(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de la Propiedad Intelectual
Oficina internacional

(43) Fecha de publicación internacional
15 de septiembre de 2011 (15.09.2011)

PCT

(10) Número de Publicación Internacional
WO 2011/110723 A1

(51) Clasificación Internacional de Patentes:
C07H 5/10 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
A61K 31/7008 (2006.01)

(21) Número de la solicitud internacional:
PCT/ES2011/070169

(22) Fecha de presentación internacional:
11 de marzo de 2011 (11.03.2011)

(25) Idioma de presentación: español

(26) Idioma de publicación: español

(30) Datos relativos a la prioridad:
P201030366 12 de marzo de 2010 (12.03.2010) ES

(71) Solicitantes *(para todos los Estados designados salvo US)*: **CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS (CSIC)** [ES/ES]; Serrano, 117, E-28006 Madrid (ES). **HOSPITAL NACIONAL DE PARAPLEJICOS DE TOLEDO** [ES/ES]; Finca la Peraleda, s/n, E-45071 Toledo (ES).

(72) Inventores; e
(75) Inventores/Solicitantes *(para US solamente)*: **FERNÁNDEZ-MAYORALAS ÁLVAREZ, Alfonso** [ES/ES]; Instituto de Química Orgánica General, Juan de la Cierva, 3, E-28006 Madrid (ES). **NIETO SAMPEDRO, Manuel** [ES/ES]; Instituto Cajal, Doctor Arce, 37, E-28002 Madrid (ES). **CASAS BRUGULAT, Josefina** [ES/ES]; Instituo de Química Avanzada de Cataluña, Jorge Girona Salgado, 18-26, E-08034 Barcelona (ES). **GARCÍA ÁLVAREZ, Isabel** [ES/ES]; Hospital Nacaional de Parapléjicos de Toledo, Finca La Peraleda, s/n, E-45071 Toledo (ES). **ROMERO RAMÍREZ, Lorenzo** [ES/ES]; Hospital Nacaional de Parapléjicos de Toledo, Finca La Peraleda, s/n, E-45071 Toledo (ES).

(74) Mandatario: **UNGRIA LÓPEZ, Javier**; Avenida Ramón y Cajal, 78, E-28043 Madrid (ES).

(81) Estados designados *(a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección nacional admisible)*: AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Estados designados *(a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección regional admisible)*: ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europea (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publicada:

— *con informe de búsqueda internacional (Art. 21(3))*

— *antes de la expiración del plazo para modificar las reivindicaciones y para ser republicada si se reciben modificaciones (Regla 48.2(h))*

(54) Title: N-ACETYLHEXOSAMINE SULFUR DERIVATIVES AND USE OF SAME AS CELL TUMOR INHIBITORS

(54) Título : DERIVADOS AZUFRADOS DE N-ACETILHEXOSAMINAS Y SU USO COMO INHIBIDORES DE LA DIVISIÓN DE CÉLULAS TUMORALES

(57) Abstract: The present invention relates to a series of thioglycosides and to the oxidized sulfoxide and sulfone derivatives thereof, which provide better solubility in aqueous media, and to the use thereof as anti-tumor agents, principally against glioma and pulmonary adenocarcinoma cell lines. The novel thioderivatives are resistant to hydrolysis catalyzed by N-acetylhexosaminadases and reduce the ganglioside content of tumor cells. The invention likewise relates to a process for obtaining said compounds and to the use thereof in the manufacture of a medication for treating tumors.

(57) Resumen: La presente invención describe una serie de tioglicósidos y sus derivados oxidados sulfóxido y sulfona, que confieren mayor solubilidad en medios acuosos, y su uso como antitumorales, principalmente frente a líneas celulares de glioma y adenocarcinoma de pulmón. Los nuevos tioderivados son resistentes a la hidrólisis catalizada por enzimas N-acetilhexosaminidasas y reducen el contenido de gangliósidos en células tumorales. La invención también se refiere a un procedimiento de obtención de estos compuestos y a su uso para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de tumores.

WO 2011/110723 A1

Derivados azufrados de N-acetilhexosaminas y su uso como inhibidores de la división de células tumorales.

La presente invención se refiere a tioglicósidos, glicosilsulfóxidos y glicosilsulfonas derivados de N-acetilhexosaminas, a su procedimiento de obtención y a su uso como inhibidores de la división de células tumorales.

ESTADO DE LA TÉCNICA ANTERIOR

El glioblastoma multiforme es el tumor cerebral primario más frecuente en adultos y al mismo tiempo es el más mortal. En Estados Unidos, sólo la mitad de los pacientes que reciben el tratamiento estándar sobreviven un año después del diagnóstico. Menos de uno de cada diez sobrevive más de cinco años. Suele presentarse en personas mayores de cuarenta años, con un máximo de incidencia entre los 50 y 55 años y es más frecuente entre los varones. En adultos, hay unos 17000 nuevos casos de tumores cerebrales cada año (además, otros tipos de cáncer pueden generar metástasis en el cerebro) lo que supone unas 14000 muertes. El tumor cerebral es la primera causa de muerte por cáncer en niños y menores de 20 años.

El tratamiento depende de la localización y del grado del tumor; se aplica cirugía cuando el tumor es accesible y no hay peligro de dañar estructuras vitales. La radioterapia se utiliza para detener el crecimiento del tumor o para hacer que disminuya su tamaño y la quimioterapia destruye las células tumorales que quedan después de la cirugía y la radiación. La quimioterapia más habitual (BCNU, CCNU) no parece tener un efecto significativo, aunque en algunas ocasiones se ha conseguido prolongar algunos meses la supervivencia.

Los gangliósidos son un tipo de glicolípidos formados por un residuo del esfingolípido ceramida y una cadena de oligosacárido. Los gangliósidos tienen como característica estructural la presencia de uno o varios residuos de ácido

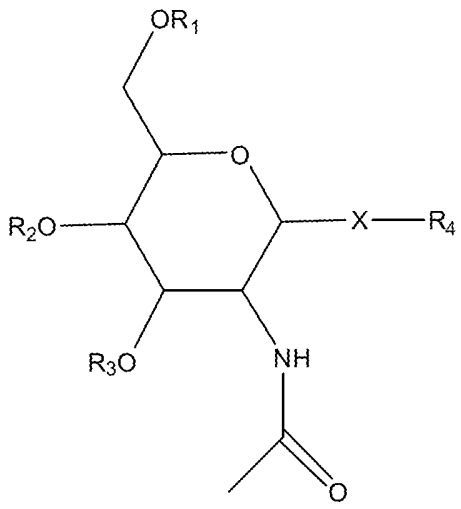
siálico en la cadena de oligosacárido. Es conocido que cambios dramáticos en la composición de determinados gangliósidos y su metabolismo están asociados con la transformación oncogénica. Así, existen diversos estudios que sugieren que los gangliósidos asociados a tumores juegan un papel importante en su desarrollo y se ha observado que la reducción del contenido de gangliósidos reduce la capacidad de las células para formar tumores (Birkle et al., *Biochemie* 2003, *85*, 455-463). La patente española 200000982 describe un procedimiento de obtención de glicósidos derivados del monosacárido N-acetil-D-glucosamina y la investigación sobre su actividad inhibitoria y citotóxica en gliomas.

Teniendo en cuenta la gravedad de este tipo de tumores y la escasa efectividad de los tratamientos, el desarrollo de nuevas moléculas capaces de detener la proliferación de gliomas es de gran interés para el tratamiento de esta enfermedad.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

La presente invención describe una serie de tioglicósidos y sus derivados oxidados sulfóxido y sulfona, que confieren mayor solubilidad en medios acuosos, y su uso como antitumorales frente a líneas celulares de glioma y adenocarcinoma de pulmón. Los nuevos tioderivados son resistentes a la hidrólisis catalizada por enzimas N-acetilhexosaminidasas y reducen el contenido de gangliósidos en células tumorales.

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



Fórmula (I)

donde

X se selecciona entre S, S(O) o $S(O)_2$

R_1, R_2 y R_3 se seleccionan independientemente entre H o acilo C_1-C_6,

R_4 es un alquilo C_{16}-C_{24} o un alquenilo C_8-C_{24},

o cualquiera de sus isómeros, sales o solvatos.

El término "acilo" se refiere, en la presente invención, a radicales de ácidos carboxílicos lineales o ramificados, que tienen de 1 a 6 átomos de carbono, y que se unen al resto de la molécula mediante un enlace ester.

El término "alquenilo" se refiere a radicales de cadenas hidrocarbonadas de 1 a 25 átomos de carbono, preferiblemente de 8 a 24, que contienen uno o más enlaces carbono-carbono dobles, por ejemplo, vinilo, 1-propenilo, alilo, isoprenilo, 2-butenilo, 1,3-butadienilo etc. Los radicales alquenilos pueden estar opcionalmente sustituidos por uno o más sustituyentes tales como halo, hidroxilo, alcoxilo, carboxilo, ciano, carbonilo, acilo, alcoxicarbonilo, amino, nitro, mercapto y alquiltio.

Los compuestos de la presente invención representados por la fórmula (I) pueden incluir isómeros, dependiendo de la presencia de enlaces múltiples (por

ejemplo, Z, E), incluyendo isómeros ópticos o enantiómeros, dependiendo de la presencia de centros quirales. Los isómeros, enantiómeros o diastereoisómeros individuales y las mezclas de los mismos caen dentro del alcance de la presente invención, es decir, el término isómero también se refiere a cualquier mezcla de isómeros, como diastereómeros, racémicos, etc., incluso a sus isómeros ópticamente activos o las mezclas en distintas proporciones de los mismos. Los enantiómeros o diastereoisómeros individuales, así como sus mezclas, pueden separarse mediante técnicas convencionales.

En una realización preferida, R_1 a R_3 son H.

En otra realización preferida, X es S.

En otra realización preferida, X es S(O).

En otra realización preferida, X es $S(O)_2$.

En otra realización preferida, R_4 es un alquenilo C_{16}-C_{20}. En una realización aún más preferida, R_4 es un grupo octadec-9-enilo (oleilo).

En un segundo aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) según descrito anteriormente.

En una realización preferida, dicha composición comprende otro principio activo.

Algunos ejemplos de las composiciones farmacéuticas son sólidos (tabletas, píldoras, cápsulas, sólido granulado, etc.) o líquidos (disoluciones, suspensiones o emulsiones) preparados para la administración oral, nasal, tópica o parenteral.

En una realización preferida de la presente invención, las composiciones farmacéuticas son adecuadas para la administración oral, en forma sólida o líquida. Las posibles formas para la administración oral son tabletas, cápsulas, siropes o soluciones y pueden contener excipientes convencionales conocidos en el ámbito farmacéutico, como agentes agregantes (p.e. sirope, acacia, gelatina, sorbitol, tragacanto o polivinil pirrolidona), rellenos (p.e. lactosa, azúcar, almidón de maíz, fosfato de calcio, sorbitol o glicina), disgregantes (p.e. almidón, polivinil pirrolidona o celulosa microcristalina) o un surfactante farmacéuticamente aceptable como el lauril sulfato de sodio.

Las composiciones para administración oral pueden ser preparadas por métodos los convencionales de Farmacia Galénica, como mezcla y dispersión. Las tabletas se pueden recubrir siguiendo métodos conocidos en la industria farmacéutica.

Las composiciones farmacéuticas se pueden adaptar para la administración parenteral, como soluciones estériles, suspensiones, o liofilizados de los productos de la invención, empleando la dosis adecuada. Se pueden emplear excipientes adecuados, como agentes tamponadores del pH o surfactantes.

Las formulaciones anteriormente mencionadas pueden ser preparadas usando métodos convencionales, como los descritos en las Farmacopeas de diferentes países y en otros textos de referencia.

La administración de los compuestos o composiciones de la presente invención puede ser realizada mediante cualquier método adecuado, como la infusión intravenosa y las vías oral, intraperitoneal o intravenosa. La administración oral es la preferida por la conveniencia de los pacientes y por el carácter crónico de las enfermedades a tratar.

La cantidad administrada de un compuesto de la presente invención dependerá de la relativa eficacia del compuesto elegido, la severidad de la enfermedad a

tratar y el peso del paciente. Sin embargo, los compuestos de esta invención serán administrados una o más veces al día, por ejemplo 1, 2, 3 ó 4 veces diarias, con una dosis total entre 0.1 y 1000 mg/Kg/día. Es importante tener en cuenta que puede ser necesario introducir variaciones en la dosis, dependiendo de la edad y de la condición del paciente, así como modificaciones en la vía de administración.

Los compuestos y composiciones de la presente invención pueden ser empleados junto con otros medicamentos en terapias combinadas. Los otros fármacos pueden formar parte de la misma composición o de otra composición diferente, para su administración al mismo tiempo o en tiempos diferentes.

En un tercer aspecto, la presente invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula (I) para la fabricación de un medicamento.

En un cuarto aspecto, la presente invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula (I) para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de tumores. En una realización preferida, el tumor se selecciona entre cerebral, melanoma, linfoma, adenocarcinoma de pulmón o de útero. entre cerebral o adenocarcinoma de pulmón.

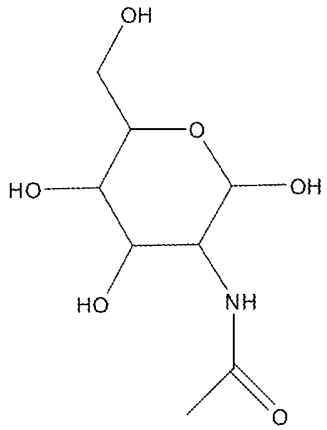
Se han realizado experimentos in vivo, utilizando ratones inmunodeprimidos (ratones desnudos) como animales de experimentación portadores de un tumor. Los animales (n=6 por cada tratamiento) fueron tratados con el compuesto 6α a dos dosis diferentes (1 y 10 mg/Kg/día) mediante inyección subcutánea durante un período de catorce días. Con fines comparativos, otro grupo de animales fue tratado con el glicósido 9 (véase Figura 2), análogo al compuesto 6 α pero que presenta un átomo de oxígeno en lugar del átomo de azufre. El análisis del volumen tumoral muestra que el compuesto 6α es capaz de reducir el volumen tumoral respecto al control de un modo dosis dependiente. Sin embargo el glicósido 9 no produce una reducción aparente

del volumen tumoral respecto del control, lo cual demuestra la necesidad de tener derivados azufrados estables a la hidrólisis catalizada por enzimas glicosidasas, como es el caso de 6 α, para que presenten eficacia en el tratamiento de tumores.

En un quinto aspecto la presente invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula (I) como reactivo en ensayos biológicos.

En un sexto aspecto, la presente invención se refiere a un procedimiento de obtención de un compuesto de fórmula (I) que comprende las siguientes etapas:

a. Reacción de un compuesto de fórmula (II)

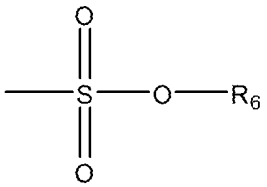


Fórmula (II)

con un cloruro de fórmula Cl-R_5 donde R_5 es un acilo C_1-C_6.

b. Reacción del compuesto obtenido en la etapa anterior con tiourea.

c. Reacción del compuesto obtenido en la etapa anterior con un compuesto de fórmula (III)



Fórmula (III)

donde R_6 es un alquilo C_{16}-C_{24} o un alquenilo C_8-C_{24}.

En una realización preferida, además se realiza una etapa de oxidación.

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra "comprende" y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos y dibujos se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Fig. 1. Cantidad de lactosilceramida (LacCer; barras negras) y gangliósidos GM3 (barras blancas) y GM2 (barras de rayas) presente en extractos de células A549 tratadas con los tioglicósidos 6α y 6β a concentración 15 μM durante 48 h, relativa al control (células A549 no tratadas).

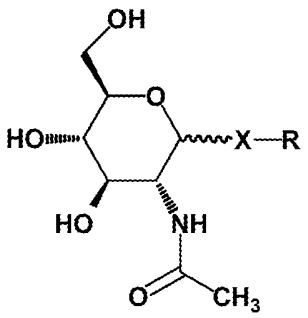
Fig. 2. Curvas de crecimiento del tumor en los ratones tratados (n=6 por grupo) con la solución control (PBS + 5 mg/ml de albúmina bovina de suero libre de ácidos grasos + 5% de DMSO), con el compuesto 9 a la dosis de 10 mg/Kg/día, y con el compuesto 6 α a las dosis de 1 y 10 mg/Kg/día.

EJEMPLOS

A continuación se ilustrará la invención mediante unos ensayos realizados por los inventores, que pone de manifiesto la especificidad y efectividad de los compuestos de la presente invención.

Procedimiento general de preparación de los compuestos de fórmula (I)

Se han preparado tioglicósidos, glicosilsulfóxidos y glicosilsulfonas de fórmula general (I) a partir del siguiente monosacárido N-acetil-D-glucosamina:



X = S , S(O), $S(O)_2$

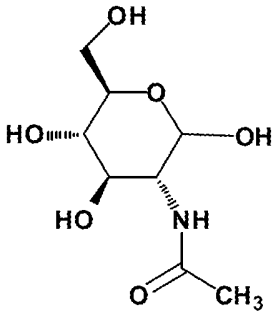
donde el resto R es una cadena hidrocarbonada, con o sin insaturaciones, lineal o ramificada, preferentemente con un resto de oleilo. La configuración del carbono anomérico C-1 en el residuo de glucosamina puede ser alfa (α) o beta (β).

La preparación de los compuestos de fórmula general (I) comienza por la reacción de N-acetil-glucosamina con cloruro de acetilo para dar lugar al cloruro correspondiente. Mediante la reacción de este cloruro con tiourea en acetona a reflujo se obtiene el intermedio clorhidrato de 2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucosamina isotiouronio. La alquilación de este compuesto con un mesilato de cadena hidrocarbonada, sintetizados previamente por tratamiento del alcohol correspondiente con cloruro de mesilo, da lugar a los tioglicósidos como mezcla de anómeros. Los anómeros se fraccionan por cromatografía en columna de gel de sílice obteniéndose separados el anómero alfa α y el beta β, los cuales son sometidos a una desacetilación para obtener los tioglicósidos

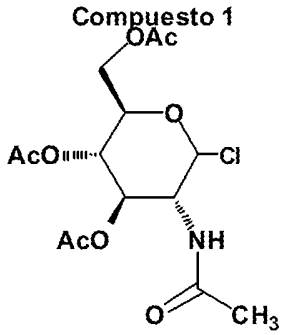
objeto de la presente invención. La oxidación de modo controlado de estos tioglicósidos con peróxido de hidrógeno catalizada por tetracloruro de zirconio da lugar a los glicosilsulfóxidos y glicosilsulfonas objeto de esta invención.

Preparación del clorhidrato de 2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucosamina isotiouronio (**3**)

Una mezcla del siguiente compuesto **1**:



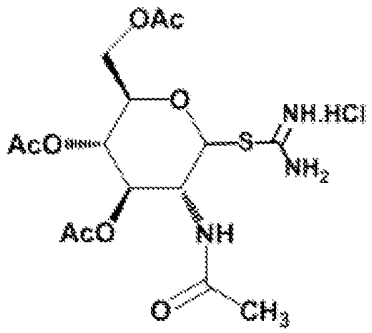
Compuesto 1



Compuesto 2

(6,25 g, 0,028 mol) y cloruro de acetilo (18,0 ml, 0,253 mol) bajo atmósfera de argon se agitó a temperatura ambiente durante 24 h. Tras diluir con CH_2Cl_2 (40 mL) la fase orgánica se lavó con H_2O fría (20 mL x 2) y con una disolución saturada de $NaHCO_3$. La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y el volumen de disolvente se redujo por evaporación a presión reducida a 25 mL. A esta disolución se añadieron 75 mL de Et_2O y se dejo cristalizar a temperatura ambiente durante 12 h, para dar lugar al siguiente compuesto **2** como un sólido blanco (6,8g, 66%):

Una disolución de tiourea (0,44 g, 5,84 mmol) y de este compuesto (2 g, 5,32 mmol) en acetona anhidra (28 mL) se calentó a reflujo (56 °C) bajo atmósfera de argon durante 30 min. El compuesto **3**:



Compuesto 3

precipitó durante la reacción como un sólido blanco. La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C y se eliminó el sobrenadante. Se lavó con acetona a 0 °C y se recristalizó de acetona-metanol y se obtuvo dicho compuesto 3 como un sólido blanco (1.55 g, 65%).

Compuesto 3: (400 MHz, D_2O, COSY): δ 1.99 (s, 3H, NAc), 2.07, 2.09, 2.12 (3 s, 9H, OAc), 4.19 (ddd, 1H, *J* = 10.1, *J* = 3.9, *J* = 1.8 Hz, H-5), 4.27 (dd, 1H, *J* = 12.5, *J* = 1.7 Hz, H-6a), 4.33 (t, 1H, *J* = 10.4 Hz, H-2), 4.39 (dd, 1H, *J* = 12.8, *J* = 4.4 Hz, H-6b), 5.17 (dd, 1H, *J* = 9.9, *J* = 9.7 Hz, H-4), 5.35 (dd, 1H, *J* = 9.9, *J* = 9.7 Hz, H-3), 5.45 (d, 1H, *J* = 10.7 Hz, H-1). ^{13}C RMN (100 MHz, D_2O, HSQC): δ 20.1, 20.2, 20.3, 22.0 (NAc), 51.9 (C2), 62.1 (C6), 68.1 (C4), 73.1 (C3), 75.9 (C5), 82.2 (C1), 167.9 ($SC(NH_2)_2$), 172.8, 173.1, 173.7, 174.8. Análisis calculado para $C_{15}H_{24}ClN_3O_8S$ (%): C, 40.77; H, 5.47; N, 9.51; S, 7.26; Cl, 8.02. Encontrado (%): C, 40.55; H, 5.36; N, 9.43; S, 7.08; Cl, 7.97.

<u>Preparación de (Z)-octadec-9-enil metanosulfonato (**4**, MsO-oleilo)</u>

Se disolvió alcohol oleico (4ml, 10,8mmol) en CH_2Cl_2 anhidro (108ml) y se añadió Et_3N (4,5ml, x3). A continuación se añadió cloruro de mesilo (2,3ml, x3) y se agitó a temperatura ambiente durante 23 horas. Transcurrido ese tiempo

se purificó por cromatografía en gel de sílice (hexano-AcOEt, 3:1) y se obtuvo un líquido amarillo (3,13 g, 83,91%).

Compuesto 4: ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$): δ 5.3-5.2 (m, 2H, -C<u>H</u>=C<u>H</u>-), 4.19 (t, 2H, *J* = 6.6 Hz, CH_3SO_2O-C<u>H</u>$_2$-), 3.0 (s, 3H, C<u>H</u>$_3SO_2O$-), 2.0-1.9 (m, 4H, -C<u>H</u>$_2$CH=CHC<u>H</u>$_2$-), 1.9-1.6 (m, 2H, CH_3SO_2O-CH_2-C<u>H</u>$_2$-), 1.3-1.1 (m, 22H, CH_3SO_2O-CH_2-CH_2-C<u>H</u>$_2$(C<u>H</u>$_2$)$_4$-CH_2CH=CHCH_2(C<u>H</u>$_2$)$_6$$CH_3$), 0.85 (t, 3H, *J* = 6.6 Hz, CH_3SO_2O-$(CH_2)_7$-CH_2CH=CH$(CH_2)_7$C<u>H</u>$_3$). ^{13}C RMN (75 MHz, $CDCl_3$): δ 130.2 (-<u>C</u>H=CH-), 129.9 (-CH=<u>C</u>H-), 70.5 (CH_3SO_2O-<u>C</u>H_2-), 37.5 (<u>C</u>H_3SO_2O-CH_2-), 32.8, 32.1, 30.0, 29.9, 29.7, 29.5, 29.3, 29.3, 29.3, 29.2, 27.4, 27.4, 25.6, 22.9 y 21.2 (-<u>C</u>H_2-), 14.4 (-CH_2-<u>C</u>H_3).

<u>Preparación de oleil 2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetil-2-desoxi-1-tio-α-D-glucopiranósido **5α** y de oleil 2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetil-2-desoxi-1-tio-α-D-glucopiranósido **5β**.</u>

Se disolvió **3** (2,9 g, 6,5 mmol) en DMF anhidra (9 mL) y se añadió Et_3N (2,7 mL). A continuación se añadió **4** (2,3 g, 6,5 mmol) y la mezcla se calentó a 60 °C durante 8 h. Se concentró a vacío para eliminar el disolvente y la mezcla se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (hexano-AcOEt 5:1→2:1) para obtener **5α** (0,9 g 23%) y **5β** (0,6 g, 15%).

Producto **5α**: $[\alpha]_D$ = +112.4° (C 0.5, MeOH). ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$, COSY): δ 5.71 (d, 1H, *J* = 8.7 Hz, NH), 5.39 (d, 1H, *J* = 5.4 Hz, H-1α), 5.4-5.3 (m, 1H, H-3), 5.1-5.0 (m, 2H, –CH=CH–), 4.5-4.4 (m, 1H, H-5), 4.4-4.3 (m, 2H, H-6a, H-2), 4.2-4.0 (m, 2H, H-4, H-6b), 2.6-2.5 (m, 2H, SC<u>H</u>$_2$-), 2.1-1.9 (m, 16H, OAc, NHAc, –C<u>H</u>$_2$CH=CHC<u>H</u>$_2$–), 1.7-1.4 (m, 2H, –SCH_2C<u>H</u>$_2$–), 1.4-1.2 (m, 22H, $SCH_2CH_2(CH_2)_5$ CH_2CH=CH$CH_2(CH_2)_6CH_3$), 0.88 (t, 3H, *J* = 5.7 Hz, -CH_2C<u>H</u>$_3$). ^{13}C RMN (75 MHz, CD_3OD): δ 171.6, 170.7, 169.8, 169.3 (CO), 130.0, 129.7 (<u>C</u>H=<u>C</u>H), 84.6 (C1), 71.4, 68.3, 68.1, 62.8, 52.3 (C5, C4, C3, C6, C2), 36.5, 32.5, 31.9, 31.5, 29.7, 28.8, 27.2, 23.2, 22.7, 20.7, 14.6 (NAc, OAc, -<u>C</u>H_2-), 14.1 (-CH_2<u>C</u>H_3). MS (ES) m/z (calcd 613.85): 614.5 (M +1). Anal. calcd. para

$C_{32}H_{55}NO_8S$ (%): C, 62.61; H, 9.03; N, 2.28; S, 5.22. Encontrado: C, 62.48; H, 8.95; N, 2.51; S, 5.36.

Producto **5β**: $[\alpha]_D$ = -13.1° (C 1.5, MeOH). ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ 5.46 (d, 1H, *J* = 9.3Hz, NH), 5.4-5.3 (m, 2H, -C<u>H</u>=C<u>H</u>-), 5.2 5.0 (m, 2H, H-3, H-4), 4.57 (d, 1H, *J* = 10.5 Hz, H1β), 4.24 (dd, 1H, *J* = 4.9, *J* =12.3 Hz, H-6a), 4.2-4.0 (m, 2H, , H-6b), 4.1-4.0 (m, 1H, H-2), 3.7-3.6 (m, 1H, H-5), 2.7-2.6 (m, 2H, SC<u>H</u>$_2$-), 2.0-1.9 (m, 16H, OAc,- NHAc, -C<u>H</u>$_2$CH=CHC<u>H</u>$_2$-), 1.7-1.5 (m, 2H, SCH$_2$C<u>H</u>$_2$-), 1.4-1.2 (m, 22 H, SCH$_2$CH$_2$(C<u>H</u>$_2$)$_5$CH$_2$CH=CHCH$_2$(C<u>H</u>$_2$)$_6$CH$_3$), 0.88 (t, 3H, *J* = 6.3 Hz, SCH$_2$(CH$_2$)$_7$CH=CH(CH$_2$)$_7$C<u>H</u>$_3$). ^{13}C RMN (100 MHz, CD_3OD): δ 171.1, 170.7, 170.0, 169.3 (CO), 130.0, 129.8 (-CH=CH-), 84.6 (C1), 76.7 (C5), 75.9 (C3), 73.8 (C4), 68.3 (C6), 62.30 (C2), 53,3 (SCH$_2$-), 32.6, 31.9, 30.1, 29.7, 29.6, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 29.2, 29.1, 28.9, 27.2, 27.1, 23.3, 22.7, 20.8, 20.7, 20.6 (NAc, OAc, -<u>C</u>H$_2$-), 14.1 (-CH$_2$<u>C</u>H$_3$)
MS (ES) m/z (calcd 613.85): 614.5 (M +1).

<u>Preparación de oleil 2-acetamido-2-desoxi-1-tio-α-D-glucopiranósido **6α**.</u>

Se trató **5α** con una disolución de MeONa en MeOH 0,1M con agitación durante una hora a temperatura ambiente. La mezcla se neutralizó con Amberlita 120-IR y se concentró. Se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (AcEt-MeOH) 10:1. Se obtuvo 0,47 g del anómero **6α** (73%).

$[\alpha]_D$ = +132.0° (C 1.0, MeOH). ^{1}H RMN (400MHz, CD_3OD): δ: 5.45 (d, 1H, *J* = 5.4 Hz, H-1), 5.4-5.3 (m, 2H, -C<u>H</u>=C<u>H</u>-), 4.00 (dd, 1H, *J* = 5.4, *J* = 11.1 Hz, H-2), 4.0-3.9 (m, 1H, H-5), 3.81 (dd, 1H, *J* = 2.0, *J* = 12.0 Hz, H6a), 3.70 (dd, 1H, *J* = 5.4, *J* = 12.0 Hz, H-6b), 3.60 (t, 1H, *J* = 9.0 Hz, H-3), 3.3 (t, 1H, *J* = 9.3 Hz, H-4), 2.6-2.5 (m, 2H, SC<u>H</u>$_2$-), 2.1-2.0 (m, 4H, -C<u>H</u>$_2$CH=CHC<u>H</u>$_2$-), 2.0 (s, 3H, NHAc), 1.6-1.5 (m, 2H, SCH$_2$C<u>H</u>$_2$-), 1.3-1.2 (m, 22H, SCH$_2$CH$_2$(C<u>H</u>$_2$)$_5$CH$_2$CH=CHCH$_2$(C<u>H</u>$_2$)$_6$CH$_3$), 0.9 (t, 3H, *J* = 6.6 Hz, S(CH$_2$)$_8$CH=CH(CH$_2$)$_7$C<u>H</u>$_3$) ^{13}C RMN (75 MHz, CD_3OD): δ 173.6 (CO), 130.9 (<u>C</u>H=CH), 130.8 (CH=<u>C</u>H), 85.1 (C-1), 74.2 (C-5), 72.7, 72.6 (C-3, C-4), 62. 6

(C-6), 55.9 (C-2), 33.6 (S-$\underline{C}H_2$), 33.1, 31.6, 30.9, 30.8, 30.6, 30.6, 30.5, 30.3, 29.9, 28.2, 28.1 ($SCH_2(\underline{C}H_2)_7CH{=}CH(\underline{C}H_2)_6CH_2CH_3$), 23.8 ($\underline{C}H_2CH_3$), 22.6 ($CO\underline{C}H_3$), 14.9 ($(CH_2)_7\underline{C}H_3$). MS (ES) m/z (calcd 487.5): 488.5 (M +1). Anal. calcd. para $C_{26}H_{49}NO_5S$ (%): C, 64.03; H, 10.13; N, 2.87; S, 6.57. Encontrado: C, 63.99; H, 9.99; N, 3.13; S, 6.54.

Preparación de oleil 2-acetamido-2-desoxi-1-tio-β-D-glucopiranósido 6**β**.

Siguiendo el mismo procedimiento que para la preparación de **6α**, a partir de **5β** se obtuvo **6β** (0,21 g, 54%).

$[\alpha]_D$ = -18.3° (C 1.1, MeOH). ^{1}H RMN (300 MHz, CD_3OD): δ 5.4-5.3 (m, 2H, -$\underline{C}H{=}C\underline{H}$-), 4.47 (d, 1H, *J* = 10.3 Hz, H-1), 3.86 (dd, 1H, *J* = 2.2, *J* = 12.0 Hz, H-6a), 3.73 (t, 1H, *J* =10.1 Hz, H-2), 3.67 (dd, 1H, *J* = 5.7, *J* = 12.0 Hz, H-6b), 3.43 (t, 1H, *J* = 9.7 Hz, H-3), 3.3-3.2 (m, 2H, H-4, H-5), 2.7-2.6 (m, 2H, $SC\underline{H}_2$-), 2.1-2.0 (m, 4H, -$C\underline{H}_2CH{=}CHC\underline{H}_2$-), 2.00 (s, 3H, NH$\underline{Ac}$), 1.6-1.5 (m, 2H, $SCH_2C\underline{H}_2$-), 1.4-1.2 (m, 22H, $SCH_2CH_2(C\underline{H}_2)_5CH_2CH{=}CHCH_2(C\underline{H}_2)_6CH_3$), 0.90 (t, 3H, *J* = 6.6 Hz, $S(CH_2)_8CH{=}CH(CH_2)_7C\underline{H}_3$). ^{13}RMN (100 MHz, CD_3OD): δ 173.5 (CO), 130.9 ($\underline{C}H{=}CH$), 130.8 ($CH{=}\underline{C}H$), 85.7 (C-1), 82.1 (C-5), 77.4 (C-3), 71.9 (C-4), 62.9 (C-6), 56.3 (C-2), 33.6, 33.1, 30.9, 30.8, 30.8, 30.6, 30.5, 30.3, 30.2, 30.0, 28.2, 28.1, ($SCH_2(\underline{C}H_2)_7CH{=}CH(\underline{C}H_2)_6CH_2CH_3$), 23.8 ($\underline{C}H_2CH_3$), 23.0 ($CO\underline{C}H_3$), 14.5 ($(CH_2)_7\underline{C}H_3$). MS (ES) m/z (calcd 487.3341): 488.3415 (M +1).

Preparación de oleil 2-acetamido-2-desoxi-1-sulfinil-α-D-glucopiranósido **7α**

Se disolvió **6α** (150 mg, 0,31 mmol) en metanol (3mL) y se trató con peróxido de hidrógeno al 33% (2,2 mmol, x7) y $ZrCl_4$ (17,0 mg, 0,77 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. La mezcla se concentró a vacío y se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (AcOEt-MeOH 5:1) para dar **7α** como un sólido blanco (30,9 mg, 20%).

$[\alpha]_D$ = +112.7° (C 1.5, MeOH). ^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD): δ 5.3 – 5.2 (m, 2H, CH=CH), 4.81 (d, <1H, *J* = 5.4 Hz, H1), 4.77 (d, <1H, *J* = 5.9 Hz, H1), , 4.34 (dd, 1H, *J* = 10.8, 5.0 Hz, H2), 4.3.4.2 (m, 1H, H5), 3.95 (dd, 1H, *J*= 10.8, *J*= 8.5 Hz, H3), 3.82 (dd, 1H, *J*=12.2, *J*=2.1 Hz, H6a), 3.61 (dd, 1H, *J*=12.3, *J*=6.1 Hz, H6b), 3.38 (dd, 1H, *J*=9.5, *J*=8.5 Hz, H4), 3.1-3.0 (m, 1H, SCH_2), 2.9-2.8 (m, 1H, SCH_2), 2.1-2.0 (m ,4H, $C\underline{H_2}CH{=}CH{=}C\underline{H_2}$), 1.98 (s, 3H, NHAc), 1.8-1.7 (m, 2H, $SCH_2C\underline{H_2}$-), 1.5-1.3 (m, 22H, $SCH_2CH_2(C\underline{H_2})_5CH_2CH{=}CHCH_2(C\underline{H_2})_6CH_3$), 0.90 (t, 3H, *J* = 6.8 Hz, $-CH_2C\underline{H_3}$).

^{13}C NMR (101 MHz, CD_3OD): δ 174.1 (CO), 131.0 ($\underline{C}$H=CH), 130.9 (CH=$\underline{C}$H), 91.7, 80.7, 73.0, 72.0, 62.8, 54.8, 50.6 (C1, C2, C3, C4, C5, C6, SCH_2-), 49.7, 49.5, 49.3, 49.1, 48.9, 48.7, 48.5, 33.2, 31.0, 30.7, 30.6, 30.5, 30.4, 29.9, 28.3, 23.9, 23.0, 22.8 ($SCH_2(C\underline{H_2})_7CH{=}CH(C\underline{H_2})_7CH_3$, $CO\underline{C}H_3$), 14.6 ($-CH_2\underline{C}H_3$). MS (ES) m/z (calcd 503.74): 504.74 (M +1), 526.32 (M+Na). Anal. calcd. para $C_{26}H_{49}NO_6S$ (%): C, 61.99; H, 9.80; N, 2.78; S, 6.37. Encontrado: C, 59.83; H, 9.65; N, 2.77; S, 6.12.

Preparación de oleil 2-acetamido-2-desoxi-1-sulfinil-β-D-glucopiranósido **7β**.

Siguiendo el mismo procedimiento que para la preparación de **7α,** a partir de **6β** se obtuvo **7β** (30 mg, 19 %). $[\alpha]_D$ = -7.2° (C 1.5, MeOH). ^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD): δ 5.4 – 5.3 (m, 2H, CH=CH), 4.43 (d, <1H, *J* = 10.8 Hz, H1), 4.27 (d, <1H, *J* = 10.5 Hz, H1), 3.98 (t, 1H, *J* = 10.3 Hz, H2), 3.90 (dd, 1H, *J* = 12.4, *J* =1.4 Hz, H6a), 3.8 – 3.7 (m, 1H, H6b), 3.7-3.6 (m, 2H, H3, H5), 3.5-3.4 (m, 1H, H4), 3.3 – 3.1 (m, 1H, $SOC\underline{H_2}$-), 2.8 – 2.7 (m, 1H, $SOC\underline{H_2}$-), 2.1 – 1.9 (m, 7H, -$C\underline{H_2}CH{=}CHC\underline{H_2}$-, NHAc), 1.7 – 1.6 (m, 2H, $SCH_2C\underline{H_2}$-), 1.5-1.2 (m, 22 H), 0.90 (t, 3H, *J* = 6.7 Hz, $-CH_2C\underline{H_3}$). ^{13}C NMR (101 MHz, CD_3OD) δ 130.9 ($\underline{C}$H=CH), 130.8 ($\underline{C}$H=CH), 88.8, 82.6, 78.0, 76.2, 70.8, 62.2, 52.4 (C1, C2, C3, C4, C5, C6, SCH_2-), 37.0, 33.6, 33.1, 30.8, 30.8, 30.6, 30.5, 30.4, 30.3, 30.3, 30.3, 29.9, 28.1, 24.0, 23.8, 22.9 ($SCH_2(C\underline{H_2})_7CH{=}CH(C\underline{H_2})_7CH_3$, $CO\underline{C}H_3$), 14.5 ($-CH_2\underline{C}H_3$). MS (ES) m/z (calcd 503.74): 526.32 (M+Na).

Preparación de oleil 2-acetamido-2-desoxi-1-sulfonil-α-D-glucopiranósido **8α**

Se disolvió **6**α (100 mg, 0.20 mmol) en metanol (1 mL) y se trató con peróxido de hidrógeno al 33% (2.05 mmol, x10) y $ZrCl_4$ (11.3 mg, 0.51 mmol, x2.5) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. La mezcla se concentró a vacío y se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (AcOEt-MeOH 10:1) para dar **8**α como un sólido blanco (30.9 mg, 29%).

$[\alpha]_D$ = +74.4° (C 3, MeOH). ^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD): δ 5.3-5.2 (m, 2H, $CH_2C\underline{H}=C\underline{H}-CH_2$-), 5.2-5.1 (m, 1H, H-1), 4.2-4.1 (m, 2H, H-2, H-5), 4.1-4.0 (m, 1H, H-6a), 3.9-3.6 (m, 2H, H-6b, H4), 3.3-3.0 (m, 1H, H-3), 3.2-3.1 (m, 2H, -SO_2-$C\underline{H_2}$-), 2.0-1.8 (m, 7H, $C\underline{H_2}CH=CH-C\underline{H_2}$-, $C\underline{H_3}CONH$-), 1.7-1.6 (m, 2H, -SO_2-CH_2-$C\underline{H_2}$-CH_2-), 1.2-1.0 (m, 20H, -$C\underline{H_2}$-), 0.88 (t, 3H, *J* = 6.8 Hz, -CH_2-$C\underline{H_3}$). ^{13}C NMR (101 MHz, CD_3OD) δ 173.5 (CO), 130.3 ($\underline{C}H=CH$), 129.7 ($\underline{C}H=CH$), 86.3, 77.6, 70.6, 69.9, 61.6, 52.6, 51.2 (C1, C2, C3, C4, C5, C6, SCH_2-), 32.4, 31.9, 29.6, 29.6, 29.4, 29.3, 29.2, 29.1, 29.1, 29.0, 28.9, 28.4, 26.9, 26.9, 22.5, 21.3, 21.2 ($SCH_2(C\underline{H_2})_7CH=CH(C\underline{H_2})_7CH_3$, $CO\underline{C}H_3$), 13.3 (-$CH_2\underline{C}H_3$). MS (ES) m/z (calcd 519.73): 520.33 (M +1). Anal. calcd. para $C_{26}H_{49}NO_7S$ (%): C, 60.08; H, 9.50; N, 2.69; S, 6.17. Encontrado: C, 59.87; H, 9.44; N, 2.91; S, 6.40.

Actividad *In Vitro* de los Compuestos

La inhibición de la división celular por los compuestos sintetizados se comprobó in vitro analizando la actividad mitocondrial mediante ensayo MTT en cultivos de células de glioma de rata C6 y adenocarcinoma de pulmón humano A549. Como ejemplo concreto, los valores de IC_{50} (concentración de inhibidor que produce el 50% de inhibición) encontrados para los compuestos **6α, 6β** y **8α** en cuatro experimentos independientes a diferentes concentraciones del compuesto (cada una de ellas realizada por triplicado) se muestran en la tabla 1:

Tabla 1. Inhibición de la división en células C6 y A549 (48 h). Los valores promedio de IC_{50} (μM) fueron:

Línea celular	6α	8α	6β
C6	8	12	3
A549	35	41	30

Para realizar los ensayos MTT se sembraron las células A549 y C6 en placas de 96 pocillos a una concentración de $2,5x10^5$ y $5x10^4$ células/ml respectivamente y se dejaron 24 horas a 37 ºC con un 5% de CO_2 para que se adhieran a la placa. Se retiró el medio y se adicionaron 100 µl de medio fresco junto con las distintas concentraciones de compuestos a probar. Se dejaron incubar los productos durante 2 días, a 37 ºC con un 5% de CO_2. Transcurrido el tiempo de incubación, se aspiró el medio y se adicionaron 100 µl de medio fresco con el sustrato bromuro de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difeniltetrazoilo (MTT, 1ml de medio y 200 µl de MTT cuya concentración inicial es de 5mg/ml en PBS 10x). Se dejó la placa durante 3 horas en el incubador a 37 ºC con un 5% de CO_2. Transcurrido este tiempo se aspiró el medio y se adicionaron 100 µl de DMSO para disolver los cristales de formazan formado, y se determinó la absorbancia a una longitud de onda de 590nm. El equipo utilizado fue Spectramax Plus (Molecular Devices Corporation) para placas de 96 pocillos.

Efecto sobre la producción de glicoesfingolípidos.

Los compuestos de la presente invención se han ensayado sobre la línea celular de cáncer de pulmón A549 (American Type Culture Collection), la cual se mantiene en medio de HAM F12 suplementado con glutamina 2 mM, un 10% de suero de feto bovino y antibiótico (penicilina y estreptomicina), a 37 °C en atmósfera de 5% CO2 /95% aire.

Las células se sembraron en placas de 6 pocillos a una densidad de $2,5x10^5$ células/ml y despues de 24 h, el medio se eliminó y se adicionó medio nuevo (1 mililitro por pocillo), conteniendo los productos a una concentración de 15

micromolar. Después de 2 días de incubación, las células se lavaron con PBS y se transfirieron a viales de vidrio, donde se prepararon los extractos lipídicos siguiendo el procedimiento descrito (Merrill et al Methods, 2005, 36, 207). Los análisis se llevaron a cabo por cromatografía líquida de ultrarresolución acoplada a un detector de masas de tiempo de vuelo acelerado, que permite la identificación de los compuestos en base a su masa exacta, mediante ionización en electrospray en modo positivo. Las condiciones cromatográficas y analíticas fueron las descritas en Canals et al Bioorg. Med. Chem., 2009, 17, 235.

La cantidad de lactosilceramida (LacCer) y gangliósidos GM3 y GM2 presente en extractos de células A549 tratadas con los tioglicósidos 6α y 6β se muestran en la Fig. 1.

Ensayo de resistencia a la hidrólisis enzimática.

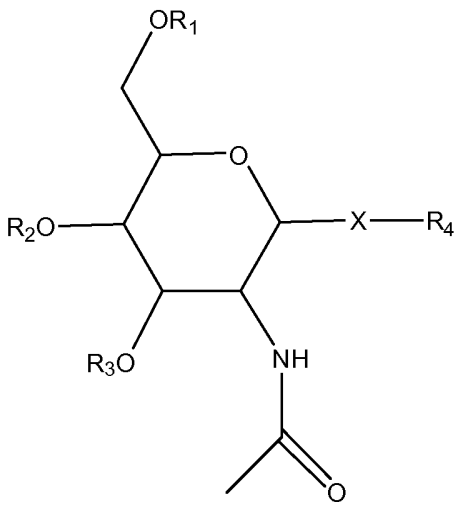
Los compuestos de la presente invención fueron resistentes a la hidrólisis catalizada por enzimas N-acetilhexosaminidasas. Como ejemplo, el tioglicósido 6β (7.5 mM) en una mezcla 1:5 de metanol y tampón fosfato sódico (20 mM, pH=6) se incubó en presencia de β-N-acetilglucosaminidasa de jack bean (0.6 unidades) a 37 °C. Tras 30 min de incubación, el análisis por HPLC mostró que el tioglicósido 6β permanece inalterado y no se observa productos de hidrólisis o metanolisis. Por el contrario, el correspondiente glicósido de 6β (con un átomo de oxígeno en lugar del átomo de azufre) bajo las mismas condiciones dio lugar al cabo de 30 min a un 7% de productos de hidrólisis y metanolisis.
El análisis por HPLC se realizó en fase reversa, utilizando una columna Licrosorb RP18 (5 μM, 4.6 x 250 mm) y como fase móvil una mezcla de agua-metanol (95-5 (de 0 a 4 minutos)→0-100 (de 8 a 20 minutos)→95-5 (de 25 a 30 minutos)). La velocidad de flujo fue 1.0 mL/min y la longitud de onda de detección de los productos de hidrólisis (tiempo de retención: 2.9 minutos) y metanolisis (tiempo de retención: 4.1 minutos) fue 205 nm.

Actividad *In vivo* de los compuestos

La línea de glioma de rata C6 se creció en medio DMEM con 10% de suero bovino fetal en un incubador a temperatura constante de 37ºC y 5% de CO2. Las células de glioma se inyectaron subcutáneamente en uno de los flancos de ratones inmunodeprimidos hembra Foxn1nu/nu a razón de 3 x 106 células en 100 µl de PBS. Una vez que los tumores adquirieron un tamaño aproximado de 225-250 cm2, se inició el tratamiento con los compuestos de los diferentes grupos mediante inyecciones intratumorales diarias. Los animales se segregaron en 4 grupos a razón de 6 animales por grupo según los tratamientos: Grupo 1 o control al que se le inyectó la solución control en las que se disolvieron los compuestos (PBS + 5 mg/ml de albúmina bovina de suero libre de ácidos grasos + 5% de DMSO); Grupo 2, animales tratados con 10 mg/ Kg de animal del compuesto 9; Grupo 3, animales tratados con 1 mg/Kg de animal del compuesto 6 α y Grupo 4, animales tratados con 10 mg/Kg de animal del compuesto 6 α. Los tratamientos se realizaron durante 2 semanas y los animales se sacrificaron en el día 15. Los animales se pesaron y los tumores se midieron diariamente con un calímetro. La fórmula utilizada para calcular el volumen tumoral (V) fue, V= π/6x(LxW2), donde L es la longitud y W es la anchura del tumor.

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula (I)



Fórmula (I)

donde

X se selecciona entre S, S(O) y $S(O)_2$

R_1, R_2 y R_3 se seleccionan independientemente entre H y acilo C_1-C_6,

R_4 es un alquilo C_{16}-C_{24} o un alquenilo C_8-C_{24},

o cualquiera de sus isómeros, sales o solvatos.

2. Compuesto según la reivindicación 1 donde R_1 a R_3 son H.

3. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2 donde X es S.

4. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2 donde X es S(O).

5. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2 donde X es $S(O)_2$.

6. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 donde R_4 es un alquenilo C_{16}-C_{20}.

7. Compuesto según la reivindicación donde R_4 es un grupo octadec-9-enilo.

8. Composición farmacéutica que comprende un compuesto definido en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.

9. Composición según la reivindicación 8 que comprende además otro principio activo.

10. Uso de un compuesto definido en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 para la fabricación de un medicamento.

11. Uso de un compuesto definido en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de tumores.

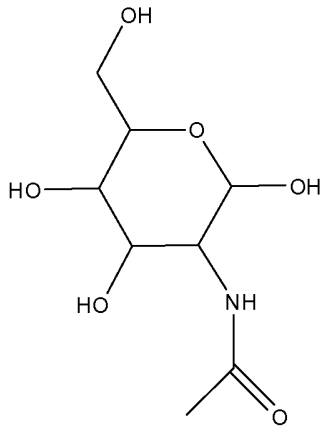
12. Uso según la reivindicación 11 donde el tumor se selecciona entre cerebral, melanoma, linfoma, adenocarcinoma de pulmón o de útero. entre cerebral o adenocarcinoma de pulmón.

13. Un compuesto definido en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 para su uso en el tratamiento de tumores.

14. Uso de un compuesto definido en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 como reactivo en ensayos biológicos.

15. Procedimiento de obtención de un compuesto de fórmula (I) definido en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 caracterizado porque comprende las siguientes etapas:

a. Reacción de un compuesto de fórmula (II)

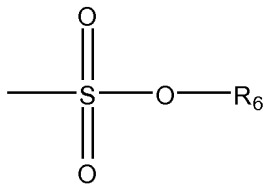


Fórmula (II)

con un cloruro de fórmula Cl-R_5 donde R_5 es un acilo C_1-C_6.

b. reacción del compuesto obtenido en la etapa anterior con tiourea.

c. reacción del compuesto obtenido en la etapa anterior con un compuesto de fórmula (III)



Fórmula (III)

donde R_6 es un alquilo C_{16}-C_{24} o un alquenilo C_8-C_{24}.

16. Procedimiento según la reivindicación 14 donde además se realiza una etapa de oxidación.

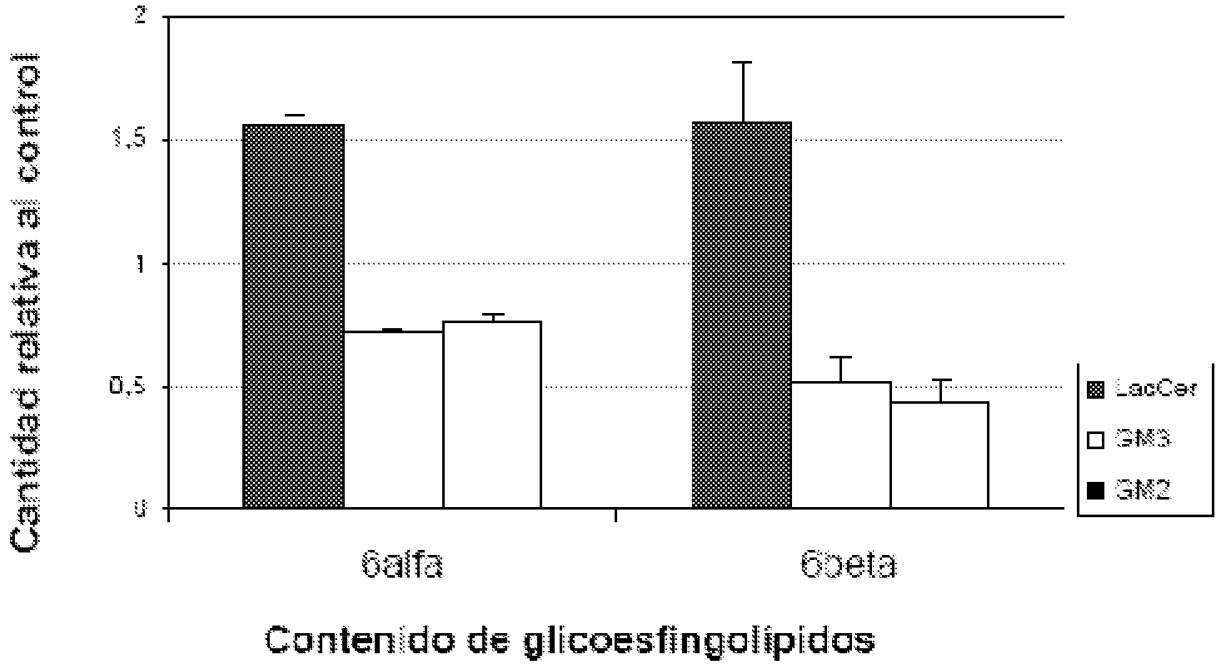

Cantidad relativa al control
2
1,5
1
0,5
0
6alfa
6beta
Contenido de glicoesfingolípidos
LacCer
GM3
GM2

FIG. 1

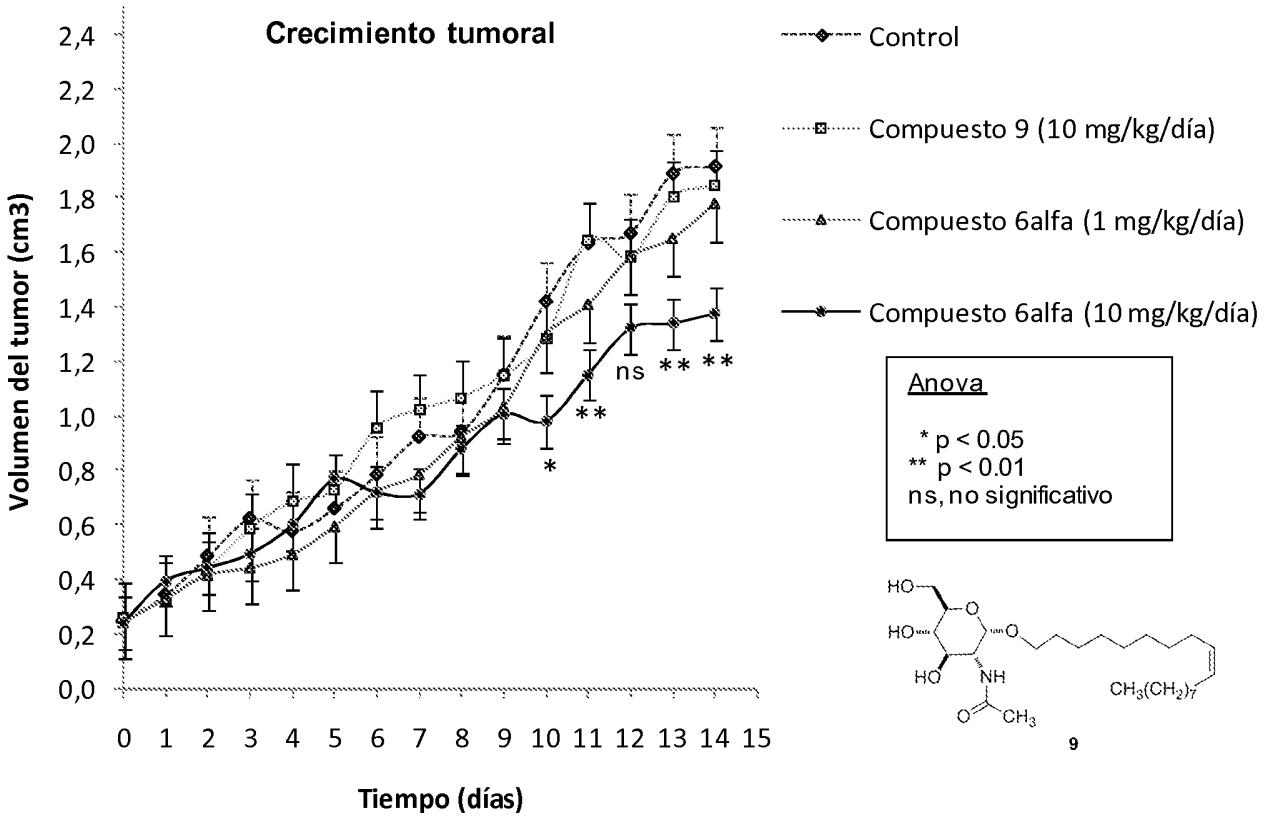

Crecimiento tumoral
Volumen del tumor (cm3)
2,4
2,2
2,0
1,8
1,6
1,4
1,2
1,0
0,8
0,6
0,4
0,2
0,0
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15
Tiempo (días)
Control
Compuesto 9 (10 mg/kg/día)
Compuesto 6alfa (1 mg/kg/día)
Compuesto 6alfa (10 mg/kg/día)
ns
**
**
**
*
Anova
* p < 0.05
** p < 0.01
ns, no significativo
HO
HO
HO
O
O
NH
O
CH3
CH3(CH2)7
9

FIG. 2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/ES2011/070169

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

See extra sheet

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C07H, A61K, A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPODOC, INVENES, WPI, NPL, EMBASE, MEDLINE, BIOSIS, XPESP, REGISTRY, HCAPLUS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	MIETHCHEN, R. ET AL.:"Amphiphilic and mesogenic carbohydrates. Part 10. Change of the type of the mesophase by variation of the acyl chain of amphiphilic tetradecyl (N-acylamino) -2- deoxy- 1- thio- beta- D-glucopyranosides. Journal fuer praktische chemie/chemiker-zeitung, 1998, vol. 340, nº 6, pages 544-550, page 545, fíguras 4a and 5a	1-3, 14, 15.
A	EP 0411980 A1 (BEGHIN-SAY SOCIETE ANONYME) 06.02.1991, tables 1 and 2	1-15
A	EP 0100104 B1 (DAIICHI SEIYAKU CO. LTD) 08.02.1984, page 2, lines 33-65	1-15

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance.
"E" earlier document but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure use, exhibition, or other means.
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other documents , such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
18/07/2011	**(03/08/2011)**
Name and mailing address of the ISA/ OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS Paseo de la Castellana, 75 - 28071 Madrid (España) Facsimile No.: 91 349 53 04	Authorized officer H. Aylagas Cancio Telephone No. 91 3498563

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/ES2011/070169

C (continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of documents, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2008007825 A1 (PUKYONG NATIONAL UNIVERSITY INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION) 17.01.2008, claims	1-15

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.
PCT/ES2011/070169

Patent document cited in the search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP411980		FR2650281 A	01.02.1991
		EP0411980 AB	06.02.1991
		EP19900401991	11.07.1990
		US5118804 A	02.06.1992
		EP0526910 A	10.02.1993
		EP19920117254	09.10.1992
		AT90686 T	15.07.1993
		DE69001963 T	23.09.1993
EP100104		JP59020297 A	01.02.1984
		JP3030600 B	30.04.1991
		JP1662604 C	19.05.1992
		EP0100104 AB	08.02.1984
		EP19830107417	27.07.1983
		US4606857 A	19.08.1986
WO2008007825 A	17.01.2008	KR100780868 B	30.11.2007
		US2009176978 A	09.07.2009
		US7855188 B	21.12.2010

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ES2011/070169

CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07H5/10 (2006.01)
A61K31/7008 (2006.01)
A61P35/00 (2006.01)

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº
PCT/ES2011/070169

A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

Ver Hoja Adicional

De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP) o según la clasificación nacional y CIP.

B. SECTORES COMPRENDIDOS POR LA BÚSQUEDA

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

C07H, A61K, A61P

Otra documentación consultada, además de la documentación mínima, en la medida en que tales documentos formen parte de los sectores comprendidos por la búsqueda

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

EPODOC, INVENES, WPI, NPL, EMBASE, MEDLINE, BIOSIS, XPESP, REGISTRY, HCAPLUS

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones nº
X	MIETHCHEN, R. ET AL.:"Amphiphilic and mesogenic carbohydrates. Part 10. Change of the type of the mesophase by variation of the acyl chain of amphiphilic tetradecyl (N-acylamino) -2-deoxy- 1- thio- beta- D-glucopyranosides. Journal fuer praktische chemie/chemiker-zeitung, 1998, vol. 340, nº 6, páginas 544-550, página 545, fíguras 4a y 5a	1-3, 15, 16.
A	EP 0411980 A1 (BEGHIN-SAY SOCIETE ANONYME) 06.02.1991, tablas 1 y 2	1-16
A	EP 0100104 B1 (DAIICHI SEIYAKU CO. LTD) 08.02.1984, página 2, líneas 33-65	1-16

☒ En la continuación del recuadro C se relacionan otros documentos

☒ Los documentos de familias de patentes se indican en el anexo

* Categorías especiales de documentos citados:

"A" documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante.

"E" solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior.

"L" documento que puede plantear dudas sobre una reivindicación de prioridad o que se cita para determinar la fecha de publicación de otra cita o por una razón especial (como la indicada).

"O" documento que se refiere a una divulgación oral, a una utilización, a una exposición o a cualquier otro medio.

"P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.

"T" documento ulterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o de prioridad que no pertenece al estado de la técnica pertinente pero que se cita por permitir la comprensión del principio o teoría que constituye la base de la invención.

"X" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado.

"Y" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.

"&" documento que forma parte de la misma familia de patentes.

Fecha en que se ha concluido efectivamente la búsqueda internacional.	Fecha de expedición del informe de búsqueda internacional.
18/07/2011	**03-AGOSTO-2011 (03/08/2011)**
Nombre y dirección postal de la Administración encargada de la búsqueda internacional OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS Paseo de la Castellana, 75 - 28071 Madrid (España) Nº de fax: 91 349 53 04	Funcionario autorizado H. Aylagas Cancio Nº de teléfono 91 3498563

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº
PCT/ES2011/070169

C (Continuación). DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría *	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones nº
A	WO 2008007825 A1 (PUKYONG NATIONAL UNIVERSITY INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION) 17.01.2008, Reivindicaciones	1-16

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Informaciones relativas a los miembros de familias de patentes

Solicitud internacional nº

PCT/ES2011/070169

Documento de patente citado en el informe de búsqueda	Fecha de Publicación	Miembro(s) de la familia de patentes	Fecha de Publicación
EP411980		FR2650281 A	01.02.1991
		EP0411980 AB	06.02.1991
		EP19900401991	11.07.1990
		US5118804 A	02.06.1992
		EP0526910 A	10.02.1993
		EP19920117254	09.10.1992
		AT90686 T	15.07.1993
		DE69001963 T	23.09.1993
EP100104		JP59020297 A	01.02.1984
		JP3030600 B	30.04.1991
		JP1662604 C	19.05.1992
		EP0100104 AB	08.02.1984
		EP19830107417	27.07.1983
		US4606857 A	19.08.1986
WO2008007825 A	17.01.2008	KR100780868 B	30.11.2007
		US2009176978 A	09.07.2009
		US7855188 B	21.12.2010

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº

PCT/ES2011/070169

CLASIFICACIONES DE INVENCIÓN

C07H5/10 (2006.01)
A61K31/7008 (2006.01)
A61P35/00 (2006.01)