

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 677 477**

51 Int. Cl.:

A61K 47/61 (2007.01)

C07H 19/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.09.2013 PCT/EP2013/069979**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.04.2014 WO14048996**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.09.2013 E 13766351 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.04.2018 EP 2900273**

54 Título: **Compuestos medicinales unidos a coloides**

30 Prioridad:

28.09.2012 EP 12186555

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

02.08.2018

73 Titular/es:

B. BRAUN MELSUNGEN AG (100.0%)

Carl-Braun-Strasse 1

34212 Melsungen, DE

72 Inventor/es:

ROSEMEYER, HELMUT y

MALECKI, EDITH

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 677 477 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

Compuestos medicinales unidos a coloides

5 La invención se refiere a compuestos medicinales o marcadores fluorescentes unidos a coloides, a un proceso para la preparación de los mismos, y a una formulación farmacéutica que contiene tales compuestos.

10 Alcanzar buena solubilidad y/o estabilidad química y metabólica puede ser un asunto exigente en el desarrollo de fármacos. Como resultado, un número significativo de fármacos o candidatos a fármacos muestra propiedades subóptimas, que potencialmente producen administración repetida, altas dosis y costes de bienes asociados, y representan una carga, tanto para el paciente como para las empresas farmacéuticas que los desarrollan. A lo largo de los últimos 30 años, se han desarrollado unos pocos enfoques innovativos para intentar abordar estos problemas ya sea a través de estrategias de formulación y/o metodologías de bioconjugación tal como PEGilación. Los derivados de almidón (por ejemplo, HES) son polisacáridos semisintéticos solubles en agua que se han usado en grandes cantidades durante décadas en el cuidado hospitalario notablemente para el tratamiento de hipovolemia y que muestran bajo potencial de toxicología. Su comportamiento en el cuerpo humano, por tanto, se entiende muy bien. Se ha descrito recientemente que también se podrían usar como conjugados biopolímeros y podrían representar como tales una alternativa elegante a otras metodologías descritas anteriormente.

20 La unión covalente a coloides permite introducir sustancias por fagocitosis en células del sistema inmunitario, que no se absorberían, o si acaso en cantidades insignificantes, sin tal modificación. El documento EP 1 230 935 A1 describe la unión química de sustancias médicamente activas a un polisacárido para formar un enlazador. La absorción de sustancias por células correspondientemente especializadas del sistema reticulohistocitario se ha demostrado para una amplia variedad de coloides y partículas. Sin embargo, todavía hay una necesidad para mejorar los complejos de unión en términos de suficiente disponibilidad de la sustancia médicamente activa y/o el marcador fluorescente en las células que también requiere corte enzimático eficaz de la sustancia médicamente activa y/o el marcador fluorescente de la sustancia coloide activa.

30 El documento US 2005/0063943 A1 describe el acoplamiento de HES a un oligonucleótido a través de un enlace peptídico, empezando de un HES amino-funcionalizado.

35 En "Chemical analysis of a mycolic acid-arabinogalctan-mucopetide complex of mycobacterial cell wall", Biochemica et Biophysica Acta - General subjects, Elsevier Science Publishers, NL, vol. 208, no. 3, 16 de junio 1970, páginas 434-443 por F. Kanetsuna et al, los autores describen el acoplamiento de un azúcar a un polipéptido a través de un enlace peptídico. El organofosfato está presente como parte de un producto natural.

El documento US 2008/0194806 A1 describe el acoplamiento de un lípido o fosfolípido a un glucosaminoglucano a través de un enlace amida o éster.

40 El documento US 2005/0118119 A1 divulga un método para unir covalentemente un polisacárido y una microesfera o biomolécula con el uso de cloruro de 4-(4,6-dimetoxi[1,3,5]tricin-2-il)-4-metil-morfolinio (DMTMM).

45 En "A novel 5-fluorouracil prodrug using hydroxyethyl starch as a macromolecular carrier for sustained release", Carbohydrate Polymers, Elsevier Science Publishers, GB, vol. 87, 13 de noviembre 2011, paginas 2642-2647 por Q. Luo et al, los autores describen la síntesis de 5-fluorouracilo acoplado a HES, empezando de la respectiva nucleobase, a través de un grupo éster.

50 Sin embargo, ninguno de los anteriores describe el acoplamiento covalente directo de una fosforamida a una biomolécula sin el uso de un enlace amida, éster o peptídico.

Para la introducción de sustancias médicamente activas o un marcador fluorescente en órganos específicos y sistemas celulares del cuerpo, se deben cumplir las siguientes condiciones:

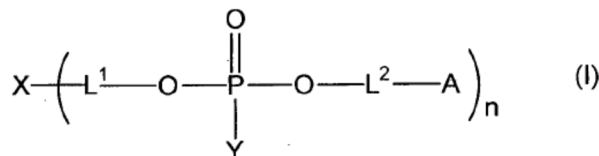
- 55 1. El complejo del medicamento, que consiste en el medicamento químicamente unido a un coloide, debe ser soluble en agua y circular en la sangre durante un periodo de tiempo suficiente.
2. El complejo del medicamento no debe tener influencia sobre la coagulación de la sangre.
3. La sustancia médicamente activa debe ser cortable de la sustancia coloide activa, en especial cortable enzimáticamente.

60 El objeto de la presente invención es proporcionar una forma novedosa y versátil para unir coloides, especialmente moléculas de HES o derivados, a un principio activo o un marcador fluorescente a través de un enlace diéster de ácido fosfórico, dando por tanto acceso a bioconjugados novedosos. Estos bioconjugados retienen actividad biológica al tiempo que muestran propiedades de fármaco mejoradas.

65 Sorprendentemente, se ha encontrado ahora que la unión de una sustancia médicamente activa o un marcador fluorescente a un coloide (compuesto coloide activo) a través de un diéster de ácido fosfórico resuelve los problemas

mencionados anteriormente, en particular, como un sistema de transporte adecuado para medicamentos y/o marcadores fluorescentes covalentemente unidos al mismo.

La presente invención se refiere a un compuesto de fórmula general (I)



en donde

X es un compuesto coloide activo;

seleccionado del grupo que consiste en amilosas, amilopectinas, acemananos, arabinogalactanos, galactomananos, galactoglucomananos, xantanas, carragenano, ácido hialurónico, ácido hialurónico desacetilado, almidón y almidón modificado seleccionado del grupo que consiste en hidroxialquil almidones, almidones esterificados, carboxialquil almidones, hidroxialquil carboxialquil almidón, hidroxialquil almidón aminado, hidroxialquil carboxialquil almidón aminado y carboxialquil almidón aminado;

L¹ es un primer enlazador mediante el cual X y el grupo fosfato se unen covalentemente y en donde L¹ se selecciona del grupo que consiste en un enlace sencillo, alcandiilo, alquendiilo y alquindiilo;

L² es un segundo enlazador mediante el cual el grupo fosfato y A se unen covalentemente;

A es una sustancia medicamente activa seleccionada del grupo que consiste en antibióticos, quimioterapéuticos, agentes citostáticos, antígenos, oligonucleótidos, analgésicos y sustancias citotóxicas; o un marcador fluorescente;

Y es H u OH; y

n es un número entero de al menos 1.

En una forma de realización de la presente invención, n es un número entero desde 1 a 10.000, preferiblemente desde 2 a 1000, más preferiblemente desde 5 a 500, en especial desde 10 a 100.

En una forma de realización más preferida el compuesto coloide activo se selecciona del grupo que consiste en amilosas, amilopectinas, acemananos, arabinogalactanos, galactomananos, galactoglucomananos, xantanas, carragenano, ácido hialurónico, ácido hialurónico desacetilado, quitosano, almidón y almidón modificado.

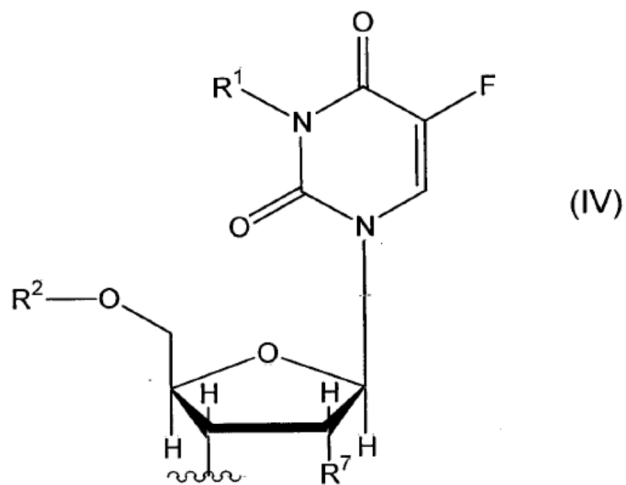
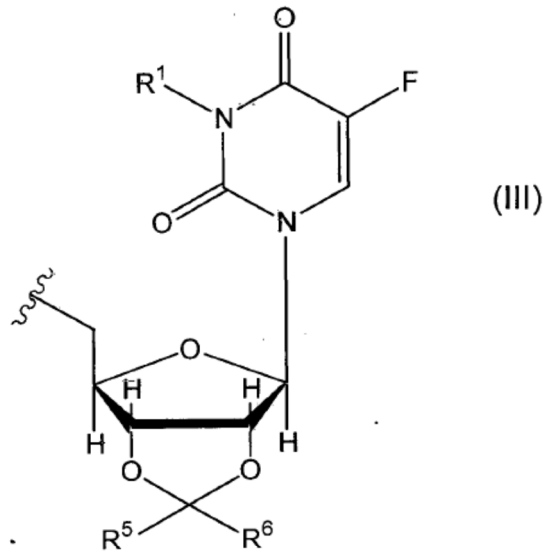
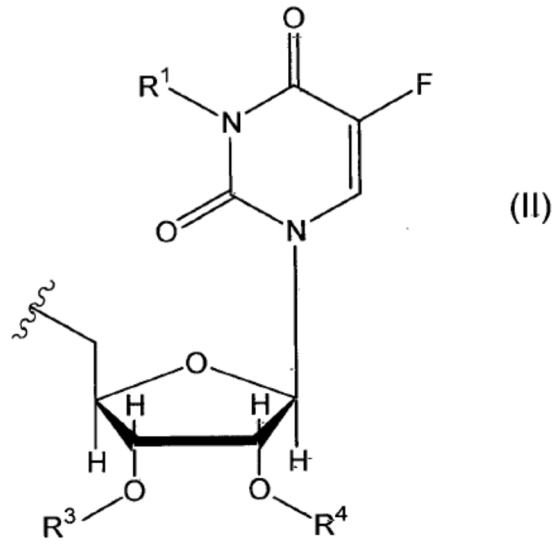
El almidón modificado se selecciona del grupo que consiste en hidroxialquil almidones, almidones esterificados, carboxialquil almidones, hidroxialquil carboxialquil almidón, hidroxialquil almidón aminado, hidroxialquil carboxialquil almidón aminado y carboxialquil almidón aminado.

Según una forma de realización preferida el almidón modificado se selecciona de hidroxietil almidón o hidroxietil almidón aminado. Preferiblemente el grado de sustitución, DS, del almidón modificado, especialmente hidroxietil almidón, es desde 0,2 a 0,8, preferiblemente de 0,3 a 0,6.

Ventajosamente, el compuesto coloide activo tiene un peso molecular medio desde 20.000 a 800.000 dalton, preferiblemente desde 25.000 a 500.000 dalton, en especial desde 30.000 a 200.000 dalton.

A en la fórmula (I) preferiblemente se selecciona del grupo que consiste en 5-fluoroacilo, anfotericina B, daunorrubicina, doxorrubicina, cladribina, Zosyn (Tazosyn), floxuridina, delafloxacina, gemcitabina, irinotecano, vadimezan, fluconazol, voriconazol y ravuconazol.

Específicamente dicho compuesto médicamente activo A se selecciona de la fórmula (II) a (IV)



5 en donde

R¹ es H o una fracción orgánica, preferiblemente una cadena de C₁-C₂₈ que puede ser ramificada o lineal y que puede ser saturada o insaturada y que puede opcionalmente estar interrumpida y/o sustituida por uno o más heteroátomo(s) (Het1) y/o grupo(s) funcional(es) (G1); o

5 R¹ es una fracción de C₃-C₂₈ que comprende al menos una estructura cíclica y que puede ser saturada o insaturada y que puede opcionalmente estar interrumpida y/o sustituida por uno o más heteroátomo(s) (Het1) y grupo(s) funcional(es) (G1);

R² es H o una fracción orgánica que comprende de 1 a 30 átomos de carbono;

10 R³ y R⁴ representan independientemente entre sí H o una fracción de alquilo de C₁-C₂₈ que puede estar opcionalmente sustituida o interrumpida por uno o más heteroátomo(s) y/o grupo(s) funcional(es); o

15 R³ y R⁴ forman un anillo que tiene al menos 5 miembros, preferiblemente un anillo que tiene de 5 a 8 átomos de carbono y en donde el anillo puede estar sustituido o interrumpido por uno o más heteroátomo(s) y/o grupo(s) funcional(es);

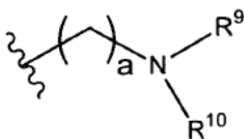
20 R⁵ y R⁶ representan independientemente entre sí H o una fracción de alquilo de C₁-C₂₈ que puede estar opcionalmente sustituida o interrumpida por uno o más heteroátomo(s) y/o grupo(s) funcional(es); o

R⁵ y R⁶ forman un anillo que tiene al menos 5 miembros, preferiblemente un anillo que tiene de 5 a 18 átomos de carbono y en donde el anillo puede estar sustituido o interrumpido por uno o más heteroátomo(s) y/o grupo(s) funcional(es);

25 R⁷ es un átomo de hidrógeno o -O-R⁸;

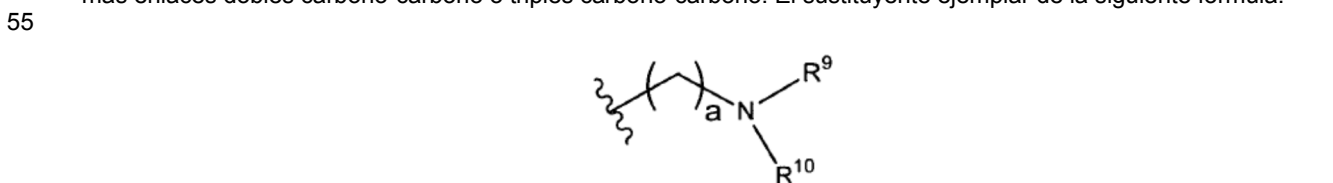
R⁸ es H o una cadena de C₁-C₂₈ que puede ser ramificada o lineal y que puede ser saturada o insaturada y que puede opcionalmente estar interrumpida y/o sustituida por uno o más heteroátomo(s) (Het1) y/o grupo(s) funcional(es) (G1).

30 En una forma de realización preferida el sustituyente R¹ es una cadena lineal o ramificada que comprende de 1 a 50 carbonos que puede estar interrumpida y/o sustituida por uno o más heteroátomo(s) (Het1) y/o grupo(s) funcional(es) (G1). Preferiblemente, R¹ es una cadena lineal o ramificada que comprende de 2 a 40, más preferiblemente de 3 a 30, en especial de 4 a 28 o de 6 a 20 o de 8 a 16 átomos de carbono. En un aspecto de la invención R¹ es un alquilo de C₁-C₂₈, preferiblemente alquilo de C₂-C₂₀, más preferiblemente alquilo de C₄-C₂₀ o alquilo de C₆-C₁₈, especialmente alquilo de C₆-C₁₆ lineal o ramificado que puede estar sustituido o sin sustituir. En un aspecto adicional de la invención la cadena de carbono está interrumpida por uno o más heteroátomo(s) (Het1) en donde el Het1 se selecciona preferiblemente de O, S y N, más preferiblemente se selecciona de O o N. En un aspecto el sustituyente R¹ está interrumpido por hasta 3 heteroátomo(s) (Het1), preferiblemente 1 o 2 heteroátomos tal como O. En un aspecto adicional de la invención la cadena de carbono del sustituyente R¹ está interrumpida por nitrógeno que preferiblemente ramifica además la cadena. Una forma de realización ejemplar de este tipo de sustituyente se refleja en la siguiente fórmula:

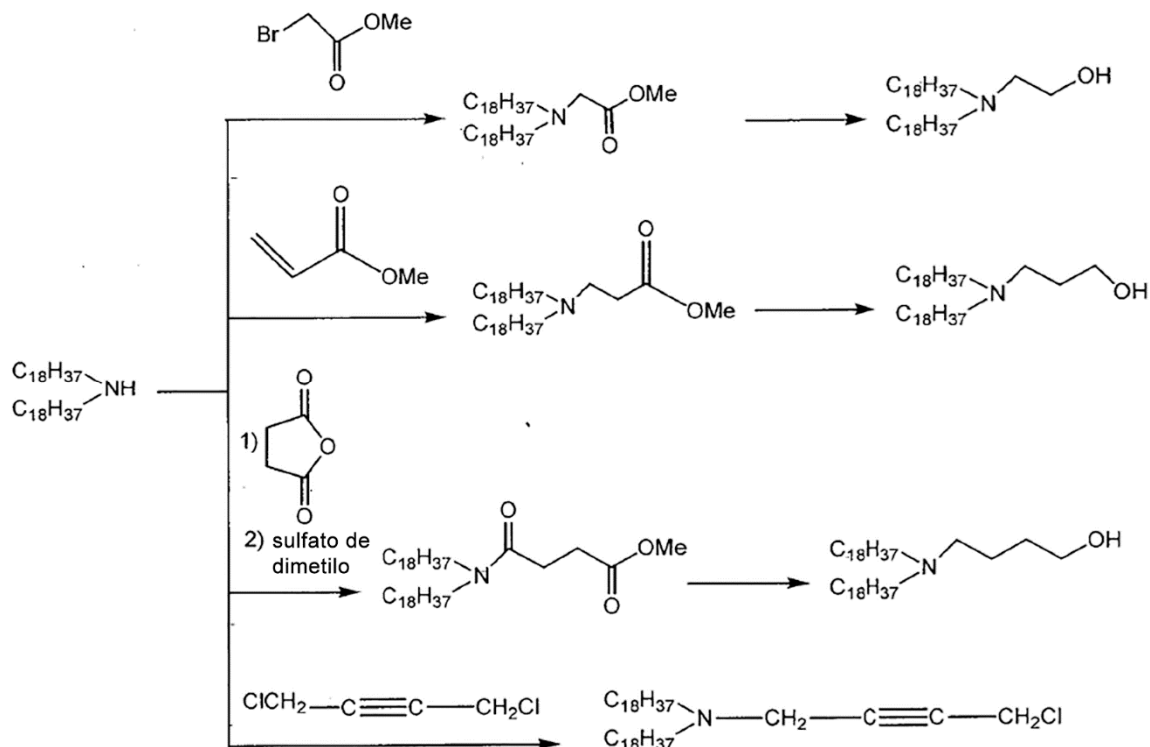


45 en donde R⁹ y R¹⁰ se seleccionan independientemente de una cadena de C₁ a C₃₀ que puede ser saturada o insaturada, preferiblemente un alquilo de C₁ a C₃₀, preferiblemente alquilo de C₄ a C₂₄, más preferiblemente alquilo de C₈ a C₂₂ y especialmente alquilo de C₁₂ a C₁₈; o una cadena de C₂ a C₃₀ que tiene uno o más enlace(s) doble(s) carbono-carbono y/o triple(s) carbono-carbono; y

50 "a" es un número entero que varía desde 1 a 20, preferiblemente de 2 a 18, más preferiblemente de 3 a 12 o de 4 a 8. Sin embargo, la fracción de unión que une el átomo de nitrógeno con los sustituyentes R⁹ y R¹⁰ a la fracción 5-fluorouracilo también puede ser una cadena de carbono insaturada que tiene de 2 a 20 átomos de carbono y uno o más enlaces dobles carbono-carbono o triples carbono-carbono. El sustituyente ejemplar de la siguiente fórmula:



se puede sintetizar por varias rutas sintéticas. El esquema 1 muestra varias rutas sintéticas para precursores que se pueden unir a la fracción 5-fluorouracilo.



Esquema 1

10 Como se puede ver del esquema 1 varios precursores para la conexión con el átomo de nitrógeno de la fracción 5-fluorouracilo se pueden obtener por diferentes rutas sintéticas. En una forma de realización preferida de la presente invención el sustituyente R^1 es un sustituyente de doble cadena. Los sustituyentes de doble cadena se pueden obtener como se refleja en el esquema 2.

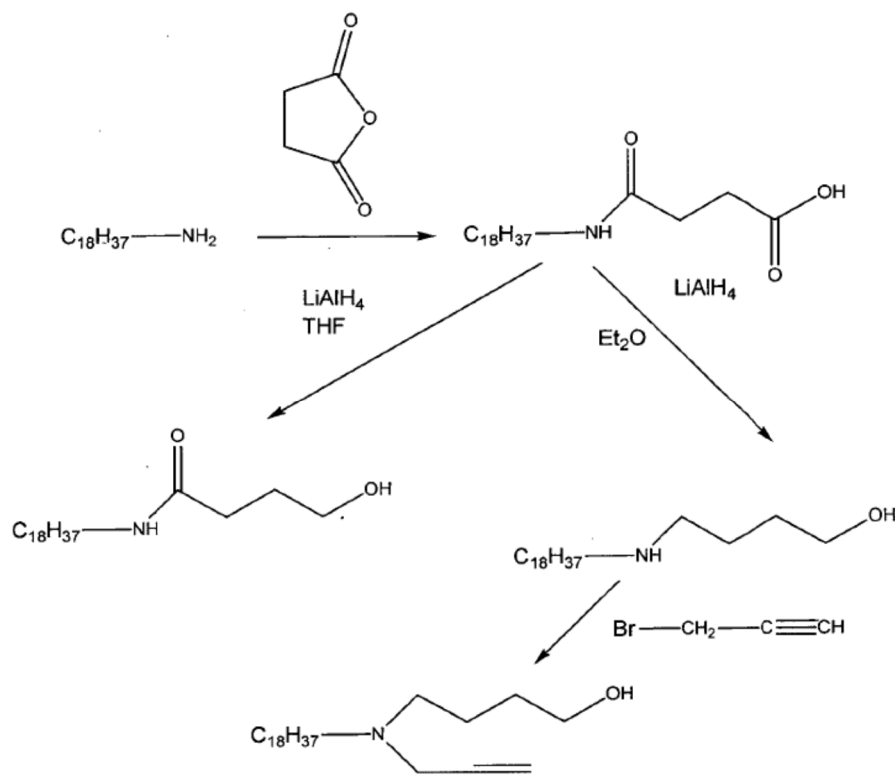
15 En un primer aspecto la dioctadecilamina se hace reaccionar con bromoacetato de metilo en presencia de dibenzo-[18]-corona-6 que produce el éster metílico puro en rendimiento casi cuantitativo. El éster se puede reducir con $LiAlH_4$ para dar el alcohol.

20 Para extender el espaciador entre el grupo hidroxilo y el nitrógeno que porta las cadenas de carbono, la dioctadecilamina se puede hacer reaccionar con acrilato de metilo lo que produce rendimiento casi cuantitativo del éster que se redujo adicionalmente con $LiAlH_4$ para dar un derivado aminopropanol lipofílico.

25 En un aspecto adicional la dioctadecilamina se hizo reaccionar con anhídrido succínico para dar el ácido que se puede convertir al éster metílico por reacción con sulfato de dimetilo en presencia de K_2CO_3 . El éster metílico se puede reducir después con $LiAlH_4$ lo que da el alcohol adicionalmente extendido, es decir, un derivado 4-aminobutanol lipofilizado.

En una reacción adicional la dioctadecilamina se puede alquilar con 1,4-diclorobut-2-ino en presencia de Na_2CO_3 en benceno.

30 En el siguiente esquema 2 se divulgan varias rutas sintéticas para obtener precursor de cadena sencilla o precursor de cadena doble con diferentes cadenas para la sustitución de la fracción 5-fluorouracilo. El precursor de cadena sencilla reflejado en el esquema 2 está interrumpido por un heteroátomo (N) o un grupo funcional (amida; NHCO).



Esquema 2

- 5 Como se puede ver del esquema 2, se pueden obtener precursores de cadena sencilla lipídicos por reacción de octadecilamina con anhídrido succínico lo que produce el ácido que se puede reducir con $LiAlH_4$ en THF a temperatura ambiente lo que produce la reducción del grupo carboxílico solo, pero no de la fracción amida y produce el alcohol amido en rendimiento del 82%. La sustitución de THF por Et_2O , sin embargo, produce el aminoalcohol en un alto rendimiento del 84%. La reacción posterior del aminoalcohol con bromuro de propargilo produce el alquino de doble cadena en un rendimiento el 61%.

Se ha encontrado sorprendentemente que las cadenas de carbono lipofílicas que comprenden un grupo funcional hidroxilo o un haluro se pueden introducir de forma regioselectiva en el derivado de 5-fluorouracilo. Los grupos lipofílicos se pueden colocar principalmente o bien en la base heterocíclica o en la fracción glucónica y se puede introducir por varios métodos, por ejemplo, por alquilación catalizada por base con haluros de alquilo.

La reacción de derivados de 5-fluorouracilo sin proteger con alquilos, alquenos o alquinos halogenados se puede realizar en DMF/ K_2CO_3 (alquilación directa) y produce la alquilación del átomo de nitrógeno sin sustituir en el anillo de 5-fluorouracilo.

Preferiblemente, el átomo de nitrógeno sin sustituir (posición 3) en el anillo de 5-fluorouracilo del derivado se sustituye por un precursor sustituido con halógeno siempre que los grupos hidroxilo presentes en el derivado de 5-fluorouracilo estén protegidos por grupos protectores. Los expertos en la materia conocen grupos protectores adecuados. Los ejemplos son dimetoxitritilo (DMT) y un grupo tert-butil-dimetilsililo.

Sorprendentemente, se ha encontrado que el precursor lipofílico funcional hidroxilo (tal como los aminoalcoholes reflejados en el esquema 1 y 2) se puede hacer reaccionar selectivamente con el átomo de nitrógeno sin sustituir del derivado de 5-fluorouracilo por una reacción de Mitsunobu. Esta reacción se lleva a cabo protegiendo primero cualquier grupo hidroxilo que pueda estar presente en el derivado de 5-fluorouracilo.

La reacción de Mitsunobu en general se lleva a cabo haciendo reaccionar el alcohol y el derivado 5-fluorouracilo que comprende el átomo de nitrógeno del anillo sin sustituir en presencia de trifenilfosfina y dicarboxilato de diisopropilazolo (DIAD).

Además, R^1 es preferiblemente una cadena de C_2 a C_{40} que es insaturada, más preferiblemente una cadena de C_8 a C_{28} que es insaturada. En una forma de realización de la invención, R^1 comprende uno o más doble(s) enlace(s) carbono-carbono y/o uno o más triple(s) enlace(s) carbono-carbono. En una forma de realización preferida particular R^1 comprende dos o más, especialmente de 2 a 6, tal como de 2 a 4 dobles enlaces carbono-carbono.

5 En una forma de realización especialmente preferida los sustituyentes derivan de la naturaleza. Los sustituyentes derivados de la naturaleza adecuados tienen una estructura derivada de terpenos. Cuando los terpenos se modifican químicamente tal como por oxidación o reorganización del esqueleto de carbono, los compuestos resultantes en general se denominan terpenoides. En una forma de realización preferida R^1 es un terpenoide cíclico o alicíclico, preferiblemente un terpenoide que tiene de 8 a 36 átomos de carbono.

Los terpenos preferiblemente se seleccionan de monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, sesterterpenos, triterpenos y sescuaterpenos.

10 Los monoterpenos o monoterpenoides adecuados que pueden ser acíclicos o cíclicos se seleccionan del grupo que consiste en geraniol, limoneno, pineno, bornileno y nerol.

Los sesquiterpenos o sesquiterpenoides adecuados que pueden ser acíclicos o cíclicos se pueden seleccionar, entre otros, de farnesol.

15 Los sesterterpenos o sesterterpenoides adecuados se seleccionan, entre otros, de geranilfarnesol.

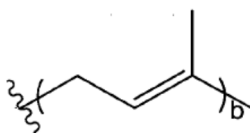
Los diterpenos o diterpenoides adecuados se pueden seleccionar del grupo que consiste en ácido abiético, afidicolina, cafestol, cembreno, ferruginol, forskolina, guanacastepeno A, kahweol, labdano, lagoquilina, esclareno, estemareno, esteviol, taxadieno (precursor de taxol), tiamulina, geranilgeraniol y fitol.

20 Según una forma de realización especialmente preferida de la invención, R^1 se selecciona del grupo que consiste en geranilo, farnesilo, nerilo y fitilo.

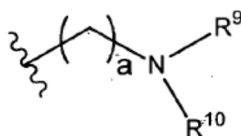
25 Según un aspecto alternativo adicional R^1 es H o una cadena de C_3-C_{28} que puede ser ramificada o lineal y que puede ser saturada o insaturada y que puede opcionalmente estar interrumpida y/o sustituida por uno o más heteroátomo(s) (Het1) y/o grupo(s) funcional(es) (G1); o

30 R^1 es una fracción de C_1-C_{28} que comprende al menos una estructura cíclica y que puede ser saturada o insaturada y que puede opcionalmente estar interrumpida y/o sustituida por uno o más heteroátomo(s) (Het1) y grupo(s) funcional(es) (G1).

Según una forma de realización especialmente preferida R^1 se selecciona de H,



y



y

35 fracciones terpeno cíclicas sustituidas o sin sustituir,

en donde

40 R^9 y R^{10} se seleccionan independientemente de alquilo de C_1 a C_{30} ,
 b es un número entero que varía de 1 a 4, preferiblemente n es 1 o 2; y
 a es un número entero que varía de 1 a 20, preferiblemente de 2 a 18.

45 En un aspecto adicional de la invención, el grupo A es un marcador fluorescente que preferiblemente se selecciona del grupo que consiste en isotiocianato de fluoresceína (FITC), ficoeritrina, rodamina, 2-aminopiridina y colorantes de cumarina.

50 En un aspecto adicional de la invención, el enlazador L^2 se selecciona de un enlace sencillo o una fracción saturada o insaturada que tiene de 1 a 30, preferiblemente de 2 a 20 átomos de carbono, más preferiblemente una cadena de carbono que puede estar sustituida y/o interrumpida por uno o más grupos funcionales seleccionados de éster de

ácido carboxílico, éster fosfato, amidas de ácido carboxílico, uretano, éter y grupos amino. L² también puede comprender fracciones cíclicas.

5 Según una forma de realización preferida, el enlazador L² se selecciona de un enlace sencillo; alcandiilo, preferiblemente alcandiilo de C₁-C₂₀; alquendiilo, preferiblemente un alquendiilo de C₂-C₂₀; alquindiilo, preferiblemente un alquindiilo de C₂-C₂₀; fracción arilo, fracción aralquilo y fracción heterocíclica.

10 Según una forma de realización preferida, el enlazador L¹ se selecciona de un enlace sencillo; alcandiilo, preferiblemente alcandiilo de C₁-C₂₀; alquendiilo, preferiblemente un alquendiilo de C₂-C₂₀; alquindiilo, preferiblemente un alquindiilo de C₂-C₂₀;

15 Preferiblemente el alcandiilo representa un grupo alcandiilo de cadena lineal o cadena ramificada unido por dos átomos de carbono diferentes a la molécula, preferiblemente representa un alcandiilo de C₁₋₁₂ de cadena lineal o cadena ramificada, en particular preferiblemente representa un alcandiilo de C₁₋₆ de cadena lineal o cadena ramificada; por ejemplo, metandiilo (--CH₂--), 1,2-etanodiilo (--CH₂-CH₂--), 1,1-etanodiilo ((--CH(CH₃)--), 1,1-, 1,2-, 1,3-propanodiilo y 1,1-, 1,2-, 1,3-, 1,4-butanodiilo, con preferencia particular dada a metandiilo, 1,1-etanodiilo, 1,2-etanodiilo, 1,3-propanodiilo, 1,4-butanodiilo.

20 Además, preferiblemente el alquendiilo representa un grupo alquendiilo de cadena lineal o cadena ramificada unido por dos átomos de carbono diferentes a la molécula, preferiblemente representa un alquendiilo de C₂₋₆ de cadena lineal o cadena ramificada; por ejemplo, --CH=CH--, --CH=C(CH₃)--, --CH=CH-CH₂--, --C(CH₃)=CH-CH₂--, --CH=C(CH₃)-CH₂--, --CH=CH-C(CH₃)H--, --CH=CH-CH=CH--, --C(CH₃)=CH-CH=CH--, --CH=C(CH₃)-CH=CH--, con preferencia particular dada a --CH=CH-CH₂--, --CH=CH-CH=CH--.

25 La fracción arilo preferiblemente representa un grupo hidrocarburo aromático, preferiblemente un grupo hidrocarburo aromático de C₆₋₁₀; por ejemplo, fenilo, naftilo, en especial fenilo que puede estar opcionalmente sustituido. La fracción aromática puede formar un enlazador en el que la fracción aromática está unida al diéster del ácido fosfórico y el grupo A. El grupo éster del ácido fosfórico y el grupo A pueden estar en posición orto, meta o preferiblemente para de la fracción aromática.

30 Fracción aralquilo indica un "arilo" unido a un "alquilo" y representa, por ejemplo, bencilo, α-metilbencilo, 2-feniletilo, α,α-dimetilbencilo, en especial bencilo. La fracción aralquilo puede estar unida al grupo éster de ácido fosfórico a través del alquilo o a través de la parte arilo de la fracción aralquilo. Asimismo, el grupo A puede estar unido al grupo éster del ácido fosfórico a través del alquilo o a través de la parte arilo de la fracción aralquilo.

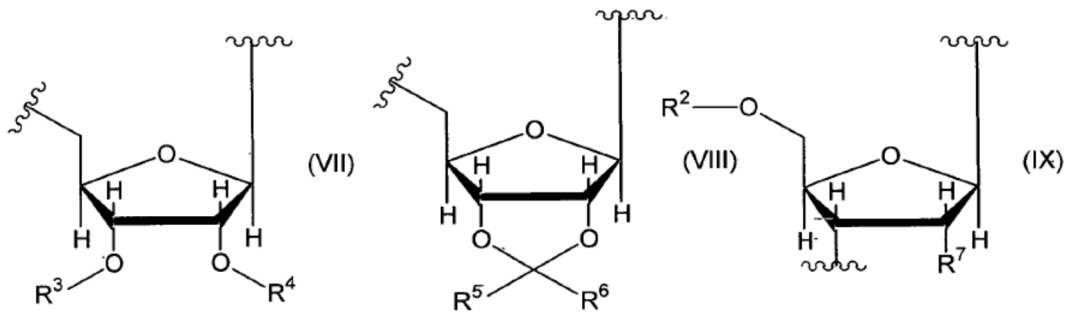
35 La fracción heterocíclica representa un sistema de anillo saturado, parcialmente saturado o aromático que contiene al menos un heteroátomo. Preferiblemente, los heterociclos consisten en de 3 a 11 átomos de anillo de los que 1-3 átomos de anillo son heteroátomos. Los heterociclos pueden estar presentes como un sistema de anillo individual o como sistemas de anillos bicíclicos o tricíclicos; preferiblemente, como un sistema de anillo individual o como un sistema de anillo benzo-anillado. Los sistemas de anillo bicíclicos o tricíclicos se pueden formar por anillación de dos o más anillos, por un átomo de puente, por ejemplo, oxígeno, azufre, nitrógeno o por un grupo de puente, por ejemplo, alcandiilo o alquendiilo. Un heterociclo puede estar sustituido por uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en oxo (=O), halógeno, nitro, ciano, alquilo, alcoxi, alcóxialquilo, alcóxicarbonilo, alcóxicarbonilalquilo, halogenoalquilo, arilo, ariloxi y aralquilo. Los ejemplo de fracciones heterocíclicas son: pirrol, pirrolina, pirrolidina, pirazol, pirazolina, pirazolidina, imidazol, imidazolina, imidazolidina, triazol, triazolina, triazolidina, tetrazol, furano, dihidrofurano, tetrahydrofurano, furazano (oxadiazol), dioxolano, tiofeno, dihidrotiofeno, tetrahydrotiofeno, oxazol, oxazolina, oxazolidina, isoxazol, isoxazolina, isoxazolidina, tiazol, tiazolina, tiazolidina, isotiazol, isotiazolina, isotiazolidina, tiadiazol, tiadiazolina, tiadiazolidina, piridina, piperidina, piridacina, piracina, piperacina, triacina, pirano, tetrahidropirano, tiopirano, tetrahydrotiopirano, oxacina, tiacina, dioxina, morfina, purina, pterina, y los correspondiente heterociclos benz-anillados, por ejemplo, indol, isoindol, cumarina, cumaronacolinina, isoquinolina, cinolina y similares.

50 "Heteroátomos" son átomos diferentes de carbono e hidrógeno, preferiblemente nitrógeno (N), oxígeno (O) o azufre (S).

55 La fracción heterocíclica puede formar un enlazador L² en el que la fracción heterocíclica está covalentemente unida al éster del ácido fosfórico y el grupo A.

60 En una forma de realización preferida de la presente invención el enlazador L¹ se selecciona del grupo que consiste en un enlace sencillo y un alcandiilo de C₁-C₁₀, preferiblemente un alcandiilo de C₂-C₆, especialmente etan-1,2-diilo (etileno) o propan-1,2-diilo o propan-1,3-diilo.

65 En una forma de realización especialmente preferida el enlazador L² se selecciona del grupo que consiste en un enlace sencillo, una fracción de fórmula (VII), una fracción de fórmula (VIII) y una fracción de fórmula (IX)

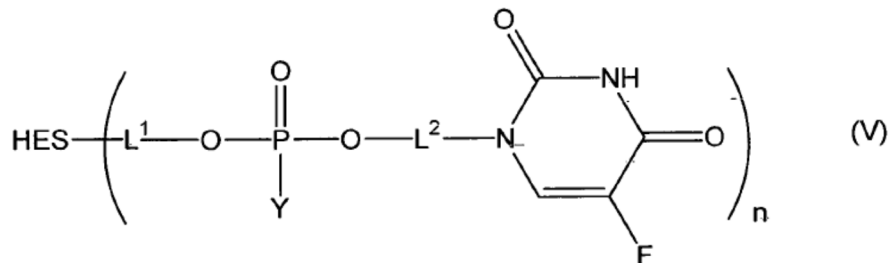


en donde R^3 , R^4 , R^5 , R^6 y R^7 son como se han definido anteriormente.

5 Según una forma de realización especialmente preferida de la invención, X es hidroxietil-almidón y dicha sustancia médicamente activa A es 5-fluorouracilo (5-fluoro-1H-pirimidina-2,4-diona). Alternativamente, la sustancia A puede ser 5-fluorouridina o un derivado de 5-fluorouridina.

Una forma de realización especialmente preferida de la invención está representada por la fórmula (V)

10

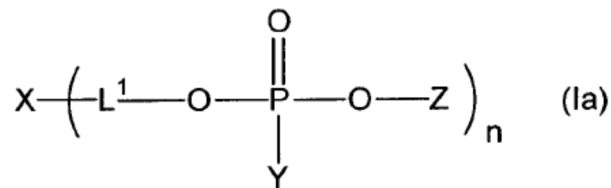


en donde HES es hidroxietil-almidón y L^1 , L^2 , Y, y n son como se han definido anteriormente.

15 Especialmente, el organofósforo forma un enlace éster con el grupo hidroxietilo del hidroxietil-almidón. En este caso el enlazador L^1 en la fórmula (V) es u enlace sencillo.

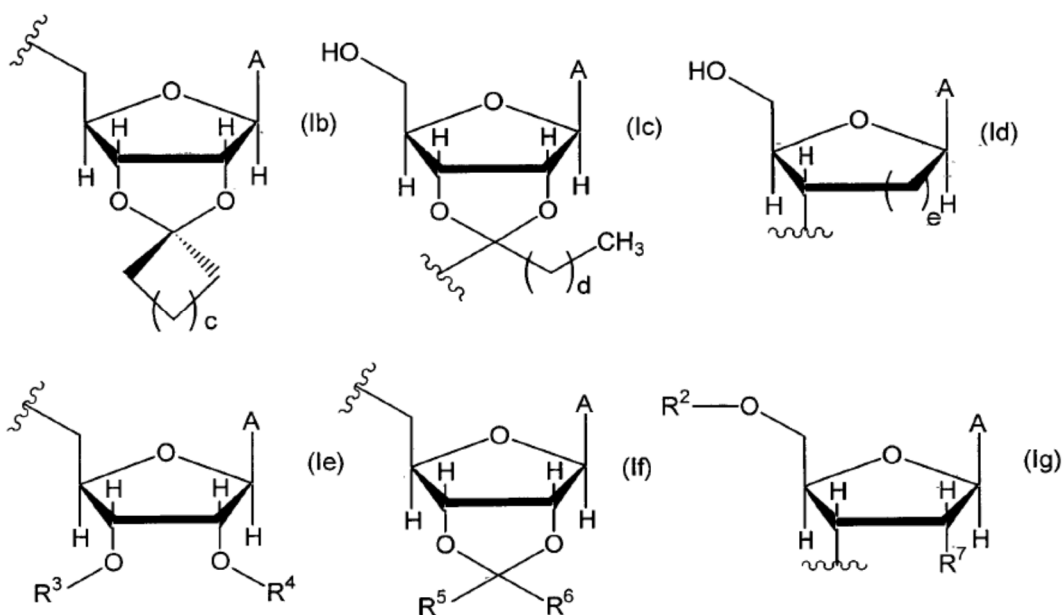
Según un aspecto adicional de la invención el compuesto de la presente invención está representado por la siguiente fórmula (Ia):

20



en donde n e Y se definen como anteriormente y Z se selecciona del grupo de las siguientes fracciones con las fórmulas Ib a Ig:

25



en donde

- 5 c es un número entero que varía de 2 a 12, preferiblemente de 3 a 8, más preferiblemente de 3 a 6;
 d es un número entero que varía de 1 a 24, preferiblemente de 2 a 18, más preferiblemente 3 a 12;
 e es 1 o 2;
 R³, R⁴, R², R⁵, R⁶ y R⁷, así como A son como se han definido anteriormente.

10 Una forma de realización adicional de la invención es una formulación farmacéutica que comprende el compuesto de la invención.

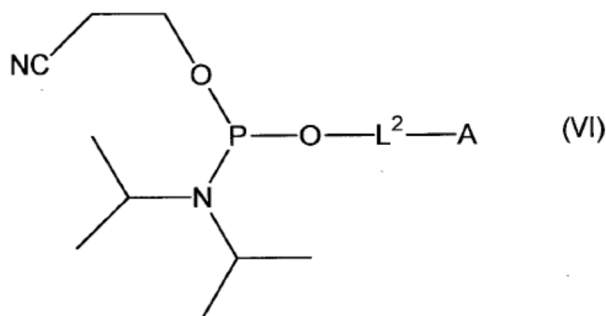
La formulación farmacéutica preferiblemente es acuosa e inyectable.

15 Se ha encontrado sorprendentemente que el compuesto de la invención se puede obtener haciendo reaccionar una fosforamidita, que está unida a una sustancia médicamente activa A o un marcador fluorescente A, con un compuesto coloide activo que comprende uno o más grupos hidroxilo.

20 La secuencia de reacción proporciona un acceso a coloides farmacéuticamente aceptables que están unidos con una sustancia médicamente activa o un marcador fluorescente y que se puede cortar enzimáticamente.

Por tanto, una forma de realización adicional de la invención es un proceso para preparar un compuesto de fórmula general (I) de la invención uniendo una fosforamidita covalentemente unida a un grupo A-L², preferiblemente uniendo un compuesto de fórmula (VI)

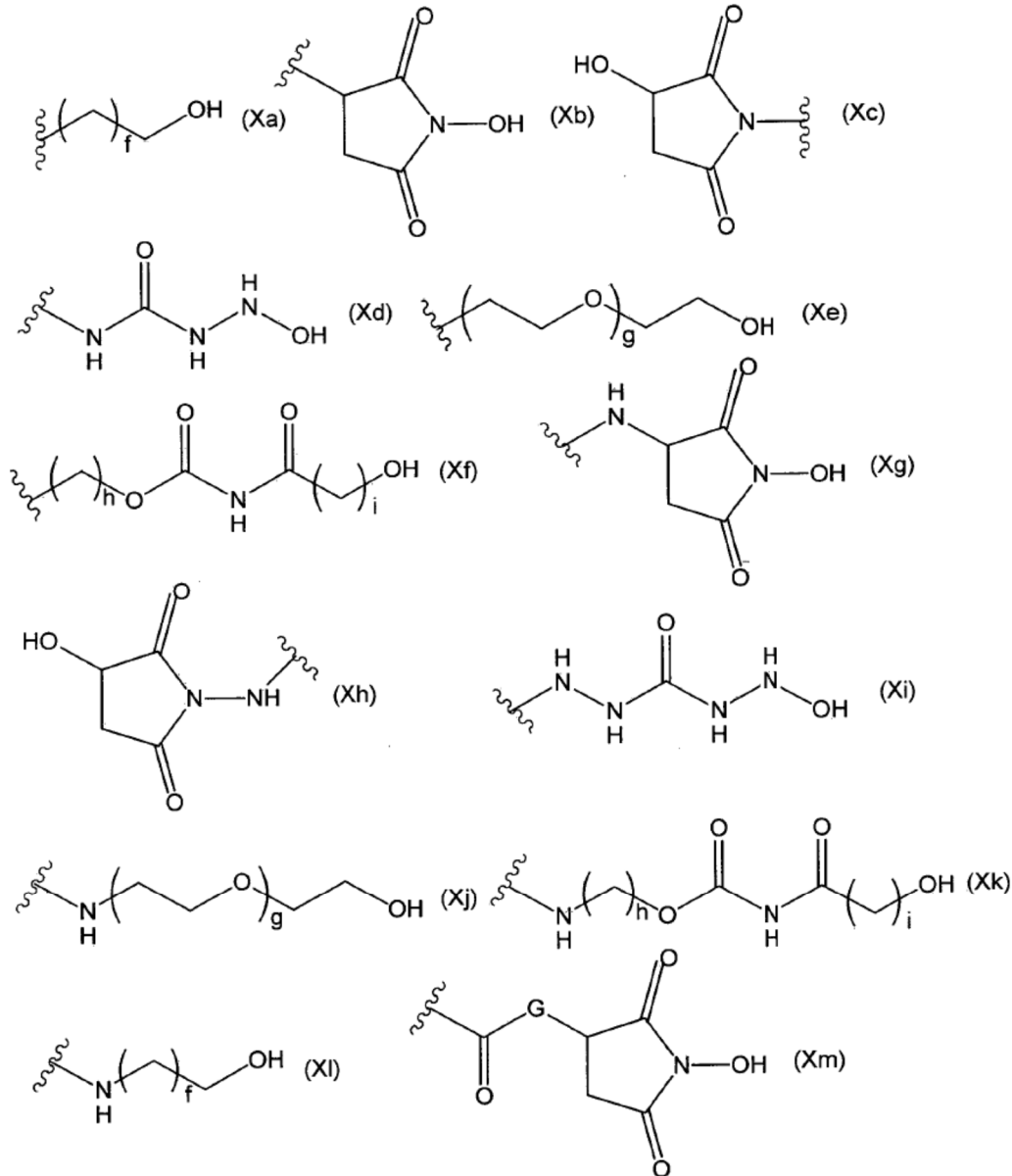
25

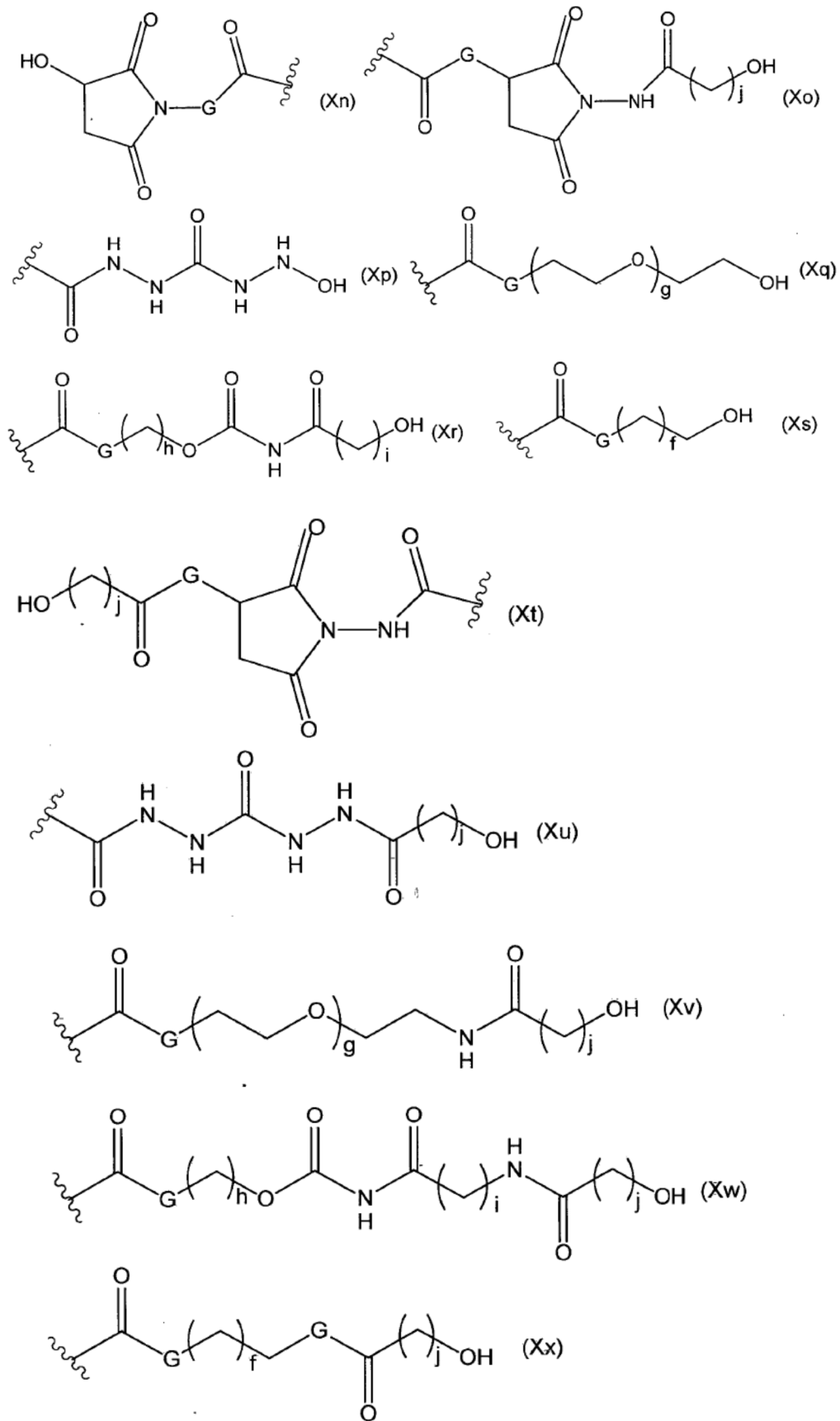


30 con un compuesto X-L¹-OH o X, que comprende al menos un grupo hidroxilo, en donde X es un compuesto coloide activo, seleccionado del grupo que consiste en amilosas, amilopectinas, acemananos, arabinogalactanos, galactomananos, galactoglucomananos, xantanas, carragenano, ácido hialurónico, ácido hialurónico desacetilado, almidón y almidón modificado seleccionado del grupo que consiste en hidroxialquil almidones, almidones esterificados, carboxialquil almidones, hidroxialquil carboxialquil almidón, hidroxialquil almidón aminado, hidroxialquil

carboxialquil almidón aminado y carboxialquil almidón aminado y posteriormente oxidar e hidrolizar el producto unido de modo que se forme un diéster de ácido fosfórico. Los grupos X, A, L¹ y L² son como se ha definido anteriormente.

5 En una forma de realización preferida de la invención el compuesto coloide activo X, que preferiblemente es un almidón, comprende uno o más sustituyentes seleccionado del grupo que consiste en las fracciones reflejadas en las siguientes fórmulas:





5 en donde

f es un número entero que varía de 1 a 4;

g es un número entero que varía de 1 a 10, preferiblemente de 1 a 4;
 h es un número entero que varía de 1 a 4; preferiblemente de 2 a 4;
 i es un número entero que varía de 1 a 4; preferiblemente de 2 a 4;
 j es un número entero que varía de 1 a 4; preferiblemente de 2 a 4;
 y G se selecciona independientemente de -O- o NR¹¹, en donde R¹¹ se selecciona de H o alquilo de C₁ a C₄.

El experto en la materia en general conoce la preparación de fosforamiditas.

Una fosforamidita (RO)₂PNR₂ es una monoamida de un fosfito diéster. La característica clave de las fosforamiditas es su reactividad marcadamente alta hacia nucleófilos catalizada por ácidos débiles, e.c., cloruro de trietilamonio o 1H-tetrazol. En estas reacciones, el nucleófilo entrante sustituye a la fracción NR₂. Las fosforamiditas derivadas de nucleósidos protegidos se denominan fosforamiditas de nucleósido y son muy usadas en síntesis de ADN, ARN, y otros ácidos nucleicos o sus análogos.

Las fosforamiditas de nucleósido son derivados de nucleósidos naturales o sintéticos. Se usan para sintetizar oligonucleótidos, fragmentos relativamente cortos de ácido nucleico y sus análogos. Las fosforamiditas de nucleósido se introdujeron por primera vez en 1981 por Beaucage y Caruthers (Beaucage, S.L.; Caruthers M.H. (1981). "Deoxynucleoside phosphoramidites—A new class of key intermediates for deoxypolynucleotide synthesis". *Tetrahedron Letters* **22**: 1859-1862). Para evitar reacciones secundarias indeseadas, los grupos hidroxilo y amino exocíclicos reactivos presentes en nucleósidos naturales o sintéticos se protegen de forma apropiada. Siempre que un análogo de nucleósido contenga al menos un grupo hidroxilo, el uso de la estrategia protectora adecuada permite convertir ese a la respectiva fosforamidita e incorporar la última en ácidos nucleicos sintéticos.

Hay tres métodos principales para la preparación de fosforamiditas de nucleósido.

El método usado más comúnmente consiste en el tratamiento de un nucleósido protegido que tiene un único grupo hidroxilo libre con fosfordiamidita con la acción catalítica de un ácido débil (Nielsen, J.; Marugg, J. E.; Taagaard, M.; Van Boom, J. H.; Dahl, O. (1986). "Polymer-supported synthesis of deoxyoligonucleotides using in situ prepared deoxynucleoside 2-cyanoethyl phosphoramidites". *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas* **105** (1): 33-34; Nielsen, J.; Taagaard, M.; Marugg, J. E.; Van Boom, J. H.; Dahl, O. (1986). "Application of 2-cyanoethyl N,N,N',N'-tetraisopropylphosphorodiamidite for in situ preparation of deoxyribonucleoside phosphoramidites and their use in polymer-supported synthesis of oligodeoxyribonucleotides". *Nucl. Acids Res.* **14** (18): 7391-7403). N,N,N',N'-tetraisopropilfosfordiamidita de 2-cianoetilo, la amidita usada para la preparación de fosforamiditas de nucleósido comerciales, es relativamente estable. Se puede sintetizar usando un procedimiento en un recipiente en dos fases y purificar por destilación.

Según un método alternativo, el nucleósido protegido se trata con la fosforocloridita en presencia de una base orgánica, lo más comúnmente N-etil-N,N-diisopropilamina (base de Hünig).

En una ruta sintética alternativa adicional para la preparación de fosforamiditas, el nucleósido protegido primero se trata con fosfordiamidita de N,N,N',N'-tetraisopropilo cloro en presencia de una base orgánica, lo más comúnmente N-etil-N,N-diisopropilamina (base de Hünig) para formar una diamidita de nucleósido protegida. La última se trata con un alcohol respectivo al grupo protector fosfito deseado, por ejemplo, 2-cianoetanol, en presencia de un ácido débil.

Las fosforamiditas de nucleósidos se pueden purificar por cromatografía en columna en, por ejemplo, gel de sílice. Para garantizar la estabilidad de la fracción fosforamidita, es aconsejable equilibrar la columna con un eluyente que contiene del 3 al 5% en peso de trietilamina y mantener esta concentración en el eluyente a lo largo del curso entero de la separación.

Se ha encontrado sorprendentemente que las fosforamiditas pueden experimentar una reacción de acoplamiento de fosforamidita con el compuesto coloide activo X que comprende al menos un grupo hidroxilo. La reacción se puede llevar a cabo en presencia de un catalizador azol ácido, 1H-tetrazol, 2-etiltetrazol, 2-benciltetrazol, 4,5-dicianoimidazol, o un número de compuestos similares.

Las fosforamiditas se oxidan fácilmente con reactivos oxidantes débiles, por ejemplo, con yodo acuoso en presencia de bases débiles o con peróxido de hidrógeno para formar los respectivos fosforamidatos.

Según una forma de realización preferida de la presente invención la etapa de oxidación se lleva a cabo en presencia de un oxidante CSO, preferiblemente ((1S)-(+)(10-conforsulfonil)-oxaciridina).

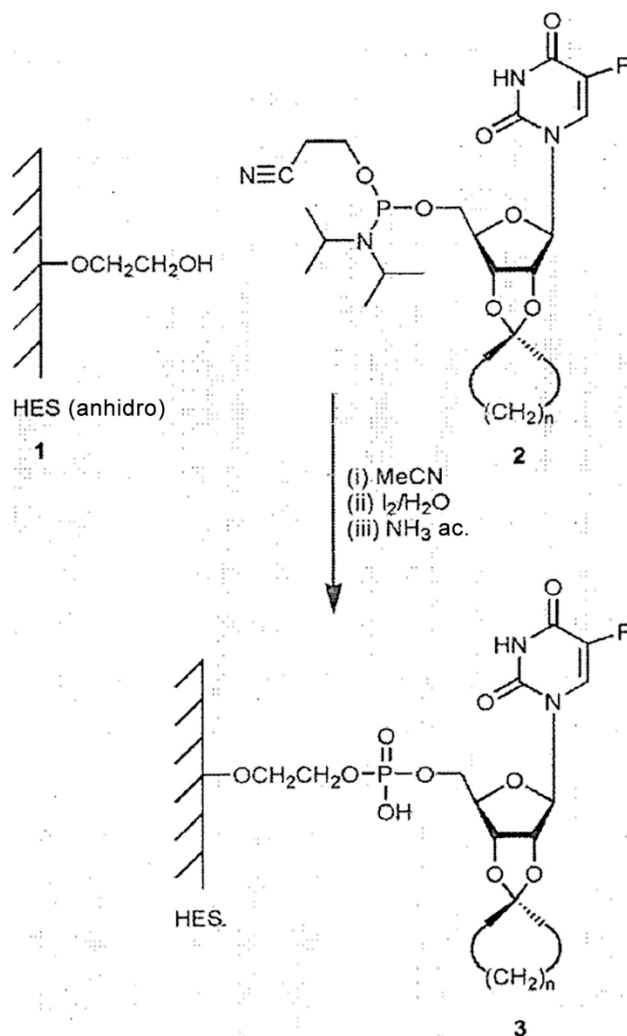
Los nucleótidos naturales (nucleósido-3'- o 5'-fosfatos) y sus análogos fosfodiéster son insuficientemente reactivos para dar una preparación sintética acelerada de oligonucleótidos en altos rendimientos. La selectividad y la velocidad de la formación de enlaces internucleosídicos se mejoran drásticamente usando derivados 3'-O-(N,N-diisopropil fosforamidita) de nucleósidos (fosforamiditas de nucleósidos) que sirven como bloques constructores en

metodología fosfito triéster. Para prevenir reacciones secundarias indeseadas, todos los otros grupos funcionales presentes en los nucleósidos se deben hacer no reactivos (proteger) uniendo grupos protectores.

5 Por tanto, en una forma de realización preferida, los grupos presentes en el grupo A que pueden reaccionar con la fosforamidita, tal como grupos nucleofílicos, por ejemplo, grupos OH, se protegen mediante grupos protectores que se pueden cortar después de que se produzca la reacción de acoplamiento con el compuesto coloide activo.

El esquema 3 muestra en una forma de realización ejemplar una ruta sintética para obtener un diéster de ácido fosfórico unido a un hidroxietil-almidón.

10



Esquema 3

15 En una forma de realización alternativamente preferida el proceso según la invención comprende las siguientes etapas:

- i) Activación del compuesto de fórmula (VI);
- ii) Unión del compuesto activado de la etapa i) con un compuesto X-L¹-OH o X que comprende al menos un grupo hidroxilo;
- iii) Oxidación e hidrólisis del producto unido de la etapa ii) de modo que se forme un diéster de ácido fosfórico.

25 En una forma de realización preferida el proceso según la invención se lleva a cabo como una reacción en un recipiente. "Reacción en un recipiente" como se usa en el presente documento se refiere a reacciones que se llevan a cabo en una única vasija de reacción por adición posterior de los componentes de la reacción sin aislar ningún intermedio. Solo se aísla el producto final de la mezcla de reacción, por ejemplo, por medio de evaporación del solvente y lavado. Por tanto, es posible eliminar varias etapas de trabajo, haciendo la reacción más eficiente en tiempo y económicamente. Además, el peligro de descomposición de los intermedios, por ejemplo, por exposición accidental al aire o agua, se minimiza.

En una forma de realización preferida el compuesto (VI) en la etapa i) se activa químicamente.

5 En una forma de realización preferida adicional la activación se lleva a cabo por un agente activador seleccionado del grupo que consiste en 4,5-diciano-imidazol (DCI), sacarina 1-metilimidazol (SMI) y azoles ácidos.

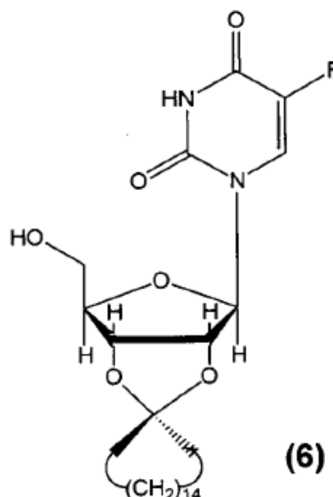
En una forma de realización preferida la reacción de unión de la etapa ii) se lleva a cabo durante un tiempo que varía desde 10 a 50 minutos, preferiblemente desde 15 a 40 minutos.

10 Más preferida es una forma de realización en donde la temperatura de reacción está entre 15°C y 40°C, preferiblemente de 20°C a 30°C.

Ejemplos

15 Se ha encontrado que sustancias médicamente activas o un marcador fluorescente se pueden acoplar a compuestos coloides activos que comprenden al menos un grupo hidroxilo, tal como hidroxietil-almidón (HES). En el esquema 3 se muestra una secuencia de reacción para un derivado de 5-fluorouridina correspondiente. Para este fin, 5-fluorouridina primero se lipofiliza en la posición O-2',3' mediante una fracción cetal cíclica; el tamaño del anillo es variable. La fracción cetal se puede obtener, por ejemplo, mediante la síntesis divulgada en E. Malecki, H. Rosemeyer, *Helv. Chim. Acta* **2010**, 93, 1500. Se muestra un ejemplo en la siguiente fórmula que representa el compuesto **6** en donde n=14.

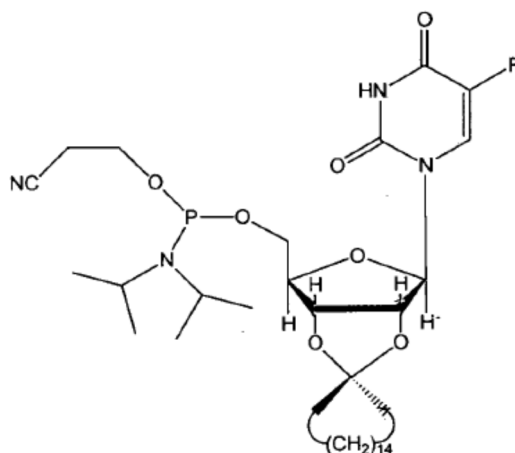
20



25 La fracción cetal actúa además como un grupo protector. Se puede preparar una fosforamidita **2** con n=14 (de aquí en adelante **2a**) como sigue:

Preparación de la fosforamidita **2a**:

30 *5-Fluoro-1-[(4'R,6'R)-2',3',4',5'-tetrahidro-6'-(hidroximetil)spiro[ciclo-pentadecano-1,2'-furo[3,4-d][1,3]dioxol]-4'-il]pirimidina-2,4(1H,3H)-diona 2-Cianoetil-diisopropilfosforamidita (2a).*



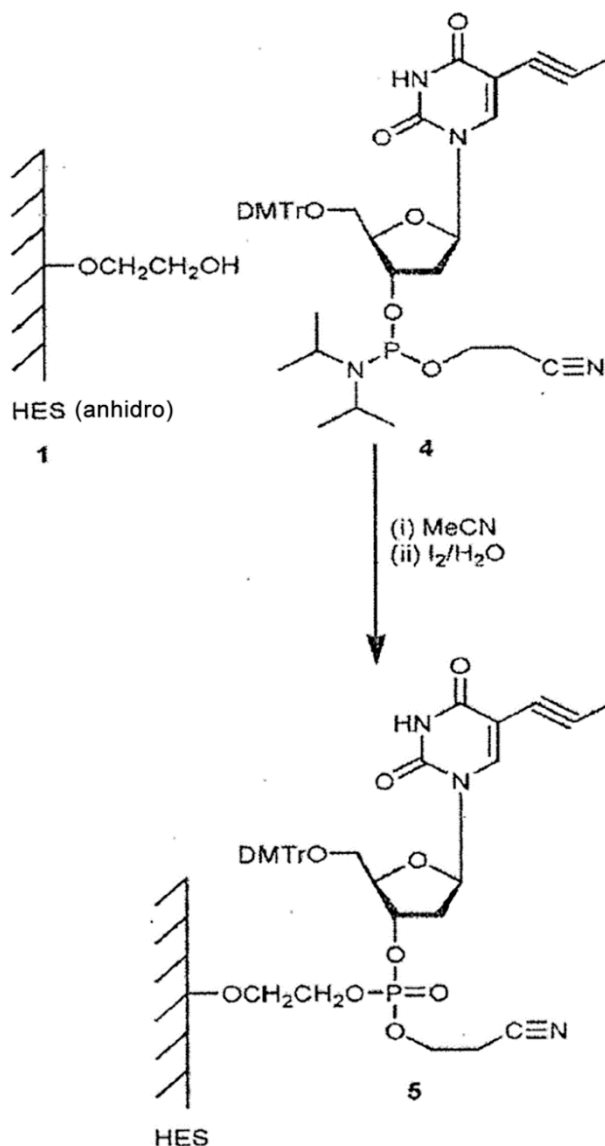
(2a)

5 El compuesto anhidro **6** (256 mg, 0,45 mmol) se fosfitiló en 5' en una atmósfera de nitrógeno usando etildiisopropilamina (base de Hünig, 147 μ l, 0,085 mmol) y (cloro)(2-cianoetoxi)(diisopropilamino)fosfina (181 μ l, 0,80 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 15 min a temperatura ambiente, y después se añadió una solución de NaHCO_3 ac. al 5% helada (12 ml). La mezcla se extrajo tres veces con CH_2Cl_2 frío, las fases orgánicas combinadas se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y evaporaron en un evaporador giratorio (temperatura del baño, 25°C). La cromatografía (gel de sílice, columna: 2 x 8 cm, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 8:2, v/v) dio una zona principal de la que se obtuvo el compuesto **2a** (208 mg, 60%) como un aceite incoloro. TLC ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 8:2, v/v): R_f 0,95. ^{31}P -RMN (10 CDCl_3): 149,56, 149,41.

15 Del esquema 3 se puede ver que la síntesis del producto final **3** implica – después del acoplamiento del derivado P(III) **2** a HES – la oxidación de **2** con $\text{I}_2/\text{H}_2\text{O}$, seguido por un corte del grupo protector cianoetanol en amoniaco acuoso concentrado. Las reacciones preferiblemente se realizan en exclusión estricta de humedad (atmósfera de Ar) y usando hidroxietil-amidón (HES) completamente seco. La ventaja de un producto tal como el compuesto **3** es su capacidad de corte enzimático por fosfodiesterasas.

El esquema 4 muestra otra ruta para la preparación de un compuesto de la invención.

20 La fosforamidita **4** que se basa en 5-(propin-1-il)-2'-desoxiuridina un compuesto viroestático, activo contra virus *Herpes simplex* (A.L. Andronova et al. *Russ. J. Bioorg. Chem.* **2003**, 29, 262-266) se ha acoplado a HES.



5 HES-40 (1 g) se secó por liofilización (secado por congelación) repetida (7 veces) a partir de acetonitrilo (MeCN) anhidro (20 ml, cada una) durante una semana. El HES (500 mg) se transfirió a un reactor y se purgó con MeCN anhidro (10 ml). Posteriormente, el sólido se purgó con una solución activadora de 4,5-dicianoimidazol (DCI) 0,25 M en MeCN (10 ml). Simultáneamente, 5-(propin-1-il)-2'-desoxiuridina 2-(cianoetil)(diisopropil)fosforamidita (**4**, 1 g) se disolvió en la solución activadora de DCI y se diluyó con MeCN a un volumen total de 10 ml. Después de la inyección en el reactor, la suspensión se agitó ligeramente durante 10 min a temperatura ambiente. A continuación, el producto se lavó dos veces con MeCN anhidro (10 ml, cada vez) y, a continuación, se inyectó una solución oxidante (I₂ 0,02 M, THF, piridina, 10 ml). Después de 1 min de agitación en el reactor, el material se lavó 4 veces con MeCN anhidro (20 ml, cada vez). Para secar se purgó gas N₂ a través del reactor durante varios minutos, y el material se eliminó de la columna. ³¹P-RMN (D₆)DMSO: 1,25 ppm.

15 Para optimizar la reacción de acoplamiento y para determinar las condiciones de reacción ideales se han empleado diferentes agentes activadores, así como diferentes agentes oxidantes en la formación del compuesto según la presente invención. Los resultados se resumen en la tabla 1. El resultado de la reacción se ha determinado por espectroscopía de ³¹P-RMN.

20 Las reacciones se llevaron a cabo en forma de reacción en un recipiente, es decir, la secuencia de reacción entera se llevó a cabo en un recipiente de reacción por adición posterior del respectivo componente de reacción sin aislamiento de los intermedios.

En una primera etapa la fosforamidita (**4**) y el respectivo agente activador se mezclaron y agitaron a temperatura ambiente en una atmósfera de N₂. Después de 2 horas, se añadió hidroxietil-almidón (HES) y la mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos a 20°C. A continuación, se añadió el agente oxidante. Dependiendo de la naturaleza del agente oxidante, así como su concentración, el tiempo hasta la terminación varió. Los tiempos de reacción respectivos se resumen en la tabla 1. Después de la terminación, el solvente se evaporó y el producto se purificó por lavado con MeCN y tetrahidrofurano (THF).

Se usaron los siguientes agentes activantes y agente oxidante:

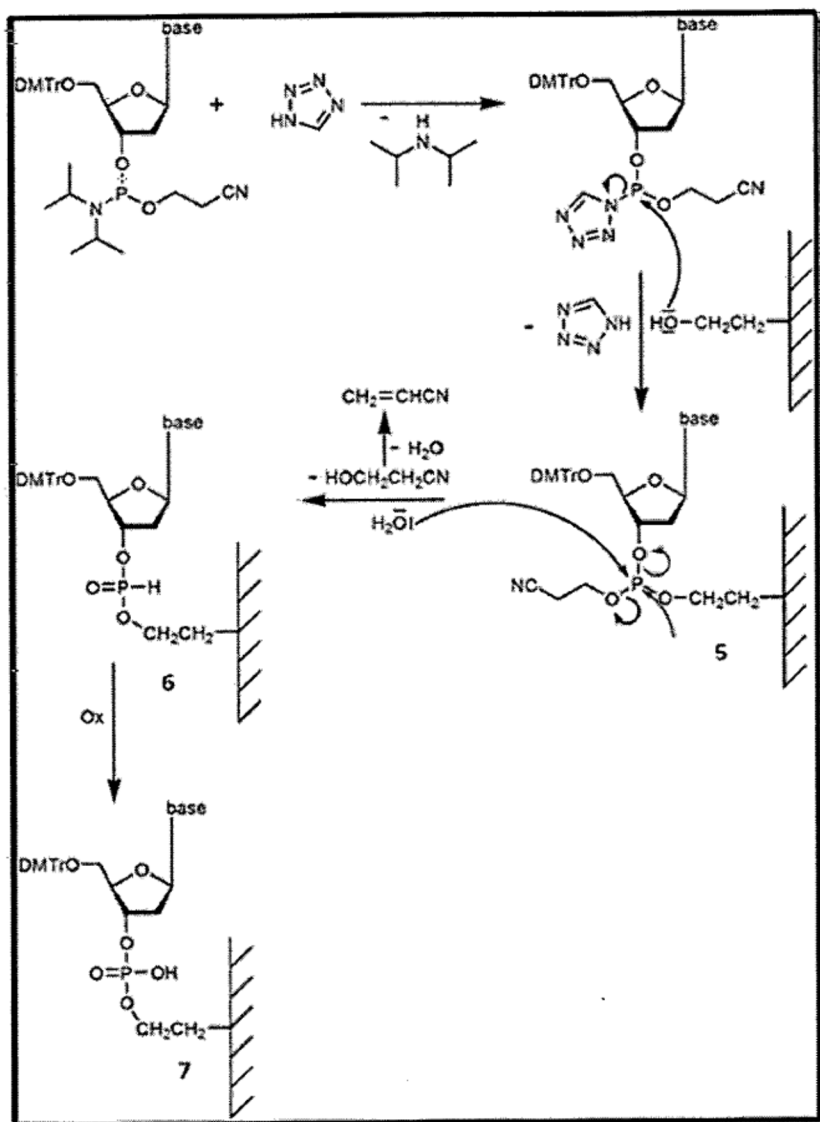
- 10 DCI = 4,5-diciano-imidazol
 SMI = sacarina 1-metilimidazol
 CSO = (1S)-(+)-(10-canforsulfonyl)-oxaciridina
 I₂ = yodo

entrada	compuesto coloide activo	agente activador	tiempo de reacción [h]	tiempo de acoplamiento [min]	agente oxidante	tiempo de reacción [min]	señal de ³¹ P del ligando
1	HES-40 (500 mg)	DCI (0,25 M, 10 ml)	2	30	I ₂ (0,02 M, 22 ml)	1	+
2	HES-40 (500 mg)	1H-tetrazol (0,5 M, 2,5 ml)	2	30	I ₂ (0,02 M, 9 ml)	7	+
3	HES-40 (250 mg)	1H-tetrazol (0,5 M, 2,5 ml)	2	30	I ₂ (0,1 M, 4,5 ml)	1	+
4	HES-40 (250 mg)	1H-tetrazol (0,5 M, 2,5 ml)	2	30	I ₂ (0,02 M, 9 ml)	1	+
5	HES-40 (250 mg)	1H-tetrazol (0,5 M, 2,5 ml)	2	30	I ₂ (0,02 M, 4,5 ml)	7	+
6	HES-40 (250 mg)	SMI (0,45 M, 5,6 ml)	2	30	I ₂ (0,02 M, 4,5 ml)	7	+

- 15 Como se puede describir de la tabla 1, todos los agentes activadores empleados (DCI, 1H-tetrazol, SMI) fueron suficientes para activar el compuesto fosforamidita y el acoplamiento de la fosforamidita a HES se llevó a cabo con éxito.

- 20 Como se puede ver de la figura 1, que muestra los espectros de ³¹P-RMN de un producto de acoplamiento del compuesto (**4**) a HES, tanto DCI, así como 1H-tetrazol, llevaron a el producto de acoplamiento deseado que se detectó a través de ³¹P-RMN. Aunque ambos agentes activantes fueron suficientes, el uso de 1H-tetrazol produjo menos productos secundarios (espectro C en comparación con el espectro A en donde se usó DCI como agente activador y el espectro B que muestra el compuesto del espectro A después de purificación adicional).

- 25 Los estudios de RMN del acoplamiento del compuesto (**4**) a HES revelaron que el uso de 1H-tetrazol como agente activador, sin oxidación adicional, produjo un intermedio (**6**) en el que el fósforo está directamente unido al protón. El espectro de ³¹P-RMN de protón acoplado muestra una división del pico principal en dos tripletes. Se estimó que la constante de acoplamiento era aproximadamente 587 Hz, lo que indica un acoplamiento $J^1(P,H)$. Una etapa de oxidación adicional produce el diéster (**7**). Un posible mecanismo de reacción se muestra en el esquema 5 en donde la fracción "base" representa la fracción 5'-fluorouracilo.
- 30



Esquema 5

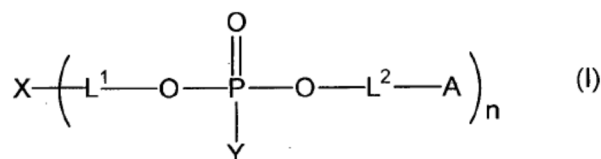
- 5 Se cree que, en una primera etapa, la fosforamidita (4) es activada por 1H-tetrazol, formando un complejo con 1H-tetrazol que permite el ataque nucleófilo del HES y la formación de un enlace covalente. Se cree que el compuesto resultante (5) en una siguiente etapa reacciona con agua que está todavía presente en el HES, produciendo el intermedio (6) que, después de oxidación adicional, da el diéster (7).
- 10 Se ha encontrado sorprendentemente que en casos donde se empleó SMI como activador, el intermedio (6) no se pudo detectar. La figura 3 muestra los espectros de ^{31}P -RMN de una mezcla de reacción en donde se usó SMI. El registro desacoplado de protón A muestra un nuevo pico principal a aproximadamente -2,4 ppm. El espectro acoplado a protón B no muestra la división esperada del pico principal. De hecho, la constante de acoplamiento J se estimó a aproximadamente 7 Hz que corresponde a un acoplamiento $J^2(\text{P,H})$, es decir, un acoplamiento del átomo de fósforo al protón del grupo hidroxilo del compuesto (7).
- 15

Para mostrar que la fosforamidita está covalentemente unida al HES, se registró un espectro ^{31}P -DOSY-RMN acoplado a protón del compuesto (6). La figura 4 muestra el espectro registrado representado frente al coeficiente de difusión determinado del compuesto (6). El coeficiente se determinó a $-10,5 \text{ m}^2/\text{s}$, que es un valor típico para HES conocido en la bibliografía. Por tanto, se puede concluir que el enlace entre la fracción fosforamidita y el HES es covalente.

20

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I)



5

en donde

X es un compuesto coloide activo, seleccionado del grupo que consiste en amilosas, amilopectinas, acemananos, arabinogalactanos, galactomananos, galactoglucomananos, xantanas, carragenano, ácido hialurónico, ácido hialurónico desacetilado, almidón y almidón modificado seleccionado del grupo que consiste en hidroxialquil almidones, almidones esterificados, carboxialquil almidones, hidroxialquil carboxialquil almidón, hidroxialquil almidón aminado, hidroxialquil carboxialquil almidón aminado y carboxialquil almidón aminado;

L¹ es un primer enlazador mediante el cual X y el grupo fosfato se unen covalentemente y en donde L¹ se selecciona del grupo que consiste en un enlace sencillo, alcandiilo, alquendiilo y alquindiilo;

L² es un segundo enlazador mediante el cual el grupo fosfato y A se unen covalentemente;

A es una sustancia médicamente activa seleccionada del grupo que consiste en antibióticos, quimioterapéuticos, agentes citostáticos, antígenos, oligonucleótidos, analgésicos y sustancias citotóxicas o un marcador fluorescente;

Y es H u OH;

n es un número entero de al menos 1.

2. El compuesto según la reivindicación 1, caracterizado en que dicho almidón modificado se selecciona de hidroxietil-almidón o hidroxietil-almidón aminado.

25

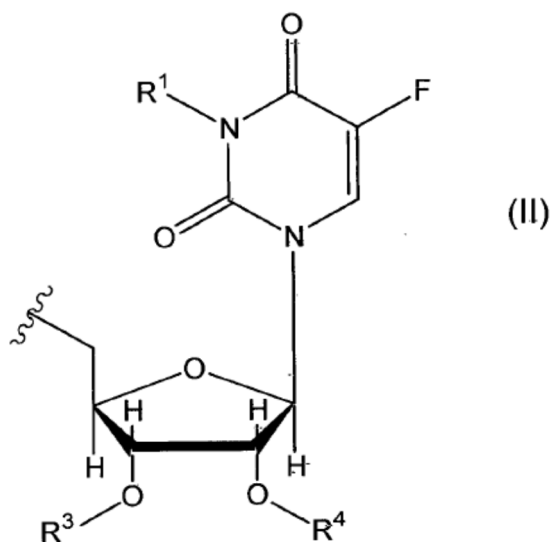
3. El compuesto según la reivindicación 1 o 2, caracterizado en que dicho compuesto coloide activo tiene un peso molecular medio desde 20.000 a 800.000 dalton, preferiblemente de 25.000 a 500.000 dalton, en especial desde 30.000 a 200.000 dalton.

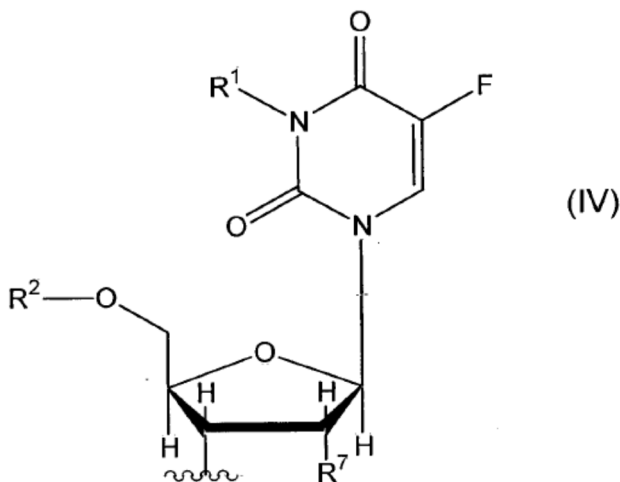
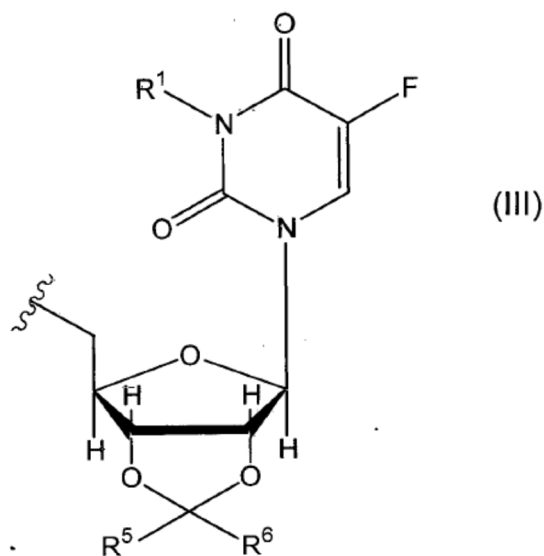
30

4. El compuesto según al menos una de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado en que el grado de sustitución, DS, del almidón modificado, especialmente del hidroxietil-almidón, es desde 0,2 a 0,8, preferiblemente desde 0,3 a 0,6.

5. El compuesto según al menos una de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado en que dicho compuesto médicamente activo A se selecciona de las fórmulas (II) a (IV)

35





en donde

R^1 es H o una fracción orgánica, preferiblemente una cadena de C_1-C_{28} que puede ser ramificada o lineal y que puede ser saturada o insaturada y que puede opcionalmente estar interrumpida y/o sustituida por uno o más heteroátomo(s) (Het1) y/o grupo(s) funcional(es) (G1); o

R^1 es una fracción de C_3-C_{28} que comprende al menos una estructura cíclica y que puede ser saturada o insaturada y que puede opcionalmente estar interrumpida y/o sustituida por uno o más heteroátomo(s) (Het1) y grupo(s) funcional(es) (G1);

R^2 es H o una fracción orgánica que comprende de 1 a 30 átomos de carbono;

R^3 y R^4 representan independientemente entre sí H o una fracción de alquilo de C_1-C_{28} que puede estar opcionalmente sustituida o interrumpida por uno o más heteroátomo(s) y/o grupo(s) funcional(es); o

R^3 y R^4 forman un anillo que tiene al menos 5 miembros, preferiblemente un anillo que tiene de 5 a 8 átomos de carbono y en donde el anillo puede estar sustituido o interrumpido por uno o más heteroátomo(s) y/o grupo(s) funcional(es);

R^5 y R^6 representan independientemente entre sí H o una fracción de alquilo de C_1-C_{28} que puede estar opcionalmente sustituida o interrumpida por uno o más heteroátomo(s) y/o grupo(s) funcional(es);

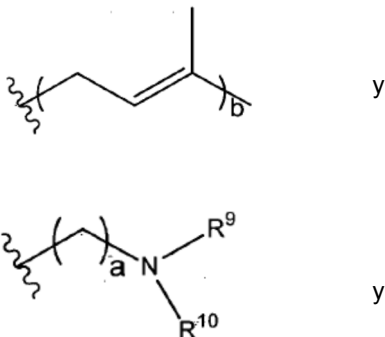
o

R^5 y R^6 forman un anillo que tiene al menos 5 miembros, preferiblemente un anillo que tiene de 5 a 18 átomos de carbono y en donde el anillo puede estar sustituido o interrumpido por uno o más heteroátomo(s) y/o grupo(s) funcional(es);

R^7 es un átomo de hidrógeno o $-O-R^8$;

R^8 es H o una cadena de C_1-C_{28} que puede ser ramificada o lineal y que puede ser saturada o insaturada y que puede opcionalmente estar interrumpida y/o sustituida por uno o más heteroátomo(s) (Het1) y/o grupo(s) funcional(es) (G1).

6. Compuesto según la reivindicación 5 en donde R^1 se selecciona de H,



5

fracciones terpeno cíclicas sustituidas o sin sustituir, en donde R^9 y R^{10} se seleccionan independientemente de alquilo de C_1 a C_{30} , b es un número entero que varía de 1 a 4, preferiblemente n es 1 o 2; y a es un número entero que varía de 1 a 20, preferiblemente de 2 a 18.

10

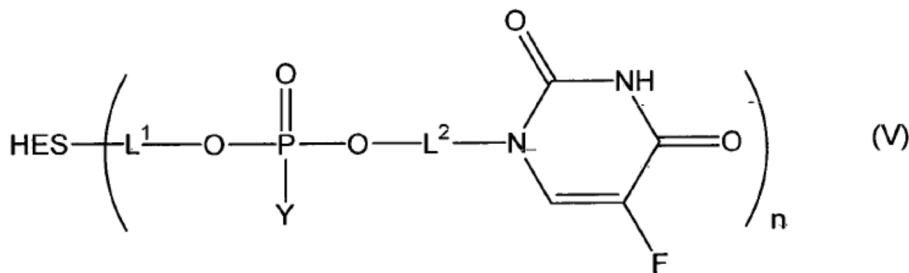
7. El compuesto según al menos una de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado en que dicho marcador fluorescente se selecciona del grupo que consiste en isotiocianato de fluoresceína (FITC), ficoeritrina, rodamina, 2-aminopiridina y colorantes de cumarina.

15

8. El compuesto según la reivindicación 1, en donde dicho X es hidroxietil-almidón y dicha sustancia médicamente activa A es 5-fluorouracilo (5-fluoro-1H-pirimidina-2,4-diona).

20

9. El compuesto según la reivindicación 1 que está representado por la fórmula (V)



en donde HES es hidroxietil-almidón

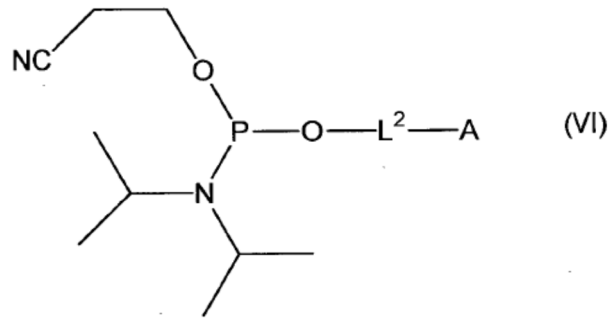
25

10. Una formulación farmacéutica que comprende el compuesto según al menos una de las reivindicaciones 1 a 9.

30

11. La formulación farmacéutica según la reivindicación 10, caracterizada en que dicha formulación es acuosa e inyectable.

12. Un proceso para preparar un compuesto de fórmula general (I) según al menos una de las reivindicaciones 1 a 9 por unión de un compuesto de fórmula (VI)



5 con un compuesto $X-L^1-OH$ o X , que comprende al menos un grupo hidroxilo, en donde X es un compuesto coloide activo, seleccionado del grupo que consiste en amilosas, amilopectinas, acemananos, arabinogalactanos, galactomananos, galactoglucomananos, xantanas, carragenano, ácido hialurónico, ácido hialurónico desacetilado, almidón y almidón modificado seleccionado del grupo que consiste en hidroxialquil almidones, almidones esterificados, carboxialquil almidones, hidroxialquil carboxialquil almidón, hidroxialquil almidón aminado, hidroxialquil carboxialquil almidón aminado y carboxialquil almidón aminado y posteriormente oxidar e hidrolizar el producto unido de modo que se forme un diéster de ácido fosfórico.

- 10 13. Un proceso según la reivindicación 12, en donde el proceso comprende las siguientes etapas:
- 15 i) Activación de un compuesto de fórmula (VI);
 - ii) Unión del compuesto activado de la etapa i) con un compuesto $X-L^1-OH$ o X , que comprende al menos un grupo hidroxilo;
 - iii) Oxidar e hidrolizar el producto unido de la etapa ii) de modo que se forme un diéster de ácido fosfórico.
- 20 14. Un proceso según una o ambas de las reivindicaciones 12 o 13, en donde el proceso se lleva a cabo como una reacción en un recipiente.
15. Un proceso según las reivindicaciones 13 o 14, en donde el compuesto (VI) en la etapa i) se activa químicamente, preferiblemente por un agente activador seleccionado del grupo que consiste en 4,5-dicianoimidazol (DCI), sacarina 1-metilimidazol (SMI) y azoles ácidos.

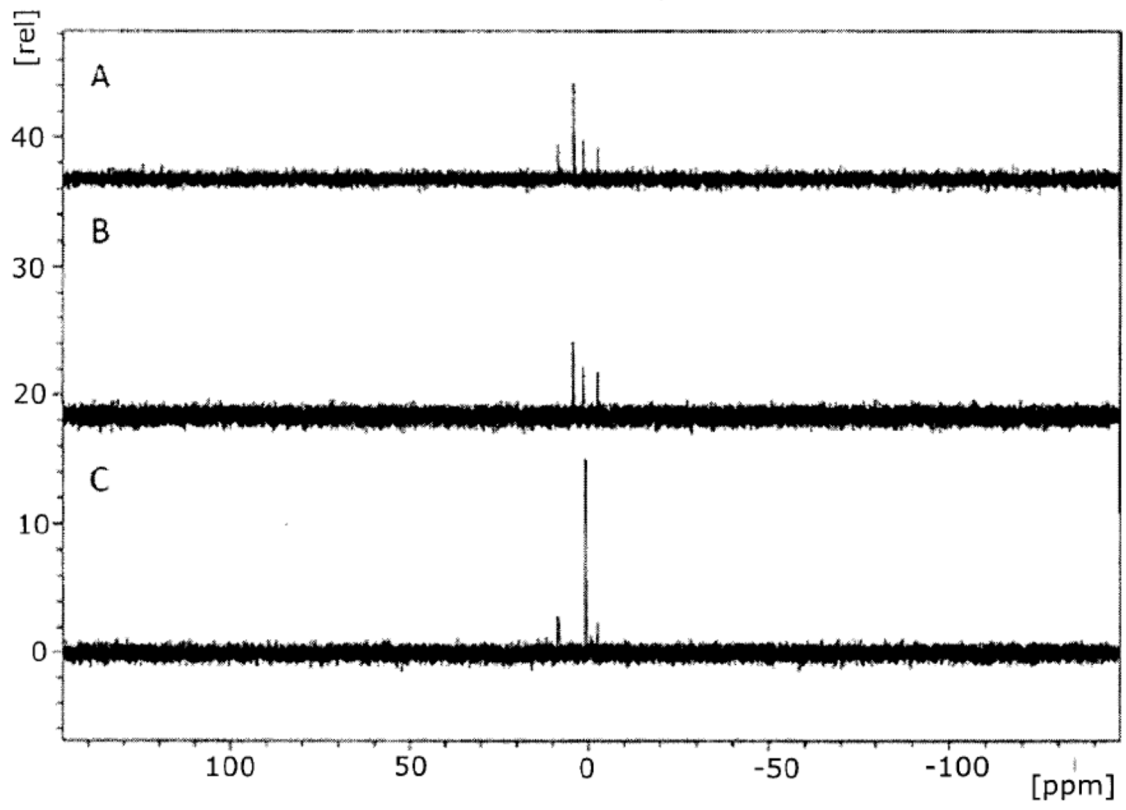


Fig.1

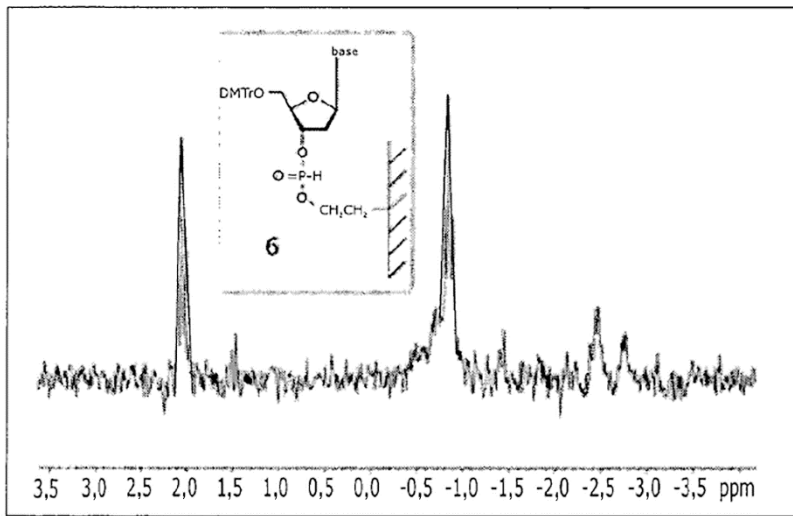


Fig.2

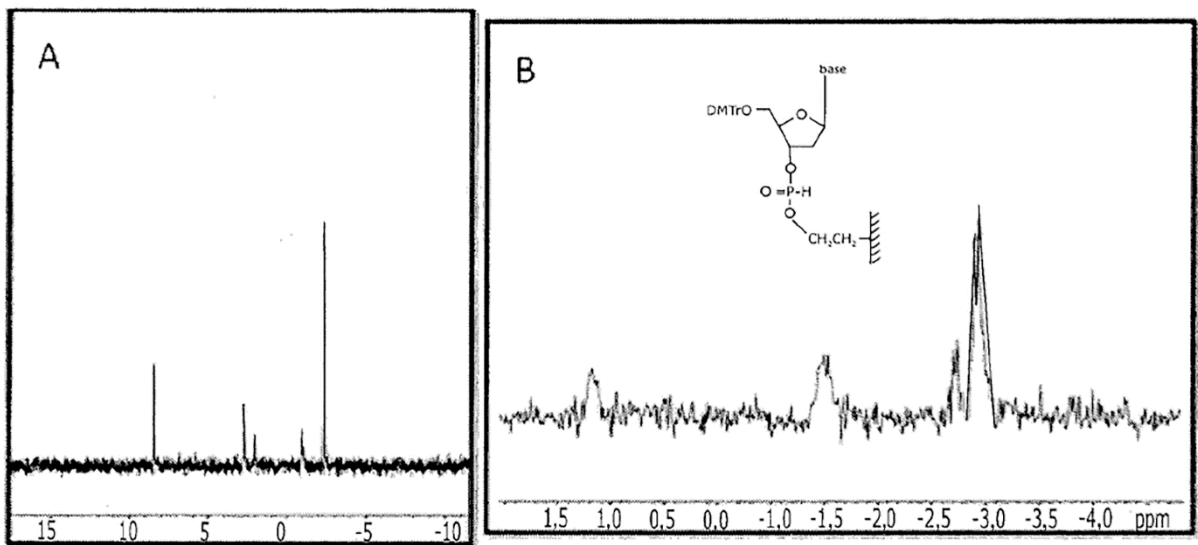


Fig.3

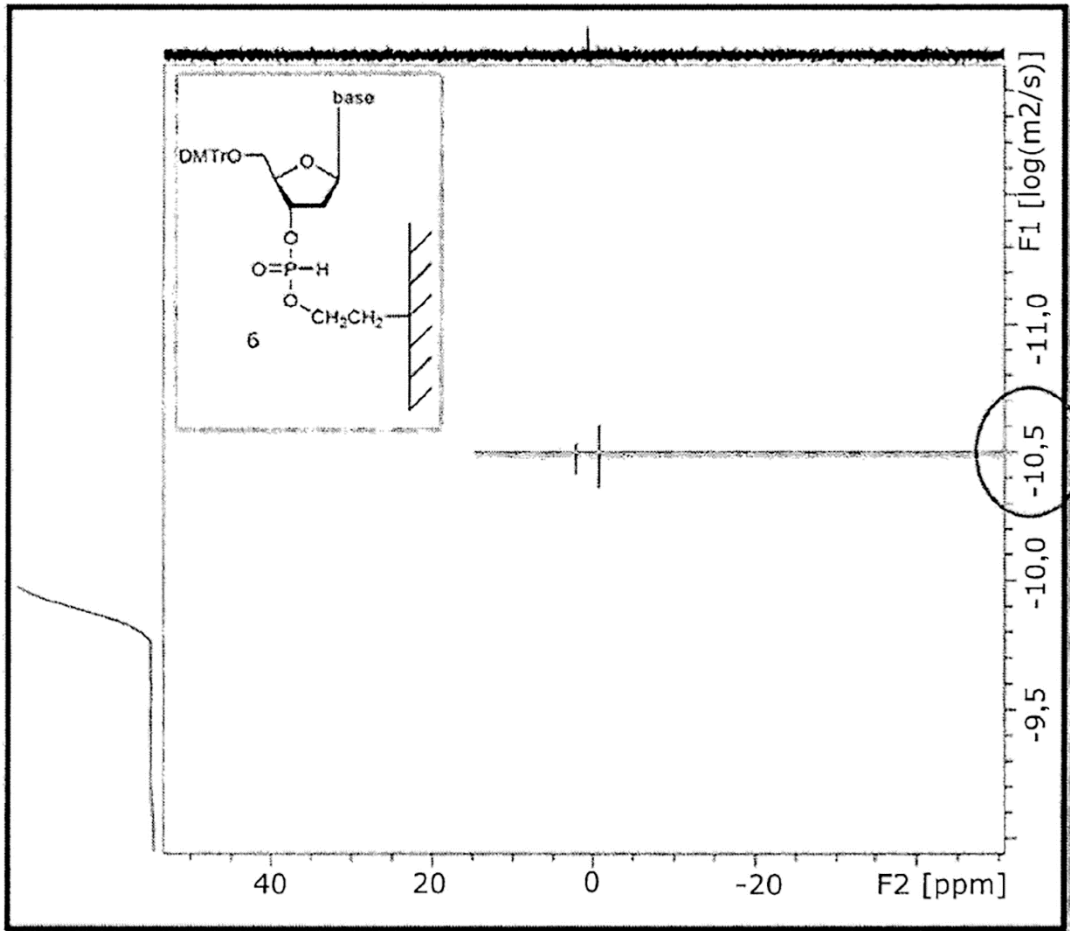


Fig.4