

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 625 476**

51 Int. Cl.:

C07F 9/6584 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 37/06 (2006.01)

A61K 31/675 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.12.2011 PCT/FR2011/052914**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.06.2012 WO12076824**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.12.2011 E 11811061 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.02.2017 EP 2649084**

54 Título: **Nuevos derivados de oxazafosforinas preactivadas, utilización y método de preparación**

30 Prioridad:

10.12.2010 FR 1060350

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

19.07.2017

73 Titular/es:

**INSTITUT GUSTAVE ROUSSY (100.0%)
39, rue Camille Desmoulins
94805 Villejuif Cédex, FR**

72 Inventor/es:

**PACI, ANGELO;
MARTENS, THIERRY;
RIVARD, MICHAËL;
COUVREUR, PATRICK;
DESMAËL, DIDIER y
CARON, JOACHIM**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 625 476 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

Nuevos derivados de oxazafosforinas preactivadas, utilización y método de preparación

La presente invención se refiere al campo de la medicina, en particular de la oncología. Se refiere a nuevos derivados de medicamentos de oxazafosforinas preactivadas.

5 Los medicamentos de la clase de las oxazafosforinas son agentes anticancerígeno o inmunosupresores (CPM) alquilantes utilizados en el tratamiento del cáncer (por ejemplo, los linfomas y leucemias, los sarcomas, el cáncer sólido, principalmente del pulmón, de mama, de próstata o de ovarios). La ifosfamida (IFM) y la ciclofosfamida (CPM) son profármacos cuya actividad citotóxica está asociada a una activación metabólica citocromo P450-dependiente que introduce un grupo hidroxilo en posición 4. La toxicidad de las oxazafosforinas (ifosfamida y ciclofosfamida) es de orden urológico y corresponde a una acumulación de acroleína, metabolito generado después de la liberación de la mostaza alquilante. Por otra parte, también existe una toxicidad de orden neurológico y nefrológico que resulta de la presencia del cloroacetaldehído, un metabolito resultante de la oxidación de las cadenas laterales de la molécula por medio de la acción de los citocromos P450. La toxicidad debida a la acroleína se puede reducir por una co-administración de mercaptoetanosulfonato de sodio.

15 Se ha descrito (Paci *et al.* 2001, *Bioorg Med Chem Lett*, 11, 1347-1349) una vía de síntesis por electroquímica de derivados metoxi en posición 4. Estos derivados se consideran como análogos preactivados ya que exhiben una actividad citotóxica comparable a la del metabolito oxidado y mucho más elevada que los productos iniciales no oxidados. En efecto, permiten la liberación de las mostazas alquilantes sin intervención de los citocromos P450.

20 Por otra parte, se han desarrollado otros derivados de oxazafosforinas con el objetivo de reducir su toxicidad. Principalmente, se suprime o se limita la oxidación toxicógena de las cadenas laterales metiladas de estos derivados, a la vez que se conserva su poder alquilante. Para revisión, se puede consultar Giraud *et al.* (2010, *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 6, 919-938). A modo ilustrativo, también se pueden citar dos derivados de la ciclofosfamida, es decir la glufosfamida, y la mafosfamida, así como la C7,C9-dimetil-ifosfamida.

25 La solicitud de patente GB2095256 describe ácidos oxazafosforin-4-tio-alcanosulfónicos, en particular derivados de la ciclofosfamida. Hirano *et al.* (*Tetrahedron Letters*, 10, 883-886) describe también derivados de la ciclofosfamida sustituidos en posición 4 obtenidos por reacción de la 4-hidroperoxiciclofosfamida con un mercaptoalcano.

Los documentos GB2095256 e Hirano *et al.* no describen ningún derivado de la ifosfamida sustituida en posición 4.

30 Los documentos Zon *et al.* (*J. Med. Chem.* 1984, 27 (4), 466-485) y Quiu *et al.* (*J. Pharma. Exp. Therap.*, 2004, 308 (3), 1204-12) se refieren a las vías de metabolización y los metabolitos de la ciclofosfamida. Reddy *et al.* (*Current Pharm. Design*, 2008, 14(11), 1124-37) es un artículo de revisión que se refiere a la vectorización de la gemcitabina. Reddy *et al.* describen principalmente conjugados de la gemcitabina.

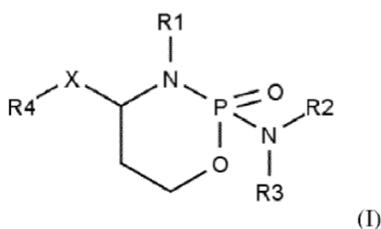
Resultarían muy útiles derivados de oxazafosforinas, y en particular derivados de la ifosfamida, que presentan una actividad citotóxica más poderosa o que presenten una acción más orientada, lo que permitiría de esta forma reducir la dosis necesaria y también reducir los efectos secundarios tóxicos.

35 Los inventores han puesto a punto un método que permite preparar derivados de oxazafosforinas pre-activadas y que presentan un radical de vectorización o de formulación en posición 4.

Un radical de vectorización podría permitir orientar el tejido diana del medicamento (los tejidos cancerosos o células cancerosas) y en consecuencia reducir las dosis que se van a administrar conservando una buena eficacia terapéutica.

40 Un radical de formulación podría permitir proteger la entidad activa de una degradación antes de que alcance al tejido diana y/o modular su actividad mediante la modulación de la velocidad de liberación de la mostaza alquilante, principalmente estabilizando la molécula. En efecto, las oxazafosforinas son medicamentos que se degradan rápidamente. En resumen, este radical permite modificar las propiedades físico-químicas, farmacocinéticas o farmacodinámicas de las oxazafosforinas.

45 La invención se refiere a un compuesto de fórmula (I) tal como se define en la reivindicación 1, es decir:



en la que:

- X es O o S;

- R2 es H;

- R1 y R3 son independientemente $-(CH_2)_2-Cl$ o $-CH(CH_3)-CH_2-Cl$; y

5 - R4 es de fórmula $R_5(Y)_a$ en la que:

- Y representa un espaciador, preferentemente elegido entre el grupo formado por $-(CH_2)_m-$, $CONH(CH_2)_m-$, $NHCO(CH_2)_m-$, $-COO(CH_2)_m$ y $-OCO(CH_2)_m-$ siendo m un número entero que va de 1 a 10;

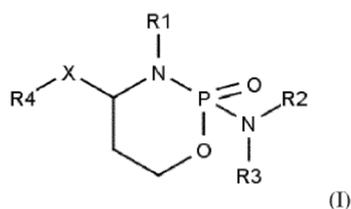
- a es 1; y

- R_5 es un grupo hidrocarbonado de 3 a 30 átomos de carbono, lineal o ramificado,

10 o una sal farmacéuticamente aceptable de éste.

La invención también tiene como objetivo un método de preparación de un compuesto de fórmula (I) tal como se ha definido en la reivindicación 16.

Se ha descrito un método de preparación de un derivado de oxazafosforinas preactivadas de fórmula (I),



15 en la que

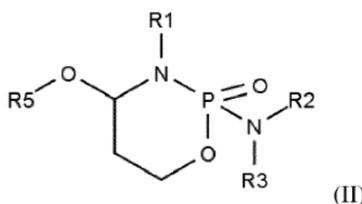
X es O o S;

R1 y R2 son, independientemente, H, $-CH(CH_3)-CH_2-Cl$ o $-(CH_2)_2-Cl$, con la condición de que al menos uno de los dos sea $-CH(CH_3)-CH_2-Cl$ o $-(CH_2)_2-Cl$;

R3 es $-CH(CH_3)-CH_2-Cl$ o $-(CH_2)_2-Cl$; y

20 R4 es un radical de formulación o de vectorización que comprende al menos tres átomos de carbono; comprendiendo

- el suministro de un compuesto de fórmula (II)



en la que R1, R2 y R3 son tal como se han definido en la fórmula (I), y R5 es un metilo o un etilo; y

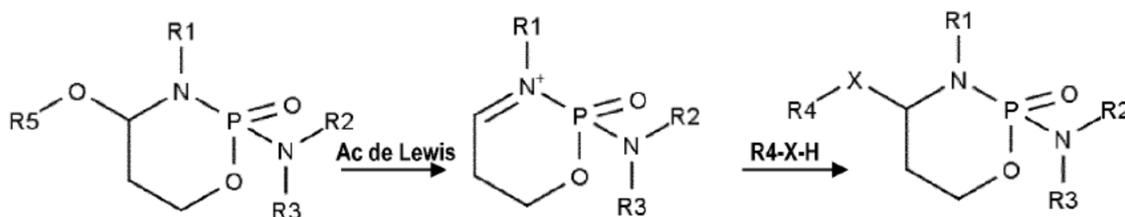
25 - la reacción del compuesto de fórmula (II) con un alcohol o un tiol de fórmula (III) R_4XH , en la que X y R4 son tal como se han definido en la fórmula (I), en presencia de un ácido de Lewis.

30 Por "radical de formulación" se entiende un radical que permite estabilizar la oxazafosforina y principalmente reducir la velocidad de liberación de la mostaza alquilante. Principalmente, la vida media de la oxazafosforina preactivada se puede aumentar por incremento del número de carbono del radical de formulación. Además, este radical puede permitir o mejorar la estabilidad de la oxazafosforina para una administración parenteral y principalmente intravenosa. En un modo de realización muy particularmente preferido, este radical permite la formación de nanopartículas, de micelas o de liposomas.

35 Por "radical de vectorización" se entiende un radical que permite dirigirlo al tumor, es decir un direccionamiento más específico de la oxazafosforina hacia los tumores o las células cancerosas para aumentar la especificidad de acción y reducir los efectos secundarios.

Opcionalmente, el radical comprende al menos 4, 5, 6, 7 u 8 átomos de carbono.

La reacción química se puede describir con más detalle en el siguiente esquema.



5 Así, se puede descomponer en una etapa de formación del iminio y luego una etapa de reacción con el nucleófilo R4-XH (también llamada amidoalquilación). El ácido de Lewis también puede ser TMSOTf, AlCl₃ y BF₃·OEt₂. Según la invención, el ácido de Lewis es BF₃·OEt₂. Preferentemente, el ácido de Lewis BF₃ se utiliza con O(CH₂-CH₃)₂. La razón entre el número de moles del ácido de Lewis y el número de moles del compuesto (II) generalmente es inferior a 1,5. Una razón molar inferior a 1,5 engloba una razón molar inferior a 1,5; 1,4; 1,3; 1,2; 1,1; 1,0; 0,9; 0,8; 0,7; 0,6 y 0,5. En particular, la razón entre el número de moles del ácido de Lewis y el número de moles del compuesto (II) puede estar comprendida en un rango que va de 0,01 a 0,7, preferentemente de 0,05 a 0,5. Como ejemplo, la reacción se puede llevar a cabo en presencia de 0,05 eq a 0,5 eq de BF₃·OEt₂ cuando R4-XH es el pentan-1-ol o en presencia de aproximadamente 1,1 eq cuando R4-XH es el escualenol.

Aunque R5 pueda ser un radical metilo o etilo, se prefiere el radical metilo.

15 El disolvente debe ser apropiado para disolver los compuestos de fórmula (II) y (III). Por ejemplo, en función de los reactivos utilizados, el disolvente puede ser THF (tetrahidrofurano) o CH₂Cl₂ (diclorometano). Es evidente que se evitará la utilización de un disolvente nucleófilo tal como un alcohol que pueda entrar en competición con el compuesto de fórmula (III) (es decir R4-XH). En un modo de realización preferido, el disolvente es diclorometano (CH₂Cl₂).

20 La reacción se puede hacer en un rango de temperaturas comprendido entre -80°C y 0°C, preferentemente empezando a aproximadamente -78°C. El tiempo de reacción se podrá adaptar según los compuestos y puede estar comprendido por ejemplo entre 30 minutos y 12 horas, preferentemente de aproximadamente 60 minutos.

Preferentemente, la función XH es una función alcohol o una función tiol primario.

25 Los compuestos de fórmula (II) se pueden preparar por oxidación anódica, principalmente tal como se describe en el artículo de Paci *et al.* (2001, *Bioorg Med Chem Lett*, 11, 1347-1349). En particular, se pueden preparar por oxidación anódica en metanol o en etanol con un electrodo de carbono grafito en presencia de tosilato de tetraetilamonio (Et₄NOTs) o tetrafluoroborato de tetraetilamonio (TEABF₄).

Tal como se ilustra en los ejemplos, el procedimiento según la invención está particularmente adaptado para la preparación de compuestos de oxazafosforina de fórmula (II) en la que R2 es H y R1 y R3 se eligen independientemente el uno del otro entre -CH(CH₃)-CH₂-Cl y -(CH₂)₂-Cl

30 Se puede utilizar cualquier tipo de compuestos R4-XH para llevar a cabo el procedimiento según la invención. Las preferencias relativas al grupo R4 se presentan con más detalle a continuación.

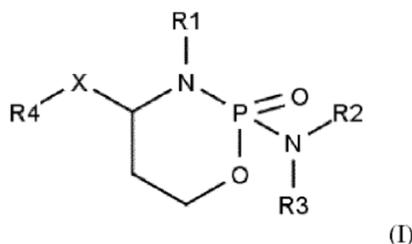
Se observará que generalmente los rendimientos del procedimiento según la invención son más elevados que los obtenidos mediante el método clásico de síntesis que consiste en oxidar electroquímicamente el compuesto oxazafosforina en presencia del agente nucleófilo R4-XH.

35 De forma sorprendente, la Solicitante ha demostrado que la longitud de cadena del grupo R4 no es un criterio que limite la reacción ya que es posible injertar derivados alquilo de longitud de cadena muy diferente tal como el pentanol o el tris-norescualenol con rendimientos y duraciones de reacción similares.

40 En un modo de realización particular, las etapas de suministro de un compuesto de fórmula (II) y de reacción en presencia de un ácido de Lewis con un compuesto R4-XH se pueden hacer conjuntamente en el mismo medio de reacción.

45 De forma alternativa, los compuestos de fórmula (I) se pueden preparar mediante un método directo de oxidación anódica a condición de que el tamaño del radical R4 esté limitado a 7 átomos de carbono. Este no constituye el método preferido ya que necesita una gran cantidad de nucleófilo e impone la utilización de compuestos resistentes a las condiciones oxidantes. En este modo de realización, el metanol o etanol se reemplazarán por el compuesto de fórmula R4-OH.

También se describen nuevas moléculas de fórmula (I)



en la que:

X es O o S;

5 R1 y R2 son independientemente H, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-CH}_2\text{-Cl}$ o $-(\text{CH}_2)_2\text{-Cl}$ con la condición de que al menos uno de los dos sea $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-CH}_2\text{-Cl}$ o $-(\text{CH}_2)_2\text{-Cl}$;

R3 es $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-CH}_2\text{-Cl}$ o $-(\text{CH}_2)_2\text{-Cl}$; y

R4 es un radical de formulación o de vectorización que comprende al menos 3 átomos de carbono;

10 Cuando R1 es H y R2 y R3 son, independientemente, $-(\text{CH}_2)_2\text{-Cl}$ o $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-CH}_2\text{-Cl}$, el compuesto (I) o (II) es un derivado de ciclofosfamida. En algunos aspectos, R2 y R3 son $-(\text{CH}_2)_2\text{-Cl}$.

Cuando R1, R2 y R3 son independientemente $-(\text{CH}_2)_2\text{-Cl}$ o $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-CH}_2\text{-Cl}$, el compuesto (I) o (II) es un derivado de trofosfamida. En algunos aspectos, R1, R2 y R3 son independientemente $-(\text{CH}_2)_2\text{-Cl}$.

15 La presente invención se refiere a derivados de la isofamida. Así, en los compuestos de fórmula (I) según la invención, R2 es H y R1 y R3 son independientemente $-(\text{CH}_2)_2\text{-Cl}$ o $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-CH}_2\text{-Cl}$. En algunos modos de realización, R1 y R3 son $-(\text{CH}_2)_2\text{-Cl}$.

En otros modos de realización R1 y R3 son $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-CH}_2\text{-Cl}$.

En un modo de realización suplementario, R1 es $-(\text{CH}_2)_2\text{-Cl}$ y R3 es $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-CH}_2\text{-Cl}$. En otro modo de realización R3 es $-(\text{CH}_2)_2\text{-Cl}$ y R1 es $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-CH}_2\text{-Cl}$.

20 De forma general, R4 puede comprender un enlace o espaciador, estando situado este enlace o espaciador en el extremo proximal y por lo tanto unido a la función X. Los enlaces y espaciadores son bien conocidos por el experto en la técnica, tales como los derivados de la cisteína. Opcionalmente, permiten introducir la función XH. Preferentemente, la función XH es un alcohol o un tiol primario.

25 Los radicales de formulación o de vectorización son bien conocidos en el campo. Como ilustración, se pueden citar las publicaciones siguientes: Singh *et al.* (2008, *Curr Med Chem*, 15, 1802-1826), Das *et al.* (2009, *Curr Opin Drug Deliv*, 6, 285-304), etc.

Se ha descrito que R4 para las fórmulas (I) y (III) se selecciona entre los siguientes radicales o comprende estos radicales:

30 - un grupo hidrocarbonado de 3 a 40 átomos de carbono, preferentemente de 3 a 30 átomos de carbono (preferentemente de 4, 5, 6, 7 u 8 a 30 átomos de carbono), saturado o insaturado, lineal o ramificado, eventualmente sustituido con uno o varios grupos seleccionados entre un grupo $-\text{OR}$, $-\text{C}(\text{O})\text{OR}$, $-\text{OC}(\text{O})\text{R}$, $-\text{OC}(\text{O})\text{OR}$, $-\text{C}(\text{O})\text{R}$, $-\text{NRR}'$, $-\text{C}(\text{O})\text{NRR}'$, $-\text{NC}(\text{O})\text{R}$, $-\text{NRC}(\text{O})\text{R}'$, $-\text{NRC}(\text{O})\text{R}'$, $-\text{SR}$, un halógeno, un ciano ($-\text{CN}$), un anillo, un heteroarilo o arilalquilo; siendo R y R' un hidrógeno o un alquilo de $\text{C}_1\text{-C}_3$;

- un lípido;

- un aminoácido;

35 - un péptido o una proteína, preferentemente un péptido;

- una vitamina;

- un aptámero;

- un polímero; y

- un radical poliol.

Por "alquilo de C₁-C₃" se entiende un metilo, etilo, propilo o isopropilo.

Por "halógeno" se entiende un átomo de halógeno seleccionado entre Cl, Br, I y F.

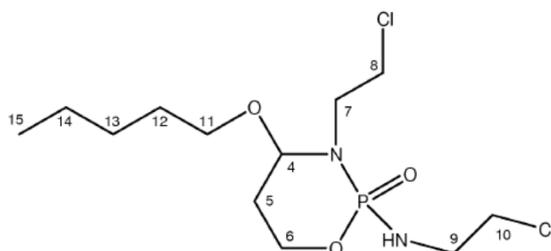
5 Por "arilo" se entiende un radical hidrocarbonado aromático, sustituido o no, que tiene preferentemente 6 a 14 átomos de carbono. Preferentemente, los radicales arilo según la presente invención se eligen entre el fenilo, el naftilo (por ejemplo 1-naftilo o 2-naftilo), el bifenilo (por ejemplo, 2-, 3- o 4-bifenilo), el antrilo o el fluorenilo. Son particularmente preferidos los grupos fenilo, sustituidos o no.

10 Por "heteroarilo" se entiende un radical hidrocarbonado aromático que comprende uno o varios heteroátomos tales como el nitrógeno, el azufre y el oxígeno, sustituido o no, que tiene preferentemente 6 a 14 átomos de carbono. Como ejemplo, se pueden citar los grupos piridinilo, piridazinilo, pirimidilo, pirazilo, triazinilo, pirrolilo, pirazdilo, imidazolilo, (1,2,3)- y (1,2,4)-triazolilo, pirazinilo, pirimidinilo, tetrazolilo, furilo, tienilo, isoxazolilo, tiazolilo, isoxazolilo u oxazolilo, etc.

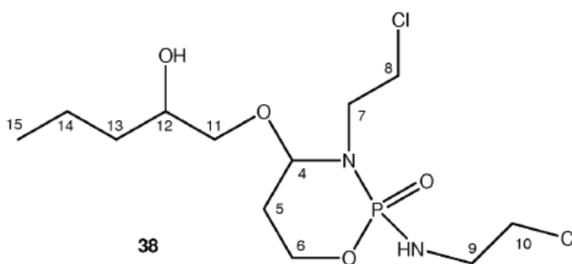
Por "arilalquilo" se entiende un radical del tipo arilo sustituido con un grupo alquilo. Los términos "alquilo" y "arilo" responden a las definiciones enunciadas anteriormente. Ejemplos de grupos alquilarilo son principalmente tolilo, mesitilo y xililo.

15 Cuando R₄ es un grupo hidrocarbonado de 3 a 30 átomos de carbono, R₄ es por ejemplo un alquilo o alqueno de C₃ a C₇, lineal o ramificado, que comprende opcionalmente uno o varios grupos hidroxilo, o un resto hidroxil-ácido de C₃ a C₇. Preferentemente, R₄ es lineal. En un modo de realización particular, R₄ se puede seleccionar entre un pentilo, un hexilo, o un heptilo, que puede comprender opcionalmente una o varias insaturaciones y estar sustituido con uno o varios grupos hidroxilo. Preferentemente, R₄ se puede seleccionar entre un pentilo, un hexilo, o un heptilo, pudiendo comprender opcionalmente una insaturación y estar sustituido con un grupo hidroxilo. Preferentemente, los grupos hidroxilo no son primarios, sino más bien secundarios o terciarios.

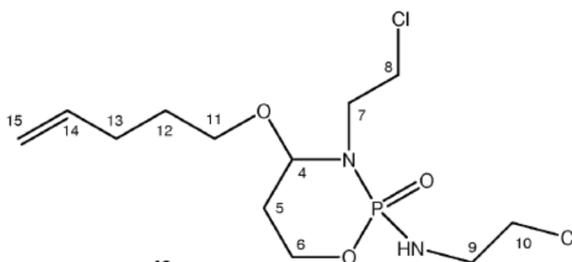
Compuestos particulares son los siguientes:



36



38



40

25 Cuando R₄ es un lípido, se puede seleccionar entre los ácidos grasos, los eicosanoides, los acilgliceroles, los fosfoacilgliceroles, los esfingolípidos, los esteroides, y los sacarolípidos. En particular, R₄ puede ser un ácido graso, saturado o insaturado, lineal o ramificado. Preferentemente, el ácido graso presenta una cadena de al menos 18 átomos de carbono. Más particularmente, el ácido graso presenta una cadena insaturada y ramificada de al menos

18 átomos de carbono. En un modo de realización preferido de la invención, R4 es un escualenoilo. En efecto, el escualeno presenta un gran interés para la formulación de medicamento (WO2006/090029). De forma alternativa, R4 puede ser un esteroil tal como el colesterol. Se consideran muy particularmente los radicales lipídicos que permitan la formación de nanopartículas, micelas o liposomas, en particular en un disolvente polar, preferentemente una fase acuosa. Dichos lípidos son bien conocidos por el experto en la técnica. Se pueden citar, de forma no exhaustiva, el colesterol, los fosfolípidos y los escualenoilos.

Cuando R4 es un aminoácido, el aminoácido puede ser natural o no.

Cuando R4 es un péptido, cualquier péptido conocido por permitir dirigirlo a tejidos o células, preferentemente tumores y células cancerosas o de neovascularización, a menudo por medio de receptores celulares, se adapta a la presente invención. Estos péptidos son bien conocidos por el experto en la técnica y comprenden los peptidomiméticos. Como ilustración, se pueden citar los que se refieren a los péptidos o peptidomiméticos que permiten dirigirlos a los tumores (WO2008/120098, WO2000/032237) por ejemplo los que comprenden el resto asparagina-glicina-arginina (NGR), glicina-serina-leucina (GSL) o arginina-glicina-aspartato (RGD) (WO2008/045252, WO2006/095234, WO2005/123767, WO2002/026776, WO98/010795) o los descritos en la solicitud WO00/032237. Además, se han descrito péptidos que permiten dirigirlos a un órgano particular, por ejemplo el pulmón (WO2003/105907), atravesar la barrera hematoencefálica (WO2003/070755, WO2003/059394, WO2003/026701, WO2003/026700, WO2002/067994, WO00/032236), facilitar la penetración celular o nuclear del medicamento (WO2005/016960, WO2001/064738). R4 también puede ser una lectina, EGF (factor de crecimiento epidérmico), o un anticuerpo o un fragmento de éste que presenta el campo de unión al antígeno, preferentemente un antígeno específico del cáncer o del órgano o del tejido diana.

Cuando R4 es un radical poliil, se preferirá un sacárido o un polisacárido. Por ejemplo, R4 puede ser una glucosa. De forma alternativa, R4 puede ser un quitosano.

Cuando R4 es una vitamina, se preferirá el ácido fólico. El ácido fólico se utiliza habitualmente para vectorizar un medicamento, en particular en el campo de la oncología. De forma alternativa, R4 también puede ser la vitamina B12.

Cuando R4 es un aptámero, este aptámero será preferentemente específico de un antígeno tumoral.

Cuando R4 es un polímero, se preferirá un polímero que permita la formación de nanopartículas. Dichos polímeros son bien conocidos por el experto en la técnica. Se puede citar a modo ilustrativo el poli(cianoacrilato de alquilo) tal como se ha descrito en el documento WO1999/043359, una poliamina, una N-(2-hidroxipropil)metacrilamida (HPMA), un poli(etilenglicol), un polímero de ácido láctico, o un poliglutamato.

Según la presente invención, R4 está representado por la fórmula (IV) $R_5(Y)_a$ en la que Y representa un espaciador; a es 0 ó 1; y R5 es un grupo hidrocarbonado de 3 a 30 átomos de carbono, lineal o ramificado, saturado o insaturado, eventualmente sustituido con uno o varios OH.

Y se elige entre $-(CH_2)_m-$, $-CONH(CH_2)_m$, $NHCO(CH_2)_m$, $-COO(CH_2)_m$ y $-OCO(CH_2)_m-$ siendo m un número entero que va de 1 a 10.

"a vale 1" significa que el grupo R4 posee un espaciador y por lo tanto Y está presente. "a vale 0" significa que el grupo R4 no posee espaciador y que Y está ausente.

R5 puede comprender 1, 2, 3 ó 4 insaturaciones que pueden ser independientemente un doble o un triple enlace. R5 también puede comprender 1, 2, 3, 4, 5 ó 6 ramificaciones, siendo dichas ramificaciones preferentemente un grupo metilo.

En algunos modos de realización, R5 se elige entre el grupo formado por:

(i) un alquilo de C_2-C_9 eventualmente sustituido con un hidroxilo;

(ii) un alqueno de C_2-C_9 , preferentemente, de fórmula $-H_2C=CH(CH_2)_n-$ siendo n un número entero que va de 1 a 8; y

(iii) un grupo hidrocarbonado que comprende uno o varios restos derivados del isopreno, preferentemente elegido entre el grupo formado por:

(a) $(CH_3)_2C=CH-CH_2-CH_2-[C(CH_3)=CH-CH_2-CH_2]_m-$ siendo m un número entero que va de 0 a 5 y

(b) $(CH_3)_2C=CH-CH_2-CH_2-[C(CH_3)=CH-CH_2-CH_2]_p-[CH=C(CH_3)-CH_2-CH_2]_q$ siendo p un número entero que va de 1 a 5 y q un número entero que va de 1 a 5.

El o los dobles enlaces presentes en el radical R5 pueden estar independientemente en conformación *trans* o en conformación *cis*. En algunos modos de realización, el o los dobles enlaces están en conformación *trans*.

Ejemplos particulares de compuestos según la invención para los que R5 corresponde a los radicales definidos en el punto (i) o (ii) se han presentado anteriormente (véanse los compuestos particulares 36, 38 y 40). En algunos modos de realización del compuesto según la invención, R4 es de fórmula R5(Y)_a en la que:

- R5 se elige entre el grupo formado por:

5 (a) (CH₃)₂C=CH-CH₂-CH₂-[C(CH₃)=CH-CH₂-CH₂]_m- siendo m un número entero que va de 0 a 5 y
 (b) (CH₃)₂C=CH-CH₂-CH₂-[C(CH₃)=CH-CH₂-CH₂]_p-[CH=C(CH)₃-CH₂-CH₂]_q siendo p un número entero que va de 1 a 5 y q un número entero que va de 1 a 5.

- Y se elige entre -(CH₂)_m-, -CONH(CH₂)_m, NHCO(CH₂)_m, -COO(CH₂)_m y -OCO(CH₂)_m- siendo m un número entero que va de 1 a 10; y
- a es 0 ó 1.

10

En algunos modos de realización particular, R5 es un radical elegido entre el grupo formado por:

- (CH₃)₂C=CH-CH₂-CH₂-[C(CH₃)=CH-CH₂-CH₂]₂-[CH=C(CH)₃-CH₂-CH₂]₂-,
- (CH₃)₂C=CH-CH₂-CH₂-[C(CH₃)=CH-CH₂-CH₂]₂-[CH=C(CH)₃-CH₂-CH₂]-; y
- (CH₃)₂C=CH-CH₂-CH₂-[C(CH₃)=CH-CH₂-CH₂]₂-.

15

En un modo de realización preferido de la invención, R4 es un radical escualenoilo, que comprende opcionalmente un espaciador. En el sentido de la invención, un radical escualenoilo es un radical que comprende el resto: (CH₃)₂C=CH-CH₂-CH₂-[C(CH₃)=CH-CH₂-CH₂]₂-[CH=C(CH)₃-CH₂-CH₂]₂-. En un modo de realización particular, R4 es un radical escualenoilo de la siguiente fórmula:

20

(CH₃)₂C=CH-CH₂-CH₂-[C(CH₃)=CH-CH₂-CH₂]₂-[CH=C(CH)₃-CH₂-CH₂]₂-(Y)_a en la que Y y a son tal como se han definido anteriormente.

En un modo particular del procedimiento descrito anteriormente, el compuesto R4-XH es el tris-norescualenol, también llamado aquí escualenol, lo que significa que R4-XH es un compuesto de fórmula R5-Y-XH en la que:

R5 es (CH₃)₂C=CH-CH₂-CH₂-[C(CH₃)=CH-CH₂-CH₂]₂-[CH=C(CH)₃-CH₂-CH₂]₂-, Y es CH₂ y X es O.

25

En otro modo particular, el compuesto R4-XH es el radical escualenoilo unido a -C(O)NH-(CH₂)₂-SH (es decir, el compuesto (CH₃)₂C=CH-CH₂-CH₂-[C(CH₃)=CH-CH₂-CH₂]₂-[CH=C(CH)₃-CH₂-CH₂]₂-C(O)NH-(CH₂)₂-SH).

Los compuestos de fórmula (I) particularmente preferidos son los siguientes:

- R1 y R2 son independientemente H, -CH(CH₃)-CH₂-Cl o -(CH₂)₂-Cl con la condición de que al menos uno de los dos sea -CH(CH₃)-CH₂-Cl o -(CH₂)₂-Cl;

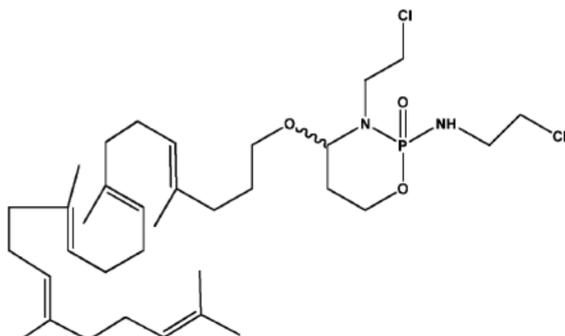
- R3 es -CH(CH₃)-CH₂-Cl o -(CH₂)₂-Cl ; y

30

- X es O y R4 es un radical escualenoilo; o R4X es escualenoilo-C(O)NH-(CH₂)₂-S-.

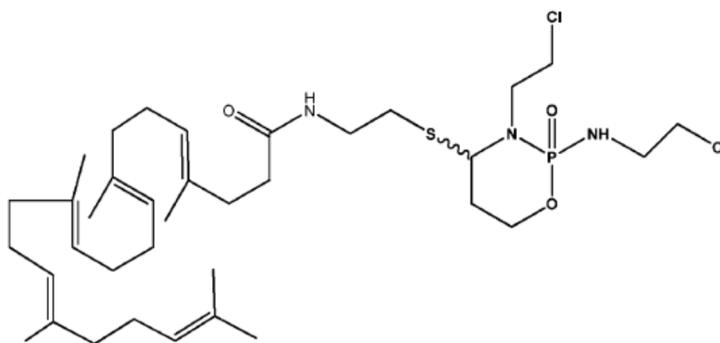
En un modo de realización todavía más preferido, R2 es H y R1 y R3 se eligen independientemente entre CH(CH₃)-CH₂-Cl y -(CH₂)₂-Cl. Más particularmente, R2 es H y R1 y R3 son -(CH₂)₂-Cl. Alternativamente, R2 puede ser H y R1 y R3 son CH(CH₃)-CH₂-Cl.

Compuestos particulares de la invención son los siguientes:



35

y/o



Por "alrededor de" se entiende más o menos 10%, preferentemente más o menos 5%.

Cuando R4 se elige de tal forma que sea un radical, en particular lipídico, que permite la formación de nanopartículas, de micelas o de liposomas, la presente invención se refiere también a una nanopartícula formada por el compuesto de fórmula (I) de la presente invención. En un modo de realización preferido de la invención, R4 es un escualenoilo, es decir un radical que comprende el siguiente radical: $(\text{CH}_3)_2\text{C}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-[\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2]_2-[\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{CH}_2]_2-$.

Más particularmente, R2 es H y R1 y R3 son $-(\text{CH}_2)_2-\text{Cl}$ y R4 es un escualenoilo, X pudiendo ser O ó S. Alternativamente, el compuesto de fórmula (I) puede presentar R2 siendo H y siendo R1 y R3 el $\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{Cl}$ y R4 es un escualenoilo, X pudiendo ser O ó S. En un modo de realización muy particularmente preferido, los compuestos se elegirán entre los compuestos que comprenden un radical escualenoilo tales como se han descrito anteriormente. Las nanopartículas de compuesto de fórmula (I) se pueden obtener por solubilización del compuesto en un disolvente orgánico como la acetona o el etanol y luego por adición de esta mezcla a una fase acuosa con agitación lo que conduce a la formación de las nanopartículas en presencia o no de tensioactivo(s).

Como tensioactivos, se pueden citar por ejemplo copolímeros de polioxietileno-polioxipropileno, derivados fosfolipídicos y derivados lipófilos de polietilenglicol. Preferentemente, las nanopartículas poseen tamaños medios que varían de 30-500 nm o 70-200 nm.

El compuesto se puede utilizar en forma de cualquier sal farmacéuticamente aceptable. Por sal farmacéuticamente aceptable, se entienden por ejemplo y de forma no limitativa sales de adición básica o ácida farmacéuticamente aceptables, hidratos, ésteres y solvatos. La expresión sales farmacéuticamente aceptables se refiere a las sales no tóxicas, que generalmente se pueden preparar haciendo reaccionar una base libre con un ácido orgánico o inorgánico conveniente. Estas sales conservan la eficacia biológica y las propiedades de las bases libres. Como ejemplos representativos de dichas sales, se pueden citar las sales hidrosolubles e hidrosolubles, tales como los acetatos, N-metilglucamina amonio, ansonatos (4,4-diaminoestilbenos-2,2'-disulfonatos), bencenosulfonatos, benzonatos, bicarbonatos, bisulfatos, bitartratos, boratos, hidrobromuros, bromuros, buriratos, camsilatos, carbonatos, hidroclocloruros, cloruros, citratos, clavulariatos, dihidroclocloruros, difosfatos, edetatos, edetatos de calcio, edisilatos, estolatos, esilatos, fumaratos, gluceptatos, gluconatos, glutamatos, glicolilarsanilatos, hexafluorofosfatos, hexilresorcinatos, hidrabaminas, hidroxinaftoatos, yoduros, isotionatos, lactatos, lactobionatos, lauratos, malatos, maleatos, mandelatos, mesilatos, metilbromuros, metilnitratos, metilsulfatos, mucatos, napsilatos, nitratos, 3-hidroxi-2-naftoatos, oleatos, oxalatos, palmitatos, pamoatos (1,1-metilen-bis-2-hidroxi-3-naftoatos, o emboatos), pantotenatos, fosfatos, picratos, poligalacturonatos, propionatos, p-toluenosulfonatos, salicilatos, estearatos, subacetatos, succinatos, sulfatos, sulfosalicilatos, suramatos, tannatos, tartratos, teoclatos, tosilatos, trietididas, trifluoroacetatos y valeratos.

La presente invención se refiere también a una composición farmacéutica que comprende un derivado de oxazafosforina de fórmula (I) o una nanopartícula tal como se ha definido anteriormente. Esta composición farmacéutica puede comprender ventajosamente un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable. El vehículo farmacéuticamente aceptable se puede elegir entre los vehículos utilizados de forma clásica según cada uno de los modos de administración. En función del modo de administración previsto, los compuestos pueden estar en forma sólida, semisólida o líquida. Para las composiciones sólidas, tales como comprimidos, píldoras, polvos o granulados en estado libre o incluidos en cápsulas, la sustancia activa se puede combinar con: a) diluyentes, por ejemplo la lactosa, la dextrosa, la sacarosa, el manitol, el sorbitol, la celulosa y/o la glicina; b) lubricantes, por ejemplo la sílice, el talco, el ácido esteárico, su sal de magnesio o de calcio y/o el polietilenglicol; c) aglomerantes, por ejemplo el silicato de magnesio y de aluminio, la pasta de almidón, la gelatina, la goma adragante, la metilcelulosa, la carboximetilcelulosa sódica y/o la polivinilpirrolidona; d) disgregantes, por ejemplo el almidón, el agar, el ácido algínico o su sal de sodio, o mezclas efervescentes; y/o e) absorbentes, colorantes, aromatizantes y edulcorantes. Los excipientes pueden ser por ejemplo manitol, lactosa, almidón, estearato de magnesio, sacarina sódica, talco, celulosa, glucosa, sacarosa, carbonato de magnesio y análogos de calidad farmacéutica. Para las composiciones semisólidas, tales como supositorios, el excipiente puede ser, por ejemplo, una emulsión o suspensión grasa, o a base de polialquilenglicol, tal como el polipropilenglicol. Las composiciones líquidas, en particular inyectables o que

se van a incluir en una cápsula blanda, pueden prepararse por ejemplo por disolución, dispersión, etc. de la sustancia activa en un disolvente farmacéuticamente puro tal como, por ejemplo, agua, suero fisiológico, dextrosa acuosa, glicerol, etanol, un aceite y sus análogos.

5 Esta composición puede comprender además otro principio activo. En un modo particular de realización, el principio activo suplementario es un agente anticancerígeno. Como ejemplos y de forma no exhaustiva, se pueden citar principalmente interferones, el cisplatino, la bleomicina, el fluorouracilo, el metotrexato, la vincristina, la actinomicina, la vinorelbina, los taxanos como el paclitaxel y el docetaxel, o una antraciclina. Por otra parte, se puede añadir a la composición farmacéutica un principio activo destinado a contrarrestar la toxicidad de las oxazafosforinas, principalmente el mercaptoetanosulfonato de sodio. Esta composición farmacéutica se puede utilizar también en asociación con la radioterapia.

10 La composición de la invención se puede administrar por cualquier vía adaptada y, de forma no limitativa por la vía parenteral, como por ejemplo, en forma de preparaciones inyectables por vía subcutánea, intravenosa o intramuscular; por vía oral (o *per os*), como por ejemplo, en forma de comprimidos recubiertos o no, cápsulas, polvos, granulados, suspensiones o disoluciones orales (dicha forma para la administración por vía oral puede ser bien de liberación inmediata, bien de liberación prolongada o retardada); - vía rectal, como por ejemplo, en forma de supositorios; - vía tópica, principalmente transdérmica, como por ejemplo, en forma de parches, de pomadas o de geles; - vía intranasal, como por ejemplo en forma de aerosoles y de espráis; -vía perlingual; - vía intraocular.

15 La composición farmacéutica comprende normalmente una dosis eficaz de un derivado de oxazafosfina de fórmula (I) de la invención. Una "dosis terapéuticamente eficaz" tal como se describe aquí se entiende como la dosis que aporta un efecto terapéutico para una condición y un régimen de administración dados. Normalmente la dosis media de una sustancia activa que se va a administrar para mejorar sensiblemente algunos síntomas asociados a una enfermedad o a un estado patológico.

20 Una "dosis terapéuticamente eficaz" de una sustancia activa no tiene que curar una enfermedad o un trastorno pero proporcionará un tratamiento para esta enfermedad o este trastorno de forma que su aparición se retrase, se obstaculice o se impida, o que sus síntomas se atenúen, o que su plazo se modifique o, por ejemplo, que sea menos severo o que la recuperación del paciente se acelere. Se entiende que la "dosis terapéuticamente eficaz" para una persona en particular dependerá de diferentes factores, incluyendo la actividad/eficacia de la sustancia activa, su hora de administración, su vía de administración, su tasa de excreción y su metabolismo, las asociaciones/interacciones medicamentosas y la gravedad de la enfermedad (o del trastorno) tratado a modo preventivo o curativo, así como la edad, el peso corporal, el estado de salud global, el sexo y/o el régimen alimentario del paciente.

25 Para un tratamiento por vía sistémica, se puede considerar la administración del compuesto de fórmula (I) en una dosis de aproximadamente 25 a 500 mg/kg de peso corporal y por día, preferentemente de aproximadamente 25 a 300 mg/kg.

30 La presente invención también se refiere a una composición farmacéutica según la invención para una utilización en el tratamiento del cáncer o como inmunosupresor. También se refiere a la utilización de una composición farmacéutica según la invención, de un derivado de oxazafosforina de fórmula (I) o de una nanopartícula tal como se ha definido anteriormente para la fabricación de un medicamento destinado al tratamiento del cáncer o de un inmunosupresor. Finalmente, la presente invención se refiere a un método para tratar a un sujeto que tenga cáncer, comprendiendo el método la administración de una dosis terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica según la invención, de un derivado de oxazafosforina de fórmula (I) o de una nanopartícula tal como se ha definido anteriormente. La presente invención se refiere también a un método para tratar a un sujeto que necesite una inmunosupresión, comprendiendo el método la administración de una dosis terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica según la invención, de un derivado de oxazafosforina de fórmula (I) o de una nanopartícula tal como se ha definido anteriormente.

35 El cáncer puede ser un tumor sólido o un cáncer hematopoyético. Por consiguiente, el cáncer se puede seleccionar entre las leucemias crónicas, las leucemias agudas linfoides, la enfermedad de Hodgkin, los linfomas hodgkinianos y no hodgkinianos, los cánceres de pulmón, de mama, de próstata, de vejiga y de ovario, los sarcomas, los neuroblastomas, los mielomas; los melanomas,...

40 Otros aspectos y ventajas de la presente invención aparecerán con la lectura de los ejemplos siguientes, que sólo son de naturaleza ilustrativa pero no limitan el alcance de la presente solicitud.

Ejemplo 1: Preparación de análogos 4-sustituidos de la IFO (ifosfamida)

45 La oxidación anódica en metanol de la ifosfamida permite acceder a una entidad química (la 4-MeO-IFO) cuyo poder citotóxico es equivalente al del metabolito activo de la IFO. Sin embargo, esta 4-MeO-IFO es bastante inestable desde un punto de vista químico, liberando la mostaza isofosfoamida rápidamente. Con el fin de modular esta cinética de liberación y de facilitar la penetración intracelular de esta pequeña molécula muy polar, los inventores han considerado la inserción en esta posición 4 de cadenas alifáticas más largas. Este concepto constituye el primer

paso hacia la modificación de la ifosfamida para insertarla en una forma vectorizada lipófila, tal como un liposoma o un sistema nanoparticular.

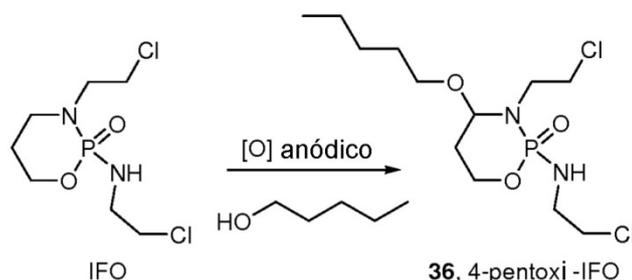
Sustitución por vía directa

- 5 La oxidación de la ifosfamida genera el iminio. Este es atrapado por el nucleófilo presente en el medio, acabando en un oxazafosforinano 4-sustituido. El objetivo de esta descripción es el estudio de la viabilidad de esta vía sintética y la evaluación de los sustratos y de la cantidad mínima compatible con esta vía directa.

Oxidación electroquímica de la ifosfamida en presencia de pentan-1-ol:

En un primer tiempo, los inventores han utilizado el alcohol amílico primario para estudiar la viabilidad de esta reacción en presencia de un alcohol de cadena larga alifática.

- 10 Para definir un modo de operación lo más eficaz posible, los inventores han hecho variar las condiciones experimentales de la reacción descrita en el Esquema 1.



Esquema 1: oxidación anódica de la IFO en presencia de alcohol amílico primario.

- 15 Se ha realizado una electrolisis de la IFO, en presencia de pentan-1-ol, en acetonitrilo, de intensidad constante, mediante electrodos de grafito. El tetrafluoroborato de tetraetilamonio (TEABF₄) era el electrolito de soporte utilizado. La reacción se ha seguido por cromatografía en capa fina (CCF) y se detuvo cuando toda la IFO se consumió. Al parar la reacción, se ha añadido bicarbonato de sodio para neutralizar la acidez electrogenerada. A continuación, los productos obtenidos, aislables, se han purificado por cromatografía en columna.

- 20 La IFO es una mezcla racémica debido a la quiralidad que aporta el fósforo. Como para la metoxilación, la pentoxilación ha generado 4 diastereómeros, enantiómeros dos a dos.

Por su naturaleza, los enantiómeros no podían ser diferenciados físicamente. Por el contrario, los desplazamientos químicos en ³¹P-RMN de los dos pares de diastereómeros eran diferentes.

Las proporciones de los diferentes productos se han determinado por ³¹P-RMN.

- 25 Por analogía con la metoxilación, era posible atribuir las señales en ¹H-RMN a una u otra de las formas diastereómeras: en efecto, la fijación de un grupo alcoxi en el carbono en α del nitrógeno se traduce en un grupo de 3 señales correspondiente a los hidrógenos que llevan los C4 y C6, y que difieren de un diastereómero al otro.

Influencia de la cantidad de alcohol

La electrolisis se ha realizado variando la cantidad de alcohol introducida. Para una cantidad dada de electrolito soporte (1 eq.), los resultados se recogen en la Tabla 1.

- 30 Tabla 1: Influencia de la cantidad de nucleófilo

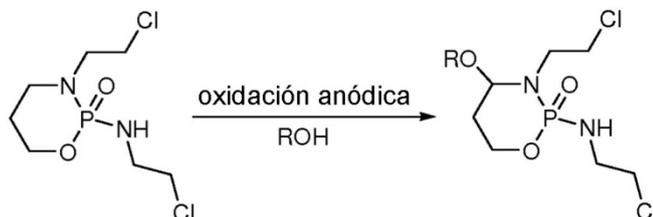
Ensayo	Eq. de pentanol	Intensidad (mA)	Parada de la reacción	Rendimiento (en %)
A	9	20	3,75 F/mol	< 15
B	15	20	3,60 F/mol	34
C	30	20	3,75 F/mol	41

En un primer tiempo, parecen necesarios al menos 15 equivalentes de alcohol para obtener un rendimiento satisfactorio (calculado en relación con la IFO). Por el contrario, la ganancia observada cuando se pasa de 15 a 30 equivalentes era poco elevada.

Oxidación anódica de la IFO en presencia de diferentes alcoholes

Aquí se trataba de estudiar la compatibilidad de funciones aportadas por el alcohol con el proceso electroquímico, utilizando las condiciones puestas a punto con el pentan-1-ol.

La reacción general se presenta en el Esquema 2.



5 Esquema 2: reacción general de alcoxilación de la IFO

Por lo tanto, la IFO se oxidaba por vía electroquímica, en presencia de diferentes alcoholes de 5 átomos de carbono, en acetonitrilo. La reacción se ha detenido cuando el producto de partida parecía consumido por seguimiento por CCF. Al final de la reacción, se ha añadido al medio bicarbonato de sodio (1 eq.) para neutralizar los hidrones electrogenerados. Las proporciones de los diferentes diastereómeros se han determinado sobre el bruto de reacción por ^{31}P -RMN antes de ser aislados por "cromatografía ultrarrápida".

10

Los resultados de estas diferentes manipulaciones se describen en la Tabla 2.

Tabla 2: resumen de los diferentes ensayos de alcoxilación

Alcohol	Parada (F/mol)	Resultados Proporciones de diastereómeros	Rendimiento global (%)
Pentan-1-ol	3,6	80/20	34
Pentan-3-ol	2,7	55/45	0*
Pentan-1,2-diol	2,5	52/48	22
Pentan-1,4-diol	3,5	53/47	0*
4-Penten-1-ol	2,9	ND	19
Heptan-1,7-diol	2,7	80/20	27

*productos no aislados

15 En un primer tiempo, se ha podido observar que un alcohol secundario parece más difícil de fijar que un alcohol primario sobre la IFO. Efectivamente, los espectros de RMN del bruto de electrolisis no mostraban más que trazas de alcoxilación. Los productos alcoxilados formados en pequeñas cantidades no eran aislables. La congestión estérica impedía el acceso del alcohol al iminio de la IFO.

20 Además, en el caso de una competición entre un alcohol primario y secundario, la fijación se realizaba casi exclusivamente a través del alcohol primario, estando el resto de la cadena sin cambio. En el transcurso de las manipulaciones con los dioles, los espectros de RMN de los productos brutos de reacción han demostrado la presencia de productos compatibles con los productos de adición esperados. Esto se ha podido confirmar en el caso del pentan-1,2-diol. En cambio, a pesar de la evidencia en el producto bruto de reacción, los productos no se han podido purificar en el caso del pentan-1,4-diol.

25 La utilización de un compuesto que comprende dos funciones alcohol primario permite reducir el número de equivalentes a 10 eq. (comparados con los 15 utilizados para los otros alcoholes), a la vez que se conserva un rendimiento equivalente. En las condiciones utilizadas, las formas que han fijado dos alcoholes no se han caracterizado.

Estos resultados permitían considerar la fijación de polioles selectivamente mediante una función alcohol primario. Era un primer paso hacia la fijación de un ose sobre la IFO, en el marco de una vectorización.

30 La presencia de un doble enlace C=C no ha impedido la fijación del alcohol primario en la IFO y no se ha modificado durante la reacción electroquímica.

Compatibilidades de las diferentes funciones con el protocolo de oxidación directa

Además de la utilización de una gran cantidad de nucleófilo, el protocolo de oxidación directa impone la utilización de compuestos resistentes a las condiciones oxidantes.

Aminas

5 Las aminas son oxidables en las condiciones utilizadas. Así, en estas condiciones, y en presencia de ifosfamida, hay oxidación concomitante de dos compuestos (IFO y amina).

Tiol

En condiciones oxidantes, los tioles se dimerizan formando un puente disulfuro (Esquema 3).



Esquema 3: dimerización de un tiol en condiciones oxidantes.

El centro nucleófilo (el átomo de azufre) ya no está disponible para la sustitución del iminio.

Conclusiones y perspectivas

15 El protocolo de oxidación anódica de la IFO en presencia de 15 equivalentes de alcohol es posible. Permite acceder simplemente a nuevos compuestos, nunca descritos. Este protocolo también es aplicable a otras oxazafosforinas como la ciclofosfamida y la trofosfamida. Para optimizar esta reacción, es necesario utilizar un medio de reacción anhidro, con el fin de eliminar un nucleófilo competidor.

Sin embargo, los inconvenientes de esta vía directa son múltiples.

20 El recurso a 15 eq de nucleófilo plantea varios problemas: este método está limitado a reactivos baratos, y este exceso de reactivo entorpece la purificación de productos sensibles. Finalmente, la utilización de compuestos nucleófilos que poseen funciones oxidables es imposible.

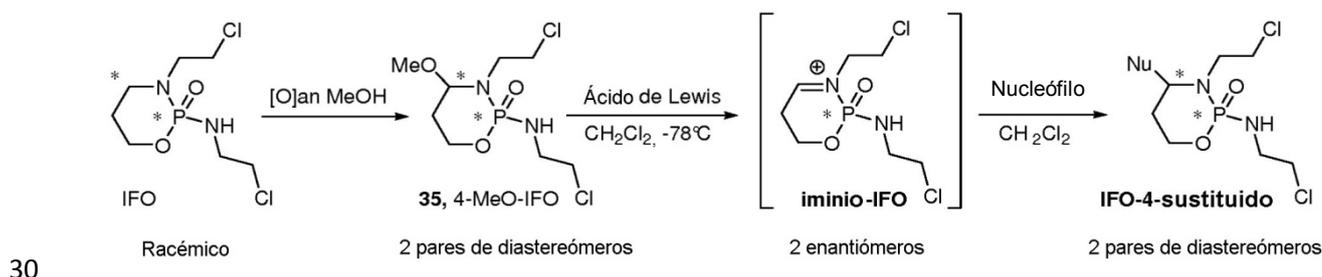
Sustitución por vía indirecta

Iminio retenido y luego regenerado

Este modo comprende 3 tiempos:

- 25 - la metoxilación anódica,
- la amidoalquilación, descompuesta en
- o la regeneración del iminio y luego
 - o la reacción *in situ* con el nucleófilo.

Esta secuencia de reacción de 3 etapas se lleva a cabo en 2 medios de reacción (Esquema 4).



Esquema 4: secuencia de reacción por medio de una 4-MeO-IFO

En la práctica, la ifosfamida sufre una electrolisis en metanol, y luego el derivado 4-MeO-IFO se coloca en presencia de un ácido de Lewis en un disolvente no nucleófilo para regenerar el iminio sobre el que reacciona el nucleófilo.

35 Esta técnica permite utilizar nucleófilos incompatibles con la oxidación anódica. Por comparación con la vía directa, otra ventaja de esta técnica es la utilización de un número de equivalentes nucleófilos menor.

El iminio ha sido electrogenerado por oxidación anódica en metanol y por lo tanto retenido en forma de 4-MeO-IFO.

Una vez consumida totalmente la ifosfamida (paso de más de 2,5-3,0 F/mol), el disolvente se ha evaporado en presencia de una base, el carbonato de sodio (Na₂CO₃), encargada de evitar una acidificación del medio. El residuo

se ha recogido con dietil éter y luego una simple filtración ha dado acceso a los productos metoxilados. Cuando queda un poco de producto de partida, o bien si se desea la separación de los diastereómeros, es necesaria una columna cromatográfica.

5 Finalmente, se han realizado numerosas metoxilaciones sobre cantidades variadas de IFO, que van de varias decenas de miligramos a varios gramos. En una celda electroquímica de 15 mL, se ha realizado por ejemplo la oxidación de 2 gramos de IFO. Los derivados metoxilados se han obtenido con un rendimiento del 82% (es decir 1,8 g), después del paso de $4,0 \text{ F}\cdot\text{mol}^{-1}$. Así esta reacción electroquímica parece adaptada a una utilización en síntesis: es relativamente sencilla de realizar incluso si su purificación necesita una cierta práctica. Además, los productos obtenidos son relativamente estables y pueden almacenarse varias semanas en el congelador en atmósfera inerte.

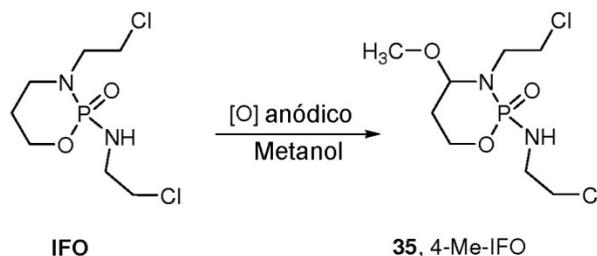
10 Bajo la acción de un ácido de Lewis, el grupo metoxilo puede regenerar el iminio que va a ser retenido por una gran variedad de nucleófilos para dar acceso a diversas estructuras. Se llama amidoalquilación a la reacción que consiste en regenerar el ión iminio a partir del derivado metoxilado y luego en realizar una adición nucleófila sobre este iminio.

15 La regeneración del intermedio iminio a partir del derivado metoxilado se hace por intermedio de un ácido de Lewis. Se han utilizado más bien los ácidos de Lewis: $\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$, TiCl_4 , $\text{Yb}(\text{OTf})_2$, TMSOTf, para los más clásicos.

El ácido de Lewis está implicado simplemente en la regeneración del iminio a partir del derivado metoxilado y no en la diastereoselectividad de la adición.

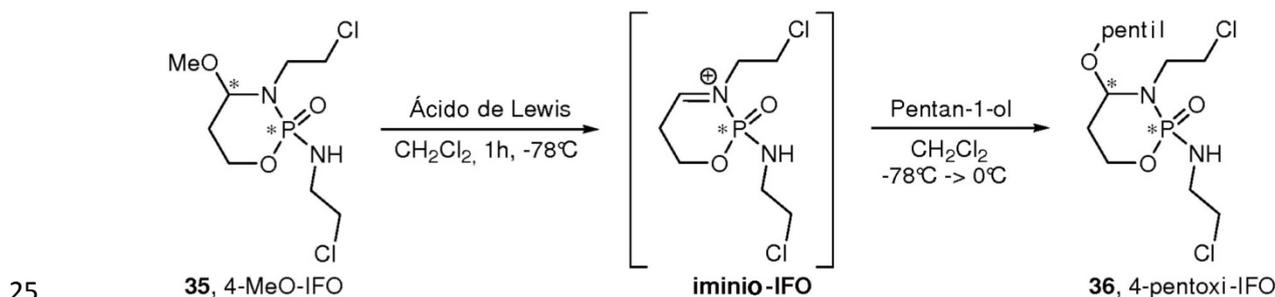
Electrolisis- metoxilación por oxidación anódica.

20 Angelo Paci y Thierry Martens han descrito la oxidación anódica de la IFO y del CPM en una celda monocompartimental (Paci *et al.* 2001b) (Esquema 5).



Esquema 5: 4-metoxilación electroquímica de la IFO.

Para obtener un producto de llegada conocido, el estudio se ha centrado en la siguiente secuencia, haciendo intervenir el pentan-1-ol como nucleófilo (Esquema 6).



25

Esquema 6: secuencia de amidoalquilación

La 4-MeO-IFO se ha puesto en presencia de un ácido de Lewis a baja temperatura (-78°C), durante una hora (de forma arbitraria). A continuación, el nucleófilo (1 eq. de alcohol amílico) se introduce en el medio que se coloca a 0°C durante 15 minutos. Como las pentoxi-IFO ya se han identificado, un simple espectro de ^{31}P -RMN ha permitido determinar rápidamente la eficacia de la reacción, tal como se resume en la Tabla 3.

30

Tabla 3: influencia del ácido de Lewis utilizado en la amidoalquilación

Ácido de Lewis		Resultados	
Naturaleza	Cantidad (en eq.)	Conversión (en %)	Proporción de diast. (9,6/9,3 ppm)
TMSOTf	0,1	30 (+degradación)	85/15
	0,5	Degradación	ND
	1	Degradación	ND
Ti(OEt) ₄	0,1	0%	Queda 4-MeO-IFO y productos de degradación
	0,5	0%	
	1	0%	
BF ₃ ·OEt ₂	0,1	59	82/18
	0,5	48	80/20
	1	Degradación	ND

- 5 Resulta que el Ti(OEt)₄ no parece ser suficientemente reactivo para regenerar el iminio a partir de la 4-MeO-IFO. Por otra parte, en cuanto al TMSOTf parece inducir la degradación de la 4-MeO-IFO, salvo cuando se utiliza en cantidad catalítica (10% mol) que permite formar los diastereómeros con un rendimiento mediocre. El ácido de Lewis utilizado no parece modificar la diastereoselectividad de la reacción, más bien actúa sobre el rendimiento y la estabilidad del iminio intermedio generado, contribuyendo a la limpieza del producto bruto de reacción. En el transcurso del presente estudio, resulta evidente que el eterato de trifluoruro de boro utilizado en cantidades catalíticas (BF₃·OEt₂) es el más eficaz de los ácidos de Lewis ensayados.
- 10 Las condiciones (0,1 eq de BF₃·OEt₂, 1 hora a -78°C en CH₂Cl₂) determinadas anteriormente se han utilizado posteriormente para evaluar la influencia de la cantidad de pentan-1-ol sobre la conversión. Los resultados se resumen en la Tabla 4.

Tabla 4: influencia del tiempo de reacción del iminio

Pentan-1-ol		Resultados	
Cantidad (en eq.)	Tiempo (en min)	Conversión (en %)	Proporción de diast. (9,6/9,3 ppm)
1	15	59	82/18
2	15	60	81/19
2	30	64	85,4/14,6
2	45	62	83,5/16,5
2	120	61	82/18

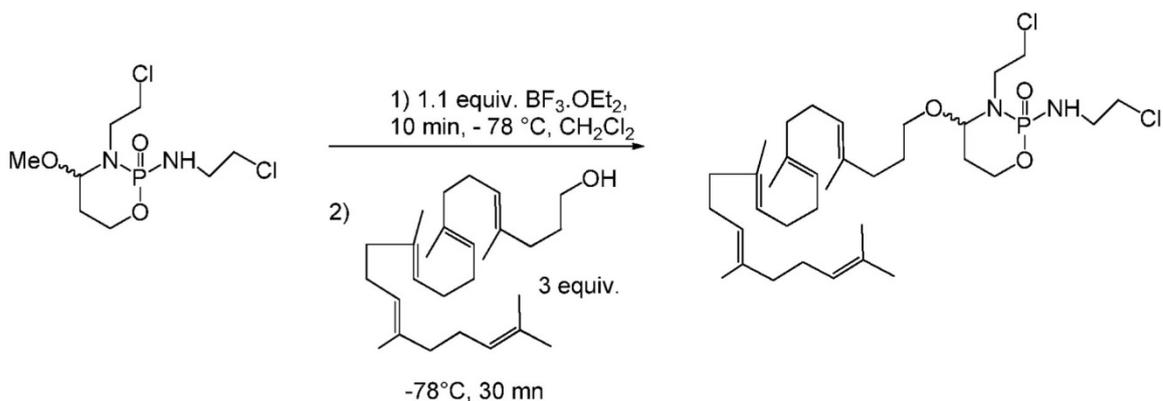
- 15 La cantidad de pentan-1-ol no parece influir ni en la tasa de conversión ni en la proporción de diastereómeros formados. A pesar de las tasas de conversión comparables, parece que el tiempo óptimo de reacción sería de una media hora, con una conversión de 64% y una proporción de diastereómeros de 85,4/14,6.

En algunos experimentos, los inventores han verificado que la utilización de THF en lugar del diclorometano no modificaba los resultados observados.

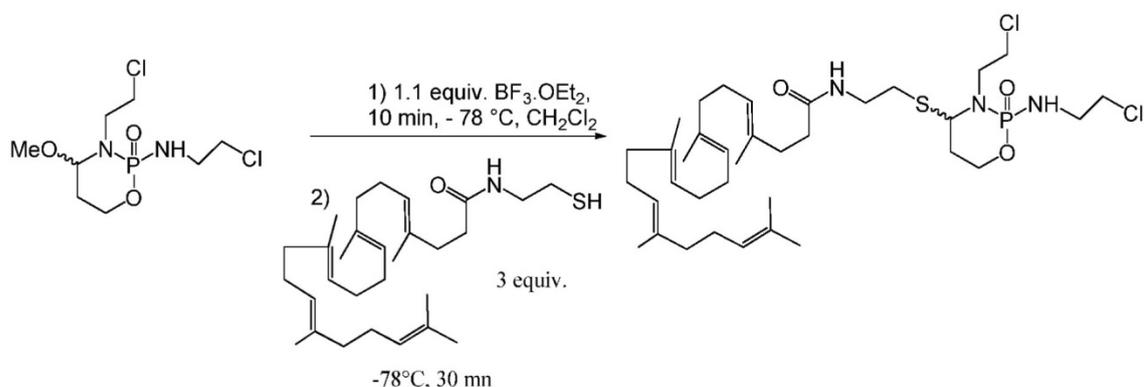
- 20 Los nucleófilos que compiten son el metanol generado al mismo tiempo que el iminio y el agua residual presente en el medio. Los inventores han intentado añadir tamiz molecular activado de 4Å para capturar el agua residual y el metanol liberado. Esta adición no parece mejorar notablemente los rendimientos observados.

- 25 Es posible el injerto de otros sustratos tales como aminas, compuestos polifuncionalizados o lípidos, y se ha considerado para permitir la proposición de la formación de análogos pre-activados de la IFO direccionados y vectorizados hacia los tumores por injerto de ácidos grasos u otros lípidos, de un péptido o de un azúcar.

- 30 Como ejemplo, la aplicación más reciente y la más prometedora se refiere a la fijación de un resto escualénico por este método añadiendo el escualenol o el escualenotil en presencia de BF₃, ET₂O sobre el fosforil-iminio producido a partir del 4-metoxi-IFM (Esquema 7 y 8). Los compuestos formados, el SQ-4-O-IFM y el SQ-4-S-IFM, presentan dos propiedades interesantes. La primera es que constituyen dos formas pre-activadas del IFM debido a la oxidación en 4 capaz de liberar, en medio acuoso ligeramente ácido, la mostaza alquilante directamente sin activación metabólica. La segunda, es que son capaces de auto-ensamblarse en medio acuoso en forma de nanopartículas de un tamaño de aproximadamente 160 nm.



Esquema 7: amidoalquilación utilizando el escualenol



Esquema 8: amidoalquilación utilizando el escualenol con residuo tionilo espaciador (cisteamina)

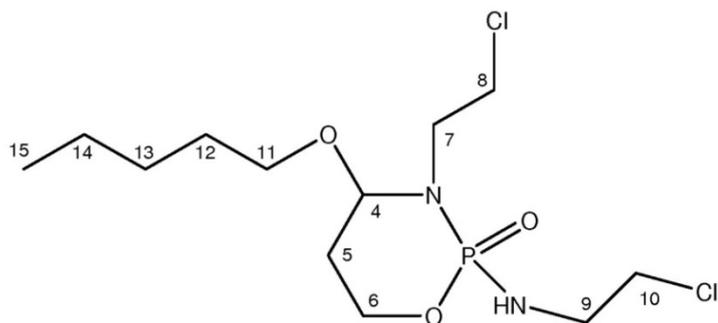
- 5 El mismo tipo de reacción se ha considerado para la ciclofosfamida o la trofosfamida que también es oxidable en posición 4 en su forma 4-metoxi para conducir a la forma imina del fosforilo.

Este método en dos tiempos, permite obtener análogos de la ifosfamida 4-sustituidos. Por comparación con la oxidación directa, la ventaja principal de esta técnica es la utilización de cantidades pequeñas de nucleófilos. Esta ventaja será mayor cuando se utilicen nucleófilos costosos. Además, esta técnica es compatible con una mayor variedad de nucleófilos. Finalmente, la producción de 4-MeO-IFO se puede realizar con grandes cantidades de IFO.

10

Análisis estructural

(2-Cloro-etil)-[3-(2-cloro-etil)-2-oxo-4-pentiloxi-2λ5-[1,3,2]oxazafosfinan-2-il]-amina o 4-pentoxi-IFO



36a y 36b

15

Protocolo: en una celda electroquímica de 8 mL, se han disuelto 110 mg de IFO (0,4 mmoles) en 4,0 mL de acetonitrilo anhidro. Se ha añadido un equivalente de electrolito soporte (95 mg de tetrafluoroborato de tetraetilamonio) y luego quince equivalentes (7,1 mmoles, 0,77 mL) de pentan-1-ol. El medio se ha desgasificado por burbujeo de nitrógeno y se ha colocado en un baño de hielo. La agitación se ha asegurado con un agitador magnético. Se han introducido dos electrodos en la celda.

Después del paso de 3,6 F/mol con 20 mA, la reacción se ha detenido cortando la corriente eléctrica. Se ha añadido un equivalente de bicarbonato de sosa al medio con el fin de neutralizar los hidrones liberados en el transcurso de la reacción y que son susceptibles de degradar el producto.

- 5 El disolvente se ha evaporado a presión reducida, y el residuo se ha recogido 2 veces con 8 mL de acetonitrilo para acarrear el máximo de alcohol. A continuación se han añadido 15 mL de éter etílico para insolubilizar el electrolito soporte. Después de filtración de la fase etérea, ésta se ha evaporado a presión reducida.

Los productos obtenidos se han purificado por cromatografía (eluyente éter etílico/metanol; 95/5). Se han obtenido los diastereómeros 36a y 36b con una separación de 90%.

Organoléptico: aceite ligeramente amarillo

- 10 $R_f = 0,24$ y $0,39$ para X1 y X2 (Et_2O).

Fórmula bruta: $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_3\text{P}$.

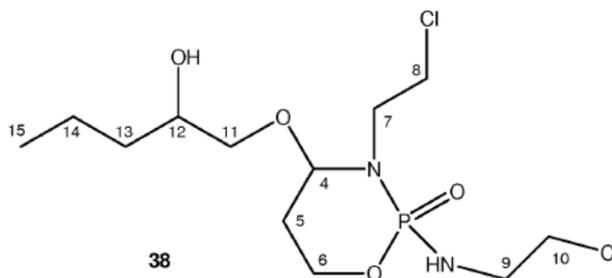
RMN en CDCl_3

^{31}P δ (ppm); 9,6 (diastereómero 36a), 9,3 (diastereómero 36b).

- 15 ^{13}C δ (ppm): 13,9 (C_{15}); 22,4 (C_{14}); 28,4 (C_{13}); 29,5 (C_5); 42,7 (C_7); 44,0 (C_8); 46,6 (C_{10}); 49,5 (C_9); 62,5 (C_{11}); 68,5 (C_6); 89,3 (C_4).

^1H δ (ppm): 0,92 (t, 3H, H_{15}); 1,40 (m, 4H, H_{13} , H_{14}); 1,62 (m, 2H, H_{12}); 2,10 (m, 1H, $\text{H}_{5\text{eq}}$); 2,26 (td, 1H, $\text{H}_{5\text{Ax}}$); 3,33 (m, 2H, H_9); 3,45 (m, 2H, H_7); 3,56 (m, 2H, H_{11}); 3,73 (m, 4H, H_{10} , H_8); 4,15 (m, 1H, $\text{H}_{6\text{Eq}}$); 4,45 (m, 1H, $\text{H}_{6\text{Ax}}$); 4,60 (m, 1H, H_4).

1-[3-(2-Cloro-etil)-2-(2-cloro-etilamino)-2-oxo-2 λ -5-[1,3,2]oxazafosfinan-4-iloxi]-pentan-2-ol / 4-(2OH)-pentoxi-IFO



- 20 **38**
Protocolo similar al utilizado para la 4-pentoxi-IFO

Los productos obtenidos se han purificado por cromatografía (eluyente éter etílico/metanol; 90/10), 2 columnas sucesivas.

Organoléptico: aceite ligeramente amarillo.

- 25 $R_f = 0,32$ y $0,50$ para X1 y X2 respectivamente (manchas poco diferentes) ($\text{Et}_2\text{O}/\text{MeOH}$ 90/10).

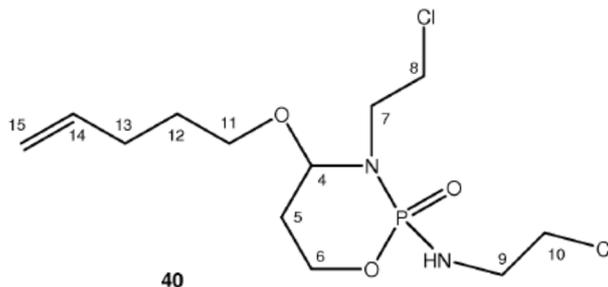
Fórmula bruta: $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_4$.

RMN en CDCl_3 .

^{31}P δ (ppm); 9,78 (diastereómero 38a), 9,88 (diastereómero 38b).

- 30 ^1H δ (ppm): 0,95 (t, 3H, H_{15}); 1,30 (sl, 1H, OH); 1,40 (m, 4H, 2H_{13} , 2H_{14}); 1,92 (m, 2H, H_5); 2,25 (sl, 1H, NH); 3,30 (m, 4H, 2H_7 , 2H_9); 3,40 (m, 3H, 2H_{11} , H_{12}); 3,70 (m, 4H, 2H_8 , 2H_{10}); 4,15 (m, 1H, $\text{H}_{6\text{Eq}}$); 4,50 (m, 1H, $\text{H}_{6\text{Ax}}$); 4,70 (m, 1H, H_4).

(2-Cloro-etil)[3-(2-cloro-etil)-2-oxo-4-pent-4-eniloxi-2λ⁵-[1,3,2]oxazafosfinan-2-il]-amina / o 4-pentenoxi-IFO



Protocolo similar al utilizado para la 4-pentoxi-IFO

Los productos obtenidos se purifican por cromatografía (eluyente éter etílico/metanol; 97/3).

5 Organoléptico: aceite ligeramente amarillo.

R_f = 0,68 y 0,78 para X1 y X2 respectivamente (manchas poco diferentes) ($\text{Et}_2\text{O}/\text{MeOH}$ 95/5).

Fórmula bruta: $\text{C}_{12}\text{H}_{23}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_3$.

IR (película); ν (cm^{-1}): 2924 (C-H), 2361, 1640 (C=C), 1434 (P-N), 1257 (P=O), 1065-1113 (P-O-C).

RMN en CDCl_3 .

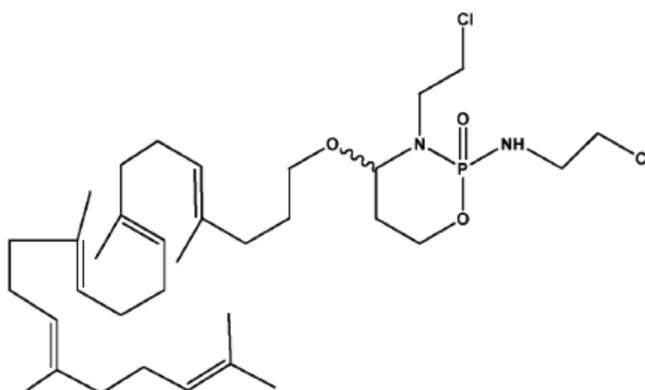
10 ^{31}P δ (ppm); 9,51 (diastereómero 40a), 9,23 (diastereómero 40b).

^{13}C δ (ppm): 28,9 (C_5); 35,6 (C_{12}); 36,9 (C_{13}); 42,6 (C_9); 44,5 (C_7); 47,3 (C_8); 50,0 (C_{10}); 62,5 (C_6); 67,8 (C_{11}); 89,5 (C_4); 115,9 (C_{15}); 138,0 (C_{14}).

^1H δ (ppm): 0,95 (sl, 1H, NH); 1,30 (m, 2H, 2H_{13}); 1,48 (s, 1H, 1H_{11}); 1,75 (q, 2H, H_{12}); 1,90 (d, 1H, H_{11}); 2,25 (m, 2H, 2H_5); 3,20 (m, 2H, 2H_9); 3,35 (m, 2H, 2H_7); 3,65 (m, 2H, 2H_8); 3,75 (m, 2H, 2H_{10}); 4,25 (m, 1H, $\text{H}_{6\text{Eq}}$); 4,50 (m, 1H, $\text{H}_{6\text{Ax}}$); 4,65 (m, 1H, H_4); 5,10 (m, 2H, 2H_{15}); 5,80 (m, 1H, H_{14}).

15

(2-Cloro-etil)-[3-(2-cloro-etil)-2-oxo-4-escualenil-[1,3,2]oxazafosfinan-2-il]-amina / o 4-SQ-IFO



20 Protocolo: a partir de la 4-metoxi-ifosfamida, se añade en condiciones similares a los productos anteriores (-78°C , CH_2Cl_2 , BF_3 , Et_2O , 30 min) 1 equivalente de tris-nor-escualenol para formar el compuesto esperado con un rendimiento de 53%.

Los productos obtenidos se purifican por cromatografía.

Organoléptico: aceite ligeramente amarillo

Fórmula bruta: $\text{C}_{34}\text{H}_{61}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_3\text{P}$

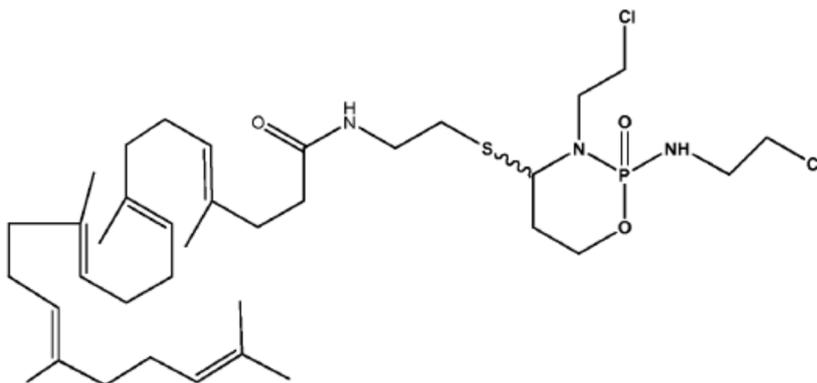
IR (película); ν (cm^{-1}): 2956 (C-H), 2352, 1638 (C=C), 1432 (P-N), 1258 (P=O), 1063-1109 (P-O-C).

25 *RMN* en CDCl_3 .

^{13}C δ (ppm): 33,4 (C₅); 35,6 (C₁₂); 36,9 (C₁₃); 42,6 (C₉); 44,5 (C₇); 47,3 (C₈); 50,0 (C₁₀); 63,5 (C₆); 67,8 (C₁₁); 89,5 (C₄); 125,9 (C_{etileno}); 132,0 (C_{cuat}).

^1H δ (ppm): 0,95 (sl, 1H, NH); 1,30 (m, 2H, 2H₁₃); 1,55 (s, 18H); 1,95 (m, 20H); 3,20 (m, 2H, 2H₉); 3,35 (m, 2H, 2H₇); 3,55 (m, 2H, 2H₈); 3,65 (m, 2H, 2H₁₀); 4,25 (m, 1H, H_{6Eq}); 4,50 (m, 1H, H_{6Ax}); 4,65 (m, 1H, H₄); 5,05 (m, 5H, H_{etilénicos}).

5 (2-Cloro-etil)-[3-2-cloro-etil]-2-oxo-4-mercaptoetilamidoescualen-[1,3,2]oxazafosfinan-2-il]-amina o 4-tio SQ-IFO



Protocolo: a partir de la 4-metoxi-ifosfamida, se añade en condiciones similares a los productos anteriores (-78°C, CH₂Cl₂, BF₃, EtO₂, 30 min) 1 equivalente de ácido cisteamido-escualénico para formar el compuesto esperado con un rendimiento de 60%.

10 Los productos obtenidos se purifican por cromatografía.

Organoléptico: aceite ligeramente amarillo

Fórmula bruta: C₃₆H₆₄Cl₂N₃O₃PS

IR (película); ν (cm⁻¹): 2956 (C-H), 2352, 1746 (C=O), 1638 (C=C), 1432 (P-N), 1258 (P=O); 1063-1109 (P-O-C).

RMN en CDCl₃.

15 ^{13}C δ (ppm): 33,4 (C₅); 35,6 (C₁₂); 36,9 (C₁₃); 42,6 (C₉); 44,5 (C₇); 47,3 (C₈); 50,0 (C₁₀); 63,5 (C₆); 67,8 (C₁₁); 89,5 (C₄); 125,9 (C_{etileno}); 132,0 (C_{cuat}).

^1H δ (ppm): 0,95 (sl, 1H, NH); 1,30 (m, 2H, 2H₁₃); 1,55 (s, 18H); 1,95 (m, 20H); 3,20 (m, 2H, 2H₉); 3,35 (m, 2H, 2H₇); 3,55 (m, 2H, 2H₈); 3,65 (m, 2H, 2H₁₀); 4,25 (m, 1H, H_{6Eq}); 4,50 (m, 1H, H_{6Ax}); 4,65 (m, 1H, H₄); 5,05 (m, 5H, H_{etilénicos}), 7,35 (sl, 1H, NH).

20 Observación: el ácido cisteamido-escualénico y el tris-nor escualenol se pueden obtener a partir de aldehído de escualeno por métodos de síntesis clásica. La síntesis de derivados aldehído del escualeno se describe en Ceruti *et al.*, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 2002, 1477-1486 (ver esquema 2 p.1479).

Ejemplo 2: Evaluación biológica de los compuestos 4-tio SQ-IFO y 4-SQ-IFO

I. Evaluación de la citotoxicidad *in vitro*

25 I.1. Material y métodos

Cultivo celular y condiciones de cultivo

Se ha estudiado la citotoxicidad de las nanopartículas de SQ-IFO y SQ-tio-IFO en varias líneas:

- A549: adenocarcinoma humano alveolar de las células epiteliales basales.
- MCF-7: carcinoma mamario humano
- 30 • MCF-7 MDR: carcinoma mamario humano resistente
- B16F10: melanoma de ratón
- KB 3.1: carcinoma epidermoide humano
- M109: células tumorales pulmonares de ratón
- MiaPaCa-2: carcinoma pancreático humano
- 35 • UW-479: glioma pediátrico humano
- IGR OVI: cáncer de ovario humano
- SK-N-MC: neuroectodermal, reclasificado en Ewing (expresión del oncogén EWS/Flip-1)

Las líneas se mantienen en un medio de cultivo DMEM o RPMI suplementado con 10% de suevo de ternera fetal y 1% de antibióticos (100 U/mL de penicilina y 100 µg/mL de estreptomina) en una incubadora a 37°C con 5% de dióxido de carbono en atmósfera húmeda.

5 Las células se siembran en placas de 96 pozos (TPP). La siembra se ha optimizado para cada línea para un tiempo de incubación de 72 horas.

Las células A549, MCF-7, B16F10, M109, MiaPaCa-2 se siembran a $5 \cdot 10^3$ células/pozo. KB 1.3 se siembra a $2 \cdot 10^3$ células/pozo. IGR-OV1 se siembran a 10^4 células/pozo y UW479 y SK-N-MC a $5 \cdot 10^4$ células/pozo.

Preparación de las suspensiones de nanopartículas

10 Los compuestos SQ-IFO y SQ-tio-IFO se han sintetizado según el protocolo descrito anteriormente. Para cada compuesto, se ha preparado una suspensión acuosa de nanopartículas según la técnica de nanoprecipitación descrita en *Fessi, Int. J. Pharm.* 19889, 55, R1-R4. Las nanopartículas obtenidas son esféricas y presentan un tamaño medio de 182 nm.

15 Para cada compuesto, se han ensayado diferentes concentraciones comprendidas entre 0,1 y 100 µM mediante dilución sucesiva en medio de cultivo de una disolución madre de 2 mg/mL para la SQ-IFO y de una disolución madre de 10 mg/mL para la SQ-tio-IFO.

Ensayo de viabilidad celular

20 Después de 72 horas de incubación, se determina la viabilidad celular por observación de la reducción del reactivo MTS en formazan (Kit Cell titer 96 Aquerus one solution, Promega). Se añaden 20 µL de una disolución de 5 mg/mL de MTS en PBS por pozo. El tiempo de incubación del MTS se optimiza para cada línea, a continuación se realiza la lectura de la absorbancia a 490 nm mediante un lector de placa (EL808, Biotek).

Los resultados se expresan en porcentaje de células no tratadas. Los datos se han tratado con el programa informático Prism 4 (Graph Pad Software, San Diego). Las CI50 encontradas también se han calculado de esta forma para cada línea. La ifosfamida y el escualenol se han utilizado como control.

I.2. Resultados

25 La tabla 5 siguiente presenta, para cada compuesto ensayado, la CI50 obtenida para cada línea celular.

Se ve claramente que los compuestos IFO-SQ y IFO-tio-SQ presentan una citotoxicidad *in vitro* elevada: de esta forma estos compuestos son capaces de liberar la mostaza alquilante sin activación previa por los citocromos P450.

30 De forma destacada, se observa un perfil de actividad diferente para la IFO-tio-SQ y la IFO-SQ en función de la línea celular cancerosa. La IFO-tio-SQ presenta una actividad citotóxica elevada frente a las líneas celulares M109, SK-N-MC (Ewing), UW 479 (glioma) e IGR-OV1 (Ovario). Dicha actividad no se observa para el compuesto IFO-SQ.

El compuesto escualenol e IFO no ejercen efecto citotóxico notable en las concentraciones ensayadas.

Tabla 5: CI50 de los compuestos IFO, SQ-IFO e SQ-tio-IFO obtenido para cada línea celular ensayada.

CI50 (µM)	Ifosfamida	Ifosfamida SQ	Ifosfamida tio SQ
A549	> 100	32,5	5,3
MCF-7	> 100	43,6	10,9
MCF-7 MDR	> 100	78,8	80
B16F10	> 100	73	16,9
KB 3.1	> 100	50	2,96
M109	> 100	> 100	9,2
MiaPaCa-2	> 100	32,5	4,4
SK-N-MC (Ewing)	> 100	> 100	19
UW 479 (Glioma)	> 100	> 100	65
IGR-OVI (Ovario)	> 100	> 100	81

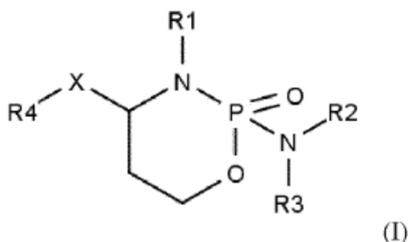
II. Evaluación de la eficacia *in vivo*

5 La eficacia citotóxica *in vivo* se ha evaluado en primer lugar sobre un modelo de rabdomiosarcoma xeno-injertado en ratón desnudo. El modelo utilizado es el modelo RD de rabdomiosarcoma pediátrico humano. En primer lugar, las células se han amplificado en cultivo, y luego contado. $10 \cdot 10^6$ células se han inyectado por vía subcutánea a nivel de los dos flancos de cada ratón. Después de la toma tumoral, y la obtención de los volúmenes tumorales superiores a 80 mm^3 , los ratones se han tratado con la SQ-IFO o con un placebo. Los resultados preliminares de este estudio muestran una disminución importante de los volúmenes tumorales en los ratones tratados por la SQ-IFO comparativamente a los ratones tratados en el placebo. Se esperan resultados análogos para el compuesto SQ-tio-IFO.

10

REIVINDICACIONES

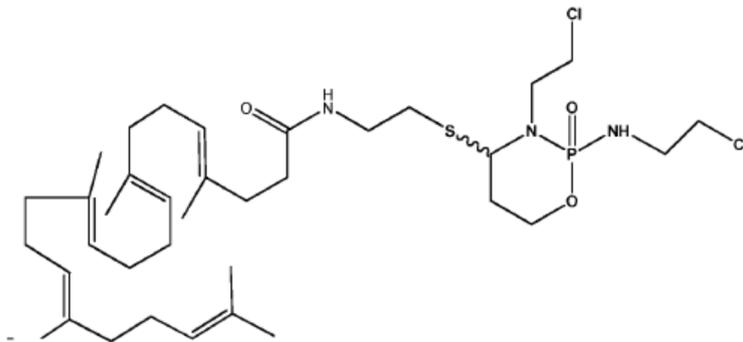
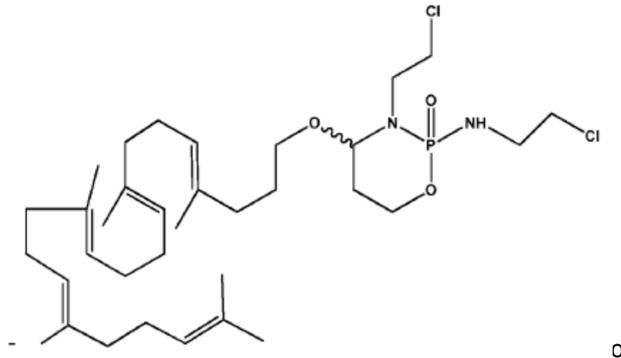
1. Compuesto de fórmula (I)



en la que:

- 5 - X es O o S;
 - R2 es H;
 - R1 y R3 son independientemente $-(CH_2)_2-Cl$ o $-CH(CH_3)-CH_2-Cl$; y
 - R4 es de fórmula $R_5(Y)_a$ en la que:
- 10 - Y representa un espaciador, preferentemente elegido entre el grupo formado por $-(CH_2)_m-$, $CONH(CH_2)_m-$, $NHCO(CH_2)_m-$, $-COO(CH_2)_m$ y $-OCO(CH_2)_m-$ siendo m un número entero que va de 1 a 10;
 - a es 1; y
 - R_5 es un grupo hidrocarbonado de 3 a 30 átomos de carbono, lineal o ramificado.
- o una sal farmacéuticamente aceptable de éste.
2. Compuesto según la reivindicación 1, en el que R1 y R3 son ambos bien $-(CH_2)_2-Cl$ o bien $-CH(CH_3)-CH_2-Cl$.
- 15 3. Compuesto según la reivindicación 1 ó 2, en el que R5 es un grupo hidrocarbonado de 3 a 30 átomos de carbono, saturado, lineal o ramificado.
4. Compuesto según la reivindicación 1 ó 2, en el que R5 es un grupo hidrocarbonado de 3 a 30 átomos de carbono, insaturado, lineal o ramificado.
- 20 5. Compuesto según la reivindicación 1 ó 2, en el que R5 comprende de 1 a 6 ramificaciones, siendo dichas ramificaciones grupos metilo, y/o de 1 a 4 insaturaciones.
6. Compuesto según la reivindicación 1 ó 2, en el que R5 comprende uno o varios restos derivados del isopreno.
7. Compuesto según la reivindicación 1 ó 2, en el que R5 se elige entre el grupo formado por:
- (a) $(CH_3)_2C=CH-CH_2-CH_2-[C(CH_3)=CH-CH_2-CH_2]_m-$ siendo m un número entero que va de 0 a 5 y
- 25 (b) $(CH_3)_2C=CH-CH_2-CH_2-[C(CH_3)=CH-CH_2-CH_2]_p-[CH=C(CH_3)-CH_2-CH_2]_q$ siendo p un número entero que va de 1 a 5 y q un número entero que va de 1 a 5.
8. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2, en el que R4 es un radical escualenoilo.
9. Compuesto según la reivindicación 1, en el que R2 es H y R1 y R3 son $-(CH_2)_2-Cl$ y R4 es un radical escualenoilo, X pudiendo ser O o S.

10. Compuesto según la reivindicación 1, eligiéndose dicho compuesto entre:



5 11. Nanopartícula formada por un compuesto de fórmula (I) tal como se ha definido en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10.

12. Nanopartícula según la reivindicación 11, en la que el compuesto de fórmula (I) es tal que:

- X es O o S;
- R2 es H;
- R1 y R3 son independientemente $-(CH_2)_2-Cl$ o $-CH(CH_3)-CH_2-Cl$; y

10 - R4 es radical escualenoilo;

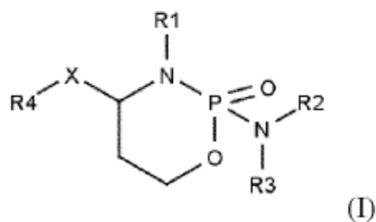
o una sal farmacéuticamente aceptable de éste.

13. Nanopartícula según la reivindicación 11, en la que el compuesto de fórmula (I) es tal como se ha definido en la reivindicación 10.

15 14. Composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) tal como se ha definido en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 o que comprende una nanopartícula según una cualquiera de las reivindicaciones 11 a 13.

15. Composición farmacéutica según la reivindicación 14 para una utilización en el tratamiento del cáncer o como inmunosupresor.

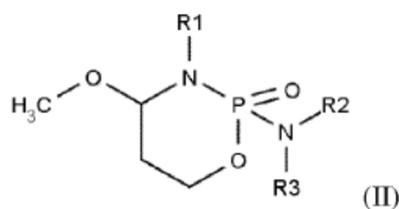
16. Método de preparación de un compuesto de fórmula (I):



tal como se ha definido en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10,

5 comprendiendo dicho método:

- el suministro de un compuesto de fórmula (II)



- en la que R1, R2 y R3 son tal como se han definido en la fórmula (I), y

10 - la reacción del compuesto de fórmula (II) con un alcohol o un tiol de fórmula (III) R4-XH, en la que X y R4 son tal como se han definido en la fórmula (I), en presencia de un ácido de Lewis, siendo dicho ácido de Lewis $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$.