utilizan para la administración oral y 1 mg/kg se toma para la administración intravenosa. Las muestras de sangre o plasma se

recogen en los momentos definidos y el contenido de fármaco se determina mediante LC-MS/MS. La concentración de fármaco se representa como una función del tiempo y el área no intravenosa (oral) y el área intravenosa bajo la curva (AUC) se calculan utilizando la regla trapezoidal lineal. La biodisponibilidad oral se calcula después utilizando AUC normalizados a la dosis con la siguiente fórmula:

$$F [\%] = AUC_{\text{oral}} / AUC_{\text{intravenosa}} * 100$$

Bloqueo del canal de hERG:

La técnica del pinzamiento zonal de la membrana de células completas se utiliza para medir el efecto de compuestos de ensayo sobre las corrientes de cola de hERG a partir de células HEK 293 transfectadas de manera estable (B'SYS GmbH, CH-4108 Witterswil, Suiza). DMSO al 0,1% se utiliza como vehículo y el sistema se valida con 10 nM del bloqueador de I_{Kr} selectivo E-4031.

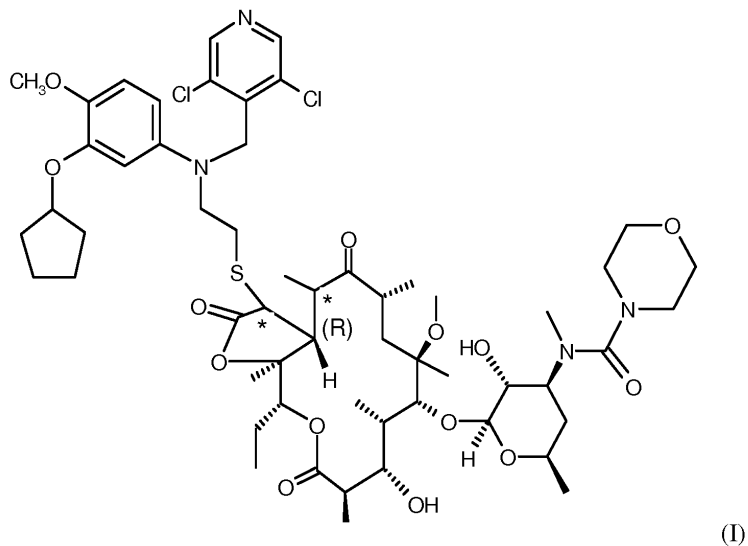
Las células se cultivan en frascos de cultivo a 37°C en una atmósfera humidificada con 5% de CO₂ y se hacen pasar cuando son 50-80% confluentes. El medio de cultivo es una mezcla 1:1 de medio de Eagle modificado por Dulbecco y mezcla de nutrientes F-12 (D-MEM/F-12 1x, con L-glutamina), complementado con suero bovino fetal al 9% y disolución de penicilina/estreptomicina al 0,9%. Para las mediciones electrofisiológicas, las células se siembran en placas de cultivo estériles de 35 mm que contienen 2 ml de medio de cultivo con antibióticos (el medio completo fue complementado con 100 µg/ml de higromicina B y 15 µg/ml de blasticidina). Las células se cultivan a una densidad que permite que las células individuales sean medidas con el fin de evitar la incertidumbre debida a las células acopladas eléctricamente (Pritchett et al. 1988, Verdoorn et al. 1990). Disoluciones de material de DMSO de compuestos de ensayo se diluyeron apropiadamente con disolución de baño (HEPES 10 mM pH 7,4, NaCl 137 mM, KCl 4 mM, CaCl₂ 1,8 mM, MgCl₂ 1 mM, D-glucosa 10 mM). Disolución de la pipeta (HEPES 10 mM pH 7,2, KCl 130 mM, MgCl₂ 1 mM, Mg-ATP 5 mM, EGTA 5 mM) se preparó y se almacenó como partes alícuotas congeladas entre -10°C y -30°C.

Las placas de cultivo de 35 mm se colocan bajo el microscopio y se perfunden continuamente con disolución del baño en aproximadamente 1 ml/min. Todas las disoluciones aplicadas a las células, incluyendo la disolución de la pipeta se mantienen a temperatura ambiente (19°C - 30°C). Después de la formación de un sello de gigaOhm entre los electrodos de conexión y una celda individual (intervalo de resistencia de la pipeta: 2,0 MW - 7,0 MW; intervalo de resistencia del sello: > 1 GW) la membrana celular a través de la punta de la pipeta se rompe para asegurar el acceso eléctrico al interior de la célula (configuración de pinzamiento de células enteras). Tan pronto como se establece un sello estable, corrientes de cola hacia el exterior de hERG se miden tras la despolarización de la membrana celular a +20 mV durante 2 s (activación de canales) a partir de un potencial de mantenimiento de -80 mV y tras la repolarización posterior a -40 mV durante 3 s. Este protocolo de tensión se ejecuta al menos 10 veces a intervalos de 10 s. Si la densidad de corriente es demasiado baja para las mediciones, se analiza otra célula. Una vez que se llevan a cabo registros de control, las células se perfunden de forma continua con una disolución del baño que contiene un compuesto de ensayo. Durante el lavado del compuesto de ensayo el protocolo de tensión se ejecuta de forma continua a intervalos de 10 s hasta alcanzar el nivel de bloqueo de estado estacionario.

Los valores (en pA/nA) de las amplitudes pico de las corrientes de cola hacia el exterior se generan para cada una de las etapas de tensión y se imprimen para la compilación y el análisis. Las amplitudes de corriente registradas a nivel de estado estacionario de la inhibición de corriente se comparan con las amplitudes de las condiciones de control medidas en la fase de pre-tratamiento de la misma célula. El bloque de la corriente se calcula como porcentaje de control. Para determinar si la inhibición de la corriente observada es debida a una interacción del elemento de ensayo con el canal de hERG o es debida a un resumen de la corriente, estas corrientes residuales se comparan con las medidas en las células tratadas con vehículo. Los valores medios se calculan para cada uno de los compuestos con datos de al menos 2 células individuales.

REIVINDICACIONES

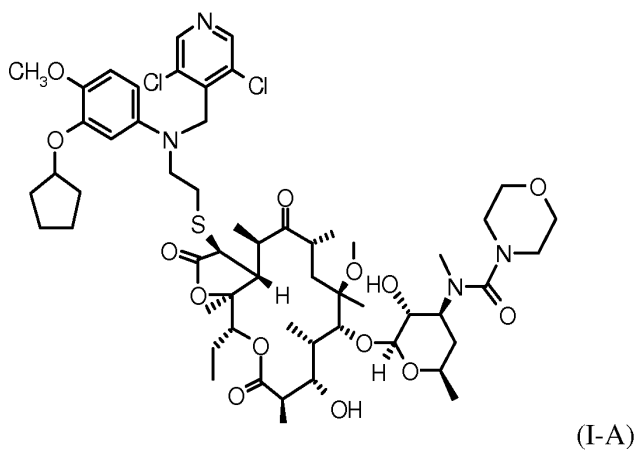
1. Un compuesto macrólido de la fórmula (I):



en donde

5 * indica un estereoisómero que está en la configuración (R) o (S), o una sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. El macrólido de acuerdo con la reivindicación 1, que tiene la fórmula (I-A):



o una sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 3. Un compuesto macrólido de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, que no está en forma de una sal o éster.

4. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto macrólido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 o una sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo y, opcionalmente, un soporte inerte farmacéuticamente aceptable.

5. Una forma de dosificación para la administración oral que comprende un compuesto macrólido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 o una sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo y, opcionalmente, un soporte inerte farmacéuticamente aceptable.
- 5 6. Un compuesto macrólido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 o una sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 4 o una forma de dosificación de acuerdo con la reivindicación 5 para uso en la terapia médica, en particular para uso para la prevención y/o el tratamiento de trastornos y/o enfermedades en un sujeto seleccionado de un animal y, preferiblemente, un ser humano, en donde dicha prevención y/o dicho tratamiento se basa en una inhibición de fosfodiesterasa 4 (PDE4) en el sujeto.
- 10 7. Un compuesto macrólido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 o una sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 4 o una forma de dosificación de acuerdo con la reivindicación 5 para uso en el tratamiento del cáncer o de enfermedades inflamatorias, alérgicas o autoinmunes en un sujeto.
- 15 8. Un compuesto macrólido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 o una sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 4 o una forma de dosificación de acuerdo con la reivindicación 5 para uso en el tratamiento de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), psoriasis, artritis psoriática, lupus, artritis reumatoide, Alzheimer, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, cistitis intersticial, asma, bronquitis crónica, enfisema, dermatitis atópica, urticaria, rinitis alérgica, conjuntivitis alérgica, chope séptico, colitis ulcerativa, enfermedad del intestino inflamatorio, p. ej., enfermedad de Crohn, síndrome de dificultad respiratoria del adulto, espondilitis anquilosante, uveítis o esclerosis múltiple.
- 20 9. Un compuesto macrólido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 o una sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 4 o una forma de dosificación de acuerdo con la reivindicación 5 para uso en el tratamiento de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD) o psoriasis.
- 25 10. El uso del compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 o de una sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno o enfermedad que puede ser mejorado mediante la inhibición de fosfodiesterasa 4 humana, en particular para el tratamiento del cáncer o de una enfermedad inflamatoria, alérgica o autoinmune.
- 30 11. El uso de acuerdo con la reivindicación 10, en donde el medicamento es un medicamento para la administración oral.