

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 694 025**

51 Int. Cl.:

**C07F 9/6584** (2006.01)  
**A61K 9/14** (2006.01)  
**B82Y 5/00** (2011.01)  
**A61P 35/00** (2006.01)  
**A61K 31/675** (2006.01)  
**A61K 47/54** (2007.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.05.2015 PCT/EP2015/06706**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.11.2015 WO15173367**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.05.2015 E 15722218 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.08.2018 EP 3143032**

54 Título: **Derivados nuevos de oxazafosforinas y usos terapéuticos de los mismos**

30 Prioridad:

**14.05.2014 EP 14305703**

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

**17.12.2018**

73 Titular/es:

**INSTITUT GUSTAVE ROUSSY (100.0%)  
39, rue Camille Desmoulins  
94800 Villejuif, FR**

72 Inventor/es:

**PACI, ANGELO;  
MARTENS, THIERRY;  
RIVARD, MICHAËL;  
DESMAËLE, DIDIER;  
SKARBK, CHARLES y  
COUVREUR, PATRICK**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

**ES 2 694 025 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

Derivados nuevos de oxazafosforinas y usos terapéuticos de los mismos

La presente invención se refiere a derivados nuevos de oxazafosforinas útiles para el tratamiento de cánceres.

## Antecedentes de la invención

5 Las oxazafosforinas pertenecen a los agentes alquilantes, que se han usado de manera generalizada en la práctica clínica rutinaria para tratar varios tipos de cáncer, desde tumores de tejidos blandos hasta linfomas. Las oxazafosforinas incluyen ifosfamida (IFO), ciclofosfamida (CPM) y trofosfamida, que tienen una estructura isomérica que contiene uno, dos o tres grupos cloroetilo unidos a los átomos de nitrógeno. Como profármacos, estos compuestos requieren una activación metabólica realizada mediante el citocromo P450 (CYP) hepático específico.  
 10 Esta activación produce intermedios hidroxilados que mediante un mecanismo de apertura del anillo liberan el fármaco activo, concretamente la mostaza nitrogenada que muestra citotoxicidad mediante entrecruzamientos del ADN. La ruta de activación principal de IFO se lleva a cabo mediante CYP3A4, e implica una reacción de oxidación en el átomo de carbono C-4, que conduce a 4-hidroxi-ifosfamida (4-HO-IFO). 4-HO-IFO da lugar a la mostaza alquilante de manera concurrente con acroleína por medio de un equilibrio tautomérico y un proceso de Michael inverso. La acroleína es responsable de la toxicidad urológica, caracterizada por cistitis hemorrágica. La toxicidad relacionada con acroleína se puede atenuar mediante la co-administración de mercaptoetanosulfonato sódico. Además, las oxazafosforinas también pueden provocar neurotoxicidad y nefrotoxicidad debido a la liberación de cloroacetaldehído, un metabolito producido por la oxidación de las cadenas laterales de las moléculas por medio de la acción del citocromo, en particular CYP2B6 (véase la Figura 5).

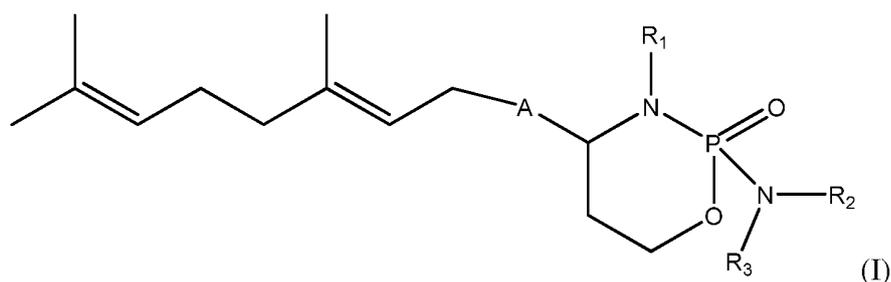
20 Para evitar estas toxicidades, se ha investigado la farmacomodulación de las oxazafosforinas. Se ha propuesto la oxidación química del centro del carbono C-4 para proporcionar análogos pre-activados capaces de liberar las mostazas alquilantes sin someterlas a la metabolización mediante el citocromo P450. Ya se han preparado muchos derivados, tales como derivados 4-metoxi (Paci *et al.*, 2001, *Bioorg Med Chem Lett*, 11, 1347-1349), pero se descubrió que la mayoría de ellos son demasiado inestables para el desarrollo posterior, o no tienen ventajas sobre el uso de IFO.  
 25

La solicitud de patente WO2012/076824 describe derivados de ifosfamida SQ-IFO y SQ-tio-IFO que comprenden un radical escualenoilo en el carbono C-4. Se demostró que estos compuestos muestran citotoxicidad sobre varias células cancerosas, y son capaces de auto-organizarse en nanopartículas gracias a su larga cola hidrófoba. Sin embargo, los derivados de escualenoilo no son fácilmente accesibles, y su preparación puede requerir el uso de reactivos tóxicos, que en general se excluyen de la síntesis de ingredientes activos para el uso en medicina.  
 30

Todavía existe la necesidad de derivados nuevos de oxazafosforina para el tratamiento de cánceres.

## Sumario de la invención

En un primer aspecto, la invención se refiere a un compuesto de fórmula (I):



35 en la que:

A es O, S, -NH- o un resto espaciador que tiene un peso molecular de hasta 500 g·mol<sup>-1</sup> seleccionado del grupo que consiste en:

- aminoácidos, dipéptidos;
  - grupos poliéter, tales como polietilen glicol o polipropilen glicol, que comprenden preferiblemente de 2 a 6 monómeros;
  - ligadores de hidrazona;
  - -O-(C=S)-S-, -ONH-, -O-NR'-, -NR'O-, -NHO-, en los que R' es un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, preferiblemente un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>,
- 40

- 5
- $Y_1-(CH_2)_n-Y_2$ , en el que n es un número entero de 1 a 8, y  $Y_1-(CH_2-CH_2-O)_a-CH_2-CH_2-Y_2$ , en el que a es un número entero de 1 a 5, en el que  $Y_1$  y  $Y_2$  se seleccionan independientemente de -O-, -NH-, -S-, -OC(O)-, -C(O)NR'-, -C(O)NH-, -NHC(O)-, -O-C(S)-S-, -ONH-, -ONR'-, -OC(O)-O-, NR'C(S)S-, -C(O)O-, -C(O)O-, -SC(S)-O-NR'-, -NHO-, -NR'O-, -SC(S)NR'-, -NR'C(O)-, en los que R' es un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, preferiblemente un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>,

- $R_1$ ,  $R_2$  y  $R_3$  se seleccionan independientemente del grupo que consiste en -H, -CH(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>-X y -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-X, en los que X es un átomo de halógeno, preferiblemente seleccionado de Cl, Br o I,

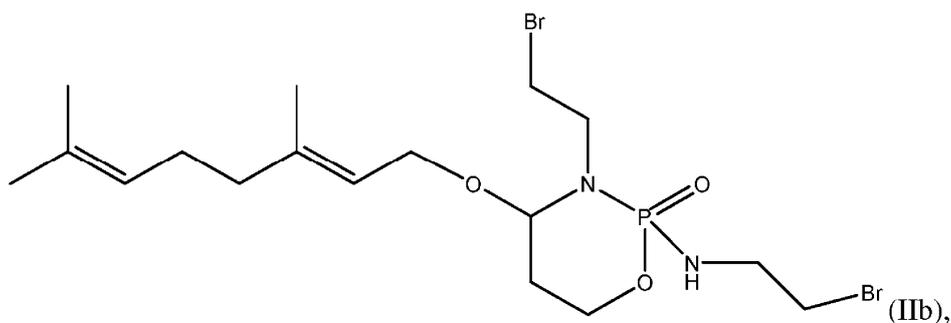
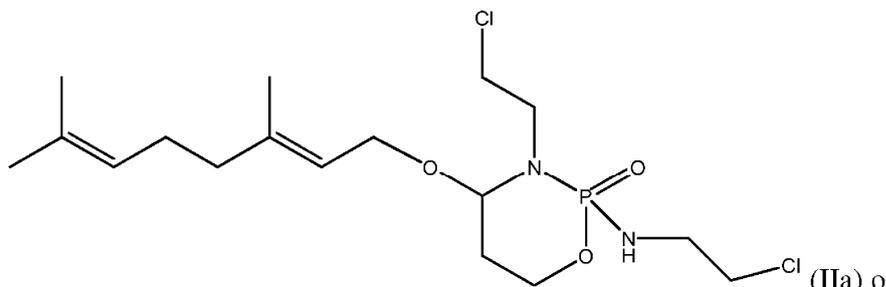
o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 En ciertas realizaciones, al menos dos de  $R_1$ ,  $R_2$  y  $R_3$  se seleccionan independientemente de -CH(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>-X y -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-X.

En otros aspectos adicionales o alternativos, el compuesto de fórmula (I) es tal que:

- $R_2$  es H, y
- $R_3$  y  $R_1$  son -CH(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>-X o -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-X, preferiblemente con X = Cl o Br.

Preferiblemente, el compuesto es



15 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

El compuesto de la invención se puede usar como fármaco, preferiblemente como agente inmunosupresor o como fármaco antineoplásico. Por lo tanto, la invención también se refiere al uso de un compuesto de fórmula (I) en el tratamiento o la prevención del cáncer, preferiblemente en el tratamiento del cáncer.

20 El cáncer se puede seleccionar del grupo que consiste en sarcomas tales como osteosarcoma, sarcoma de tejidos blandos y sarcoma pediátrico de tejidos blandos, cáncer de mama, cánceres genitourinarios tales como cánceres de próstata, vejiga, testículo, cuello uterino u ovarios, y cáncer de pulmón tal como carcinoma de pulmón no microcítico y carcinoma de pulmón microcítico.

25 El compuesto de la invención se puede administrar por vía intravenosa o vía oral. En ciertas realizaciones, el compuesto de la invención se administrará en combinación con mercaptoetano sulfonato sódico (mesna) y/o con un agente antineoplásico adicional. En ciertas realizaciones adicionales, el compuesto de la invención se formula en forma de una nanopartícula.

30 En un aspecto adicional, la invención se refiere a una nanopartícula formada por un compuesto de la invención. Un objetivo adicional de la invención es una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), y dicho compuesto se formula opcionalmente en forma de una nanopartícula, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

## Figuras

La Figura 1 muestra la proporción de 4-HO-IFO/geraniloxi-IFO en función del tiempo en el plasma de ratones. La liberación de 4-OH-IFO fue de hasta un 20% para Geraniloxi-IFO en forma libre (Ger-IFO-NP) y hasta un 45% para nanopartículas de geraniloxi-IFO (Ger-IFO-NP). En contraste, IFO no libera 4-OH-IFO en estas condiciones *ex vivo*.

5 La Figura 2 muestra la citotoxicidad *in vitro* de IFO, geraniloxi-IFO (Geraniloxi-IFO) en forma bruta y nanopartículas de geraniloxi-IFO (Geraniloxi-IFO nano) en células RMS-1 tras una incubación de 72 horas. Eje X: Concentración en  $\mu\text{M}$  (escala logarítmica). Eje Y: porcentaje de viabilidad celular.

10 La Figura 3 muestra el crecimiento tumoral en ratones a los que se xenoinjertó un tumor RD. A los ratones se les administró de manera intravenosa placebo (vehículo), Geraniloxi-IFO (158 mg/kg equivalente a 100 mg/kg de IFO), geraniol (59 mg/kg) o IFO (300 mg/kg) en forma de una única dosis, en el día 0, por vía intravenosa. Eje X: día tras la administración, eje Y: proporción del "volumen tumoral en el día J" respecto del "volumen tumoral en el día 0" ( $V_{tjx}/V_{tj0}$ ).

15 La Figura 4 muestra la conversión de Geraniloxi-IFO e IFO en 4-HO-IFO y metabolitos descloroetilo *in vivo* en ratones. Eje X: tiempo tras la administración intravenosa. Eje Y: porcentaje de conversión (metabolitos detectados en el plasma de los ratones).

La Figura 5 muestra la estructura química de ciclofosfamida, ifosfamida (IFO) y trosfosfamida, así como el metabolismo de IFO *in vivo*.

## Descripción detallada de la invención

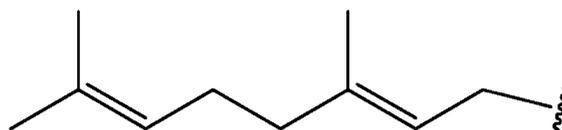
20 La presente invención se refiere a derivados nuevos de oxazafosforinas que comprenden un radical geranilo en la posición C-4. El solicitante demostró que tales derivados son capaces de liberar la mostaza alquilante correspondiente sin la activación preliminar mediante los citocromos. Estos compuestos pueden mostrar así una buena actividad terapéutica *in vivo* con efectos adversos neurológicos y nefrológicos reducidos observados para la oxazafosforina correspondiente.

25 En particular, el solicitante demostró que geraniloxi-IFO es capaz de auto-organizarse en nanopartículas a pesar de su corta cola lipófila. Es digno de mención que geraniloxi-IFO mostró citotoxicidad hacia líneas celulares cancerosas tales como A673 y RMS-1 en ausencia de citocromo. Sorprendentemente, la citotoxicidad de Geraniloxi-IFO se incrementa significativamente (20 veces) cuando se formula en forma de nanopartículas en comparación con la forma en bruto. En contraste, 13,17-Dimetiloxiloxi-IFO no proporcionó una suspensión de nanopartículas, y mostró una escasa actividad citotóxica en líneas celulares cancerosas tras una incubación de 72 horas.

30 Además, también se demostró que geraniloxi-IFO previene el crecimiento tumoral en un modelo murino de rhabdomyosarcoma (tumor de células RD xenoinjertado en ratones atímicos). Los datos adicionales de la farmacocinética demostraron que, cuando se administró por vía intravenosa en ratones, geraniloxi-IFO se convirtió rápidamente y en su mayor parte en el metabolito 4-hidroxi-ifosfamida (4-HO-IFO), que libera espontáneamente la mostaza alquilante. La conversión de geraniloxi-IFO en metabolitos inactivos de N-descloroetilo, y así la liberación  
35 de cloroacetaldehído neuro- y nefrotóxico, fue inferior a la observada para IFO. Tal resultado ilustra que, al contrario que IFO, geraniloxi-IFO no se metaboliza significativamente mediante CYP2B6.

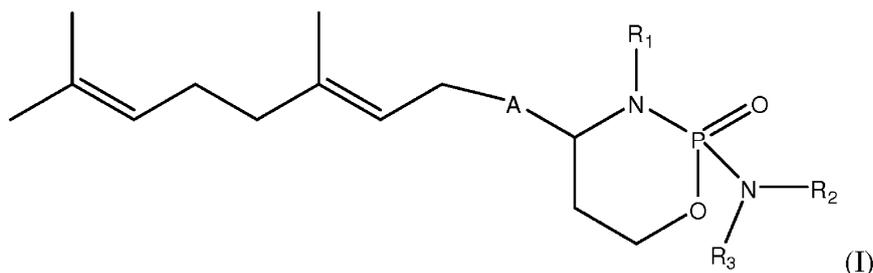
Así, un primer aspecto según la descripción es un derivado de oxazafosforinas que comprende un radical geranilo.

Tal como se usa en la presente memoria, el radical geranilo se refiere a cualquier radical derivado de geraniol ((*trans*)-3,7-dimetil-2,6-octadien-1-ol) tal como:



40

En ciertos aspectos, la presente descripción se refiere a un compuesto de fórmula (I):



en la que:

- A es O, S, NH, NR', en el que R' es un grupo alquilo, preferiblemente un grupo alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, o un grupo espaciador que tiene preferiblemente un peso molecular de hasta 500 g·mol<sup>-1</sup>,
- 5 - R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> se seleccionan independientemente del grupo que consiste en -H, -CH(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>-X y -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-X, en los que X es un átomo de halógeno, preferiblemente Cl, Br o I, y más preferiblemente Br o I

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

Tal como se usa en la presente memoria, un espaciador se refiere a un resto químico que une el radical geranilo al átomo C-4 de oxazafosforina. El espaciador (también denominado "ligador") puede ser de cualquier tipo. Por ejemplo, el espaciador puede comprender o puede consistir en un resto seleccionado del grupo que consiste en

- aminoácidos y derivados de los mismos;
- péptidos que comprenden de 2 a 10, preferiblemente de 2 a 5 aminoácidos y derivados de los mismos;
- -N(R')-, en el que R' es un grupo alquilo, en particular un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>;
- cadenas de hidrocarburos C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> sustituidos opcionalmente con uno o varios sustituyentes seleccionados de los grupos -OH, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, y/o que comprenden opcionalmente:
  - o uno o varios heteroátomos tales como S y O; y/o
  - o uno o varios grupos químicos tales como -NHC(O)-, -OC(O)-, OC(O)O, -NH-, -NH-C(O)-NH-, -S-S-, y -CR"=N-NH-C(O)-, -ONH-, -ONR'- -O-C(=S)-S-, -C(=S)-S-, y/o
  - o uno o varios grupos heteroarilo o arilo, y/o
  - o uno o varios ciclos o heterociclos alifáticos, que comprenden preferiblemente de 4 a 6 átomos, y sustituidos opcionalmente con uno o varios sustituyentes seleccionados de grupos -OH, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, en los que R" es H, un grupo arilo, o un grupo alquilo tal como un grupo alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, preferiblemente un grupo alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, y R' es un grupo alquilo tal como un grupo alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, en particular un grupo alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>.

En particular, el espaciador se puede seleccionar del grupo que consiste en:

- aminoácidos y derivados de los mismos;
- péptidos que comprenden de 2 a 10, preferiblemente de 2 a 5 aminoácidos y derivados de los mismos;
- cadenas de hidrocarburos C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> que comprenden opcionalmente uno o varios heteroátomos tales como S y O; y/o uno o varios grupos químicos tales como -NHC(O)-, -OC(O)-, -NH-, -NH-C(O)-NH-, -S-S-, y -CH=N-NH-C(O)- y/o uno o varios grupos heteroarilo o arilo, y dichas cadenas de hidrocarburos están sustituidas opcionalmente con uno o varios sustituyentes seleccionados de grupos -OH, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> y alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, y
- combinaciones de los mismos

Tal como se usa en la presente memoria, un grupo "Arilo" se refiere a un anillo aromático sustituido o sin sustituir. Preferiblemente, el grupo arilo es un grupo fenilo sustituido opcionalmente con uno o varios grupos tales como alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, OH o átomos de halógeno.

Tal como se usa en la presente memoria, un "Heteroarilo" se refiere a un sistema de anillo aromático en el que uno o varios átomos aromáticos son un heteroátomo tal como N, O o S. El grupo heteroarilo puede estar sustituido o sin sustituir, y preferiblemente comprende de 4 a 6 átomos cíclicos. Los ejemplos de grupos heteroarilo son, sin limitación, grupos piridinilo, piridazinilo, pirimidilo, pirazilo, triazinilo, pirrolilo, pirazolilo, imidazolilo, triazolilo, pirazinilo, pirimidinilo, tetrazolilo, furilo, tienilo, isoxazolilo, tiazolilo, oxazolilo o isoxazolilo.

Tal como se usa en la presente memoria, los "Heterociclos" alifáticos se refieren a un sistema de anillo no aromático en el que uno o varios átomos aromáticos son un heteroátomo tal como N, O o S. El grupo heteroarilo puede estar sustituido o sin sustituir, y preferiblemente comprende de 4 a 6 átomos cíclicos. Los ejemplos de heterociclos alifáticos son, sin limitación, morfolina, piperazina, pirrolidina, dioxano, piperidina, tetrahidrofurano y similares.

5 Tal como se usa en la presente memoria, los grupos alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> abarcan los grupos metilo, etilo, propilo y butilo.

Tal como se usa en la presente memoria, la expresión "farmacéuticamente aceptable" se refiere a composiciones, compuestos, sales y similares que son adecuados, dentro del alcance del buen juicio médico, para entrar en contacto con los tejidos del sujeto o que se pueden administrar al sujeto sin una toxicidad excesiva u otras complicaciones que corresponden a una proporción beneficio/riesgo razonable.

10 Tal como se usa en la presente memoria, la expresión "solvato" o "solvato farmacéuticamente aceptable" se refiere a un solvato formado a partir de la asociación de una o más moléculas de compuestos de la invención con una o más moléculas de disolvente. El término solvatos incluye los hidratos tales como hemihidrato, monohidrato, dihidrato, trihidrato, tetrahidrato y similares.

15 Tal como se usa en la presente memoria, la expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a las sales atóxicas que en general se pueden preparar poniendo en contacto el compuesto de la invención con un ácido orgánico o inorgánico adecuado. Por ejemplo, las sales farmacéuticas pueden ser, sin limitación, acetatos, benzenosulfonatos, benzonatos, bicarbonatos, bisulfatos, bitartratos, bromuros, butiratos, carbonatos, cloruros, citratos, difosfatos, fumaratos, yoduros, lactatos, lauratos, malatos, maleatos, mandelatos, mesilatos, oleatos, oxalatos, palmitatos, fosfatos, propionatos, succinatos, sulfatos, tartratos, y similares.

20 En ciertos aspectos, el espaciador se selecciona de aminoácidos, dipéptidos y derivados de los mismos. Por ejemplo, el espaciador se puede basar en citrulina, lisina, ornitina, alanina, fenilalanina, cisteína, glicina, valina, leucina y dipéptidos de los mismos. Como ejemplo de ligador dipeptídico, se puede citar un ligador de valina-citrulina.

25 En algunos otros aspectos, el espaciador puede ser una cadena de hidrocarburo como se describió anteriormente. Por ejemplo, el espaciador puede ser un grupo poliéter, tal como polietilen glicol o polipropilen glicol, que comprende preferiblemente de 2 a 6 monómeros. De manera alternativa, el espaciador puede ser un ligador de hidrazona.

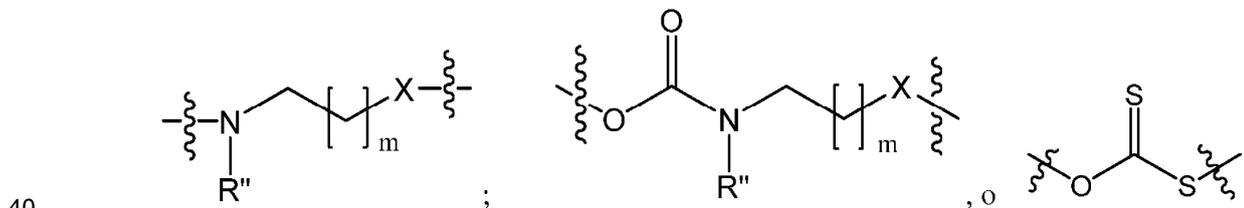
En algunos otros aspectos, A se selecciona de NH, O, S, NR', ONH, ONR', OC(O)O, OC(S)S, N(R')C(S)S-, y sus combinaciones con grupos poliéter, tales como polietilen glicol o polipropilen glicol, que comprenden preferiblemente de 2 a 6 monómeros, en los que R' es un alquilo, preferiblemente un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>.

30 En ciertos aspectos, el espaciador puede ser Y<sub>1</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-Y<sub>2</sub>, en el que n es un número entero de 1 a 8, o Y<sub>1</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>a</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-Y<sub>2</sub>, en el que a es un número entero de 1 a 5, en los que

Y<sub>1</sub> y Y<sub>2</sub> se seleccionan independientemente de -O-, -NH-, -S-, -OC(O)-, -C(O)NR', -C(O)NH-, -NHC(O)-, -O-C(S)-S-, -NR'-, -ONH-, -ONR', -OC(O)-O-, NR'C(S)S-, y -C(O)O-, en los que R' es un alquilo, preferiblemente alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>.

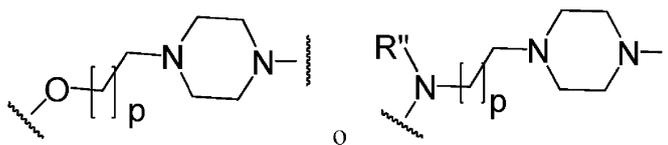
35 En un aspecto particular, el espaciador puede ser Y<sub>1</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-Y<sub>2</sub>, en el que n es un número entero de 1 a 6, preferiblemente de 1 a 4, y Y<sub>1</sub> y Y<sub>2</sub> se seleccionan independientemente de -O-, -NH-, -S-, -OC(O)-, -C(O)NH-, -NHC(O)-, y -C(O)O-.

En ciertos aspectos adicionales, A se selecciona del grupo que consiste en O, S, -NH- y un ligador de cisteamina (es decir, -C(O)NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-S-), ligador de valina-citrulina y ligador de cisteína. Los espaciadores adecuados según la descripción también abarcan:



en la que m es un número entero de 0 a 9 y R'' es H o un grupo alquilo, tal como un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, preferiblemente un grupo alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>.

Otros ejemplos de espaciadores adecuados consisten en, o comprenden, uno de los siguientes restos:

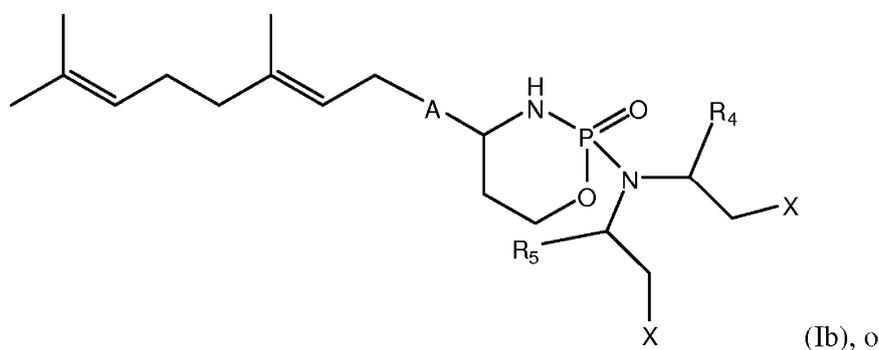
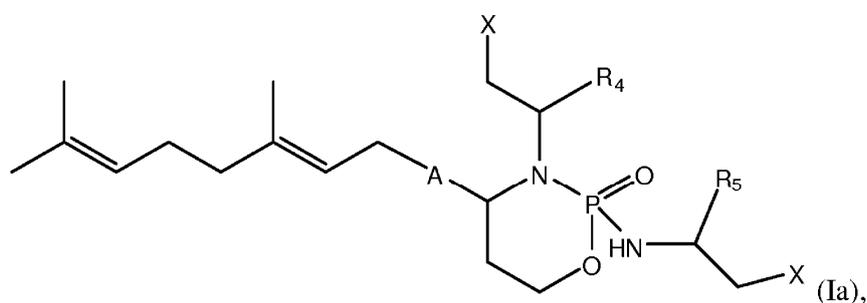


en las que p es un número entero de 0 a 4, preferiblemente 1 y R'' es H o un grupo alquilo, tal como un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, preferiblemente un grupo alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>.

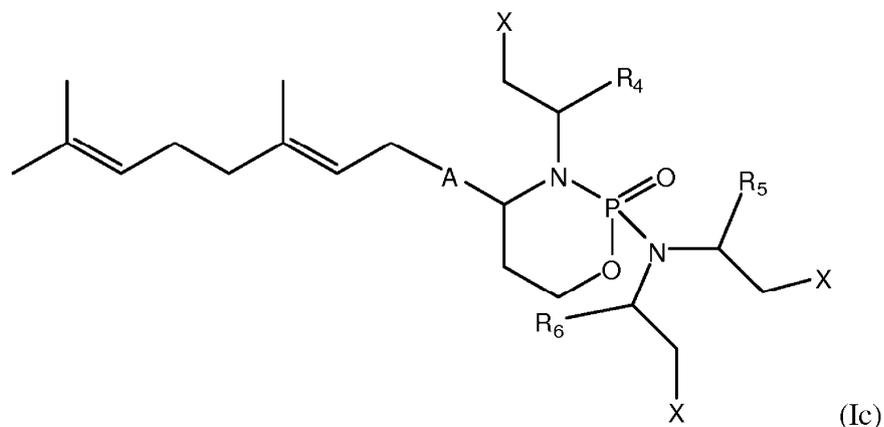
5 En ciertos aspectos alternativos o adicionales, al menos dos grupos de R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> se seleccionan independientemente de -CH(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>-X y -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-X, y el grupo restante es -H. En algunos otros aspectos, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> se seleccionan independientemente de -CH(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>-X y -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-X.

En ciertos aspectos adicionales, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> se seleccionan independientemente de H y -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-X.

En ciertos aspectos más específicos, el compuesto de la descripción tiene una de las siguientes fórmulas (Ia), (Ib) o (Ic):



10



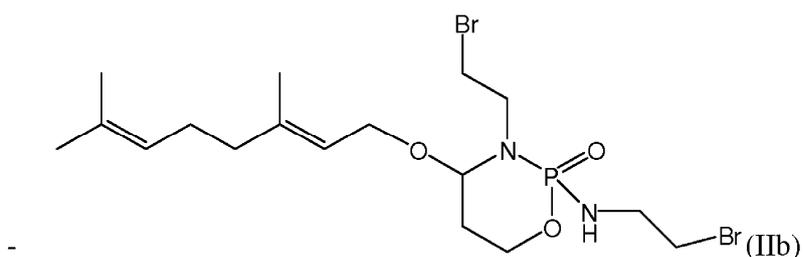
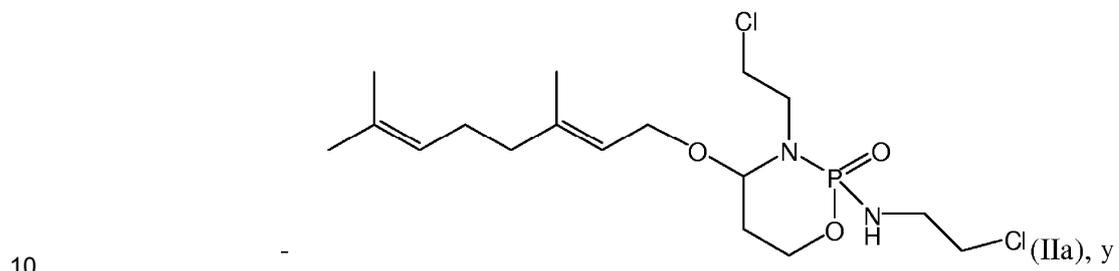
en las que X y A son como se definieron para la fórmula (I) y R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub> y R<sub>6</sub> se seleccionan independientemente de H o CH<sub>3</sub>.

En ciertos aspectos, el compuesto de la descripción se selecciona del grupo que consiste en:

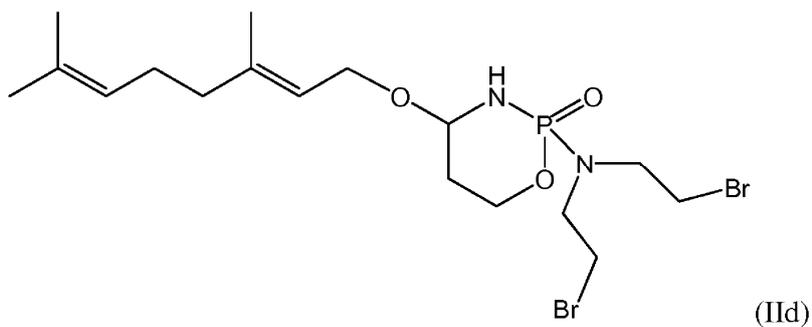
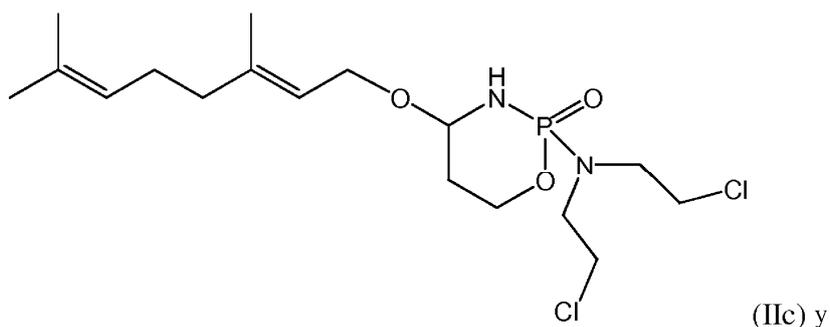
- un compuesto de fórmula (Ia) en el que  $R_4 = R_5 = H$
  - un compuesto de fórmula (Ia) en el que  $R_4 = R_5 = CH_3$
  - un compuesto de fórmula (Ib) en el que  $R_4 = R_5 = H$
  - un compuesto de fórmula (Ib) en el que  $R_4 = R_5 = CH_3$
- 5
- un compuesto de fórmula (Ic) en el que  $R_4 = R_5 = R_6 = H$  y
  - un compuesto de fórmula (Ic) en el que  $R_4 = R_5 = R_6 = CH_3$

Preferiblemente, X es Br o Cl y/o A es O, S o  $-Y_1-(CH_2)_n-Y_2$  como se definió en la fórmula (I), más preferiblemente O o S.

Los compuestos preferidos según la descripción son compuestos de fórmula (Ia) tales como:



Otros compuestos de interés según la descripción son:



15 Se conocen bien los métodos para preparar un compuesto de fórmula (I). El técnico experto se puede remitir a los procedimientos habituales. Se proporcionan protocolos generales para preparar los compuestos de la descripción en

los Ejemplos de la presente solicitud. El técnico experto también puede adaptar cualquiera de los métodos sintéticos descritos en la solicitud de patente WO2012/076824.

5 Los compuestos según la descripción son capaces de auto-organizarse en nanopartículas. Dicho autoensamblaje en nanopartículas puede incrementar la actividad biológica del compuesto, tal como su citotoxicidad, y mejorar su transporte a las células cancerosas. Además, el compuesto de la descripción en forma de nanopartículas puede tener una estabilidad mejorada en comparación con su forma libre al almacenarlo. En ciertos aspectos, el compuesto de la descripción está en forma de nanopartículas.

10 Un objetivo adicional de la descripción es una nanopartícula que comprende un compuesto de la descripción. Más exactamente, un compuesto de la descripción está presente como un constituyente, más preferiblemente como el componente principal de la nanopartícula, lo que significa que el compuesto de la descripción puede representar más del 50% en peso, p.ej. más del 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99%, o 99,5% en peso del peso total de la nanopartícula. En ciertos aspectos, la nanopartícula se forma mediante un compuesto de la descripción. En otras palabras, la nanopartícula es el resultado de la auto-organización de las moléculas del compuesto de la descripción.

15 El diámetro hidrodinámico medio de la nanopartícula de la descripción es en general de 10 a 800 nm, preferiblemente de 30 a 500 nm, y en particular de 50 a 400 nm. Por ejemplo, las nanopartículas pueden tener un diámetro hidrodinámico medio de 70 nm a 200 nm, por ejemplo de 100 nm a 250 nm. El diámetro hidrodinámico medio se determina preferiblemente mediante dispersión dinámica de luz a 20 °C, por ejemplo mediante el uso de un aparato Nanosizer ZS (Malvern Instrument Ltd, Francia) como se describe en los Ejemplos de la presente solicitud de patente.

20 Las nanopartículas del compuesto de fórmula (I) se pueden obtener disolviendo el compuesto en un disolvente orgánico tal como acetona o etanol, y después añadiendo esta mezcla a una fase acuosa con agitación, lo que conduce a la formación de nanopartículas con o sin tensioactivo(s). Los tensioactivos incluyen, por ejemplo, copolímeros de polioxietileno-polioxipropileno, lauril sulfato sódico, derivados de fosfolípidos y derivados lipófilos de polietilén glicol.

25 La descripción también se refiere a un sistema coloidal que contiene las partículas de la descripción, preferiblemente en un medio acuoso.

El compuesto de fórmula (I), la nanopartícula de la descripción así como cualquier compuesto particular descrito en la presente memoria se pueden usar como fármaco, en particular como agente inmunosupresor o como fármaco antineoplásico.

30 Así, un aspecto adicional de la descripción es el uso de un compuesto o una nanopartícula de la descripción en el tratamiento o la prevención del cáncer.

La descripción también se refiere a un método para tratar o prevenir un cáncer en un sujeto, y dicho método comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o una nanopartícula como se definió anteriormente.

35 La presente descripción se refiere además a un método para tratar a un sujeto que necesita inmunosupresión, y el método comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o una nanopartícula como se definió anteriormente.

40 Tal como se usa en la presente memoria, el término "cáncer" se refiere a un trastorno en mamíferos que implica un crecimiento celular incrementado, y caracterizado por una neoplasia maligna. El cáncer puede ser de cualquier tipo. Puede ser un tumor sólido o un cáncer hematopoyético. Preferiblemente, el cáncer se selecciona del grupo que consiste en carcinoma, sarcoma, linfoma, leucemia, tumor de células germinales, blastoma y melanoma. Por ejemplo, el cáncer se puede seleccionar, sin limitación, de leucemia mieloide crónica, leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfoblástica aguda positiva para el cromosoma Filadelfia (LLA Ph+), enfermedad de Hodgkin, linfomas de Hodgkin y no Hodgkin, carcinoma de células escamosas, cáncer de pulmón microcítico, cáncer de pulmón no microcítico, glioma, cáncer gastrointestinal, cáncer renal, cáncer ovárico, cáncer hepático, cáncer colorrectal, cáncer endometrial, cáncer renal, cáncer de próstata, cáncer de tiroides, neuroblastoma, cáncer pancreático, glioblastoma multiforme, cáncer de cuello uterino, cáncer de estómago, cáncer de vejiga, hepatoma maligno, cáncer de mama, carcinoma de colon, y cáncer de cabeza y cuello, cáncer gástrico, tumor de células germinales, sarcoma pediátrico, rabdomiosarcoma, sarcoma de Ewing, osteosarcoma, sarcoma de tejidos blandos, linfomas de NK/células T sinonasales, mielomas, melanomas, mieloma múltiple, leucemia mielógena aguda (LMA), o leucemia linfocítica crónica.

55 En cierto aspecto preferido, el cáncer se puede seleccionar del grupo que consiste en las leucemias crónicas, leucemias linfocíticas agudas, enfermedad de Hodgkin, linfomas de Hodgkin y no Hodgkin, cáncer de pulmón, cáncer de mama, cánceres genitourinarios tales como cáncer de próstata, vejiga, testículo, cuello uterino u ovarios, sarcomas tales como osteosarcoma y sarcoma de tejidos blandos, que incluyen sarcoma pediátrico de tejidos blandos, neuroblastomas, mielomas, y melanomas.

Más preferiblemente, el cáncer se selecciona de sarcomas que incluyen osteosarcoma y sarcoma de tejidos blandos, cáncer de mama, cánceres genitourinarios y cáncer de pulmón, que incluye carcinoma de pulmón no microcítico y carcinoma de pulmón microcítico.

5 Tal como se usa en la presente memoria, "*el tratamiento del cáncer*" o "*tratar el cáncer*" incluye curar, retrasar, aliviar o ralentizar la progresión del cáncer, o de uno o más de los síntomas asociados, así como la prevención, la atenuación, la ralentización, la inversión o la eliminación de uno o más de los síntomas de la enfermedad.

10 La "*prevención del cáncer*" incluye prevenir o retrasar el inicio del cáncer o uno o más de los síntomas asociados a dicho cáncer. La "*prevención del cáncer*" también se refiere a cualquier acto destinado a mejorar el estado de salud de los pacientes, tal como la terapia, profilaxis y retraso de la enfermedad, y/o prevenir que el paciente se vea afectado por la enfermedad. En ciertos aspectos, esta expresión también se refiere a minimizar el riesgo (o la probabilidad) de que un paciente desarrolle dicho cáncer, en comparación con un paciente al que no se le ha administrado el compuesto de la descripción.

15 Tal como se usa en la presente memoria, "*una cantidad o dosis terapéuticamente eficaz*" se refiere a una cantidad del compuesto de la descripción que previene, elimina, ralentiza el cáncer o reduce o retrasa uno o varios síntomas o trastornos provocados por o asociados a dicha enfermedad en el sujeto, preferiblemente un ser humano. Un experto en la técnica puede determinar y adaptar la cantidad eficaz, y más en general el régimen de dosis, del compuesto de la descripción y las composiciones farmacéuticas del mismo. Se puede determinar una dosis eficaz mediante el uso de técnicas convencionales y observando los resultados obtenidos en circunstancias análogas. La dosis terapéuticamente eficaz del compuesto de la descripción variará dependiendo de la enfermedad a tratar o  
20 prevenir, su gravedad, la vía de administración, cualquier co-terapia implicada, la edad del paciente, el peso, el estado médico general, los antecedentes médicos, etc. En general, la cantidad del compuesto a administrar a un paciente puede oscilar de alrededor de 0,01 mg/kg a 500 mg/kg de peso corporal, preferiblemente de 0,1 mg/kg a 300 mg/kg de peso corporal, por ejemplo de 25 a 300 mg/kg. El compuesto o la nanopartícula de la descripción se pueden administrar al sujeto diariamente durante varios días consecutivos, por ejemplo durante 2 a 10 días consecutivos, preferiblemente de 3 a 6 días consecutivos. Dicho tratamiento se puede repetir cada dos o tres  
25 semanas o cada uno, dos o tres meses. De manera alternativa, el compuesto o la nanopartícula de la descripción se pueden administrar en forma de una única dosis una vez a la semana, una vez cada dos semanas, o una vez al mes. El tratamiento se puede repetir una o varias veces al año.

30 La administración del compuesto de la descripción puede ser tópica, parenteral o enteral. De hecho, el compuesto de la descripción se puede administrar mediante cualquier vía convencional que incluye, pero sin limitación, la vía oral, bucal, sublingual, rectal, intravenosa, intramuscular, subcutánea, intraósea, dérmica, transdérmica, mucosa, transmucosa, intraarticular, intracardiaca, intracerebral, intraperitoneal, intranasal, pulmonar, intraocular, vaginal, o transdérmica. De hecho, la vía de administración del compuesto de la descripción puede variar dependiendo de la enfermedad a tratar y el órgano o tejido del paciente afectado por la enfermedad. En ciertos aspectos preferidos, el  
35 compuesto de la descripción se administra por vía intravenosa o vía oral. Como se mencionó anteriormente, el sujeto o paciente es preferiblemente un ser humano.

40 En un aspecto particular, el compuesto o la nanopartícula de la descripción se pueden administrar al sujeto en combinación con un agente terapéutico adicional. El agente terapéutico adicional puede ser un agente antineoplásico. Los ejemplos no limitantes incluyen en particular interferones, cisplatino, bleomicina, fluorouracilo, metotrexato, vincristina, actinomicina, vinorelbina, taxanos tales como paclitaxel y docetaxel, o una antraciclina. Además, se puede administrar un ingrediente activo para neutralizar la toxicidad potencial de acroleína, en particular mercaptoetanosulfonato sódico. El compuesto o la nanopartícula de la descripción y el compuesto adicional se pueden administrar al paciente mediante la misma vía o mediante vías diferentes, de manera simultánea, por separado o sucesivamente.

45 El compuesto o la nanopartícula de la descripción se pueden usar en combinación con radioterapia.

Es evidente que el método y uso terapéutico de la descripción se pueden poner en práctica administrando cualquiera de los compuestos descritos en la presente memoria, en particular los compuestos de fórmula (Ia), (Ib), (Ic), (IIa) o (IIb), preferiblemente el compuesto de fórmula (IIa) o (IIb).

50 En un aspecto adicional, la descripción se refiere al uso de un compuesto de fórmula (I) o a una nanopartícula del mismo para la fabricación de un fármaco para ser usado en el tratamiento o la prevención del cáncer, o para ser usado en un tratamiento inmunosupresor.

55 En un aspecto adicional, la descripción se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal o solvato farmacéuticamente del mismo, una nanopartícula de la descripción, así como cualquier compuesto particular descrito en la presente memoria, y un excipiente farmacéuticamente aceptable. El compuesto o la nanopartícula de la descripción está presente como ingrediente activo en dicha composición farmacéutica.

La composición farmacéutica de la descripción puede comprender:

- del 0,01% al 90% en peso de un compuesto o una nanopartícula de la descripción, y
- del 10% al 99,99% en peso de excipiente(s) farmacéuticamente aceptable(s), y el porcentaje se expresa en comparación con el peso total de la composición.

Preferiblemente, la composición farmacéutica puede comprender:

- 5 - del 0,1% al 50% en peso de un compuesto o una nanopartícula de la descripción, y
- del 50% al 99,9% en peso de excipientes farmacéuticamente aceptables.

Tal composición farmacéutica se usará preferiblemente en el tratamiento o la prevención de un cáncer, o para proporcionar inmunosupresión.

10 La composición farmacéutica de la descripción se puede formular según métodos habituales tales como los descritos en Remington: The Science and Practice of Pharmacy (Lippincott Williams & Wilkins; vigesimoprimera edición, 2005).

15 Los excipientes farmacéuticamente aceptables que se pueden usar se describen, en particular, en el Handbook of Pharmaceuticals Excipients, American Pharmaceutical Association (Pharmaceutical Press; 6ª edición revisada, 2009). En general, la composición farmacéutica de la descripción se puede obtener mezclando un compuesto de fórmula (I) como se describió anteriormente o nanopartículas del mismo con al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

20 Los ejemplos de excipientes adecuados incluyen, pero sin limitación, disolventes tales como agua o mezclas agua/etanol, rellenos, vehículos, diluyentes, aglutinantes, agentes antiaglomerantes, plastificantes, disgregantes, lubricantes, saborizantes, agentes tamponadores, estabilizantes, colorantes, pigmentos, antioxidantes, antiadherentes, suavizantes, conservantes, tensioactivos, ceras, emulsionantes, agentes humectantes, y deslizantes. Los ejemplos de diluyentes incluyen, sin limitación, celulosa microcristalina, almidón, almidón modificado, fosfato cálcico dibásico dihidrato, sulfato cálcico trihidrato, sulfato cálcico dihidrato, carbonato cálcico, mono- o disacáridos tales como lactosa, dextrosa, sacarosa, manitol, galactosa y sorbitol, xilitol y combinaciones de los mismos. Los ejemplos de aglutinantes incluyen, sin limitación, almidones, p.ej., almidón de patata, almidón de trigo, almidón de maíz; gomas, tales como goma de tragacanto, goma arábiga y gelatina; hidroxipropil celulosa, hidroxietil celulosa, hidroxipropil metil celulosa; polivinil pirrolidona, copovidona, polietilen glicol y combinaciones de los mismos. Los ejemplos de lubricantes incluyen, sin limitación, ácidos grasos y derivados de los mismos, tales como estearato cálcico, monoestearato de glicerilo, palmitoestearato de glicerilo, estearato magnésico, estearato de zinc, o ácido esteárico, o polialquilenglicoles tales como PEG. El deslizante se puede seleccionar de sílice coloidal, dióxido de silicio, talco y similares. Los ejemplos de disgregantes abarcan, sin limitación, croscovidona, sales de croscarmelosa tales como croscarmelosa sódica, almidones y derivados de los mismos. Los ejemplos de tensioactivos abarcan, sin limitación, simeticona, trietanolamina, polisorbatos y derivados de los mismos, tales como tween® 20 o tween® 40, poloxámeros, alcoholes grasos tales como alcohol laurílico, alcohol cetílico, y alquilsulfatos tales como dodecilsulfato sódico (SDS). Los ejemplos de emulsionantes abarcan, por ejemplo, alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, dimetilformamida, aceites, polietilenglicol y ésteres de ácidos grasos de sorbitán, o mezclas de estas sustancias.

35 Es evidente que el/los excipiente(s) a combinar con el compuesto activo de la descripción puede(n) variar en función de (i) las propiedades fisicoquímicas, que incluyen la estabilidad de dicho compuesto activo, (ii) el perfil farmacocinético deseado para dicho ingrediente activo, (iii) la forma farmacéutica y (iv) la vía de administración.

40 La composición de la descripción se puede administrar mediante cualquier vía adecuada, como se mencionó anteriormente. La vía de administración puede ser, sin limitación, subcutánea, intramuscular, intravenosa, oral, dérmica, transdérmica, pulmonar, intraarticular, intraósea. La composición farmacéutica puede ser de cualquier tipo. Por ejemplo, la composición farmacéutica puede ser una forma farmacéutica oral sólida, una forma farmacéutica líquida, una suspensión, por ejemplo para una vía intravenosa, una forma farmacéutica para aplicación tópica, tal como crema, pomada, gel y similares, un parche, tal como un parche transdérmico, un parche mucoadhesivo o comprimido, en particular un apósito o vendaje adhesivo, un supositorio, un aerosol para administración intranasal o pulmonar. En ciertos aspectos particulares, la composición farmacéutica puede ser un liofilizado o un polvo liofilizado. Dicho polvo se puede disolver o suspender en un vehículo adecuado justo antes de administrarlo al paciente, por ejemplo por vía intravenosa o vía oral.

45 Las formas farmacéuticas sólidas orales abarcan, sin limitación, los comprimidos, cápsulas, píldoras, y gránulos. Opcionalmente, dichas formas sólidas orales se pueden preparar con revestimientos y cubiertas, tales como revestimientos entéricos u otros revestimientos o cubiertas adecuadas. En la técnica se conocen bien varios de tales revestimientos y/o cubiertas. Los ejemplos de composiciones de revestimiento que se pueden usar son sustancias poliméricas y ceras. Las formas farmacéuticas líquidas incluyen emulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes, y elixires farmacéuticamente aceptables. Además de los compuestos activos, las formas farmacéuticas líquidas pueden contener diluyentes inertes usados habitualmente en la técnica, tales como agua u otros disolventes,

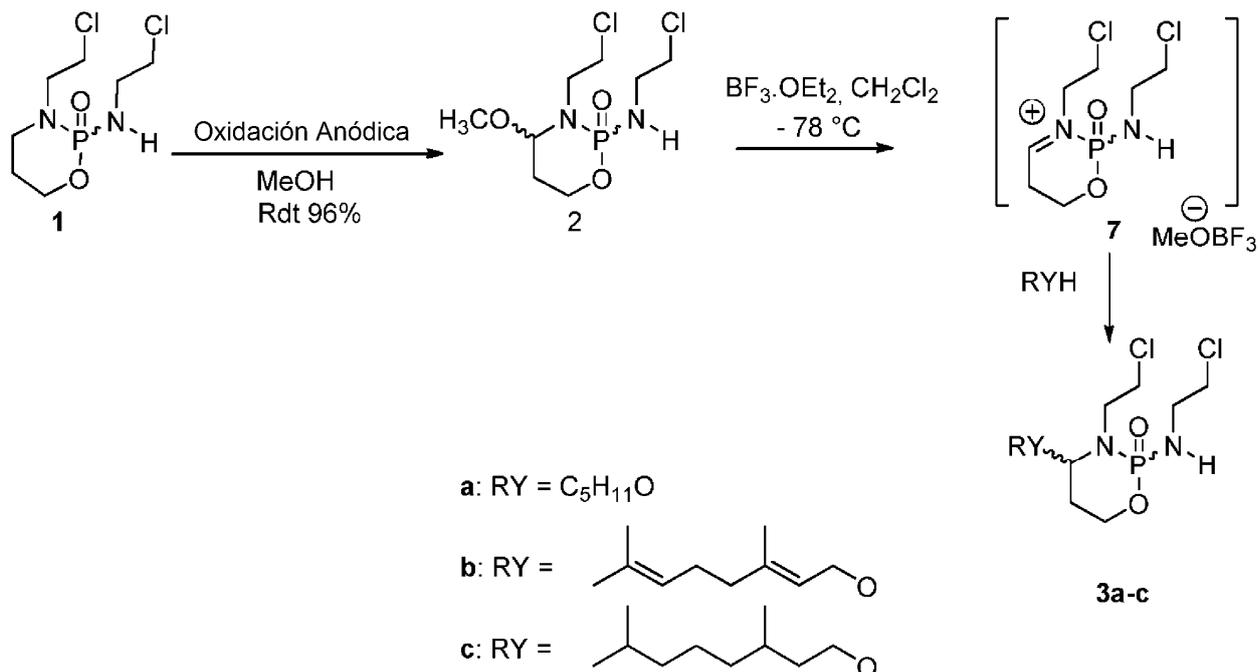
agentes solubilizantes y emulsionantes, como por ejemplo alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, dimetilformamida, aceites, polietilenglicol y ésteres de ácidos grasos de sorbitán o mezclas de estas sustancias, y similares. Si se desea, la composición también puede incluir adyuvantes, tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes, agentes de suspensión, agentes antioxidantes, tampones, agentes modificadores del pH y similares. Las suspensiones, además del compuesto o la nanopartícula de la descripción, pueden contener agentes de suspensión, tales como alcoholes isoestearílicos etoxilados, polioxietilen sorbitol y ésteres de sorbitán, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar, y similares. Se pueden preparar supositorios vaginales o rectales mezclando los compuestos de la presente descripción con excipientes o vehículos no irritantes adecuados tales como manteca de cacao, polietilenglicol, o una cera para supositorios, que son sólidos a las temperaturas normales pero son líquidos a la temperatura corporal, y, por lo tanto, se funden en el recto o la cavidad vaginal y liberan el componente activo. Las pomadas, pastas, cremas y geles pueden contener, además de un compuesto activo de esta descripción, excipientes tales como grasas animales y vegetales, aceites, ceras, parafinas, almidón, tragacanto, derivados de celulosa, polietilen glicoles, siliconas, bentonitas, ácido silícico, talco y óxido de zinc, o mezclas de los mismos.

En ciertos aspectos adicionales, la composición puede comprender otro ingrediente activo tal como un agente antineoplásico, en particular como se describió anteriormente, o un compuesto para prevenir efectos secundarios potenciales tales como mercaptoetanosulfonato sódico.

En los siguientes ejemplos se ilustran otros aspectos de la presente invención, que solamente tienen una naturaleza ilustrativa.

#### Ejemplo 1: Preparación de derivados de IFO

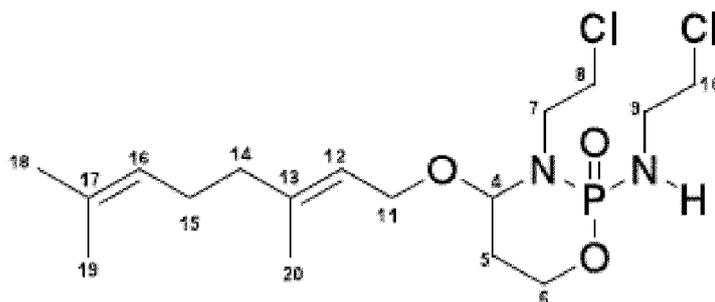
Se representa la síntesis de ciertos conjugados pre-activados de ifosfamida en el siguiente esquema:



Se preparó 4-metoxi-ifosfamida (4-MeO-IFO, 1) mediante la oxidación anódica de ifosfamida en metanol como se describió en Paci et al., 2001, *Bioorg Med Chem Lett*, 11, 1347-1349. La sustitución del grupo metoxi por las cadenas alquilo relevantes aprovechó la formación de la sal de iminio tras el tratamiento con ácido de Lewis de 4-MeO-IFO.

Brevemente, a una disolución con agitación de 4-MeO-IFO (2) (200 mg, 0,68 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anhidro (10 mL) se le añadió gota a gota  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  (172  $\mu\text{L}$ , 0,68 mmol) a  $-78^\circ\text{C}$ . Después de 45 minutos, se añadió gota a gota una disolución de RYH (210 mg, 1,37 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (0,5 mL), la mezcla se agitó durante 1 h adicional a  $-78^\circ\text{C}$  y se paró mediante la adición de 10 mL de una disolución saturada de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Tras la extracción con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $3 \times 20$  mL), las fases orgánicas combinadas se secaron sobre  $\text{MgSO}_4$  y se concentraron a presión reducida. El residuo obtenido se purificó mediante cromatografía en columna.

- Geraniloxi-IFO (3b):



RYH = geraniol

Purificación: gel de sílice,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2:(\text{CH}_3)_2\text{CO}:\text{Et}_3\text{N}$  (95:5:0,5, v:v:v)

Residuo oleoso amarillo obtenido (80 mg, rendimiento 25%)

5 RMN en  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ :

$^{31}\text{P}$   $\delta$ (ppm): 8,5

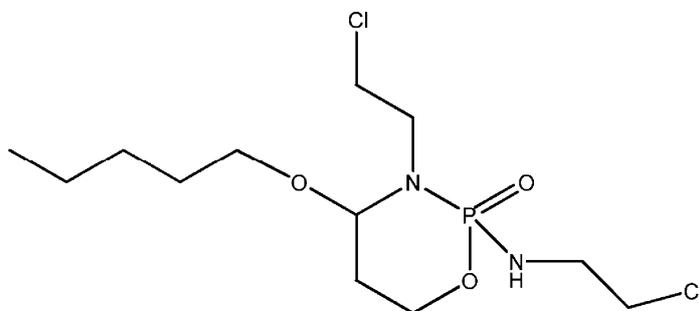
$^{13}\text{C}$   $\delta$ (ppm): 16,7 ( $\text{C}_{18}$  o  $\text{C}_{19}$ ); 17,8 ( $\text{C}_{18}$  o  $\text{C}_{19}$ ); 25,9 ( $\text{C}_{20}$ ); 27,1 ( $\text{C}_{14}$  o  $\text{C}_{15}$ ); 31,1 ( $\text{C}_5$ ); 40,23 ( $\text{C}_{14}$  o  $\text{C}_{15}$ ); 43,6 ( $\text{C}_7$ ); 44,1 ( $\text{C}_8$ ); 46,5 ( $\text{C}_{10}$ ); 50,1 ( $\text{C}_9$ ); 63,3 ( $\text{C}_6$ ); 64,9 ( $\text{C}_{11}$ ); 88,8 ( $\text{C}_4$ ); 121,7 ( $\text{C}_{12}$  o  $\text{C}_{16}$ ); 124,8 ( $\text{C}_{12}$  o  $\text{C}_{16}$ ); 131,8 ( $\text{C}_{17}$ ); 140,7 ( $\text{C}_{13}$ ).

10  $^1\text{H}$   $\delta$ (ppm): 1,35 (d, 1H,  $J=14$  Hz,  $\text{H}_{5\alpha}$ ), 1,60 (s, 3H,  $\text{H}_{18}$  o  $\text{H}_{19}$ ), 1,66 (s, 3H,  $\text{H}_{18}$  o  $\text{H}_{19}$ ), 1,78 (s, 3H,  $\text{H}_{20}$ ), 1,85 (m, 1H,  $\text{H}_{5\beta}$ ), 2,11 (m, 2H), 2,22 (m, 2H), 3,05 (m, 1H,  $\text{H}_{9\alpha}$ ), 3,17 (m, 2H,  $\text{H}_7$ ), 3,33 (m, 2H), 3,73 (m, 5H), 3,84 (m, 2H,  $\text{H}_{6\alpha}$ ), 4,21 (m, 1H,  $\text{H}_{6\beta}$ ), 4,30 (dd, 1H,  $J=4$  y 21 Hz,  $\text{H}_5$ ), 5,26 (m, 1H,  $\text{H}_{12}$  o  $\text{H}_{16}$ ), 5,42 (m, 1H,  $\text{H}_{12}$  o  $\text{H}_{16}$ ).

MS (+ESI):  $m/z$  (%) 413,2 (100)  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; 415,2 (65)  $[\text{M}+2+\text{H}]^+$ .

HRMS (+ESI):  $m/z$  413,1524 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$  calc. para  $\text{C}_{36}\text{H}_{60}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_3\text{PS}$ : 413,1527).

15 - Pentiloxi-IFO (3a)



RYH = pentanol

Purificación: gel de sílice,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2:(\text{CH}_3)_2\text{CO}:\text{Et}_3\text{N}$  (95:5:0,5, v:v:v)

Aceite amarillo (90 mg, rendimiento 33%)

20  $^1\text{H}$  RMN ( $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ , 400 MHz):  $\delta$  0,92 (t, 3H,  $J = 7,1$  Hz,  $\text{O}(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$ ), 1,30-1,45 (m, 4H,  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 1,62 (m, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2$ ), 2,02-2,07 (m, 3H,  $\text{H}_5$  y NH), 3,16-3,30 (m, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2$ ), 3,47-3,55 (m, 4H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$  y  $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$ ), 3,60-3,65 (m, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$ ), 3,70-3,75 (m, 2H,  $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$ ), 4,05-4,20 (m, 1H,  $\text{H}_6$ ), 4,35-4,50 (m, 1H,  $\text{H}_6$ ), 4,70-4,80 (dd, 1H,  $J = 20,5$  Hz y  $J = 2,9$  Hz,  $\text{H}_4$ ) ppm.

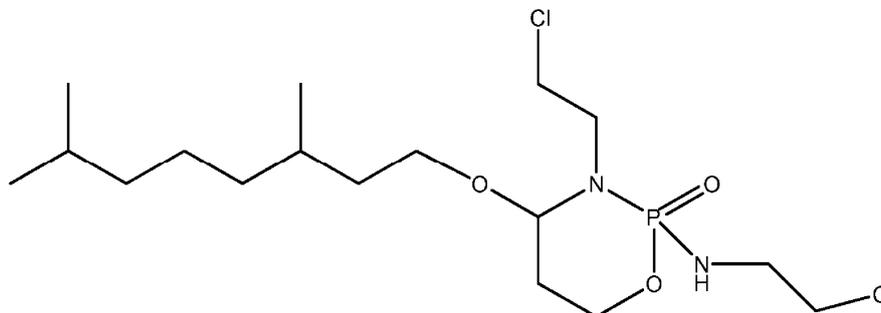
25  $^{13}\text{C}$  RMN ( $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ , 100 MHz):  $\delta$  14,3 ( $\text{CH}_3$ ,  $\text{O}(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$ ), 23,2 ( $\text{CH}_2$ ,  $\text{O}(\text{CH}_2)_3\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 29,3 ( $\text{CH}_2$ ,  $\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 30,4 ( $\text{CH}_2$ ,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$ ), 30,9 ( $\text{CH}_2$ ,  $\text{C}_5$ ), 43,6 ( $\text{CH}_2$ ,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$ ), 44,0 ( $\text{CH}_2$ ,  $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$ ), 46,6 ( $\text{CH}_2$ ,  $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$ ), 50,2 ( $\text{CH}_2$ ,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$ ), 63,2 ( $\text{CH}_2$ ,  $\text{C}_6$ ), 68,6 ( $\text{CH}_2$ ,  $\text{OCH}_2(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$ ), 89,8 ( $\text{CH}$ ,  $\text{C}_4$ ) ppm.

$^{31}\text{P}$  RMN ( $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ , 160 MHz):  $\delta$  7,60 (s) y 8,46 (s). MS (+ESI):  $m/z$  (%) 347,1 (100)

$[\text{M}+\text{H}]^+$ ; 349,1 (70)  $[\text{M}+2+\text{H}]^+$ .

HRMS (+ESI):  $m/z$  347,1049 ( $[M+H]^+$  calc. para  $C_{12}H_{25}Cl_2N_2O_3P$ : 347,1058).

- 13,17-Dimetiloctiloxi-IFO (3c)



RYH = 3,7-dimetiloctanol

5 Purificación: gel de sílice,  $CH_2Cl_2:(CH_3)_2CO:Et_3N$  (95:5:0,5, v:v:v)

Residuo oleoso marrón (90 mg, rendimiento 28%)

$^1H$  RMN ( $(CD_3)_2CO$ , 400 MHz):  $\delta$  0,74 (m, 9H,  $O(CH_2)_2CH(CH_3)(CH_2)_2CH(CH_3)_2$ ), 1,05-1,20 (m, 4H,  $(CH_2)_2CH(CH_3)_2$ ), 1,60-1,70 (m, 2H,  $NCH_2CH_2Cl$ ), 2,01-2,07 (m, 2H,  $H_6$ ), 2,91 (s, 1H, NH), 3,15-3,30 (m, 4H,  $NCH_2CH_2Cl$  y  $NHCH_2CH_2Cl$ ), 3,45-3,60 (m, 4H,  $NCH_2CH_2Cl$  y  $NHCH_2CH_2Cl$ ), 3,64 (m, 2H,  $H_{11}$ ), 4,05-4,19 (m, 1H,  $H_5$ ), 4,35-4,50 (m, 1H,  $H_5$ ), 4,70 (m, 1H,  $H_4$ ).

$^{13}C$  RMN ( $(CD_3)_2CO$ , 100 MHz):  $\delta$  20,0 ( $CH_3$ ,  $CH(CH_3)_2$ ), 23,0 ( $CH_3$ ,  $CH(CH_3)_2$ ), 25,4 ( $CH_3$ ,  $CH_2CH(CH_3)$ ), 28,7 ( $CH_3$ ,  $CH_2(CH_2)_2CH(CH_3)_2$ ), 30,5 ( $CH_2$ ,  $C_5$ ), 40,0 ( $CH_2$ ,  $NHCH_2CH_2Cl$ ), 43,6 ( $CH_2$ ,  $CH_2CH_2CH(CH_3)_2$ ), 44,0 ( $CH_2$ ,  $NCH_2CH_2Cl$ ), 46,7 ( $CH_2$ ,  $NCH_2CH_2Cl$ ), 49,7 ( $CH_2$ ,  $OCH_2CH_2CH(CH_3)$ ), 50,3 ( $CH_2$ ,  $NHCH_2CH_2Cl$ ), 63,2 ( $CH_2$ ,  $C_6$ ), 66,7 ( $CH_2$ ,  $OCH_2CH_2CH(CH_3)$ ), 89,8 (CH,  $C_4$ ) ppm.

15  $^{31}P$  RMN ( $(CD_3)_2CO$ , 160 MHz):  $\delta$  8,47 (s) y 7,55 (s) ppm.

MS (+ESI):  $m/z$  (%) 417,2 (100)  $[M+H]^+$ ; 419,2 (70)  $[M+2+H]^+$ .

HRMS (+ESI):  $m/z$  417,1839 ( $[M+H]^+$  Calc. para  $C_{36}H_{62}Cl_2N_3O_3PS$ : 417,1840)

Ejemplo 2: Preparación de nanoensamblajes supramoleculares (nanopartículas) (NEs)

- *Materiales y métodos*

20 Se prepararon nanoensamblajes (NEs) del profármaco Geraniloxi-IFO (3b) a una concentración de 2 mg/mL y 5 mg/ml en una única etapa mediante la nanoprecipitación de la disolución (8 mg/mL en acetona) en agua MilliQ® (proporción acetona:agua 1:4; v:v). La formación de NEs se dio inmediatamente sin el uso de ningún tensioactivo. El disolvente orgánico se evaporó después a temperatura ambiente a vacío mediante el uso de un Rotavapor®, y las dispersiones coloidales exentas de disolvente orgánico se almacenaron a 4 °C.

25 El diámetro hidrodinámico de los NEs se midió a 20 °C mediante dispersión dinámica de luz con el uso de un aparato Nanosizer ZS (Malvern Instrument Ltd, Francia). Se diluyó una cantidad de 20  $\mu$ L de la suspensión en 980  $\mu$ L de agua Milli-Q. Los resultados proporcionan el diámetro hidrodinámico medio de los NEs dispersados de tres series independientes de diez medidas. También se proporcionó la desviación estándar y el índice de polidispersidad.

30 También se determinó el potencial Zeta ( $\xi$ ) mediante la dilución de 20  $\mu$ L de la suspensión en 980  $\mu$ L de una disolución de NaCl 1 mM con el uso de un aparato Nanosizer ZS (Malvern Instrument Ltd, Francia).

- *Resultados*

35 Geraniloxi-IFO proporcionó NEs satisfactorios, a pesar de su corto apéndice de dos isoprenos. No se necesitó tensioactivo para obtener dichas nanopartículas. Las nanopartículas resultantes que exhibieron el efecto Tyndall característico de los sistemas coloidales tuvieron un índice de polidispersidad de alrededor de 0,10-0,20, tal como se midió mediante la dispersión de luz cuasi-elástica. El diámetro medio de los NEs obtenidos fue de entre 150 nm y 220 nm. De manera interesante, las nanopartículas mostraron una elevada carga de fármaco (63,1%).

40 Las nanopartículas fueron estables al almacenarlas, ya que no se detectaron cambios significativos en su tamaño a lo largo de un periodo de almacenamiento de tres días a 4 °C. La estabilidad coloidal de geraniloxi-IFO se pudo correlacionar con su potencial Zeta negativo. Además, se descubrió que este compuesto sumamente hidrolizable

estuvo químicamente inalterado mediante  $^1\text{H}$  RMN y mediante MS tras 24 h. Este resultado pareció indicar que, dentro de los NEs, el grupo de la cabeza polar de geraniloxi-IFO estuvo protegido del medio acuoso externo, y por tanto de la hidrólisis.

- 5 Es digno de mención que pentiloxi-IFO (3a) y 13,17-Dimetiltiloxi-IFO (3c) no proporcionaron una suspensión de nanopartículas, lo que demuestra claramente que el radical geraniloxi como terpeno desempeñó un papel crucial para favorecer el autoensamblaje.

Tabla 1: Características fisicoquímicas de los NEs de geraniloxi-IFO

Concentración (mg/ml)	Diámetro medio (nm)	Índice de Polidispersidad (IPd)	Potencial Zeta (mV)	Carga de Fármaco (%)
2	166,0 +/- 18,0 nm	0,114 +/- 0,016	-30	63,1
5	208,7 +/- 13,1 nm	0,201 +/- 0,010	-13	

- 10 Es digno de mención que el diámetro medio y la carga de fármaco obtenida para las nanopartículas de geraniloxi-IFO son similares a los observados para los derivados de IFO sustituidos con el radical escualenoilo (SQ), tales como SQ-IFO (diámetro medio: 147 nm y carga de fármaco: 40,4%) y SQ-tio-IFO (diámetro medio: 170 nm y carga de fármaco: 36,3%) descritos en la solicitud de patente WO2012/076824.

Ejemplo 3: Liberación *in vitro* de 4-hidroxi-ifosfamida (4-HO-IFO) a partir de geraniloxi-IFO

- 15 Se llevó a cabo el estudio cinético de la liberación de 4-HO-IFO a partir de geraniloxi-IFO (en forma libre o en forma de nanopartículas) a lo largo de 24 h en plasma de ratón ( $c = 10 \mu\text{g/mL}$ ) incubado a  $37^\circ\text{C}$ . Se estudiaron las concentraciones de 4-HO-IFO y geraniloxi-IFO en plasma de ratones mediante el uso de un ensayo de HPLC cuantitativa-MS/MS, y permitió mostrar el rendimiento de liberación, expresado como la proporción (4-HO-IFO / geraniloxi-IFO). Se usó IFO (sin activación mediante CYP) como control negativo. Como se ilustra en la Figura 1, que muestra la proporción HO-IFO/geraniloxi a lo largo del tiempo, se liberó el metabolito 4-HO-IFO a partir de nanopartículas de geraniloxi-IFO o geraniloxi-IFO en forma libre sin activación mediante los citocromos.

Ejemplo 4: Estudio de la citotoxicidad *in vitro*

- Materiales y Métodos:

- 25 Se ensayaron los compuestos (3a-c) pentiloxi-, dimetiltiloxi- y geraniloxi-IFO en dos líneas celulares cancerosas, concretamente, A673 (línea celular de Sarcoma Ewing humano) y la línea celular RMS-1 mediante el uso del método MTS ((3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfopenil)-2H-tetrazolio)) (Promega). Se ensayaron pentiloxi-IFO y dimetiltiloxi-IFO en forma libre, ya que estos compuestos no forman nanopartículas. El compuesto Geraniloxi-IFO se ensayó en bruto y en forma de nanopartículas (véase el Ejemplo 2). Los experimentos se llevaron a cabo en ausencia de citocromo. Se usaron ifosfamida (IFO), geraniol, pentanol y 3,7-dimetiloctanol como controles negativos.

- 30 Las células se sembraron en placas de 96 pocillos a una densidad celular óptima determinada previamente, y se incubaron con  $100 \mu\text{L}$  de DMEM o RPMI que contenía un 10% de FBS y  $100 \text{U/mL}$  de penicilina y  $100 \mu\text{g/mL}$  de estreptomycin a  $37^\circ\text{C}$ , 5% de  $\text{CO}_2$  en una atmósfera húmeda. Después de 24 h, las células se trataron con  $100 \mu\text{L}$  de los diferentes profármacos pre-activados a diferentes concentraciones:

- 0,1, 0,5, 1, 5, 10, 50, 100, 200  $\mu\text{M}$  para la línea celular A673 y  
 35 - 0,01, 0,05, 0,1, 0,5, 1, 5, 10, 50  $\mu\text{M}$  para la línea celular RMS-1.

- Después de 72 h, o 96 h para el compuesto Dimetiltiloxi-IFO, se añadieron  $20 \mu\text{L}$  (1/10) de reactivo MTS a cada pocillo. Dependiendo de la línea celular, son necesarias de 2 a 5 h de incubación para obtener la densidad óptica óptima, que se midió a una longitud de onda de 490 nm mediante el uso de un lector de microplacas (EL808, Biotek Instrument). Se usaron células sin tratar como control. Cada concentración de compuesto se ensayó por sextuplicado. Los resultados muestran el porcentaje de células vivas en comparación con el control, y se determinó la  $\text{Cl}_{50}$  de cada compuesto con respecto a la línea celular ensayada mediante el uso de Prism 4 (programa informático Graph Pad, San Diego).

- Resultados

Se muestra la  $\text{Cl}_{50}$  obtenida para cada línea celular para los compuestos ensayados en la Tabla 2 siguiente:

45

Compuestos	Actividad <i>in vitro</i> (CI <sub>50</sub> µM)	
	A673	RMS-1
IFO	>200	>50
Geraniol	>200	>50
Pentanol	>200	>500
3,7-dimetiloctanol	>200	>50
Pentiloxi-IFO (3a)	17,7 ± 2,3	5,3 ± 1,7
13,17-Dimetiloctiloxi-IFO (3c)	>200	>50
13,17-Dimetiloctiloxi-IFO (3c)**	24,5 ± 2,1	11,3 ± 5,8
Geraniloxi-IFO (en bruto) (3b)	25,3 ± 1,5	9,3 ± 4,2
Geraniloxi-IFO (nanopartículas) (3b)	14,7 ± 5,0	0,6 ± 0,2

\* 72 h de incubación \*\* (96 h de incubación)

Los resultados obtenidos para la línea celular RMS-1 también se representan en la Figura 2.

Como se esperaba, en ausencia de citocromo, IFO no exhibió una citotoxicidad significativa a las concentraciones ensayadas. Se observaron los mismos resultados para geraniol, pentanol y 3,7-dimetiloctanol.

- 5 En contraste, Geraniloxi-IFO muestra una citotoxicidad significativa hacia A673 y RMS-1, en ausencia de citocromo. Así, este compuesto es capaz de liberar la mostaza alquilante sin una activación anterior mediante el citocromo P450. Sorprendentemente, la citotoxicidad de Geraniloxi-IFO se incrementa significativamente cuando se formula en forma de nanopartículas. De hecho, Geraniloxi-IFO en forma de nanopartículas fue dos veces (línea celular A673) y 15 veces (línea celular RMS-1) más activo que Geraniloxi-IFO en forma libre, con una CI<sub>50</sub> de 14,7 y 0,6 µM, respectivamente (Tabla 2).

10 Es digno de mención que 13,17-Dimetiloctiloxi-IFO, que es estructuralmente cercano a geraniloxi-IFO, no exhibió una citotoxicidad significativa tras una incubación de 72 h sobre las células ensayadas, pero proporciona una citotoxicidad similar cuando se incuba con las células durante 96 h. Tal resultado demuestra el impacto del radical geraniloxi sobre la capacidad citotóxica de los compuestos. Además, las CI<sub>50</sub> para las nanopartículas de geraniloxi-IFO para las líneas celulares A673 y RMS fueron inferiores a las de las nanopartículas de SQ-IFO (CI<sub>50</sub>: 22,0 ± 5,0 y 11,4 ± 5,0 µM) y de SQ-tio-IFO (CI<sub>50</sub>: 23,2 ± 1,3 y 33,0 ± 1,8 µM).

Ejemplo 5: Estudio del efecto anti-tumoral *in vivo*

20 La eficacia citotóxica *in vivo* se estudió primero en un modelo de rhabdomiosarcoma humano xenoinjertado en ratones atímicos. El modelo usado es la línea celular RD. Las células se amplificaron primero en cultivo y se contaron. Las células se inyectaron de manera subcutánea en ambos flancos de cada ratón. Tras la absorción del injerto, los ratones se dividieron en 4 grupos de 7 ratones.

- Grupo 1: los ratones recibieron vehículo (placebo) (DMSO/agua 3/7 con un 9% de NaCl)
- Grupo 2: se administró a los ratones una única dosis de 300 mg/kg de IFO (disolución de 37,5 mg/ml de IFO en vehículo)
- 25 - Grupo 3: se administró a los ratones una única dosis de 158 mg/kg de geraniloxi-IFO (disolución de 19,7 mg/ml de geraniloxi-IFO en vehículo), equivalente a 100 mg de IFO.
- Grupo 4: se administró a los ratones una única dosis de 59 mg/kg de geraniol (disolución de 7,4 mg/ml de geraniol en vehículo) equivalente a 59 mg de IFO.

La administración se llevó a cabo por vía intravenosa en el día 0. Geraniloxi-IFO se administró en forma libre.

30 - Resultados

Los resultados se muestran en la Figura 3, que ilustra para cada grupo el crecimiento tumoral en función del tiempo. La prueba de principio se demostró, ya que una única dosis de 158 mg/kg de Geraniloxi-IFO (que es equivalente a 100 mg/kg de IFO) mostró actividad antitumoral con respecto al crecimiento del volumen tumoral como se mostró para IFO a 300 mg/kg. No se descubrió una inhibición del crecimiento tumoral para el vehículo o geraniol.

35 Ejemplo 6: Farmacocinética y metabolización de geraniloxi-IFO *in vivo*

Se dividieron 28 ratones atómicos en 3 grupos

- Grupo 1 (4 ratones): se administraron a los ratones de manera intraperitoneal 200  $\mu$ l de un vehículo (placebo) (agua + 5% de glucosa),
- 5 - Grupo 2 (12 ratones): se administró a los ratones de manera intraperitoneal una dosis de 25 mg/kg de IFO (10,4 mg/ml en vehículo)
- Grupo 2 (12 ratones): se administró a los ratones de manera intraperitoneal una dosis de 40 mg/kg (equivalente a 25 mg/kg de IFO) de IFO (16,5 mg/ml en vehículo)

10 Se extrajeron muestras de plasma de cada ratón a los 5, 15, 30 y 60 minutos tras la administración. Las concentraciones plasmáticas de los fármacos (IFO o geraniloxi-IFO), y los metabolitos (4-HO-IFO y metabolitos de N-descloroetilo) se determinaron en cada muestra de plasma.

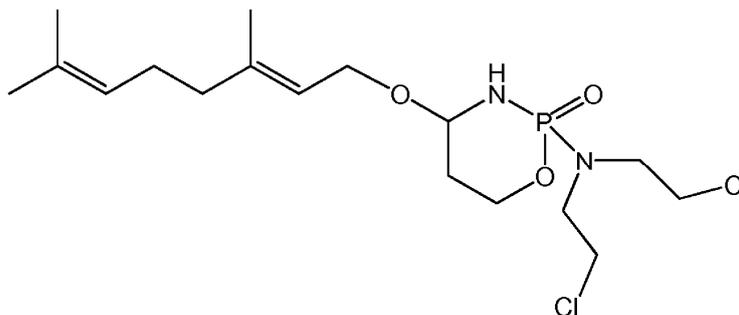
- Resultados

15 Los resultados se muestran en la Figura 4. Geraniloxi-IFO se convierte rápidamente en el metabolito 4-HO-IFO pre-activo. La velocidad de conversión de Geraniloxi-IFO (GerIFO) en 4-HO-IFO es de alrededor del 80% a los 20 minutos tras la administración. Es digno de mención que la metabolización de IFO no produce una cantidad significativa de metabolitos de N-descloroetilo (DCE-GerIFO), que representan menos del 1%. Tal resultado ilustra que Geraniloxi-IFO no se metaboliza significativamente mediante CYP2B6. Así, la liberación de cloroacetaldehído neuro- y nefrotóxico puede ser significativamente inferior que la de IFO, para el que los metabolitos de N-descloroetilo (DCE-IFO) representan alrededor del 15%. Por tanto se espera que geraniloxi-IFO muestre una buena eficacia terapéutica a dosis inferiores y con menos efectos secundarios que IFO.

20 Ejemplo 6: síntesis de geraniloxi-ciclofosfamida

Se preparó 4-geraniloxi-ciclofosfamida mediante la oxidación anódica de ciclofosfamida hasta 4-metoxi-ciclofosfamida (4-MeO-CPO), seguido de una sustitución nucleófila con geraniol en presencia de un ácido de Lewis.

25 Brevemente, en una celda de electrolisis, se disolvió ciclofosfamida (300 mg) y tetrafluoroborato sódico (190 mg) en metanol (10 ml). Después de someter la mezcla a una corriente de 2 faradays por mol de ciclofosfamida con una intensidad de 10 mA, el medio de reacción se evaporó en presencia de carbonato sódico. El residuo se redisolvió en diclorometano (10 ml), bajo una atmósfera inerte y con agitación. Se añadió un equivalente de  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  gota a gota a  $-50^\circ\text{C}$ . Después de una hora de agitación a baja temperatura, se añadieron 2 equivalentes de geraniol gota a gota. La mezcla se agitó durante 1 hora más a baja temperatura. Tras la concentración de la fase orgánica, el residuo resultante se purifica mediante cromatografía con diclorometano/acetona 990/10 como eluyente.



30

Peso molecular:  $413,32 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$

Fórmula química:  $\text{C}_{17}\text{H}_{31}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_3\text{P}$

RMN  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ :  $^{31}\text{P}$ : 7,27 y 7,32 ppm.

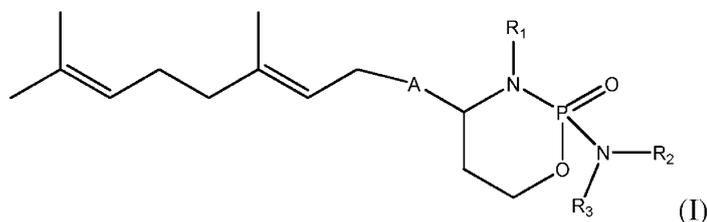
35  $^{13}\text{C}$ :  $\delta$  16,7 ( $\text{CH}_3$ ,  $\text{C}_{19}$ ), 17,8 ( $\text{CH}_3$ ,  $\text{C}_{20}$ ), 25,9 ( $\text{CH}_3$ ,  $\text{C}_{18}$ ), 27,2 ( $\text{CH}_2$ ,  $\text{C}_{15}$ ), 31,7 ( $\text{CH}_2$ ,  $\text{C}_5$ ), 40,3 ( $\text{CH}_2$ ,  $\text{C}_{14}$ ), 43,2 ( $\text{CH}_2$ ,  $\text{C}_8$  y  $\text{C}_{10}$ ), 44,9 ( $\text{CH}_2$ ,  $\text{C}_7$  y  $\text{C}_9$ ), 63,7 ( $\text{CH}_2$ ,  $\text{C}_8$  y  $\text{C}_{11}$ ), 82,5 ( $\text{CH}$ ,  $\text{C}_4$ ), 122,3 ( $\text{CH}$ ,  $\text{C}_{12}$ ), 125,0 ( $\text{C}_{16}$ ), 132,0 ( $\text{C}$ ,  $\text{C}_{17}$ ), 139,8 ( $\text{C}$ ,  $\text{C}_{13}$ ) ppm.

40  $^1\text{H}$ :  $\delta$  1,60 (s, 3H,  $\text{HC}=\text{C}(\text{CH}_3)$ ), 1,63 (s, 3H,  $\text{HC}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$ ), 1,66 (s, 3H,  $\text{HC}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$ ), 1,77-1,83 (m, 1H,  $\text{H}_{5a}$ ), 2,08-2,16 (m, 3H), 3,36-3,47 (m, 4H,  $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$ ), 3,63-3,74 (m, 4H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$ ), 4,04-4,10 (m, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_3)$ ), 4,60-4,70 (m, 1H,  $\text{H}_6$ ), 4,76-4,80 (dt, 1H,  $J = 20,9 \text{ Hz}$  y  $J = 3,2 \text{ Hz}$ ,  $\text{H}_4$ ), 5,01-5,06 (1H, NH), 5,08-5,10 (tt, 1H,  $J = 1,2 \text{ Hz}$  y  $J = 6,8 \text{ Hz}$ ,  $\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$ ), 5,33-5,40 (td, 1H,  $J = 1,2 \text{ Hz}$  y  $J = 6,6 \text{ Hz}$ ,  $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)$ ).

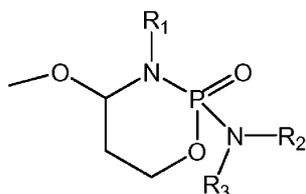
MS (+ESI):  $m/z$  413  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; 435  $[\text{M}+\text{H}+\text{Na}]^+$ .

Ejemplo 7: Síntesis de derivados de geranilo de ifosfamida o ciclofosfamida que comprenden un resto espaciador.

Se pueden preparar otros compuestos de fórmula (I)



a partir del derivado 4-metoxi:



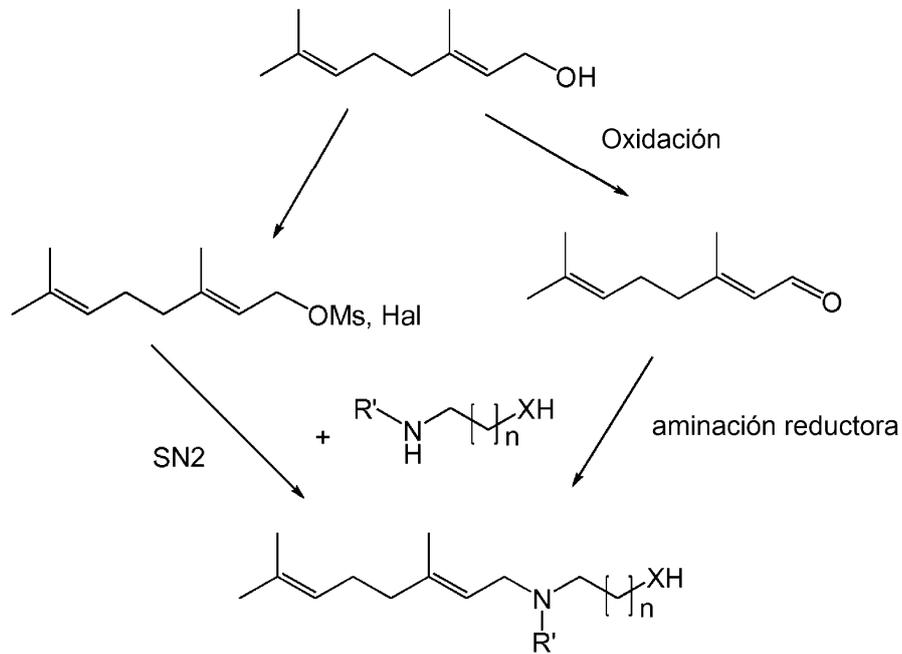
5

mediante una reacción con un ácido de Lewis para formar el iminio correspondiente, que posteriormente se atrapa mediante un nucleófilo adecuado RAH en el que R es el grupo geranilo y A es un espaciador. La tabla siguiente muestra algunos espaciadores A adecuados, y los nucleófilos RAH correspondientes:

N°	Espaciador	RAH
1		
2		
3		

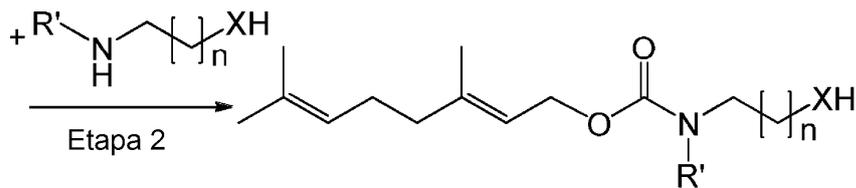
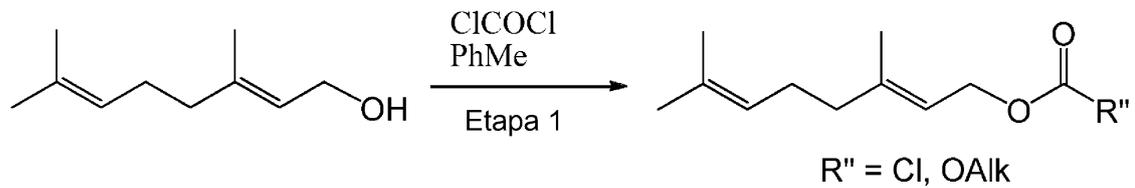
10 R'' es H o un grupo alquilo (por ejemplo, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>) y X es O o S.

El nucleófilo RAH (1) se puede obtener a partir de geraniol según la siguiente síntesis:



Para implementar esta síntesis, se puede consultar Onajole, European Journal of Medicinal Chemistry, 2010, 45, 5, 2075-2079.

RAH (2) se puede obtener como sigue:



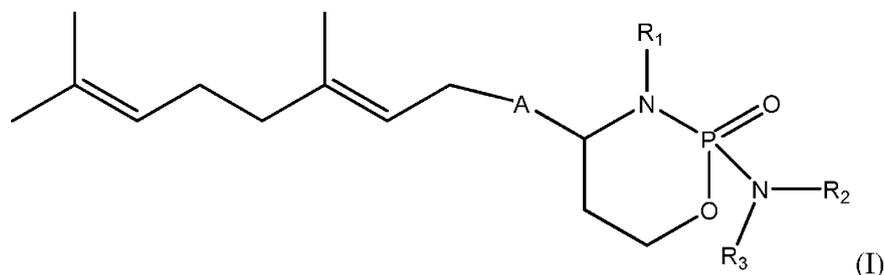
5

Por ejemplo, se pueden consultar las siguientes referencias: Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions, 1985, 9, 1961-6 para la etapa (1) y Hurevich Journal of Peptide Science, 2010, 16, (4), 178-185 para la etapa (2)

Para la síntesis de RAH (3), se puede consultar Synthetic Communications, 1990, 20 (5), 625-632.

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I):



en la que:

- 5 - A es O, S, -NH- o un resto espaciador que tiene un peso molecular de hasta  $500 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$  seleccionado del grupo que consiste en:
- aminoácidos, dipéptidos;
  - grupos poliéter, tales como polietilen glicol o polipropilen glicol, que comprenden preferiblemente de 2 a 6 monómeros;
- 10 - ligadores de hidrazona,
- $-\text{O}-(\text{C}=\text{S})-\text{S}-$ ,  $-\text{ONH}-$ ,  $-\text{ONR}'-$ ,  $-\text{NR}'\text{O}-$ ,  $-\text{NHO}-$ , en los que R' es un alquilo  $\text{C}_1-\text{C}_6$ , preferiblemente un alquilo  $\text{C}_1-\text{C}_3$ ,
- 15 -  $\text{Y}_1-(\text{CH}_2)_n-\text{Y}_2$ , en el que n es un número entero de 1 a 8, y  $\text{Y}_1-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})_a-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{Y}_2$ , en el que a es un número entero de 1 a 5, en la que  $\text{Y}_1$  y  $\text{Y}_2$  se seleccionan independientemente de  $-\text{O}-$ ,  $-\text{NH}-$ ,  $-\text{S}-$ ,  $-\text{OC}(\text{O})-$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{NR}'-$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{NH}-$ ,  $-\text{NHC}(\text{O})-$ ,  $-\text{O}-\text{C}(\text{S})-\text{S}-$ ,  $-\text{ONH}-$ ,  $-\text{ONR}'-$ ,  $-\text{OC}(\text{O})-\text{O}-$ ,  $\text{NR}'\text{C}(\text{S})\text{S}-$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ ,  $-\text{S}-\text{C}(\text{S})-\text{O}-\text{NR}'$ ,  $-\text{NHO}-$ ,  $-\text{NR}'\text{O}-$ ,  $-\text{SC}(\text{S})\text{NR}'-$ , y  $-\text{NR}'\text{C}(\text{O})-$ , en los que R' es un alquilo  $\text{C}_1-\text{C}_6$ , preferiblemente alquilo  $\text{C}_1-\text{C}_3$ ,
- $\text{R}_1$ ,  $\text{R}_2$  y  $\text{R}_3$  se seleccionan independientemente del grupo que consiste en  $-\text{H}$ ,  $-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{X}$  y  $-(\text{CH}_2)_2-\text{X}$ , en los que X es un átomo de halógeno, preferiblemente seleccionado de Cl, Br o I,

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

20 2. El compuesto de la reivindicación 1, en el que al menos dos de  $\text{R}_1$ ,  $\text{R}_2$  y  $\text{R}_3$  se seleccionan independientemente de  $-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{X}$  y  $-(\text{CH}_2)_2-\text{X}$ .

3. El compuesto de la reivindicación 1 o 2, en el que A se selecciona del grupo que consiste en:

- O, S,  $-\text{O}-(\text{C}=\text{S})-\text{S}-$ ,  $-\text{ONH}-$ ,  $-\text{ONR}'-$ ,  $-\text{NR}'\text{O}-$ ,  $-\text{NHO}-$ ,
  - $\text{Y}_1-(\text{CH}_2)_n-\text{Y}_2$ , en el que n es un número entero de 1 a 8, y
- 25 -  $\text{Y}_1-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})_a-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{Y}_2$ , en el que a es un número entero de 1 a 5,

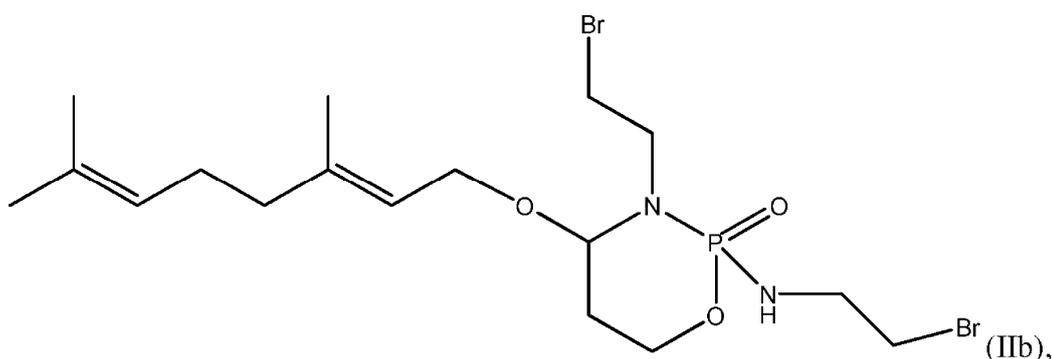
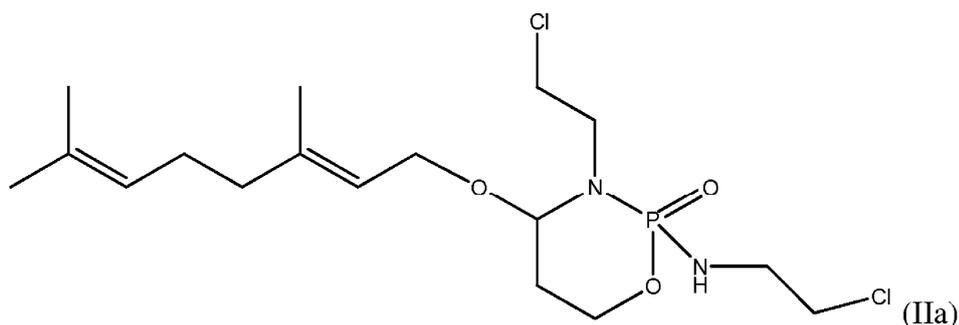
en el que  $\text{Y}_1$  y  $\text{Y}_2$  son como se definieron en la reivindicación 1.

4. El compuesto de la reivindicación 1, en el que A es un espaciador seleccionado de citrulina, lisina, ornitina, alanina, fenilalanina, cisteína, glicina, valina, leucina y en forma de ligadores valina-citrulina.

5. El compuesto de la reivindicación 1, en el que A se selecciona del grupo que consiste en O, S,  $-\text{O}-(\text{C}=\text{S})-\text{S}-$ ,  $-\text{ONH}-$ ,  $-\text{ONR}'-$ ,  $-\text{NR}'\text{O}-$ , y  $-\text{NHO}-$ , en los que R' es un alquilo  $\text{C}_1-\text{C}_3$ .

30

6. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que dicho compuesto se selecciona de:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

7. El compuesto como se definió en cualquiera de las reivindicaciones 1-6 para el uso como un fármaco, preferiblemente como un agente inmunosupresor o como un fármaco antineoplásico.
- 5 8. El compuesto de fórmula (I) como se definió en cualquiera de las reivindicaciones 1-6, para el uso en el tratamiento o la prevención del cáncer.
9. El compuesto para el uso en el tratamiento o la prevención del cáncer según la reivindicación 8, en el que el cáncer se selecciona del grupo que consiste en sarcomas tales como osteosarcoma, sarcoma de tejidos blandos y sarcoma pediátrico de tejidos blandos, cáncer de mama, cánceres genitourinarios tales como cánceres de próstata, vejiga, testículo, cuello uterino u ovarios, y cáncer de pulmón tal como carcinoma de pulmón no microcítico y carcinoma de pulmón microcítico.
- 10 10. El compuesto para el uso en el tratamiento o la prevención del cáncer según la reivindicación 8 o 9, en el que dicho compuesto se administrará por vía intravenosa u oral.
- 15 11. El compuesto para el uso en el tratamiento o la prevención del cáncer según cualquiera de las reivindicaciones 8 a 10, en el que dicho compuesto se formula en forma de una nanopartícula.
12. El compuesto para el uso en el tratamiento o la prevención del cáncer según cualquiera de las reivindicaciones 8-11, y dicho compuesto se administrará en combinación con mercaptoetanosulfonato sódico y/o con un agente antineoplásico adicional.
- 20 13. Una nanopartícula formada por un compuesto de fórmula (I) como se definió en cualquiera de las reivindicaciones 1-6.
14. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) como se definió en cualquiera de las reivindicaciones 1-6, y dicho compuesto está opcionalmente en forma de nanopartículas, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 25 15. La composición farmacéutica de la reivindicación 14 que comprende además mercaptoetanosulfonato sódico y/o un agente antineoplásico adicional.

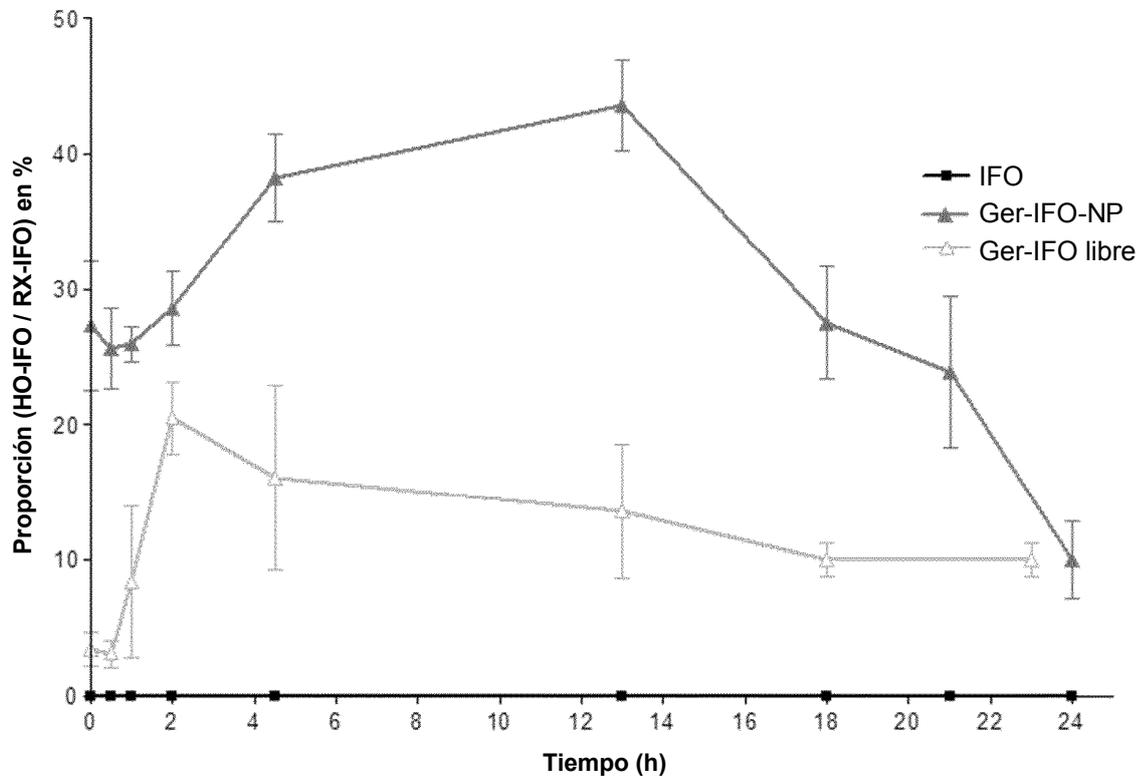


FIGURA 1

Actividad *in vitro* de Geranioloxi-IFO frente a IFO (RMS-1)

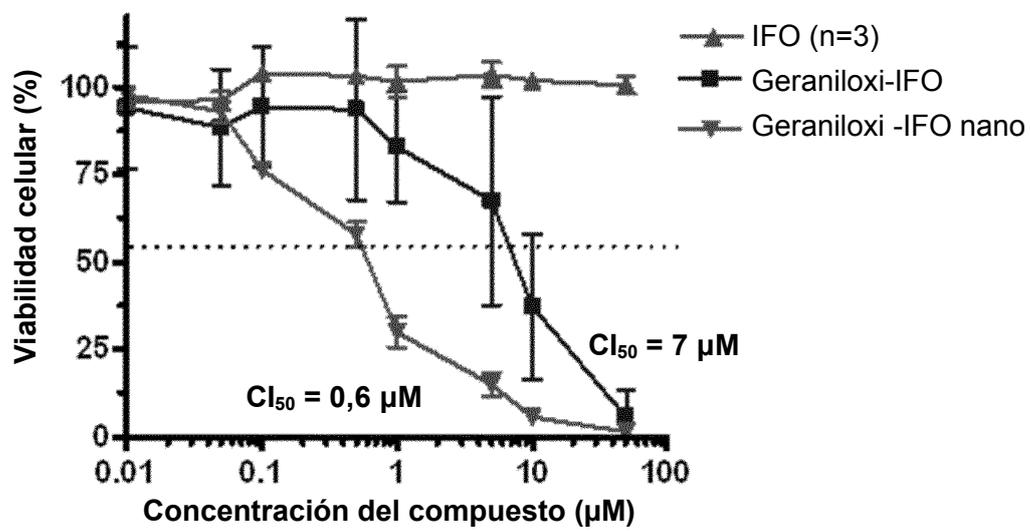
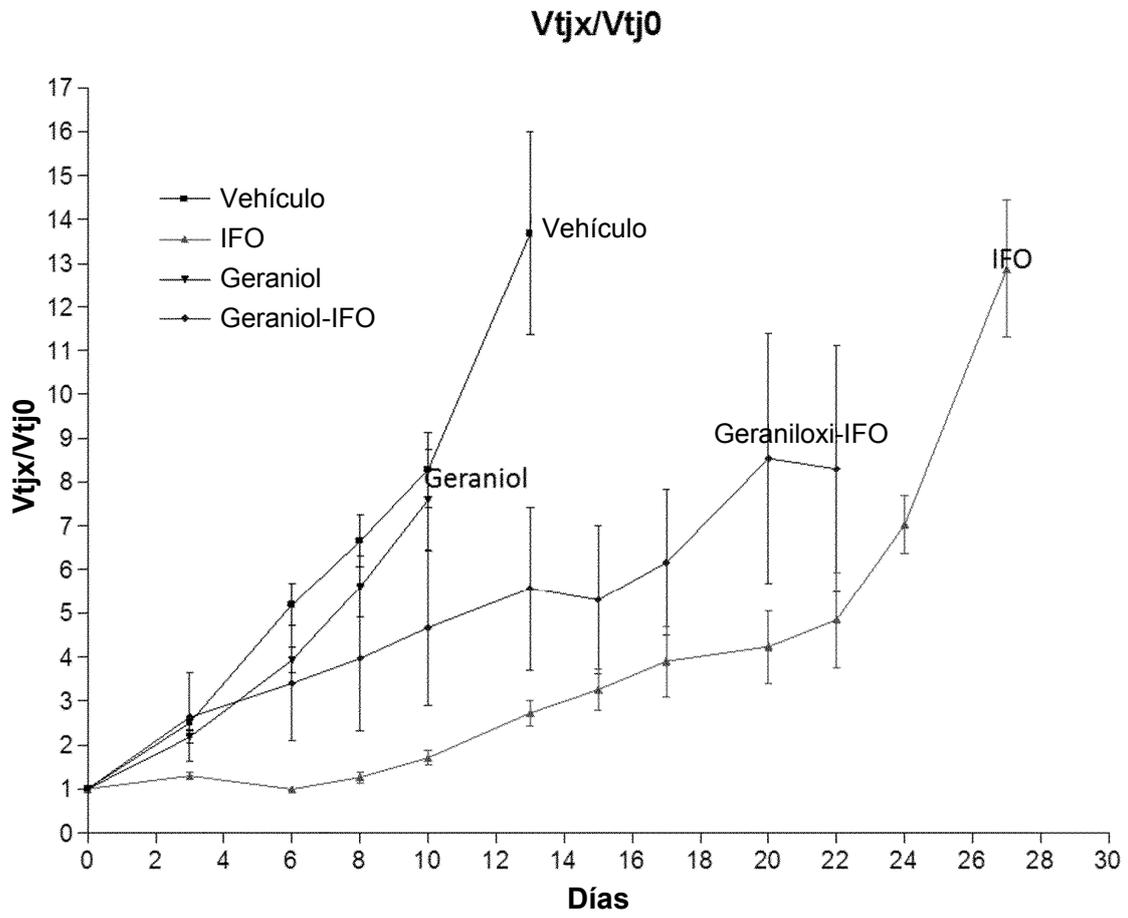


FIGURA 2



**FIGURA 3**

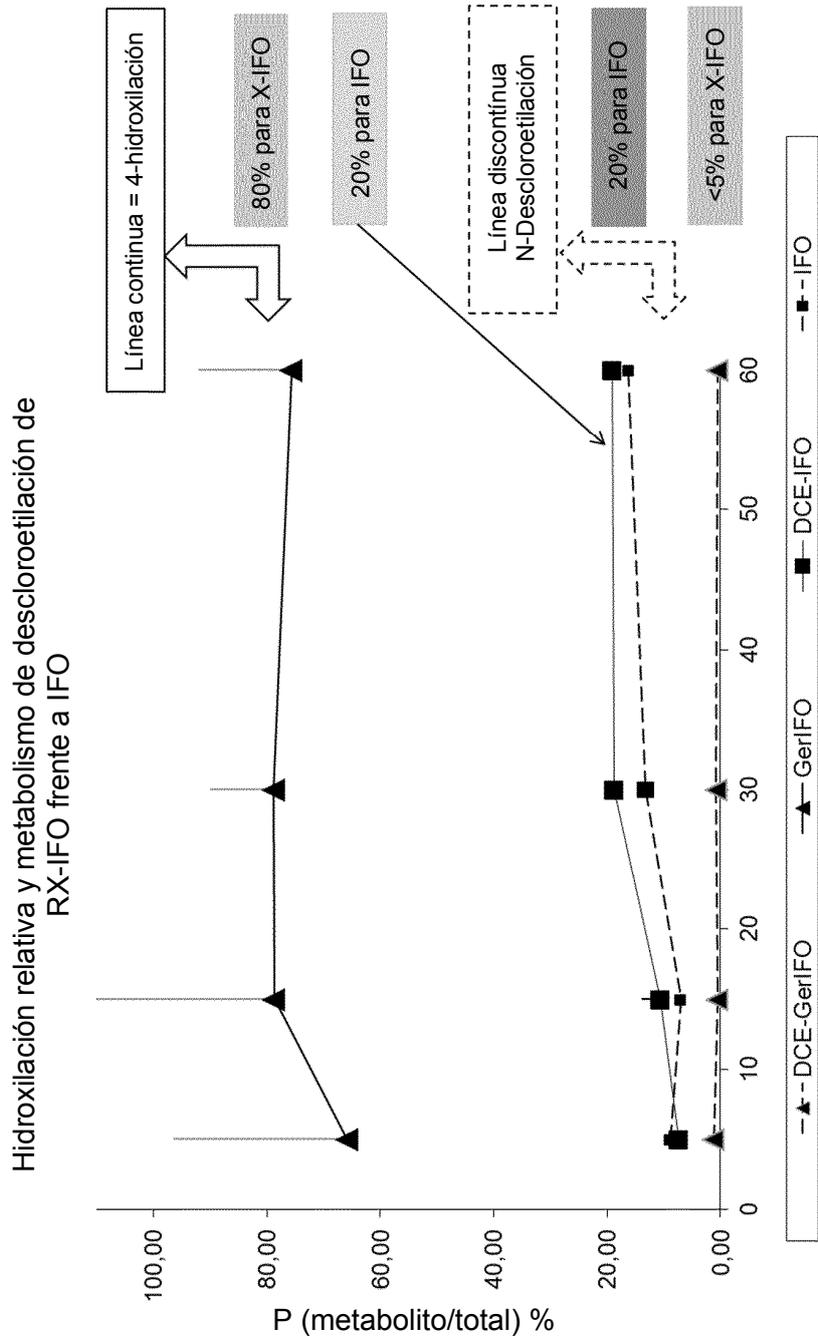


FIGURA 4

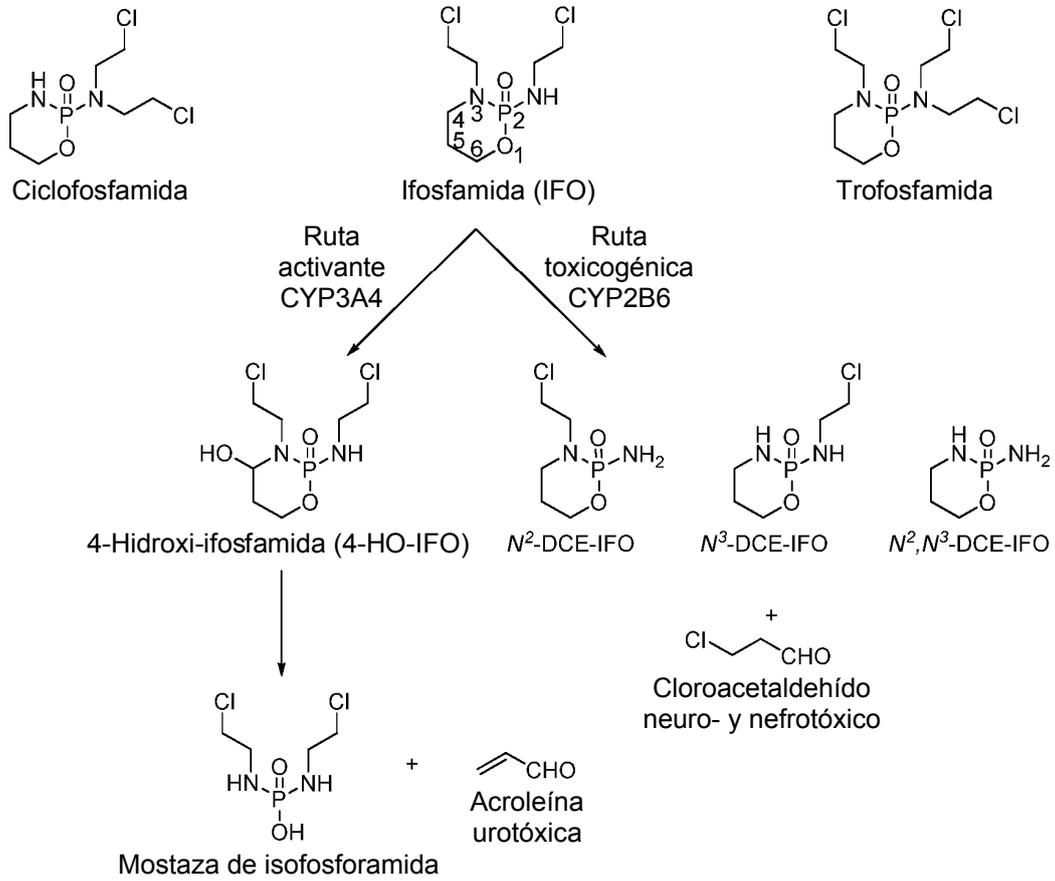


FIGURA 5