



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 693 33 995 T2** 2006.10.19

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 0 593 227 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **693 33 995.0**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **93 308 040.0**

(96) Europäischer Anmeldetag: **08.10.1993**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **20.04.1994**

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: **22.03.2006**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **19.10.2006**

(51) Int Cl.⁸: **C07D 498/18** (2006.01)

A61K 31/395 (2006.01)

A61K 31/706 (2006.01)

C07D 311/00 (2006.01)

C07D 273/00 (2006.01)

C07D 221/00 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

960597 **13.10.1992** **US**

54655 **23.04.1993** **US**

9317596 **24.08.1993** **GB**

(73) Patentinhaber:

Wyeth, Madison, N.J., US

(74) Vertreter:

**Reitsötter, Kinzebach & Partner (GbR), 81679
München**

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LI, LU,
NL, PT, SE**

(72) Erfinder:

**Kao, Wenling, Chester County, Pennsylvania, US;
Abou-Gharbia, Magid Abdel, Glen Mills,
Pennsylvania, US; Vogel, Robert Lewis, Camden,
New Jersey, US**

(54) Bezeichnung: **Carbamate von Rapamycin**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

[0001] Diese Erfindung betrifft Carbamate von Rapamycin und ein Verfahren zu ihrer Verwendung zum Herbeiführen von Immunsuppression und bei der Behandlung von Transplantationsabstoßung, Wirtgegen-Transplantat Erkrankung, Autoimmunerkrankungen, Entzündungserkrankungen, festen Tumoren, Pilzinfektionen und hyperproliferativen vaskulären Störungen.

[0002] Rapamycin ist ein makrocyclisches Trien-Antibiotikum, hergestellt durch *Streptomyces hygroscopicus*, von welchem gefunden wurde, dass es Antipilzwirksamkeit aufweist, insbesondere gegen *Candida albicans*, und zwar in vitro, als auch in vivo [C. Vezina et al., J. Antibiot. 28, 721 (1975); S.N. Sehgal et al., J. Antibiot. 28, 727 (1975); H.A. Baker et al., J. Antibiot. 31, 539 (1978); US-Patent 3929992 und US-Patent 3993749].

[0003] Von Rapamycin allein (US-Patent 4885171) oder in Kombination mit Picibanil (US-Patent 4401653) ist gezeigt worden, dass es Antitumorwirksamkeit hat. R. Martel et al. [Can. J. Physiol. Pharmacol. 55, 48 (1977)] offenbarten, dass Rapamycin wirksam im experimentellen allergischen Enzephalomyelitismodell ist, einem Modell für Multiple Sklerose; im Adjuvanz-Arthritis-Modell, einem Modell für Rheumatoidarthritis; und wirksam die Bildung von IgE-ähnlichen Antikörpern hemmt.

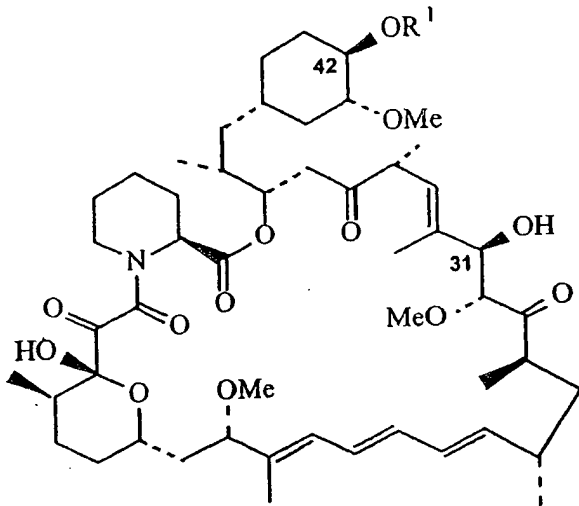
[0004] Die immunsuppressiven Wirkungen von Rapamycin sind in FASEB 3, 3411 (1989) offenbart worden. Von Cyclosporin A und FK-506, anderen makrocyclischen Molekülen, ist ebenfalls gezeigt worden, dass sie als Immunsuppressivmittel wirksam und daher brauchbar beim Verhindern von Transplantatabstoßung sind [FASEB 3, 3411 (1989); FASEB 3, 5256 (1989); R.Y. Calne et al., Lancet 1183 (1978); und US-Patent 5100899].

[0005] Von Rapamycin ist ebenfalls gezeigt worden, dass es brauchbar beim Verhindern oder Behandeln von systemischem Lupus erythematoses [US-Patent 5078999], pulmonarer Entzündung [US-Patent 5080899], insulinabhängiger Diabetes mellitus [Fifth. Int. Conf. Inflamm. Res. Assoc. 121 (Abstract), (1990)], Glattmuskulzellenproliferation und intimaler Verdickung nach vaskulärer Verletzung [Morris, R.J. Heart Lung Transplant 11 (pt. 2): 197 (1992)] ist.

[0006] Von mono- und diacylierten Derivaten von Rapamycin (verestert an den 28- und 43-Positionen) ist gezeigt worden, dass sie brauchbare Antipilzmittel sind (US-Patent 4316885) und sie wurden verwendet, um wasserlösliche Proarzneien von Rapamycin herzustellen (US-Patent 4650803). Kürzlich ist die Nummerierungskonvention für Rapamycin geändert worden; daher wären gemäß der Chemical Abstracts Nomenklatur die oben beschriebenen Ester an den 31- und 42-Positionen. US-Patent 5118678 offenbart Carbamate von Rapamycin, die als Immunsuppressiv-, Antientzündungs-, Antipilz- und Antitumorwirkstoffe brauchbar sind. Weitere Derivate von Rapamycin werden in WO92/05179, US-4650803 und US-5118677 offenbart.

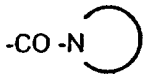
Beschreibung der Erfindung

[0007] Diese Erfindung sieht Derivate von Rapamycin vor, welche als Immunsuppressiv-, Antientzündungs-, Antipilz-, Antiproliferativ- und Antitumorwirkstoffe brauchbar sind, mit der Struktur



(I),

worin R¹ für



steht, worin

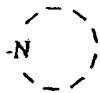


für einen Piperidinyll-, Morpholinyll-, Piperazinyll- oder Pyrrolidinyllring steht, welcher gegebenenfalls monosubstituiert sein kann mit einer Gruppe, ausgewählt aus Alkyl mit 1-6 Kohlenstoffatomen, Amino, Dialkylamino mit 1-6 Kohlenstoffatomen pro Alkylgruppe, Hydroxyalkyl mit 1-6 Kohlenstoffatomen und Alkoxyalkyl mit 2-12 Kohlenstoffatomen;

oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon.

[0008] Die pharmazeutisch annehmbaren Salze sind jene, welche hergeleitet werden von solchen anorganischen Kationen wie Natrium, Kalium und Ähnlichem; organischen Basen wie Mono-, Di- und Trialkylaminen mit 1-6 Kohlenstoffatomen pro Alkylgruppe und Mono-, Di- und Trihydroxyalkylaminen mit 1-6 Kohlenstoffatomen pro Alkylgruppe und Ähnlichem und organischen und anorganischen Säuren wie Essig-, Milch-, Zitronen-, Wein-, Bernstein-, Malein-, Malon-, Glucon-, Salz-, Bromwasserstoff-, Phosphor-, Salpeter-, Schwefel-, Methansulfon- und ähnlichen annehmbaren Säuren.

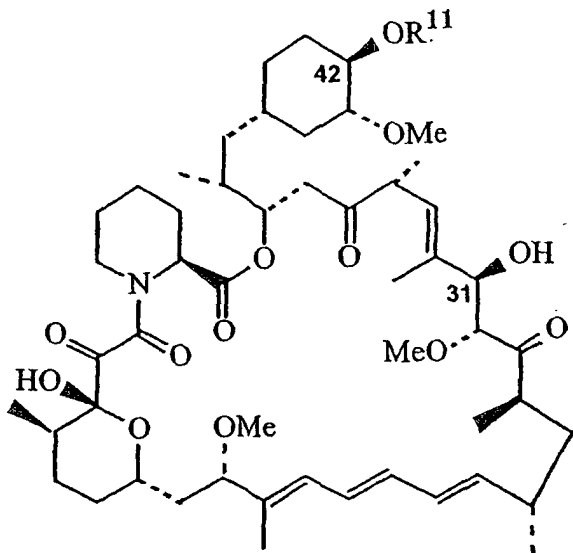
[0009] Es wird bevorzugt, dass



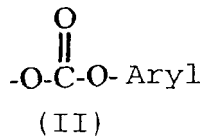
für eine Morpholinyll- oder Piperazinyllgruppe steht, die gegebenenfalls wie oben beschrieben substituiert sein kann.

[0010] Diese Erfindung sieht ebenfalls Verfahren zum Herstellen der Verbindungen der Formel I vor. Entsprechend sieht diese Erfindung ein Verfahren zum Herstellen einer Verbindung der Formel I vor, welches umfasst:

(a) Umsetzen eines Carbonatderivats von Rapamycin mit der Formel:



worin R¹¹ eine Gruppe der Formel



darstellt, worin Aryl eine Arylgruppe darstellt, vorzugsweise substituiert durch Elektronen-abziehende Substituenten, z.B. Ar = Nitrophenyl, Pentachlorphenyl, mit einem Amin der Formel

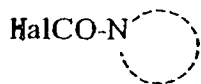


worin



wie oben definiert ist,
oder

(b) Carbamylieren von Rapamycin unter Verwendung einer Halogenacylverbindung der Formel

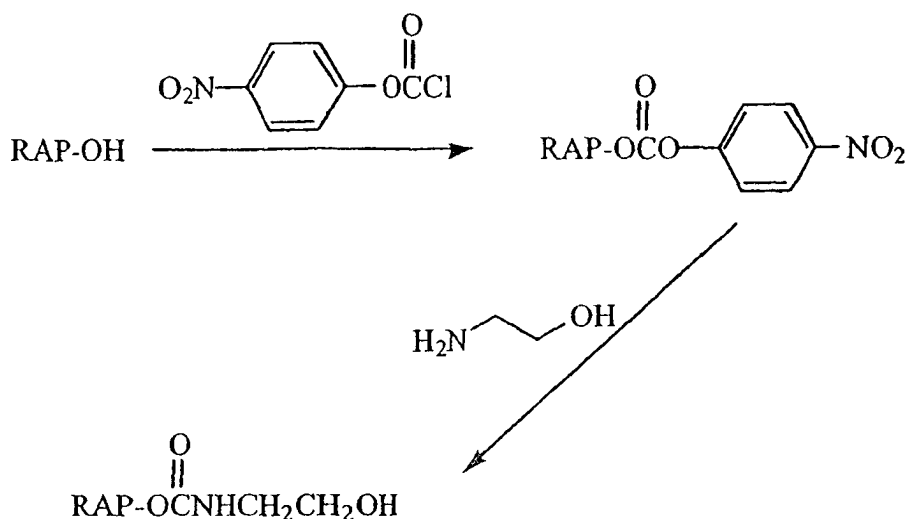


worin



wie oben definiert ist und Hal ein Halogen wie Chlor oder Brom darstellt.

[0011] Im Detail können an der 42-Position carbamylierte Verbindungen dieser Erfindung durch Umwandeln der 42-Alkohole von Rapamycin in ein Carbonat, gefolgt von Umsetzung mit einem passend substituierten Amin hergestellt werden, um das gewünschte Carbamat vorzusehen. Dieses Schema wird unten für die Herstellung der Verbindung von Referenzbeispiel 2 veranschaulicht.



[0012] Die Amine, welche verwendet werden, um die Verbindungen der Erfindung herzustellen, sind kommerziell erhältlich oder können durch Verfahren hergestellt werden, die in der Literatur offenbart werden.

[0013] Die immunsuppressive Wirksamkeit für Verbindungen dieser Erfindung wurde in einem pharmakologischen Standardtestverfahren in vitro zum Messen von Lymphozytenproliferation (LAF) und einem pharmakologischen Standardtestverfahren in vivo bestimmt, welches die Überlebenszeit eines Pinch-Hauttransplantats bewertete.

[0014] Das Komitogen-induzierte Thymozytenproliferationsverfahren (LAF) wurde als ein in vitro Maß der immunsuppressiven Wirkungen von repräsentativen Verbindungen verwendet. Kurz: Zellen vom Thymus von normalen BALB/c-Mäusen werden für 72 Stunden mit PHA und IL-1 kultiviert und mit tritiummarkiertem Thymidin während der letzten sechs Stunden gepulst. Die Zellen werden mit und ohne verschiedene Konzentrationen von Rapamycin, Cyclosporin A oder Testverbindung kultiviert. Die Zellen werden geerntet und die eingeschlossene Radioaktivität wird bestimmt. Die Hemmung von Lymphoproliferation wird als prozentuale Veränderung in Zählungen pro Minute gegenüber nicht mit Arzneimittel behandelten Kontrollen bewertet. Für jede bewertete Verbindung wurde Rapamycin ebenfalls zu Vergleichszwecken bewertet. Ein IC_{50} wurde für jede Testverbindung erhalten, als auch für Rapamycin. Wenn es als Vergleich für die repräsentativen Verbindungen dieser Erfindung bewertet wurde, hatte Rapamycin ein IC_{50} im Bereich von 2,2–9,9 nM. Die für die repräsentativen Verbindungen dieser Erfindung erhaltenen Ergebnisse wurden ebenfalls als Quotient im Vergleich mit Rapamycin ausgedrückt. Ein positiver Quotient zeigt immunsuppressive Wirksamkeit an. Ein Quotient größer als 1 zeigt an, dass die Testverbindung Thymozytenproliferation in größerem Ausmaß als Rapamycin hemmte. Die Berechnung für den Quotienten wird unten gezeigt:

$\frac{{}^3\text{H-Kontrollthymuszellen} - {}^3\text{H mit Rapamycin behandelte Thymuszellen}}$

$\frac{{}^3\text{H-Kontrollthymuszellen} - {}^3\text{H mit Testverbindung behandelte Zellen}}$

[0015] Repräsentative Verbindungen dieser Erfindung wurden ebenfalls in einem in vivo Testverfahren bewertet, welches konstruiert war, die Überlebenszeit von Pinch-Hauttransplantat von männlichen BALB/c Spendern, transplantiert auf männliche C₃H(H-2K) Empfänger zu bestimmen. Das Verfahren wird von Billingham R.E. und Medawar P.B., J. Exp. Biol. 28:385-402 (1951) angepasst. Kurz: ein Pinch-Hauttransplantat vom Spender wurde auf den Rücken des Empfängers als Allograft transplantiert und ein Isograft wurde als Kontrolle in der gleichen Region verwendet. Die Empfänger wurden mit entweder variierenden Konzentrationen von Testverbindungen intraperitoneal oder oral behandelt. Rapamycin wurde als Testkontrolle verwendet. Unbehandelte Empfänger dienen als Abstoßungskontrolle. Das Transplantat wurde täglich überwacht und die Beobachtungen wurden aufgezeichnet, bis das Transplantat trocken wurde und einen geschwärtzten Schorf bildete. Dies wurde als Abstoßungstag angesehen. Die mittlere Transplantat-Überlebenszeit (Anzahl von Tagen \pm S.D.) der mit Arzneimittel behandelten Gruppe wurde mit der Kontrollgruppe verglichen. Die folgende Tabelle zeigt die Ergebnisse, die erhalten wurden. Die Ergebnisse werden als mittlere Überlebenszeit in Tagen ausgedrückt. Unbehandelte (Kontroll-) Pinch-Hauttransplantate werden üblicherweise innerhalb von 6-7 Tagen abgestoßen. Die in Tabelle 1 gezeigten Ergebnisse basieren auf einer Dosis von 4 mg/kg Testverbindung. Eine Überlebenszeit von $12,0 \pm 1,7$ Tage wurde für Rapamycin bei 4 mg/kg erhalten.

[0016] Die folgende Tabelle fasst die Ergebnisse von repräsentativen Verbindungen dieser Erfindung in diesen zwei Standardtestverfahren zusammen.

Tabelle 1: Bewertung von immunsuppressiver Wirksamkeit*

| Verbindung | LAF | |
|------------|-----------------------|------------|
| | IC ₅₀ (nM) | (Quotient) |
| Beispiel 4 | 3,4 | 1,4 |
| Beispiel 5 | 0,2 | 6,2 |
| Beispiel 6 | 1,2 | 1,2 |
| Beispiel 7 | 4,2 | 1,1 |

* Berechnung des Quotienten wurde supra beschrieben.

[0017] Die Ergebnisse dieser pharmakologischen Standardtestverfahren zeigen immunsuppressive Wirksamkeit für die Verbindung dieser Erfindung sowohl in vitro, als auch in vivo. Die positiven Quotienten im LAF-Testverfahren weisen auf Suppression von T-Zellen-Proliferation hin und zeigen dadurch die immunsuppressive Wirksamkeit der Verbindungen dieser Erfindung. Da transplantierte Pinch-Hauttransplantate ohne die Verwendung eines immunsuppressiven Wirkstoffs typischerweise innerhalb von 6-7 Tagen abgestoßen werden, zeigt die erhöhte Überlebenszeit des Hauttransplantats, wenn es mit den Verbindungen dieser Erfindung behandelt wird, ferner ihre Nützlichkeit als immunsuppressive Wirkstoffe.

[0018] Basierend auf den Ergebnissen dieser pharmakologischen Standardtestverfahren sind die Verbindungen brauchbar bei der Behandlung oder Verhinderung von Transplantationsabstoßung wie Nieren-, Herz-, Leber-, Lungen-, Knochenmark-, Bauchspeicheldrüsen- (Inselzellen), Cornea-, Dünndarm- und Hautallografts und Herzklappen-Xenografts; bei der Behandlung von Autoimmunerkrankungen wie Lupus, Rheumatoidarthritis, Diabetes mellitus, Myasthenia gravis und Multipler Sklerose; und Entzündungserkrankungen wie Psoriasis, Dermatitis, Ekzem, Seborrhöe, entzündlicher Darmerkrankung, pulmonarer Entzündung, Asthma und Augen-Uveitis.

[0019] Da die Verbindungen dieser Erfindung Rapamycin und den Carbamaten von Rapamycin, welche in US-Patent 5118678 offenbart werden, strukturell ähneln und ein Wirksamkeitsprofil ähnlich dem von Rapamycin und den Carbamaten von US-Patent 5118678 haben, wird von der Verbindung dieser Erfindung ebenfalls angenommen, dass sie Antitumor-, Antipilzwirksamkeiten und antiproliferative Wirksamkeiten haben. Die Verbindungen dieser Erfindung sind daher ebenfalls brauchbar beim Behandeln von festen Tumoren, Pilzinfektionen und hyperproliferativen vaskulären Erkrankungen wie Restenose und Atherosklerose.

[0020] Es wird in Erwägung gezogen, dass wenn die Verbindungen dieser Erfindung als Immunsuppressiv- oder Antientzündungsmittel verwendet werden, sie zusammen mit einem oder mehreren anderen immunregulativen Wirkstoffen verabreicht werden können. Solche anderen immunregulativen Wirkstoffe schließen ein, aber sind nicht begrenzt auf Azathioprin, Corticosteroide wie Prednison und Methylprednisolon, Cyclophosphamid, Rapamycin, Cyclosporin A, FK-506, OKT-3 und ATG. Durch Kombinieren der Verbindungen dieser Erfindung mit solchen anderen Arzneimitteln oder Wirkstoffen zum Herbeiführen von Immunsuppression oder Behandeln entzündlicher Zustände werden geringere Mengen von jedem dieser Wirkstoffe benötigt, um die gewünschte Wirkung zu erreichen. Die Basis für solch eine Kombinationstherapie wurde durch Stepkowski begründet, dessen Ergebnisse zeigten, dass die Verwendung einer Kombination von Rapamycin und Cyclosporin A bei subtherapeutischen Dosen die Herz-Allograft-Überlebenszeit deutlich verlängerte. (Transplantation Proc. 23: 507 (1991)).

[0021] Die Verbindungen dieser Erfindung können allein oder mit einem pharmazeutischen Träger an einen Säuger formuliert werden, welcher sie benötigt. Der pharmazeutische Träger kann fest oder flüssig sein.

[0022] Ein fester Träger kann eine oder mehrere Substanzen einschließen, welche auch als Geschmacksmittel, Schmiermittel, Aufschlussmittel, Suspensionsmittel, Füllstoffe, Gleitmittel, Kompressionshilfen, Bindemittel oder Tablettenaufschlussmittel fungieren können; es kann auch ein Einkapselungsmaterial sein. In Pulvern ist der Träger ein fein geteilter Feststoff, welcher sich in Vermischung mit dem fein geteilten Wirkstoff befindet. In Tabletten wird der Wirkstoff mit einem Träger mit den notwendigen Kompressionseigenschaften in geeigneten Anteilen gemischt und in die gewünschte Form und Größe gepresst. Die Pulver und Tabletten enthalten vorzugsweise bis zu 99% des Wirkstoffs. Geeignete feste Träger schließen zum Beispiel Calciumphosphat, Ma-

gnesiumstearat, Talk, Zucker, Lactose, Dextrin, Stärke, Gelatine, Cellulose, Methylcellulose, Natriumcarboxymethylcellulose, Polyvinylpyrrolidin, niedrig schmelzende Wachse und Ionenaustauschharze ein.

[0023] Flüssige Träger werden beim Herstellen von Lösungen, Suspensionen, Emulsionen, Sirupen, Elixieren und unter Druck stehenden Zusammensetzungen verwendet. Der Wirkstoff kann in einem pharmazeutisch annehmbaren flüssigen Träger wie Wasser, einem organischen Lösungsmittel, einem Gemisch aus beidem oder pharmazeutisch annehmbaren Ölen oder Fetten gelöst oder suspendiert werden. Der flüssige Träger kann andere geeignete pharmazeutische Zusatzstoffe, wie Aufschlussmittel, Emulgatoren, Puffer, Konservierungsstoffe, Süßstoffe, Geschmacksstoffe, Suspensionsmittel, Verdickungsmittel, Farbstoffe, Viskositätsregulatoren, Stabilisatoren oder Osmo-Regulatoren enthalten. Geeignete Beispiele für flüssige Träger zur oralen und parenteralen Verabreichung schließen ein: Wasser (welches teilweise Zusatzstoffe wie oben enthält, z.B. Cellulosederivate, vorzugsweise Natriumcarboxymethylcelluloselösung), Alkohole (einschließlich einwertige Alkohole und mehrwertige Alkohole, z.B. Glycole) und ihre Derivate, Lecithine und Öle (z.B. fraktioniertes Kokosöl und Arachisöl). Zur parenteralen Verabreichung kann der Träger auch ein öliger Ester sein, wie Ethyloleat und Isopropylmyristat. Sterile flüssige Träger sind in Zusammensetzungen mit steriler flüssiger Form zur parenteralen Verabreichung brauchbar. Der flüssige Träger für unter Druck stehende Zusammensetzungen kann halogenierter Kohlenwasserstoff oder ein anderes pharmazeutisch annehmbares Treibmittel sein.

[0024] Flüssige pharmazeutische Zusammensetzungen, welche sterile Lösungen oder Suspensionen sind, können zum Beispiel für intramuskuläre, intraperitoneale oder subkutane Injektion verwendet werden. Sterile Lösungen können auch intravenös verabreicht werden. Die Verbindung kann auch oral entweder in flüssiger oder fester Zusammensetzungsform verabreicht werden.

[0025] Die Verbindungen dieser Erfindung können rektal in Form eines herkömmlichen Zäpfchens verabreicht werden. Zur Verabreichung durch intranasale oder intrabronchiale Inhalation oder Insufflation können die Verbindungen dieser Erfindung in eine wässrige oder teilweise wässrige Lösung formuliert werden, welche dann in Form eines Aerosols genutzt werden kann. Die Verbindungen dieser Erfindung können auch transdermal durch die Verwendung eines transdermalen Pflasters verabreicht werden, welches den Wirkstoff und einen Träger enthält, der gegenüber dem Wirkstoff inert ist, nicht toxisch gegenüber der Haut ist und die Abgabe des Wirkstoffs zur systemischen Absorption in den Blutstrom durch die Haut erlaubt. Der Träger kann eine Anzahl an Formen annehmen, wie Cremes und Salben, Pasten, Gels und Okklusionsmittel. Die Cremes und Salben können viskös flüssige oder halb feste Emulsionen des entweder Öl-in-Wasser oder Wasser-in-Öl Typs sein. Pasten, welche sich aus absorptiven Pulvern, dispergiert in Petroleum oder hydrophilem Petroleum zusammensetzen, welche den Wirkstoff enthalten, können auch geeignet sein. Eine Vielfalt an Okklusionsmitteln kann verwendet werden, um den Wirkstoff in den Blutstrom abzugeben, wie eine halbdurchlässige, ein Reservoir bedeckende Membran, welches den Wirkstoff mit oder ohne Träger enthält, oder eine Matrix, welche den Wirkstoff enthält. Andere Okklusionsmittel sind in der Literatur bekannt.

[0026] Zusätzlich können die Verbindungen dieser Erfindung als Lösung, Creme oder Lotion durch Formulierung mit pharmazeutisch annehmbaren Trägern eingesetzt werden, welche 0,1-5 Prozent, vorzugsweise 2% an Wirkstoff enthalten, was an einen von Pilz befallenen Bereich verabreicht werden kann.

[0027] Die Dosierungsanforderungen variieren mit den speziellen eingesetzten Verbindungen, dem Verabreichungsweg, der Schwere der gezeigten Symptome und dem speziellen zu behandelnden Subjekt. Basierend auf Ergebnissen, welche in den pharmakologischen Standardtestverfahren erhalten werden, wären geplante tägliche Dosierungen an Wirkstoff 0,1 µg/kg–100 mg/kg, vorzugsweise zwischen 0,001–25 mg/kg und bevorzugterweise zwischen 0,01 und 5 mg/kg. Die Behandlung wird im Allgemeinen mit kleinen Dosierungen begonnen werden, welche geringer sind, als die optimale Dosierung der Verbindung. Danach wird die Dosierung erhöht, bis die optimale Wirkung unter den Umständen erreicht ist; genaue Dosierungen zur oralen, parenteralen, nasalen oder intrabronchialen Verabreichung werden durch den verabreichenden Arzt basierend auf der Erfahrung mit dem einzelnen behandelten Subjekt bestimmt werden. vorzugsweise befindet sich die pharmazeutische Zusammensetzung in Einheitsdosierungsform, z.B. als Tabletten oder Kapseln. In solch einer Form wird die Zusammensetzung unterteilt in Einheitsdosen, welche passende Mengen des Wirkstoffs enthalten; die Einheitsdosierungsformen können verpackte Zusammensetzungen sein, zum Beispiel verpackte Pulver, Vialen, Ampullen, vorgefüllte Spritzen oder Sachets, welche Flüssigkeiten enthalten. Die Einheitsdosierungsform kann zum Beispiel eine Kapsel oder Tablette selbst sein, oder sie kann die passende Anzahl einer jeden solchen Zusammensetzung in verpackter Form sein.

[0028] Die folgenden Beispiele veranschaulichen die Herstellung von repräsentativen Verbindungen dieser Erfindung.

Referenzbeispiel 1

Rapamycin-42-p-nitrophenylcarbonat

[0029] Eine Lösung aus 2,0 g Rapamycin in 10 ml Dichlormethan und 2 ml trockenem Pyridin wurde auf -78°C unter einer Stickstoffatmosphäre gekühlt. Zu dieser Lösung wurden 662 mg 4-Nitrophenylchlorformat zugegeben; die sich ergebende Lösung wurde bei Raumtemperatur unter Stickstoff für 20 Stunden gerührt. Das Gemisch wurde mit Wasser verdünnt und mit Dichlormethan extrahiert. Das Dichlormethanextrakt wurde mit Wasser gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wurde an Silicagel chromatographiert. Elution mit 33% Ethylacetat in n-Hexan ergab 2,07 g Rapamycin-42-p-nitrophenolcarbonat als weißen Schaum.

Referenzbeispiel 2

Rapamycin-42-ester mit 2-Hydroxyethyl-carbaminsäure

[0030] Eine Lösung aus 270 mg Rapamycin-42-p-nitrophenyl-carbonat in 8 ml Dichlormethan wurde bei -10°C unter einer Stickstoffatmosphäre mit 61 mg Ethanolamin in 0,5 ml Dichlormethan behandelt. Die gelbe Lösung wurde bei 0°C unter einer Stickstoffatmosphäre für 45 Minuten gerührt. Das Umsetzungsgemisch wurde mit 120 ml Dichlormethan verdünnt, mit 1N HCl, Wasser gewaschen, mit MgSO_4 getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wurde an Silicagel chromatographiert. Elution mit Ethylacetat/n-Hexan (2/1) ergab 85 mg der Titelverbindung als weißen Schaum, Fp. 100-105.

IR (KBr): 3430 (OH, NH), 1720 (Lacton und Keton C=O), 1640 (Amid C=O), 1520, 1450, 1240, 1080, 985 und 760 cm^{-1} . $^1\text{H NMR}$ (CD_2Cl_2 , 400 MHz): 3,70 (m, 2H, $-\text{CH}_2-\text{OH}$), 3,65 (m, 2H, $-\text{NH}-\text{CH}_2$), 3,38, 3,33, 3,14 (alle s, 3H, $-\text{OCH}_3$) ppm. MS (neg. Ion FAB): 1000 (M^-), 590, 408, 297.

Beispiel 3

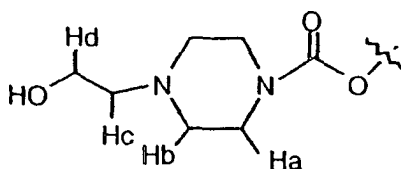
Rapamycin-42-ester mit 4-(2-Hydroxyethyl)-piperazin-1-carbonsäure

[0031] Eine Lösung aus 1-(2-Hydroxyethyl)-piperazin (130 mg, 1,0 mmol) in 1 ml trockenem Dichlormethan wurde zu einer Lösung aus 330 mg Rapamycin-42-p-nitrophenyl-carbonat (0,31 mmol) in 6 ml trockenem Dichlormethan bei -8° unter Stickstoff zugegeben und bei -8° für 1,5 Stunden gerührt. Das Umsetzungsgemisch wurde zwischen Dichlormethan und Wasser/Kochsalzlösung aufgeteilt und der wässrige Teil wurde mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Anteile wurden mit Kochsalzlösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und zu einem weißen festen Schaum eingedampft. Blitzchromatographie durch Silicagel unter Verwendung von 2% Methanol in Dichlormethan ergab 140 mg der Titelverbindung als einen weißen Feststoff, Fp. $112-120^{\circ}\text{C}$.

IR (KBr): 3450, 2950, 1725, 1650, 1460, 1250 und 995 cm^{-1} .

NMR (CDCl_3 , 400 MHz): δ 3,64 (t (J = 5,2 Hz), 2H, H_d); 3,51 (breit, 4H, H_a); 3,39 (s, 3H, OMe); 3,33 (s, 3H, OMe); 3,14 (s, 3H, OMe); 2,57 (t (J = 5,2 Hz), 2H, H_c); 2,49 (breit, 4H, H_b) ppm.

MS (neg. Ion FAB): m/z bei 1069 (m^-), 590.



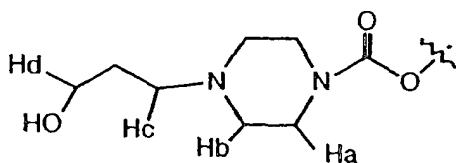
Beispiel 4

Rapamycin-43-ester mit 4-(3-Hydroxypropyl)-piperazin-1-carbonsäure

[0032] Eine Lösung aus 130 mg (0,90 mmol) 1-(3-Hydroxypropyl)-piperazin in 2 ml Dichlormethan wurde zu einer Lösung aus 320 mg (0,30 mmol) Rapamycin-42-(4-nitrophenyl)carbonat in 6 ml Dichlormethan unter Stickstoff bei -5°C zugegeben und durfte sich unter Rühren auf 20° erwärmen. Nach 4 Stunden wurde das Umsetzungsgemisch zwischen Dichlormethan und Wasser/Kochsalzlösung aufgeteilt. Der organische Anteil wurde mit Kochsalzlösung gewaschen und durch Silicagel unter Verwendung von Methanol (2,0 bis 3,0%) in Dichlormethan blitzchromatographiert, was 115 mg Produkt als weißen Feststoff ergab; Fp. $104-113^{\circ}\text{C}$.

IR (KBr): 3430, 2930, 1715, 1640, 1450, 1240 und 985 cm^{-1} . NMR (CDCl_3 , 400 MHz): δ 3,81 (t (J = 5,2 Hz), 2H,

Hd); 3,49 (breit, 4H, Ha); 3,38 (s, 3H, OMe); 3,33 (s, 3H, OMe); 3,13 (s, 3H, OMe); 2,62 (t(J = 5,4 Hz), 2H, Hc); 2,48 (breit, 4H, Hb) ppm.
MS (neg. Ion FAB): 1083 (M⁻), 590.



Beispiel 5

Rapamycin-42-ester mit Morpholin-4-carbonsäure

[0033] Eine Lösung aus 95 mg (1,1 mmol) Morpholin in 1 ml trockenem Dichlormethan wurde zu einer gerührten Lösung aus 330 mg (0,31 mmol) Rapamycin-42-(4-nitrophenyl)-carbonat in 6 ml Dichlormethan bei -5°C unter Stickstoff zugegeben; Rühren wurde 4,5 Stunden bei -5° und 2 Stunden bei 20° fortgesetzt. Das Umsetzungsgemisch wurde zwischen Dichlormethan und Wasser/Kochsalzlösung aufgeteilt; der organische Anteil wurde mit Kochsalzlösung gewaschen und durch Silicagel unter Verwendung von Methanol (1,0 bis 1,6%) in Dichlormethan blitzchromatographiert, was 70 mg Produkt als weißen Feststoff ergab, Fp. $105\text{--}115^{\circ}\text{C}$.

IR (KBr): 3450, 2950, 1710, 1650, 1250 und 993 cm^{-1} .

NMR (CDCl_3 , 400 MHz): δ 3,64 (4H, 3-Morpholin); 3,46 (t(J = 4,9 Hz), 4H, 2-Morpholin); 3,37 (s, 3H, OMe); 3,32 (s, 3H, OMe); 3,12 (s, 3H, OMe) ppm.

MS (neg. Ion FAB): 1026 (M⁻), 590.

Beispiel 6

Rapamycin-42-ester mit 4-Methylpiperazin-1-carbonsäure

[0034] Eine Lösung aus 95 mg (0,95 mmol) 1-Methylpiperazin in 2 ml Dichlormethan wurde zu einer Lösung aus 310 mg (0,29 mmol) Rapamycin-42-(4-nitrophenyl)-carbonat in 6 ml Dichlormethan bei 0°C unter Stickstoff zugegeben und bei 0° für 2 Stunden und bei 20° für 2 Stunden gerührt. Das Umsetzungsgemisch wurde zwischen Dichlormethan und Wasser/Kochsalzlösung aufgeteilt. Der organische Anteil wurde mit Kochsalzlösung gewaschen und durch Silicagel unter Verwendung von Methanol (2,0 bis 3,0%) in Dichlormethan blitzchromatographiert, was 120 mg Produkt als weißen Feststoff ergab, Fp. $108\text{--}116^{\circ}\text{C}$.

IR (KBr): 3450, 2945, 1710, 1650, 1460, 1240, 1110 und 990 cm^{-1} .

NMR (CDCl_3 , 400 MHz): δ 3,50 (breit, 4H, 2-Piperazin); 3,39 (s, 3H, OMe); 3,33 (s, 3H, OMe); 3,14 (s, 3H, OMe); 2,36 (breit, 4H, 3-Piperazin); 2,30 (s, 3H, NMe) ppm.

MS (neg. Ion FAB): 1039 (M⁻), 590.

Beispiel 7

Rapamycin-42-ester mit Piperazin-1-carbonsäure

[0035] Eine Lösung aus 190 mg (2,2 mmol) Piperazin in 4 ml Dichlormethan wurde zu einer Lösung aus 550 mg (0,51 mmol) Rapamycin-42-(4-nitrophenyl)-carbonat in 12 ml Dichlormethan bei 0°C unter Stickstoff zugegeben und 45 Minuten gerührt. Aufteilung zwischen Dichlormethan und Wasser/Kochsalzlösung, Waschen mit Kochsalzlösung und Blitzchromatographie durch Silicagel unter Verwendung von 5% Methanol in Dichlormethan ergab 350 mg Produkt als blassgelben Feststoff, Fp. $120\text{--}131^{\circ}\text{C}$.

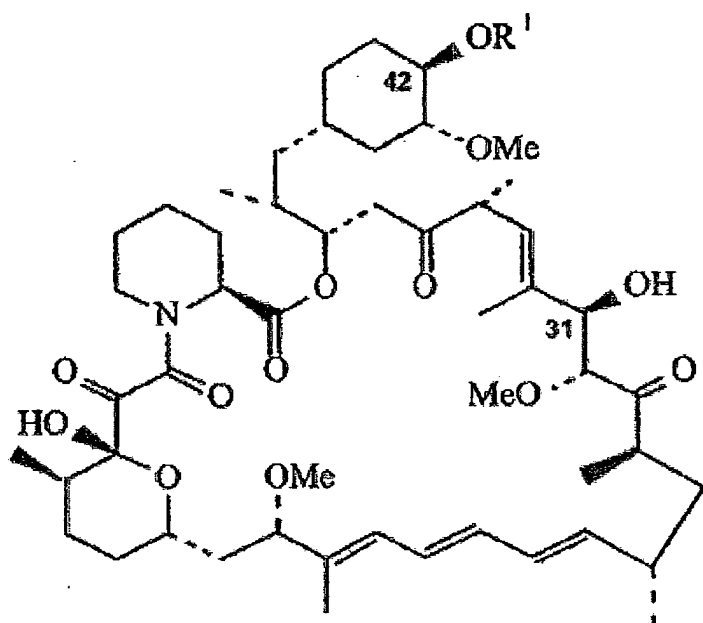
IR (KBr): 3460, 2950, 1705, 1650, 1460, 1245 und 990 cm^{-1} .

NMR (CDCl_3 , 400 MHz): δ 4,8 (breit, 1H, NH); 3,46 (breit, 4H, 2-Piperazin); 3,39 (s, 3H, OMe); 3,33 (s, 3H, OMe); 3,14 (s, 3H, OMe); 2,83 (breit, 4H, 3-Piperazin) ppm.

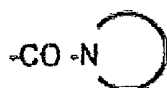
MS (neg. Ion FAB): 1025 (M⁻), 590.

Patentansprüche

1. Verbindung mit der Struktur



worin R¹ für

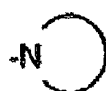


steht, worin



für einen Piperidinyl-, Morpholinyl-, Piperaziny- oder Pyrrolidinyling steht, welcher gegebenenfalls monosubstituiert sein kann mit einer Gruppe, ausgewählt aus Alkyl mit 1-6 Kohlenstoffatomen, Amino, Dialkylamino mit 1-6 Kohlenstoffatomen pro Alkylgruppe, Hydroxyalkyl mit 1-6 Kohlenstoffatomen und Alkoxyalkyl mit 2-12 Kohlenstoffatomen;
oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon.

2. Verbindung gemäß Anspruch 1, worin

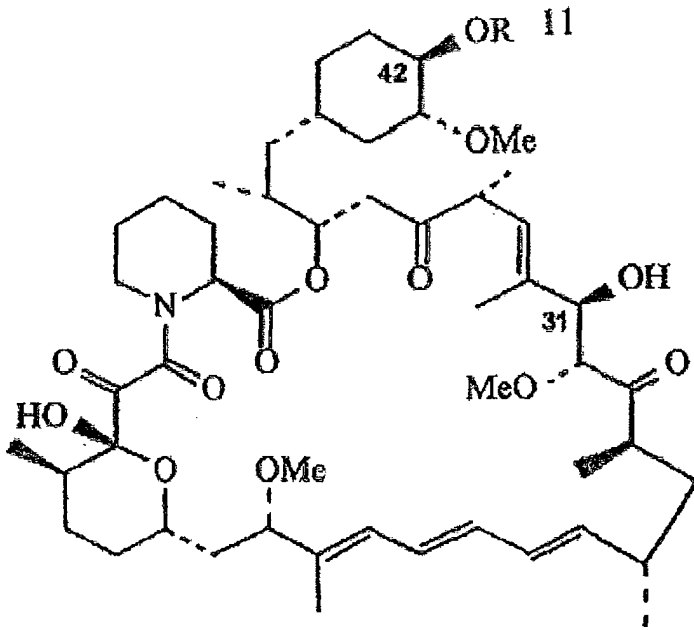


für eine Morpholinyl- oder Piperazinygruppe steht, gegebenenfalls substituiert wie in Anspruch 1 definiert.

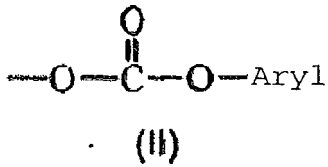
3. Verbindung gemäß Anspruch 1, welche eine der folgenden ist:
Rapamycin-42-ester mit 4-(2-Hydroxyethyl)piperazin-1-carbonsäure
Rapamycin-42-ester mit 4-(3-Hydroxypropyl)piperazin-1-carbonsäure,
Rapamycin-42-ester mit 4-Methylpiperazin-1-carbonsäure,
Rapamycin-42-ester mit Morpholin-4-carbonsäure oder
Rapamycin-42-ester mit Piperazin-1-carbonsäure
oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon.

4. Pharmazeutische Zusammensetzung, welche eine Verbindung umfasst, wie in einem der Ansprüche 1 bis 3 beansprucht.

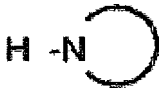
5. Verfahren zum Herstellen einer Verbindung wie in Anspruch 1 beansprucht, welches umfasst:
(a) Umsetzen eines Carbonatderivats von Rapamycin mit der Formel:



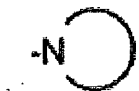
worin R¹¹ eine Gruppe der Formel



darstellt, worin Aryl eine Arylgruppe darstellt, vorzugsweise substituiert durch Elektronen-abziehende Substituenten, oder R¹¹ mit einem Amin der Formel

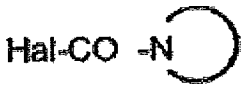


worin



wie in Anspruch 1 definiert ist,
oder

(b) Carbamoylieren von Rapamycin unter Verwendung einer Halogenacylverbindung der Formel



worin



wie in Anspruch 1 definiert ist und Hal ein Halogen darstellt, und falls gewünscht, Umwandeln in ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen