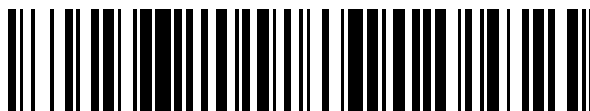


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 524 331**

51 Int. Cl.:

C07J 63/00 (2006.01)

A61K 31/56 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.03.2007 E 07712472 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.08.2014 EP 1999139**

54 Título: **Ésteres del ácido betulónico y derivados del polialquilenglicol y el ácido betulónico para el tratamiento de infección viral y cáncer**

30 Prioridad:

07.03.2006 GB 0604535

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

05.12.2014

73 Titular/es:

**LEUNIS, JEAN-CLAUDE (100.0%)
Chemin du Fonds des Goffes 26
1325 Bonlez, BE**

72 Inventor/es:

**LEUNIS, JEAN-CLAUDE y
COUCHE, EMMANUEL**

74 Agente/Representante:

LAZCANO GAINZA, Jesús

ES 2 524 331 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

Ésteres del ácido betulónico y derivados del polialquilenglicol y el ácido betulónico para el tratamiento de infección viral y cáncer

5

Campo de la invención

La presente invención se refiere a los derivados del ácido betulónico y betulínico y, en particular, a los derivados C-28 y C-3. La presente invención se refiere a los ésteres del ácido betulónico, ésteres del ácido dihidro-betulónico, derivados del ácido betulínico PAG-modificado, y derivados del ácido dihidro-betulínico PAG-modificado. El ácido betulínico y los derivados del mismo se pueden unir a un poli(alquilenglicol) (PAG) tal como poli(etilenglicol). El enlace puede ser *vía* un conector, tal como una diamina, un aminoácido, un péptido, un éster o un carbonato.

10

Los compuestos de la presente invención se pueden utilizar para el tratamiento del cáncer o una infección viral. La presente invención también provee composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos de la presente invención. La presente invención además provee los procesos para la preparación de los compuestos de la presente invención, por ejemplo, a partir de la betulina.

15

Antecedentes de la invención

20

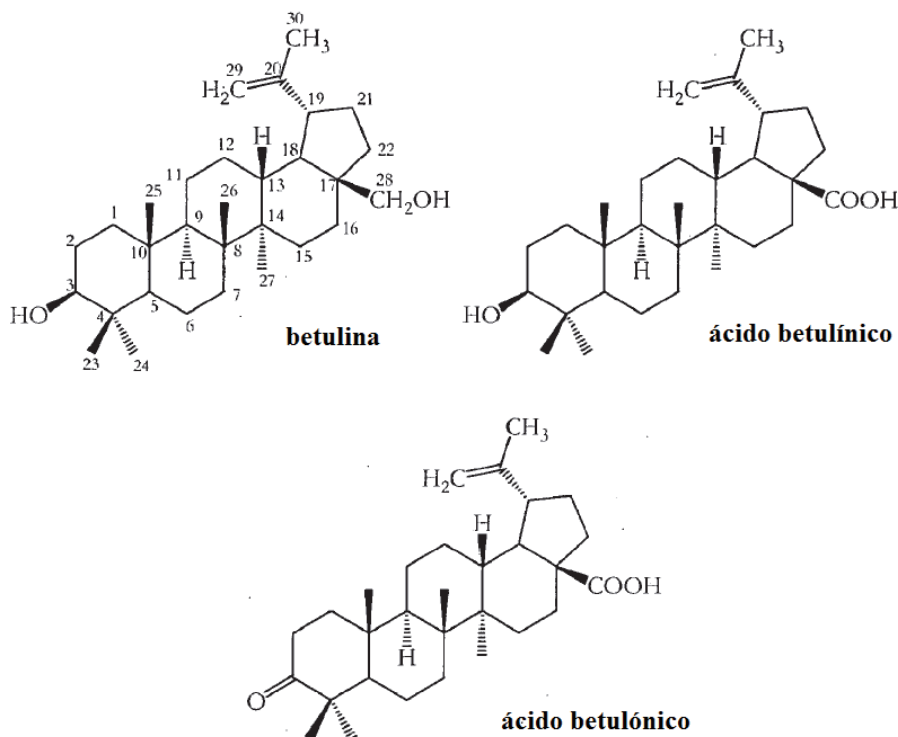
El ácido betulínico (Bet Δ) y la betulina provienen de una variedad de fuentes botánicas tales como la corteza de *Betula alba*, *Platanus orientalis*, *Corylus avellana*, *Carpinus betulus*, *Alnus glutinosa* así como de *Zizyphus sp. Rhamnaceae* (Jiri Patocka, Journal of Applied Biomedicine, 2003, 1, 7-12. E.L. Ménard et al., Helvetica Chimica Acta, 1963, XLVI, 1801-1811).

25

Por lo tanto BetA se encuentra en muchas especies de plantas, aunque en una concentración baja en comparación con la betulina. La rara excepción es el rico contenido de BetA en una especie de trébol denominada *Menyanthes trifoliata*, la cual es una planta de pantano (C. Huang et al., Yao Xue Xue Bao, 1995, 30, 621-626).

30

Se han descrito BetA y ácido betulónico, incluyendo derivados de aminoácidos y de amida (Darrick S.H.L. Kim et al., Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 1998, 8, 1707-1712. O.B. Flekhter et al., in Bioorg, Khim., 2004, 30, 89-98; y in Russian Journal of Bioorganic Chemistry, 2004, 30, 80-88), así como derivados hidrófobos.



Un derivado de ciclopropano de betulina se ha convertido, mediante oxidación en los correspondientes derivados de BetA y ácido betulónico. El ácido 20,29-dihidro-20,29-diclorometileno betulínico demostró ser el más citotóxico para el melanoma humana y líneas celulares de carcinoma de ovario humano (A.V. Symon et al. in *Bioorg. Khim.*, 2005, 31, 320-325; y in *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2005, 31, 286-291).

El valor potencial de los triterpenoides, especialmente los triterpenos pentacíclicos como betulina y BetA, en la inducción de la apoptosis en las células tumorales malignas se ha reconocido desde hace algunos años (Emily Pisha et al., *Nature Medicine*, 1995, 1, 1046-1451. Simone Fulda et al., en *Cancer Res.*, 1997, 57, 4956-4964; en *J. Biol. Chem.*, 1998, 273, 33942-33948; y en *Int. J. Cancer*, 1999, 82, 435-441).

BetA demuestra la citotoxicidad selectiva contra las células de melanoma y otras células malignas de origen neuroectodérmico (Tino Galgon et al., *Exp. Dermatol.*, 2005, 94, 736-743). La inhibición de crecimiento es evidente en todas las líneas celulares neoplásicas y es independiente de la situación de la proteína inductora de la apoptosis, p53 (Valentina Zuco et al., *Cancer Lett.*, 2002, 175, 17-25).

El tejido tumoral crece cuando el equilibrio entre la replicación celular y la muerte celular (apoptosis) no se mantiene. Los mecanismos inmunológicos que controlan tales ciclos celulares son complejos, se basan en la actividad de una variedad de citoquinas, así como en la expresión de ciertos genes.

Dos genes son de importancia primaria:

1. El gen *p53*, denominado supresor de tumores, que codifica para la proteína inductora de la apoptosis, p53; y
2. El gen *Bcl-2*, un protooncógeno que codifica la familia *Bcl-2* de proteínas. Las proteínas *Bcl-2* inhiben la apoptosis mediante la inhibición de las actividades de caspasa. El fracaso en la terapia del cáncer se ha relacionado con la alta expresión del gen *Bcl-2* (D. Maslinska, *Neurol. Neurochir. Pol.*, 2003, 37, 313-326; A. Linjawi et al., *J. Am. Coll. Surg.*, 2004, 198, 83-90; J. Huang et al., *Biol. Pharm. Bull.*, 2005, 28, 2068-2074).

Además de esta regulación genética, diferentes proteínas de la membrana juegan un papel en el control del ciclo celular, actuando como receptores para citoquinas que regulan la apoptosis. Entre estas citoquinas están el factor de necrosis tumoral (TNF) y el factor de crecimiento nervioso (NGF). El enlace de tales citoquinas con sus receptores específicos induce la activación de las caspasas, que a su vez conduce a la proteólisis de una variedad de sustratos, incluyendo la enzima nuclear, poli (ADP-ribosa) polimerasa (PARP). La hidrólisis de PART induce la apoptosis. Es importante tener en cuenta que este mecanismo de esquivación del protooncógeno, *Bcl-2* (los productos de proteínas de los cuales se inhiben las actividades de caspasa).

La mitocondria también juega un papel importante en la apoptosis. En 1998, S. Fulda *et al.* describe BetA como un agente citotóxico que activa la apoptosis, mediante un efecto directo en el nivel de la membrana mitocondrial, incluso cuando las caspasas se inhiben químicamente (*J. Biol. Chem.*, 273, 33942-33948). BetaA indujo directamente la pérdida de potencial de membrana mitocondrial; citocromo c soluble excretado en el citoplasma de la célula por lo tanto las caspasas 9 y 3 activadas conducen a la apoptosis. Por lo tanto, la acción de BetA es independiente de *Bcl-2* (V. Zuco et al., *Cancer Lett.*, 2002, 175, 17-25).

En 1999, S.M. Swanson *et al.*, sugieren que el metabolismo de BetA no es necesario para la inducción de la apoptosis en células de melanoma y que los metabolitos de BetA no son responsables de su especificidad en la inducción de apoptosis en las células cancerosas (S.M. Swanson et al., *Proc. Amer. Assoc. Cancer Res.*, March 1999, 40).

Recientemente, BetA fue reconocido como un inhibidor selectivo de crecimiento de melanoma humano y se informó que induce la apoptosis de estas células (Darrick S.H.L. Kim et al., *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 1998, 8, 1707-1712; E. Pisha et al., *Nature Medicine*, 1995, 1, 1046-1051; S. Fulda et al., *Cancer Res.*, 1997, 57, 4956-4964). La acción inhibidora del crecimiento de BetA fue más eficaz contra las líneas celulares de melanoma que contra los melanocitos normales. Esto fue confirmado recientemente en ratones portadores de xenoinjertos de melanoma humano (D.A. Eiznbamer and Z.Q. Xu, *Drugs*, 2004, 7, 359-373).

La acción anti-proliferativa de BetA parece ser independiente del estado de p53 y, a pesar de la inducción de la apoptosis, se induce la expresión de la proteína anti-apoptótica de Mcl-1 (Edgar Selzer et al., *Journal of Investigative Dermatology*, 2000, 114, 935-940).

Adicionalmente, una publicación reciente indica que BetA activa el factor de transcripción NF-kappaB en una variedad de líneas de células tumorales e induce la apoptosis de una manera dependiente del tipo de célula ((Hubert Kasperczyk et al., *Oncogene*, 2005, 24, 6945-6956).

Otro estudio mostró que BetA suprime la activación de NF-kappaB, así como la expresión génica regulada por NF-kappaB inducida por carcinógenos, TNF, interleuquina-1 (IL-1) y el estrés oxidativo (Yasunari Takada, Bharat B. Aggarwal, J. Immunol., 2003, 171, 3278-3286).

5 La inhibición de la replicación del VIH-1 por BetA y algunos otros triterpenoides también se ha descrito (Erik De Clercq, Rev. Med. Virol., 2000, 10, 255-277. Chaomei Ma et al., Chem. Pharm. Bull. (Tokyo), 1999, 47, 141-145. Taisei Kanamoto et al., Antimicrob. Agents Chemother., 2001, 45, 1225-1230).

10 Un nuevo derivado, el ácido 3-O-(3',3'-dimetilsuccinil)- betulínico (DSB), bloquea la maduración de VIH-1 mediante la inhibición de la escisión del precursor de la cápside, CA-SP1, que conduce a un defecto en la condensación del núcleo viral de las partículas virales (Donglei Yu et al., Expert Opin. Investig. Drugs, 2005, 14, 681-693).

15 Recientemente, se ha encontrado que el ácido betulínico Boc-lisinado es útil en el tratamiento del cáncer, en particular, el cáncer de próstata (Brij B. Saxena, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2006, 14, 6349-6358).

Un reciente artículo de revisión por R. Mukherjee et al. (Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry, 2006, 6, 271-279) estudia la relación estructura-actividad de una serie de derivados de ácido betulínico. El documento concluye que la función ácido carboxílico C-28 es esencial para provocar la citotoxicidad, que una función éster C-3 potencia la citotoxicidad, y que un sustituyente halo C-2 mejora la citotoxicidad.

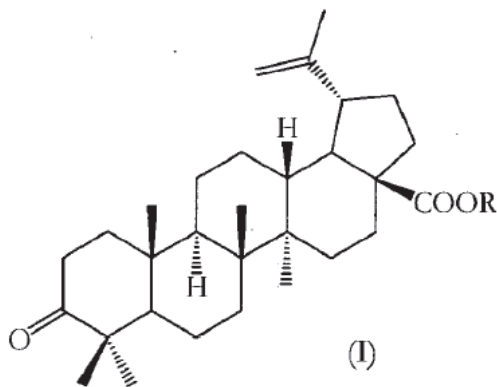
20 US-B1-6,670,345, US-B1-6,403,816 y WO-A-00/46235 revelan los ésteres C₂₈ del Ácido Betulínico con un Ácido Betulínico como agentes anti-proliferativos.

25 Sin embargo, por supuesto existe siempre una necesidad de compuestos alternativos para el tratamiento de enfermedades tales como el cáncer y las infecciones virales.

30 Se ha encontrado ahora que los derivados del ácido betulínico, en particular, ésteres de ácido betulínico, ésteres del ácido-dihidro-betulínico, derivados del ácido betulínico PAG-modificado y derivados del ácido dihidro-betulínico PAG-modificado, son útiles en el tratamiento del cáncer y las infecciones virales como el VIH, el VHS y la infección por influenza. La función cetona de los ésteres de ácido betulínico y los ésteres del ácido-dihidro betulínico permiten que estos ésteres se deriven y se unan a un poli (alquilenglicol), por ejemplo, poli (etilenglicol) o monometoxi poli(etilenglicol), que provee los ésteres con mejor solubilidad y estabilidad *in vivo*.

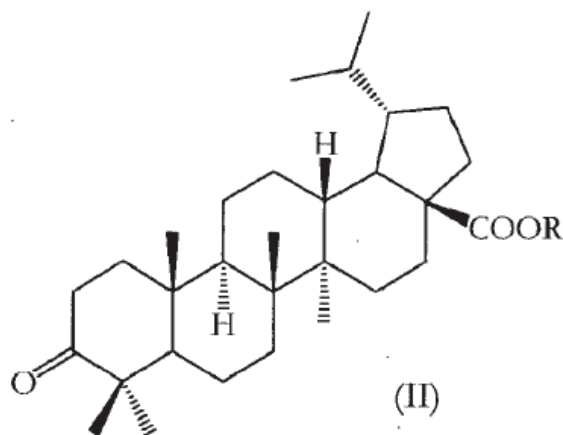
35 Resumen de la invención

En un primer aspecto, la presente invención provee un compuesto que tiene la estructura (I):



40 en donde R es un grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, acrilo, arilalquilo, arilalquenilo, arilalquinilo, alquilarilo, alquenilarilo o alquinilarilo, que puede estar opcionalmente sustituido como se indica a continuación, que puede incluir opcionalmente uno o más heteroátomos de N, O o S en su esqueleto de carbono, y que puede incluir opcionalmente uno o más grupos -CO- en su esqueleto de carbono.

El primer aspecto de la presente invención también provee un compuesto que tiene la estructura (II):



en donde R es un grupo alquilo, alqueno, alquino, arilalquilo, arilalqueno, arilalquino, alquilarilo, alquenilarilo o alquinilarilo, que puede estar opcionalmente sustituido como se indica a continuación, que puede incluir opcionalmente uno o más heteroátomos de N, O o S en su esqueleto de carbono, y que opcionalmente puede incluir uno o más grupos -CO- en su esqueleto de carbono.

La presente invención también se refiere a los compuestos 2b, 2b-i y 2b-ii, tal como se define en las reivindicaciones.

A efectos de la presente invención, un grupo "alquilo" se define como un hidrocarburo saturado monovalente, que puede ser de cadena lineal o ramificada, o tener o incluir uno o más grupos cíclicos. Un grupo alquilo puede incluir opcionalmente uno o más heteroátomos de N, O o S en su esqueleto de carbono. Preferiblemente un grupo alquilo incluye 0, 1, 2, 3 o 4 átomos de nitrógeno en su esqueleto de carbono. Preferiblemente un grupo alquilo incluye 0, 1, 2, 3 o 4 átomos de oxígeno en su esqueleto de carbono. Preferiblemente un grupo alquilo incluye 0, 1, 2, 3 o 4 átomos de azufre en su esqueleto de carbono. Un grupo alquilo puede incluir opcionalmente uno o más grupos -CO- en su esqueleto de carbono. Preferiblemente un grupo alquilo incluye 0, 1, 2, 3 o 4 grupos -CO- en su esqueleto de carbono, más preferiblemente un grupo alquilo no incluye ningún grupo -CO- en su esqueleto de carbono. Ejemplos de grupos alquilo son grupos metilo, etilo, ciclohexilo y decahidro-naftaleno. Preferiblemente un grupo alquilo es un grupo alquilo C₂-C₃₀, que se define como un grupo alquilo que contiene de 2 a 30 átomos de carbono. Un grupo "alqueno" se define de manera similar como un grupo alquilo divalente. En una modalidad, un grupo alqueno es o incluye uno o más grupos cíclicos y contiene de 17 a 25 átomos de carbono. En otra modalidad, un grupo alqueno es de cadena lineal o ramificada y contiene de 2 a 10 átomos de carbono.

Un grupo "alqueno" se define como un hidrocarburo monovalente, que comprende al menos un doble enlace carbono-carbono, que puede ser de cadena lineal o ramificada, o tener o incluir uno o más grupos cíclicos. Un grupo alqueno puede opcionalmente incluir uno o más heteroátomos de N, O o S en su esqueleto de carbono. Preferiblemente un grupo alqueno incluye 0, 1, 2, 3 o 4 átomos de nitrógeno en su esqueleto de carbono. Preferiblemente un grupo alqueno incluye 0, 1, 2, 3 o 4 átomos de oxígeno en su esqueleto de carbono. Preferiblemente un grupo alqueno incluye 0, 1, 2, 3 o 4 átomos de azufre en su esqueleto de carbono. Un grupo alqueno, opcionalmente puede incluir uno o más grupos -CO- en su esqueleto de carbono. Preferiblemente un grupo alqueno no incluye ningún grupo -CO- en su esqueleto de carbono. Ejemplos de grupos alqueno son grupos vinilo, alilo, ciclohexenilo y octahidro-naftaleno. Preferiblemente un grupo alqueno es un grupo alqueno C₂-C₃₀, que se define como un grupo alqueno que contiene de 2 a 30 átomos de carbono. Un grupo "alqueno" se define de manera similar como un grupo alqueno divalente. En una modalidad, un grupo alqueno es o incluye uno o más grupos cíclicos y contiene de 17 a 25 átomos de carbono. En otra modalidad, un grupo alqueno es de cadena lineal o ramificada y contiene de 2 a 10 átomos de carbono.

Un grupo "alquino" se define como un hidrocarburo monovalente, que comprende al menos un enlace triple carbono-carbono, que puede ser de cadena lineal o ramificada, o tener o incluir uno o más grupos cíclicos. Un grupo alquino opcionalmente puede incluir uno o más heteroátomos de N, O o S en su esqueleto de carbono. Preferiblemente un grupo alquino incluye 0, 1, 2, 3 o 4 átomos de nitrógeno en su esqueleto de carbono. Preferiblemente un grupo alquino incluye 0, 1, 2, 3 o 4 átomos de oxígeno en su esqueleto de carbono. Un grupo alquino puede incluir opcionalmente uno o más grupos -CO- en su esqueleto de carbono. Preferiblemente un grupo alquino incluye 0, 1, 2, 3 o 4 grupos -CO- en su esqueleto de carbono, más preferiblemente un grupo alquino no incluye ningún grupo -CO- en su esqueleto de carbono. Ejemplos de grupos alquino son grupos etinilo, propargilo, but-1-inil y but-2-inil. Preferiblemente un grupo alquino es un grupo alquino C₂-C₃₀,

que se define como un grupo alquinilo que contiene de 2 a 30 átomos de carbono. Un grupo "alquenileno" se define de manera similar como un grupo alquenilo divalente.

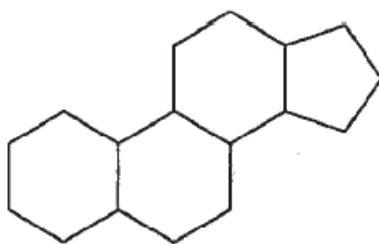
Un grupo "arilo" se define como un hidrocarburo aromático monovalente. Un grupo arilo puede opcionalmente incluir uno o más heteroátomos de N, O o S en su esqueleto de carbono. Preferiblemente un grupo arilo incluye 0, 1, 2, 3 o 4 átomos de nitrógeno en su esqueleto de carbono. Preferiblemente un grupo arilo incluye 0, 1, 2, 3 o 4 átomos de oxígeno en su esqueleto de carbono. Preferiblemente un grupo arilo incluye 0, 1, 2, 3 o 4 átomos de azufre en su esqueleto de carbono. Un grupo arilo puede incluir opcionalmente uno o más grupos -CO- en su esqueleto de carbono. Preferiblemente un grupo arilo incluye 0, 1, 2, 3 o 4 grupos -CO- en su esqueleto de carbono, más preferiblemente un grupo arilo no incluye ningún grupo -CO- en su esqueleto de carbono. Ejemplos de grupos arilo son grupos fenilo, naftilo, antraceno, fenantreno, furanilo, pirrolilo, tiofenilo (C₄H₃S), oxazolilo, imidazolilo, tiazolilo, isoxazolilo, pirazolilo, isotiazolilo, piridinilo, quinolinilo, isoquinolinilo, indolilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo y flavonil (C₁₅H₉O₂). Preferiblemente un grupo arilo es un grupo arilo C₄₋₃₀, que se define como un grupo arilo que contiene de 4 a 30 átomos de carbono. Un grupo "arileno" se define de manera similar como un grupo arilo divalente.

A efectos de la presente invención, cuando una combinación de grupos hace referencia a una fracción, por ejemplo, arilalquilo, arilalquenilo, arilalquinilo, alquilarilo, alquenilarilo o alquinilarilo, el último grupo mencionado contiene el átomo por el cual la fracción está unida al resto de la molécula. Un ejemplo típico de un grupo arilalquilo es bencilo.

Para los propósitos de esta invención, un grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, arilalquilo, arilalquenilo, arilalquinilo, alquilarilo, alquenilarilo o alquinilarilo opcionalmente sustituido puede ser sustituido con uno o más de -F, -Cl, -Br, -I, -CF₃, -CCl₃, -CBr₃, -Cl₃, -OH, -SH, -NH₂, -CN, -NO₂, -COOH, -R¹-O-R², -R¹-S-R², -R¹-SO-R², -R¹-SO₂-R², -R¹-SO₂-OR², -R¹OSO₂-R², -R¹-SO₂-N(R²)₂, -R¹-NR²-SO₂-R², -R¹O-SO₂-OR², -R¹O-SO₂-N(R²)₂, -R¹-NR²-SO₂-OR², -R¹-NR²-SO₂-N(R²)₂, -R¹-N(R²)₂, -R¹-N(R²)₂⁺, -R¹-P(R²)₂, -R¹-Si(R²)₃, -R¹-CO-R², -R¹-CO-OR², -R¹O-CO-R², -R¹-CON(R²)₂, -R¹-NR²-CO-R², -R¹O-CO-OR², -R¹O-CO-N(R²)₂, -R¹-NR-CO-OR², -R¹-NR²-CO-N(R²)₂, -R¹-CS-R², -R¹-CSOR², -R¹O-CS-R², -R¹-CS-N(R²)₂, -R¹-NR²-CS-R², -R¹O-CS-OR², -R¹O-CS-N(R²)₂, -R¹-NR²-CS-OR², -R¹-NR²-CSN(R²)₂, o -R². En este contexto, -R¹- es independientemente un enlace químico, un grupo alquileo C₁₋₁₀, alquenileno C₁₋₁₀ o alquinileno C₁₋₁₀. -R² es independientemente hidrógeno, alquilo C₁₋₆ no sustituido, alquenilo C₁₋₆ no sustituido, alquinilo C₁₋₆ no sustituido o arilo C₆₋₁₀ no sustituido. El(los) sustituyente(s) opcional(es) no se tiene(n) en cuenta al calcular el número total de átomos de carbono en el grupo original sustituido con el(los) sustituyente(s) opcional(es). Preferiblemente un grupo sustituido comprende 1, 2 o 3 sustituyentes, más preferiblemente 1 o 2 sustituyentes, y aún más preferiblemente 1 sustituyente.

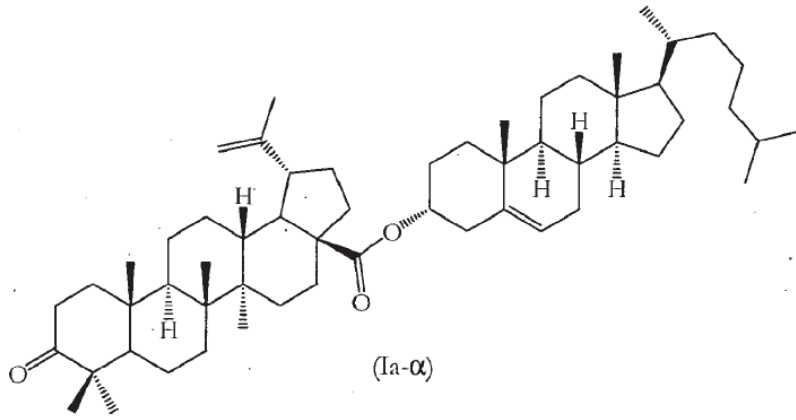
Cualquier sustituyente opcional se puede proteger. Los grupos protectores apropiados para la protección de los sustituyentes opcionales son conocidos en la técnica, por ejemplo, de "Protective Groups in Organic Synthesis" by T.W. Greene and P.G.M. Wuts (Wiley-Interscience, 3rd edition, 1999).

R comprende un sistema de anillo fusionado, que puede comprender uno o más dobles enlaces, y que puede estar opcionalmente sustituido. El sistema de anillo fusionado tiene una estructura de esterano como se muestra:

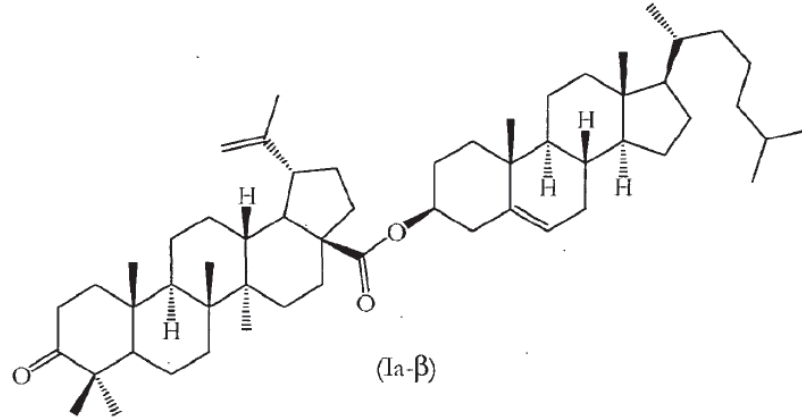


que puede comprender uno o más dobles enlaces, y que puede estar opcionalmente sustituido como se ha indicado anteriormente.

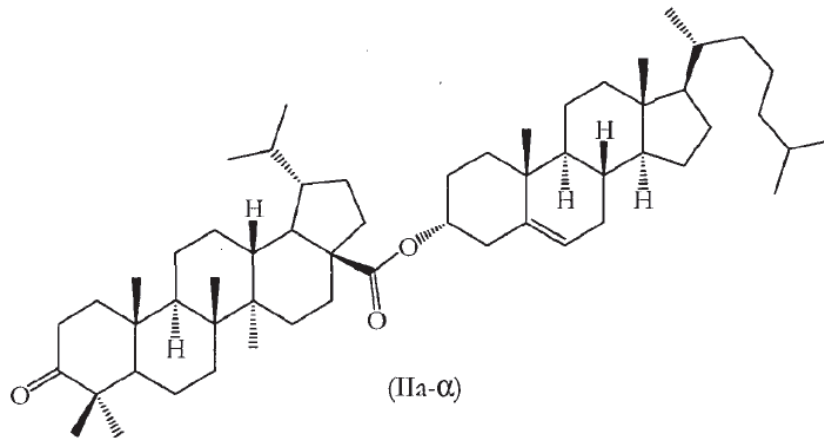
En una modalidad, R es una fracción alcohol esteroide. En una modalidad preferida, R es una fracción colesterilo, de tal manera que el compuesto de la presente invención es el betulonato de colesterilo que tiene la estructura (Ia- α) o (Ia- β) o un derivado saturado del mismo que tiene la estructura (IIa- α) o (IIa- β):



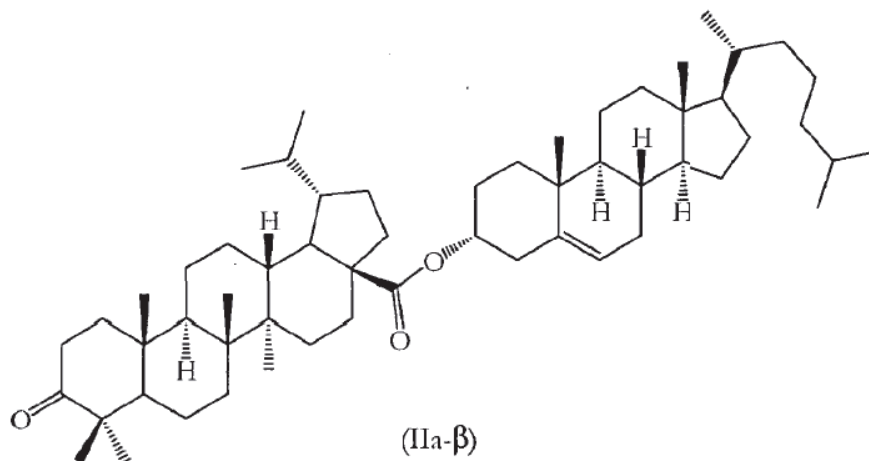
o



5 o



o



En una modalidad, R es una fracción de hormona esteroide o una fracción del metabolito de la hormona esteroide. En una modalidad preferida, R es una fracción estrógeno tal como una fracción estradiol, una fracción progestágeno tal como una fracción progesterona, una fracción andrógeno tal como una fracción testosterona, o una fracción dehidroepiandrosterona.

El compuesto de la presente invención se puede utilizar en la preparación de derivados como se define a continuación.

Un derivado de un compuesto del primer aspecto de la presente invención puede estar unido a un poli (alquilenglicol), preferiblemente a través de un conector. Preferiblemente una función cetona derivatizada del compuesto se une al poli (alquilenglicol), preferiblemente a través de un conector. Preferiblemente, una función cetona derivatizada del compuesto se une al conector, que a su vez está unido al poli(alquilenglicol). Preferiblemente, la función cetona derivatizada es una amina, un alcohol o un tiol, más preferiblemente una amina. Si está presente, el conector es preferiblemente una diamina tal como la ornitina. Preferiblemente, el poli (alquilenglicol) es

- (a) poli (etilenglicol) $[\text{HO}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{-H}]$,
- (b) monometoxi poli (etilenglicol) $[\text{CH}_3\text{O}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{-H}]$,
- (c) monoamino poli (etilenglicol) $[\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{-H}]$,
- (d) monoamino monometoxi poli (etilenglicol) $[\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{-CH}_3]$,
- (e) mono (amino sustituido) poli (etilenglicol) $[\text{RHN}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{-H}]$,
- (f) mono (amino sustituido) monometoxi poli (etilenglicol) $[\text{RHN}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{-CH}_3]$,
- (g) monocarboxi poli (etilenglicol) $[\text{HO}_2\text{C}-(\text{CH}_2)_p\text{O}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{-H}]$, o
- (h) monocarboxi monometoxi poli (etilenglicol) $[\text{HO}_2\text{C}-(\text{CH}_2)_p\text{O}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{-CH}_3]$,

en donde n es un número entero, preferiblemente en donde n es de 1 a 1500,

R es un grupo alquilo, alqueno, alqueno, arilo, arilalquilo, arilalqueno, arilalquino, alquilarilo, alquenilarilo o alquinarilo, que opcionalmente puede estar sustituido y que puede incluir opcionalmente uno o más heteroátomos de N, O o S en su esqueleto de carbono, y p es 1, 2, 3, 4, 5 o 6.

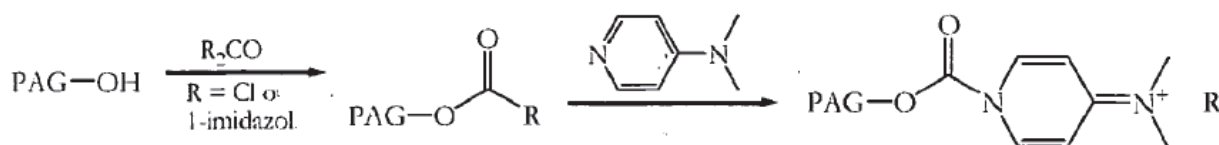
A efectos de la presente invención, un poli (alquilenglicol) (PAG) es un compuesto de la fórmula $\text{H}-(\text{O-alquilo})_n\text{-OH}$ que en el presente documento está abreviado a PAG-OH. El grupo alquilo de repetición de un poli (alquilenglicol) puede ser de cadena lineal o ramificada, el grupo alquilo es preferiblemente de cadena lineal. El poli (alquilenglicol) puede ser funcionalizado en un extremo, por ejemplo con un grupo terminal -R, -NH₂, -NHR, -NR₂, -SH, -SR o -CO₂H, en donde R es un grupo alquilo, alqueno, alqueno, arilo, arilalquilo, arilalqueno, arilalquino, alquilarilo, alquenilarilo o alquinarilo, que opcionalmente puede estar sustituido y que puede incluir opcionalmente uno o más heteroátomos de N, O S en su esqueleto de carbono, preferiblemente en donde R es un grupo alquilo no sustituido, más preferiblemente en donde R es un grupo alquilo C₁₋₆ no sustituido. El poli (alquilenglicol) puede ser funcionalizado en ambos extremos, a condición de que al menos un extremo esté funcionalizado con un grupo terminal -NH₂, -NHR o -SH, en donde R se define como en el momento anterior. Preferiblemente, un poli (alquilenglicol) es de la fórmula $\text{HO} - [(\text{CH}_2)_m\text{O}]_n\text{-H}$, en la que m es de 1 a 4, y n es de 1 a 1500.

Al agregar los PAGs a compuestos terapéuticamente activos se confieren muchas propiedades nuevas e interesantes a los compuestos con respecto a su uso como fármacos. Como regla general, los compuestos PAG-modificados exhiben una mayor estabilidad, un aumento de la vida media metabólica, una disminución de la inmunogenicidad, y la disminución de la toxicidad.

Los GAP son polímeros lineales, hidrófilos, no cargados y flexibles, que están disponibles comercialmente en una variedad de pesos moleculares. Los PAGs no son tóxicos y generalmente reconocidos como seguros. En particular, el monometoxi poli(etilenglicol) (mPEG) está aprobado por la FDA como un vehículo o la base para una serie de preparaciones farmacéuticas y tiene un bajo orden de toxicidad en aplicaciones orales, parenterales y epidérmicas. Cuando se administra por vía intravenosa a seres humanos, mPEGs con un peso molecular de 1 a 6 kDa se excretan fácilmente, principalmente a través del riñón.

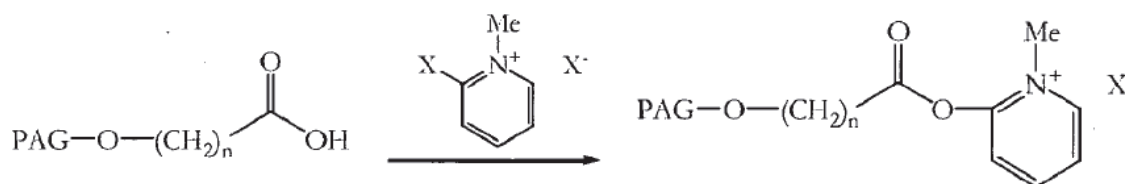
Preferiblemente, para efectuar la unión covalente de PAGs a derivados del éster del ácido betulónico, un grupo con un extremo hidroxilo del polímero PAG se convierte en un grupo funcional reactivo. Se conocen métodos de activación de PAGs en la técnica. La patente europea EP 0 632 082, que se incorpora en este documento por referencia en su totalidad, se describe una amplia variedad de métodos de activación de PAGs. Ejemplos de PAGs activados se muestran en la Figura 1. Los métodos de obtención de estos PAGs activados son conocidos por los expertos en la técnica. Los PAGs activados pueden ser aislados antes de acoplar a los derivados de éster de ácido betulónico. Alternativamente, los PAGs activados se pueden preparar *in situ* y se acoplan a los derivados de éster del ácido betulónico sin aislar.

Un método preferido de activación de PAGs para los propósitos de la presente invención es el uso de fosgeno (Cl_2CO) o 1,1'-carbonyldiimidazol (CDI) para proveer un cloroformiato de PAG o un 1-carbonilimidazol de PAG, seguido por el uso de 4-dimetilaminopiridina (DMAP) para proveer un carbamato de PAG (véase el Esquema 1, metodología carbamato DMAP).



Esquema 1

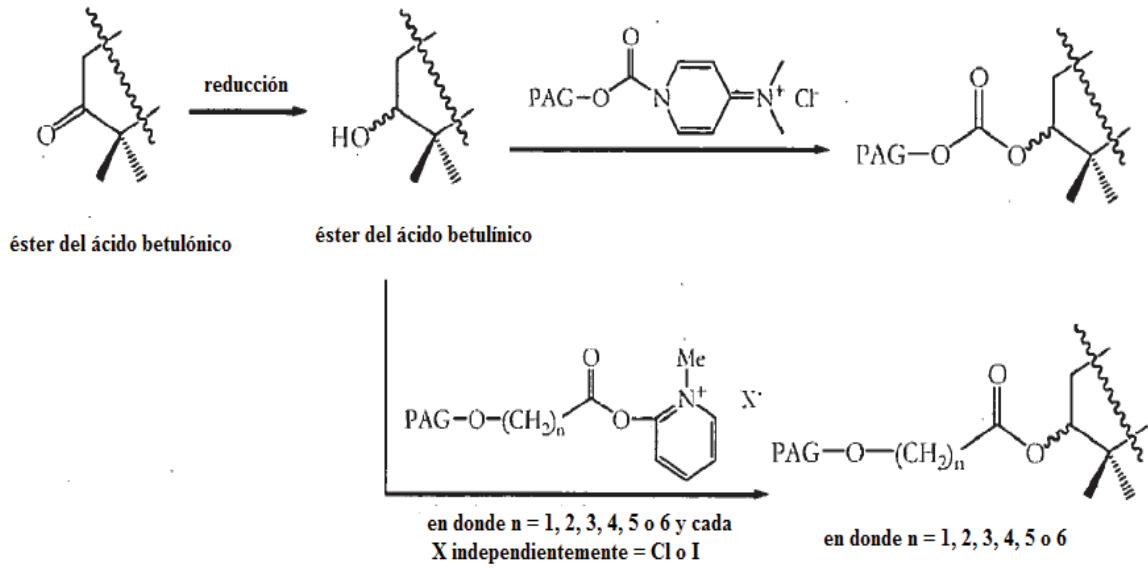
Un método alternativo preferido de la activación de PAGs para los propósitos de la presente invención es el uso del reactivo de Mukaiyama (yoduro de 2-cloro-1-metilpiridinio, CMPI) en un ácido carboxílico de PAG para proveer un éster de PAG (véase el Esquema 2, metodología éster CMPI).



en donde $n = 1, 2, 3, 4, 5$ o 6 y cada X independientemente = Cl o I

Esquema 2

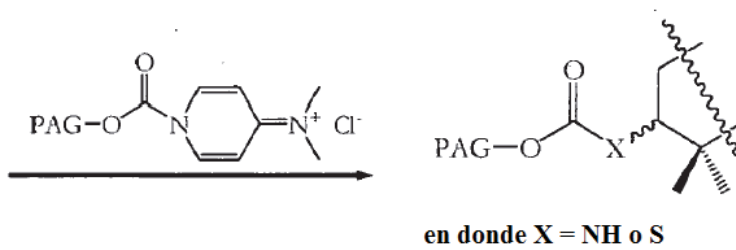
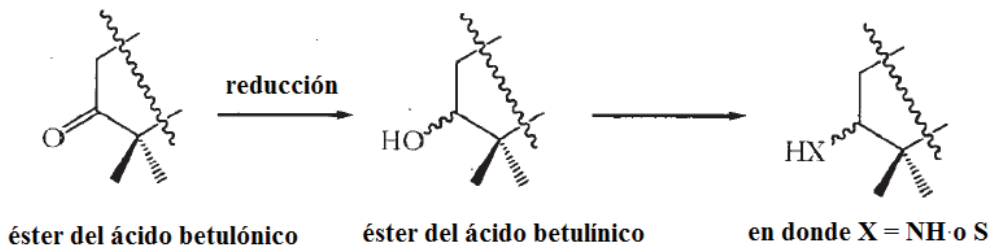
Dado que los derivados del éster de ácido betulónico de la presente invención carecen de un grupo funcional apropiado para el acoplamiento a PAGs activados, los derivados del éster de ácido betulónico se pueden derivar antes del acoplamiento. En una modalidad, la función cetona C-3 de un derivado de éster de ácido betulónico se reduce para proveer el derivado de éster del ácido betulónico correspondiente, que está acoplado a un PAG activado a través del grupo hidroxilo en C-3 (véase el Esquema 3).



Esquema 3

En otra modalidad, el grupo hidroxilo C-3 del derivado del éster del ácido betulínico se convierte en un grupo amino o un grupo sulfhidrilo, que está acoplado a un PAG activado a través del grupo amino C-3 o sulfhidrilo (véase el Esquema 4).

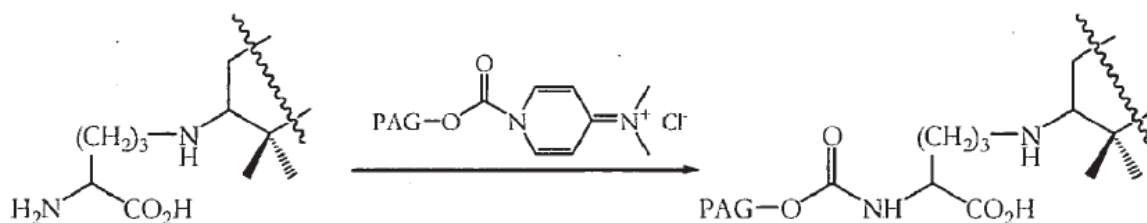
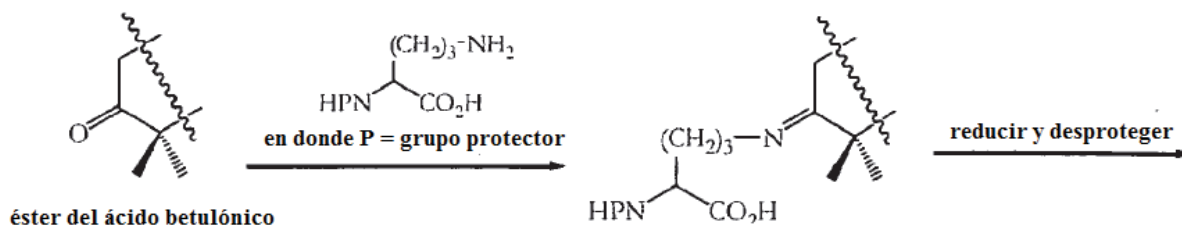
5



Esquema 4

En otra modalidad, un conector es, acoplado a la función cetona C-3 de un derivado de éster del ácido betulónico, y el conector se acopla entonces a un PAG activado (véase el Esquema 5). Un conector preferido es una diamina, tal como la ornitina, que puede estar protegida adecuadamente, por ejemplo, con un grupo Boc o un Fmoc. Los grupos protectores apropiados son conocidos en la técnica, por ejemplo, de "Protective Groups in Organic Synthesis" by T.W. Greene and P.G.M. Wuts (Wiley-Interscience, 3rd edition, 1999).

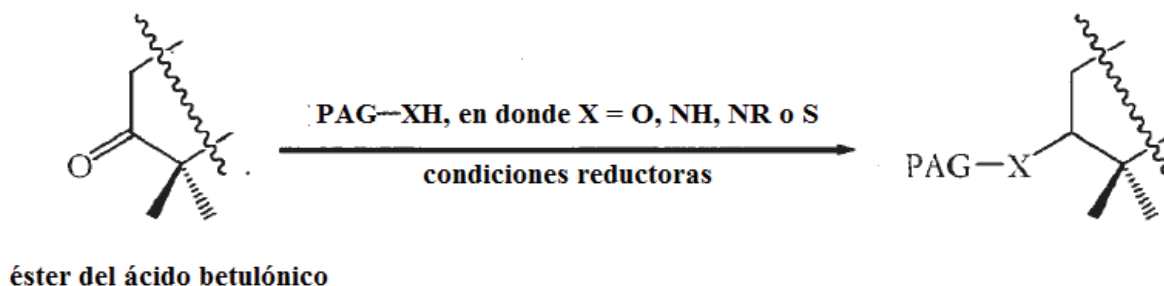
5



Esquema 5

Alternativamente, un PAG puede estar unido covalentemente a un derivado del éster del ácido betulónico sin activar el PAG y sin derivatización antes del derivado del éster del ácido betulónico. Por ejemplo, PAG-OH, PAG-NH₂, PAG-NHR o PAG-SH se pueden condensar con la función cetona C-3 de un derivado de éster de ácido betulónico en condiciones reductoras (véase el Esquema 6).

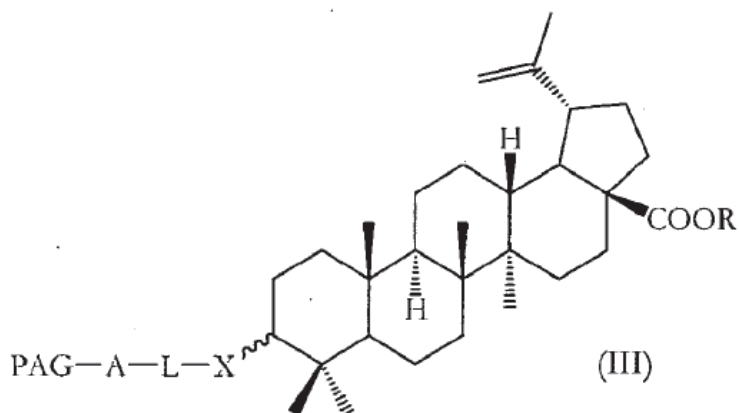
10



Esquema 6

15 El acoplamiento de los derivados del éster del ácido betulónico de la presente invención con los PAGs suministra los ésteres más solubles en medio acuoso y más estables *in vivo*.

Por lo tanto, en un segundo aspecto, la presente invención provee un compuesto que tiene la estructura (III):



en donde

R es hidrógeno o un grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, arilalquilo, arilalquenilo, arilalquinilo, alquilarilo, alquenilarilo o alquinilarilo, que puede estar opcionalmente sustituido, que puede incluir opcionalmente uno o más heteroátomos de N, O o S en su esqueleto de carbono, y que puede incluir opcionalmente uno o más grupos -CO- en su esqueleto de carbono,

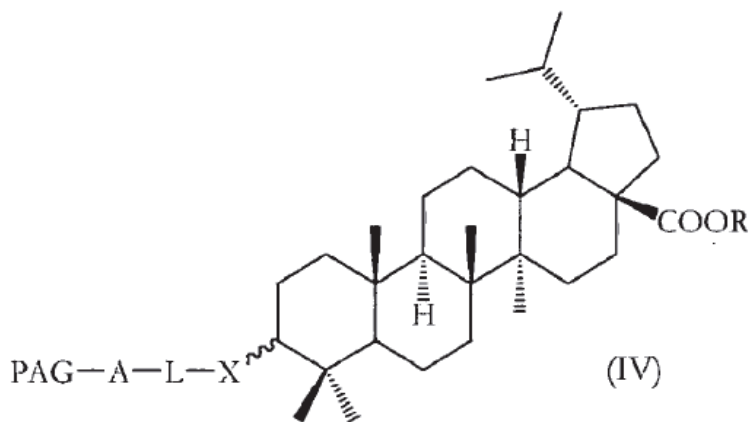
X es NH, O o S,

L es un enlace o un conector,

A es un enlace o -O-C (O) -, y

PAG es un poli (alquilenglicol).

El segundo aspecto de la presente invención también provee un compuesto que tiene la estructura (IV):



en donde

R es hidrógeno o un grupo alquilo, alquenilo, alquenilo, arilo, arilalquilo, arilalquenilo, arilalquinilo, alquilarilo, alquenilarilo o alquinilarilo, que puede estar opcionalmente sustituido, que puede incluir opcionalmente uno o más heteroátomos de N, O o S en su esqueleto de carbono, y que puede incluir opcionalmente uno o más grupos -CO- en su esqueleto de carbono,

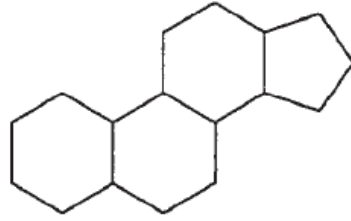
X es NH, O o S,

L es un enlace o un conector,

A es un enlace o -O-C (O) -, y

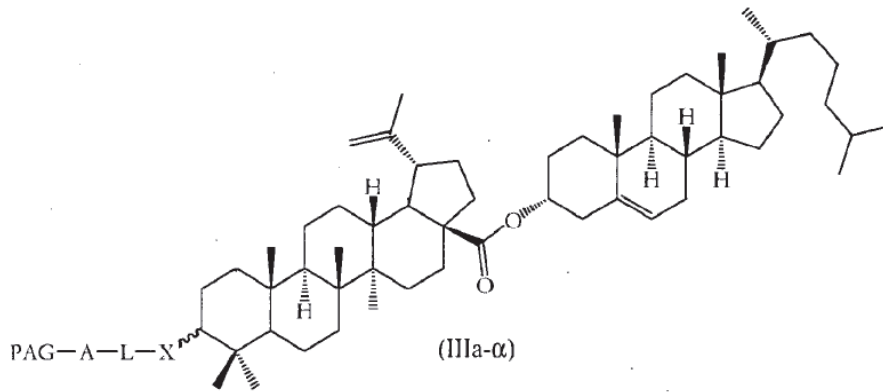
PAG es un poli (alquilenglicol).

R comprende un sistema de anillo fusionado, que puede comprender uno o más dobles enlaces, y que puede estar opcionalmente sustituido. El sistema de anillo fusionado tiene una estructura de esterano como se muestra:

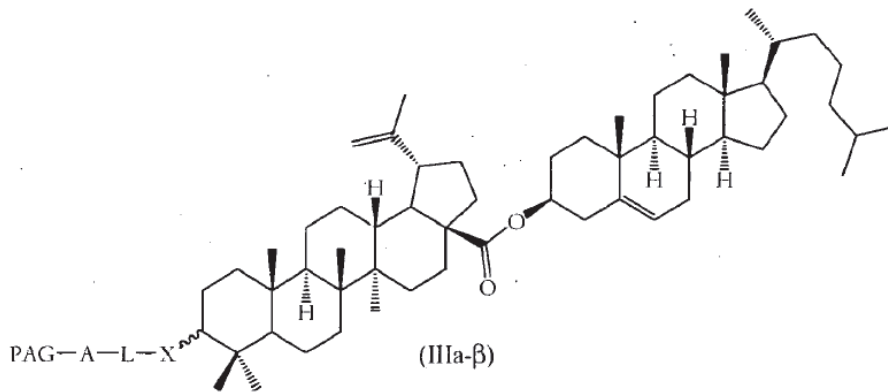


que puede comprender uno o más dobles enlaces, y que puede estar opcionalmente sustituido.

- 5 En una modalidad, R comprende una fracción alcohol esteroide. En una modalidad preferida, la fracción alcohol esteroide es una fracción colesteril, en cuyo caso el compuesto tiene la estructura (IIIa- α), IIIa- β), (IVa- α) o (IVa- β):

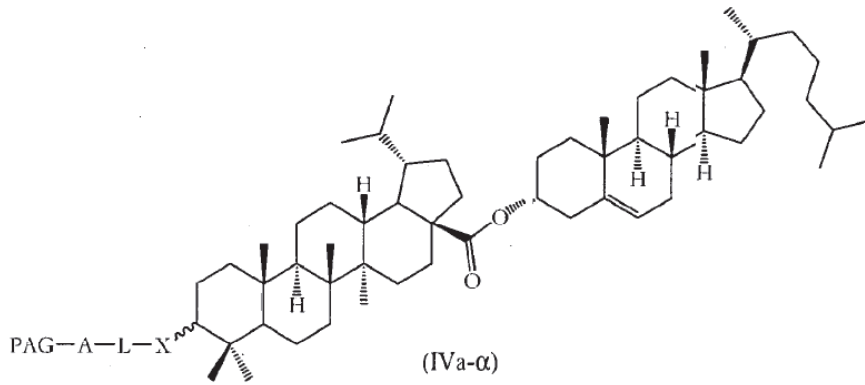


o

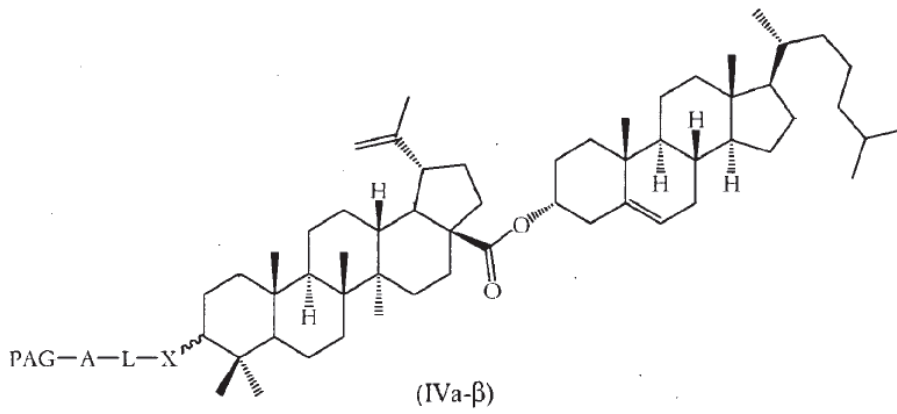


10

o

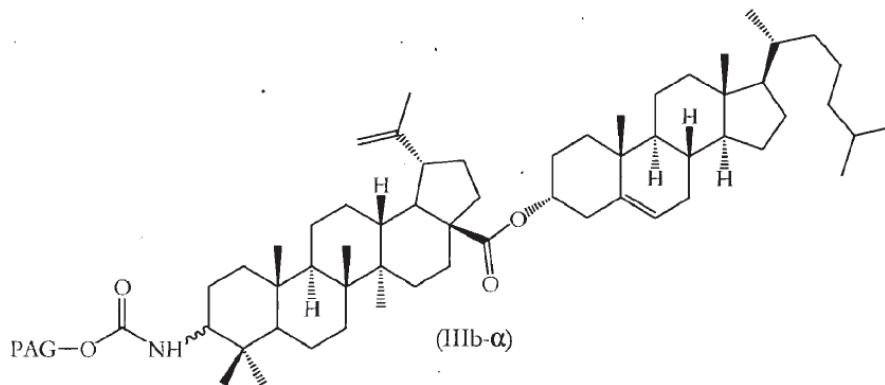


o

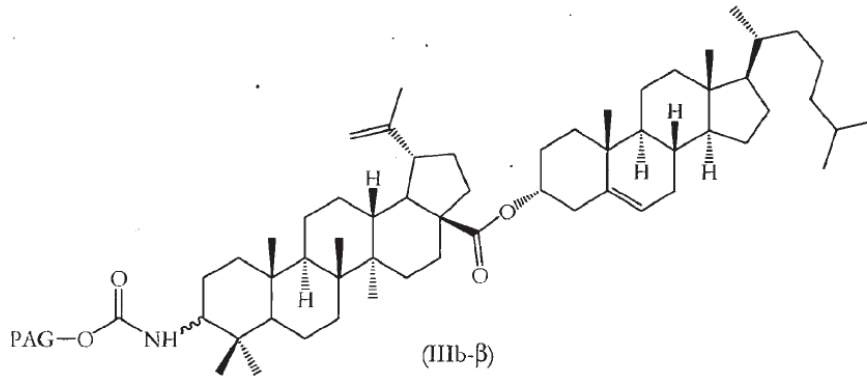


5

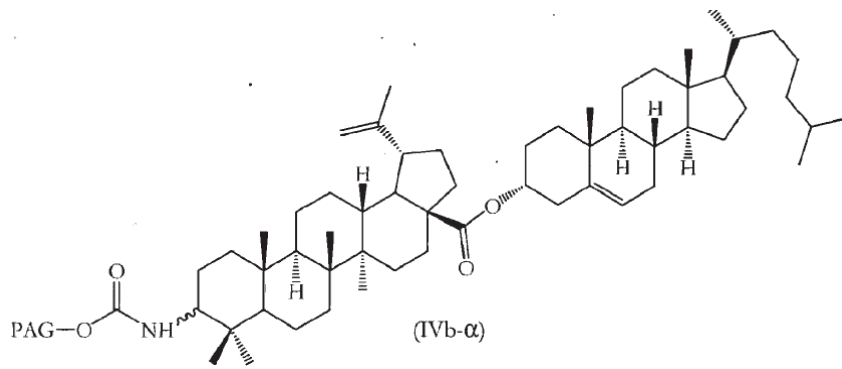
En una modalidad preferida, el compuesto tiene la estructura (IIIb- α), (IIIb- β), (IVb- α), (IVb- β), (IIIc- α), (IIIc- β), (IVc- α) o (IVc- β):



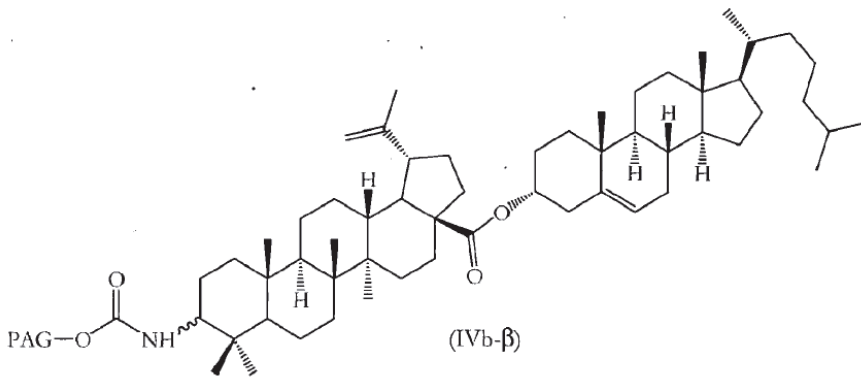
o



o

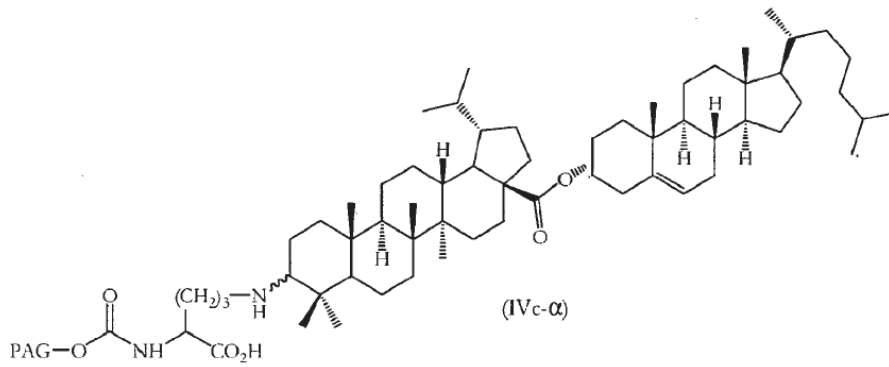
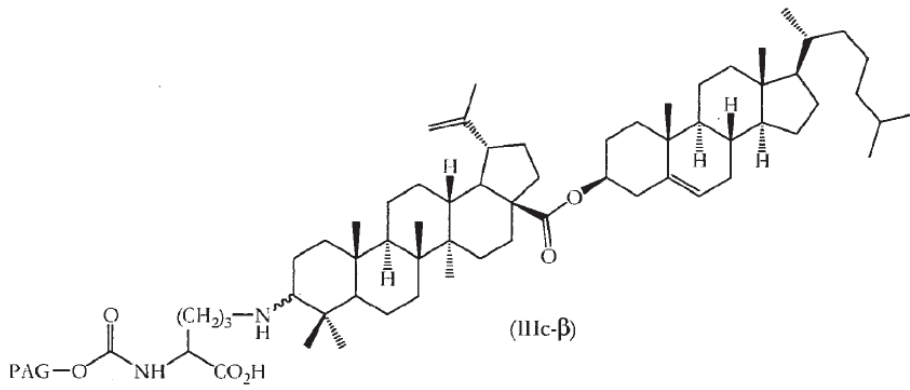
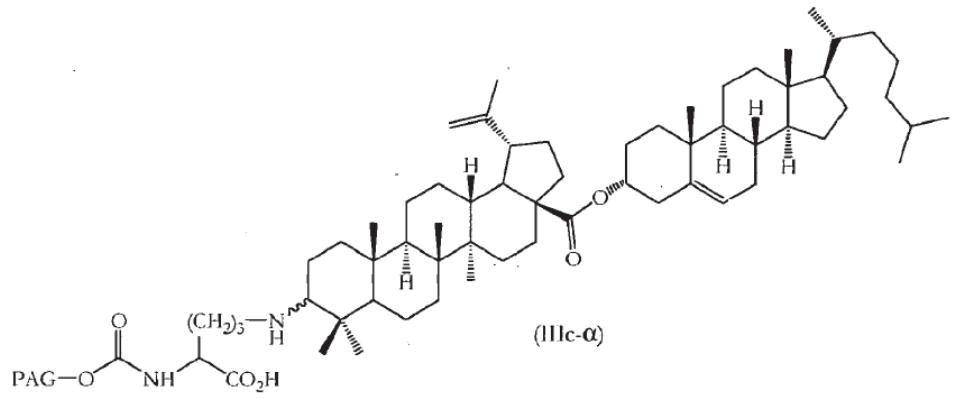


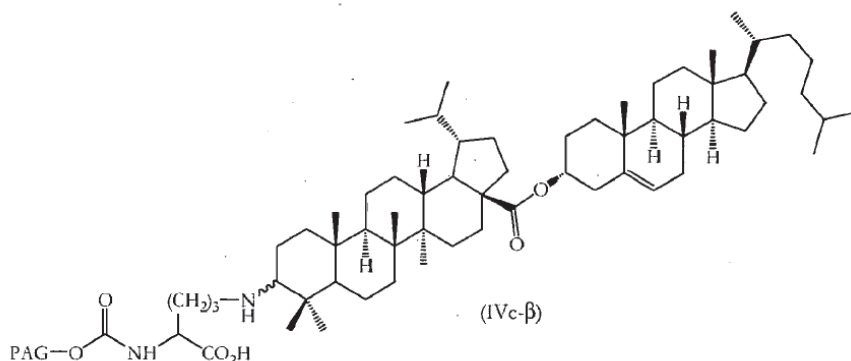
o



5

o





5 En una modalidad, R es una fracción de hormona esteroide. En una modalidad preferida, la fracción de hormona esteroide es una fracción estrógeno tal como una fracción estradiol, una fracción progestágeno tal como una fracción de progesterona, una fracción de andrógenos tal como una fracción de testosterona, o una fracción de dehidroepiandrosterona.

En una modalidad, X es NH. En otra modalidad, X es O. En otra modalidad, X es S. Preferiblemente X es NH.

10 En una modalidad, L es un enlace. En otra modalidad, L un conector. El conector puede derivarse de una diamina (tal como ornitina) o un aminoácido (tal como lisina, glicina u ornitina). El conector puede ser, o formar parte de un péptido, un éster o un carbonato.

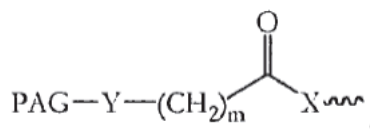
15 Como se ha indicado anteriormente, para efectuar la unión covalente de PAGs con compuestos terapéuticamente activos, un grupo terminal hidroxilo del polímero PAG se puede convertir en un grupo funcional reactivo. El grupo A es el remante, si lo hay, de dicho grupo funcional reactivo. Si se utiliza un PAG activado preferido, el carbamato de PAG mostrado en el anterior Esquema 1, entonces A es -O-CO-.

En una modalidad, el poli (alquilenglicol) es el poli (etilenglicol), tal como monometoxi poli (etilenglicol).

20 En las fracciones -PAG-A-L-X- preferidas, la fracción -A-L- es un grupo alquilo, que puede estar opcionalmente sustituido, que puede incluir opcionalmente uno o más heteroátomos de N, O o S en su esqueleto de carbono, y que puede opcionalmente incluir uno o más grupos -CO- en su esqueleto de carbono. Preferiblemente, la fracción -A-L- es un alquilo no sustituido, grupo, que incluye opcionalmente uno o más heteroátomos de N, O o S en su esqueleto de carbono, y que incluye opcionalmente uno o más grupos -CO- en su esqueleto de carbono. Preferiblemente, la fracción -A-L- es un grupo alquilo no sustituido, que incluye opcionalmente uno o más heteroátomos de N u O en su esqueleto de carbono, y que incluye opcionalmente uno o más grupos -CO- en su esqueleto de carbono. Preferiblemente, la fracción -A-L- es un grupo alquilo no sustituido, que incluye 0, 1, 2, 3 o 4 átomos de nitrógeno, y 0, 1, 2, 3 o 4 átomos de oxígeno, y 0, 1, 2, 3 o 4 grupos -CO- en su esqueleto de carbono.

Las fracciones preferidas de PAG-A-L-X- son:

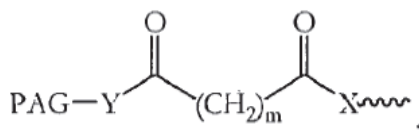
(a)



en donde Y = enlace, O o NH, y m = 0 a 30 (preferiblemente m = 0 a 10);

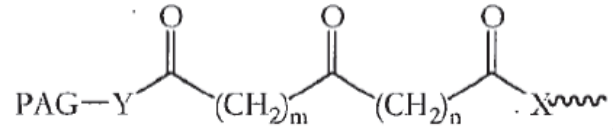
35

(b)



en donde Y = enlace, O o NH, y m = 0 a 30 (preferiblemente m = 0 a 10);

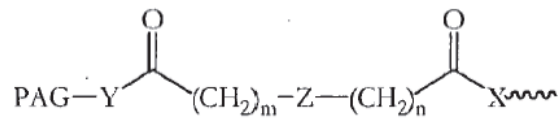
(c)



en donde Y = enlace, O o NH, m = 0 a 30, y n = 0 a 30 (preferiblemente m = 0 a 10, y preferiblemente n = 0 a 10);

5

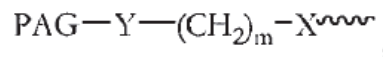
(d)



en donde Y = enlace, O o NH, Z = O o NH, m = 0 a 30, y n = 0 a 30 (preferiblemente m = 0 a 10, y preferiblemente n = 0 a 10);

10

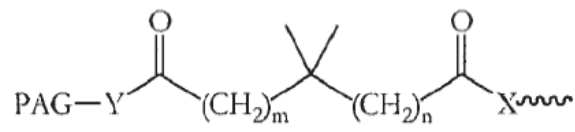
(e)



en donde Y = enlace, O o NH, y m = 0 a 30 (preferiblemente m = 0 a 10);

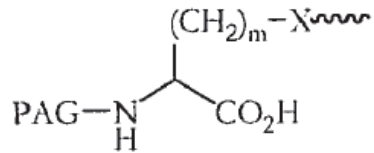
15

(f)



en donde Y = enlace, O o NH, m = 0 a 30, y n = 0 a 30 (preferiblemente m = 0 a 10, y preferiblemente n = 0 a 10);

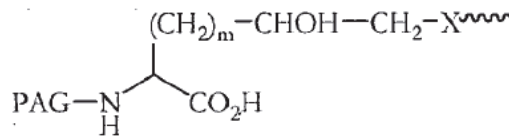
(g)



en donde m = 1 a 6 (preferiblemente m = 3 o 4);

20

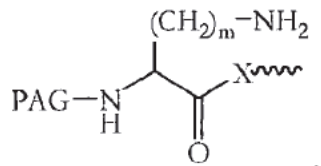
(h)



en donde m = 1 a 4 (preferiblemente m = 1 o 2);

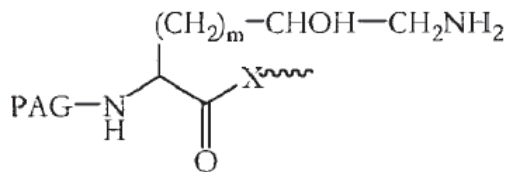
25

(i)



en donde $m = 1$ a 6 (preferiblemente $m = 3$ o 4);

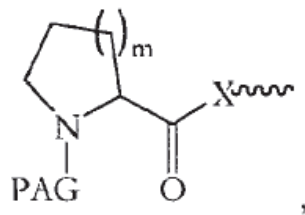
(j)



5

en donde $m = 1$ a 4 (preferiblemente $m = 1$ o 2);

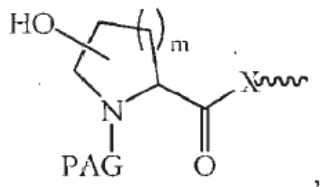
(k)



10

en donde $m = 1$ o 2 ; o

(l)

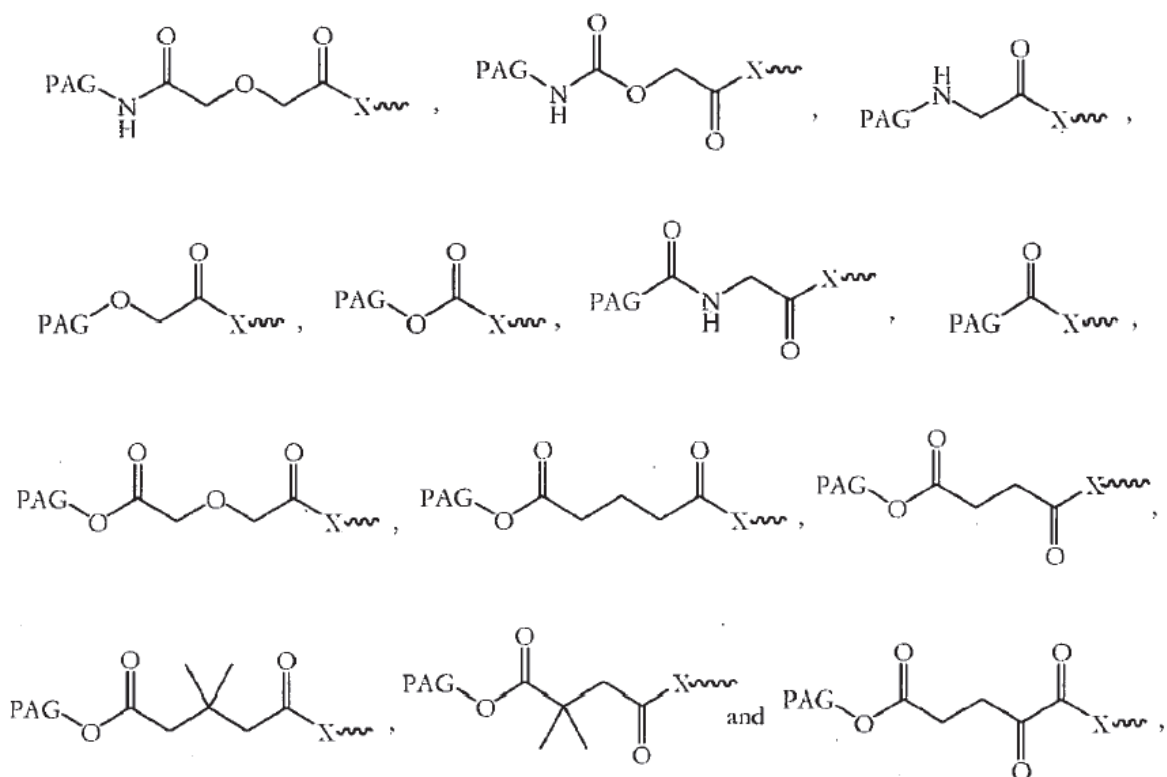


15

en donde $m = 1$ o 2 ; y

en donde PAG y X son como se definen anteriormente.

Además las fracciones de PAG-A-L-X- preferidas son:



en donde PAG y X son como se definen anteriormente.

5 Los compuestos del primer y segundo aspecto de la presente invención se pueden utilizar en medicina, preferiblemente como un agente anticáncer o un agente antiviral. Los compuestos del primer y segundo aspecto de la presente invención generalmente son no tóxicos para las células no-cancerosas, mientras que son citotóxicos para una amplia gama de células cancerosas. El agente anticáncer de la presente invención se puede utilizar en, por ejemplo, el tratamiento del cáncer de cerebro, cáncer de colon, cáncer de hígado, cáncer de ovario, cáncer de mama, cáncer de piel, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, neuroblastoma, fibrosarcoma o leucemia. Especialmente cuando R es una fracción de hormona esteroide o una fracción de metabolito de la hormona esteroide, el agente anticáncer de la presente invención se puede utilizar en el tratamiento de cánceres hormonalmente dependientes, tales como el cáncer de ovario, cáncer de mama o cáncer de próstata. El agente antiviral de la presente invención se puede utilizar en, por ejemplo, el tratamiento del VIH-1, VIH-2, VSH-1, VSH-2 o infección por influenza.

15 Muchos compuestos del primer y segundo aspecto de la presente invención, en particular compuestos modificados con PAG C-3, son solubles en agua. Esto es ventajoso, ya que facilita la administración de los compuestos a los pacientes.

20 Por lo tanto, en un tercer aspecto, la presente invención provee una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la presente invención y un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

25 La composición farmacéutica de la presente invención puede comprender PEG-albúmina o un liposoma. PEG-albúmina se puede preparar a partir de albúmina de suero bovino o albúmina de suero humano. PEG-albúmina se puede preparar por los métodos de pegilación descritos anteriormente en relación con los compuestos de la presente invención. Una vez más, un método de pegilación preferido activa el PAG utilizando fosgeno (Cl₂CO) o 1,1'-carbonyldiimidazol (CDI), seguido de 4-dimetilaminopiridina (DMAP) (véase el anterior Esquema 1). Un método de pegilación preferido alternativo activa un ácido carboxílico PAG, usando el reactivo de Mukaiyama (yoduro de 2-cloro-1-metilpiridinio, CMPI) (véase el anterior Esquema 2). En un cuarto aspecto, la presente invención provee un uso de un compuesto de la presente invención en la fabricación de un medicamento, preferiblemente para el tratamiento del cáncer o para el tratamiento de una infección viral. El medicamento de la presente invención se puede utilizar, por ejemplo, en el tratamiento del VIH-1, VIH-2, VSH-1, VSH-2 o infección por influenza. Preferiblemente, el sujeto es un mamífero, más preferiblemente un ser humano. El medicamento de la presente invención también se puede utilizar, por ejemplo, en el tratamiento del cáncer de cerebro, cáncer de colon, cáncer de

hígado, cáncer de ovario, cáncer de mama, cáncer de piel, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, neuroblastoma, fibrosarcoma o leucemia. Especialmente cuando R es una fracción de hormona esteroide o una fracción de metabolito de la hormona esteroide, el medicamento de la presente invención se puede utilizar en el tratamiento de cánceres hormonalmente dependientes, tales como el cáncer de ovario, cáncer de mama o cáncer de próstata.

La composición farmacéutica o medicamento de acuerdo con la presente invención se puede administrar por vía oral, parental (incluyendo vía intravenosa, subcutánea, intramuscular, intradérmica, intratraqueal, intraperitoneal, intraarticular y intraabdominal), transdérmica, vías respiratorias (aerosol), rectal, vaginal o tópica (incluyendo bucal, la mucosa y sublingual).

Para la administración oral, generalmente los compuestos de la invención se proveen en forma de comprimidos, cápsulas, cápsulas de gelatina duras o blandas, comprimidos oblongos, trociscos o pastillas, como un polvo o gránulos, o como una solución acuosa, suspensión o dispersión.

Los comprimidos para uso oral pueden incluir el ingrediente activo mezclado con excipientes farmacéuticamente aceptables tales como diluyentes inertes, agentes disgregantes, agentes aglutinantes, agentes lubricantes, agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes de coloración y conservantes. Si se desea, los comprimidos pueden estar recubiertos.

Las cápsulas para uso oral incluyen cápsulas de gelatina dura en las que el ingrediente activo se mezcla con un diluyente sólido, y cápsulas de gelatina blanda en las que el ingrediente activo se mezcla con agua o un aceite.

Las formulaciones para administración rectal pueden presentarse como un supositorio con una base apropiada.

Las formulaciones apropiadas para administración vaginal se pueden presentar como pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones de pulverización que contienen además del ingrediente activo, portadores tales como se conocen en la técnica por ser apropiados.

Para el uso parenteral, generalmente los compuestos de la presente invención se proporcionarán en una solución o suspensión acuosa estéril, regulada a un pH e isotonicidad apropiados. Los portadores acuosos apropiados incluyen solución de Ringer y glucosa o cloruro de sodio isotónico. Las suspensiones acuosas de acuerdo con la invención pueden incluir agentes de suspensión, agentes conservantes y humectantes. Los compuestos de la invención también se pueden presentar como formulaciones de liposomas.

Para la administración tópica y transdérmica, generalmente los compuestos de la invención se proporcionarán en forma de ungüentos, cataplasmas (emplastos), pastas, polvos, apósitos, cremas, emplastos o parches.

Las suspensiones y soluciones apropiadas se pueden utilizar en inhaladores para la administración por vía aérea (aerosol).

En general, una dosis apropiada estará en el intervalo de 0.01 a 10 mg por kilogramo de peso corporal del receptor por día, preferiblemente en el intervalo de 0.1 a 5 mg por kilogramo de peso corporal por día. La dosis deseada se presenta preferiblemente una vez al día, pero puede ser dosificada como dos, tres, cuatro, cinco, seis o más sub-dosis administradas a intervalos apropiados a lo largo del día. Estas subdosis se pueden administrar en formas de dosificación unitaria, por ejemplo, que contienen de 1 a 1500 mg, preferiblemente de 10 a 1000 mg, y más preferiblemente de 20 a 500 mg de ingrediente activo por forma de dosificación unitaria.

En un sexto aspecto, la presente invención provee un proceso para la preparación de un compuesto del primer o segundo aspecto de la presente invención, que comprende la etapa de esterificación del ácido carboxílico C-28 del ácido betulónico o de un derivado del ácido betulónico PAG-sustituido. La esterificación se puede llevar a cabo utilizando trifenilfosfina y azodicarboxilato de dietilo (DEAD) en una reacción de Mitsunobu, por ejemplo, para preparar un éster de colesterilo o farnesilo. Alternativamente, la esterificación puede llevarse a cabo usando una base tal como DBU en una reacción de sustitución nucleófila.

El ácido betulónico se puede obtener por oxidación de la betulina. La oxidación se puede llevar a cabo usando trióxido de cromo y ácido sulfúrico como se patentó en 1998 por Pezzuto et al. (US 5 804 575) y se modificó en 2002 por N.I. Petrenko et al. (Chemistry of Natural Compounds, 38. 331-339). El proceso de la presente invención, además puede comprender las etapas de la reducción de la cetona C-3 del ácido betulónico o un derivado del mismo a una función alcohol, amina o tiol, y la modificación con PAG de la función alcohol C-3, amina o tiol. La esterificación del ácido carboxílico C-28 se puede llevar a cabo antes o después de cualquiera de las etapas de oxidación de la betulina al ácido betulónico, la reducción de la cetona C-3 del ácido betulónico o un derivado del mismo a una función alcohol, amina o tiol, y modificación con PAG de la función alcohol C-3, amina o tiol.

5 Una ventaja del proceso de la presente invención es que esta y cualquiera de sus etapas se puede realizar a una escala industrial y con alto rendimiento. Para los propósitos de la presente invención, el término "escala industrial" significa que el producto de una reacción se obtiene en lotes de 1 g, 20 g, 50 g, 100 g, 500 g, 1 kg, 5 kg, 10 kg, 25 kg o más. Para los propósitos de la presente invención, el término "alto rendimiento" significa que el producto de una reacción se obtiene con un rendimiento del 50%, 60%, 70%, 80%, 90% o más en relación con la materia prima.

10 En un séptimo aspecto, la presente invención provee un uso de un compuesto de la presente invención para la preparación de un derivado, en el que la función cetona del compuesto de la presente invención se reduce a una función alcohol. La reducción se puede llevar a cabo utilizando NaBH_4 o $\text{M}^+ \text{BHR}_3^-$, en el que M^+ es Na^+ , Li^+ o K^+ , y R es independientemente un grupo alquilo C_{1-4} , por ejemplo, s-butilo.

15 En un octavo aspecto, la presente invención provee un proceso para la preparación de un compuesto del segundo aspecto de la presente invención, que comprende la etapa de reducción de la función cetona de un compuesto del primer aspecto de la presente invención a una función alcohol. La reducción se puede llevar a cabo utilizando NaBH_4 o $\text{M}^+ \text{BHR}_3^-$, en el que M^+ es Na^+ , Li^+ o K^+ , y R es independientemente un grupo alquilo C_{1-4} , por ejemplo, s-butilo.

Breve descripción de los dibujos

20 La presente invención se describirá ahora a modo de ejemplo con referencia a los dibujos acompañantes en los que:

Figura 1 muestra ejemplos de PAGs activados.

25 Figuras 2a-c son gráficos que muestran los resultados del tratamiento de las células de tres pacientes que sufren de leucemia linfocítica crónica con un compuesto de acuerdo con la presente invención, el compuesto 4c- β .

Figura 3 es un gráfico que muestra los resultados del tratamiento de células de un paciente que sufre de leucemia linfocítica crónica con otro compuesto de acuerdo con la presente invención, el compuesto 4a- β .

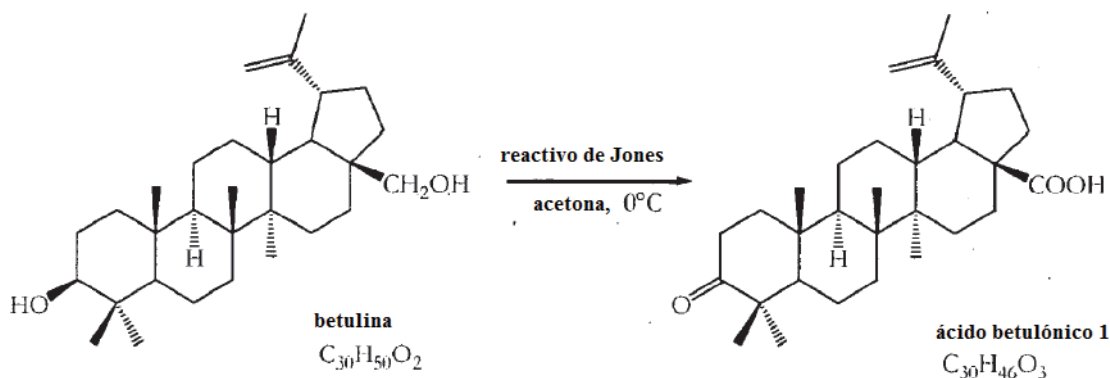
30 Figura 4 es un gráfico que muestra los resultados del tratamiento de células de un paciente que sufre de leucemia linfocítica crónica con otro compuesto de acuerdo con la presente invención, el compuesto 8a- β .

Figuras 5a-c son gráficos que muestran los resultados del tratamiento de las células de tres voluntarios sanos con un compuesto de acuerdo con la presente invención, el compuesto 4a- β , en ausencia de lipasa.

35 Figuras 6a-c son gráficos que muestran los resultados del tratamiento de las células de tres voluntarios sanos con un compuesto de acuerdo con la presente invención, el compuesto 4a- β , en presencia de la lipasa.

Descripción detallada de la invención.

40 La presente invención ahora será descrita con referencia a los siguientes ejemplos. Se apreciará que lo que sigue es solo a modo de ejemplo y que las modificaciones de los detalles se pueden hacer mientras que todavía estén dentro del alcance de la invención.

Ejemplo 1: síntesis del ácido 3-oxo-lup-20(29)-en-28-oico (ácido betulónico) 1

5 En un matraz de fondo redondo de 250 ml, equipado con una barra de agitación magnética, un embudo de adición de 100 ml y un septo adaptado con una entrada de nitrógeno, se colocó 1 g (2.258 mmol) de betulina en 150 ml de acetona. El matraz se enfrió con un baño de acetona helada y la suspensión de betulina se trató gota a gota con el reactivo de Jones [L.F. Fieser, M. Fieser, Reagents for Organic Synthesis, vol. 1, 1967, p. 143] durante 15 minutos. La mezcla de reacción se agitó a 0°C, durante 2 horas y luego se trató con metanol (25 ml) hasta que se volvió de color verde oscuro. La mezcla de reacción se vertió sobre una mezcla de hielo y agua (50 ml), a continuación se eliminaron la acetona y el metanol, bajo presión reducida. El residuo acuoso se extrajo tres veces con 40 ml de acetato de etilo. Los extractos orgánicos combinados se lavaron primero con agua (20 ml) y a continuación con salmuera (15 ml), a continuación se secaron (MgSO_4). El solvente se evaporó bajo presión reducida para proporcionar un sólido de color blanco. El residuo en bruto se purificó por medio de cromatografía sobre silicagel 60G (acetato de etilo/éter de petróleo 40-60°C, 1/9 luego 1/4) para producir primero 59 mg (6%) de betulonal como un sólido de color blanco, a continuación 880 mg (86%) del ácido betulónico 1 como un sólido de color blanco.

Betulonal ($\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_2$):

m.p.: 121-123°C (AcOEt/EP) [N.G. Komissarova et al., Chem. Nat. Compounds, 2002, vol. 38, p. 58-61]

20 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 0.91 (s, 3H, Me(26)), 0.94 (s, 3H, Me(25)), 0.97 (s, 3H, Me(27)), 1.00 (s, 3H, Me(24)), 1.05 (s, 3H, Me(23)), 1.15-1.50 (m, 12H), 1.68 (s, 3H, Me(29)), 1.66-1.89 (m, 5H), 1.96-2.03 (m, 2H), 2.05-2.14 (m, 2H), 2.32-2.55 (m, 3H), 2.94-2.98 (m, 1H), 4.61 (s, 1H, =CH2), 4.74 (s, 1H, =CH2), 9.65 (d, 1H, $J=1.5$, -CHO) $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): véase la Tabla 1
IR (KBr, cm^{-1}): 3600, 2700, 1730, 1705, 1645, 870 [N.G. Komissarova et al., Chem. Nat. Compounds, 2002, vol. 38, p. 58-61]

25 $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +53.8^{\circ}$ ($c = 1.77 \times 10^{-3}$ g/ cm^3 , CHCl_3) [M. Zakaria et al., Phytochemistry, 1994, vol. 23, p. 1484]

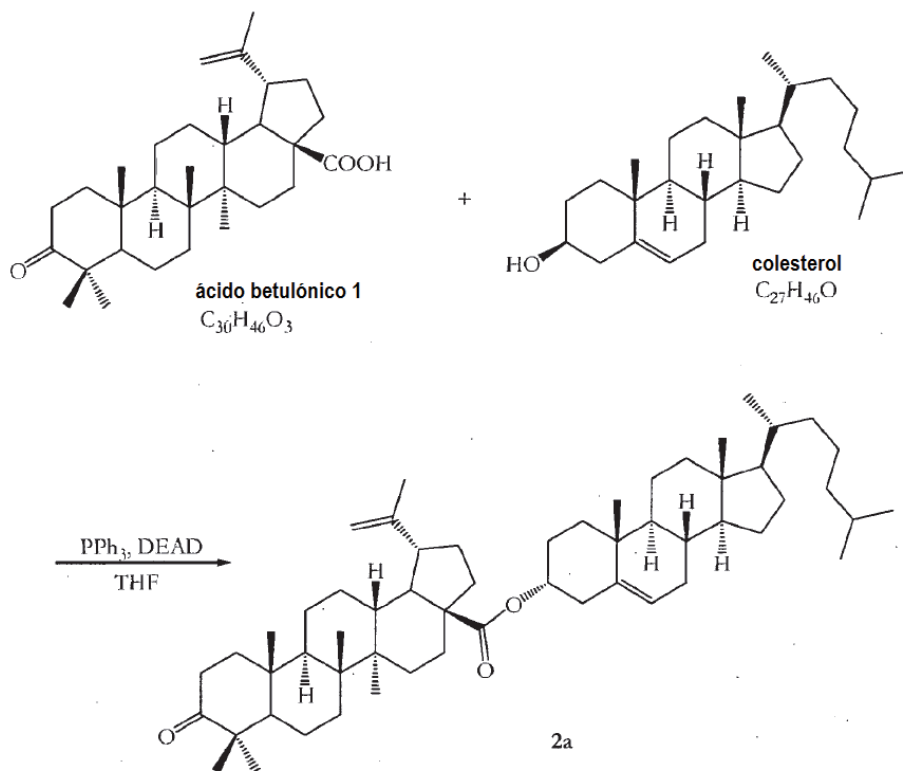
Ácido Betulónico 1 ($\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_3$):

m.p.: 246-248°C (AcOEt/EP) [N.I. Petrenko et al., Chem. Nat. Compounds, 2002, vol. 38, p. 331-339]

30 $^1\text{H-NMR}$ (COCl_3): 0.92 (s, 3H, Me(26)), 0.96 (s, 3H, Me(25)), 0.98 (s, 3H, Me(27)), 1.00 (s, 3H, Me(24)), 1.06 (s, 3H, Me(23)), 1.15-1.49 (m, 14H), 1.55-1.69 (m, 3H), 1.68 (s, 3H, Me(29)), 1.87-2.00 (m, 3H), 2.18-2.51 (m, 4H), 2.97-3.03 (m, 1H, H-C(19)), 4.60 (s, 1H, H-C(30)), 4.73 (s, 1H, H-C(30))

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): véase la Tabla 1

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +43^{\circ}$ ($c = 4.05 \times 10^{-3}$ g/ cm^3 , CHCl_3) [N.I. Petrenko et al., Chem. Nat. Compounds, 2002, vol. 38, p. 331-339]

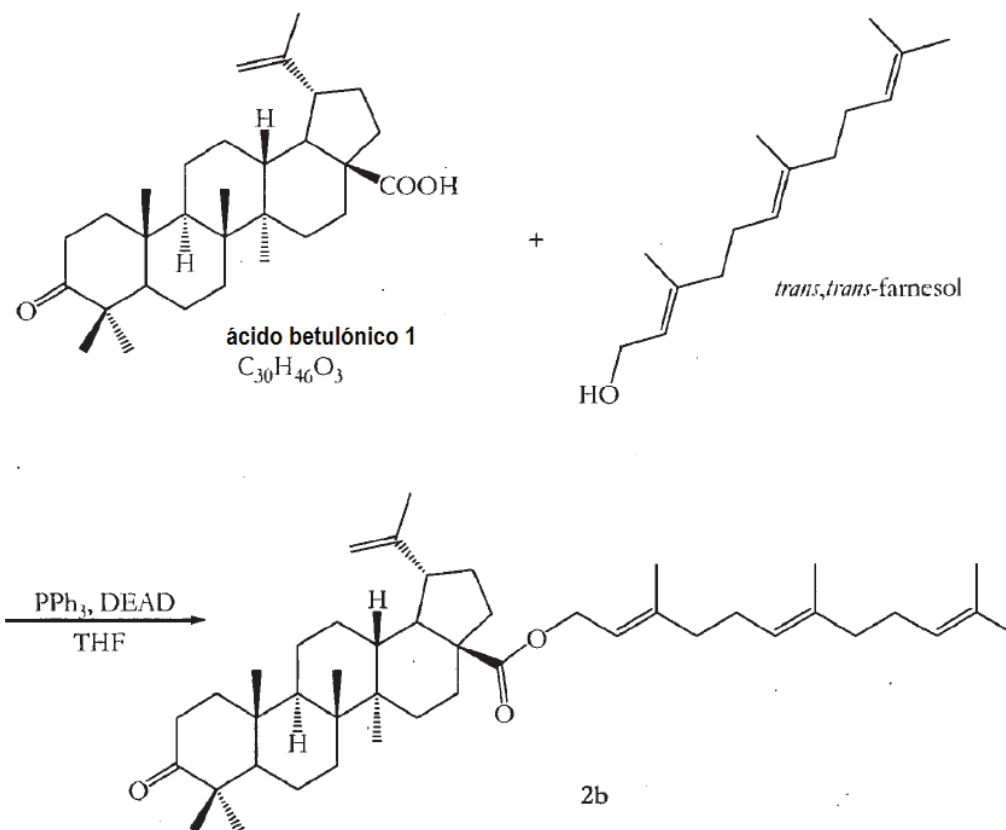
Ejemplo 2: síntesis de α -colesteril 3-oxo-lup-20(29)-en-28-oato 2a (reacción de Mitsunobu)

5 En un matraz de fondo redondo de 100 ml, equipado con una barra de agitación magnética y un septo adaptado con una entrada de nitrógeno, se colocaron 772 mg (2.0 mmol) de colesterol en 30 ml de THF seco. El matraz se enfrió con un baño de acetona helado. Se adicionaron 1.047 g (3.99 mmol) de trifenil fosfina y 1 g (2.199 mmol) de ácido betulónico 1, en ese orden. A continuación, se adicionaron gota a gota con una jeringa 627 ml (3.99 mmol) de azadicarboxilato de dietilo (DEAD). A continuación, la solución se calentó a temperatura ambiente y se agitó, durante 17 horas. La solución se apagó con agua (30 ml) y se extrajo tres veces con acetato de etilo. Los extractos orgánicos combinados se secaron (MgSO_4) y el solvente se evaporó bajo presión reducida para proporcionar un sólido de color amarillo. El residuo en bruto se purificó por medio de cromatografía sobre silicagel 60G (acetato de etilo/éter de petróleo 40-60°C, 5/95 luego 1/9) para producir 858 mg (52%) **2a** como un sólido de color blanco.

15 α -Colesteril 3-oxo-lup-20(29)-en-28-oato 2a ($\text{C}_{57}\text{H}_{90}\text{O}_3$):
 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 0.69 (s, 3H, Me(49)), 0.85 (d, 3H, $J=1.2$, Me(57)), 0.86 (d, 3H, $J=1.2$, Me(56)), 0.92 (s, 3H, Me(26)), 0.93 (d, 3H, $J=6.5$, Me(51)), 0.95 (s, 3H, Me(25)), 0.97 (s, 3H, Me(27)), 1.02 (s, 3H, Me(24)), 1.04 (s, 3H, Me(48)), 1.07 (s, 3H, Me(23)), 1.69 (s, 3H, Me(30)), 0.84-2.44 (m, 49H), 2.49-2.55 (m, 3H), 3.02 (dt, 1H, $J=4.2, 6.6$, H-C(19)), 4.61 (s, 1H, H-C(29)), 4.72 (s, 1H, H-C(30)), 5.09 (m, 1H, H-C(33)), 5.30 (d, 1H, $J=5.1$, H-C(36))

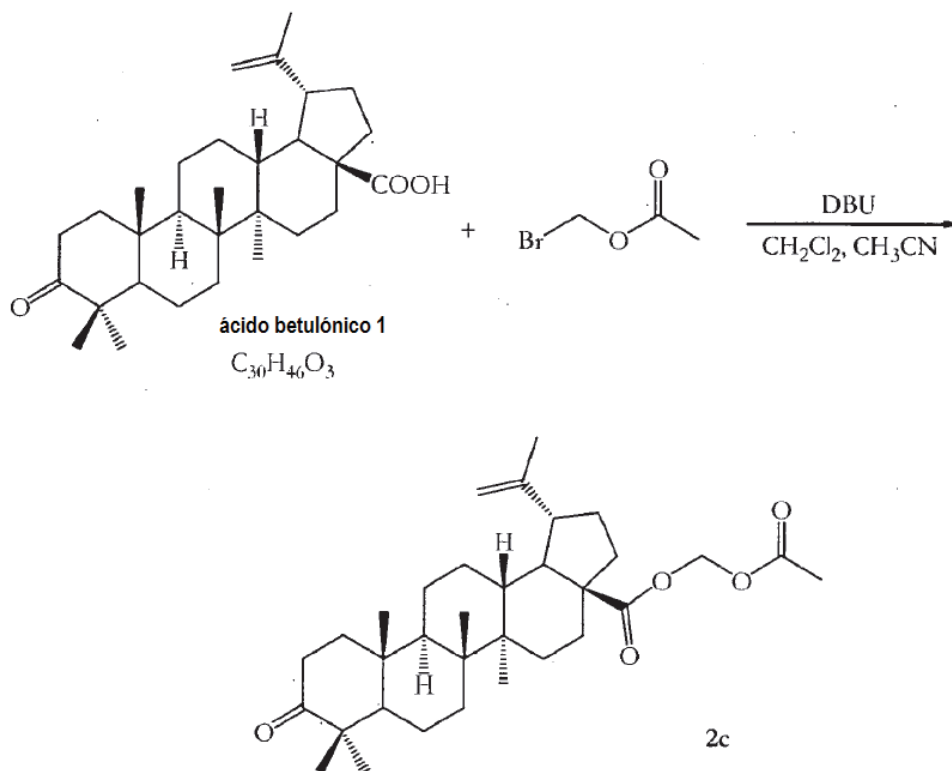
20 $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): véase la Tabla 1
 IR (KBr, cm^{-1}): 2925s, 1709s, 1667w, 1633w, 1460s, 1378s, 1190s, 1139s
 MS (APCI positivo): 823 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100%), 805 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$ (9%), 455 $[\text{M}+\text{H}-\text{Colesteril}]^+$ (12%), 437 $[\text{M}+\text{H}-\text{Colesteril}-\text{H}_2\text{O}]^+$ (33%), 369 $[\text{M}+\text{H}-\text{Ácido Betulónico}]^+$ (64%)
 $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -7.2^\circ$ ($c = 5.96 \times 10^{-3} \text{ g/cm}^3$, CH_2Cl_2)

Ejemplo 3: síntesis de farnesil 3-oxo-lup-20(29)-en-28-oato 2b (reacción de Mitsunobu)



- 5 En un matraz de fondo redondo de 50 ml, equipado con una barra de agitación magnética y un septo adaptado con una entrada de nitrógeno, se colocaron 70 mg (0.314 mmol) de *trans, trans*-farnesol en 10 ml de THF seco. El matraz se enfrió con un baño de acetona helada. Se adicionaron 165 mg (0.629 mmol) de trifetil fosfina y 150 mg (0.330 mmol) de ácido betulónico 1, en ese orden. A continuación, se adicionaron gota a gota con una jeringa 274 ml (0.838 mmol) de azadicarboxilato de dietilo (DEAD) en tolueno (40% p/p). A continuación, la solución se calentó a temperatura ambiente y se agitó, durante 17 horas. La solución se apagó con agua (25 ml) y se extrajo tres veces con éter dietílico. Los extractos orgánicos combinados se secaron ($MgSO_4$) y el solvente se evaporó bajo presión reducida para proporcionar un sólido de color amarillo. El residuo en bruto se purificó por medio de cromatografía de silicagel 60G (acetato de etilo/éter de petróleo 40-60°C, 5/95 luego 1/9), para producir 70 mg, (34%) **2b** como un aceite de color amarillo pálido.
- 10
- 15 Farnesil 3-oxo-lup-20(29)-en-28-oato **2b** ($C_{45}H_{70}O_3$):
 1H -NMR ($CDCl_3$): 0.92 (s, 3H, Me(26)), 0.94 (s, 3H, Me(25)), 0.97 (s, 3H, Me(27)), 1.02 (s, 3H, Me(24)), 1.06 (s, 3H, Me(23)), 1.60 (s, 6H, Me(44) & Me(45)), 1.68 (s, 6H, Me(30) & Me(43)), 1.72 (s, 3H, Me(42)), 0.90-1.50 (m, 16H), 1.87-2.10 (m, 12H), 2.15-2.25 (m, 2H), 2.43 (m, 2 H-C(2)), 3.01 (dt, 1H, $J=4.3, 10.8$, H-C(19)), 4.59 (m, 2 HC(31)), 4.61 (d, 1H, $J=1.6$, H-C(29)), 4.72 (d, 1H, $J=1.6$, H-C(29)), 5.08 (m, 1H, H-C(3G)), 5.10 (m, 1H, H-C(40)), 5.36 (t, 1H, $J=6.9$, H-C(32))
- 20 ^{13}C -NMR ($CDCl_3$): véase la Tabla 1

Ejemplo Ilustrativo 4: síntesis de acetoximetil 3-oxo-lup-20(29)-en-28-oato 2c (sustitución nucleofílica)



- 5 En un matraz de fondo redondo de 50 ml, equipado con una barra de agitación magnética y un septo adaptado con una entrada de nitrógeno, se colocaron 1.88 g (4.04 mmol) de ácido betulónico 1, 435 μl (4.44 mmol) de bromometil acetato, 11.7 ml de diclorometano y 3.9 ml de acetonitrilo. El matraz se enfrió con un baño de acetona helada y se adicionaron gota a gota con una jeringa 416 μl (4.24 mmol) de diazabicyclo[5.4.0]undeceno (DBU). A continuación, la solución se calentó a temperatura ambiente y se agitó, durante 16 horas, luego se concentró en presencia de silicagel 60G (300 mg) bajo presión reducida. El residuo en bruto se purificó por medio de cromatografía de silicagel 60G (acetato de etilo-éter de petróleo 40-60°C, 1/9 luego 1/4), para producir 1.86 g (85.3%) **2c**, como un sólido de color blanco.

Acetoximetil 3-oxo-lup-20(29)-en-28-oato 2c ($\text{C}_{33}\text{H}_{50}\text{O}_5$):

m.p.: 86-91°C (CH_3OH) [M. Urban et al., Bioorg. Med. Chem., 2005, vol. 13, p. 5527-5535]

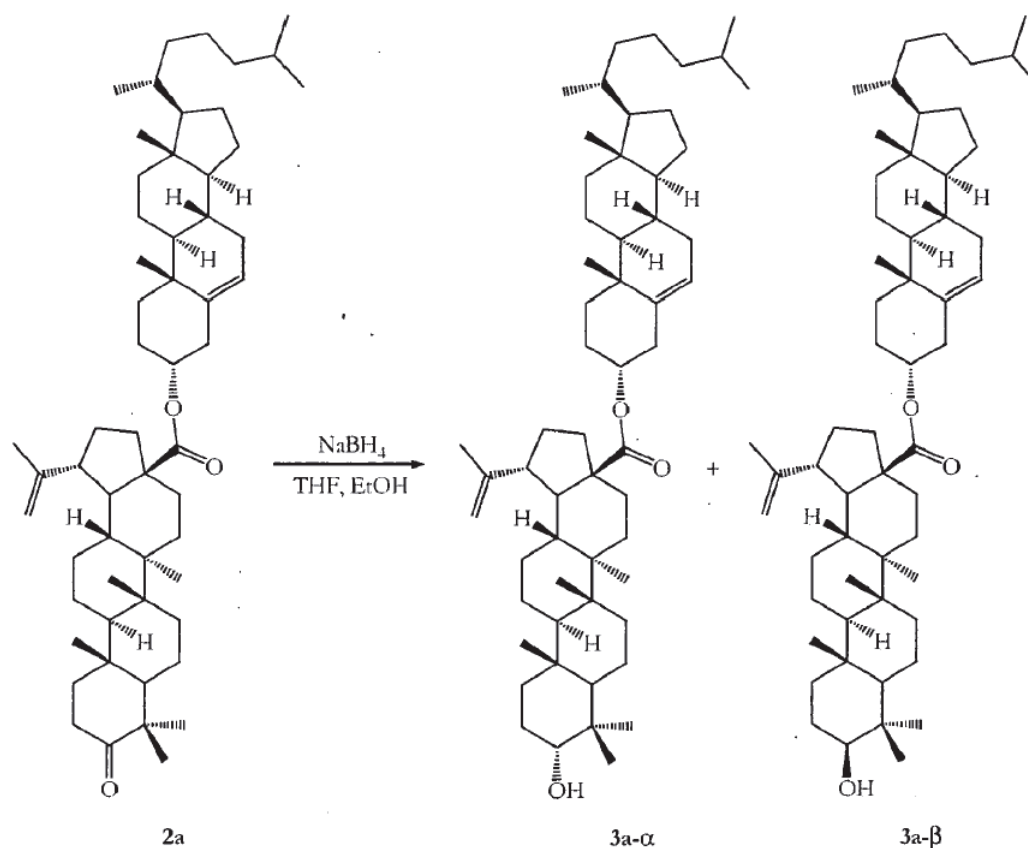
- 15 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 0.90 (s, 3H, Me(26)), 0.94 (s, 3H, Me(25)), 0.96 (s, 3H, Me(27)), 1.00 (s, 3H, Me(24)), 1.05 (s, 3H, Me(23)), 1.10-1.60 (m, 14H), 1.66 (s, 3H, Me(30)), 1.64-1.75 (m, 3H), 1.82-1.95 (m, 3H), 2.08 (s, 3H, Me(33)), 2.23 (m, 2H), 2.42 (m, 2 H-C(2)), 2.98 (dt, 1H, $J=4.2, 7.0$, H-C(19)), 4.59 (m, 1H, H-C(29)), 4.72 (s, 1H, H-C(29)), 5.69 (d, 1H, $J=5.4$, H-C(31)), 5.78 (d, 1H, $J=5.4$, H-C(31))

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): véase la Tabla 1

- 20 IR (KBr, cm^{-1}): 2930s, 1765s, 1742s, 1704s, 1632w, 1458s, 1369s, 1215s, 1105s, 1002s, 975s, 877m

MS (ESI positivo): 590 $[\text{M}+\text{Na}+\text{CH}, \text{CN}]^+$ (51%), 549 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (100%), 527 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (24%)

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +31^\circ$ ($c = 0.32 \times 10^{-3} \text{ g/cm}^3$, CHCl_3) [1. Urban et al., Bioorg. Med. Chem., 2005, vol. 13, p. 5527-5535]

Ejemplo 5: síntesis de α -colesteril 3 β -hidroxi-lup-20(29)-en-28-oato 3a- β (reducción)

5 En un matraz de fondo redondo de 50 ml, equipado con una barra de agitación magnética y un septo adaptado con una entrada de nitrógeno, se colocaron 688 mg (0.8356 mmol) del derivado 2a, 10 ml de THF y 10 ml de etanol al 96%. El matraz se enfrió con baño de acetona helada y se adicionaron con espátula 150 mg (3.947 mmol) de borohidruro de sodio. A continuación, la solución se calentó a temperatura ambiente y se agitó, durante 1.5 horas, luego se concentró en presencia de silicagel 60G (300 mg), bajo presión reducida. El residuo en bruto se purificó por medio de cromatografía de silicagel 60G (acetato de etilo/éter de petróleo 40-60°C, 5/95 luego 1/9), para producir 36 mg (5%) 3a- α como un sólido de color blanco, a continuación 639 mg (93%) 3a- β como un sólido de color blanco (proporción 3a- α / 3a- β = 5.4/94.6).

15 α -Colesteril 3 α -hidroxi-lup-20(29)-en-28-oato 3a- α (C₅₇H₉₂O):

1H-NMR (CDCl₃): 0.69 (s, 3H, Me(49)), 0.82 (s, 6H, Me(24), Me(26)), 0.85 (d, 3H, *J*= 1.2, Me(57)), 0.87 (d, 3H, *J*=1.2, Me(56)), 0.91 (s, 3H, Me(48)), 0.92 (d, 3H, *J*=6.5, Me(51)), 0.93 (s, 3H, Me(25)), 0.97 (s, 3H, Me(27)), 1.03 (s, 3H, Me(23)), 1.69 (s, 3H, Me(30)), 0.84-2.30 (m, 51H), 2.50 (d, 1H *J*=15.1, H-C(34)), 3.01 (dt, 1H, *J*=4.3, 11.2, H-C(19)), 3.38 (br, 1H, H-C(3)), 4.60 (d, 1H, *J*=1.2, H-C(29)), 4.72 (d, 1H, *J*=1.2, H-C(29)), 5.08 (br, 1H, H-C(33)), 5.30 (d, 1H, *J*=5.1, H-C(36)) ¹³C-NMR (CDCl₃): véase la Tabla 1

20 α -Colesteril 3 β -hidroxi-lup-20(29)-en-28-oato 3a- β (C₅₇H₉₂O₂):

25 1H-NMR (CDCl₃): 0.69 (s, 3H, Me(49)), 0.75 (s, 3H, Me(24)), 0.81 (s, 3H, Me(26)), 0.85 (d, 3H, *J*=1.2, Me(57)), 0.87 (d, 3H, *J*=1.2, Me(56)), 0.90 (s, 3H, Me(48)), 0.92 (d, 3H, *J*=6.5, Me(51)), 0.96 (s, 3H, Me(25)), 0.97 (s, 3H, Me(27)), 1.03 (s, 3H, Me(23)), 1.69 (s, 3H, Me(30)), 0.84-2.30 (m, 51H), 2.50 (d, 1H, *J*=15.1, H-C(34)), 3.01 (dt, 1H, *J*=4.3, 11.2, H-C(19)), 3.18

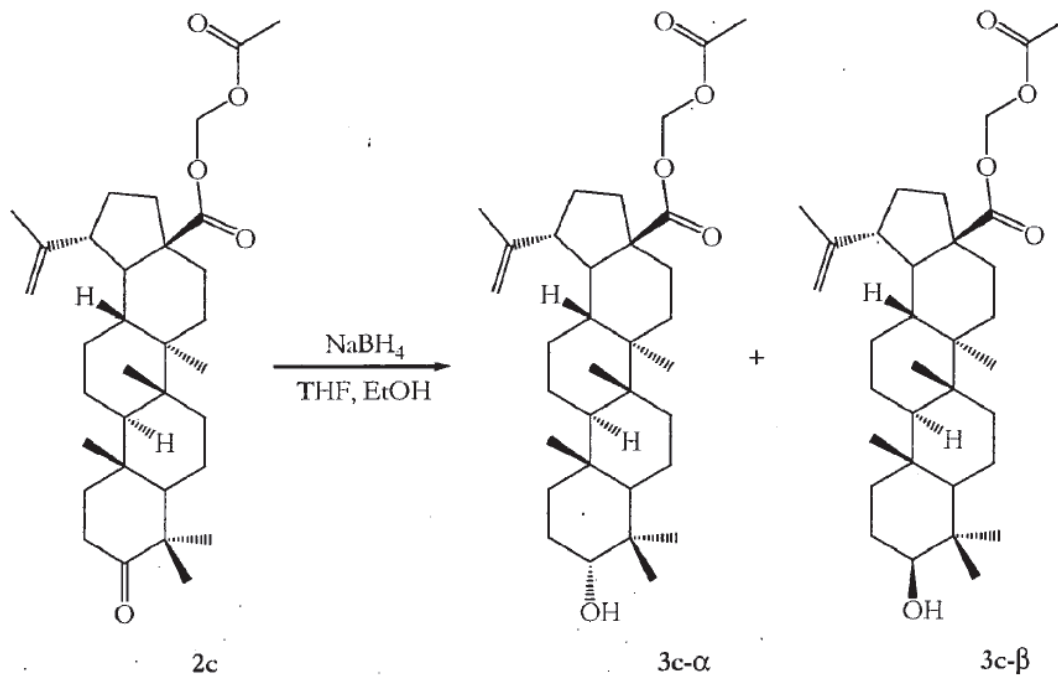
(dd, 1H, $J=5.1, 10.7$, H-C(3)), 4.60 (s, 1H, H-C(29)), 4.72 (d, 1H, $J=1.8$, H-C(29)), 5.08 (br, 1H, H-C(33)), 5.30 (s, 1H, -OH), 5.31 (d, 1H, $J=5.1$, H-C(36))

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): véase la Tabla 1

IR (KBr, cm^{-1}): 3445m, 2925s, 1712s, 1458s, 1373s, 1177s, 1141s, 1035s, 907s, 732s MS (ESI positivo): 411 $[\text{M}+\text{H}\text{Colesterolil-CO}_2]^+$ (100%)

5

Ejemplo Ilustrativo 6: síntesis de acetoximetil 3 β -hidroxi-lup-20(29)-en-28-oato 3c- β (reducción)



10

En un matraz de fondo redondo de 50 ml, equipado con una barra de agitación magnética y un septo adaptado con una entrada de nitrógeno, se colocaron 2.13 g (4.04 mmol) del derivado 2c, 20 ml de THF y 1 ml de etanol al 96%. El matraz se enfrió con un baño de acetona helada y se adicionaron con espátula 442 mg (11.6 mmol) de borohidruro de sodio. A continuación, la solución se calentó a temperatura ambiente y se agitó, durante 2 horas, luego se concentró en presencia de silicagel 60G (500 mg), bajo presión reducida. El residuo en bruto se purificó por medio de cromatografía de silicagel 60G (acetato de etilo/éter de petróleo 40-60°C, 1/9 luego 1/4) para producir 64.7 mg (3.0%) 3c- α como un sólido de color blanco, a continuación 1064 mg (49.7%) 3c- β como un sólido de color blanco (relación 3c- α /3c- β = 5.7 / 94.3).

15

Acetoximetil 3 α -hidroxi-lup-20(29)-en-28-oato 3c- α ($\text{C}_{33}\text{H}_{52}\text{O}_5$):

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 0.76 (s, 3H, Me(24)), 0.82 (s, 3H, Me(26)), 0.92 (s, 3H, Me(25)), 0.96 (s, 6H, Me(23), Me(27)), 1.10-1.60 (m, 16H), 1.68 (s, 3H, Me(30)), 1.64-1.75 (m, 4H), 1.82-1.95 (m, 3H), 2.10 (s, 3H, Me(33)), 2.23 (m, 2H), 2.98 (dt, 1H, $J=4.2, 7.0$, H-C(19)), 3.38 (m, 1H, H-C(3)), 4.60 (s, 1H, H-C(29)), 4.73 (s, 1H, H-C(29)), 5.71 (d, 1H, $J=5.4$, H-C(31)), 5.79 (d, 1H, $J=5.4$, H-C(31))

20

Acetoximetil 3 β -hidroxi-lup-20(29)-en-28-oato 3c- β ($\text{C}_{33}\text{H}_{52}\text{O}_5$):

m.p.: 178-179°C (AcOEt/EP)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 0.73 (s, 3H, Me(24)), 0.80 (s, 3H, Me(26)), 0.90 (s, 3H, Me(25)), 0.94 (s, 6H, Me(23), Me(27)), 1.10-1.60 (m, 16H), 1.68 (s, 3H, Me(30)), 1.64-1.75 (m, 4H), 1.82-1.95 (m, 3H), 2.10 (s, 3H, Me(33)), 2.23 (m, 2H), 2.98 (dt, 1H, $J=4.2, 7.0$, H-C(19)), 3.16 (dd, 1H, $J=5.4, 10.8$, H-C(3)), 4.60 (s, 1H, H-C(29)), 4.73 (s, 1H, H-C(29)), 5.70 (d, 1H, $J=5.4$, H-C(31)), 5.79 (d, 1H, $J=5.4$, H-C(31))

30

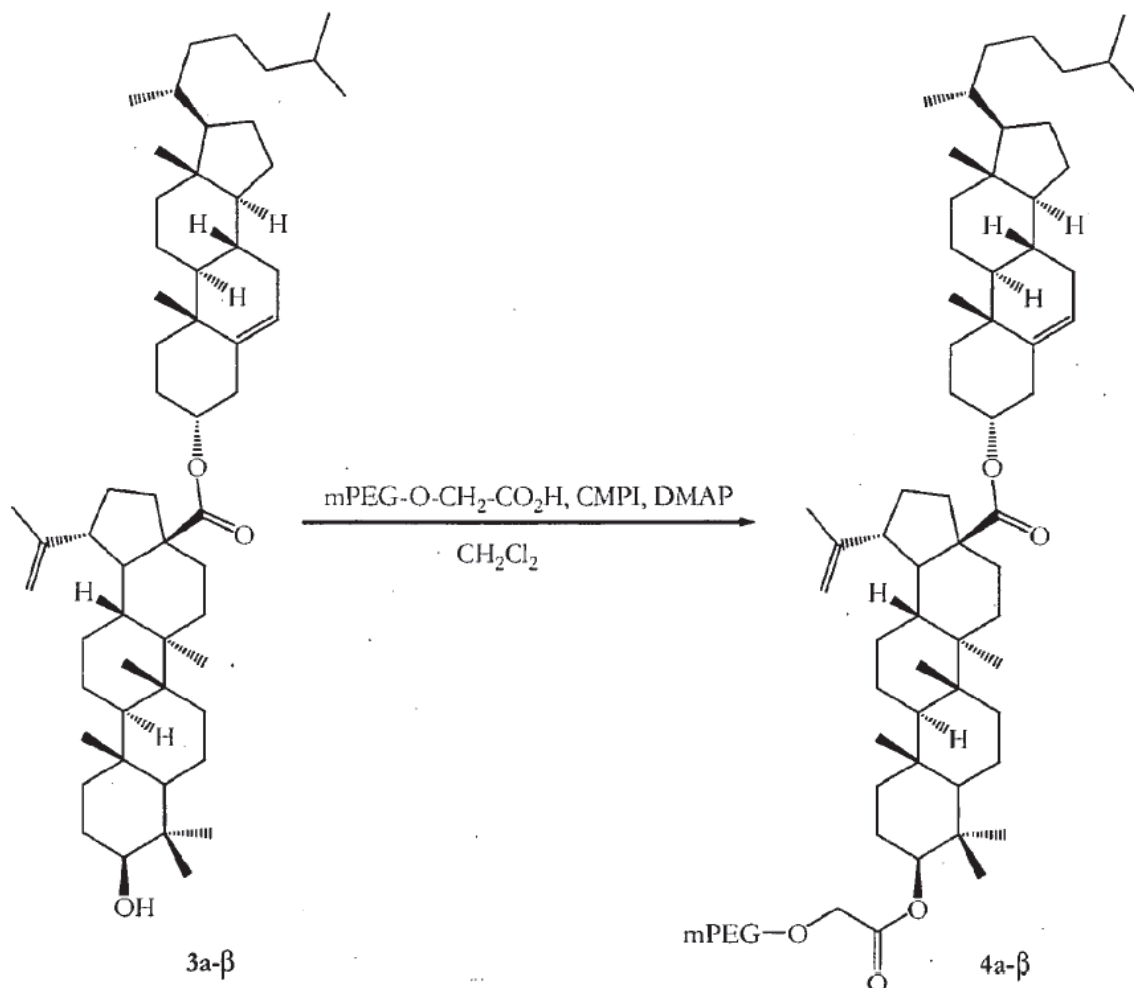
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): véase la Tabla 1

IR (KBr, cm^{-1}): 3530m, 2920s, 1761s, 1708s, 1633w, 1444s, 1364s, 1224s, 1137s, 1043s, 970s, 874m

MS (ESI positivo): 511 $[\text{M}+\text{H-H}_2\text{O}]^+$ (16%), 411 $[\text{M}+\text{H-CO}_2\text{CH}_2\text{O}_2\text{CCH}_3]^+$ (100%) $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +10.9^\circ$ ($c = 4.12 \times 10^{-3}$ g/cm 3 , CH_2Cl_2)

35

Ejemplo 7: síntesis de α -colesteril 3 β -(metoxipoli(etilenglicol) acetoxi)-lup-20(29)-en-28-oato 4a- β (a través de la metodología CMPI éster)



5

En un matraz de fondo redondo de 50 ml seco, equipado con una barra de agitación magnética y un septo adaptado con una entrada de nitrógeno, se colocaron 350 mg (0.4240 mmol) del derivado **3a- β** en 25 ml de diclorometano seco. El matraz se enfrió con un baño de acetona helada y se adicionaron 921 mg (0.1843 mmol) de metoxipoli(etilenglicol) 5,000 ácido acético (mPEG-O-CH₂-CO₂H), 184 mg (0.7208 mmol) de yoduro de 2-cloro-1-metilpiridinio (CMPI) y 184 mg (1.509 mmol) de DMAP, en ese orden, y se agitó, durante 20 minutos a -5°C. A continuación, la solución se calentó a temperatura ambiente y se agitó, durante 48 horas. La solución se apagó con agua (15 ml) y se extrajo tres veces con diclorometano. Los extractos orgánicos combinados se secaron (MgSO₄). El solvente se evaporó bajo presión reducida para producir un aceite de color amarillo que se recrystalizó dos veces a partir de propan-2-ol (125 ml), a continuación se liofilizó para proporcionar un sólido de color blanco **4a- β** (683 mg, 63.8%).

10

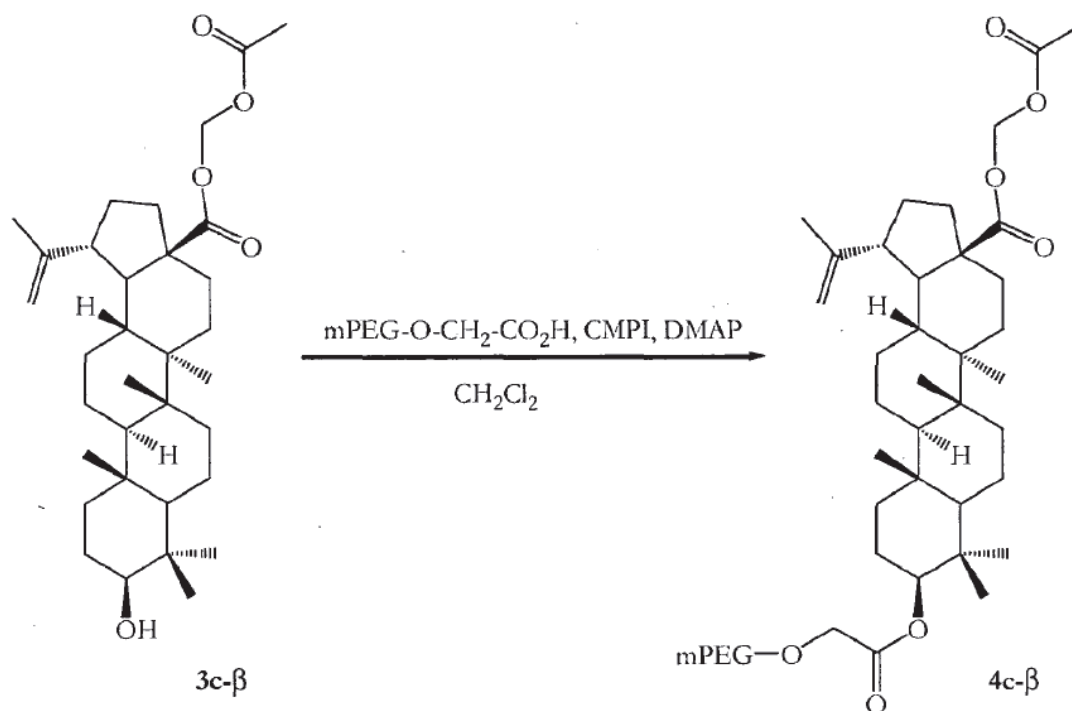
15

α -Colesteril 3 β -(metoxipoli(etilenglicol) acetoxi)-lup-20(29)-en-28-oato **4a- β** : ¹H-NMR (CDCl₃): 0.67 (s, 3H, Me(49)), 0.81 (s, 3H, Me(24)), 0.82 (s, 3H, Me(26)), 0.84 (s, 3H, Me(25)), 0.86 (d, 3H, J=1.2, Me(57)), 0.88 (d, 3H, J=1.2, Me(56)), 0.90 (s, 3H, Me(48)), 0.91 (d, 3H, J=6.5, Me(51)), 0.93 (s, 3H, Me(27)), 1.02 (s, 3H, Me(23)), 1.67 (s, 3H, Me(30)), 0.84-2.30 (m, 51H), 2.48 (d, 1H, J=15.1, H-C(37)), 3.01 (dt, 1H, J=4.3, 11.2, H-C(19)), 3.36 (s, 3H, MeO de mPEG), 3.39 (m, 2H), 3.62 (br, PEG), 3.86 (m, 2H), 4.11 (s, 2H, -OCOCH₂OPEG), 4.55 (m, 1H, H-C(3)), 4.59 (s, 1H, H-C(29)), 4.70 (d, 1H, J=1.8, H-C(29)), 5.07 (br, 1H, H-C(33)), 5.30 (d, 1H, J=5.1, H-C(36))

20

¹³C-NMR (CDCl₃): véase la Tabla 1

Ejemplo 8: síntesis de acetoximetil 3β-(metoxipoli(etilenglicol) acetoxi)-lup-20(29)-en-28-oato 4c-β (a través de la metodología CMPI éster)



5

En un matraz de fondo redondo de 50 ml seco, equipado con una barra de agitación magnética y un septo adaptado con una entrada de nitrógeno, se colocaron 250 mg (0.4728 mmol) del derivado 3c-β en 25 ml de diclorometano seco. El matraz se enfrió con un baño de acetona helada y se adicionaron 1.03 g (0.2073 mmol) de metoxipoli(etilenglicol) 5,000/ácido acético (mPEG-O-CH₂-CO₂H), 205 mg (0.8038 mmol) de yoduro de 2-cloro-1-metilpiridinio (CMPI) y 208 mg (1.702 mmol) de DMAP, en ese orden, y se agitó, durante 20 minutos a -5°C. A continuación, la solución se calentó a temperatura ambiente y se agitó, durante 48 horas. La solución se apagó con agua (15 ml) y se extrajo tres veces con diclorometano. Los extractos orgánicos combinados se secaron (MgSO₄). El solvente se evaporó bajo presión reducida para producir un aceite de color amarillo que se recristalizó dos veces a partir del propan-2-ol (125 ml), a continuación se liofilizó para proporcionar un sólido de color blanco **4c-β** (751 mg, 50%).

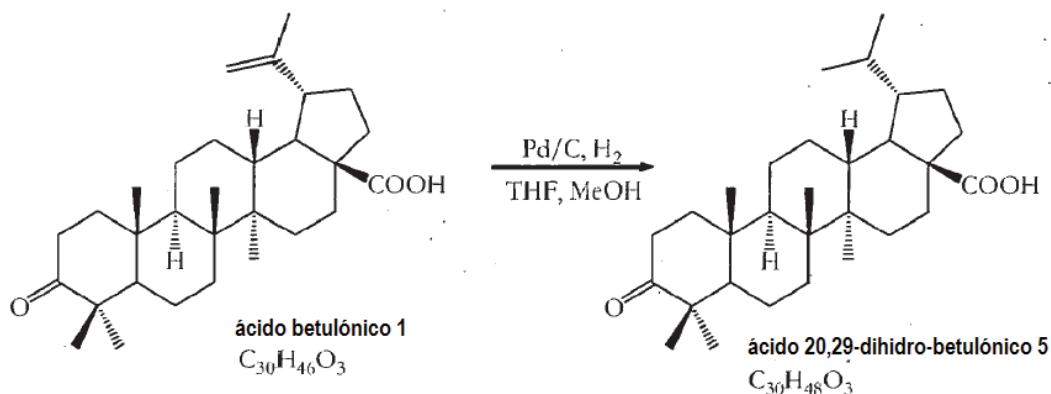
10

15

Acetoximetil 3β-(metoxipoli(etilenglicol) acetoxi)-lup-20(29)-en-28-oato **4c-β**: ¹H-NMR (CDCl₃): 0.80 (s, 3H, Me(24)), 0.82 (s, 6H, Me (25), Me(26)), 0.90 (s, 3H, Me(27)), 0.94 (s, 3H, Me(23)), 1.10-1.60 (m, 16H), 1.66 (s, 3H, Me(30)), 1.64-1.75 (m, 4H), 1.82-1.95 (m, 3H), 2.08 (s, 3H, Me(33)), 2.23 (m, 2H), 2.98 (dt, 1H, J=4.2, 7.0, H-C(19)), 3.36 (s, 3H, MeO de mPEG), 3.39 (m, 2H), 3.62 (br, PEG), 3.86 (m, 2H), 4.11 (s, 2H, -OCOCH₂OPEG), 4.53 (m, 1H, H-C(3)), 4.59 (s, 1H, H-C(29)), 4.71 (s, 1H; H-C(29)), 5.69 (d, 1H, J=5.4, H-C(31)), 5.78 (d, 1H, J=5.4, H-C(31))

20

¹³C-NMR (CDCl₃): véase la Tabla 1

Ejemplo 9: síntesis del ácido 3-oxo-lupan-28-oico (ácido 20,29-dihidro- betulónico) 5

5 En un matraz de fondo redondo de 250 ml, equipado con un septo adaptado con una entrada de hidrógeno, se colocaron 15 g (32.989 mmol) de ácido betulónico 1 en una mezcla de 110 ml de THF anhidro y 10 ml de metanol. Esta mezcla de reacción se hidrogenó a 4 atm y temperatura ambiente sobre 3 g de Pd/C (10% p/p). Después de 24 horas, el catalizador se separó por filtración y la solución se concentró bajo presión reducida para proporcionar un sólido de color blanco. El sólido se volvió a cristalizar a partir de acetona para proporcionar 13.04 g (87%) del ácido 20,29-dihidro- betulónico 5.

10

Ácido 3-oxo-lupan-28-oico (ácido 20,29-dihidro- betulónico) 5 ($\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$):

m.p.: 185-186°C (AcOEt/EP)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 0.75 (d, 3H, $J=6.9$, Me(29)), 0.84 (d, 3H, $J=6.9$, Me(30)), 0.92 (s, 3H, Me(26)), 0.95 (s, 6H, Me(25), Me(27)), 1.00 (s, 3H, Me(24)), 1.06 (s, 3H, Me(23)), 1.15-1.95 (m, 18H), 2.23 (m, 4H), 2.43 (m, 2H, 2 H-C(2))

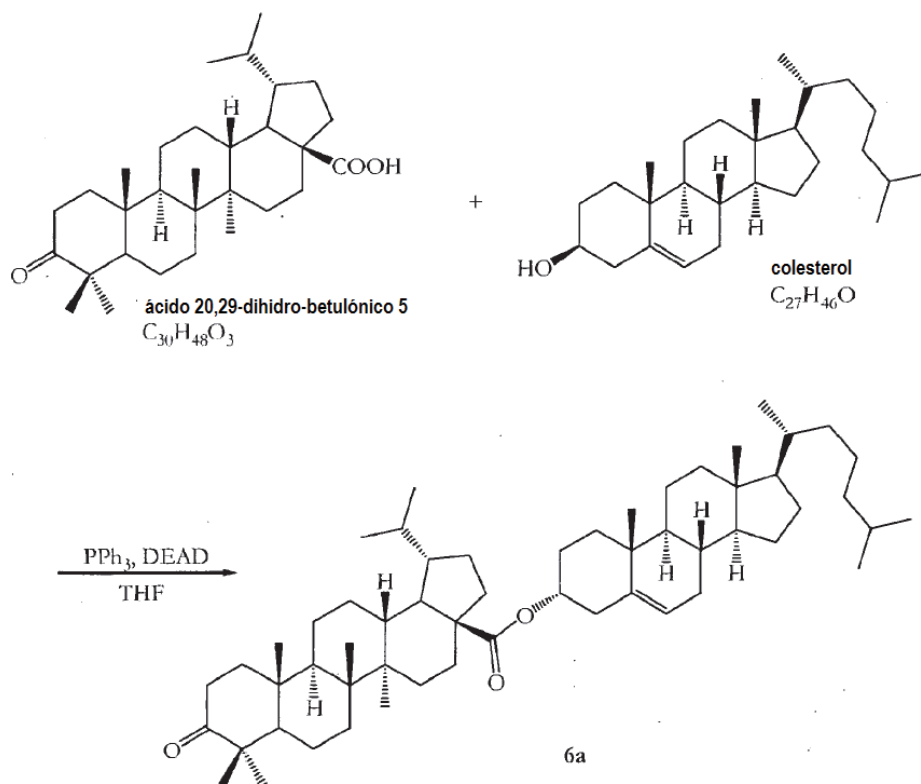
15

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): véase la Tabla 1

IR (KBr, cm^{-1}): 3380m, 2930s, 1683s, 1451s, 1383s, 1364s, 1236s, 1194s, 1165s, 1137s, 1100s, 1017m, 982m, 957m, 811m

MS (ESI negativo): 455 [M-H⁺] (100%)

$[\alpha]_D^{20} = +4.1^\circ$ ($c = 3.44 \times 10^{-3}$ g/cm³, CH_2Cl_2)

Ejemplo 10: síntesis de α -colesteril 3-oxo-lupan-28-oato 6a (reacción de Mitsunobu)

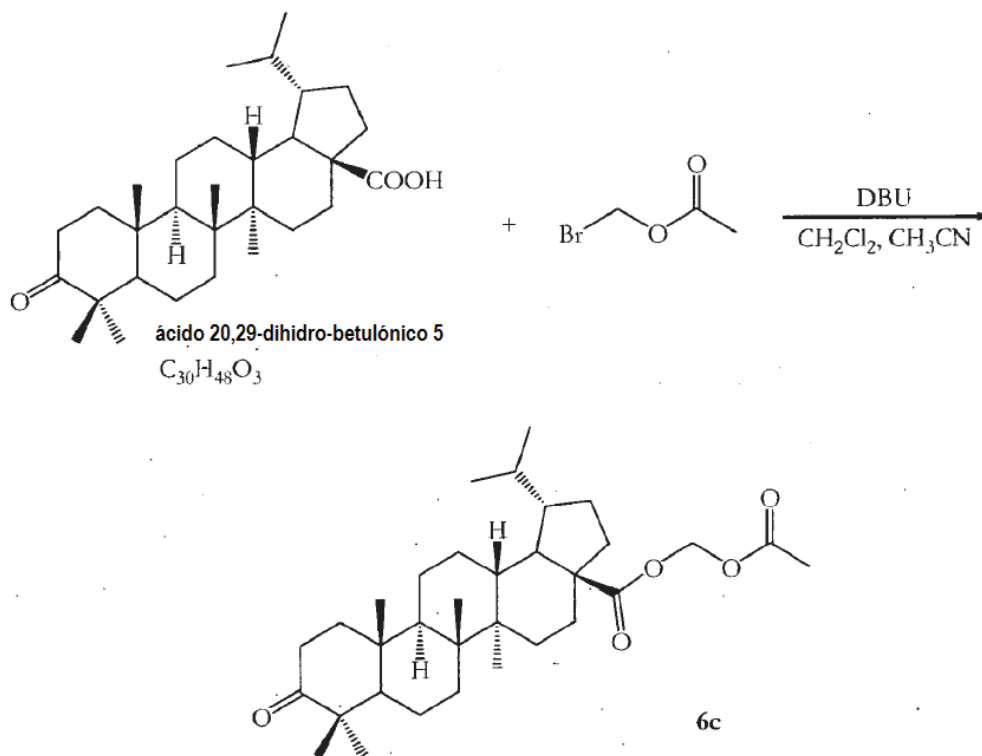
5 En un matraz de fondo redondo de 500 ml, equipado con una barra de agitación magnética y un septo adaptado con una entrada de nitrógeno, se colocaron 25 g (54.74 mmol) de ácido 20,29-dihidro- betulónico 5 en 950 ml de THF seco. El matraz se enfrió con un baño de acetona helada y se adicionaron 27.35 g (104.26 mmol) de trifetil fosfina, 20.16 g (52.13 mmol) de colesterol, en ese orden. A continuación, se adicionaron gota a gota con una jeringa 47.8 ml (104.26 mmol) de azadicarboxilato de dietilo (DEAD, 40% de solución en tolueno). A continuación, la solución se calentó a temperatura ambiente y se agitó, durante 48 horas. La solución se apagó con agua destilada (500 ml) y se extrajo tres veces con 500 ml de acetato de etilo. Los extractos orgánicos combinados se secaron (MgSO₄) y el solvente se evaporó bajo presión reducida para proporcionar un sólido de color amarillo. El residuo en bruto se purificó por cromatografía de silicagel 60G (acetato de etilo/éter de petróleo 40-60°C, 5/95 luego 1/9) para producir 27.01 g (63%) de **6a**, como un sólido de color blanco.

15 α -Colesteril 3-oxo-lupan-28-oato **6a** (C₅₇H₉₂O₃):

¹H-NMR (CDCl₃): 0.67 (s, 3H, Me(49)), 0.73 (d, 3H, J=6.9, Me(29)), 0.84 (d, 3H, J=6.6, Me(30)), 0.84 (d, 3H, J=1.2, Me(57)), 0.86 (d, 3H, J=1.2, Me(56)), 0.91 (s, 3H, Me(26)), 0.92 (m, 3H, Me(51)), 0.93 (s, 3H, Me(25)), 0.94 (s, 3H, Me(27)), 1.01 (s, 3H, Me(24)), 1.02 (s, 3H, Me(48)), 1.06 (s, 3H, Me(23)), 0.84-2.44 (m, 51H), 2.42-2.48 (m, 3H), 5.06 (m, 1H, H-C(33)), 5.27 (d, 1H, J=5.1, H-C(36))

20 ¹³C-NMR (CDCl₃): véase la Tabla 1

Ejemplo Ilustrativo 11: síntesis de acetoximetil 3-oxo-lupan-28-oato 6c (sustitución nucleofílica)



- 5 En un matraz de fondo redondo de 100 ml, equipado con una barra de agitación magnética y un septo adaptado con una entrada de nitrógeno, se colocaron 3.0 g (6.569 mmol) del ácido 20,29-dihidro- betulónico 5, 676 ml (6.897 mmol) de bromometil acetato, 18 ml de diclorometano y 6 ml de acetonitrilo. El matraz se enfrió con un baño de acetona helada y se
- 10 adicionaron gota a gota con una jeringa 1.03 ml (6.897 mmol) de diazabicyclo[5.4.0]undeceno (DBU). A continuación, la solución se calentó a temperatura ambiente y se agitó, durante 16 horas, luego se concentró en presencia de silicagel 60G (600 mg) bajo presión reducida. El residuo en bruto se purificó por medio de cromatografía de silicagel 60G (acetato de etilo/éter de petróleo 40-60°C, 1/9 luego 1/4) para producir 3.02 g (87.2%) de 6c, como un sólido de color blanco.

Acetoximetil 3-oxo-lupan-28-oato 6c ($\text{C}_{33}\text{H}_{52}\text{O}_5$):

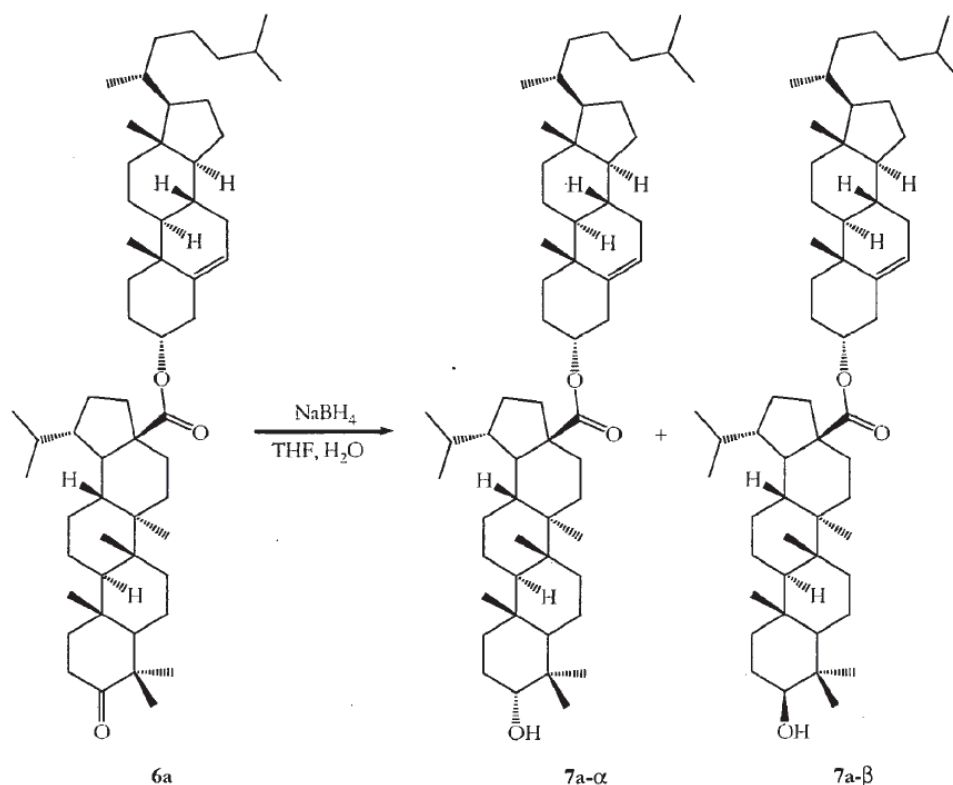
m.p.: 87-88°C (CH_3OH)

- 15 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 0.74 (d, 3H, $J=6.6$, Me(29)), 0.84 (d, 3H, $J=6.9$, Me(30)), 0.93 (s, 3H, Me(26)), 0.95 (s, 6H, Me(25), Me(27)), 1.01 (s, 3H, Me(24)), 1.06 (s, 3H, Me(23)), 1.15-1.95 (m, 24H), 2.09 (s, 3H, Me(33)), 2.23 (m, 2H), 2.44 (m, 2 H-C(2)), 5.69 (d, 1H, $J=5.4$, H-C(31)), 5.78 (d, 1H, $J=5.4$, H-C(31))

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): véase la Tabla 1

- 20 IR (KBr, cm^{-1}): 2935s, 1765s, 1739s, 1695s, 1456s, 1380s, 1363s, 1215s, 1132s, 1106s, 1073s, 1037s, 1014s, 997s, 977s

$[\alpha]_D^{20} = +8.6^\circ$ ($c = 3.36 \times 10^{-3}$ g/ cm^3 , CH_2Cl_2)

Ejemplo 12: síntesis de α -colesteril 3 β -hidroxi-lupan-28-oato 7a- β 

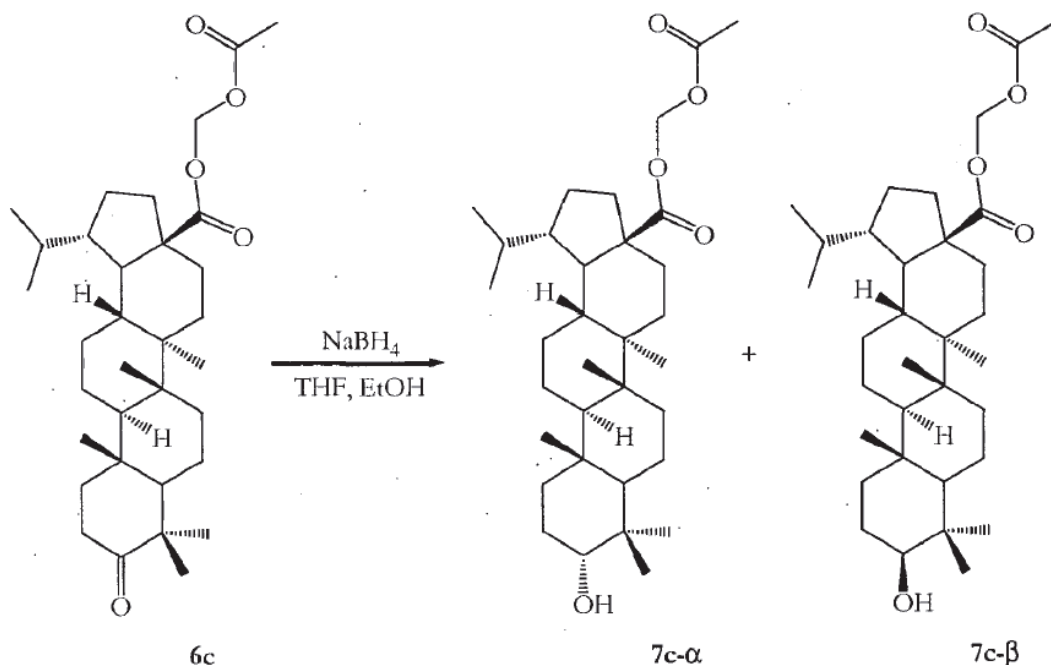
- 5 En un matraz de fondo redondo de 500 ml, equipado con una barra de agitación magnética y un septo adaptado con una entrada de nitrógeno, se colocaron 25.0 g (30.289 mmol) del derivado 6a en 200 ml de THF. El matraz se enfrió con un baño de acetona helada y se adicionaron con una jeringa 1.15 g (30.289 mmol) de borohidruro de sodio en 10 ml de agua destilada. A continuación, la solución se calentó a temperatura ambiente y se agitó, durante 1.5 horas, luego se concentró en presencia de silicagel 60G (5 g), bajo presión reducida. El residuo en bruto se purificó por medio de cromatografía de silicagel 60G (acetato de etilo/éter de petróleo 40-60°C, 5/95 luego 1/9) para producir 830 mg (3.3%) de 7a- α , como un sólido de color blanco, a continuación 20.259 g (81%) 7a- β como un sólido de color blanco (relación 7a- α / 7a- β = 3.9 / 96.1).

α -Colesteril 3 β -hidroxi-lupan-28-oato 7a- β (C₅₇H₉₄O₃):

- 15 ¹H-NMR (CDCl₃): 0.68 (s, 3H, Me(49)), 0.74 (d, 3H, J=6.6, Me(29)), 0.76 (s, 3H, Me(24)), 0.82 (s, 3H, Me(26)), 0.84 (d, 3H, J=6.6, Me(30)), 0.85 (d, 3H, J=1.2, Me(57)), 0.87 (d, 3H, J=1.2, Me(56)), 0.90 (s, 3H, Me(48)), 0.90 (m, 3H, Me(51)), 0.93 (s, 3H, Me(25)), 0.97 (s, 3H, Me(27)), 1.03 (s, 3H, Me(23)), 0.84-2.30 (m, 54H), 2.47 (d, 1H, J=15.0, H-C(37)), 3.19 (m, 1H, H-C(3)), 5.07 (br, 1H, H-C(33)), 5.31 (d, 1H, J=4.5, H-C(36))

¹³C-NMR (CDCl₃): véase la Tabla 1

Ejemplo Ilustrativo 13: síntesis de acetoximetil 3β-hidroxi-lupan-28-oato 7c-β



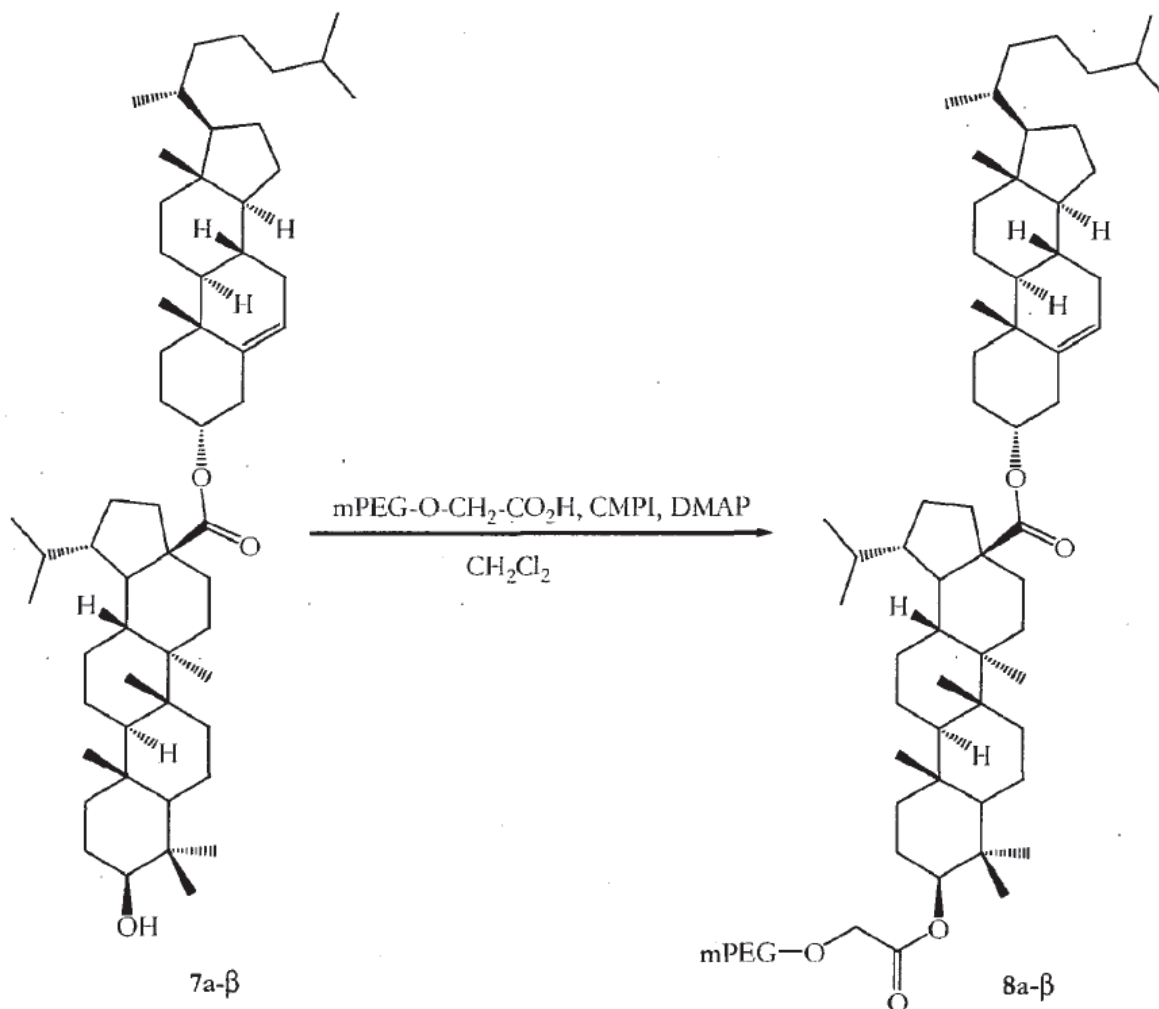
- 5 En un matraz de fondo redondo de 100 ml, equipado con una barra de agitación magnética y un septo adaptado con una entrada de nitrógeno, se colocaron 2.75 g (5.20 mmol) del derivado 6c, 20 ml de THF, 20 ml de etanol al 96% y 1 ml de agua destilada. El matraz se enfrió con un baño de acetona helada y se adicionaron con espátula 198 mg (5.2 mmol) de borohidruro de sodio. A continuación, la solución se calentó a temperatura ambiente y se agitó, durante 1 hora, luego se concentró en presencia de alúmina neutra WOELM-1 (500 mg), bajo presión reducida. El residuo en bruto se purificó por medio de cromatografía sobre alúmina neutra WOELM-1 (acetato de etilo/éter de petróleo 40-60°C, 5/95 luego 1/9 luego 1/4) para producir 275 mg (10.0%) 7c-β como un sólido de color blanco.
- 10

Acetoximetil 3β-hidroxi-lupan-28-oato 7c-β (C₃₃H₅₄O₅):

m.p.: 201-202°C (AcOEt/EP)

- 15 ¹H-NMR (CDCl₃): 0.73 (d, 3H, *J*=6.6, Me(29)), 0.75 (s, 3H, Me(24)), 0.82 (s, 3H, Me(26)), 0.84 (d, 3H, *J*=6.9, Me(30)), 0.91 (s, 3H, Me(25)), 0.94 (s, 3H, Me(27)), 0.96 (s, 3H, Me(23)), 1.10-1.60 (m, 23H), 2.09 (s, 3H, Me(33)), 2.23 (m, 2H), 3.18 (dd, 1H, *J*=5.1, 10.8, H-C(3)), 5.69 (d, 1H, *J*=5.4, H-C(31)), 5.78 (d, 1H, *J*=5.4, H-C(31)) ¹³C-NMR (CDCl₃): véase la Tabla 1
 IR (KBr, cm⁻¹): 3535m, 2940s, 1762s, 1747s, 1708s, 1446s, 1362s, 1225s, 1165s, 1145s, 1098s, 1042s, 968s

^l_D²⁰ = -5.7° (c = 2.09 × 10⁻³ g/cm³, CH₂Cl₂)

Ejemplo 14: síntesis de α -colesteril 3 β -(metoxipoli(etilenglicol acetoxi)-lupan-28-oato 8a- β 

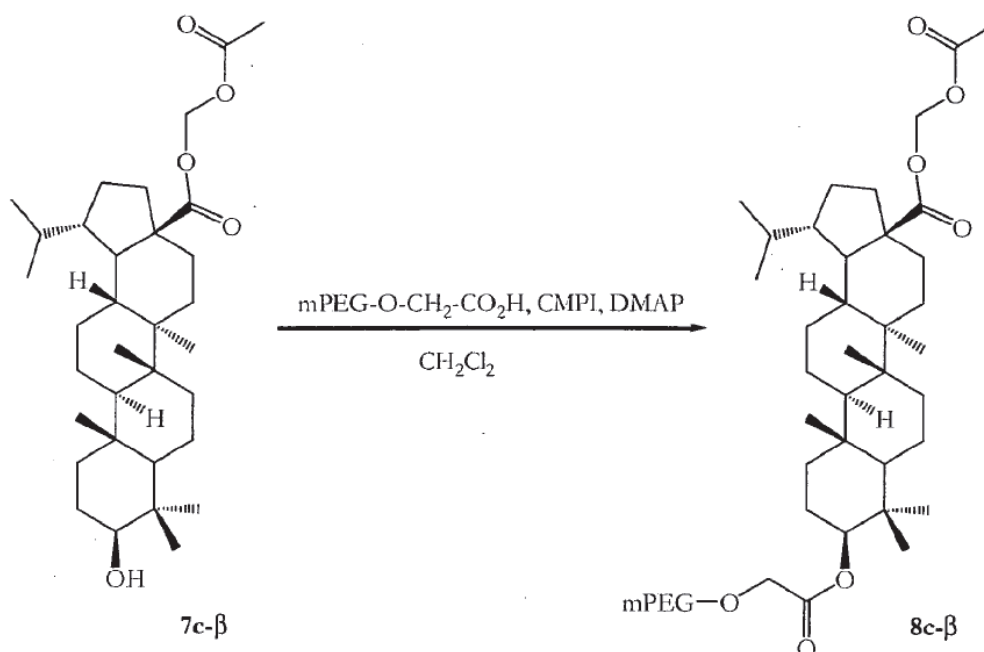
5 En un matraz de fondo redondo de 2.1, equipado con una barra de agitación magnética y un septo adaptado con una entrada de nitrógeno, se colocaron 14.50 g (17.525 mmol) del derivado **7a- β** en 700 ml de diclorometano seco. El matraz se enfrió con un baño de acetona helada y se adicionaron 38.43 g (7.686 mmol) de metoxipoli(etilenglicol 5,000/ácido acético (mPEG-O-CH₂-CO₂H), 7.70 g (30.131 mmol) de yoduro de 2-cloro-1-metilpiridinio (CMPI) y 7.36 g (60.261 mmol) de DMAP, en ese orden, y se agitó, durante 20 minutos a - 5°C. A continuación, la solución se calentó a temperatura ambiente y se agitó, durante 48 horas. La solución se apagó con agua (500 ml) y se extrajo tres veces (250 ml) con diclorometano. Los extractos orgánicos combinados se secaron (MgSO₄). El solvente se evaporó bajo presión reducida para producir un aceite de color amarillo que se recristalizó dos veces a partir de propan-2-ol (500 ml), a continuación se liofilizó para proporcionar un sólido de color blanco **8a- β** (28.89 g, 68%).

15 α -Colesteril 3 β -(metoxipoli(etilenglicol acetoxi)-lupan-28-oato **8a- β** :

¹H-NMR (CDCl₃): 0.55 (s, 3H, Me(49)), 0.61 (d, 3H, *J*=6.6, Me(29)), 0.71 (m, 12H, Me(24), Me(26), Me(56), Me(57)), 0.74 (s, 6H, Me(25), Me(48)), 0.77 (m, 6H, Me(30), Me(51)), 0.80 (s, 3H, Me(27)), 0.89 (s, 3H, Me(23)), 0.84-2.30 (m, 52H), 2.36 (d, 1H, *J*=15.1, H-C(37)), 3.24 (s, 3H, MeO de mPEG), 3.27 (m, 2H), 3.51 (br, PEG), 3.74 (m, 2H), 3.99 (s, 2H, -OCOCH₂OPEG), 4.44 (m, 1H, H-C(3)), 4.93 (br, 1H, H-C(33)), 5.14 (br, 1H, H-C(36)).

20 ¹³C-NMR (CDCl₃): véase la Tabla 1

Ejemplo Ilustrativo 15: síntesis de acetoximetil 3β-(metoxipolietilenglicol acetoxi)-lupan-28-oato 8c-β



5

10

15

20

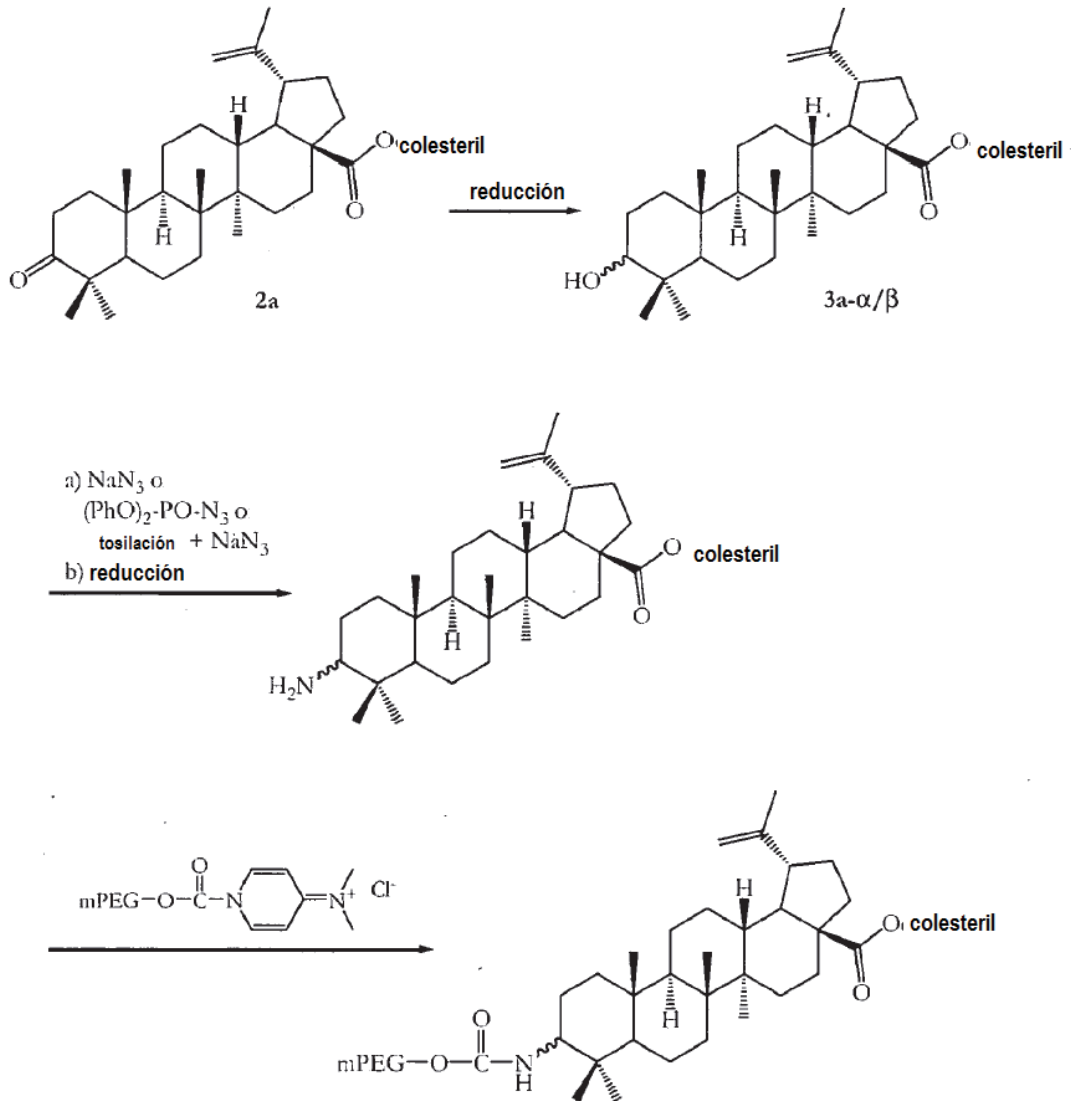
En un matraz de fondo redondo seco de 100 ml, equipado con una barra de agitación magnética y un septo adaptado con una entrada de nitrógeno, se colocaron 200 mg (0.3874 mmol) del derivado 7c-β en 25 ml de diclorometano seco. El matraz se enfrió con un baño de acetona helada y se adicionaron 945 mg (0.1891 mmol) de metoxipolietilenglicol 5,000 ácido acético (mPEG-O-CH₂-CO₂H), 188 mg (0.7356 mmol) de yoduro de 2-cloro-1-metilpiridinio (CMPI) y 183 mg (1.494 mmol) de DMAP, en ese orden, y se agitó, durante 20 minutos a -5°C. A continuación, la solución se calentó a temperatura ambiente y se agitó, durante 48 horas. La solución se apagó con agua (25 ml) y se extrajo tres veces con 50 ml de diclorometano. Los extractos orgánicos combinados se secaron (MgSO₄). El solvente se evaporó bajo presión reducida para producir un aceite de color amarillo que se recristalizó dos veces a partir de propan-2-ol (125 ml), a continuación se liofilizó para proporcionar un sólido de color blanco 8c-β (444 mg, 43%).

Acetoximetil 3β-(metoxipolietilenglicol acetoxi)-lupan-28-oato 8c-β:

¹H-NMR (CDCl₃): 0.72 (d, 3H, J=6.6, Me(29)), 0.80 (s, 3H, Me(24)), 0.81 (d, 3H, J=6.9, Me(30)), 0.82 (s, 6H, Me(26), Me(23)), 0.90 (s, 3H, Me(25)), 0.92 (s, 3H, Me(27)), 1.10-1.60 (m, 23H), 2.07 (s, 3H, Me(33)), 2.23 (m, 2H), 3.36 (s, 3H, MeO de mPEG), 3.39 (m, 2H), 3.62 (br, PEG), 3.86 (m, 2H), 4.11 (s, 2H, -OCOCH₂OPEG), 4.56 (m, 1H, H-C(3)), 5.67 (d, 1H, J=5.4, H-C(31)), 5.76 (d, 1H, J=5.4, H-C(31))

¹³C-NMR (CDCl₃): véase la Tabla 1

Ejemplo 16: síntesis de α -colesteril betulonato conjugado con mPEG (a través de la metodología DMAP carbamato)



- 5 α -Colesteril betulonato **2a** se puede reducir a α -colesteril betulonato **3a- α/β** utilizando, por ejemplo, borohidruro de sodio o $\text{M}^+ \text{BHR}_3^-$, en donde M^+ es Na^+ , Li^+ o K^+ , y R es independientemente un grupo alquilo C_{1-4} , tal como s-butilo. El grupo hidroxilo del α -colesteril betulonato **3a- α/β** a continuación se puede convertir en un grupo azida utilizando azida de sodio o $(\text{PhO})_2\text{-PO-N}_3$ o cloruro de tosilo seguido por azida de sodio. Posteriormente, el grupo azida se puede reducir a un grupo amino, que a continuación se puede acoplar a mPEG utilizando, por ejemplo, un mPEG carbamato.
- 10

ES 2 524 331 T3

Ci	Betulina	Betulonal	β -Betulinal	β -BetA	1	2a	2b	2c
1	38.74	39.75	38.73	38.67	39.73	39.79	39.83	39.72
2	26.97	33.75	27.39	26.77	33.72	33.91	33.76	33.74
3	78.84	218.00	78.99	78.60	218.41	218.29	218.24	218.13
4	38.82	47.42	38.85	38.67	47.44	47.48	47.46	47.43
5	55.29	55.07	55.31	55.28	55.03	55.09	55.10	55.06
6	18.30	19.73	18.26	18.15	19.73	20.95	19.79	19.76
7	34.20	34.23	34.33	34.21	34.24	34.41	34.28	34.23
8	40.88	40.89	40.82	40.54	40.74	40.85	40.79	40.76
9	50.38	49.94	50.40	50.44	49.95	50.01	50.07	50.01
10	37.11	37.00	37.17	37.01	37.03	37.04	37.05	37.02
11	20.83	21.39	20.74	20.75	21.49	21.60	21.58	21.52
12	25.21	25.66	25.53	25.41	25.60	25.92	25.69	25.61
13	37.28	38.87	38.69	38.18	38.64	38.99	38.46	38.43
14	42.68	42.72	42.55	42.29	42.60	42.73	42.60	42.56
15	29.14	28.91	28.80	29.53	27.03	26.64	29.72	29.62
16	27.05	29.26	29.25	30.44	30.67	30.95	30.77	30.49
17	47.70	59.41	59.31	56.10	56.53	56.97	56.61	56.69
18	47.79	47.59	47.52	46.88	47.02	47.11	47.09	46.85
19	48.75	48.09	48.06	49.20	49.31	49.26	49.53	49.40
20	150.59	149.74	149.72	150.59	150.42	151.03	150.74	150.26
21	29.71	29.98	29.89	32.14	32.22	32.12	32.27	31.77
22	33.95	33.28	33.22	37.01	37.17	36.46	37.20	36.71
23	27.91	26.73	27.97	27.68	26.76	26.79	26.77	26.73
24	15.37	21.12	15.33	15.16	21.11	21.18	21.13	21.13
25	15.93	15.84	15.89	15.69	15.94	16.10	15.91	15.86
26	16.08	16.07	16.13	15.89	16.07	16.13	16.10	16.07
27	14.72	14.30	14.26	14.46	14.74	14.77	14.76	14.73
28	60.03	206.55	206.67	179.00	182.72	176.23	176.09	174.73
29	109.58	110.32	110.15	109.26	109.89	109.59	109.68	109.92
30	19.06	19.12	18.99	19.05	19.49	19.21	19.54	19.49
31						37.73	60.79	79.13
32						34.30	118.83	169.65
33						70.47	142.24	20.84
34						39.66	39.64	
35						138.91	26.85	
36						122.41	124.41	
37						29.69	131.44	
38						31.97	39.76	
39						50.68	26.44	
40						37.15	123.82	
41						20.94	131.44	
42						39.96	16.15	
43						42.46	16.71	
44						57.00	17.84	
45						24.42	25.85	
46						28.38		
47						56.34		
48						19.21		
49						12.01		
50						35.94		
51						18.89		
52						36.83		
53						23.98		
54						39.67		
55						28.17		
56						22.97		
57						22.71		

Tabla 1. Datos $^{13}\text{C-NMR}$

ES 2 524 331 T3

Ci	3a- α	3a- β	3c- β	4a- β *	4c- β	5
1	33.42	38.92	38.83		38.01	39.69
2	25.55	27.61	27.49		25.08	33.78
3	76.39	79.14	79.03	81.50	81.13	218.36
4	37.69	39.02	38.96		37.53	47.45
5	49.33	55.47	55.45		55.04	55.01
6	18.43	18.51	18.40		17.83	19.75
7	34.36	34.32	34.45		33.90	34.23
8	41.11	40.91	40.81		40.36	40.75
9	50.43	50.67	50.65		50.07	49.72
10	37.15	37.15	37.30		36.74	37.00
11	20.94	20.98	20.99		20.56	21.52
12	25.90	25.95	25.61		23.39	22.87
13	38.88	38.92	38.35		37.84	38.46
14	42.75	42.68	42.49		42.04	42.74
15	29.67	29.76	29.64		29.15	27.00
16	30.98	31.02	30.51		30.03	29.80
17	57.00	57.00	56.71		56.20	56.96
18	47.17	47.14	46.88		46.45	44.26
19	49.17	49.34	49.47		48.99	48.79
20	151.17	151.12	150.33	150.13	149.73	29.85
21	32.10	32.15	31.83		31.37	32.12
22	36.84	36.87	36.73		36.26	37.52
23	28.17	28.17	28.09		27.68	26.77
24	19.80	19.83	15.47		15.61	21.14
25	22.28	16.25	16.05		15.87	16.00
26	16.33	16.33	16.24		16.21	16.04
27	14.93	14.86	14.81		14.36	14.67
28	176.33	176.28	174.76	174.58	174.19	182.87
29	109.74	109.52	109.85	109.59	109.52	23.11
30	19.22	19.22	19.48		19.02	14.80
31	37.78	37.81	79.09		78.64	
32	28.42	28.42	169.70		169.93	
33	70.43	70.45	20.83	70.32	20.38	
34	39.67	39.71			169.08	
35	138.91	138.91				
36	122.41	122.41				
37	32.81	32.84				
38	31.97	31.97				
39	50.66	50.67				
40	37.46	37.33				
41	20.94	21.10				
42	39.95	39.99				
43	42.47	42.47				
44	56.99	57.00				
45	24.42	24.46				
46	23.96	24.01				
47	56.30	56.32				
48	16.04	15.52				
49	12.02	12.02				
50	35.93	35.94				
51	18.89	18.89				
52	36.33	36.38				
53	26.63	26.68				
54	39.67	39.71				
55	28.17	28.17				
56	22.97	22.97				
57	22.72	22.71				
58				170.29		

Tabla 1 (Cont). Datos ^{13}C -NMR (* no se registraron todos los picos)

ES 2 524 331 T3

Ci	6a	6c	7a-β	7c-β	8a-β*	8c-β
1	39.63	39.67	38.86	38.86		38.40
2	33.85	33.79	27.50	27.54		25.89
3	218.12	218.04	78.98	79.10	80.53	81.64
4	47.43	47.39	38.95	39.00		37.94
5	55.01	55.00	55.41	55.45		55.42
6	19.80	19.73	18.44	18.45		18.23
7	34.25	34.19	34.25	34.53		34.38
8	40.86	40.74	40.89	40.87		40.79
9	49.77	49.74	50.41	50.45		50.26
10	36.97	36.95	37.03	37.32		37.13
11	21.60	21.52	21.04	21.06		20.97
12	26.63	22.67	23.92	22.74		23.78
13	38.87	38.22	38.76	38.22		38.11
14	42.81	42.68	42.72	42.69		42.61
15	27.24	26.97	27.23	27.03		26.90
16	29.63	29.59	29.63	29.67		29.56
17	57.26	57.09	57.24	57.19		57.10
18	44.39	44.06	44.39	44.17		44.09
19	48.72	48.86	48.76	48.99		48.89
20	29.92	29.79	29.89	29.85		29.76
21	32.13	31.64	32.11	31.78		31.67
22	36.84	37.04	36.81	37.13		37.10
23	26.77	26.70	28.11	28.13		28.06
24	21.16	21.12	15.51	15.52		16.04
25	16.04	15.87	16.17	16.13		16.22
26	16.14	16.00	16.31	16.24		16.59
27	14.69	14.61	14.76	14.75		14.63
28	176.41	174.84	176.42	174.98	175.18	174.88
29	23.28	23.04	23.28	23.10		23.02
30	14.87	14.74	14.87	14.80		14.72
31	38.04	79.06	38.04	79.08		79.02
32	34.25	169.61	28.34	169.75		169.63
33	70.32	20.80	70.26	20.88	69.79	20.79
34	39.75		39.63			170.40
35	138.82		138.79		137.89	
36	122.40		122.37		121.46	mPEG
37	32.59		32.63			
38	31.93		31.91			CH ₃ O-
39	50.67		50.62			59.09
40	37.07		37.24			
41	20.91		20.89			CH ₂
42	39.93		39.90			
43	42.42		42.39			68.81
44	57.00		56.97			70.46
45	24.39		24.37			70.63
46	28.35		26.60			70.85
47	56.31		56.27			71.99
48	19.19		19.17			
49	11.98		11.97			
50	35.90		35.88			
51	18.87		18.85			
52	36.31		36.30			
53	23.95		23.92			
54	39.63		39.63			
55	28.13		28.11			
56	22.95		22.94			
57	22.69		22.68			
58					169.35	

Tabla 1 (Cont). Datos ¹³C-NMR (* no se registraron todos los picos)

Para los propósitos de la presente invención, para todos los ejemplos de síntesis descritos anteriormente, donde hay condiciones de reacción descritas, tales como reactivos, solventes y temperaturas, por encima y/o debajo de una flecha en una representación gráfica, se debe entender que estas condiciones de reacción, en particular los solventes y temperaturas, no son esenciales para que la reacción se lleve a cabo y se pueden variar.

5

Ejemplo 17: leucemia linfoide crónica

La sensibilidad de células de leucemia humana al acetoximetil 3β-(metoxipoli-etilenglicol acetoxi)-lup-20(29)-en-28-oato 4c-β a diferentes concentraciones (de 0.04 mM hasta 1 mM) se probó *in vitro*. Los linfocitos de tres pacientes (4266866, 4266860 y 4262311) que sufren de leucemia linfoide crónica fueron utilizados en cultivos celulares.

10

Se siguió el siguiente protocolo:

En el día 0: Se preparó una placa multi-pozos por paciente, que comprende cada una 10⁶ células/pozo en un volumen total de 1 ml. Se adicionaron las células, RPMI (medio de cultivo celular) y el compuesto de ensayo 4c-β de acuerdo con la tabla 2 (todos los experimentos se realizaron por duplicado). El compuesto de ensayo disuelto en medio RPMI se adicionó en las siguientes cantidades: 10 μl = 0.4 mM, 50 μl = 0.2 mM, 100 μl = 0.4 mM, 150 μl = 0.6 mM, 200 μl = 0,8 mM, y 250 μl = 1 mM.

15

En el día 2:

- se tomaron 500 μl de cada pozo de la placa 1 y se colocaron en un pozo de la placa 2.
- Placa 2: las células fueron tritiadas con ³H-timidina durante 4 horas; después de 4 horas de incubación en presencia de radioactividad, la placa 2 se recogió y se contó la radioactividad.
- Placa 1: 50 μl de PHA se adicionaron a los 500 μl de cada pozo de la placa 1.

20

En el día 5:

- Placa 1: las células y PHA fueron tritiadas con ³H-timidina durante 4 horas; después de 4 horas de incubación en presencia de radioactividad, la placa 1 se recogió y se contó la radioactividad.

25

30

Tabla 2 - preparación de la placa

Pozo	Paciente 1 (4266866)	Paciente 2 (4266860)	Paciente 3 (4262311)
1 (control)	100 μl células + 900 μl RPMI	200 μl células + 800 μl RPMI	100 μl células + 900 μl RPMI
2 (control)	100 μl células + 900 μl RPMI	200 μl células + 800 μl RPMI	100 μl células + 900 μl RPMI
3	100 μl células + 890 μl RPMI + 10 μl compuesto 4c-β	200 μl células + 790 μl RPMI + 10 μl compuesto 4c-β	100 μl células + 890 μl RPMI + 10 μl compuesto 4c-β
4	100 μl células + 850 μl RPMI + 50 μl compuesto 4c-β	200 μl células + 750 μl RPMI + 50 μl compuesto 4c-β	100 μl células + 850 μl RPMI + 50 μl compuesto 4c-β
5	100 μl células + 800 μl RPMI + 100 μl compuesto 4c-β	200 μl células + 700 μl RPMI + 100 μl compuesto 4c-β	100 μl células + 800 μl RPMI + 100 μl compuesto 4c-β
6	100 μl células + 750 μl RPMI + 150 μl compuesto 4c-β	200 μl células + 650 μl RPMI + 150 μl compuesto 4c-β	100 μl células + 750 μl RPMI + 150 μl compuesto 4c-β
7	100 μl células + 700 μl RPMI + 200 μl compuesto 4c-β	200 μl células + 600 μl RPMI + 200 μl compuesto 4c-β	100 μl células + 700 μl RPMI + 200 μl compuesto 4c-β
8	100 μl células + 650 μl RPMI + 250 μl compuesto 4c-β	200 μl células + 550 μl RPMI + 250 μl compuesto 4c-β	100 μl células + 650 μl RPMI + 250 μl compuesto 4c-β

Los resultados experimentales se resumen en las Figuras 2a-c.

A las células en cultivo se les adicionó PHA (una lectina llamada fitoaglutina, que es un mitógeno que activa las células vivas). PHA actúa como un agente estimulante. Todos los linfocitos humanos tienen receptores para este tipo de lectina y todos los linfocitos humanos sometidos a transformación linfoblástica cuando se estimulan por PHA. Mediante la adición de PHA a las células en cultivo, fue posible medir si las células estaban todavía vivas. CPM significa cuentas por minuto y mide la desintegración de la ³H-timidina tritiada. Por lo tanto, la CPM refleja la radioactividad de las células de ADN que han incorporado la ³H-timidina tritiada después de la mitosis.

Como puede verse a partir de los experimentos de la placa 2, las células puestas en contacto con el compuesto de ensayo 4c-β murieron en un plazo de 48 horas, su muerte se mide por CPM después de la adición de la ³H-timidina tritiada, que no se incorpora en el ADN de las células, porque las células fueron incapaces de realizar la mitosis. Como puede verse de los experimentos de la placa 1, las células ya no pudieron ser activadas por PHA.

Ejemplo 18: leucemia linfoide crónica

La sensibilidad de las células de leucemia humana a α-colesteril 3β- (metoxipoli-etilenglicol acetoxi) -lup-20 (29) -en-28-oato 4a-β a diferentes concentraciones (0.5 mM y 1 mM) se ensayó *in vitro*. Los linfocitos de un paciente (4308840) que sufre de leucemia linfoide crónica fueron utilizados en los cultivos celulares.

Se siguió el siguiente protocolo:

En el día 0: Se preparó una placa multi-pozos, que comprende 10° células/pozo en un volumen total de 1.5 ml. Se adicionaron las células, RPMI (medio de cultivo celular), PHA y compuesto de ensayo 4a-β de acuerdo con la tabla 3 (todos los experimentos se hicieron por triplicado). El compuesto de ensayo disuelto en RPMI se adicionó en las siguientes cantidades: 125 μl = 0.5 mM y 250 μl = 1 mM.

El día 1:

- 2 x 500 μl fueron tomadas de cada pozo de la placa 1 y se colocaron en un pozo de las placas de 2 y 3.
- Placa 2: las células fueron tritiadas con ³H-timidina, durante 4 horas; después de 4 horas de incubación en presencia de radioactividad, la placa 2 se recogió y se contó la radioactividad.
- Placa 1: se adicionaron 50 μl de PHA a los 500 μl de cada pozo de la placa 1.

El día 2:

- Placa 1: las células fueron tritiadas con ³H-timidina, durante 4 horas; después de 4 horas de incubación en presencia de radioactividad, la placa 1 se recogió y se contó la radioactividad.
- Placa 3: células fueron tritiadas con ³H-timidina, durante 4 horas; después de 4 horas de incubación en presencia de radioactividad, la placa 3 se recogió y la radioactividad se contó.

Tabla 3 - preparación de la placa

Pozo	Paciente (4308840)
1 (control)	1 μl células + 500 μl RPMI
2 (positivo control)	1 μl células + 450 μl RPMI + 50 μl PHA
3	1 μl células + 375 μl RPMI + 125 μl compuesto 4a-β
4	1 μl células + 250 μl RPMI + 250 μl compuesto 4a-β

Los resultados experimentales se resumen en la Figura 3.

Como se puede ver, las células puestas en contacto con 0.5 mM y 1 mM del compuesto de ensayo 4a-β no se pudieron activar mediante la adición de PHA después de 48 horas. Por lo tanto, las células en contacto con 0.5 mM y 1 mM del compuesto de ensayo murieron en un plazo de las 48 horas. En contraste con esto, las células no estuvieron en contacto con el compuesto de ensayo (control positivo en el pozo 2), reaccionaron a la adición de PHA adicional, después de 48 horas, lo que demuestra que las células todavía estaban vivas.

El hecho de que las células cancerosas murieron sin la adición de lipasa muestra que la hidrólisis del compuesto de ensayo no es necesaria para obtener un efecto letal sobre este tipo de células cancerígenas.

10 Ejemplo 19: leucemia linfocítica crónica

La sensibilidad de células de leucemia humana de acetoximetil 3β-(metoxipoli-etilenglicol acetoxi)-lupan-28-oato 8c-β a diferentes concentraciones (0.5 mM y 1 mM) se ensayó *in vitro*. Los linfocitos de un paciente (4316182) que sufre de leucemia linfocítica crónica fueron utilizados en los cultivos celulares.

Se siguió el siguiente protocolo:

En el día 0: Se preparó una placa multipozos, que comprende 10⁶ células/pozo en un volumen total de 1.5 ml. Se adicionaron las células, RPMI (medio de cultivo celular), PHA y compuesto de ensayo 8c-β, de acuerdo con la tabla 4 (todos los experimentos se hicieron por triplicado). El compuesto de ensayo disuelto en RPMI se adicionó en las siguientes cantidades: 123 μl = 0.5 mM y 250 μl = 1 mM.

En el día 1:

- 750 μl se tomaron de cada pozo de la placa 1 y se colocaron en un pozo de la placa 2.

- Placa 1: se adicionaron 50 μl de PHA a los 750 μl de cada pozo de la placa 1.

En el día 2:

- Placa 1: las células fueron tritiadas con ³H-timidina durante 4 horas; después de 4 horas de incubación en presencia de radioactividad, la placa 1 se recogió y se contó la radioactividad.

- Placa 2: las células fueron tritiadas con ³H-timidina durante 4 horas; después de 4 horas de incubación en presencia de radioactividad, la placa 2 se recogió y se contó la radioactividad.

Tabla 4 - preparación de la placa

Pozo	Paciente (4316182)
1 (control)	1 μl células + 500 μl RPMI
2 (positivo control)	1 μl células + 450 μl RPMI + 50 μl PHA
3	1 μl células + 375 μl RPMI + 125 μl compuesto 8c-β
4	1 μl células + 250 μl RPMI + 250 μl compuesto 8c-β

Los resultados experimentales se resumen en la Figura 4.

Como se puede observar, los compuestos de ensayo 8c-β a 0.5 mM y 1 mM mataron las células, que no pudieron ser reactivadas por la adición de PHA. Sólo las células, que no estuvieron en contacto con el compuesto de prueba, estaban todavía vivos y pudieron ser reactivados con PHA.

Ejemplo 20: Linfocitos Sanos

La sensibilidad de los linfocitos humanos sanos al α-colesterol 3β-(metoxipoli-etilenglicol acetoxi)-lup-20(29)-en-28-oato 4a-β a diferentes concentraciones (0.5 mM y 1 mM) se ensayó *in vitro*. Los linfocitos de tres voluntarios sanos (JCL, SVT y JMB) se utilizaron en cultivos los celulares.

Se siguió el siguiente protocolo:

En el día 0: Se preparó una placa multi-pozos por voluntario, que comprende cada una 0.5×10^6 células/pozo en un volumen total de 1.5 ml. Se adicionaron las células, RPMI (medio de cultivo celular), PHA, lipasa y el compuesto de ensayo 4a- β de acuerdo con la tabla 5 (todos los experimentos se hicieron por triplicado). El compuesto de ensayo disuelto en RPMI se adicionó en las siguientes cantidades: 125 μ l = 0.5 mM y 250 μ l = 1 mM.

Tabla 5 - preparación de la placa

Placa	Voluntario 1 (JCL)	Voluntario 2 (SVT)	Voluntario 3 (JMB)
1 (control)	1 μ l células + 500 μ l RPMI	1 μ l células + 500 μ l RPMI	1 μ l células + 500 μ l RPMI
2 (control)	1 μ l células + 450 μ l RPMI + 50 μ l PHA	1 μ l células + 450 μ l RPMI + 50 μ l PHA	1 μ l células + 450 μ l RPMI + 50 μ l PHA
3	1 μ l células + 375 μ l RPMI + 125 μ l compuesto 4a- β	1 μ l células + 375 μ l RPMI + 125 μ l compuesto 4a- β	1 μ l células + 375 μ l RPMI + 125 μ l compuesto 4a- β
4	1 μ l células + 250 μ l RPMI + 250 μ l compuesto 4a- β	1 μ l células + 250 μ l RPMI + 250 μ l compuesto 4a- β	1 μ l células + 250 μ l RPMI + 250 μ l compuesto 4a- β
5 (control)	1 μ l células + 470 μ l RPMI + 30 μ l lipasa	1 μ l células + 470 μ l RPMI + 30 μ l lipasa	1 μ l células + 470 μ l RPMI + 30 μ l lipasa
6 (control)	1 μ l células + 420 μ l RPMI + 30 μ l lipasa + 50 μ l PHA	1 μ l células + 420 μ l RPMI + 30 μ l lipasa + 50 μ l PHA	1 μ l células + 420 μ l RPMI + 30 μ l lipasa + 50 μ l PHA
7	1 μ l células + 345 μ l RPMI + 30 μ l lipasa + 125 μ l compuesto 4a- β	1 μ l células + 345 μ l RPMI + 30 μ l lipasa + 125 μ l compuesto 4a- β	1 μ l células + 345 μ l RPMI + 30 μ l lipasa + 125 μ l compuesto 4a- β
8	1 μ l células + 220 μ l RPMI + 30 μ l lipasa + 250 μ l compuesto 4a- β	1 μ l células + 220 μ l RPMI + 30 μ l lipasa + 250 μ l compuesto 4a- β	1 μ l células + 220 μ l RPMI + 30 μ l lipasa + 250 μ l compuesto 4a- β

En el día 1:

- 2 x 500 μ l fueron tomadas de cada pozo de la placa 1 y se colocaron en un pozo de las placas de 2 y 3.

- Placa 2: las células fueron tritadas con 3 H-timidina durante 4 horas; después de 4 horas de incubación en presencia de radioactividad,

la placa 2 se recogió y se contó la radioactividad.

- Placa 1: se adicionaron 50 μ l de PHA a los 500 μ l de cada pozo de la placa 1.

En el día 2:

- Placa 1: las células fueron tritadas con 3 H-timidina durante 4 horas; después de 4 horas de incubación en presencia de radioactividad,

la placa 1 se recogió y se contó la radioactividad.

- Placa 3: células fueron tritadas con 3 H-timidina durante 4 horas; después de 4 horas de incubación en presencia de radioactividad, la placa 3 se recogió y se contó la radioactividad.

Los resultados experimentales se resumen en las Figuras 5a-c y 6a-c.

Como puede verse, el compuesto de ensayo 4a- β no tuvo ningún efecto letal en los linfocitos normales, ya que permanecieron vivos incluso después de 48 horas en contacto con el compuesto de ensayo. Las células reaccionaron positivamente a la adición de PHA, por lo tanto se mantuvieron vivas.

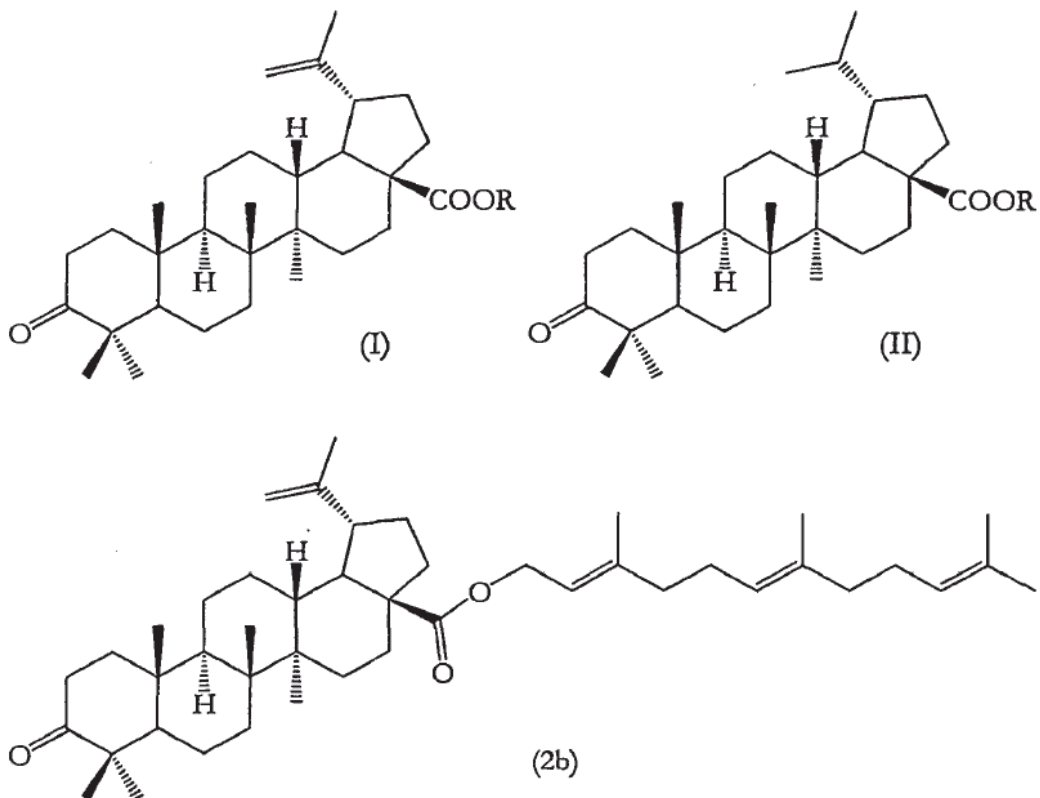
- 5 La adición de lipasa no influyó en los resultados, que muestran que no sólo el compuesto de ensayo 4a- β pegilado, sino también el mPEG-ácido betulónico hidrolizado no tuvieron ningún efecto tóxico sobre los linfocitos sanos.

Se entenderá que la presente invención se ha descrito anteriormente solamente a modo de ejemplo. Los ejemplos no están destinados a limitar el alcance de la invención. Se pueden hacer diversas modificaciones y formas de realización sin apartarse del alcance de la invención, que se define solamente por las siguientes reivindicaciones.

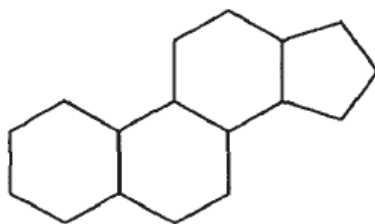
10

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la estructura (I), (II) o (2b):



5 en donde
 R es un grupo alquilo, alqueniilo, alquinilo, arilo, arilalquilo, arilalqueniilo, arilalquinilo, alquilarilo, alqueniilarilo o alquinilarilo,
 que opcionalmente puede incluir uno o más heteroátomos de N, O o S en su esqueleto de carbono, y que opcionalmente
 10 puede incluir uno o más grupos -CO- en su esqueleto de carbono, siempre y cuando R comprenda un sistema de anillo
 fusionado, en donde el sistema de anillo fusionado tiene una estructura de esterano como se muestra:



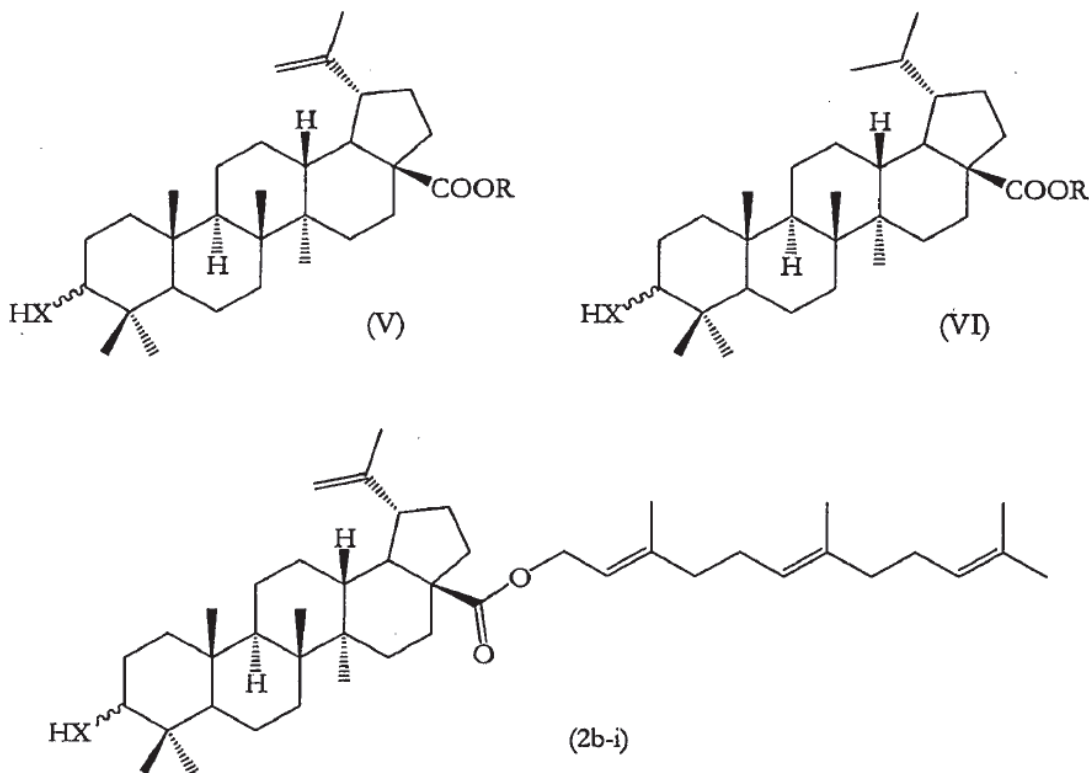
que puede comprender uno o más enlaces dobles;

15 R y/o el sistema de anillo fusionado opcionalmente puede ser sustituido con uno o más de -F, -Cl, -Br, -I, -CF₃, -CCl₃, -
 CBr₃, -Cl₃, -OH, -SH, -NH₂, -CN, -NO₂, -COOH, -R¹-O-R², -R¹-S-R², -R¹-SO-R², -R¹-SO₂-R², -R¹-SO₂-OR², -R¹O-SO₂-R², -R¹-
 SO₂-N(R²)₂, -R¹-NR²-SO₂-R², -R¹O-SO₂-OR², -R¹O-SO₂-N(R²)₂, -R¹-NR²-SO₂-OR², -R¹-NR²-SO₂-N(R²)₂, -R¹-N(R²)₂, -R¹-
 N(R²)₃⁺, -R¹-P(R²)₂, -R¹-Si(R²)₃, -R¹-CO-R², -R¹-CO-OR², -R¹O-CO-R², -R¹-CO-N(R²)₂, -R¹-NR²-CO-R², -R¹O-CO-OR², -R¹O-
 CO-N(R²)₂, -R¹-NR²-CO-OR², -R¹-NR²-CO-N(R²)₂, -R¹-CS-R², -R¹-CSOR², -R¹O-CS-R², -R¹-CS-N(R²)₂, -R¹-NR²-CS-R², -
 R¹O-CS-OR², -R¹O-CS-N(R²)₂, -R¹-NR²-CS-OR², -R¹-NR²-CS-N(R²)₂ o -R²;

20 - R¹- es independientemente un enlace químico, un grupo alquilenilo C₁₋₁₀, alqueniilenilo C₁₋₁₀ o alquinilenilo C₁₋₁₀;
 - R² es independientemente hidrógeno, alquilo C₁₋₆ no sustituido, alqueniilo C₁₋₆ no sustituido, alquinilo C₁₋₆ no sustituido o
 arilo C₆₋₁₀ no sustituido; y

cualquier grupo alquilo, alqueniilo o alquinilo puede ser de cadena lineal o ramificada, o tener o incluir uno o más grupos cíclicos.

2. Un compuesto que tiene la estructura (V), (VI) o (2b-i):



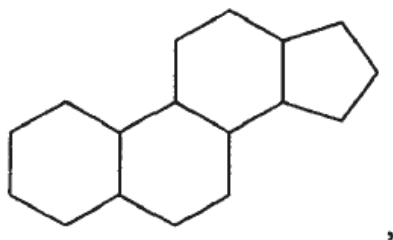
5

en donde

X es O, NH o S;

10

R es un grupo alquilo, alqueniilo, alquinilo, arilo, arilalquilo, arilalqueniilo, arilalquinilo, alquilarilo, alquenilarilo o alquinilarilo, que opcionalmente puede incluir uno o más heteroátomos de N, O o S en su esqueleto de carbono, y que opcionalmente pueden incluir uno o más grupos -CO- en su esqueleto de carbono, siempre y cuando R comprenda un sistema de anillo fusionado, en donde el sistema de anillo fusionado tiene una estructura de esterano como se muestra:



15

que puede comprender uno o más enlaces dobles;

R y/o el sistema de anillo fusionado opcionalmente puede ser sustituido con uno o más de -F, -Cl, -Br, -I, -CF₃, -CCl₃, -CBr₃, -Cl₃, -OH, -SH, -NH₂, -CN, -NO₂, -COOH, -R¹-O-R², -R¹-S-R², -R¹-SO-R², -R¹-SO₂-R², -R¹-SO₂-OR², -R¹-O-SO₂-R², -R¹-SO₂-N(R²)₂, -R¹-NR²-SO₂-R², -R¹O-SO₂-OR², -R¹O-SO₂-N(R²)₂, -R¹-NR²-SO₂-OR², -R¹-NR₂-SO₂-N(R²)₂, -R¹-N(R²)₃, -R¹-N(R²)₃⁺, -R¹-P(R²)₂, -R¹-Si(R²)₃, -R¹-CO-R², -R¹-CO-OR², -R¹O-CO-R², -R¹-CO-N(R²)₂, -R¹-NR²-CO-R², -R¹O-CO-OR², -R¹-CO-N(R²)₂, -R¹-NR²CO-OR², -R¹-NR²-CO-N(R²)₂, -R¹-CS-R², -R¹-CS-OR², -R¹O-CS-R², -R¹-CS-N(R²)₂, -R¹-NR²-CS-R², -R¹O-CS-OR², -R¹O-CS-N(R²)₂, -R¹-NR²-CS-OR², -R¹-NR²-CSN(R²)₂ o -R²;

20

- R¹ - es independientemente un enlace químico, un grupo alqueniilo C₁₋₁₀, alqueniilo C₁₋₁₀ o alquinilo C₁₋₁₀;

- R² es independientemente hidrógeno, alquilo C₁₋₆ no sustituido, alqueno C₁₋₆ no sustituido, alquino C₁₋₆ no sustituido o arilo C₆₋₁₀ no sustituido; y cualquier grupo alquilo, alqueno o alquino puede ser de cadena lineal o ramificada, o tener o incluir uno o más grupos cíclicos.

5

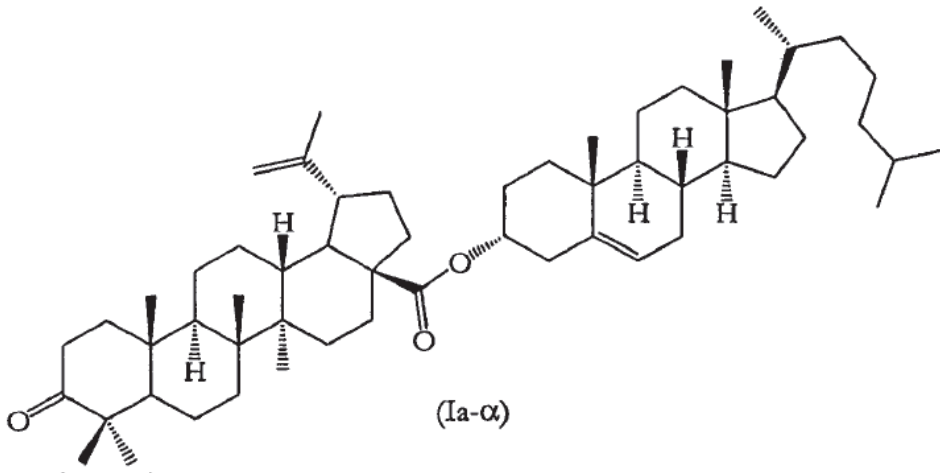
3. Un compuesto como se reivindica en la reivindicación 1 o 2, en donde:

- (a) R es una fracción alcohol esteroide; o
- (b) R es una fracción colesterol; o
- (c) R es una fracción de hormona esteroide; o
- (d) R es una fracción estrógeno, una fracción progestágeno o una fracción andrógeno; o
- (e) R es una fracción estradiol, una fracción progesterona o una fracción testosterona; o
- (f) R es una fracción dehidroepiandrosterona.

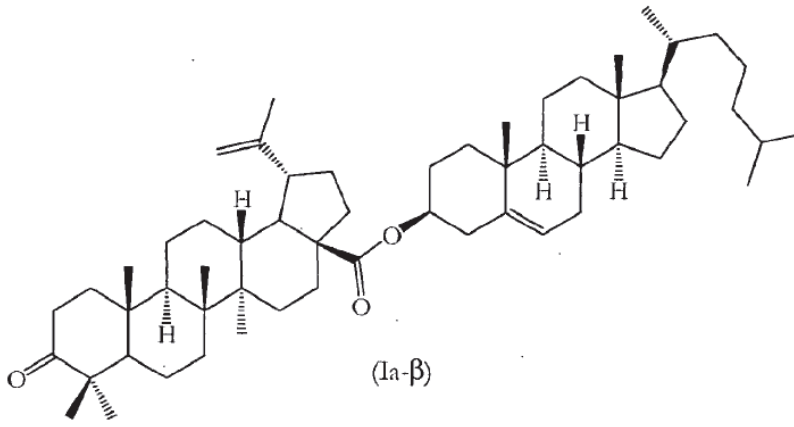
10

4. Un compuesto como se reivindica en la reivindicación 1, en donde el compuesto tiene la estructura (Ia- α), (Ia- β), (IIa- α) o (IIa- β):

15

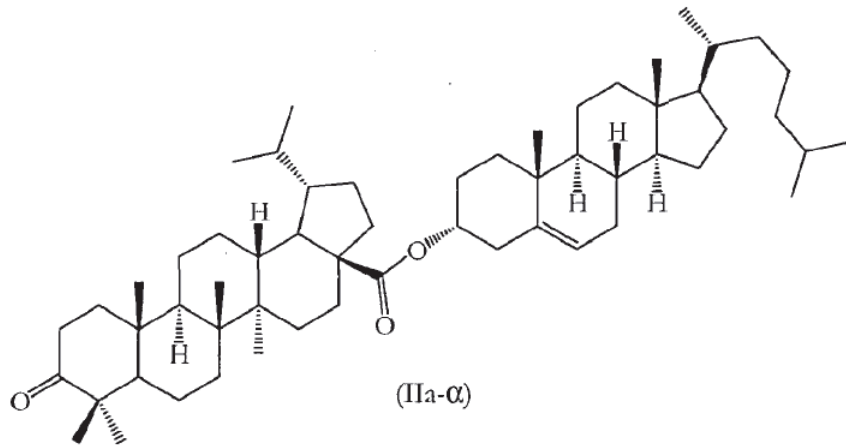


o

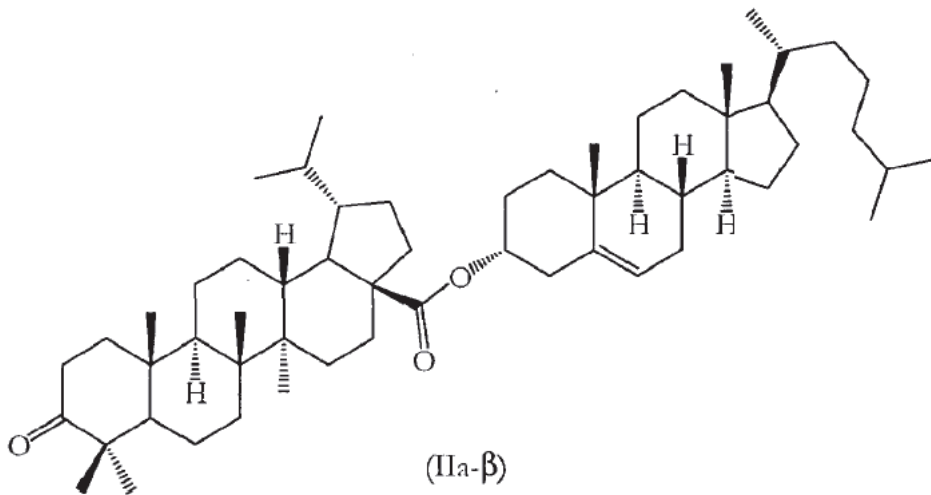


20

o



o



5

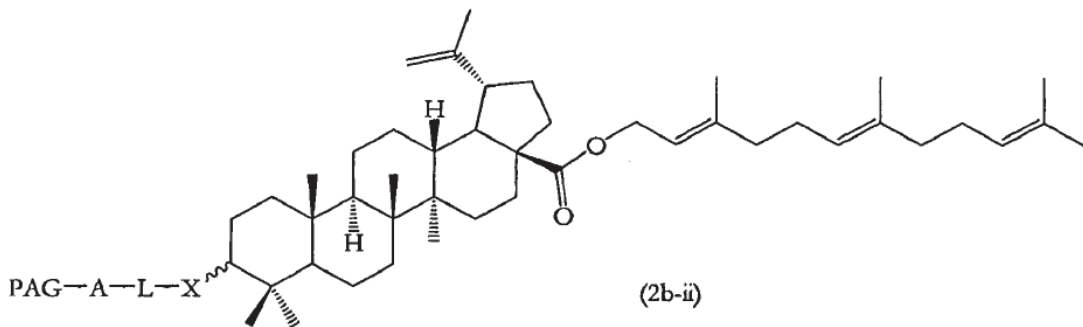
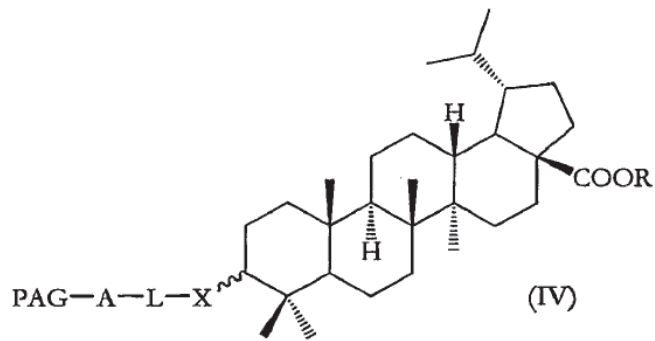
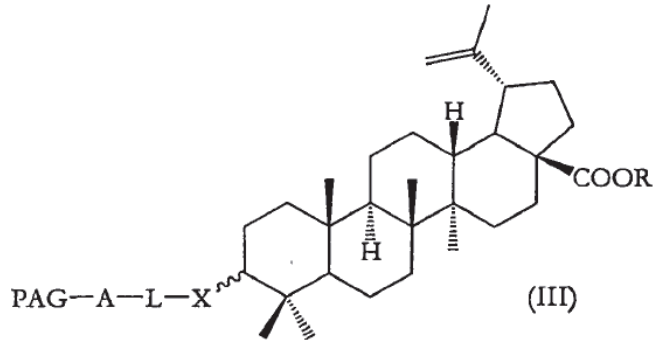
5. Un derivado de un compuesto como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde:

- (a) un derivado del compuesto se une con un poli(alquilenglicol); o
- (b) un derivado del compuesto se une con un poli(alquilenglicol) *a través de* un conector; o
- 10 (c) una función cetona derivada del compuesto se une con un poli(alquilenglicol); o
- (d) una función cetona derivada del compuesto se une con un poli(alquilenglicol), en donde la función cetona derivada es una amina, un alcohol o un tiol; o
- (e) una función cetona derivada del compuesto se une con un poli(alquilenglicol) *a través de* un conector; o
- (f) una función cetona derivada del compuesto se une con un poli(alquilenglicol) *a través de* un conector, en donde la función cetona derivada es una amina, un alcohol o un tiol; o
- 15 (g) una función cetona derivada del compuesto se une con un conector, que a su vez se une a un poli(alquilenglicol); o
- (h) una función cetona derivada del compuesto se une con un conector, que a su vez se une a un poli(alquilenglicol), en donde la función cetona derivada es una amina, un alcohol o un tiol.

20 6. Un compuesto como se reivindica en la reivindicación 5, en donde:

- (a) el conector es una diamina; o
- (b) el conector es la ornitina; o
- (c) el poli(alquilenglicol) es el poli(etilenglicol); o
- (d) el poli(alquilenglicol) es el monometoxi poli(etilenglicol).

7. Un compuesto que tiene la estructura (III), (IV) o (2b-ii):



5

en donde

X es NH, O o S;

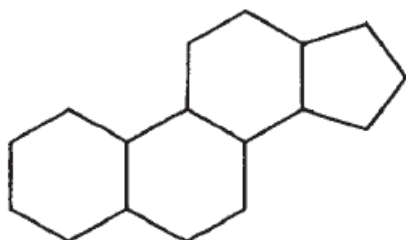
L es un enlace o un conector;

A es un enlace o -O-CO-;

10

PAG es un poli(alquilenglicol);

R es un grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, arilalquilo, arilalquenilo, arilalquinilo, alquilarilo, alquenilarilo o alquinilarilo, que opcionalmente puede incluir uno o más heteroátomos de N, O o S en su esqueleto de carbono, y que opcionalmente puede incluir uno o más grupos -CO- en su esqueleto de carbono, siempre y cuando R comprenda un sistema de anillo fusionado, en donde el sistema de anillo fusionado tiene una estructura de esterano como se muestra:



que puede comprender uno o más enlaces dobles;

R y/o el sistema de anillo fusionado opcionalmente puede ser sustituido con uno o más de -F, -Cl, -Br, -I, -CF₃, -CCl₃, -CBr₃, -Cl₃, -OH, -SH, -NH₂, -CN, -NO₂, -COOH, -R¹-O-R², -R¹-S-R², -R¹-SO-R², -R¹-SO₂-R², -R¹-SO₂-OR², -R¹O-SO₂-R², -R¹-SO₂-N(R²)₂, -R¹-NR²-SO₂-R², -R¹O-SO₂-OR², -R¹O-SO₂-N(R²)₂, -R¹-NR²-SO₂-OR², -R¹-NR²-SO₂-N(R²)₂, -R¹-N(R²)₂, -R¹-N(R²)₃⁺, -R¹-P(R²)₂, -R¹-Si(R²)₃, -R¹-CO-R², -R¹-CO-OR², -R¹O-CO-R², -R¹-CO-N(R²)₂, -R¹-NR²-CO-R², -R¹O-CO-OR², -R¹O-CO-N(R²)₂, -R¹-NR²-CO-OR², -R¹-NR²-CO-N(R²)₂, -R¹-CS-R², -R¹-CSOR², -R¹O-CS-R², -R¹-CS-N(R²)₂, -R¹-NR²-CS-R², -R¹O-CS-OR², -R¹O-CS-N(R²)₂, -R¹-NR²-CS-OR², -R¹-NR²-CS-N(R²)₂ o -R²;

- R¹ - es independientemente un enlace químico, un grupo alquileo C₁₋₁₀, alquenileno C₁₋₁₀ o alquilileno C₁₋₁₀;

- R² es independientemente hidrógeno, alquilo C₁₋₆ no sustituido, alquenilo C₁₋₆ no sustituido, alquililo C₁₋₆ no sustituido o arilo C₆₋₁₀ no sustituido; y

cualquier grupo alquilo, alquenilo o alquililo puede ser de cadena lineal o ramificada, o tener o incluir uno o más grupos cíclicos.

8. Un compuesto como se reivindica en la reivindicación 7, en donde:

(a) R es una fracción alcohol esteroide; o

(b) R es una fracción colesteril; o

(c) R es una fracción de hormona esteroide; o

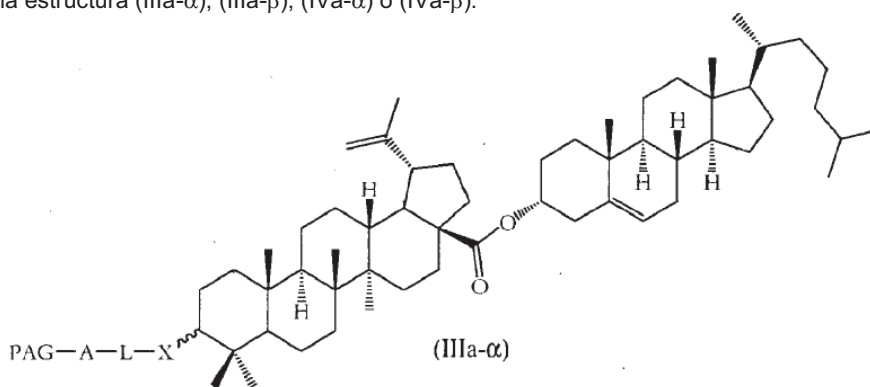
(d) R es una fracción estrógeno, una fracción progestágeno o una fracción andrógeno; o

(e) R es una fracción estradiol, una fracción progesterona o una fracción testosterona; o

(f) R es una fracción dehidroepiandrosterona.

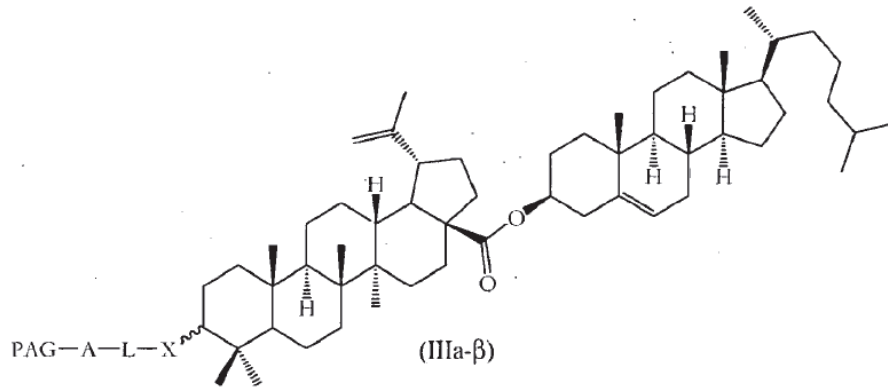
9. Un compuesto como se reivindica en la reivindicación 7, en donde:

(a) el compuesto tiene la estructura (IIIa- α), (IIIa- β), (IVa- α) o (IVa- β):

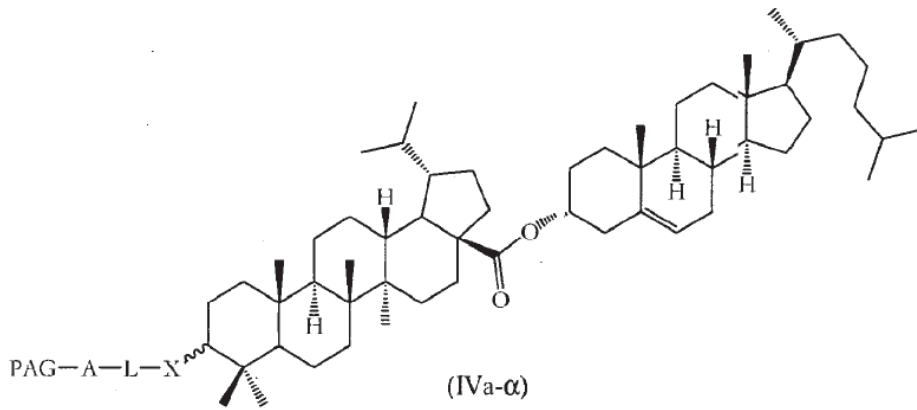


25

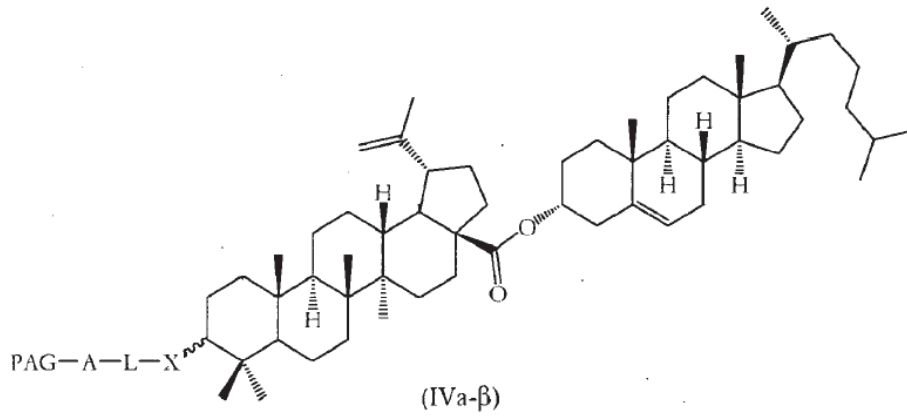
o



o

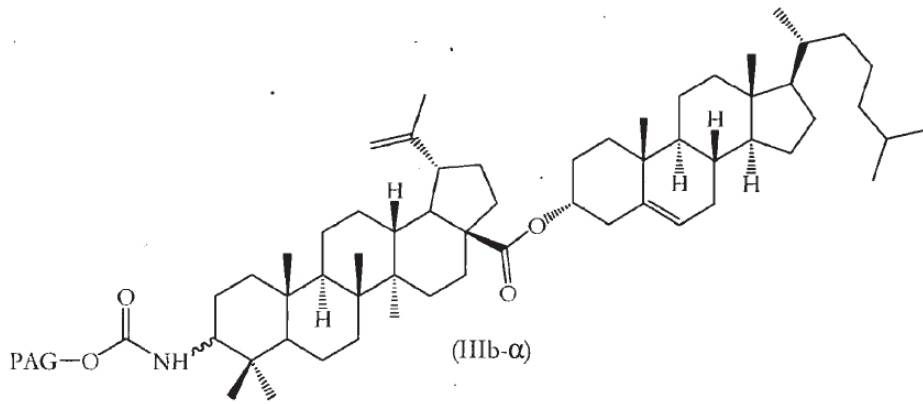


o

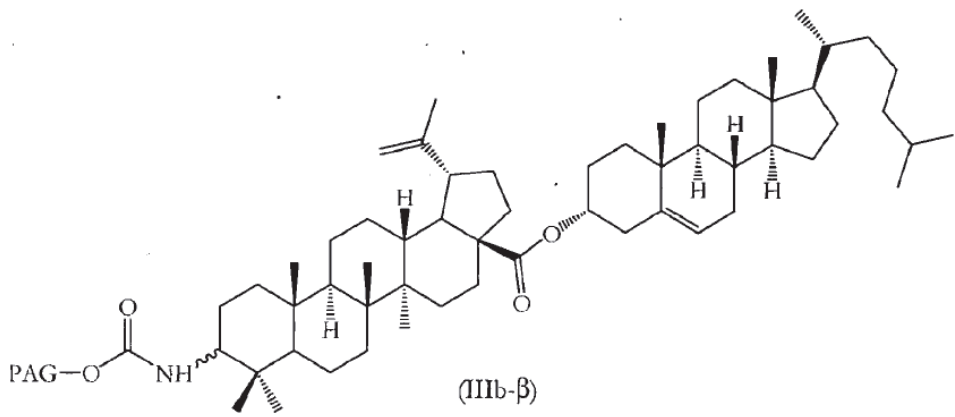


5

(b) el compuesto tiene la estructura (IIIb-α), (IIIb-β), (IVb-α) o (IVb-β):

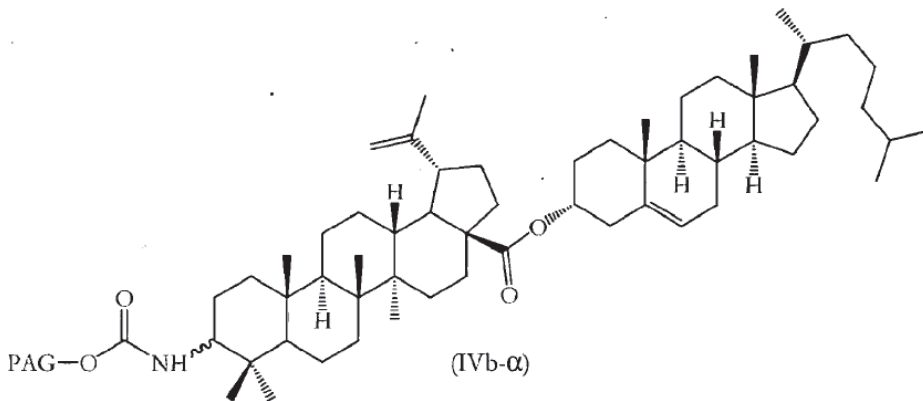


o



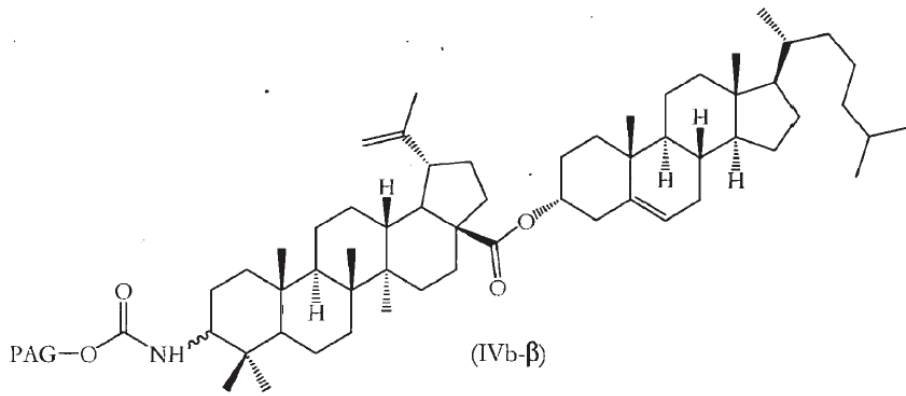
5

o



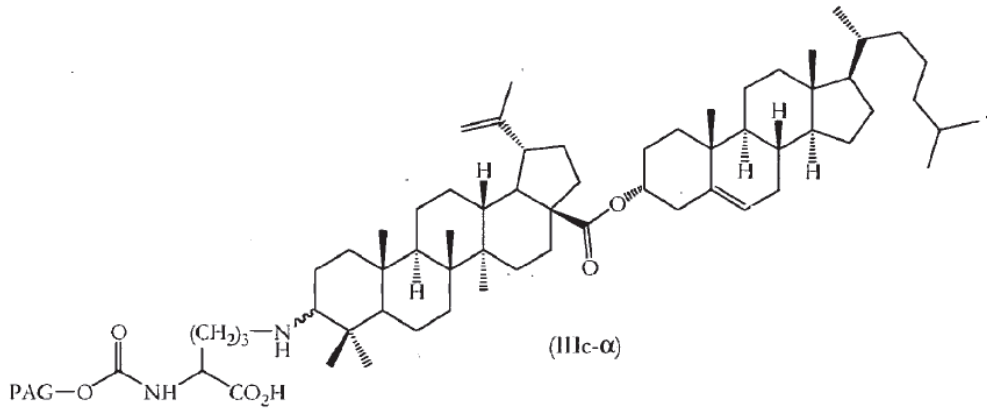
10

o



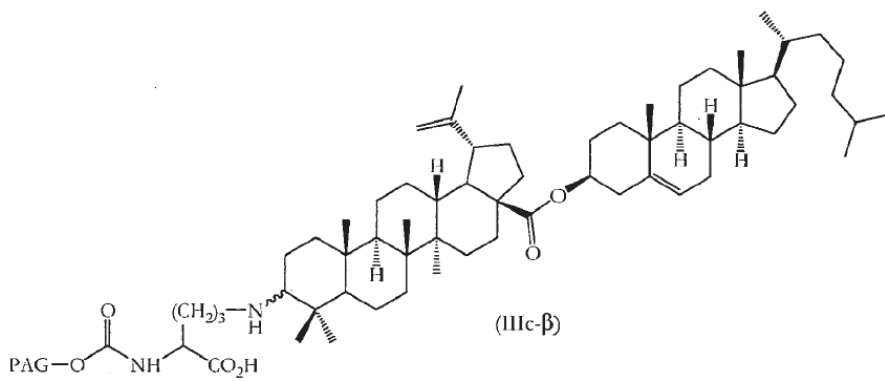
o

(c) el compuesto tiene la estructura (IIIc-α), (IIIc-β), (IVc-α) o (IVc-β):

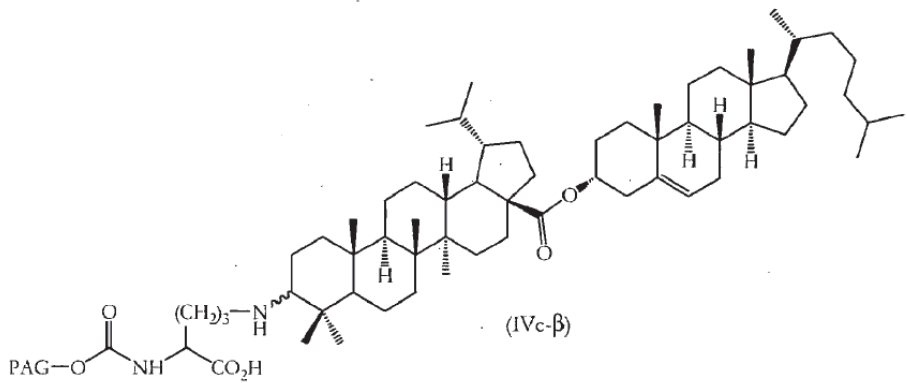
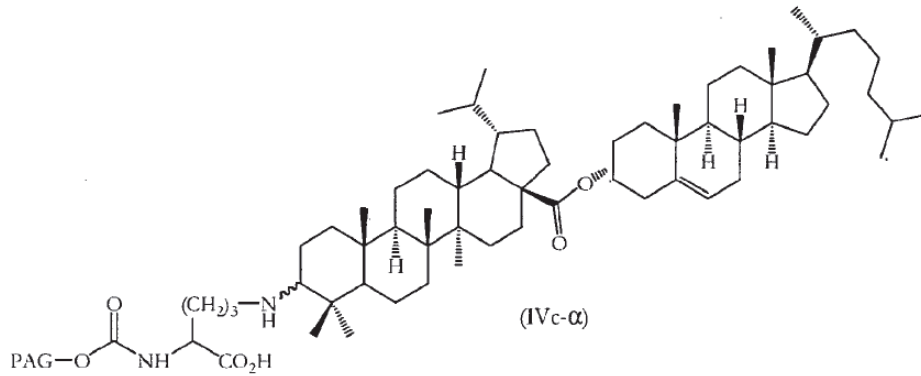


5

o

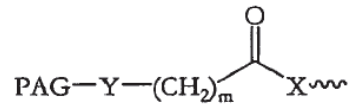


10 o



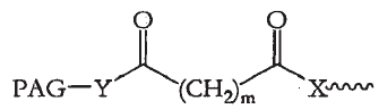
- 5
- 10
10. Un compuesto como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9, en donde:
- (a) L es un enlace; o
 - (b) L un conector; o
 - (c) L un conector, en donde el conector se deriva de una diamina; o
 - (d) L un conector, en donde el conector se deriva de un aminoácido; o
 - (e) L un conector, en donde el conector se deriva de lisina, glicina u ornitina; o
 - (f) L un conector, en donde el conector es o forma parte de un péptido, un éster o un carbonato.

- 15
11. Un compuesto como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 7 a 10, en donde:
- (a) la fracción PAG-A-L-X- es:



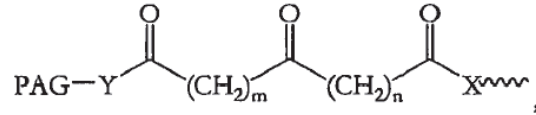
en donde Y = enlace, O o NH, y m = 0 a 30, en donde PAG y X son como se definen anteriormente; o

- 20
- (b) la fracción PAG-A-L-X- es:



en donde Y = enlace, O o NH, y m = 0 a 30, en donde PAG y X son como se definen anteriormente; o

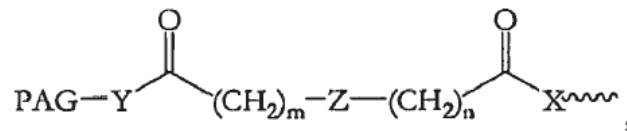
(c) la fracción PAG-A-L-X- es:



en donde Y = enlace, O o NH, m = 0 a 30, y n = 0 a 30, en donde PAG y X son como se definen anteriormente; o

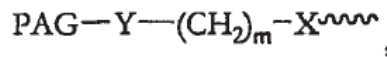
5

(d) la fracción PAG-A-L-X- es:



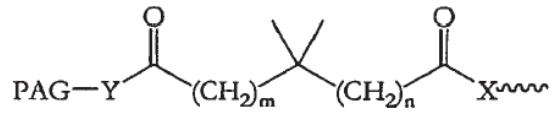
10 en donde Y = enlace, O o NH, Z = O o NH, m = 0 a 30, y n = 0 a 30, en donde PAG y X son como se definen anteriormente; o

(e) la fracción PAG-A-L-X- es:



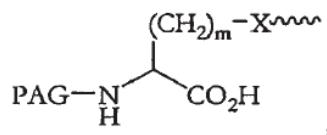
15 en donde Y = enlace, O o NH, y m = 0 a 30, en donde PAG y X son como se definen anteriormente; o

(f) la fracción PAG-A-L-X- es:



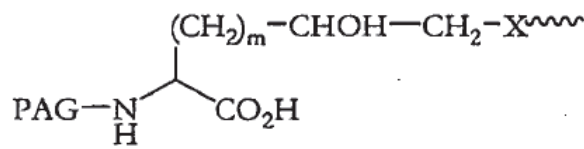
20 en donde Y = enlace, O o NH, m = 0 a 30, y n = 0 a 30, en donde PAG y X son como se definen anteriormente; o

(g) la fracción PAG-A-L-X- es:



25 en donde m = 1 a 6, en donde PAG y X son como se definen anteriormente; o

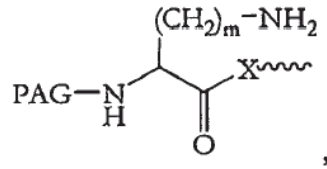
(h) la fracción PAG-A-L-X- es:



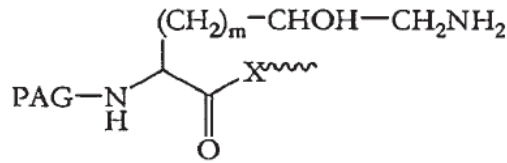
30 en donde m = 1 a 4, en donde PAG y X son como se definen anteriormente; o

en donde m = 1 a 6, en donde PAG y X son como se definen anteriormente; o

(i) la fracción PAG-A-L-X- es:



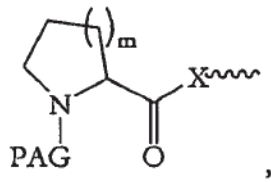
(j) la fracción PAG-A-L-Y- es:



5

en donde $m = 1$ a 4 , en donde PAG y X son como se definen anteriormente; o

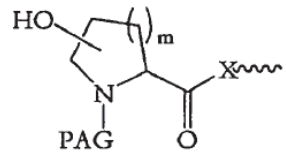
(k) la fracción PAG-A-L-X- es:



10

en donde $m = 1$ o 2 , en donde PAG y X son como se definen anteriormente; o

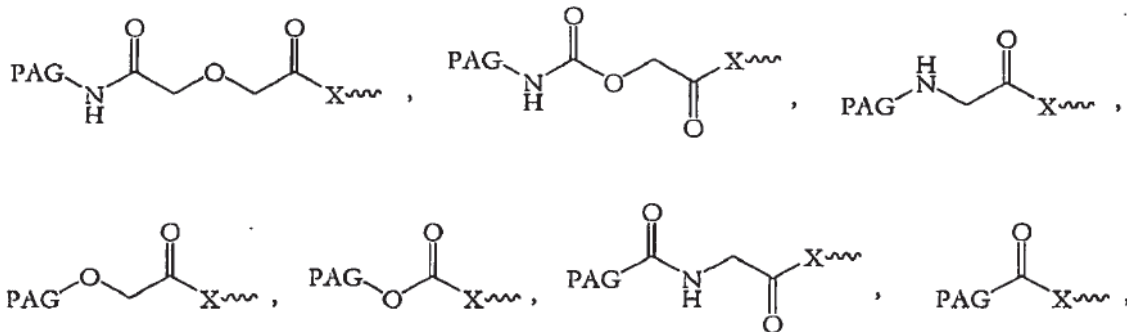
(l) la fracción PAG-A-L-X- es:

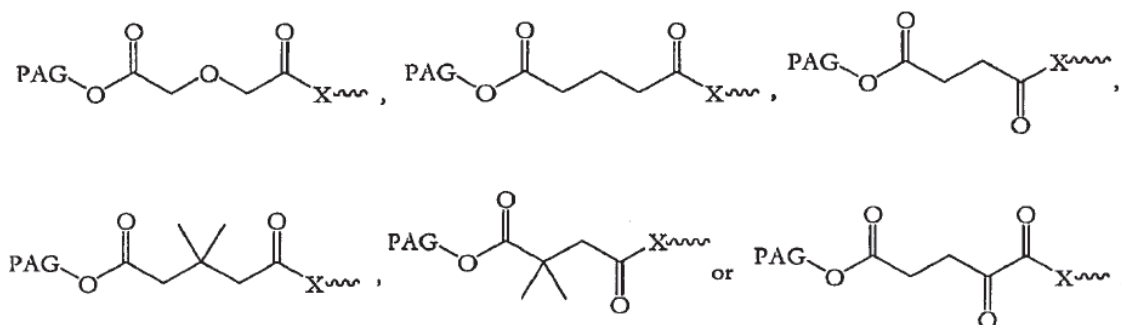


15

en donde $m = 1$ o 2 , en donde PAG y X son como se definen anteriormente; o

(m) la fracción PAG-A-L-X- es:





en donde PAG y X son como se definen anteriormente.

- 5 **12.** Un compuesto como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 7 a 11, en donde:
 (a) el poli(alquilenglicol) es el poli(etilenglicol); o
 (b) el poli(alquilenglicol) es monometoxi poli(etilenglicol).
- 10 **13.** Un compuesto como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, para utilizar:
 (a) en medicina; o
 (b) como un agente anticáncer; o
 (c) como un agente anticáncer para el tratamiento de cáncer de cerebro, cáncer de colon, cáncer de hígado, cáncer de ovario, cáncer de mama, cáncer de piel, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, neuroblastoma, fibrosarcoma o leucemia; o
 (d) como un agente antiviral; o
 15 (e) como un agente antiviral para el tratamiento de VIH-1, VIH-2, VSH-1, VSH-2 o infección por influenza.
- 14.** Una composición farmacéutica que comprende un compuesto como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones precedentes y un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable, que opcionalmente además comprende PEG-albúmina o un liposoma.
- 20 **15.** Uso de un compuesto como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de:
 (a) cáncer; o
 (b) cáncer del cerebro, cáncer de colon, cáncer de hígado, cáncer de ovario, cáncer de mama, cáncer de piel, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, neuroblastoma, fibrosarcoma o leucemia; o
 25 (c) una infección viral; o
 (d) VIH-1, VIH-2, VSH-1, VSH-2 o infección por influenza.
- 16.** Un proceso para la preparación de un compuesto como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, que comprende la etapa de esterificación del ácido carboxílico C-28 del ácido betulónico o de un derivado del ácido betulónico PAG-sustituido, opcionalmente en donde:
 (a) la esterificación se lleva a cabo utilizando trifenilfosfina y azodicarboxilato de dietilo (DEAD); o
 (b) la esterificación se lleva a cabo utilizando una base; o
 (c) la esterificación se lleva a cabo utilizando la base DBU; o
 30 (d) el ácido betulónico se obtiene mediante la oxidación de la betulina; o
 (e) el ácido betulónico se obtiene mediante la oxidación de la betulina utilizando el trióxido de cromo y el ácido sulfúrico.
- 17.** Uso de un compuesto como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para la preparación de un derivado, en donde:
 35 (a) la función cetona del compuesto como se reivindica en la reivindicación 1, o como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 3 a 6 cuando depende de la reivindicación 1, se reduce a una función alcohol; o
 (b) la función cetona del compuesto como se reivindica en la reivindicación 1, o como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 3 a 6 cuando depende de la reivindicación 1, se reduce a una función alcohol utilizando NaBH_4 o $\text{M}^+ \text{BHR}_3^-$, en donde M^+ es Na^+ , Li^+ o K^+ , y R es independientemente un grupo alquilo C_{1-4} ; o
 40 (c) la función cetona del compuesto como se reivindica en la reivindicación 1, o como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 3 a 6 cuando depende de la reivindicación 1, se reduce a una función alcohol utilizando NaBH_4 o $\text{M}^+ \text{BHR}_3^-$, en donde M^+ es Na^+ , Li^+ o K^+ , y R es s-butilo.
- 45

18. Un proceso para la preparación de un compuesto como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 7 a 13, que comprende la etapa de reducción de la función cetona de un compuesto como se reivindica en la reivindicación 1, o como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 3 a 6 cuando depende de la reivindicación 1, a una función alcohol, opcionalmente en donde la reducción se lleva a cabo utilizando:

- 5 (a) NaBH_4 o $\text{M}^+ \text{BHR}_3^-$, en donde M^+ es Na^+ , Li^+ o K^+ , y R es independientemente un grupo alquilo C_{1-4} ; o
(b) NaBH_4 o $\text{M}^+ \text{BHR}_3^-$, en donde M^+ es Na^+ , Li^+ o K^+ , y R es s-butilo.

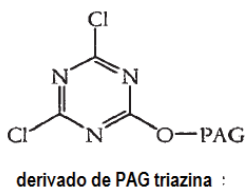
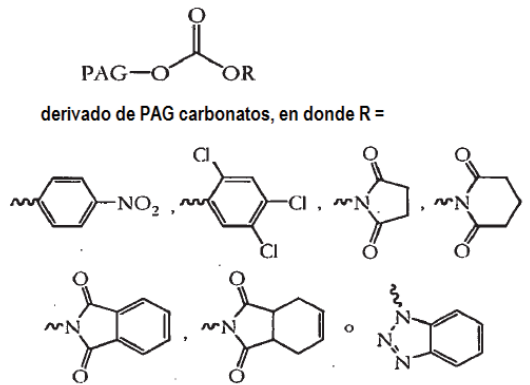
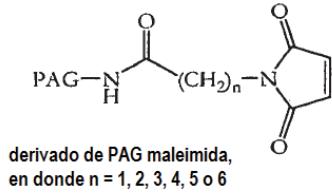
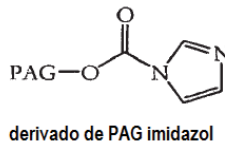
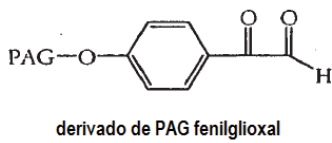
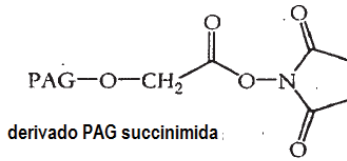
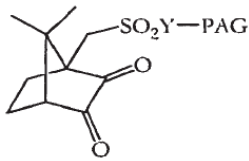
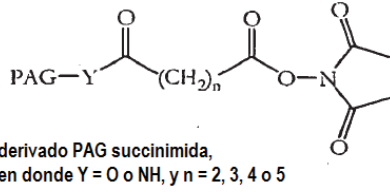
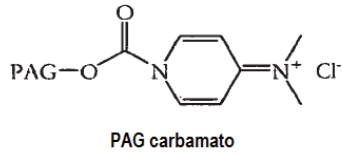
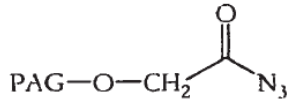
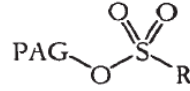


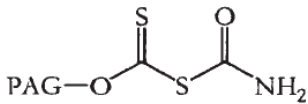
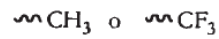
Figura 1



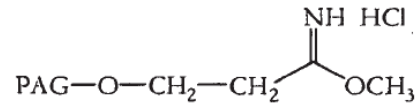
derivado PAG azida



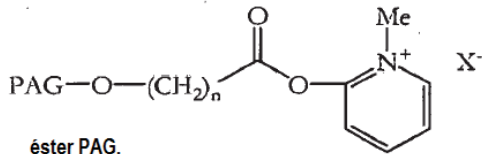
sulfonatos PAG, en donde R =



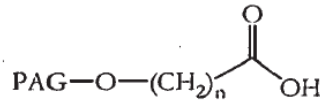
derivado PAG xantato



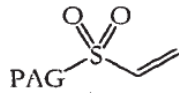
imidoéster PAG



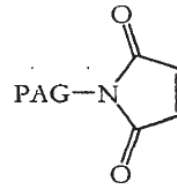
éster PAG,
en donde X = Cl o I
y n = 1, 2, 3, 4, 5 o 6



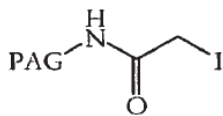
ácido carboxílico PAG,
en donde n = 1, 2, 3, 4, 5 o 6



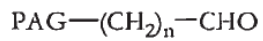
derivado vinilsulfona PAG



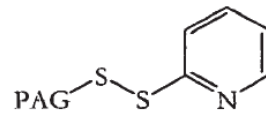
derivado maleimida PAG



derivado yodoacetamida PAG



derivado aldehído PAG,
en donde n = 1, 2, 3, 4, 5 o 6



derivado ortopiridil disulfuro PAG

Figura 1 (cont)

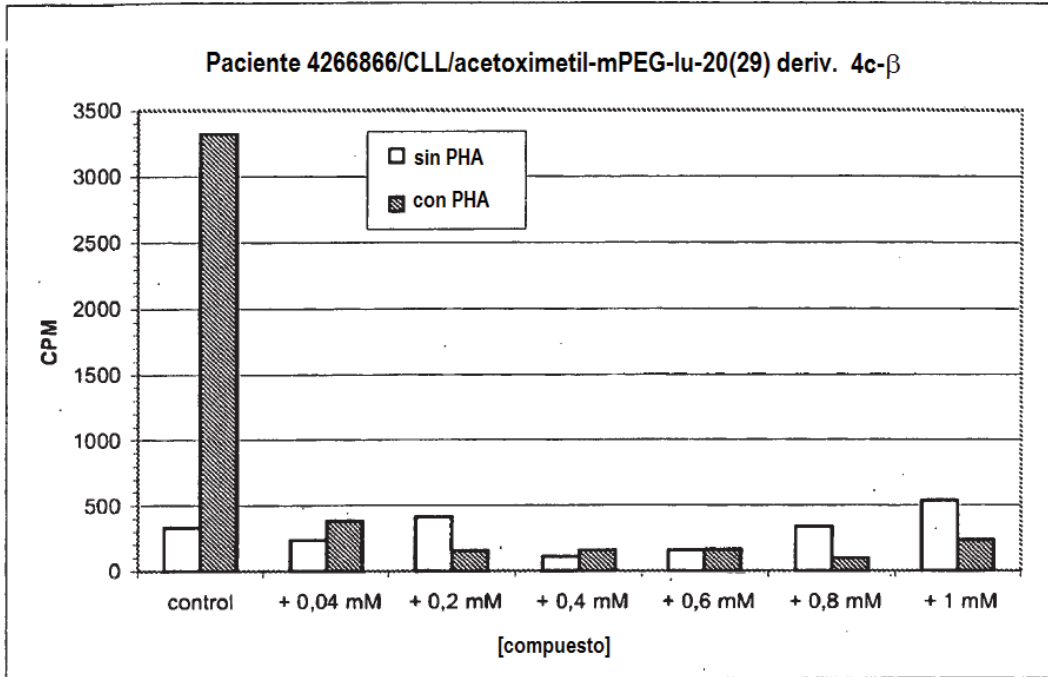


Figura 2a

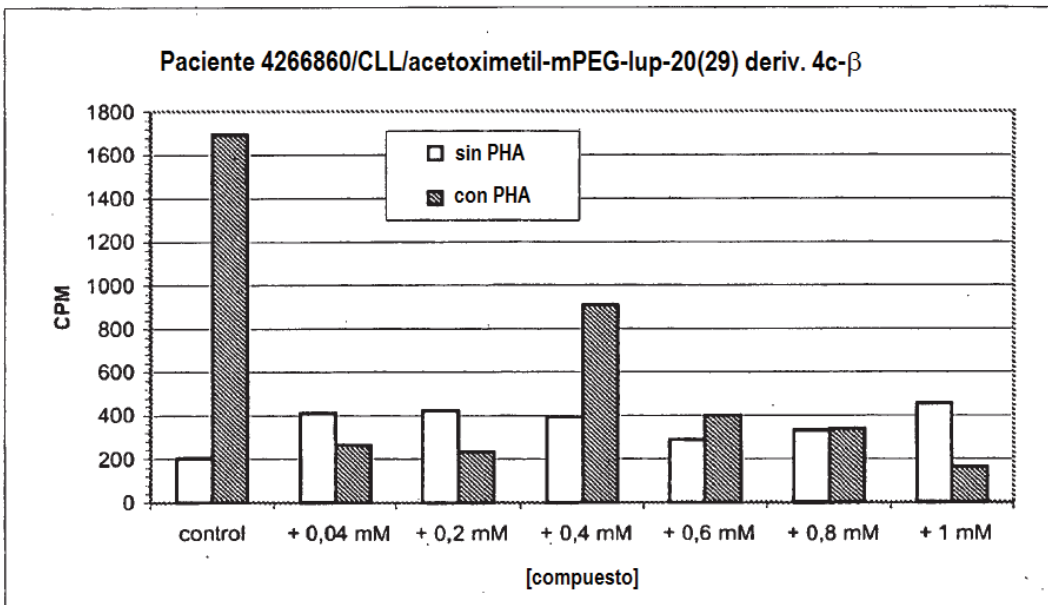


Figura 2b

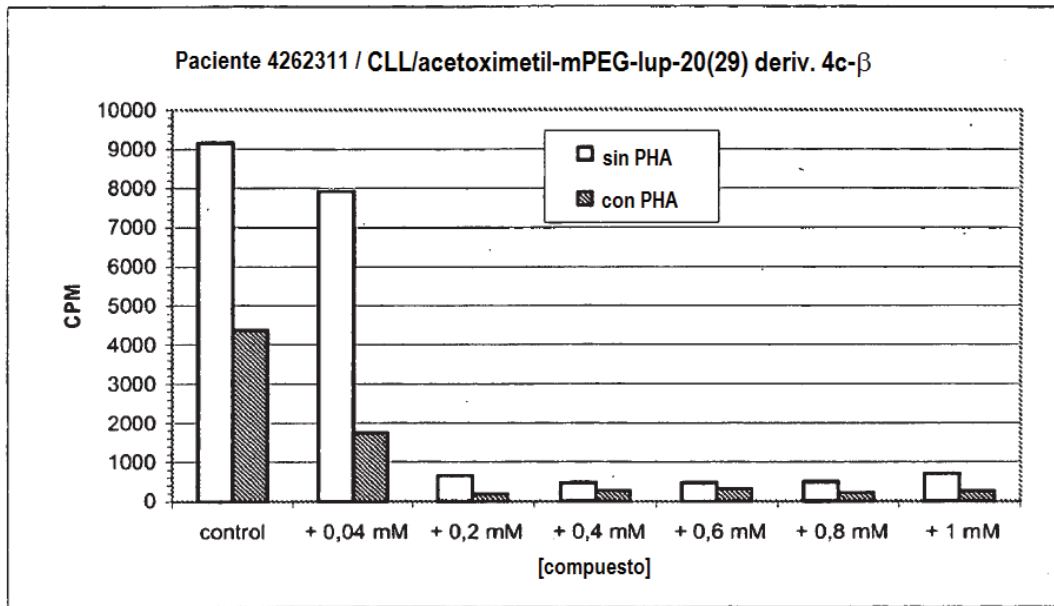


Figura 2c

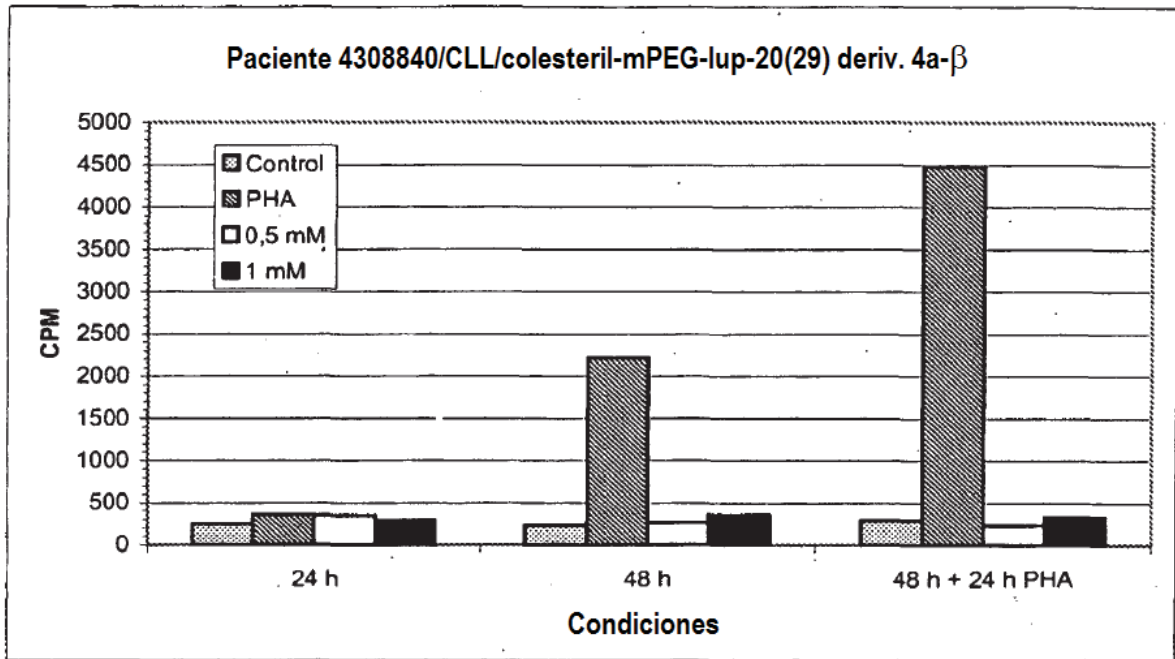


Figura 3

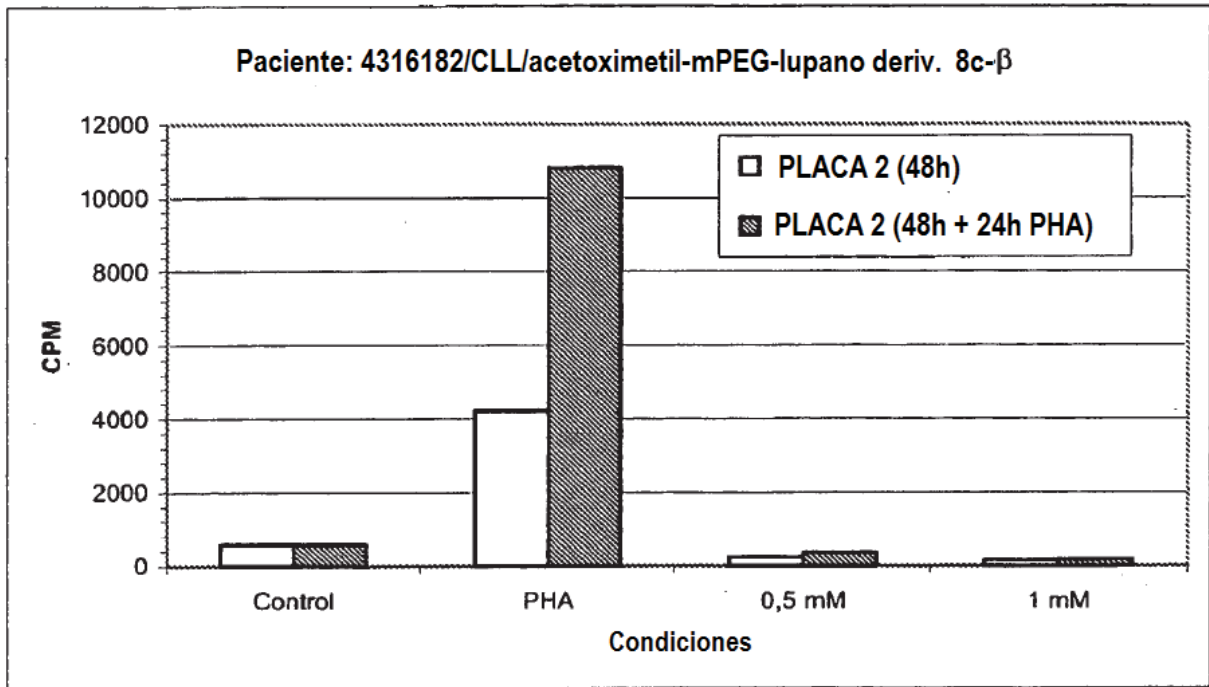


Figura 4

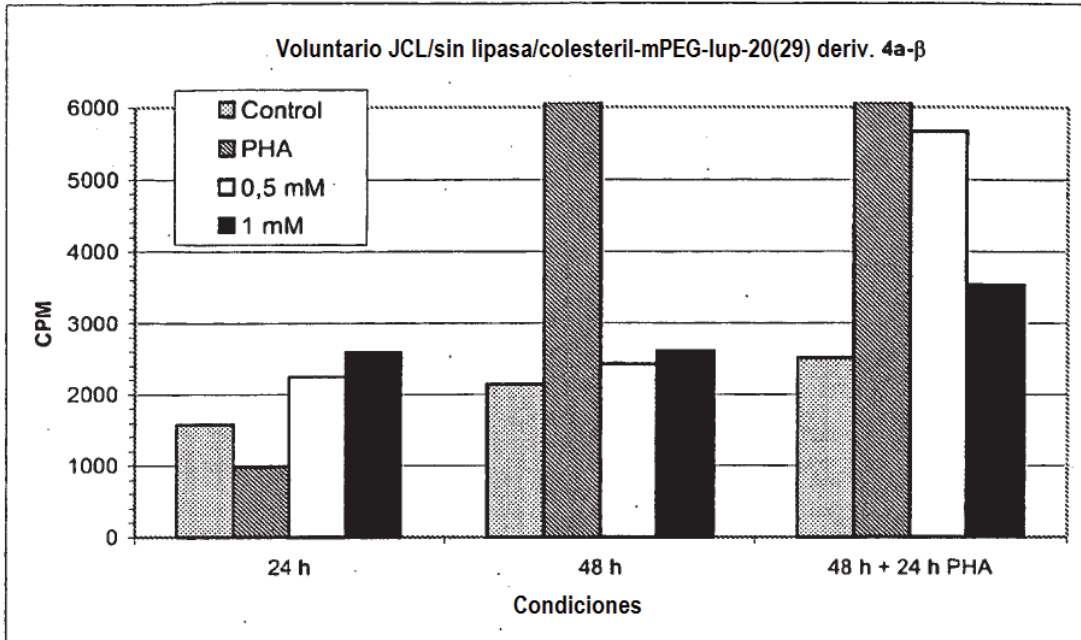


Figura 5a

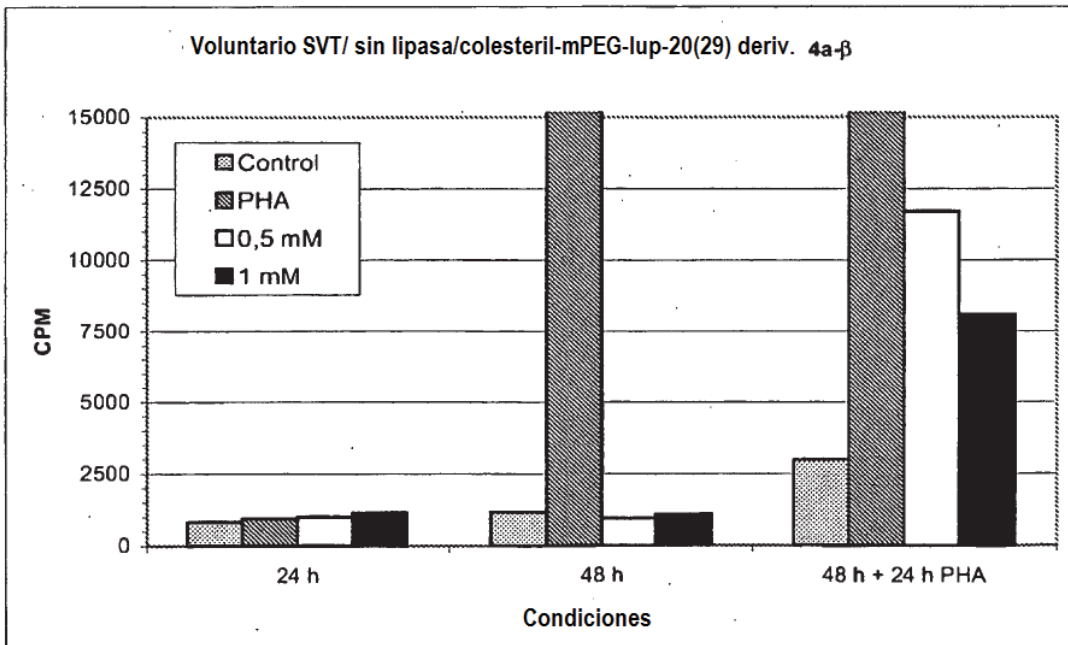


Figura 5b

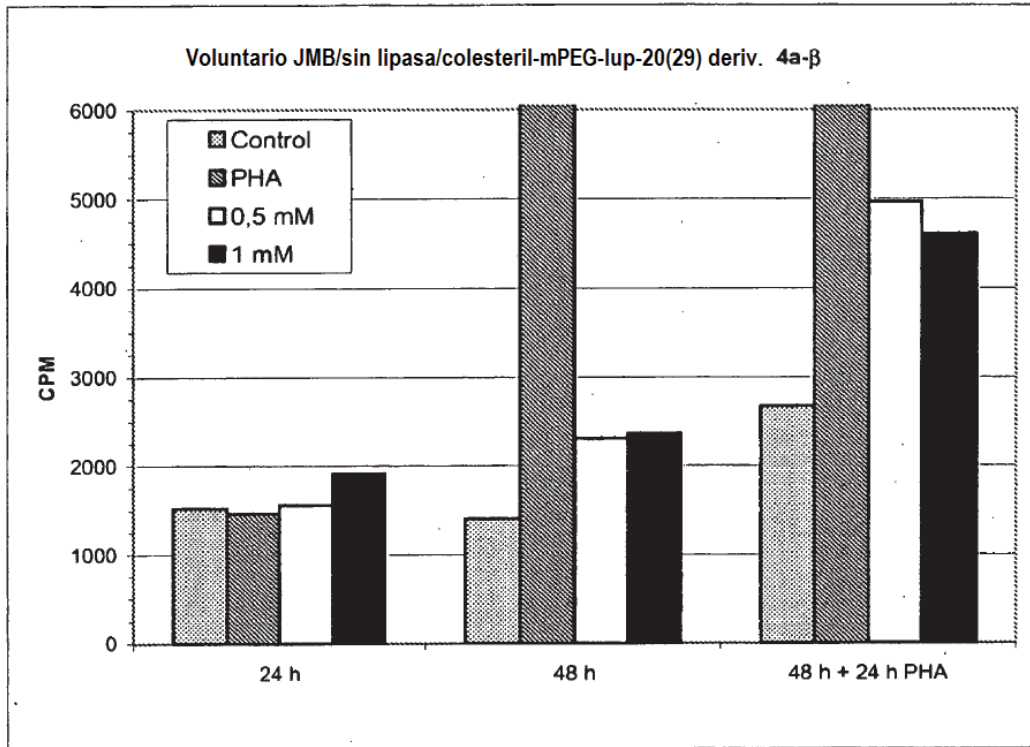


Figura 5c

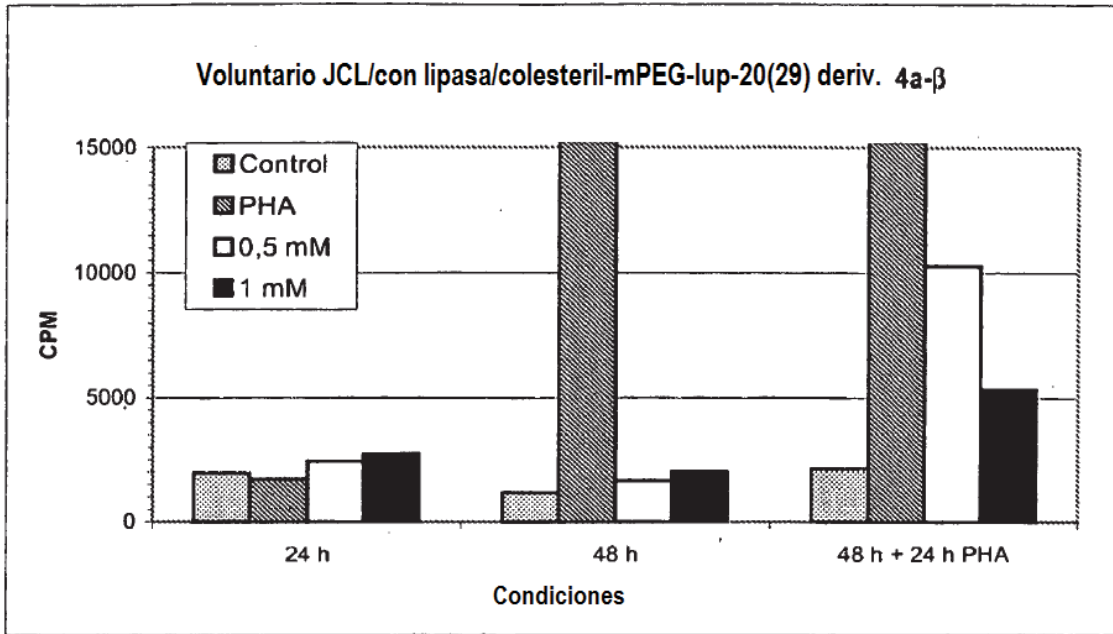


Figura 6a

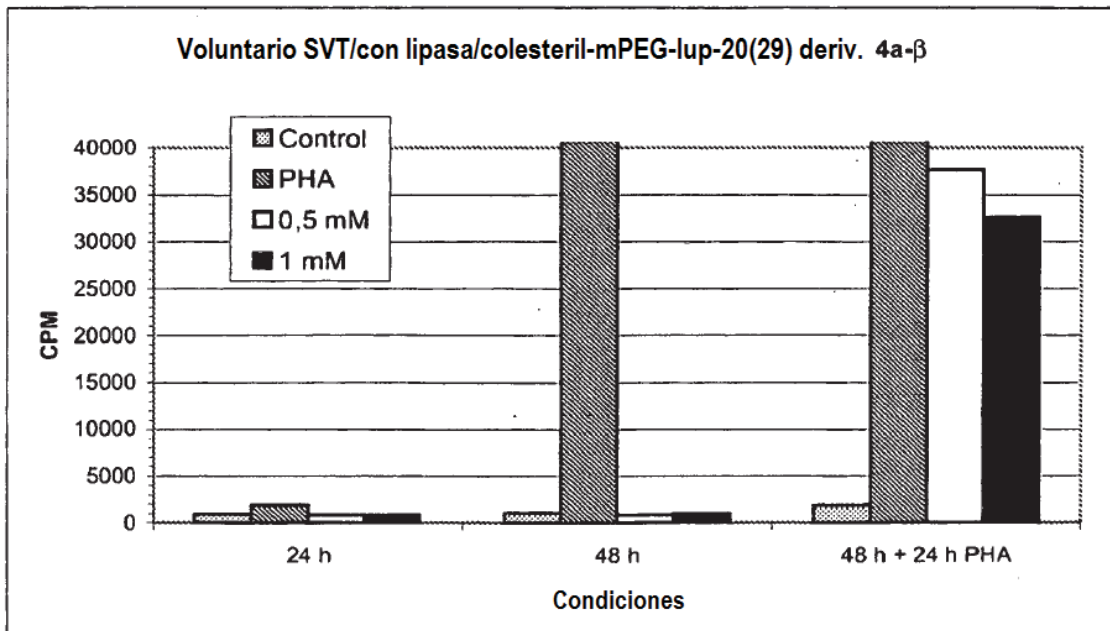


Figura 6b

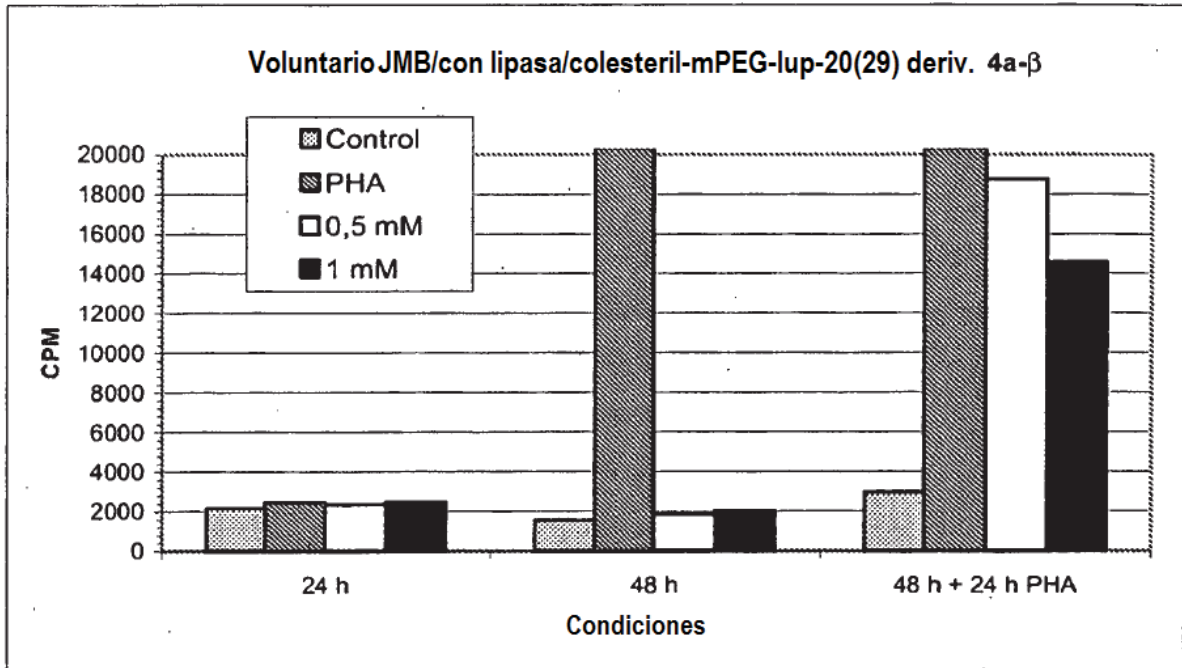


Figura 6c