



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 319 653**

51 Int. Cl.:
C07J 63/00 (2006.01)
A61K 31/56 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **04709952 .8**
96 Fecha de presentación : **11.02.2004**
97 Número de publicación de la solicitud: **1594885**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **16.11.2005**

54 Título: **Medicamento para la inhibición del crecimiento de tumores.**

30 Prioridad: **11.02.2003 AT A 200/2003**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
11.05.2009

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
11.05.2009

73 Titular/es: **Novelix Pharmaceuticals, Inc.**
8008 Girard Avenue, Suite 300
La Jolla, California 92037, US

72 Inventor/es: **Selzer, Edgar;**
Jansen, Burkhard y
Paschke, Reinhard

74 Agente: **Curell Suñol, Marcelino**

ES 2 319 653 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

Medicamento para la inhibición del crecimiento de tumores.

5 La presente invención se refiere a nuevos derivados del ácido betulínico con eficacia aumentada para el tratamiento de carcinomas y de la enfermedad de VIH, a un procedimiento para la preparación de nuevos derivados del ácido betulínico de este tipo así como a su utilización como fármacos. Los compuestos según la invención pueden utilizarse de forma análoga al ácido betulínico en el ser humano y en animales para la inhibición del crecimiento de varios tumores (melanomas, sarcomas, linfomas, carcinomas de las placas epiteliales así como de los tumores citados a
10 continuación) en la práctica clínica así como para el tratamiento de enfermedades relacionadas con el VIH - debido a su acción antiflogístico - para enfermedades no específicas inflamatorias.

La invención se refiere a nuevos derivados del ácido betulínico con la fórmula general (I)

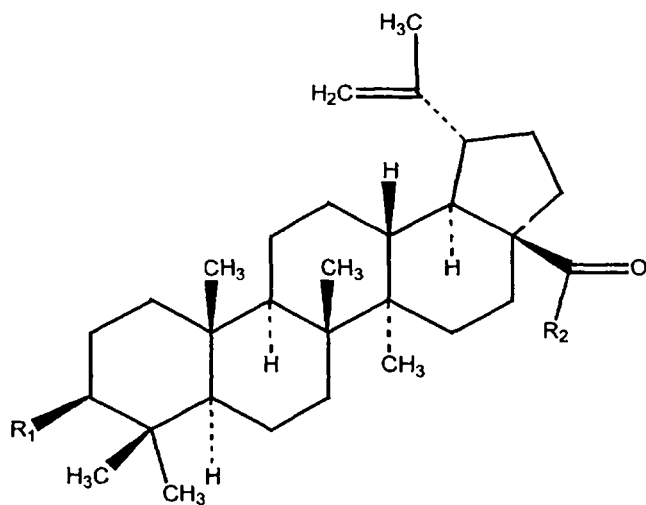
15

20

25

30

35



40

en la que R₁ es un grupo hidroxilo, un grupo amino, un grupo hidroxilo protegido o un grupo amino protegido. Los grupos protectores que son aptos son conocidos en el estado de la técnica, por ejemplo en los capítulos 2 y 7 de "Protective Groups in Organic Synthesis", T.W. Greene y P.G.M. Wuts, 3ª Edición, John Wiley & Sons, Inc. (1999), estando incorporada dicha descripción explícitamente a la presente memoria como referencia, y R₂ =

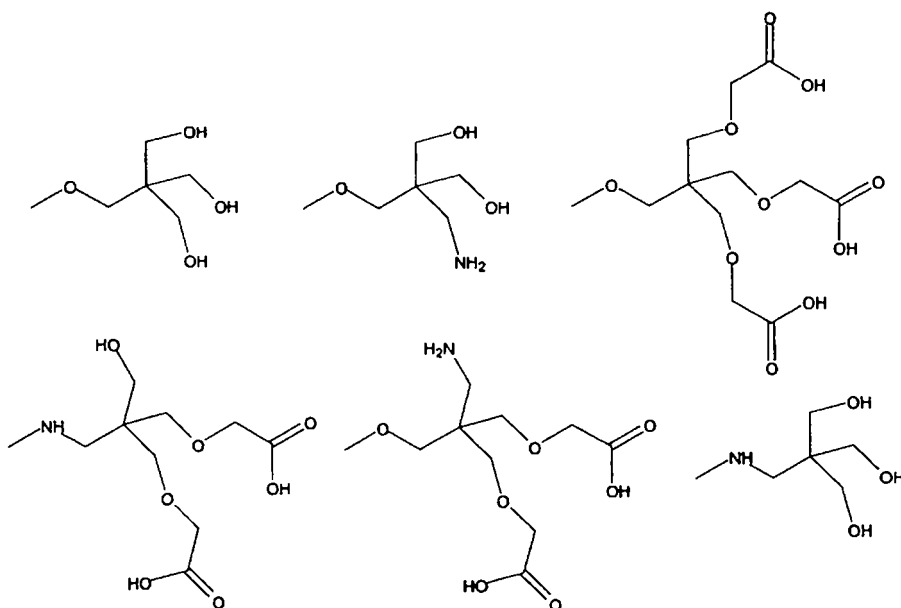
45

50

55

60

65

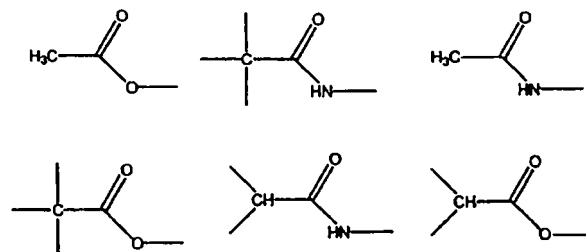


ES 2 319 653 T3

La presente invención se refiere en particular a nuevos derivados del ácido betulínico de la fórmula general (I), tal como se ha indicado anteriormente, en la que R_1 es un grupo hidroxilo, un grupo amino o uno de los siguientes grupos hidroxilo o amino protegidos:

5

10



15

20

y R_2 presenta el significado citado anteriormente.

25

Los compuestos según la invención son nuevos derivados del ácido betulínico con mayor eficacia así como mejor solubilidad en disolventes polares y por ello mucho mejores posibilidades de utilización. Se da por entendido que entre la definición de la fórmula general (I) citado anteriormente, se incluye asimismo cualquier sal y compuesto de inclusión del compuesto según la invención.

30

Además, la presente invención se refiere a un procedimiento para la preparación de compuestos según la fórmula general (I), en el que un haluro de betulinilo protegido adecuadamente por un sustituyente R_1 , en particular un cloruro de betulinilo, se hace reaccionar con un alcohol o una amina sustituido adecuadamente para proporcionar el sustituyente R_2 . El compuesto así obtenido de la fórmula general (I), en la que R_1 es un grupo hidroxilo o amino protegido, puede desprotegerse, a continuación, si se desea en función del grupo protector seleccionado, por medidas conocidas en el estado de la técnica, para proveer un compuesto de la fórmula general (I), en la que R_1 es hidroxilo o amino.

35

40

La sustancia natural ácido betulínico, que sirve de material de partida y comparación para los compuestos según la invención, es un triterpeno, que se aisló ya al principio del siglo pasado. El nombre se deriva del alcohol correspondiente a betulinol, un ingrediente de la corteza del abedul, en el que aparece en grandes cantidades. El ácido betulínico presenta efectos antimalaria, antiinflamatorios, anti-VIH y antitumorales, que han sido descritos en un gran número de publicaciones. Utilizado a modo de agente quimioterapéutico, el ácido betulínico induce la denominada muerte celular programada, también denominada apoptosis, en células tumorales de origen diferente (por ejemplo en células de melanomas). En melanomas, se han detectado efectos antiproliferativos en modelos de ratón humanos tanto *in vitro* como *in vivo*. En particular, en las células de melanomas, el ácido betulínico parece provocar una muerte celular apoptótica, específicamente en las células tumorales, mientras que los melanocitos son sustancialmente resistentes frente a dicha sustancia. Hasta la actualidad, se han dado a conocer apenas datos sobre los posibles efectos de sinergia entre el ácido betulínico y otros agentes citoestáticos. Fueron investigados de forma particularmente extensiva los mecanismos de acción moleculares en los tumores infantiles (sarcoma de Ewing, meduloblastoma) así como en el glioblastoma por el grupo de investigación alrededor de S. Fulda (Hospital Infantil de Ulm, Alemania).

45

50

55

Otros efectos conocidos y bien documentados en la literatura científica del ácido betulínico y de sus derivados conocidos son su eficacia contra los virus de VIH, cuya replicación y unión al receptor son capaces de suprimir, así como su eficacia antiinflamatoria, que se ha descrito por ejemplo en un modelo de inflamación de la oreja de ratón. Por tanto, debido su efecto antiflogístico contra varios tumores (melanomas, tumores neuroectodermales, sarcomas) - descrito tanto en experimentos animales como en cultivos de células - el ácido betulínico es una sustancia de gran interés para una terapia única y para posibles terapias combinadas con otras sustancias de acción citoestática y sustancias que pueden modelar la muerte celular, por ejemplo oligonucleótidos antisentido contra varios miembros de familia de Bcl-2 anti-apoptóticos, en particular Bcl-2, Bcl-xL así como Mcl-1.

60

65

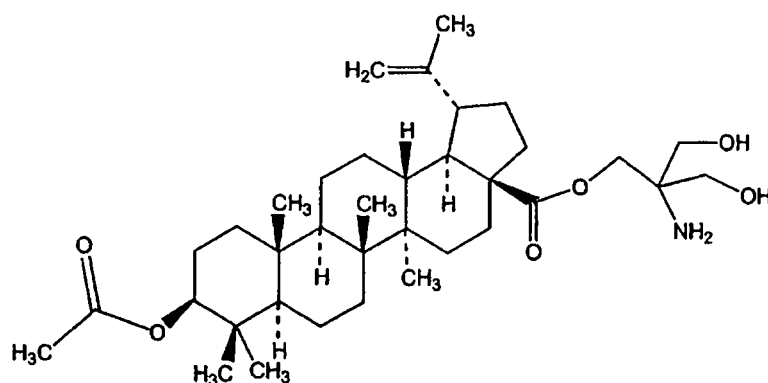
Las publicaciones sobre el mecanismo de acción del ácido betulínico, principalmente en melanomas así como en el sarcoma de Ewing, glioblastoma y meduloblastoma, han demostrado que sus efectos son causados en mayor parte por la inducción de la apoptosis a nivel mitocondrial. En el momento actual, no está claro cuales son sus puntos de ataque principales en la célula, entre otros ni los sitios de unión (receptores), si existen, ni los caminos de señales iniciales se han investigado a fondo. Sin embargo, los inventores y otros autores han podido demostrar que el ácido betulínico induce la apoptosis en las células malignas, pero que los melanocitos humanos y también las células normales parecen

ser menos sensibles que las células malignas. Esta observación es también de gran interés por el hecho de que datos en experimentos animales en el ratón no han detectado una toxicidad pronunciada. Aparte de estos datos obtenidos en el cultivo celular, existen indicaciones de que el ácido betulínico se concentra en mayor grado en los tejidos tumorales que en los tejidos normales. Se investigó también la inducción de varios miembros de la familia de Bcl-2 en células de melanoma así como en melanocitos normales y líneas de sarcoma. De los mismos, resulta que la expresión de la proteína antiapoptótica Mcl-1 puede ser inducida por el ácido betulínico dentro de pocas horas. Las otras proteínas investigadas de esta familia de genes, en particular Bcl-2 & Bcl-x, así como la expresión de la proteína p53 quedaron sin cambio en este tratamiento. Los datos de la literatura científica indican que los efectos del ácido betulínico son independientes de la proteína p53. Puesto que recientemente se ha demostrado que Bcl-2 así como Bcl-xL son capaces de inhibir la apoptosis inducida por el ácido betulínico, dichas observaciones sugieren una combinación del ácido betulínico con una antagonización de Bcl-2 y/o Bcl-xL, por ejemplo por medio de oligonucleótidos antisentido (ASO). Las mismas reflexiones son aplicables también a las posibles combinaciones con por ejemplo ASOs de Mcl-1. Una propiedad del ácido betulínico con posible relevancia clínica es la observación reciente de que su citotoxicidad se ve reforzada por bajos valores de pH en el cultivo celular. En muchos tumores, el valor pH es más bajo que en los tejidos normales (Noda Y, Kaiya T, Kohda K, Kawazoe Y., "Enhanced cytotoxicity of some triterpenes toward leukemia L1210 cells cultured in low pH media: possibility of a new mode of cell killing": Chem Pharm Bull (Tokio); 1997 Oct; 45(10): 1665-70). Los mismos autores han hallado que el ácido betulínico es más activo contra las células en reposo que contra las células en fase de crecimiento. Esta propiedad podría ser de importancia adicional para su utilización clínica, puesto que muchos quimiofármacos tal como la radioterapia son menos eficaces frente a las poblaciones celulares en reposo y/o acidóticos.

En el momento actual, los tumores mejor investigados son, en particular, los melanomas, tumores neuroectodermales así como los sarcomas y VIH. Se trata de tumores que son particularmente difíciles de tratar y en los que en particular la forma de la enfermedad más generalizada presenta opciones de tratamiento de poca probabilidad de éxito. En los pacientes con un melanoma metastatizado, las posibilidades de terapia se limitan sustancialmente a unas pocas sustancias. Entre ellas, se incluye 5-(3,3-dimetil-1-triazenil)-1-H-imidazol-4-carboxamida (dacarbazina, DTIC). Ahora como antes, dacarbazina es todavía la monoterapia más eficaz para el melanoma con tasas de respuesta en una magnitud de aproximadamente un 30%. Las terapias combinadas con otras sustancias sintéticas o recombinantes, tales como por ejemplo BCNU, cisplatino, tamoxifeno, interferona-alfa e interleucina-2 presentan tasas de respuesta más altas en algunos estudios clínicos. Sin embargo, dichas sustancias presentan un límite de tiempo y vienen acompañados de una toxicidad aumentada. Algunas sustancias que proceden de productos naturales, tales como por ejemplo adriamicina, bleomicina, etopósido y otras, se han investigado con relación a su eficacia contra melanomas y a su toxicidad. Pero, en definitiva, ninguna de dichas sustancias ha podido convencer en la práctica diaria clínica.

A continuación, el procedimiento según la invención se ilustrará haciendo referencia a algunos ejemplos, no limitándose la descripción de la invención a dichos ejemplos.

1) Acetilbetulinato de 2-amino-3-hidroxi-2-hidroximetilpropilo IV (compuesto B)



ES 2 319 653 T3

Esquema de reacción 1

5

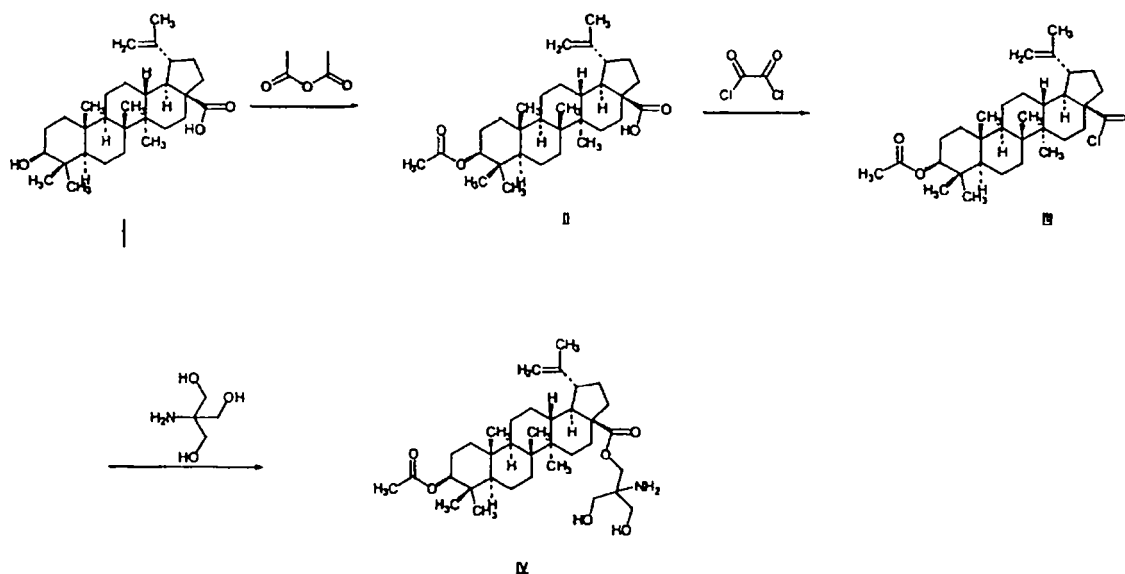
10

15

20

25

30



35

La síntesis de acetilbetulinato de 2-amino-3-hidroxi-2-hidroxi metilpropilo IV se realizó a partir de ácido betulínico I, pasando por las etapas intermedias del ácido acetilbetulínico II y del cloruro de ácido correspondiente III, por reacción del cloruro de ácido III con trishidroximetilaminometano.

40

a) Ácido acetilbetulínico (peso molecular 498,74) II

Se calentaron 2 g de ácido betulínico (peso molecular 456,70) con reflujo en 50 ml de anhídrido acético durante 2 horas. Tras enfriar la mezcla de reacción, la misma se vertió en agua helada con fuerte agitación, la mezcla se filtró, y el sólido obtenido se lavó con agua hasta la desaparición del olor a ácido acético.

45

A continuación, el sólido se calentó en etanol al 70% con reflujo durante 4 horas con agitación.

Tras enfriar la solución de reacción, la misma se filtró, la solución madre se concentró ligeramente y se enfrió en un baño de hielo y se filtró otra vez. Rendimiento 86%, punto de fusión: 290°C.

50

b) Cloruro de acetilbetulinilo (peso molecular 517,18) III

Se introdujeron 2 g de ácido acetilbetulínico II en benceno seco (35 ml), y se adicionó un exceso de 10 veces de cloruro de oxalilo (3,4 ml). La mezcla de reacción se agitó por enfriamiento durante 8 horas, y a continuación se eliminó el disolvente y el cloruro de oxalilo excedente por destilación a vacío en un evaporador rotativo. Para eliminar restos de cloruro de oxalilo, se adicionaron otra vez 20 ml de benceno, que se eliminó otra vez por destilación a vacío.

60

c) Acetilbetulinato de 2-amino-3-hidroxi-2-hidroxi metilpropilo (peso molecular 601,86) IV (compuesto B)

El cloruro de ácido obtenido a partir de 1 g de ácido acetilbetulínico (aprox. 0,002 mol) por el método según b) se hizo reaccionar sin más purificación. A tal fin, se disolvió en 35 ml de dioxano (seco) y se adicionó tris(hidroxi metil) aminometano en doble exceso (0,004 mol, 0,5 g). Tras adicionar una punta de espátula de DMAP y 3 gotas de piridina, la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 días.

65

A continuación, se separó el sólido por filtración, la solución se concentró en un evaporador rotativo y se recogió en cloroformo. Esta solución de cloroformo se lavó varias veces con ácido clorhídrico al 1%, agua y solución de

ES 2 319 653 T3

sal común saturada hasta quedar libre de piridina. Tras secar la solución sobre Na_2SO_4 , el disolvente se eliminó por destilación a vacío, y el producto se purificó pasándolo por una columna de gel de sílice o (y) cromatotrón. El eluyente utilizado era una mezcla de cloroformo y metanol en una relación de 10:1. Rendimiento 20%, punto de fusión: 156°C .

5

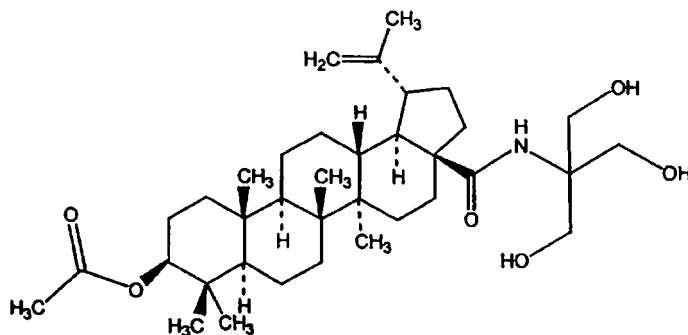
2) *N*-(1,1-bis(hidroximetil)-2-hidroxietyl)acetilbetulinamida (peso molecular 601,86) (compuesto C)

10

15

20

25



30

La síntesis de la *N*-(1,1-bis(hidroximetil)-2-hidroxietyl)acetilbetulinamida (compuesto C) se llevó a cabo de forma análoga al esquema de reacción 1 a partir de ácido betulínico I, pasando por las etapas intermedias de ácido acetilbetulínico II y del cloruro de ácido correspondiente III, por reacción del cloruro de ácido III con tris(hidroximetil)aminometano.

35

El cloruro de ácido obtenido a partir de 1 g de ácido acetilbetulínico (aprox. 0,002 mol) por el método según 1)b) se hizo reaccionar sin más purificación. A tal fin, se disolvió en 35 ml de dioxano (seco) y se adicionó una cantidad equimolar de tris(hidroximetil)aminometano (0,002 mol, 0,25 g). Tras adicionar una punta de espátula de DMAP y 3 gotas de piridina, la mezcla de reacción se calentó a 80°C durante 8 horas. A continuación, la solución de reacción se concentró en un evaporador rotativo y el residuo se recogió en cloroformo. Esta solución de cloroformo se lavó varias veces con ácido clorhídrico al 1%, agua y solución de sal común saturada hasta quedar libre de piridina. Tras secar la solución sobre Na_2SO_4 , el disolvente se eliminó por destilación a vacío, y el producto se purificó pasándolo por una columna de gel de sílice o (y) cromatotrón. El eluyente utilizado era una mezcla de cloroformo y metanol en una relación de 10:1. Rendimiento 15%, punto de fusión: 184°C .

40

45

A continuación, se describirá la utilización de los compuestos según la invención para la inhibición del crecimiento de tumores en comparación con el ácido betulínico (compuesto comparativo A).

50

Inhibición del crecimiento en varias líneas de tumores

Los Ejemplos 1 & 2 muestran una comparación directa del compuesto comparativo A (ácido betulínico) con un derivado nuevo (compuesto B) en ensayos de crecimiento en pares (disminución del número de células tras 3 días después de una sola aplicación de las concentraciones citadas de los compuestos correspondientes el día 1).

55

Ejemplo 1

Comparación del compuesto (A) (ácido betulínico) con el compuesto (B) (triséster protegido de ácido betulínico)

60

- Inhibición del crecimiento en la línea de melanomas 518A2 (recibida de Peter Schrier, Leiden, Países Bajos) tras 48 horas.

El eje X indica la concentración de los compuestos A y B en $\mu\text{g/ml}$, mientras que el eje Y indica la tasa de supervivencia de las células en tanto por ciento, relativo a los controles sin tratar.

65

ES 2 319 653 T3

El valor de ED50 para el compuesto (A) se encuentra en una magnitud de 5 $\mu\text{g/ml}$ y de aproximadamente 0,7 $\mu\text{g/ml}$ para el compuesto (B).

5

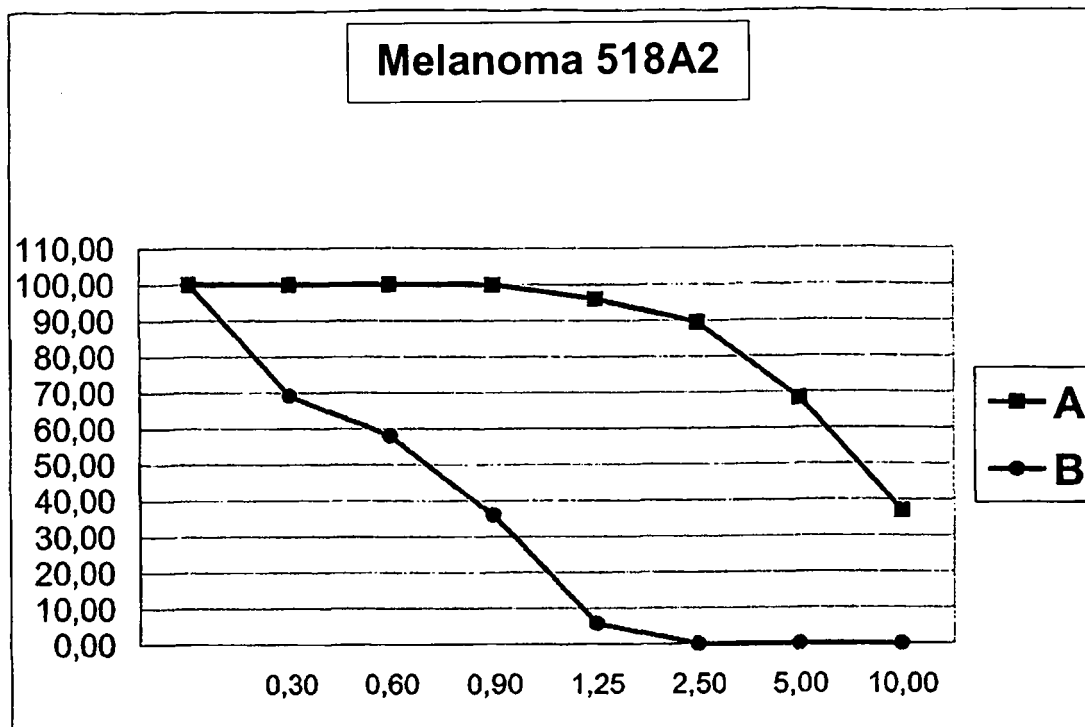
10

15

20

25

30



35

Compuesto (B)

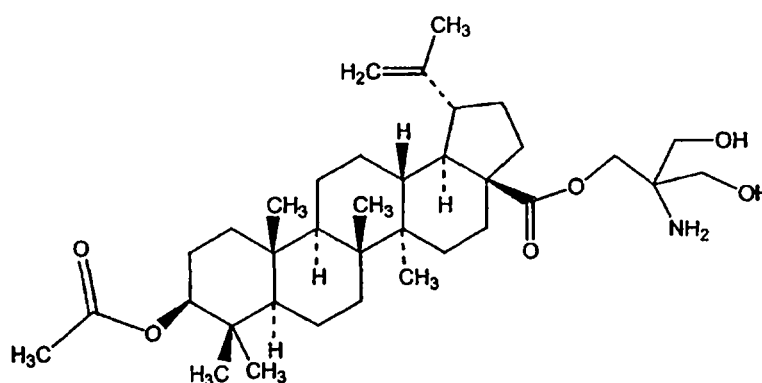
40

45

50

55

60



Por tanto, el compuesto (B) presentó una eficacia mucho más alta que el compuesto comparativo (A) en una magnitud de hasta 7 veces.

65

Una mejor eficacia similar se observa también en los sarcomas, tal como se mostrará a continuación a título de ejemplo con una línea celular.

Ejemplo 2

Comparación de la eficacia del compuesto comparativo (A) (ácido betulínico) con el compuesto (B) (triséster protegido de ácido betulínico) en una línea de liposarcoma (ATCC HTB-92). El eje X indica la concentración de los compuestos A y B en $\mu\text{g/ml}$, mientras que el eje Y indica la tasa de supervivencia de las células en tanto por ciento, relativo a los controles sin tratar

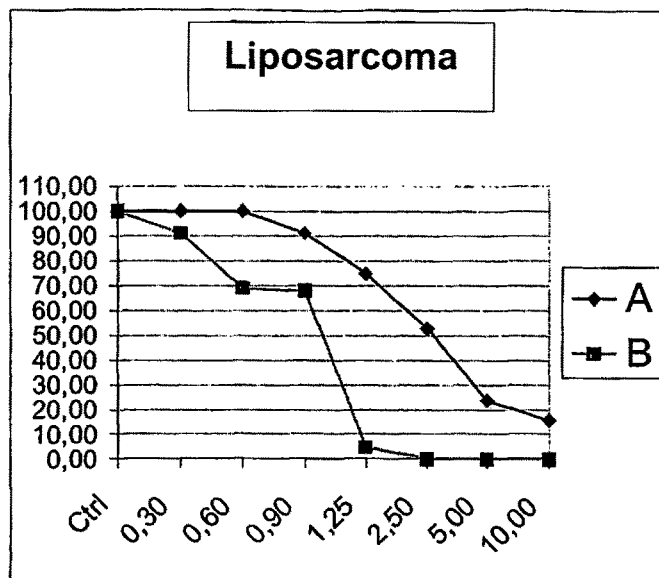
10

15

20

25

30



35

El valor de ED50 para el compuesto (A) era de 2,5 $\mu\text{g/ml}$ y de 0,9 $\mu\text{g/ml}$ para el compuesto (B).

Ejemplo 3

Comparación del efecto de varios derivados de ácido betulínico según la invención o del compuesto comparativo (ácido betulínico) sobre varias líneas de melanosarcoma. Los datos son la supervivencia de células en tanto por ciento (valores promedios) en comparación con los cultivos celulares sin tratar

45

3a) Compuesto comparativo (A) (ácido betulínico) - Efecto sobre la línea de liposarcoma ATCC HTB-92

50

Conc. $\mu\text{g/ml}$	Supervivencia en %
0,3	98,0
0,6	92,8
1	92,3
1,25	79,5
2,5	49,3
5	20,8
10	15,7

55

60

65

ES 2 319 653 T3

3b) *Compuesto comparativo (B) (triséster protegido de ácido betulínico) - Efecto sobre la línea de liposarcoma ATCC HTB-92*

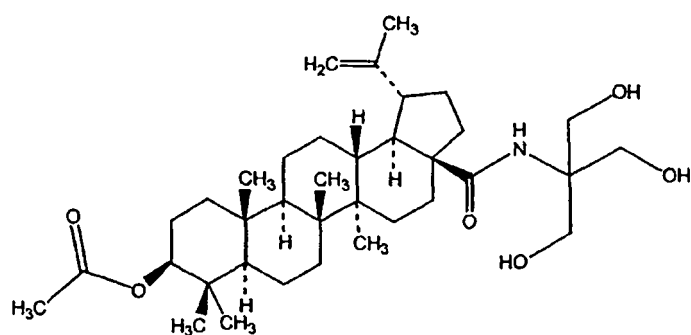
	Conc. µg/ml	Supervivencia en %
5	0,3	89,5
10	0,6	70,7
	1	12,0
	1,25	2,9
15	2,5	3,0
	5	0,0
20	10	0,0

3c) *Compuesto comparativo (B) (triséster protegido de ácido betulínico) - Efecto sobre la línea de melanoma 518A2*

	Conc. µg/ml	Supervivencia en %
25	0,3	83,0
30	0,6	56,3
	1	11,3
35	1,25	10,3
	2,5	2,8
40	5	0,0
	10	0,0

3d) *Compuesto comparativo (C) (triamida protegida de ácido betulínico) - Efecto sobre la línea de melanoma 518A2 & la línea de liposarcoma ATCC HTB-92*

Compuesto (C)



ES 2 319 653 T3

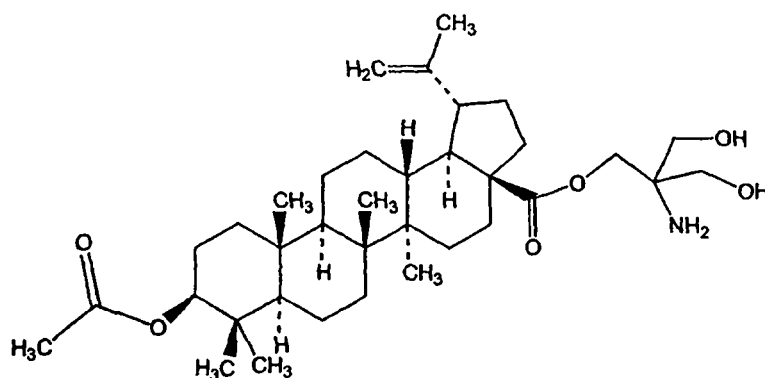
Conc. µg/ml	Supervivencia en % de melanoma
0,25	96
0,5	93
1	67,5

Conc. µg/ml	Supervivencia en % de liposarcoma
0,3	96
0,6	82
1,0	81

Ejemplo 4

Preparación de un compuesto de inclusión que comprende el compuesto (B) (triséster protegido de ácido betulínico) en HBC (2-hidroxi-propil-beta-ciclodextrina, empresa Sigma, no. de cat. H-107) o en HGC (2-hidroxi-propil-gamma-ciclodextrina, empresa Sigma, no. de cat. H-125)

Compuesto (B)



A continuación, se han indicado las soluciones madre correspondientes para la dilución ulterior. El compuesto (B) se disolvió en EtOH para dar 50 y 100 mg/ml, respectivamente. HBC se disolvió por separado en agua o en agua más EtOH. El procedimiento ulterior era en principio tal como se ha descrito en la hoja de datos de Sigma suministrada. No se intentó ajustar el valor pH. La solubilidad del compuesto (B) en las soluciones acuosas por medio de su inclusión en HBC o compuestos similares debería seguramente mejorarse aún más, por ejemplo en gamma-ciclodextrinas.

Experimento	#1:	Compuesto (B)	50 mg/ml en EtOH disuelto como es habitual.
#2:	Compuesto (B)	5,9 mg/ml en 266 mg/ml de HBC en H ₂ O.	
#3:	Compuesto (B)	20 mg/ml en 266 mg/ml de HBC en 50% de EtOH/50% de H ₂ O.	
#4:	Compuesto (B)	25 mg/ml en 200 mg/ml de HGC en 50% de EtOH/50% de H ₂ O.	

Las soluciones madre citadas anteriormente se diluyeron a 1 mg/ml en EtOH y se adicionaron a continuación directamente al medio de cultivo.

ES 2 319 653 T3

4a) *Compuesto (B) (triséster protegido de ácido betulínico) como compuesto de inclusión en HBC (2-hidroxiopropil-beta-ciclodextrina) o en HGC (2-hidroxiopropil-gamma-ciclodextrina) - Efecto sobre la línea de melanoma 518A2*

Supervivencia en % como con todos los otros datos tras 3 días de cultivo celular con una sola aplicación el día 1.

5

Experimento #1

	Conc. µg/ml	Supervivencia en % de melanoma
10	1,0	50
	2,0	9,5
15	3,0	0,0
	4,0	0,0

20

Experimento #2

	Conc. µg/ml	Supervivencia en % de melanoma
25		
	1,0	65
30	2,0	25
	3,0	0,0
35	4,0	0,0

40

Experimento #3

	Conc. µg/ml	Supervivencia en % de melanoma
45		
	1,0	77
	2,0	24
50	3,0	0,0
	4,0	0,0

55

Experimento #4

	Conc. µg/ml	Supervivencia en % de melanoma
60		
	1,0	59
	2,0	4
65	3,0	0,0

ES 2 319 653 T3

4b) *Compatibilidad del compuesto (B) (triséster protegido de ácido betulínico) como compuesto de inclusión en HGC (2-hidroxipropil-gamma-ciclodextrina) en un modelo de ratón*

5 Método: A ratones hembras C.B. 17 scid/scid libres de patógenos (con una edad de 4-6 semanas, Harlan Winkelmann, Borchon, Alemania) se administró un complejo HGC/compuesto (B) disuelto en agua por inyección intravenosa en la vena de cola. El compuesto de inclusión se preparó tal como se ha descrito en el Ejemplo 4. La parte del alcohol se eliminó por liofilización de la mezcla, seguida de su reconstitución en agua. El volumen total por inyección era de 200 μ l para los experimentos citados a continuación.

10

Experimento #1

15 En primer lugar, en cada experimento se trataron dos ratones 3 veces seguidas los tres días con 100 μ g del complejo HGC/compuesto (B). Cuando la compatibilidad era buena, el próximo par de ratones se trató con la próxima dosis más alta, tal como se ha indicado en el esquema que se presenta a continuación.

Esquema:

20

Grupo A: 3 veces 100 μ g del complejo HGC/compuesto (B)

Grupo B: 3 veces 200 μ g del complejo HGC/compuesto (B)

Grupo C: 3 veces 400 μ g del complejo HGC/compuesto (B)

25

a continuación, se continuó con el grupo A tratado primero:

Grupo A: 3 veces 800 μ g del complejo HGC/compuesto (B)

30

Grupo B: 3 veces 1.500 μ g del complejo HGC/compuesto (B);

a continuación, se paró debido a fenómenos de irritación local.

35

Se interrumpieron los experimentos a 1.500 μ g del complejo HGC/compuesto (B), debido a fuertes fenómenos de irritación local en uno de dos ratones, pero sin toxicidad sistémica obvia. En total, era posible administrar una cantidad de 800 μ g del complejo HGC/compuesto (B) por inyección por ratón sin toxicidad obvia. A concentraciones más altas (aproximadamente 1.5 mg del complejo HGC/compuesto (B) por ratón), se observaron fenómenos de irritación locales. Es posible que una infusión más lenta pueda ayudar a evitar dichos efectos secundarios.

40

Experimento #2

En un grupo experimental de 3 ratones, se administraron 800 μ g del complejo HGC/compuesto (B) (en 200 μ l de volumen) por ratón todos los tres días y 6 veces seguidas. En este caso, tampoco se observaron efectos clínico-tóxicos obvios. La autopsia subsiguiente no dio indicio alguno de cambios de órgano macroscópicos.

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Nuevo derivado del ácido betulínico con la fórmula general (I)

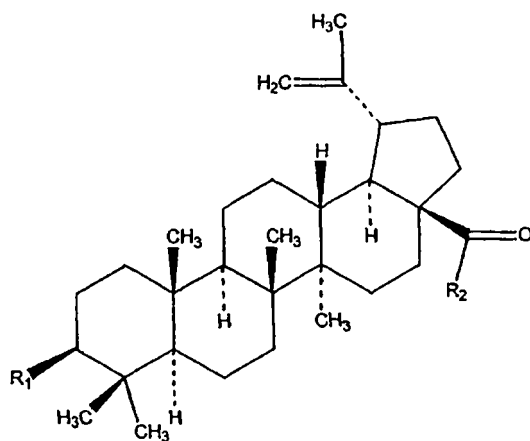
5

10

15

20

25



30 en la que R₁ es un grupo hidroxilo, un grupo amino, un grupo hidroxilo protegido o un grupo amino protegido,
y R₂ =

35

40

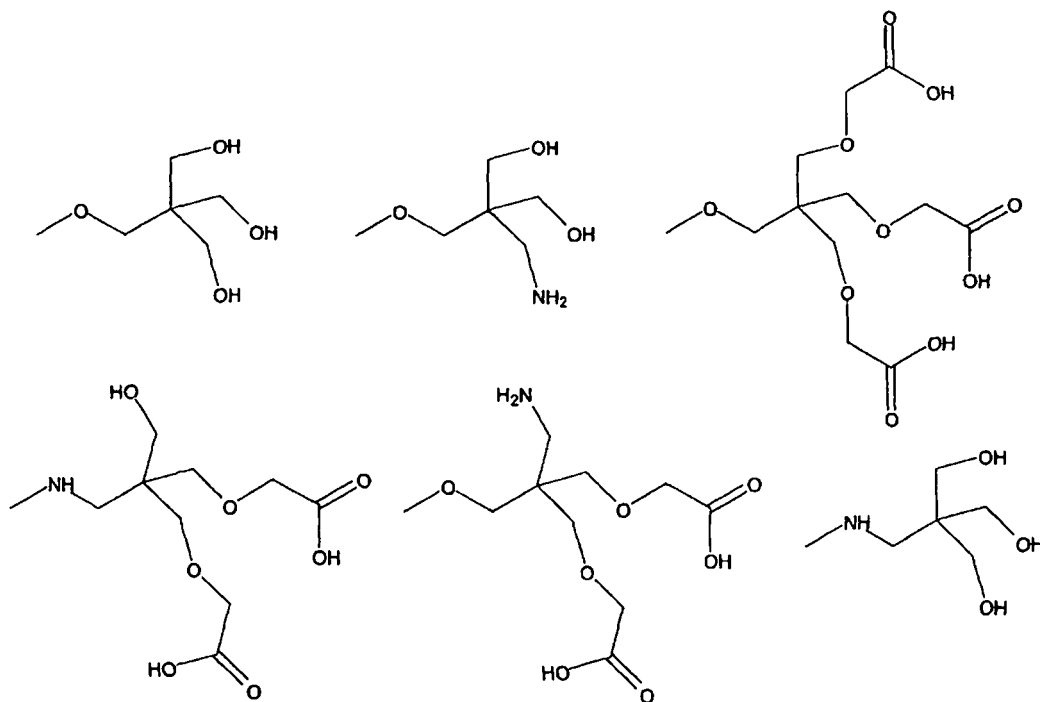
45

50

55

60

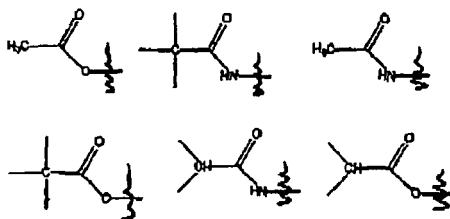
65



así como sus sales y compuestos de inclusión.

ES 2 319 653 T3

2. Compuesto según la reivindicación 1, en el que R_1 es un grupo hidroxilo, un grupo amino o uno de entre los siguientes grupos hidroxilo o amino protegidos:



y R_2 presenta el significado citado anteriormente.

3. Procedimiento para la preparación de un compuesto según la reivindicación 1 ó 2, **caracterizado** porque un haluro del ácido betulínico protegido adecuadamente por un sustituyente R_1 se hace reaccionar con un alcohol o una amina sustituidos adecuadamente para proporcionar el sustituyente R_2 , y el compuesto obtenido de este modo de la fórmula general (I), en la que R_1 es un grupo hidroxilo o amino protegido, se desprotege, si se desea, para proporcionar un compuesto de la fórmula general (I), en la que R_1 es hidroxilo o amino.

4. Utilización de un compuesto según la reivindicación 1 ó 2 para la preparación de un medicamento.

5. Utilización de un compuesto según la reivindicación 1 ó 2 para la preparación de un medicamento destinado a la inhibición del crecimiento de tumores, tales como melanomas y tumores neuroectodermales, y/o para el tratamiento de sarcomas y VIH en mamíferos.

6. Utilización de un compuesto según la reivindicación 1 ó 2 para la preparación de un medicamento destinado a terapia combinada con otras sustancias de acción citoestática y sustancias que son capaces de modular la muerte celular, por ejemplo oligonucleótidos antisentido contra varios miembros de la familia Bcl anti-apoptóticos, en particular Bcl-2, Bcl-xL, así como Mcl-1.

7. Composición farmacéutica que comprende un compuesto según la reivindicación 1 ó 2.