

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 628 180**

51 Int. Cl.:

A61K 31/70 (2006.01)

A61K 31/7012 (2006.01)

A61K 31/7024 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

C07H 5/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.06.2009 PCT/US2009/048675**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.01.2010 WO10005799**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.06.2009 E 09794965 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.03.2017 EP 2310020**

54 Título: **Nuevos acetatos de 2-desoxi monosacáridos con actividad anticancerosa**

30 Prioridad:

11.07.2008 US 79968 P

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

02.08.2017

73 Titular/es:

**BOARD OF REGENTS, THE UNIVERSITY OF
TEXAS SYSTEM (100.0%)
201 West 7th Street
Austin, TX 78701, US**

72 Inventor/es:

**PRIEBE, WALDEMAR;
CYBULSKI, MARCIN;
FOKT, IZABELA;
SKORA, STAINSLAW;
CONRAD, CHARLES y
MADDEN, TIMOTHY**

74 Agente/Representante:

ELZABURU SLP, .

ES 2 628 180 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

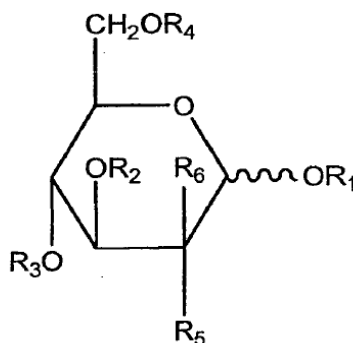
Nuevos acetatos de 2-desoxi monosacáridos con actividad anticancerosa

Antecedentes de la invención

- 5 Se ha correlacionado el recurso a la glucólisis con la progresión de la enfermedad en el cáncer, así como con un aumento constante y significativo de la actividad de hexocinasa, fosfofructocinasa y piruvatocinasa. La hipoxia es también una característica de muchos cánceres sólidos y se la ha vinculado con transformación maligna, metástasis y resistencia al tratamiento. Por otra parte, la glucólisis en las células cancerosas puede verse acrecentada por determinados oncogenes a través de una mayor expresión de transportadores de glucosa y enzimas glucolíticas que se encuentran en células tumorales.
- 10 Los gliomas malignos son el subtipo más común de tumores cerebrales primarios y los cánceres humanos más letales. En su manifestación más agresiva, el glioblastoma multiforme (GBM), el tiempo medio de supervivencia de los pacientes oscila entre 9 y 12 meses, a pesar de los máximos esfuerzos terapéuticos. De hecho, en aproximadamente un tercio de los pacientes con GBM los tumores seguirán creciendo a pesar del tratamiento con radiación y quimioterapia.
- 15 Un inconveniente grave del tratamiento del glioblastoma lo constituyen los efectos nocivos sobre las células y tejidos normales. El potencial mutagénico de ciertas terapias antineoplásicas promueve frecuentemente la resistencia del tumor y puede iniciar otros tumores malignos. Los tumores también pueden desarrollar resistencia a otros tratamientos, tales como la terapia antiangiogénica. Existe la necesidad, por lo tanto, de tratamientos anticáncer contra células cancerosas altamente glucolíticas tales como el glioblastoma, con poca o ninguna toxicidad hacia células normales.
- 20 El documento US 2004/167079 describe que el compuesto 2-desoxiglucosa se puede utilizar para tratar el cáncer y para mejorar el desenlace para el paciente cuando se administra en una dosis terapéuticamente eficaz y, opcionalmente, se coadministra con otros fármacos anticancerosos, o en combinación con la resección quirúrgica o la radioterapia.
- 25 El documento WO 01/82926 describe que se puede utilizar una clase de inhibidores glucolíticos en el tratamiento de tumores sólidos al atacar células anaerobias en el centro en el tumor. Se describe que se ha identificado que la 2-desoxiglucosa, el oxamato y diversos análogos de los mismos tienen una toxicidad selectiva natural contra células anaerobias, e incrementarán significativamente la eficacia de regímenes de quimioterapia y radioterapia anticancerosas estándares, así como nuevos protocolos que surjan con agentes antiangiogénicos.

30 Compendio de la invención

- Se presentan en la presente memoria compuestos para uso en el tratamiento de tumores y del crecimiento de células tumorales, incluidos tumores primarios tales como glioblastoma o gliomas de alto grado, tumores sólidos de alto grado, linfomas de alto grado, neoplasias malignas hematológicas de alto grado y tumores cerebrales secundarios, tales como tumores metastásicos de cerebro. En la presente memoria se describen compuestos para
- 35 uso en el tratamiento de cáncer, tal como cáncer de cerebro y cáncer de páncreas. La invención proporciona un compuesto de la Fórmula I para uso en el tratamiento de cáncer de la siguiente manera:



- en donde R_1 , R_2 , R_3 y R_4 son cada uno, independientemente, H, COCH_3 , COCH_2CH_3 o $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$;
- 40 R_5 y R_6 son cada uno, independientemente, H o F (^{18}F o ^{19}F); y al menos uno de R_1 , R_2 , R_3 y R_4 es COCH_3 , COCH_2CH_3 o $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$.

Breve descripción de los dibujos

El anterior compendio, así como la siguiente descripción detallada de la realización preferida de la invención, se entenderán mejor si se leen conjuntamente con los dibujos adjuntos.

Para una comprensión más completa de la presente invención y de las ventajas de la misma, se hace referencia ahora a las siguientes descripciones tomadas conjuntamente con los dibujos adjuntos, en los cuales:

La Figura 1 muestra la actividad *in vitro* del compuesto del Ejemplo 1 en la línea celular de glioblastoma U87.

La Figura 2 muestra la actividad *in vitro* del compuesto del Ejemplo 2 en la línea celular de glioblastoma U87.

5 La Figura 3 muestra la actividad *in vitro* del compuesto del Ejemplo 5 en la línea celular de glioblastoma U87.

La Figura 4 muestra la actividad *in vitro* del compuesto del Ejemplo 3 en la línea celular de glioblastoma U87.

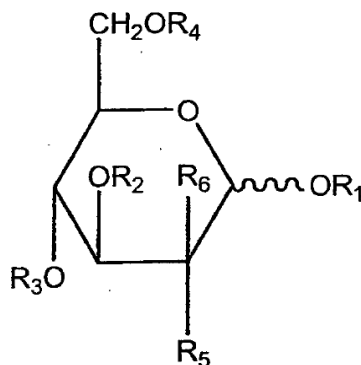
La Figura 5 muestra la actividad *in vitro* del compuesto del Ejemplo 4 en la línea celular de glioblastoma U87.

La Figura 6 muestra la actividad *in vitro* de 2-DG en la línea celular de glioblastoma U87.

Descripción detallada

10 En la presente memoria se proporcionan compuestos para uso en el tratamiento de tumores y del crecimiento de células tumorales, incluidos tumores primarios tales como glioblastoma o gliomas de alto grado, tumores sólidos de alto grado, linfomas de alto grado, neoplasias malignas hematológicas de alto grado y tumores cerebrales secundarios, tales como tumores metastásicos de cerebro.

La invención proporciona un compuesto de Fórmula I para uso en el tratamiento de cáncer de la siguiente manera:



15

en donde R_1 , R_2 , R_3 y R_4 son cada uno, independientemente, H, COCH_3 , COCH_2CH_3 o $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$; R_5 y R_6 son cada uno, independientemente, H o F (^{18}F o ^{19}F); y al menos uno de R_1 , R_2 , R_3 y R_4 es COCH_3 , COCH_2CH_3 o $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$.

20

Las células de los organismos eucariotas requieren energía para llevar a cabo procesos celulares. Dicha energía se almacena principalmente en los enlaces fosfato de la adenosina 5'-trifosfato ("ATP"). Las rutas que generan energía en organismos eucariotas incluyen: (1) la glucólisis; (2) el ciclo de Krebs (también denominado ciclo TCA o ciclo del ácido cítrico) y (3) la fosforilación oxidativa. Para que se sintetice ATP, primeramente se hidrolizan hidratos de carbono para dar monosacáridos (por ejemplo, glucosa), y se hidrolizan lípidos para dar ácidos grasos y glicerol. De manera análoga, se hidrolizan proteínas para dar aminoácidos. Entonces se libera la energía de los enlaces químicos de estas moléculas hidrolizadas y la célula la encauza para formar moléculas de ATP a través de numerosas rutas catabólicas.

25

30

Se ha correlacionado el recurso a la glucólisis con la progresión de la enfermedad en el cáncer, así como con un aumento constante y significativo de la actividad de hexocinasa, fosfofructocinasa y piruvatocinasa. Se encuentra hipoxia en ciertos cánceres sólidos, y se la ha vinculado con angiogénesis, crecimiento tumoral diferencial, transformación maligna, metástasis y resistencia al tratamiento. La glucólisis aerobia se ve acrecentada a menudo por ciertos oncogenes a través de una mayor expresión de transportadores de glucosa y enzimas glucolíticas que se encuentran en células tumorales.

35

Específicamente, la glucosa es un azúcar simple o monosacárido, y constituye la fuente primaria de energía para los animales. La glucosa es un azúcar importante en el metabolismo humano, que tiene una concentración normal de aproximadamente 0,1% (por lo general de 60 a 110 mg por dl) en la sangre humana, excepto en personas que padecen diabetes. Como fuente de energía primaria, la glucosa no requiere digestión.

40

La oxidación de la glucosa contribuye a una serie de reacciones bioquímicas complejas que proporcionan la energía requerida por las células. Cuando se oxida (metaboliza) en el cuerpo, la glucosa produce dióxido de carbono, agua y ciertos compuestos nitrogenados. La energía de la oxidación de la glucosa se utiliza para convertir ADP en adenosina 5'-trifosfato ("ATP"), un nucleótido multifuncional que se conoce como "moneda molecular" de transferencia intracelular de energía.

El ATP producido como fuente de energía durante la respiración celular es consumido por distintas enzimas y procesos celulares, entre ellos reacciones biosintéticas, motilidad y división celular. Para las rutas de transducción de señales, el ATP es el sustrato mediante el cual las cinasas fosforilan proteínas y lípidos y la adenilato ciclasa produce AMP cíclico.

- 5 El ATP es una molécula inestable que tiende a hidrolizarse en agua. Por lo tanto, si se deja que ATP y ADP lleguen al equilibrio químico, casi todo el ATP se convertirá en ADP. Las células mantienen la proporción de ATP a ADP en un punto situado a diez órdenes de magnitud del equilibrio, con concentraciones de ATP mil veces mayores que la concentración de ADP. Este desplazamiento del equilibrio significa que la hidrólisis de ATP en la célula libera mucha energía. Nicholls, D.G. y Ferguson, S.J. (2002) *Bioenergetics* Academic Press 3ª ed. La concentración de ATP
10 dentro de la célula es típicamente 1-10 mM. Beis, I. y Newsholme, E.A. (1975) *Biochem J* 152, 23-32.

Se produce ATP mediante reacciones redox que utilizan azúcares simples (por ejemplo, glucosa), azúcares complejos (carbohidratos), lípidos y proteínas. Para que se sintetice ATP, se hidrolizan carbohidratos para dar azúcares simples tales como glucosa, o se hidrolizan grasas (triglicéridos) para dar ácidos grasos y glicerol. De manera análoga, se hidrolizan proteínas para dar aminoácidos. La respiración celular es el proceso de oxidar a dióxido de carbono estas moléculas hidrolizadas, para generar ATP. Por ejemplo, se pueden producir hasta 36
15 moléculas de ATP a partir de una única molécula de glucosa. Lodish, H. *et al.* (2004) *Molecular Cell Biology*, 5ª ed. Nueva York: WH Freeman. Las tres vías principales para generar energía en organismos eucariotas son: glucólisis, ciclo de Krebs (también conocido como ciclo del ácido cítrico) y fosforilación oxidativa.

La fuente principal de energía para los organismos vivos es la glucosa. Al descomponer la glucosa, se libera la energía de los enlaces químicos de la molécula de glucosa y puede ser encauzada por la célula para formar moléculas de ATP. El proceso mediante el cual se produce esto consta de varias etapas. A la primera se la denomina glucólisis (el prefijo "gluco" se refiere a glucosa, y "lisis" significa dividir, en donde se descompone la molécula de glucosa en dos moléculas más pequeñas denominadas ácido pirúvico. Como se discutirá con más
20 detalle a continuación, las siguientes etapas son distintas para anaerobios y aerobios.

En la glucólisis, la glucosa y el glicerol son metabolizados a piruvato a través de la vía glucolítica. En la mayoría de los organismos, la glucólisis se produce en el citosol. Durante este proceso, se generan dos moléculas de ATP. También se producen dos moléculas de NADH, que pueden ser oxidadas adicionalmente a través de la cadena de transporte de electrones y dan como resultado la generación de moléculas de ATP adicionales.

La glucólisis es la primera etapa en la liberación de energía desde la molécula de glucosa. Se produce en el citoplasma por medio de múltiples enzimas. Tanto los organismos aerobios como los anaerobios utilizan la glucólisis para descomponer inicialmente la glucosa a piruvato. Sin embargo, después de esta etapa los organismos aerobios utilizan oxígeno para obtener energía adicional.

La glucólisis implica la ruptura de la glucosa en dos moléculas más pequeñas de ácido pirúvico, teniendo cada molécula de ácido pirúvico tres átomos de carbono, es decir, la mitad de los carbonos de una molécula de glucosa. Merece mencionarse que, para que se produzca la glucólisis, son necesarias dos moléculas de ATP. Tal como se muestra en la Figura 2, la primera molécula de ATP libera un grupo fosfato, que luego se une a la molécula de glucosa para formar fosfato de glucosa. A continuación, la segunda molécula de ATP aporta un grupo fosfato, formando una molécula denominada fructosa difosfato. La molécula de fructosa difosfato se escinde en dos moléculas de gliceraldehído fosfato "PGAL". Después, cada molécula de PGAL libera electrones hacia una coenzima
35 NAD⁺ (nicotinamida adenina dinucleótido) y grupos fosfato y energía hacia el ADP.

Como consecuencia, dos moléculas de NAD⁺ se convierten en NADH, y cuatro moléculas de ADP se convierten en ATP. Además, las dos moléculas de PGAL se han convertido ahora en moléculas de ácido pirúvico, que tiene una fórmula molecular C₃H₄O₃. En esencia, la glucólisis requiere una "inversión" de dos moléculas de ATP antes de que pueda comenzar. Puesto que se forman cuatro moléculas de ATP como productos de la reacción, hay una ganancia
40 *net*a de dos moléculas de ATP.

En este punto, en organismos anaerobios el ácido pirúvico (piruvato) experimenta una elaboración adicional con el fin de obtener energía adicional. Sin embargo, estos procesos son significativamente menos eficaces que los procesos que utilizan los aerobios: el ciclo de Krebs y la cadena de transporte de electrones. La glucólisis se produce en el citoplasma e implica múltiples pasos catalizados por enzimas que descomponen la glucosa (y otros monosacáridos) en 2 moléculas de piruvato. A cambio, la vía conduce a la generación de un total de 2 moléculas de ATP. Las moléculas de piruvato generadas en la vía glucolítica entran en la mitocondria desde el citosol. Las moléculas son convertidas después en acetil coenzima A (acetil-CoA) para entrar en el ciclo de Krebs. El ciclo de Krebs consiste en la unión de acetil coenzima A con oxalacetato para formar citrato. El citrato formado se descompone después a través de una serie de pasos catalizados por enzimas para generar moléculas de ATP
50 adicionales.

Además de generar ATP, los procesos catabólicos en la glucólisis y el ciclo de Krebs también generan electrones que se almacenan en forma de coenzimas reducidas, tales como NADH y FADH₂. Estas coenzimas participan en la fosforilación oxidativa, donde sus electrones pasan a través de una cadena de transporte de electrones a través de

la membrana mitocondrial. Durante este proceso, los protones de NADH y FADH₂ entran en el espacio intermembranal mitocondrial. En consecuencia, la cadena de transporte de electrones conduce a la formación de un gradiente de protones dentro del espacio intermembranal. Por último, los protones fluyen desde el espacio intermembranal a la matriz mitocondrial a través de canales específicos para protones que catalizan la síntesis de moléculas de ATP adicionales.

Al igual que las células normales, las células cancerosas también utilizan rutas metabólicas para generar ATP. Sin embargo, las observaciones clásicas de Otto Warburg demuestran que los tumores altamente proliferativos utilizan la glucólisis para la producción de energía celular en lugar de la fosforilación oxidativa o el ciclo de Krebs, incluso en presencia de normoxia o de cantidades adecuadas de oxígeno (lo que se denomina glucólisis oxidativa o "efecto Warburg"). *Energy Boost: The Warburg Effect Returns in a New Theory of Cancer, Journal of the National Cancer Institute, vol. 96, n.º 24, 15 de diciembre de 2004 en 1.806. Hypoxia-inducible Factor 1 Activation by Aerobic Glycolysis Implicates the Warburg Effect in Carcinogenesis, J. Bio. Chem. vol. 277, n.º 26, 23111 (2002).* En estas condiciones, las células tumorales regulan hacia arriba la expresión tanto de transportadores de glucosa como de enzimas glucolíticas, favoreciendo a su vez un aumento de la captación de glucosa (así como de sus análogos) en comparación con las células normales en un ambiente aerobio. Esta respuesta adaptativa tumoral parece ser cierta también para los gliomas malignos.

Otros cambios frecuentes que se producen con la progresión de tumores malignos es la activación de la ruta PI-3K/AKT (típicamente por pérdida de PTEN o a través de la actividad de factores de crecimiento tales como el EGFR). Esta ruta de supervivencia activa diversos cambios adaptativos que incluyen un estímulo de la angiogénesis, la inhibición de la apoptosis y cambios metabólicos que promueven la activación de la glucólisis y un aumento en la captación de glucosa. Además, el fenotipo maligno que regula hacia arriba las rutas de glucólisis también es inducido por c-Myc, Hif-1 α y STAT-3, todos los cuales han sido implicados en la transformación maligna de alto grado.

Las transformaciones malignas antes mencionadas muestran un patrón de crecimiento diferencial. En concreto, los tumores malignos pueden crecer en regiones predominantemente hipóxicas y mixtas con grados variables de normoxia. Se pueden ver áreas hipóxicas relativas tanto en el centro de la masa de tumor en crecimiento rápido, que a menudo tiene regiones de necrosis asociadas con ello, así como también algunas regiones relativamente hipóxicas dentro de componentes infiltrantes del tumor. En consecuencia, algunas de estas regiones relativamente hipóxicas pueden tener células que están recorriendo el ciclo a un ritmo más lento y, por lo tanto, pueden ser más resistentes a muchos agentes quimioterapéuticos. Por ejemplo, los gliomas pueden crecer de una manera predominantemente infiltrante con poco o ningún aumento de contraste que se aprecie en imágenes de MRI, contrariamente a lesiones en masa que incrementan el contraste, de crecimiento más rápido.

Los gliomas malignos, por ejemplo, y muchos otros tumores de alto grado son intrínsecamente resistentes a las terapias convencionales. Por ejemplo, los tumores malignos de alto grado son muy angiogénicos. En particular, la mayoría de los tumores malignos de alto grado expresan grandes cantidades de factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF). Se ha utilizado AVASTIN®, un anticuerpo monoclonal contra VEGF, humanizado, en combinación con irinotecán, para tratar pacientes con gliomas de alto grado. Los resultados indican tasas de respuesta muy altas, superiores a 60% de los pacientes tratados (Society of Neuro-Oncology, 2005). Esta alta tasa de respuesta, sin embargo, no se traduce en una mejora de la supervivencia libre de progresión a los seis meses o de la supervivencia global en este punto. Además, muchos pacientes tratados con AVASTIN® muestran una progresión infiltrante, sin contraste, de la enfermedad tumoral, notablemente empeorante, que indica un "escape tumoral", o un cambio del fenotipo de crecimiento a un patrón predominantemente hipóxico (Conrad, C.A. *et al.*, enviado en 2008).

Además, muchos tipos de cáncer, tales como gliomas malignos y cáncer de páncreas, son intrínsecamente resistentes a las terapias convencionales y representan retos terapéuticos significativos. Los gliomas malignos tienen una incidencia anual de 6,4 casos por 100.000 (Central Brain Tumor Registry of the United States, 2002-2003) y son el subtipo más común de tumores cerebrales primarios y los cánceres humanos más letales. En su manifestación más agresiva, el glioblastoma multiforme (GBM), el tiempo medio de supervivencia para los pacientes oscila entre 12 y 14 meses, a pesar de los máximos esfuerzos terapéuticos. De hecho, en aproximadamente un tercio de los pacientes con GBM los tumores seguirán creciendo a pesar del tratamiento con radiación y quimioterapia. Análogamente, dependiendo de la extensión del tumor en el momento del diagnóstico, el pronóstico para el cáncer de páncreas se considera generalmente malo, con pocos pacientes vivos 5 años después del diagnóstico, y la remisión completa es rara.

Por otra parte, además del desarrollo de resistencia tumoral a los tratamientos, otro problema del tratamiento de tumores malignos lo constituye la toxicidad del tratamiento para tejidos normales que no están afectados por la enfermedad. A menudo, la quimioterapia va dirigida a destruir las células que se dividen rápidamente, con independencia de si esas células son normales o malignas. Sin embargo, la muerte celular generalizada y los efectos secundarios asociados de tratamientos contra el cáncer pueden no ser necesarios para la supresión del tumor si se pueden desactivar las vías de control del crecimiento de tumores. Por ejemplo, un enfoque se basa en el uso de la terapia de sensibilización, es decir, utilizar una dosis baja de un tratamiento estándar en combinación con un fármaco que se dirige específicamente a procesos cruciales de la célula tumoral, aumentando los efectos del otro fármaco.

- En consecuencia, la vía glucolítica se ha convertido en un objetivo potencial para la inhibición selectiva de muchas células tumorales, en particular glioblastomas y cánceres de páncreas, y otros tumores altamente sostenidos por glucólisis. La inhibición de la glucólisis sería selectiva para tales células tumorales porque las células normales en condiciones aerobias serían capaces de sobrevivir a dicha inhibición mediante la generación de energía por otras vías (por ejemplo, el ciclo de Krebs y la fosforilación oxidativa). Por el contrario, si se bloquease la glucólisis en células tumorales glucolíticas, las células tumorales morirían a causa de su incapacidad para utilizar las rutas antes mencionadas.
- Sin embargo, las estrategias de inhibición glucolítica actuales para el tratamiento del cáncer presentan varios retos. Por ejemplo, muchos de estos tratamientos no son específicos para el medio ambiente hipóxico de las células tumorales. Más importante aún, los tratamientos actuales no son inhibidores selectivos de la glucólisis. Antes bien, estos tratamientos también pueden apuntar a otras rutas que son esenciales para la función celular normal, tales como la glucosilación, donde se unen monosacáridos tales como D-manosa a proteínas para formar glucoproteínas. Entre otras funciones, las glucoproteínas son esenciales para mantener la integridad estructural de la membrana celular.
- En consecuencia, la interferencia con la glucosilación puede tener consecuencias clínicas. Existe una necesidad, por lo tanto, de tratamientos contra cáncer a través de la inhibición selectiva de la glucólisis que no interfieran sustancialmente con otras rutas metabólicas de la célula. Además, existe actualmente una necesidad insatisfecha en cuanto al desarrollo de métodos para tratar cáncer mediante moléculas que demuestren especificidad hacia células hipóxicas. La presente invención aborda estas necesidades insatisfechas.
- La expresión "terapia de combinación" significa la administración de dos o más agentes terapéuticos para tratar una afección o trastorno terapéutico descrito en la presente descripción. Dicha administración abarca la coadministración de estos agentes terapéuticos de una manera sustancialmente simultánea, por ejemplo en una única cápsula que tiene una relación fija de ingredientes activos o bien en múltiples cápsulas separadas para cada ingrediente activo. Además, tal administración también abarca el uso de cada uno de los tipos de agente terapéutico de una manera secuencial. En cualquier caso, el régimen de tratamiento proporcionará efectos beneficiosos de la combinación de fármacos en el tratamiento de las afecciones o trastornos descritos en la presente memoria.
- En la presente memoria, las referencias a "inhibidor de glucólisis", "inhibidor glucolítico" o "inhibidor o inhibidores de glucólisis" pretenden referirse a compuestos o composiciones que inhiben sustancialmente o interfieren la actividad de una o más enzimas implicadas en la glucólisis.
- En la presente memoria, la referencia a "inhibición de glucólisis" pretende referirse a una disminución de la actividad glucolítica, a una reducción de la actividad glucolítica o a la eliminación de la actividad glucolítica.
- En la presente memoria, la referencia a "CI₅₀" pretende referirse a la concentración de un compuesto o composición que reduce la viabilidad de células a la mitad del nivel original. En términos más amplios, CI₅₀ puede referirse a la mitad de la concentración inhibitoria máxima de una sustancia para inhibir diversos procesos biológicos.
- En la presente memoria, la referencia a "terapéuticamente eficaz" pretende describir la cantidad de ingredientes activos que se utiliza en el tratamiento de una enfermedad o trastorno descrito en la presente descripción. Esta cantidad conseguirá el objetivo de reducir o eliminar dicha enfermedad o trastorno.
- En la presente memoria, la referencia a "tratamiento" de un paciente pretende referirse a procedimientos o aplicaciones de los compuestos de la presente invención en un paciente con el fin de curar, reducir, mitigar o mejorar, temporal o permanentemente, una afección o trastorno descritos en la presente descripción.
- En la presente memoria, la referencia a "paciente" pretende referirse a todos los mamíferos, incluidos, sin limitación, seres humanos, vacas, perros, gatos, cabras, ovejas, cerdos y conejos. Preferiblemente, el paciente es un ser humano.
- En la presente memoria, la referencia a "hipóxico" pretende referirse a un estado caracterizado por un bajo suministro de oxígeno.
- En la presente memoria, la referencia a "normoxia" pretende referirse a un estado caracterizado por suministro adecuado de oxígeno.
- En la presente memoria, la referencia a "2-DG" pretende referirse a 2-desoxiglucosa.
- Sin estar ligado por la teoría, se contempla que los compuestos presentados en la presente memoria pueden ejercer sus efectos desencadenando autofagia además de, o en lugar de, apoptosis. La autofagia es un proceso regulado en el cual primeramente se secuestran partes del citoplasma con vesículas de doble membrana conocidas como autofagosomas. Klionsky, D.J., et al., *Autophagy as a Regulated Pathway of Cellular Degradation*, Science, 2000, 290: 1717-1721. A continuación, estos autofagosomas se fusionan con lisosomas para convertirse en autolisosomas o vacuolas autofágicas degradativas, tas de lo cual el contenido secuestrado es degradado por hidrolasas lisosomales. La autofagia lleva a una amplia degradación de orgánulos, incluidas mitocondrias, que precede a la

destrucción nuclear.

La autofagia se induce en diversos estados de la célula; por ejemplo, es responsable de la degradación de proteínas normales en respuesta a la privación de nutrientes, diferenciación, envejecimiento, transformación y cáncer. Cuervo, A.M., *Autophagy: In Sickness and in Health*, Trends Cell Biol, 2004, 14: 70-77; Shintani, T., *et al.*, *Autophagy in Health and Disease: A Double-Edged Sword*, Science, 2004, 306: 990-995. En la investigación del cáncer, la autofagia es un concepto novedoso, y su papel sigue estando poco claro. En general, las células cancerosas muestran menos degradación autofágica que las células normales. Bursch, W., *et al.*, *Programmed Cell Death (PCD). Apoptosis, Autophagic PCD, or Others?* Ann. N.Y. Acad. Sci, 2000, 926: 1-12; Ogier-Denis, E., *et al.*, *Autophagy: A Barrier or an Adaptive Response to Cancer*, Biochim Biophys Acta, 2003, 1603: 113-128; Gozuacik, D., *et al.*, *Autophagy as a Cell Death and Tumor Suppressor Mechanism*, Oncogene, 2004, 23: 2891-2906. De hecho, Beclin1, un homólogo en mamífero del gen de levadura *Atg6* relacionado con la autofagia, desempeña el papel de un supresor tumoral. Liang, X.H., *et al.*, *Induction of Autophagy and Inhibition of Tumorigenesis by Beclin 1*, Nature, 1999, 402: 672-676; Qu, X., *et al.*, *Promotion of Tumorigenesis by Heterozygous Disruption of the Beclin 1 Autophagy Gene*, J Clin Invest, 2003, 112: 1809-1820; Yue, Z., *et al.*, *Beclin 1, an Autophagy Gene Essential For Early Embryonic Development, Is a Haploinsufficient Tumor Suppressor*, Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100: 15077-15082.

Por el contrario, numerosos tratamientos contra el cáncer han demostrado inducir autofagia en líneas celulares de cáncer establecidas. Altan, N., *et al.*, *Defective Acidification in Human Breast Tumor Cells and Implications for Chemotherapy*, J Exp Med, 1998, 187: 1583-1598; Paglin, S., *et al.*, *A Novel Response of Cancer Cells to Radiation Involves Autophagy and Formation of Acidic Vesicles*, Cancer Res, 2001, 61: 439-444; Kanzawa, T., *et al.*, *Induction of Autophagic Cell Death in Malignant Glioma Cells by Arsenic Trioxide*, Cancer Res, 2003, 63: 2103-2108; Daido, S., *et al.*, *Inhibition of the DNA-Dependent Protein Kinase Catalytic Subunit Radiosensitizes Malignant Glioma Cells by Inducing Autophagy*, Cancer Res, 2005, 65: 4368-4375; Takeuchi, H., *et al.*, *Synergistic Augmentation of Rapamycin-Induced Autophagy in Malignant Glioma Cells by Phosphatidylinositol 3-Kinase/Protein Kinase B Inhibitors*, Cancer Res, 2005, 65: 3336-3346. Sin embargo, todavía se debate si la autofagia ayuda a destruir células tumorales o en lugar de ello las protege del efecto lesivo para la célula de los tratamientos. Ogier-Denis, E., *et al.*, *Autophagy: A Barrier or an Adaptive Response to Cancer*, Biochim Biophys Acta, 2003, 1603: 113-128; Gozuacik, D., *et al.*, *Autophagy as a Cell Death and Tumor Suppressor Mechanism*, Oncogene, 2004, 23: 2891-2906; Edinger, A.L., *et al.*, *Defective Autophagy Leads to Cancer*, Cancer Cell, 2003, 4: 422-424; Kondo, Y., *et al.*, *Role of Autophagy in Cancer Development and Response to Therapy*, Nat Rev Cancer, 2005, 5: 726-734; Hait, W.N., *et al.*, *A Matter of Life or Death (or Both): Understanding Autophagy in Cancer*, Clin Cancer Res, 1 de abril de 2006, 12(7 Pt 1): 1961-5.

En la actualidad, los métodos para detectar o cuantificar la autofagia son algo limitados. La demostración de vacuolas autofágicas mediante microscopía electrónica es una norma importante, pero este análisis requiere una considerable habilidad y no es fácil ni rápido. Otros ensayos, tales como la tinción de cadaverina con anaranjado de acridina o monodansilo no son específicos para la autofagia. Paglin, S., *et al.*, *A Novel Response of Cancer Cells to Radiation Involves Autophagy and Formation of Acidic Vesicles*, Cancer Res, 2001, 61: 439-444; Munafo, D.B., *et al.*, *A Novel Assay to Study Autophagy: Regulation of Autophagosome Vacuole Size by Amino Acid Deprivation*, J Cell Sci, 2001, 114: 3619-29. El uso del vector de expresión de cadena ligera 3 (LC3) de proteína 1 asociada a microtúbulos de rata, marcado con proteína verde fluorescente (GFP), hace que la detección de autofagia sea específica y fácil, pero este ensayo requiere transfección génica y no está disponible para modelos de xenoinjerto o muestras quirúrgicas obtenidas de pacientes con cáncer. Kabeya, Y., *et al.*, *LC3, a Mammalian Homologue of Yeast Apg8p, Is Localized in Autophagosomal Membranes After Processing*, EMBO J, 2000, 19: 5720-5728; Mizushima, N., *et al.*, *Dissection of Autophagosome Formation Using Apg5-Deficient Mouse Embryonic Stem Cells*, J Cell Biol, 2001, 152: 657-668.

Los compuestos presentados en la presente memoria para uso en el tratamiento de cáncer se pueden administrar en combinación con uno o más compuestos y/u otros agentes, incluidos agentes anticancerosos, agentes antiangiogénicos y/o agentes inductores de autofagia.

Agentes anticancerosos

Los agentes anticancerosos que son adecuados para su uso con los compuestos descritos en la presente memoria incluyen: antibióticos antitumorales (antraciclina, mitoxantrona, bleomicina, mitramicina); fludarabina, gemcitabina, temozolamida (Temodar); ciclofosfamidás; fluoropirimidinas (tales como capecitabina); fluorouracilo (5-FU o Aduvax); nitrosoureas, tales como procarbazona (Matulane), lomustina, CCNU (CeeBu), 3-[(4-amino-2-metil-pirimidin-5-il)metil]-1-(2-cloroetil)-1-nitroso-urea carmustina (ACNU), (BCNU, BiCNU, Gliadel Wafer), y estramustina (Emcyt); mostaza nitrogenada; melfalán; clorambucilo; busulfán; nitrosoureas de ifosfamida; tiotepa; agentes antimetabólicos tales como alcaloides de la vinca (por ejemplo, vincristina) y taxoides (por ejemplo, Taxol (paclitaxel)), Taxotere (docetaxel), análogos de epotilona, análogos de discodermolida y análogos de eleuterobina (por ejemplo, ifosfamida, melfalán, clorambucilo, tiotepa, cisplatino y carboplatino).

Se pueden administrar Temodar y otros agentes anticancerosos adecuados, en dosis terapéuticamente eficaces con distintas posologías, según lo previsto por personas con experiencia ordinaria en la técnica. Por ejemplo, se pueden

administrar los agentes anticancerosos a razón de 100 mg por m² de peso corporal durante siete días consecutivos sobre una base bisemanal. También se pueden administrar los agentes anticancerosos con la misma dosis durante 21 días y con 7 días de descanso. Personas con habilidad ordinaria en la técnica pueden prever otras dosis terapéuticas y regímenes de administración.

5 Agentes antiangiogénicos

Los agentes antiangiogénicos adecuados para su uso con los compuestos descritos incluyen inhibidores de VEGF (por ejemplo, Avastin), VEGF Trap, sorafenib, Sutin, inhibidores de linomida de la función de integrina $\alpha\beta_3$, angiostatina y razoxano.

10 Tales agentes antiangiogénicos pueden ser moléculas pequeñas, anticuerpos, aptámeros, proteínas, polipéptidos y otros compuestos o composiciones que reducen o eliminan la actividad angiogénica. Los agentes antiangiogénicos se pueden administrar en una dosis terapéuticamente eficaz con distintas posologías. Por ejemplo, se puede administrar Avastin a un paciente en una dosis de 5, 10 o 15 mg por kg de peso corporal una vez cada dos o tres semanas. Como alternativa, son adecuados 3-20 mg/kg una vez cada 2-3 semanas.

Agentes inductores de autofagia

15 También pueden ser adecuados uno o más agentes inductores de autofagia para su uso con los compuestos presentados en la presente memoria. Por ejemplo, la rapamicina es útil como agente inductor de autofagia. Otros agentes inductores de autofagia incluyen concanavalina A, inhibidores de eEF-2 cinasa e inhibidores de histona desacetilasa como SAHA.

20 La base para añadir uno o más agentes inductores de autofagia a las terapias de combinación es que los resultados de los autores de la presente invención indican que los inhibidores de glucólisis basados en azúcar destruyen células tumorales a través de este proceso. La autofagia es un proceso regulado en el cual primeramente se secuestran partes del citoplasma con vesículas de doble membrana conocidas como autofagosomas. Klionsky, D.J., *et al.*, *Autophagy as a Regulated Pathway of Cellular Degradation*, Science, 2000, 290: 1717-1721. Estos autofagosomas se fusionan después con lisosomas para convertirse en autolisosomas o vacuolas autofágicas degradativas, tras de lo cual el contenido secuestrado es degradado por hidrolasas lisosomales. La autofagia lleva a una amplia degradación de orgánulos, incluidas mitocondrias, que precede a la destrucción nuclear.

25 La autofagia se induce en diversos estados de la célula; por ejemplo, es responsable de la degradación de proteínas normales en respuesta a la privación de nutrientes, diferenciación, envejecimiento, transformación y cáncer. Cuervo, A.M., *Autophagy: In Sickness and in Health*, Trends Cell Biol, 2004, 14: 70-77; Shintani, T., *et al.*, *Autophagy in Health and Disease: A Double-Edged Sword*, Science, 2004, 306: 990-995. En la investigación del cáncer, la autofagia es un concepto novedoso, y su papel sigue estando poco claro. En general, las células cancerosas muestran menos degradación autofágica que las células normales. Bursch, W., *et al.*, *Programmed Cell Death (PCD). Apoptosis, Autophagic PCD, or Others?* Ann. N.Y. Acad. Sci, 2000, 926: 1-12; Ogier-Denis, E., *et al.*, *Autophagy: A Barrier or an Adaptive Response to Cancer*, Biochim Biophys Acta, 2003, 1603: 113-128; Gozuacik, D., *et al.*, *Autophagy as a Cell Death and Tumor Suppressor Mechanism*, Oncogene, 2004, 23: 2891-2906. De hecho, Beclin1, un homólogo en mamífero del gen de levadura *Atg6* relacionado con la autofagia, desempeña el papel de un supresor tumoral. Liang, X.H., *et al.*, *Induction of Autophagy and Inhibition of Tumorigenesis by Beclin 1*, Nature, 1999, 402: 672-676; Qu, X., *et al.*, *Promotion of Tumorigenesis by Heterozygous Disruption of the Beclin 1 Autophagy Gene*, J Clin Invest, 2003, 112: 1809-1820; Yue, Z., *et al.*, *Beclin 1, an Autophagy Gene Essential For Early Embryonic Development, Is a Haploinsufficient Tumor Suppressor*, Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100: 15077-15082.

30 Las terapias de combinación son particularmente adecuadas para el uso en el tratamiento de tumores cerebrales, incluidos tumores primarios tales como glioblastoma o gliomas de alto grado, y tumores cerebrales secundarios tales como tumores metastásicos de cerebro. Una propiedad única del SNC es su sorprendente predilección para captar glucosa y sus análogos.

45 Agentes hipoglucémicos

Se prevé además que se obtendrán resultados más óptimos con las terapias de combinación si al paciente se le trata también con una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más agentes hipoglucémicos con distintas posologías, preferiblemente antes del tratamiento con compuestos descritos en la presente memoria. Los agentes hipoglucémicos adecuados para el uso con la presente invención incluyen compuestos que reducen los niveles sanguíneos de glucosa. Ejemplos no limitantes de tales compuestos incluyen insulina, inhibidores de alfa-glucosidasa, sulfonilureas, meglitinidas, derivados de D-fenilalanina, biguanidas, tiazolidindionas, análogos de GLP-1 e inhibidores de DPP-4.

Modos de administración

55 Una persona con pericia ordinaria en la técnica reconocerá fácilmente que el uso en el tratamiento descrito en la presente invención se puede conseguir a través de múltiples vías de administración y con diferentes cantidades o

concentraciones de los compuestos descritos en la presente invención. La vía de administración preferida puede variar dependiendo de los compuestos que se utilicen, y dichas vías incluyen, pero sin limitación, la oral, bucal, intramuscular (i.m.), intravenosa (i.v.), intraparenteral (i.p.), tópica, o cualquier otra vía de administración reconocida por la FDA. Las concentraciones administradas o terapéuticas también variarán dependiendo del paciente que esté
5 siendo tratado y de los compuestos que se administren.

Los compuestos proporcionados en la presente memoria se pueden utilizar en diversas formas de tratamiento. Por ejemplo, aunque puede ser posible administrar los compuestos como un producto químico en bruto, también es posible presentarlo en forma de una formulación farmacéutica. En consecuencia, una formulación farmacéutica puede comprender el compuesto junto con uno o más portadores farmacéuticamente aceptables del mismo y
10 opcionalmente uno o más ingredientes terapéuticos adicionales. El portador o los portadores deben ser "aceptables" en el sentido de ser compatibles con los otros ingredientes de la formulación y no perjudiciales para su receptor. La formulación adecuada depende de la vía de administración elegida. Se pueden utilizar cualesquiera de las bien conocidas técnicas, portadores y excipientes, según convenga y de la manera que se entiende en la técnica; por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences. Se pueden fabricar las composiciones farmacéuticas de una
15 manera en sí conocida, por ejemplo, mediante mezcladura, disolución, granulación, fabricación de grageas, levigación, emulsión, encapsulación, atrapamiento o compresión convencionales.

Las formulaciones incluyen las adecuadas para la administración por vía oral, parenteral (incluidas la subcutánea, intradérmica, intramuscular, intravenosa, intraarticular e intramedular), intraperitoneal, transmucosal, transdérmica, rectal y tópica (incluidas la dérmica, bucal, sublingual e intraocular), aunque la vía más adecuada puede depender,
20 por ejemplo, del estado y la afección del receptor. Se pueden presentar convenientemente las formulaciones en forma de dosificación unitaria y se pueden preparar por cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica de la farmacia. Todos los métodos incluyen el paso de poner en asociación el compuesto ("ingrediente activo") con el portador que comprende uno o más ingredientes accesorios. En general, las formulaciones se preparan poniendo en asociación de manera uniforme e íntima el ingrediente activo con portadores líquidos o portadores sólidos finamente
25 divididos, o ambas cosas, y después, en caso necesario, dando forma al producto para proporcionar la formulación deseada.

Las formulaciones adecuadas para la administración por vía oral pueden presentarse en forma de unidades discretas tales como cápsulas, sellos o comprimidos, que contengan cada una una cantidad predeterminada del ingrediente activo; por ejemplo un polvo o gránulos; en forma de una disolución o una suspensión en un líquido
30 acuoso o un líquido no acuoso; o en forma de una emulsión líquida de aceite en agua o una emulsión líquida de agua en aceite. También puede presentarse el ingrediente activo en forma de un bolo, electuario o pasta.

Las preparaciones farmacéuticas que se pueden usar por vía oral incluyen comprimidos, cápsulas enchufables por presión hechas de gelatina, y también cápsulas blandas, selladas, hechas de gelatina y un plastificante, por ejemplo glicerol o sorbitol. Se pueden preparar comprimidos mediante compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más
35 ingredientes accesorios. Se pueden preparar comprimidos prensados por compresión, en una máquina adecuada, del ingrediente activo en una forma que fluya libremente, tal como un polvo o gránulos, opcionalmente mezclado con aglutinantes, diluyentes inertes o agentes lubricantes, tensioactivos o dispersantes. Se pueden fabricar comprimidos moldeados por moldeo, en una máquina adecuada, de una mezcla del compuesto en polvo, humedecido con un diluyente líquido inerte. Opcionalmente, los comprimidos pueden estar revestidos o ranurados, y pueden estar
40 formulados de manera que proporcionen una liberación lenta o controlada del ingrediente activo contenido en los mismos. Todas las formulaciones para administración por vía oral deben presentarse en dosificaciones adecuadas para tal administración. Las cápsulas enchufables por presión pueden contener los ingredientes activos mezclados con una carga tal como lactosa, aglutinantes tales como almidones y/o lubricantes tales como talco o estearato de magnesio y, opcionalmente, estabilizantes. En las cápsulas blandas, los compuestos activos pueden estar disueltos
45 o suspendidos en líquidos adecuados, tales como aceites grasos, parafina líquida o polietilenglicoles líquidos. Además, se pueden añadir estabilizadores. A los núcleos de gragea se les dota de revestimientos adecuados. Para ello se pueden utilizar disoluciones concentradas de azúcar, que pueden contener opcionalmente goma arábiga, talco, polivinilpirrolidona, gel de carbopol, polietilenglicol y/o dióxido de titanio, disoluciones de barniz y disolventes orgánicos adecuados o mezclas de disolventes. Se pueden añadir colorantes o pigmentos a los comprimidos o
50 recubrimientos para grageas, con fines de identificación o para caracterizar diferentes combinaciones de dosis de compuestos activos.

También se pueden formular los compuestos para administración parenteral mediante inyección, por ejemplo mediante inyección en embolada o infusión continua. Se pueden presentar las formulaciones para inyección en forma de dosificación unitaria, por ejemplo en ampollas o en recipientes multidosis, con un conservante añadido. Las
55 composiciones pueden adoptar formas tales como suspensiones, disoluciones o emulsiones en vehículos oleosos o acuosos, y pueden contener agentes de formulación tales como agentes suspensionantes, estabilizantes y/o dispersantes. Se pueden presentar las formulaciones en recipientes de dosis unitaria o multidosis, por ejemplo ampollas selladas y viales, y se pueden almacenar en forma de polvo o en un estado secado por congelación (liofilizado) que requiera sólo la adición del portador líquido estéril, por ejemplo, disolución salina o agua estéril
60 apirógena, inmediatamente antes de su uso. Se pueden preparar disoluciones y suspensiones extemporáneas para inyección a partir de polvos estériles, gránulos y comprimidos del tipo descrito en lo que antecede.

Las formulaciones para administración parenteral incluyen disoluciones para inyección estériles, acuosas y no acuosas (oleosas), de los compuestos activos, que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos que hagan a la formulación isotónica con la sangre del receptor previsto; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes suspensionantes y agentes espesantes. Los disolventes o vehículos lipófilos adecuados incluyen aceites grasos tales como aceite de ajonjolí, o ésteres de ácidos grasos sintéticos, tales como oleato de etilo o triglicéridos, o bien liposomas. Las suspensiones para inyección acuosas pueden contener sustancias que aumenten la viscosidad de la suspensión, por ejemplo carboximetilcelulosa de sodio, sorbitol o dextrano. Opcionalmente, la suspensión puede contener también estabilizantes adecuados o agentes que incrementen la solubilidad de los DFG, para permitir la preparación de disoluciones muy concentradas.

Debe entenderse que, además de los ingredientes mencionados en particular en lo que antecede, las formulaciones pueden incluir otros agentes convencionales de la técnica, teniendo en cuenta el tipo de formulación en cuestión, por ejemplo, los adecuados para la administración por vía oral pueden incluir agentes saborizantes.

La cantidad del compuesto que se puede combinar con los materiales portadores para producir una forma de dosificación única variará dependiendo del individuo tratado y del modo particular de administración.

La cantidad exacta de compuesto administrado a un paciente será responsabilidad del médico adscrito. El nivel de dosis específico para cualquier paciente particular dependerá de diversos factores, entre ellos la actividad del compuesto específico empleado, la edad del paciente, peso corporal, salud general, sexo, dietas, el momento de administración, la vía de administración, la velocidad de excreción, la combinación de fármacos, el trastorno exacto que se esté tratando y la gravedad de la indicación o afección que se esté tratando. Además, la vía de administración puede variar dependiendo de la afección y su gravedad.

Además de ser útiles para el tratamiento de personas, los compuestos también son útiles para el tratamiento veterinario de animales de compañía, animales exóticos y animales de granja, incluidos mamíferos y roedores. Los animales más preferidos incluyen caballos, perros y gatos.

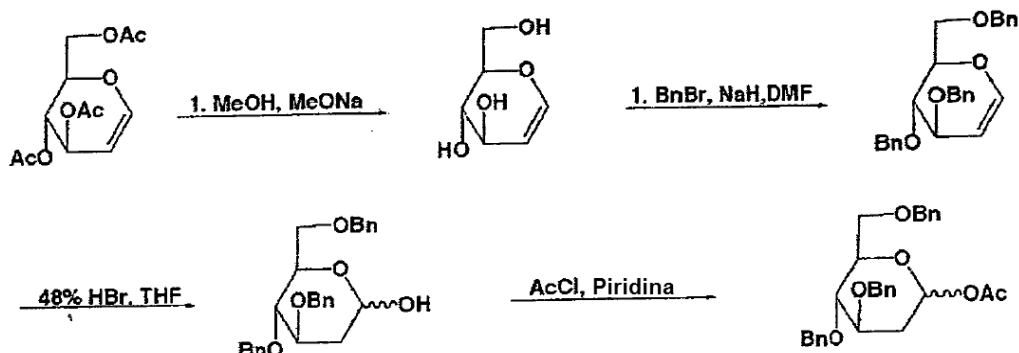
En ciertos casos, también puede ser adecuado administrar el compuesto en combinación con otro agente terapéutico. Solo a modo de ejemplo, si uno de los efectos secundarios experimentados por un paciente al recibir uno de los compuestos de la presente memoria es la hipertensión, entonces puede ser adecuado administrar un agente antihipertensivo en combinación con el agente terapéutico inicial. O bien, solo a modo de ejemplo, la eficacia terapéutica de uno de los compuestos descritos en la presente memoria puede mejorarse por administración de un adyuvante (es decir, el adyuvante puede tener por sí mismo solo un beneficio terapéutico mínimo, pero en combinación con otro agente terapéutico, el beneficio terapéutico general para el paciente aumenta). O bien, solo a modo de ejemplo, el beneficio experimentado por un paciente puede incrementarse mediante la administración de uno de los compuestos descritos en la presente memoria con otro agente terapéutico (lo que incluye también un régimen terapéutico) que presente asimismo beneficio terapéutico. Solo a modo de ejemplo, en un tratamiento para diabetes que implique la administración de uno de los compuestos descritos en la presente memoria, el beneficio terapéutico incrementado puede obtenerse también por proporcionar al paciente otro agente terapéutico para la diabetes. En cualquier caso, independientemente de la enfermedad, trastorno o afección que se esté tratando, el beneficio global experimentado por el paciente puede ser simplemente aditivo de los dos agentes terapéuticos, o bien el paciente puede experimentar un beneficio sinérgico.

En cualquier caso, los múltiples agentes terapéuticos (de los cuales al menos uno es un compuesto de la presente invención) se pueden administrar en cualquier orden, o incluso simultáneamente. Si se hace simultáneamente, se pueden proporcionar los múltiples agentes terapéuticos en una sola forma, unificada, o bien en múltiples formas (solo a modo de ejemplo, o bien como una sola píldora o como dos píldoras separadas). Se puede administrar uno de los agentes terapéuticos en dosis múltiples, o bien se pueden administrar ambos como dosis múltiples. Si no es simultáneamente, el tiempo entre las dosis múltiples puede ser cualquier intervalo que oscile entre algunos minutos y cuatro semanas.

Se hará referencia ahora a ejemplos específicos que ilustran los anteriores compuestos. Se entenderá que se proveen los ejemplos para ilustrar realizaciones preferidas.

Métodos sintéticos generales para preparar compuestos

Síntesis de compuesto del Ejemplo 1



3,4,6-Tri-O-bencil-D-glucal. Se preparó una disolución de glucal (1,46 g, 10 mmol) en DMF (15 mL) y se enfrió a 0°C. Se añadió hidruro de sodio (suspensión al 60% en aceite mineral) (1,99 g, 50 mmol) y se agitó la mezcla durante 30 minutos. Se añadió bromuro de bencilo (6,85 g, 40 mmol), se apartó el baño refrigerante y se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente hasta que todo el sustrato se hubo convertido en producto. Se enfrió la mezcla a 0°C (baño de hielo) y se añadió lentamente agua (50 mL), seguida de cloruro de metileno (30 mL). Se separó la capa orgánica y se extrajo con cloruro de metileno (2 x 20 mL) la disolución acuosa. Se lavaron con agua hasta neutralidad las disoluciones orgánicas combinadas, y después con salmuera, y se secaron sobre sulfato de sodio anhidro. Se eliminaron agentes desecantes y disolventes, y se purificó el producto mediante cromatografía en columna (gel de sílice 60 Merck), utilizando hexanos; hexanos:acetato de etilo 40:1, 20:1 como eluyentes.

Se agruparon las fracciones que contenían producto, se evaporaron hasta sequedad y se secaron bajo presión reducida para dar 3,03 g de producto. Rendimiento 73%.

¹H RMN (CDCl₃, δ), ppm: 7,34-7,24 (m, 15 H, H aromático), 6,43 (dd, 1H, J = 6,1 Hz, J = 1,1 Hz, H-1), 4,88 (dd, 1H, J = 6,1 Hz, J = 2,7 Hz, H-2), 4,84 (d, 1H, J = 11,4 Hz, CH₂Ph), 4,67-4,54 (m, 1H, CH₂Ph), 4,22 (m, 1H, H-3), 4,07 (ddd, 1H, J = 8,2 Hz, J = 4,7 Hz, J = 3,2 Hz, H-5), 3,87 (dd, 1H, J = 6,2 Hz, J = 8,6 Hz, H-4), 3,81 (dd, 1H, J = 4,9 Hz, J = 10,9 Hz, H-6), 3,76 (dd, 1H, J = 3,1 Hz, J = 10,7 Hz, H-6').

3,4,6-Tri-O-bencil-D-glucosa. Se añadió ácido bromhídrico al 47% (0,5 mL) a una disolución de 3,4,6-tri-O-bencil-D-glucal (5 mmol) en tetrahidrofurano (50 mL) y se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos la mezcla obtenida. Se vertió la mezcla de reacción en una disolución acuosa al 1% de bicarbonato de sodio (125 mL), y se extrajo con acetato de etilo (3 x 30 mL). Se lavaron con agua hasta neutralidad los extractos orgánicos combinados y se secaron sobre sulfato de sodio. Se eliminaron agente desecante y disolventes, y se purificó el producto mediante cristalización en acetato de etilo/hexanos. Rendimiento 76%, proporción α:β = 3:1.

¹H RMN (CDCl₃, δ), ppm: 7,38-7,14 (m, 30H, H aromático α, β), 5,40 (m, 1H, H-1α), 4,89 (d, 1H, J = 10,9 Hz, CH₂Ph α), 4,88 (d, 1H, J = 10,9 Hz, CH₂Ph β), 4,77 (m, 1H, H-1β), 4,70-4,50 (m, 10H, CH₂Ph α CH₂Ph β), 4,08-4,00 (m, 2H, H-3α H-5α), 3,75-3,60 (m, 5H, H-6α H-6β, H-6'α H-6'β), 3,50 (m, 3H, H-4α, H-4β H-5β), 3,26 (d, 1H, J = 6,3 Hz, OH β), 2,66 (m, 1H, OH α), 2,37 (ddd, 1H, J = 12,5 Hz, J = 5,1 Hz, J = 2,2 Hz, H-2eβ), 2,29 (dd, 1H, J = 12,9 Hz, J = 5,0 Hz, H-2ea), 1,69 (dd, 1H, J = J = 12,4 Hz, H-2aa), 1,57 (ddd, 1H, J = J = 12,1 Hz, J = 9,7 Hz, H-2aβ).

1-O-Acetil-3,4,6-tri-O-bencil-D-glucosa.

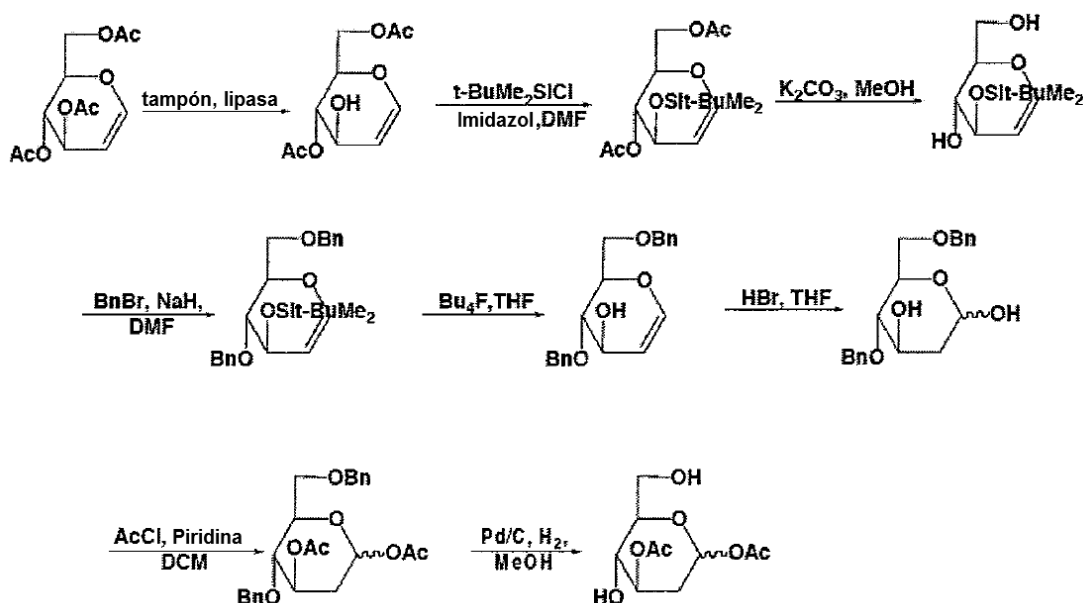
Se preparó una disolución de 3,4,6-tri-O-bencil-D-glucosa (4,34 g, 10 mmol) en cloruro de metileno (30 mL) y piridina (1,58 g, 1,62 mL, 20 mmol), y se enfrió a 0°C. Se añadió lentamente cloruro de acetilo (11 mmol) y se agitó la mezcla a temperatura ambiente hasta que hubo desaparecido todo el sustrato (cromatografía en capa fina, CCF). Se diluyó con diclorometano (50 mL) la mezcla de reacción, se lavó con agua (2 x 30 mL) y se secó sobre sulfato de sodio. Se eliminaron agente desecante y disolventes y se purificó el producto mediante cromatografía en columna (gel de sílice 60 Merck), utilizando hexanos:acetato de etilo como eluyentes. Se agruparon las fracciones que contenían producto, se evaporaron hasta sequedad y se secaron bajo presión reducida, para dar 1-O-acetil-3,4,6-tri-O-bencil-D-glucosa, rendimiento 65%, proporción α:β = 3:1.

¹H RMN (CDCl₃, δ) ppm: 7,40-7,18 (m, 30H, H aromático α β), 6,28 (s ancho, 1H, H-1α), 5,71 (dd, 1H, J = 10,0 Hz, J = 2,2 Hz, H-1β), 4,94 (d, 1H, J = 10,7 Hz, CH₂Ph α), 4,91 (d, 1H, J = 10,8 Hz, CH₂Ph β), 4,74-4,52 (m, 10H, CH₂Ph αβ), 3,99 (ddd, 1H, J = 11,5 Hz, J = 8,8 Hz, J = 5,0 Hz, H-3α), 3,88 (ddd, 1H, J = 9,8 Hz, J = 3,2 Hz, J = 1,8 Hz, H-5α), 3,85-3,63 (m, 7H, H-6αβ, H-6'αβ, H-4αβ H-3β), 3,55 (ddd, 1H, J = 9,3 Hz, J = 3,5 Hz, J = 2,3 Hz, H-5β), 2,40 (ddd, 1H, J = 12,4 Hz, J = 4,6 Hz, J = 2,2 Hz, H-2eβ), 2,32 (ddd, 1H, J = 13,6 Hz, J = 5,0 Hz, J = 1,5 Hz, H-2ea), 2,14 (s, 3H, CH₃ β), 2,08 (s, 3H, CH₃ α), 1,87 (ddd, 1H, J = 13,6 Hz, J = 11,5 Hz, J = 3,5 Hz, 1H, H-2aa), 1,85-1,76 (m, 1H, H-2aβ).

1-O-Acetil-2-desoxi-D-glucosa (compuesto del Ejemplo 1). Se añadió Pd/C al 10% (con 50% de humedad) Degussa (0,4 g) a una disolución de 1-O-acil-3,4,6-tri-O-bencil-2-desoxi-D-glucosa (5 mmol) en etanol (50 mL). Se hidrogenó con hidrógeno (3,1 bares (45 psi)) a temperatura ambiente la mezcla obtenida, utilizando un aparato Paar. Al cabo de 12 horas se había completado la reacción, se separó por filtración el catalizador y se evaporó el disolvente para dar un producto bruto. Se purificó el producto mediante cromatografía en columna (gel de sílice 60 Merck), utilizando cloroformo: metanol como eluyente.

Se agruparon las fracciones que contenían producto, se evaporaron hasta sequedad y se secaron bajo presión reducida para dar el compuesto del Ejemplo 1. Rendimiento 67%, proporción $\alpha:\beta = 6,7:1$, $[\alpha]_D^{20} = +107^\circ$ (c = 1,02, metanol). Los espectros corresponden al isómero α , se pueden resolver solamente algunas señales del isómero β .

Esquema. Síntesis de compuesto del Ejemplo 2



Síntesis de 4,6-di-O-acetil-D-glucal. Se disolvió per-O-acetil glucal (27,5 mmol) en tampón de fosforano (80 mL). Se añadió lipasa Amano (4,0 g) y se agitó a temperatura ambiente la mezcla de reacción durante 24 horas. Se añadió salmuera (200 mL) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 150 mL) la mezcla obtenida. Se filtraron a través de Celite los extractos orgánicos combinados, y se secaron sobre sulfato de sodio anhidro. Se eliminaron agente desecante y disolvente, y se purificó el producto mediante cromatografía en columna (gel de sílice 60) utilizando hexanos:acetato de etilo como eluyentes. Se obtuvo 4,6-di-O-acetil-D-glucal (26 mmol, rendimiento 96%).

^1H RMN (CDCl_3 , δ) ppm: 6,42 (dd, 1H, J = 6,1 Hz, J = 1,5 Hz, H-1), 5,00 (1H, dd, J = 6,3 Hz, J = 9,1 Hz, H-4), 4,88 (dd, 1H, J = 6,1 Hz, J = 1,8 Hz, H-2), 4,43 (dd, J = 5,4 Hz, J = 12,3 Hz, H-6), 4,34 (m, 1H, H-3), 4,26 (dd, 1H, J = 2,6 Hz, J = 12,3 Hz, 1H, H-6'), 4,15 (ddd, 1H, J = 8,5 Hz, J = 5,4 Hz, J = 2,6 Hz, H-5), 2,57 (d, 1H, J = 4 Hz, OH), 2,15 (s, 3H, CH_3), 2,11 (s, 3H, CH_3).

Síntesis de 4,6-di-O-acetil-3-O-*terc.*-butildimetilsilil-D-glucal. Se preparó una mezcla de 4,6-di-O-acetil-D-glucal (8,7 mmol), cloruro de *t*-butildimetilsililo (10,4 mmol), imidazol (17,4 mmol) y DMF (20 mL), y se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Se añadió agua (40 mL), y se extrajo la mezcla con hexanos (3 x 30 mL). Se lavaron con agua los extractos combinados, y se secaron sobre sulfato de sodio anhidro. Se eliminaron agente desecante y disolvente, y se purificó el producto mediante cromatografía en columna (gel de sílice 60) utilizando hexanos:acetato de etilo como eluyentes. Se obtuvo 4,6-di-O-acetil-3-O-*terc.*-butildimetilsilil-D-glucal (7,2 mmol, rendimiento 83%).

^1H RMN (CDCl_3 , δ) ppm: 6,37 (dd, 1H, J = 6,2 Hz, J = 1,1 Hz, H-1), 5,08 (m, 1H, H-4), 4,88 (dd, 1H, J = 6,2 Hz, J = 2,1 Hz, H-2), 4,44 (ddd, 1H, J = 1,8 Hz, J = 4,7 Hz, J = 12,3 Hz, H-6), 4,26-4,16 (m, 3H, H-3, H-5, H-6'), 2,11 (s, 3H, CH_3), 2,10 (s, 3H, CH_3), 0,90 (s, 9H, *t*-Bu), 0,11, 0,10 (2 s, 3H cada uno, 2 Me). $[\alpha]_D^{20} = -29,35$ (c = 1, cloroformo).

Síntesis de 3-O-*terc.*-butildimetilsilil-D-glucal. Se disolvió 3-O-(*terc.*-butildimetilsilil)-4,6-di-O-acetil-D-glucal (11,9 g, 34,5 mmol) en metanol (120 mL), y después se añadió disolución 1M de metanolato de sodio en metanol (1 mL). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 6 horas y se añadió disolución acuosa 1M de ácido clorhídrico (1 mL). Se evaporó hasta sequedad la mezcla de reacción y se purificó el producto bruto mediante cromatografía en columna (gel de sílice 60 Merck), utilizando hexanos:acetato de etilo como eluyentes, para dar 7,7 g de 3-O-(*terc.*-butildimetilsilil)-D-glucal, rendimiento (85%), p.f. 55,0-56,0°C.

^1H RMN (CDCl_3 , δ) ppm: 6,33 (dd, 1H, J = 6,1 Hz, J = 1,5 Hz, H-1), 4,69 (dd, 1H, J = 6,1 Hz, J = 2,5 Hz, H-2), 4,26

(ddd, 1H, J = 6,3 Hz, J = 2,5 Hz, J = 1,5 Hz, H-3), 3,97-3,90 (m, 3H, H-4, H-6, H-6'), 3,85-3,77 (m, 1H, H-5), 2,42 (d, 1H, J = 4,2 Hz, OH), 2,26 (m, 1H, OH), 0,94 (s, 9H, t-Bu), 0,15 (s, 6H, Me₂Si). $[\alpha]^{20} = -0,57$ (c = 1, cloroformo).

5 Síntesis de 4,6-di-O-bencil-3-O-*terc.*-butildimetilsilil-D-glucal. Se disolvió 3-O-*terc.*-butildimetilsilil-D-glucal (4,8 mmol) en DMF (50 mL). Se añadió hidróxido de sodio (31 mmol), seguido de bromuro de tetrabutilamonio (125 mg) y bromuro de bencilo (10,5 mmol), y se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 16 horas. Se separaron por filtración los sólidos, se añadió salmuera (100 mL) y se extrajo con hexanos (3 x 50 mL) la disolución obtenida. Se lavaron con agua hasta neutralidad los extractos orgánicos combinados y luego se secaron sobre sulfato de sodio anhidro. Se eliminaron sólidos y disolventes, y se purificó el producto bruto mediante cromatografía en columna (gel de sílice 60) utilizando hexanos:acetato de etilo como eluyentes. Se obtuvo 4,6-di-O-bencil-3-O-*terc.*-butildimetilsilil-D-glucal (3,0 mmol, rendimiento 63%).

15 ¹H RMN (CDCl₃, δ) ppm: 7,36-7,26 (m, 10H, H aromát.), 6,36 (dd, 1H, J = 6,1 Hz, J = 1,3 Hz, H-1), 4,84 (d, 1H, J = 11,3 Hz, CH₂Ph), 4,68 (dd, 1H, J = 6,1 Hz, J = 2,8 Hz, H-2), 4,65 (d, 1H, J = 11,3 Hz, CH₂Ph), 4,59 (s, 2H, CH₂Ph), 5,80 (ddd, 1H, J = 5,8 Hz, J = 2,7 Hz, J = 1,2 Hz, H-3), 4,09 (ddd, 1H, J = 8,2 Hz, J = 5,5 Hz, J = 2,7 Hz, H-5), 3,81 (dd, 1H, J = 10,8 Hz, J = 5,5 Hz, H-6), 3,72 (dd, 1H, J = 10,8 Hz, J = 2,6 Hz, H-6), 3,68 (dd, 1H, J = 8,4 Hz, J = 6 Hz, H-4), 0,92 (s, 9H, t-Bu), 0,11, 0,10 (2 s, 3H cada uno, Me₂).

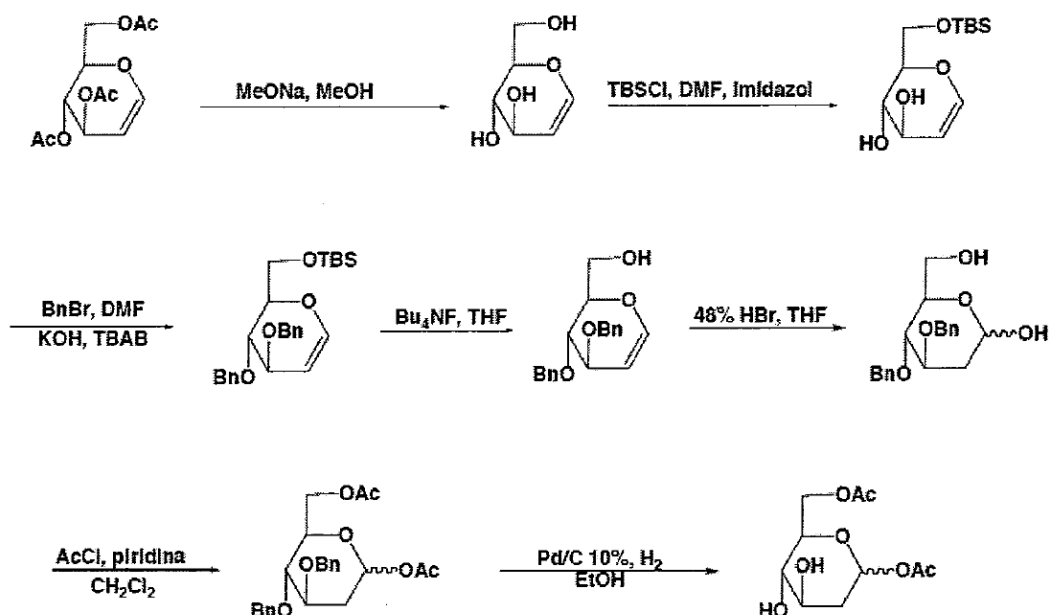
20 Síntesis de 4,6-di-O-bencil-D-glucal. Se disolvió 4,6-di-O-bencil-3-O-*terc.*-butildimetilsilil-D-glucal (3 mmol) en THF (35 mL). Se añadió fluoruro de tetrabutilo (solución 1M en THF) (3,5 mL) y se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante una noche, después se añadió agua (50 mL) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 mL) la mezcla. Se lavaron con agua hasta neutralidad los extractos orgánicos combinados, y se secaron sobre sulfato de sodio anhidro. Se eliminaron sólidos y disolventes, y se purificó el producto bruto mediante cromatografía en columna (gel de sílice 60) utilizando hexanos:acetato de etilo como eluyentes. Se obtuvo 4,6-di-O-bencil-D-glucal puro (2,61 mmol, rendimiento 87%). p.f. 53°C.

25 ¹H RMN (CDCl₃, δ) ppm: 7,38-7,30 (m, 10H, H aromát.), 6,42 (dd, 1H, J = 6 Hz, J = 1,5 Hz, H-1), 4,82 (d, 1H, J = 11,6 Hz, CH₂Ph), 4,77 (dd, 1 H, J = 6,0 Hz, J = 2,6 Hz, H-1), 4,72 (d, 1H, J = 11,4 Hz, CH₂Ph), 4,67 (d, 1H, J = 12 Hz, CH₂Ph), 4,60 (d, 1H, J = 12 Hz, CH₂Ph), 4,36 (s ancho, 1H, H-3), 4,01 (ddd, 1H, J = 10 Hz, J = J = 3,3 Hz, H-5), 3,89-3,79 (m, 2H, H-6), 3,70 (dd, 1H, J = 9,1 Hz, J = 4,8 Hz, H-4).

30 Síntesis de 4,6-di-O-bencil-2-desoxi-D-glucosa. Se disolvió 4,6-di-O-bencil-D-glucal (4,9 mmol) en THF (60 mL). Se añadió una disolución acuosa al 48% de ácido bromhídrico (0,4 mL) y se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente. Una vez completada la reacción, se añadió agua (250 mL) y se ajustó a 8 el pH de la disolución obtenida, utilizando carbonato de sodio saturado. Después se extrajo con acetato de etilo (3 x 100 mL) la disolución acuosa. Se lavaron con agua hasta neutralidad los extractos acuosos combinados, y se secaron sobre sulfato de sodio anhidro. Se eliminaron sólidos y disolventes, y se purificó el producto bruto mediante cromatografía en columna (gel de sílice 60) utilizando hexanos:acetato de etilo como eluyentes. Se obtuvo 4,6-di-O-bencil-2-desoxi-D-glucosa pura (3,1 mmol, rendimiento 63%).

35 Síntesis de 1,3-di-O-acetil-4,6-di-O-bencil-2-desoxi-D-glucosa (compuesto del Ejemplo 2). Se disolvió 4,6-di-O-bencil-2-desoxi-D-glucosa (3 mmol) en diclorometano (30 mL). Se añadió piridina (18 mmol), y se enfrió a 0°C la mezcla de reacción. Se añadió cloruro de acetilo (9 mmol) y se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente hasta que se completó la reacción, y después se diluyó con diclorometano (70 mL) la mezcla de reacción, se lavó con agua (3 x 50 mL) y se secó sobre sulfato de sodio anhidro. Se separó por filtración el agente desecante, y se evaporó el disolvente. Se añadió tolueno (50 mL) al residuo, y se evaporó hasta sequedad. Se repitieron 3 veces la adición y la evaporación del tolueno. Se purificó el producto bruto mediante cromatografía en columna (gel de sílice 60) utilizando hexanos:acetato de etilo como eluyentes, para dar el compuesto puro del Ejemplo 2, rendimiento 90%, proporción α:β = 1,7:1.

Síntesis de compuesto del Ejemplo 3



Síntesis de D-glucal. Se añadió carbonato de potasio (50 g) a una disolución de glucal per-O-acetilado (0,177 mol) en metanol (500 mL). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante una noche. Se separaron por filtración sales inorgánicas, y se evaporó hasta sequedad el filtrado. Se purificó el producto mediante cromatografía en columna (gel de sílice 60) utilizando cloroformo:metanol como eluyentes, para dar 0,159 moles de D-glucal cristalino (rendimiento 90%) (los espectros de RMN coinciden con los de la bibliografía).

5

Síntesis de 6-O-*tert*-butyldimethylsilyl-D-glucal. Se preparó una disolución de D-glucal (34 mmol) en DMF (50 mL). Se añadió cloruro de *tert*-butyldimethylsilylo (37,4 mmol) seguido de imidazol (68 mmol), y se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 2 horas. Se añadió salmuera (250 mL) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 75 mL) la mezcla obtenida. Se lavaron con agua los extractos orgánicos combinados, y se secaron sobre sulfato de sodio anhidro. Se eliminaron sólidos y disolventes, y se separó el producto mediante cromatografía en columna (gel de sílice 60), utilizando cloroformo:metanol como eluyentes. Se obtuvo 6-O-*tert*-butyldimethylsilyl-D-glucal, (27,2 mmol, rendimiento 80%).

10

^1H RMN (DMSO-d_6 , 300 MHz, δ) ppm: 6,28 (dd, 1H, $J = 6,0$ Hz, $J = 1,5$ Hz, H-1), 5,1 (d, 1H, $J = 5,6$ Hz, OH), 4,86 (d, 1H, $J = 5,4$ Hz, OH), 4,57 (dd, 1H, $J = 6$ Hz, $J = 2,3$ Hz, H-2), 3,96-3,90 (m, 1H, H-3), 3,88 (dd, 1H, $J = 11,4$ Hz, $J = 2,3$ Hz, H-6), 3,80 (dd, 1H, $J = 11,6$ Hz, $J = 5,1$ Hz, H-6), 3,61 (ddd, 1H, $J = 9,5$ Hz, $J = 5,1$ Hz, $J = 2,1$ Hz, H-5), 3,38 (ddd, 1H, $J = 9,5$ Hz, $J = 6,8$ Hz, $J = 5,6$ Hz, H-4), 0,87 (s, 9H, t-Bu), 0,04 (s, 6H, Me_2).

15

Síntesis de 3,4-di-O-bencil-6-O-*tert*-butyldimethylsilyl-D-glucal. Se disolvió 6-O-*tert*-butyldimethylsilyl-D-glucal (11,5 mmol) en diclorometano (30 mL). Se añadió hidróxido de sodio (23 mmol) seguido de bromuro de tetrabutilamonio (5 mg) y bromuro de bencilo (27 mmol), y se agitó la mezcla de reacción a 40°C . Una vez completada la reacción, se enfrió la mezcla de reacción, se separaron por filtración los sólidos, se diluyó con diclorometano (100 mL) el filtrado, se lavó con agua hasta neutralidad y se secó sobre sulfato de sodio anhidro. Se eliminaron agente desecante y disolventes, y se separó el producto utilizando cromatografía en columna (gel de sílice 60) y hexanos:acetato de etilo como eluyentes. Se obtuvo 3,4-di-O-bencil-6-O-*tert*-butyldimethylsilyl-D-glucal (6,9 mmol, rendimiento 60%). $[\alpha]_D^{20} = -6,6$ ($c = 1$, cloroformo).

20

25

^1H RMN (CDCl_3 , 300 MHz, δ) ppm: 7,37-7,29 (m, 10H, H aromático), 6,41 (dd, 1H, $J = 6,1$ Hz, $J = 1,35$ Hz, H-1), 4,88 (d, 1H, $J = 11,2$ Hz, CH_2Ph), 4,86 (dd, 1H, $J = 6,1$ Hz, $J = 2,6$ Hz, H-2), 4,77 (d, 1H, $J = 11,2$ Hz, CH_2Ph), 4,67, (d, 1H, $J = 11,7$ Hz, CH_2Ph), 4,61 (d, 1H, $J = 11,7$ Hz, CH_2Ph), 4,23 (ddd, 1H, $J = 6,8$ Hz, $J = 2,6$ Hz, $J = 1,5$ Hz, H-3), 4,02-3,87 (m, 4H, H-4, H-5, H-6), 0,93 (s, 9H, t-Bu), 0,10, 0,09 (2 s, 3H cada uno, Me_2).

30

Síntesis de 3,4-di-O-bencil-D-glucal. Se añadió fluoruro de tetrabutilamonio (solución 1M en THF) (5 mL) a una disolución de 3,4-di-O-bencil-6-O-*tert*-butyldimethylsilyl-D-glucal (4,5 mmol) en THF (50 mL). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante una noche, y después se añadió salmuera (100 mL). Se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 mL) la disolución obtenida. Se lavaron con agua hasta neutralidad los extractos orgánicos combinados, y se secaron sobre sulfato de sodio anhidro. Se eliminaron agente desecante y disolvente, y se aisló el producto utilizando cromatografía en columna (gel de sílice 60) y hexanos:acetato de etilo como eluyentes. Se obtuvo 3,4-di-O-bencil-D-glucal (3,51 mmol, rendimiento 78%).

35

^1H RMN (CDCl_3 , 300 MHz, δ) ppm: 7,38-7,33 (m, 10 H, H aromát.), 6,43 (dd, 1H, $J = 6,1$ Hz, $J = 1,2$ Hz, H-1), 4,92 (dd, 1H, $J = 6,1$ Hz, $J = 2,7$ Hz, H-2), 4,90 (d, 1H, $J = 11,5$ Hz, CH_2Ph), 4,76 (d, 1H, $J = 11,5$ Hz, CH_2Ph), 4,70 (d, 1H, $J = 11,6$ Hz, CH_2Ph), 4,60 (d, 1H, $J = 11,6$ Hz, CH_2Ph), 4,27 (dddd, 1H, $J = 6,1$ Hz, $J = 2,6$ Hz, $J = 1,4$ Hz, $J = 0,6$ Hz, H-3), 3,98 (ddd, 1H, $J = 8,5$ Hz, $J = 3,8$ Hz, H-5), 3,89 (m, 2H, H-6), 3,84 (dd, 1H, $J = 8,5$ Hz, $J = 6,2$ Hz, H-4), 1,99 (s ancho, 1H, OH).

Síntesis de 3,4-di-O-bencil-2-desoxi-D-glucosa. Se añadió ácido bromhídrico al 48% (0,4 mL) a una disolución de 3,4-di-O-bencil-D-glucal (3,5 mmol) en THF (25 mL). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se añadió salmuera (50 mL) y se ajustó a 8 con carbonato de sodio saturado el pH de la disolución obtenida. Se extrajo con acetato de etilo (3 x 30 mL) la disolución acuosa. Se lavaron con agua hasta neutralidad los extractos orgánicos combinados y se secaron sobre sulfato de sodio. Se eliminaron agente desecante y disolvente, y se separó el producto mediante cromatografía en columna (gel de sílice 60) utilizando diclorometano:metanol como eluyentes.

Se obtuvo 3,4-di-O-bencil-2-desoxi-D-glucosa (1,75 mmol, rendimiento 50%).

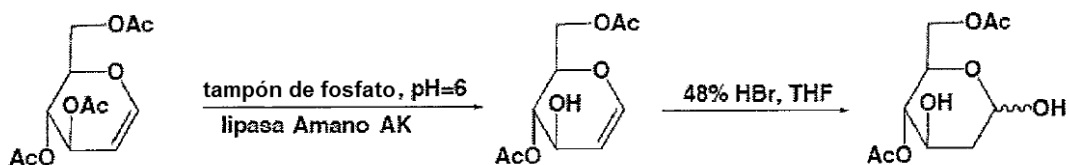
^1H RMN (CDCl_3 , 300 MHz, δ) ppm: 7,39-7,30 (m, 10H, H aromát.), 5,38 (d, 1H, $J = 2,4$ Hz, H-1 α), 4,97 (d, 1H, $J = 11,0$ Hz, CH_2Ph α), 4,96 (d, 1H, $J = 11,0$ Hz, CH_2Ph β), 4,84 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, H-1 β), 4,74-4,62 (m, 3H, CH_2Ph α y β), 4,09 (ddd, 1H, $J = 11,3$ Hz, $J = 8,8$ Hz, $J = 4,9$ Hz, H-3 α), 3,95 (ddd, 1H, $J = 9,6$ Hz, $J = 4,8$ Hz, $J = 2,8$ Hz, H-5 α), 3,90-3,81 (m, 2H, H-6 $\alpha\beta$), 3,76-3,66 (m, 2H, H-6 $\alpha\beta$), 3,49 (dd, 1H, $J = 9,6$ Hz, H-4 α), 3,48 (dd, 1H, $J = 9,2$ Hz, H-1 β), 3,88 (ddd, 1H, $J = 9,3$ Hz, $J = 4,8$ Hz, $J = 2,6$ Hz, H-5 β), 3,10 (s ancho, 1H, OH), 2,41 (ddd, 1H, $J = 12,6$ Hz, $J = 5,0$ Hz, $J = 1,9$ Hz, H-2e, β), 2,32 (ddd, 1H, $J = 13,1$ Hz, $J = 4,9$ Hz, $J = 1,1$ Hz, H-2e, α), 1,67 (ddd, 1H, $J = 13,1$ Hz, $J = 11,5$ Hz, $J = 4,5$ Hz, H-2a, α), 1,58 (ddd, 1H, $J = 12,6$ Hz, $J = 9,7$ Hz, H-2a, β).

Síntesis de 1,6-di-O-acetil-3,4-di-O-bencil-2-desoxi-D-glucosa. Se preparó una mezcla de 3,4-di-O-bencil-2-desoxi-D-glucosa (1,6 mmol) y piridina (9,6 mmol) en diclorometano (20 mL), y se enfrió a 0°C . Se añadió cloruro de acetilo (4,8 mmol) y se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente. Una vez completada la reacción, se diluyó con diclorometano (80 mL) la mezcla de reacción y se lavó con agua, y después se secó sobre sulfato de sodio anhidro. Se eliminaron agente desecante y disolventes, y se separó el producto utilizando cromatografía en columna (gel de sílice 60) con hexanos:acetato de etilo como eluyentes, para dar 1,6-di-O-acetil-3,4-di-O-bencil-2-desoxi-D-glucosa pura. Rendimiento 75%, proporción $\alpha:\beta = 1,3:1$.

^1H RMN (CDCl_3 , 300 MHz, δ) ppm: 7,38-7,28 (m, 10H, H aromát.), 6,24 (d, 1H, $J = 1,8$ Hz, H-1 α), 5,72 (dd, 1H, $J = 10,0$ Hz, $J = 2,1$ Hz, H-1 β), 4,97 (d, 1H, $J = 10,8$ Hz, CH_2Ph α), 4,95 (d, 1H, $J = 10$ Hz, CH_2Ph β), 4,74-4,62 (m, 3H, CH_2Ph α , β), 4,38-4,13 (m, 2H, H-6 α , β), 4,02 (ddd, 1H, $J = 11,4$ Hz, $J = 8,8$ Hz, $J = 5,0$ Hz, H-3 α), 3,93 (ddd, 1H, $J = 9,8$ Hz, $J = 4,0$ Hz, $J = 2,2$ Hz, H-5 α), 3,78 (ddd, 1H, $J = 11,4$ Hz, $J = 8,4$ Hz, $J = 5,1$ Hz, H-3 β), 3,61 (ddd, 1H, $J = 6,9$ Hz, $J = 3,5$ Hz, H-5 β), 3,57 (dd, 1H, $J = 9,6$ Hz, H-4 α), 3,52 (dd, 1H, $J = 9,6$ Hz, H-4 β), 2,41 (ddd, 1H, $J = 12,5$ Hz, $J = 5,0$ Hz, $J = 2,5$ Hz, H-2e β), 2,33 (ddd, 1H, $J = 13,5$ Hz, $J = 4,9$ Hz, $J = 1,4$ Hz, H-2e α), 2,09, 2,06 (2 s, 3H cada uno, OAc).

Síntesis de 1,6-di-O-acetil-3,4-di-O-bencil-2-desoxi-D-glucosa (compuesto del Ejemplo 3). Se añadió Pd/C (al 10%, que contenía 50% de agua) (100 mg) a una disolución de 1,6-di-O-acil-3,4-di-O-bencil-2-desoxi-D-glucosa (1 mmol) en etanol anhidro al 95% (100 mL). Se hidrogenó con hidrógeno (3,1 bares, (45 psi)) la mezcla obtenida, a temperatura ambiente, utilizando un aparato Paar. Al cabo de 24 horas se había completado la reacción, se separó por filtración a través de Celite el catalizador, y se evaporó el disolvente para dar un producto bruto. Se purificó el producto mediante cromatografía en columna (gel de sílice 60 Merck), utilizando cloroformo:metanol como eluyente. Se agruparon las fracciones que contenían producto, se evaporaron hasta sequedad y se secaron bajo presión reducida.

Síntesis de compuesto del Ejemplo 4



4,6-Di-O-acetil-D-glucal. Se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas una mezcla de glucal peracetilado (2,72 g, 10 mmol) en tampón de fosforano pH = 7 (30 mL) y lipasa Amano AK (1,8 g). Se añadió a la mezcla de reacción agua (50 mL), seguida de acetato de etilo (50 mL). Se separó la capa orgánica, y se extrajo con acetato de etilo (2 x 50 mL) la disolución acuosa. Se lavaron con agua los extractos orgánicos combinados, se filtraron a través de Celite y se secaron sobre sulfato de sodio anhidro. Se separó por filtración el agente desecante, y se evaporó hasta sequedad el disolvente. Se purificó el producto bruto obtenido, mediante cromatografía en columna (gel de sílice 60 Merck), utilizando hexanos:acetato de etilo como eluyente para dar 2,09 g de 4,6-di-O-acetil-D-glucal puro (aceite incoloro). Rendimiento (91%).

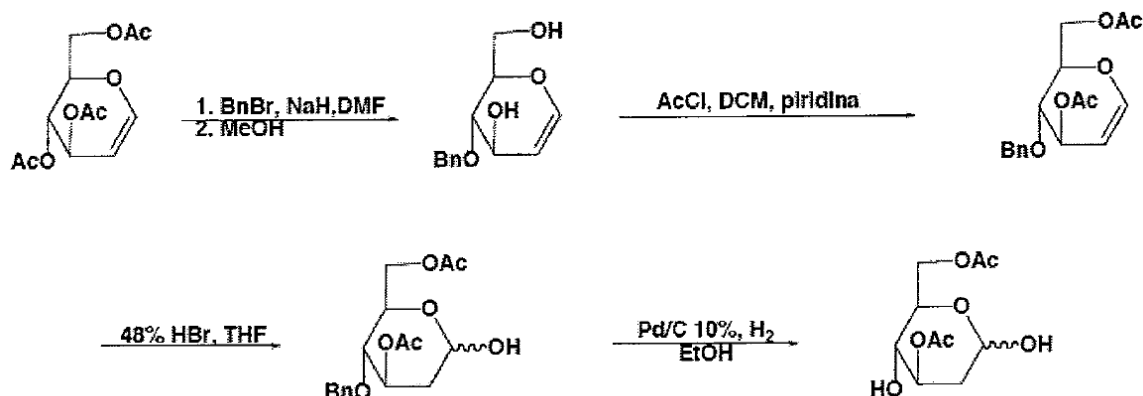
^1H RMN (CDCl_3 , δ) ppm: 6,42 (dd, 1H, $J = 6,1$ Hz, $J = 1,5$ Hz, H-1), 5,00 (1H, dd, $J = 6,3$ Hz, $J = 9,1$ Hz, H-4), 4,88 (dd, 1H, $J = 6,1$ Hz, $J = 1,8$ Hz, H-2), 4,43 (dd, $J = 5,4$ Hz, $J = 12,3$ Hz, H-6), 4,34 (m, 1H, H-3), 4,26 (dd, 1H, $J = 2,6$ Hz, $J = 12,3$ Hz, 1H, H-6'), 4,15 (ddd, 1H, $J = 8,5$ Hz, $J = 5,4$ Hz, $J = 2,6$ Hz, H-5), 2,57 (d, 1H, $J = 4$ Hz, OH), 2,15 (s, 3H, CH_3), 2,11 (s, 3H, CH_3).

- 5 4,6-Di-O-acetil-2-desoxi-D-glucosa (compuesto del Ejemplo 4). Se añadió disolución al 48% de ácido bromhídrico (0,5 mL) a la mezcla de 4,6-di-O-acetil-D-glucal (0,506 g, 2,2 mmol) en tetrahidrofurano (20 mL). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 30 minutos, y a continuación se ajustó a 8 el pH de la mezcla de reacción por adición de disolución saturada de bicarbonato de sodio. Se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 mL) la disolución obtenida. Se combinaron los extractos orgánicos, se lavaron con agua hasta neutralidad, y se secaron sobre sulfato de sodio anhidro. Se eliminaron agente desecante y disolvente, y se purificó el producto mediante cromatografía en columna (gel de sílice 60, Merck) utilizando cloroformo:metanol 100:1, 98:2 como eluyentes. Se evaporaron hasta sequedad las fracciones que contenían producto puro, para dar 0,240 g de compuesto del Ejemplo 4 (rendimiento 44%). (ddd, $J = J = 13,0$ Hz, $J = 3,5$ Hz, 1H, H-2a α), 1,41 (ddd, $J = J = 12,1$ Hz, $J = 9,7$ Hz, 1H, H-2a β).

3,6-Di-O-acil-2-desoxi-D-glucosa

15

Compuesto del Ejemplo 5



- 4-O-bencil-D-glucal. Se preparó una suspensión de NaH (1,9 mol) en DMF (650 mL) y se enfrió a 0°C. Se añadió en pequeñas porciones glucal per-acetilado (100 g, 0,36 mol), se agitó a 0°C durante 30 minutos la mezcla obtenida, y después se añadió gota a gota bromuro de bencilo (50 ml, 0,42 mol). Se apartó el baño refrigerante y se continuó agitando hasta que hubo desaparecido todo el sustrato (CCF). Una vez completada la reacción, se añadió lentamente metanol (150 mL) y se agitó la mezcla durante 30 minutos adicionales. Se añadió agua (1 L) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 500 mL) la disolución. Se lavaron con agua hasta neutralidad los extractos orgánicos combinados y se secaron sobre sulfato de sodio. Se eliminaron agente desecante y disolventes, y se separó el producto mediante cromatografía en columna (gel de sílice 60), utilizando hexanos:acetato de etilo como eluyentes. Rendimiento 72%, p.f. 98,5-100,0°C.

^1H RMN (CDCl_3 , δ) ppm: 7,43-7,30 (m, 5H, H arom.), 6,38 (dd, 1H, $J = 6,0$ Hz, $J = 1,6$ Hz, H-1), 4,87 (d, 1H, $J = 11,6$ Hz, CH_2Ph), 4,82 (d, 1H, $J = 11,6$ Hz, CH_2Ph), 4,76 (dd, 1H, $J = 6,0$ Hz, $J = 2,5$ Hz, H-2), 4,40 (s ancho, 1H, H-3), 3,99-3,86 (m, 3H, H-5, H-6a, H-6b), 3,65 (dd, 1H, $J = 9,0$ Hz, $J = 6,8$ Hz, H-4), 1,96 (s ancho, 1H, OH), 1,89 (s ancho, 1H, OH). Análisis elemental: calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{O}_4$: C, 66,09; H, 6,83; encontrado: C, 66,00; H, 6,77; $[\alpha]_D^{20} = +10,4$ (c = 1,4, cloroformo).

- 3,6-Di-O-acil-4-O-bencil-D-glucal. Se preparó una disolución de 4-O-bencil-D-glucal (10 mmol) en una mezcla de cloruro de metileno (30 mL) y piridina (40 mmol), y se enfrió a 0°C. Se añadió lentamente cloruro de acilo (22 mmol) y se agitó la mezcla a temperatura ambiente hasta que hubo desaparecido todo el sustrato (CCF). Se diluyó con diclorometano (50 mL) la mezcla de reacción, y después se lavó con agua (2 x 30 mL) y se secó sobre sulfato de sodio anhidro. Se eliminaron el agente desecante y disolventes y se purificó el producto mediante cromatografía en columna (gel de sílice 60 Merck), utilizando hexanos:acetato de etilo como eluyentes.

- 4-O-Bencil-3,6-di-O-acetil-D-glucosa. Se añadió disolución acuosa al 48% de ácido bromhídrico (0,5 mL) a una mezcla de 4-O-bencil-3,6-di-O-acetil-D-glucal (5 mmol) en tetrahidrofurano (50 mL), y se agitó a temperatura ambiente la disolución obtenida. Una vez completada la reacción (CCF), se vertió la mezcla de reacción en una disolución acuosa al 10% de bicarbonato de sodio (125 mL), y se extrajo con acetato de etilo (3 x 30 mL) la disolución acuosa. Se lavaron con agua los extractos orgánicos combinados y se secaron sobre sulfato de sodio. Se eliminaron agente desecante y disolventes, y se purificó el producto mediante cromatografía en columna (gel de sílice 60 Merck), utilizando hexanos:acetato de etilo como eluyentes.

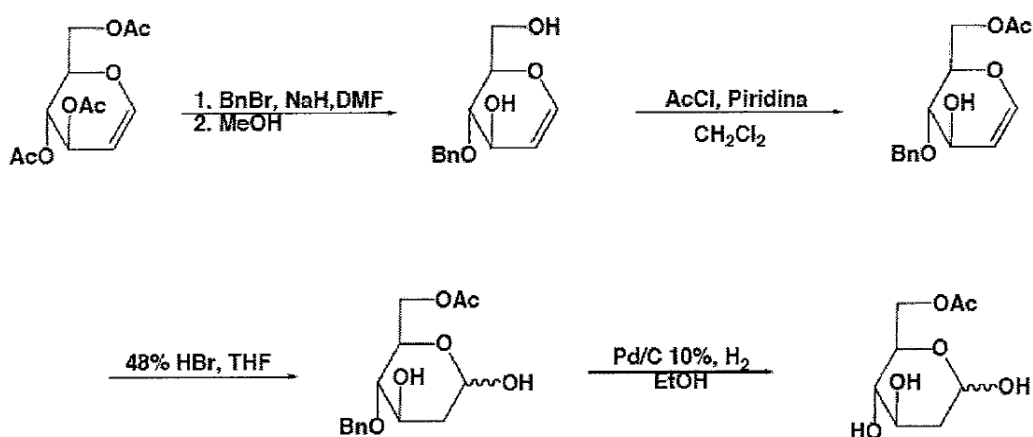
Se agruparon las fracciones que contenían producto, se evaporaron hasta sequedad y se secaron bajo presión reducida.

5 3,6-Di-O-acetil-D-glucosa. Se añadió Pd/C al 10% (húmedo al 50%) Degussa (0,4 g) a una disolución de 4-O-bencil-3,6-di-O-acetil-D-glucosa (5 mmol) en etanol (50 mL). Se hidrogenó con hidrógeno (3,1 bares (45 psi)) a temperatura ambiente la mezcla obtenida, utilizando un aparato Paar. Al cabo de 12 horas se había completado la reacción (CCF), se separó por filtración el catalizador y se evaporó el disolvente para dar un producto bruto. Se purificó el producto mediante cromatografía en columna (gel de sílice 60 Merck), utilizando hexanos:acetato de etilo como eluyente.

10 Se agruparon las fracciones que contenían producto, se evaporaron hasta sequedad y se secaron bajo presión reducida.

Síntesis de 6-O-acetil-2-desoxi-D-glucosa

Compuesto del Ejemplo 6



15 Síntesis de 6-O-acetil-4-O-bencil-D-glucal. Se disolvieron en diclorometano (100 mL) 4-O-bencil-D-glucal (21,2 mmol) y piridina (45 mmol). Se enfrió a 0°C la disolución obtenida, y se añadió cloruro de acetilo (25 mmol). Se agitó la mezcla a 0°C. Una vez completada la reacción, se lavó con agua (3 x 50 mL) la mezcla de reacción y se secó sobre sulfato de sodio anhidro. Se eliminaron agente desecante y disolvente, y se purificó el producto mediante cromatografía en columna (gel de sílice 60) utilizando hexanos:acetato de etilo como eluyentes. Rendimiento 50%.

20 ¹H RMN (CDCl₃, 300 MHz, δ) ppm: 7,39-7,33 (m, 5H, H aromát.), 6,37 (dd, 1H, J = 6 Hz, J = 1,5 Hz, H-1), 4,86 (d, 1H, J = 11,5 Hz, CH₂Ph), 4,78 (d, 1H, J = 11,5 Hz, CH₂Ph), 4,77 (dd, 1H, J = 6,8 Hz, J = 4,3 Hz, H-2), 4,50 (dd, 1H, J = 12,1 Hz, J = 2,4 Hz, H-6), 4,43 (ddd, 1H, J = 6,6 Hz, J = J = 1,6 Hz, H-3), 4,35 (dd, 1H, J = 12,1 Hz, J = 5,2 Hz, H-6), 2,10 (s, 3H, OAc).

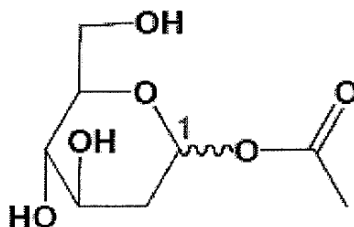
25 Síntesis de 6-O-acil-4-O-bencil-2-desoxi-D-glucosa. Se disolvió 6-O-acetil-4-O-bencil-D-glucal (2,5 mmol) en THF (50 mL). Se añadió disolución acuosa al 48% de ácido bromhídrico (0,5 mL) y se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente. Al cabo de 1 hora se había completado la reacción, se añadió agua (250 mL) y después se ajustó a 8 el pH de la disolución obtenida, utilizando carbonato de sodio saturado. A continuación, se extrajo con acetato de etilo (3 x 100 mL) la disolución acuosa. Se lavaron con agua hasta neutralidad los extractos acuosos combinados, y se secaron sobre sulfato de sodio anhidro. Se eliminaron sólidos y disolventes, y se purificó el producto bruto mediante cromatografía en columna (gel de sílice 60) utilizando hexanos:acetato de etilo como eluyentes. (Rendimiento 48%).

35 Síntesis de 6-O-acetil-2-desoxi-D-glucosa. Se añadió Pd/C (al 10%, que contenía 50% de agua) (40 mg) a una disolución de 6-O-acetil-4-O-bencil-2-desoxi-D-glucosa (1,15 mmol) en alcohol etílico (50 mL). Se hidrogenó la mezcla durante 24 horas, utilizando un aparato Paar (a 3,1 bares (45 psi) de H₂). Después, se filtró a través de Celite la mezcla de reacción, se evaporó hasta sequedad y se purificó el producto mediante cromatografía en columna (gel de sílice 60) utilizando cloroformo:metanol como eluyente. (Rendimiento 48%).

Se prepararon los compuestos como se ilustra en los siguientes ejemplos.

Ejemplo 1

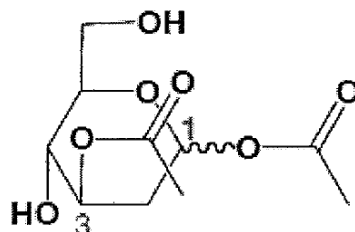
1-O-Acetil-2-desoxi-D-glucosa



5 ^1H RMN (DMSO- d_6 , δ) ppm: 6,04 (d, 1H, $J = 2,2$ Hz, H-1), 4,99 (d, 1H, $J = 5,4$ Hz, OH), 4,89 (d, 1H, $J = 5,0$ Hz, OH), 4,48 (dd, 1H, $J = 6,2$ Hz, $J = 5,6$ Hz, OH), 3,69-3,40 (m, 4H, H-3, H-5, H-6), 3,28 (ddd, 1H, $J = J = 9,3$ Hz, $J = 5,3$ Hz, H-4), 2,04 (s, 3H, OAc), 1,93 (ddd, 1H, $J = 13,6$ Hz, $J = 4,9$ Hz, $J = 1,3$ Hz, H-2e), 1,58 (ddd, 1H, $J = 13,6$ Hz, $J = 12,4$ Hz, $J = 3,5$ Hz, H-2a).

Ejemplo 2

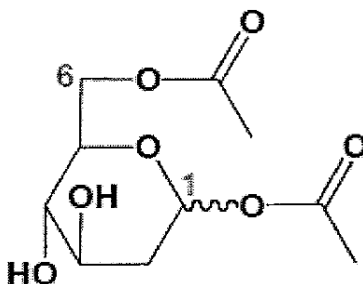
1,3-Di-O-acetil-4,6-di-O-bencil-2-desoxi-D-glucosa



10 ^1H RMN (CDCl_3 , 300 MHz, δ) ppm: 7,40-7,17 (m, 10H, H aromát.), 6,27 (s, 1H, $J = 1,1$ Hz, H-1 α), 5,78 (dd, 1H, $J = 10$ Hz, $J = 2,3$ Hz, H-1 β), 5,32 (ddd, 1H, $J = 11,5$ Hz, $J = 9,1$ Hz, $J = 5,3$ Hz, H-3 α), 5,05 (ddd, 1H, $J = 11,1$ Hz, $J = 9,0$ Hz, $J = 5,1$ Hz, H-3 β), 4,72-4,50 (m, 4H, CH_2 α y β), 3,92 (ddd, 1H, $J = 9,6$ Hz, $J = J = 2,2$ Hz, H-5 α), 3,86-3,76 (m, 4H, H-4 β , H-6ab β , H-6a α), 3,76 (dd, 1H, $J = J = 9,3$ Hz, H-4 α), 3,68 (dd, 1H, $J = 10,8$ Hz, $J = 2,0$ Hz, H-6 α), 3,58 (ddd, 1H, $J = 9,6$ Hz, $J = 3,4$ Hz, $J = 2,1$ Hz, H-5 β), 2,37 (ddd, 1H, $J = 12,2$ Hz, $J = 5,2$ Hz, $J = 2,2$ Hz, H-2e β), 2,28 (ddd, 1H, $J = 13,4$ Hz, $J = 5,3$ Hz, $J = 1,6$ Hz, H-2e α), 1,88 (ddd, 1H, $J = 13,4$ Hz, $J = 11,5$ Hz, $J = 3,7$ Hz, H-2a α), 1,77 (ddd, 1H, $J = 11,9$ Hz, $J = J = J = 10$ Hz, H-2a β), 2,12, 2,11, 2,01, 2,00 (4 s, 3H cada uno, OAc).

Ejemplo 3

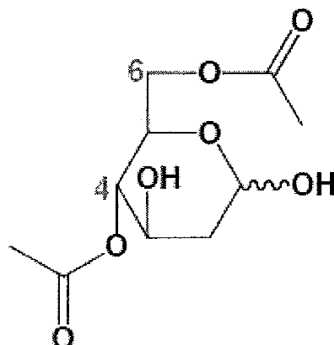
1,6-Di-O-acetil-3,4-di-O-bencil-2-desoxi-D-glucosa



20 ^1H RMN (CDCl_3 , 300 MHz, δ) ppm: 6,25 (d, 1H, $J = 2,7$ Hz, H-1 α), 5,78 (dd, 1H, $J = 10,2$ Hz, $J = 2,3$ Hz, H-1 β), 4,71 (dd, 1H, $J = 12,5$ Hz, $J = 3,4$ Hz, H-6 α), 4,70 (dd, 1H, $J = 12,5$ Hz, $J = 3,2$ Hz, H-6 β), 4,19 (dd, 1H, $J = 12,5$ Hz, $J = 2,2$ Hz, H-6 β), 4,13 (dd, 1H, $J = 12,5$ Hz, $J = 2,2$ Hz, H-6 α), 4,02 (ddd, 1H, $J = 11,4$ Hz, $J = 9,1$ Hz, $J = 5$ Hz, H-3 α), 3,82-3,64 (m, 2H, H-3 β , H-5 α), 3,47 (ddd, 1H, $J = 9,6$ Hz, $J = 3,3$ Hz, $J = 2,2$ Hz, H-5 β), 3,40 (s ancho, 1H, OH), 3,27 (dd, 1H, $J = J = 9,5$ Hz, H-4 α), 3,22 (dd, 1H, $J = J = 9,5$ Hz, H-4 β), 2,63 (s ancho, 1H, OH), 2,20 (ddd, 1H, $J = 13,7$ Hz, $J = 5,1$ Hz, $J = 1,6$ Hz, H-2e α), 2,18 (s, 6H, OAc), 2,14, 2,11 (2 s, 3H cada uno, OAc), 1,83 (ddd, 1H, $J = 13,6$ Hz, $J = 11,7$ Hz, $J = 3,6$ Hz, H-2a α), 1,75 (ddd, 1H, $J = J = 10,0$ Hz, $J = 12,1$ Hz, H-2a β).

Ejemplo 4

4,6-Di-O-acetil-2-desoxi-D-glucosa

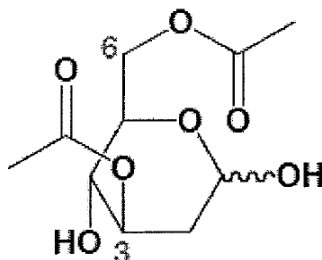


5 Proporción α/β 5:3; ^1H RMN (DMSO- d_6 + D_2O , δ) 5,17 (dd, $J = 2,1$ Hz, 1H, H-1 α), 4,72 (dd $J = 9,5$ Hz $J = 1,7$ Hz 1H, H-1 β), 4,55 (dd, $J = J = 9,5$ Hz, 1H, H-4 α), 4,48 (dd, $J = J = 9,7$ Hz, 1H, H-4 β), 4,08-4,00 (m, 2H, H-6 α H-6 β), 3,95-3,88 (m, 2H, H-6' α H-6' β , H-5 α), 3,86 (ddd, $J = 11,9$ Hz, $J = 9,4$ Hz, $J = 5,3$ Hz, 1H, H-3 α), (ddd, $J = 11,8$ Hz, $J = 9,0$ Hz, $J = 5,0$ Hz, 1H, H-3 β), (ddd, $J = 9,6$ Hz, $J = 5,4$ Hz, $J = 2,3$ Hz, 1H, H-5 β), 2,02 (s, 3H, OAc α), 2,01 (s, 3H, OAc β), 2,00 (m, 1H, H-2e β), 1,99 (s, 3H, OAc α), 1,98 (s, 3H, OAc β), 1,90 (ddd, $J = 12,8$ Hz, $J = 5,2$ Hz, $J = 0,9$ Hz, 1H, H-2e α), 1,55.

10

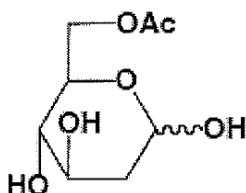
Ejemplo 5

3,6-Di-O-acetil-D-glucosa



Ejemplo 6

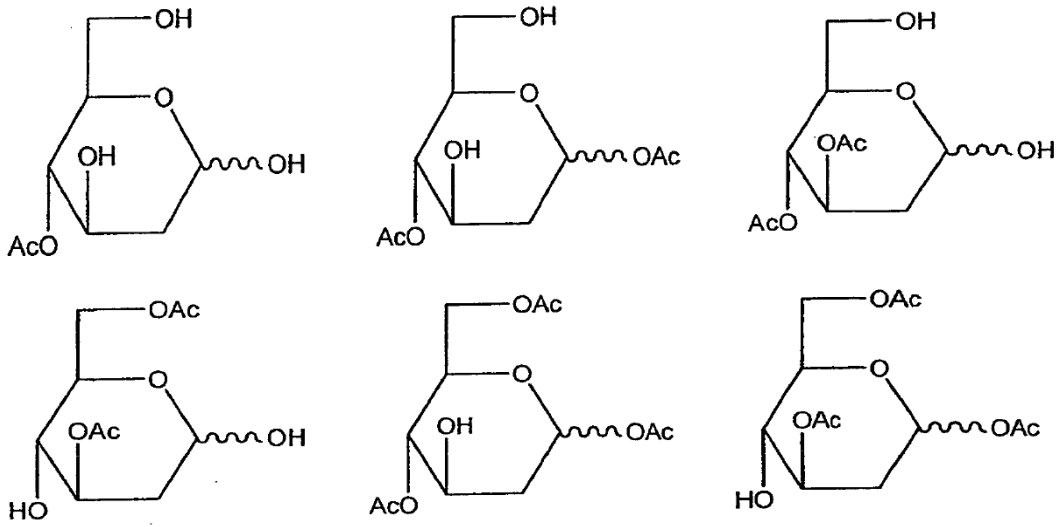
6-O-Acetil-2-desoxi-D-glucosa



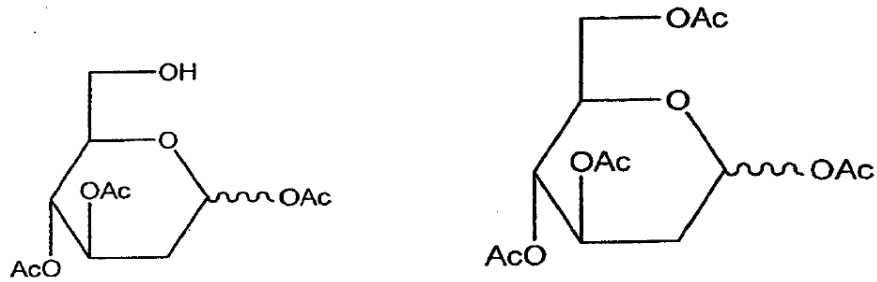
15

20 ^1H RMN (CDCl_3 , 300 MHz δ) ppm: 7,39-7,33 (m, 5H, H aromát.), 5,39 (s ancho, 1H, H-1), 4,8-4,7 (m, 5H, H-1 β , CH_2Ph $\alpha\beta$), 4,45 (dd, 1H, $J = 11,9$ Hz, $J = 2,2$ Hz, H-6 β), 4,42 (dd, 1H, $J = 9,7$ Hz, $J = 2,2$ Hz, H-6 β), 4,60 (dd, 1H, $J = 12,0$ Hz, $J = 1,6$ Hz, H-6 α), 4,27-4,10 (m, 2H, H-3 α , H-6 β), 4,06 (ddd, 1H, $J = 9,9$ Hz, $J = 4,7$ Hz, $J = 2,1$ Hz, H-5 α), 3,83-3,77 (m, 1H, H-3 β), 3,52 (ddd, 1H, $J = 9,5$ Hz, $J = 5,1$ Hz, $J = 2,3$ Hz, H-5 β), 3,47 (d, 1H, $J = 6,2$ Hz, OH β), 3,34 (dd, 1H, $J = 9,7$ Hz, $J = 9,0$ Hz, H-4 α), 3,32 (dd, 1H, $J = 8,5$ Hz, $J = 9,6$ Hz, H-4 β), 2,83 (dd, 1H, $J = 2,9$ Hz, $J = 2,2$ Hz, OH α), 2,29 (ddd, 1H, $J = 13,9$ Hz, $J = 5,3$ Hz, $J = 1,9$ Hz, H-2e β), 2,18 (ddd, 1H, $J = 13,0$ Hz, $J = 5,1$ Hz, $J = 1,2$ Hz, H-2e α), 2,13 (s, 6H, OAc), 1,71 (ddd, 1H, $J = 13,5$ Hz, $J = 3,5$ Hz, $J = 2,0$ Hz, H-2a α), 1,62 (ddd, 1H, $J = 12,6$ Hz, $J = 9,4$ Hz, $J = 11,7$ Hz, H-2a β).

Nuevos compuestos adicionales para uso en el tratamiento descrito en la presente memoria incluyen:



Otros compuestos para uso en el tratamiento descrito en la presente memoria incluyen:



Actividad *in vitro*

5 A continuación, en la Tabla 1 se expone la actividad *in vitro* sobre la línea celular pancreática Colo357-FG.

Tabla 1

| Compuesto | Estructura | Cl ₅₀ [mM] Colo357FG |
|-----------|------------|------------------------------------|
| 2-DG (*) | | 9,7 |
| Ejemplo 5 | | 1,6 |
| Ejemplo 1 | | 11,9 |

| Compuesto | Estructura | Cl ₅₀ [mM] Colo357FG |
|-----------|------------|------------------------------------|
| Ejemplo 2 | | 15,8 |
| Ejemplo 3 | | 17,2 |
| Ejemplo 4 | | 1,7 |

(*) solo para comparación y/o referencia

Actividad biológica *in vivo*

5 Se desarrollaron metodologías analíticas (CL/EM/EM) capaces de cuantificar estos acetato-azúcares y la liberación resultante de 2-DG en diversas biomatrices (plasma y tejido cerebral). Utilizando este método analítico se llevaron a cabo estudios preliminares de biodistribución en ratones CD-1 para examinar la farmacocinética de estos agentes novedosos.

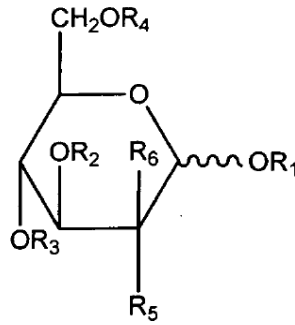
10 En pocas palabras, cuatro animales por cada grupo de tratamiento recibieron dosis equivalentes de, o bien 2-DG, o bien compuesto del Ejemplo 6 (6-O-acetato de 2-DG) o el compuesto del Ejemplo 4 (4,6-di-O-acetato de 2-DG), mediante sonda oral, utilizando el mismo vehículo. A continuación se sacrificaron los grupos individuales de animales a las 0,25, 0,5, 1, 2 y 4 horas después de la administración de la dosis. De cada animal se recogieron plasma y tejidos cerebrales y después se analizaron en cuanto a contenido de 2-DG mediante CL/espectrometría de masas.

15 Los resultados de estos estudios demuestran una diferencia clara y distinta en el aporte del compuesto activo a la sangre y al cerebro. La concentración plasmática pico de 2-DG aportada por el compuesto del Ejemplo 6 fue más del doble de la aportada por la 2-DG sola (97 frente a 46 g/mL). Lo que es más importante, la vida media en circulación de 2-DG derivada del compuesto del Ejemplo 6 fue el doble (1,2 frente a 0,6 horas) de la observada en la administración de 2-DG sola, y la medida global de exposición al fármaco (área bajo la curva) también fue el doble que la de la 2-DG. Estos datos demuestran que el compuesto del Ejemplo 6 proporciona una exposición más
20 consistente y persistente al antimetabolito monosacárido putativo, proporcionando concentraciones activas de 2-DG en el sitio de acción (cerebro) durante más del doble de tiempo que cuando se administra 2-DG sola.

25 El compuesto del Ejemplo 4 se comportó incluso mejor. Este compuesto proporcionó concentraciones plasmáticas medias más de 6 veces superiores a las observadas con dosis equivalentes de 2-DG. Análogamente, las concentraciones máximas en tejido cerebral también fueron consistentemente mayores (387,1 frente a 13,7 µg/g) que en el caso de dosis equivalentes de 2-DG. La exposición a 2-DG derivada de este compuesto del Ejemplo 4 tuvo también una duración mayor en el SNC, con 2-DG medible en el tejido cerebral durante un tiempo 8 veces mayor después de la administración de este compuesto que en el caso de una administración comparable de 2-DG. De hecho, transcurridas 2 horas después de la administración de 2-DG, la mayor concentración en tejido cerebral alcanzada fue de 12 µg/g, mientras que 4 horas después de la administración del compuesto del Ejemplo 4, se
30 observaron concentraciones de 2-DG de 256 µg/g de tejido cerebral.

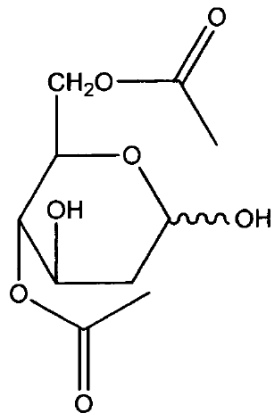
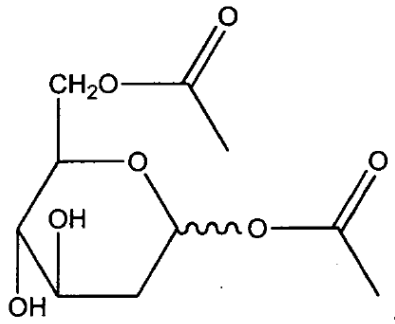
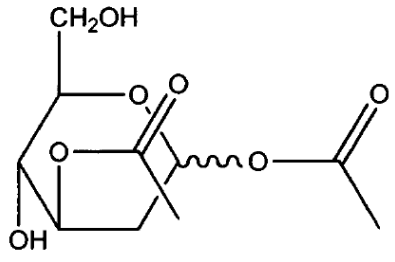
REIVINDICACIONES

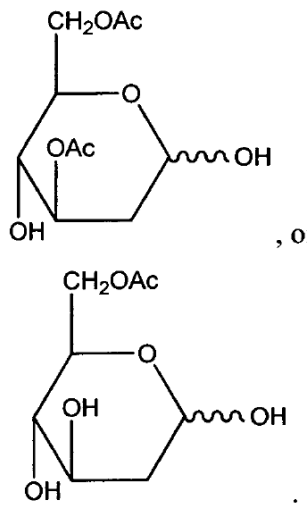
1. Un compuesto de Fórmula I para uso en el tratamiento de cáncer:



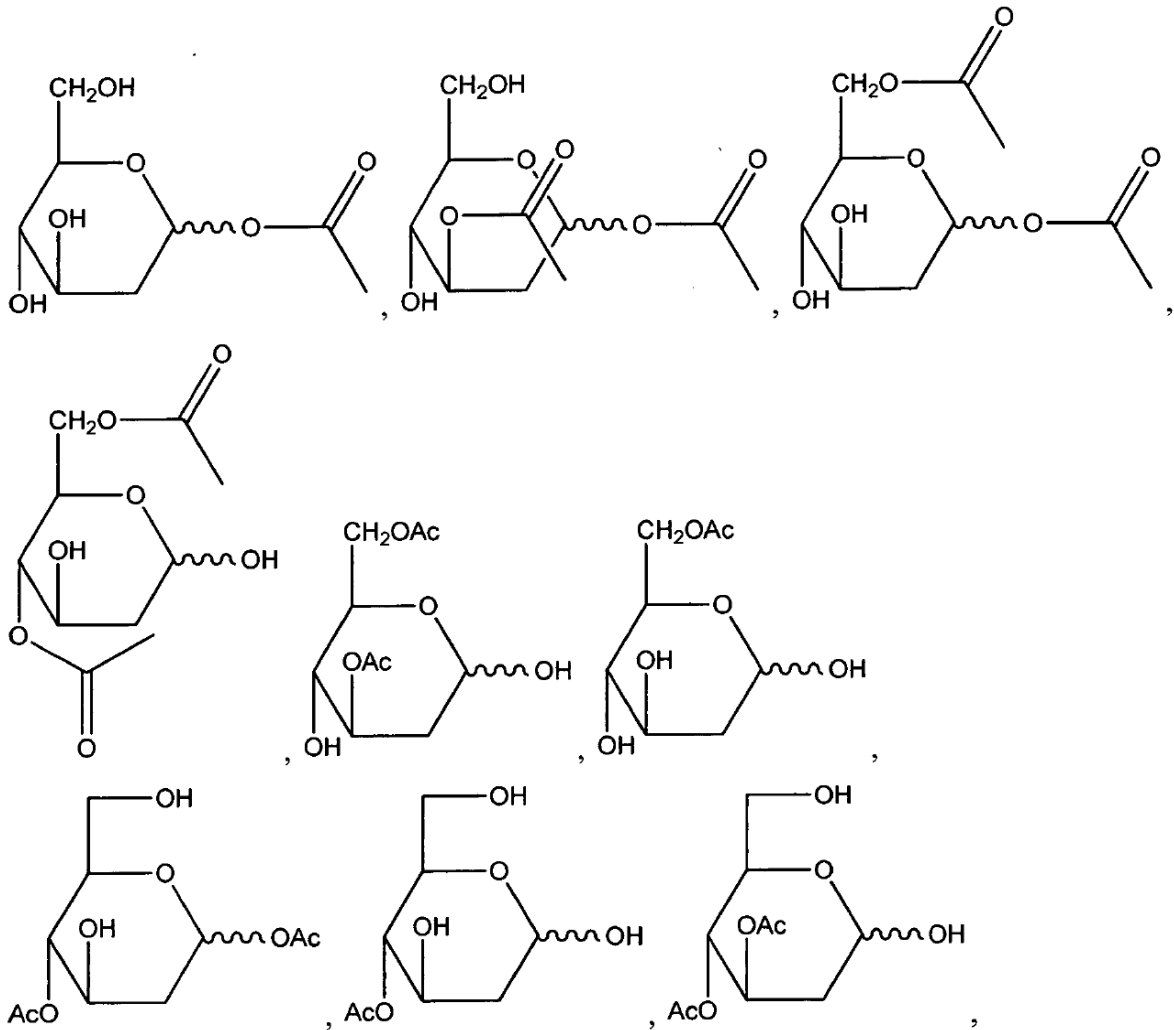
5 en donde R_1 , R_2 , R_3 y R_4 son cada uno, independientemente, H, COCH_3 , COCH_2CH_3 o $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$; R_5 y R_6 son cada uno, independientemente, H o F (^{18}F o ^{19}F); y al menos uno de R_1 , R_2 , R_3 y R_4 es COCH_3 , COCH_2CH_3 o $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$.

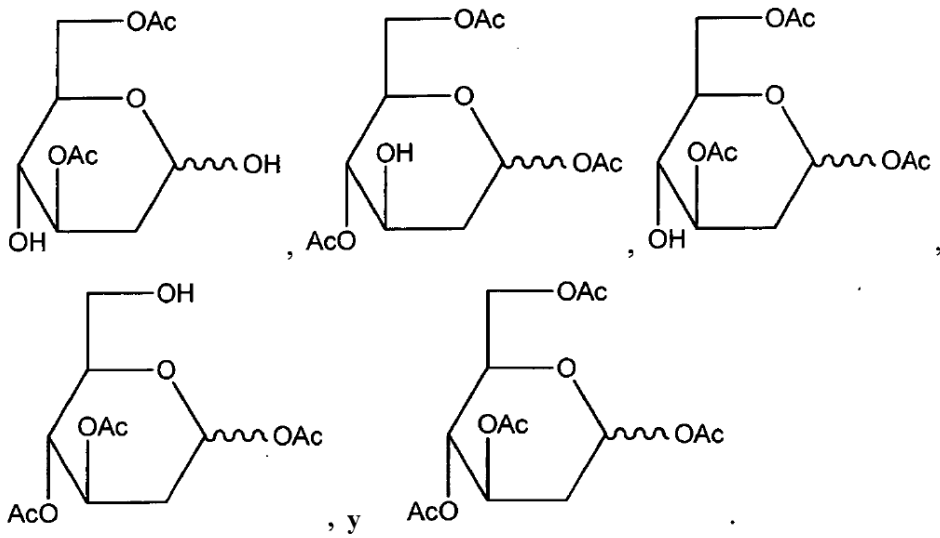
2. Un compuesto con la fórmula estructural:



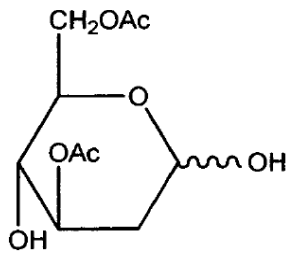


3. Compuesto según la reivindicación 1 para el uso según la reivindicación 1, seleccionado del grupo consistente en:

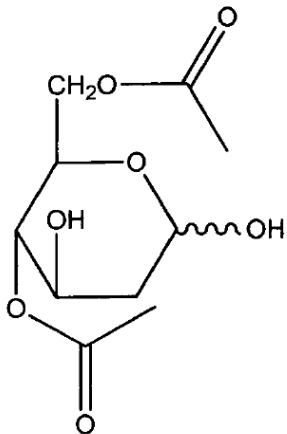




4. Compuesto según la reivindicación 3 para el uso según la reivindicación 1, con la fórmula estructural



5. Compuesto según la reivindicación 3 para el uso según la reivindicación 1, con la fórmula estructural



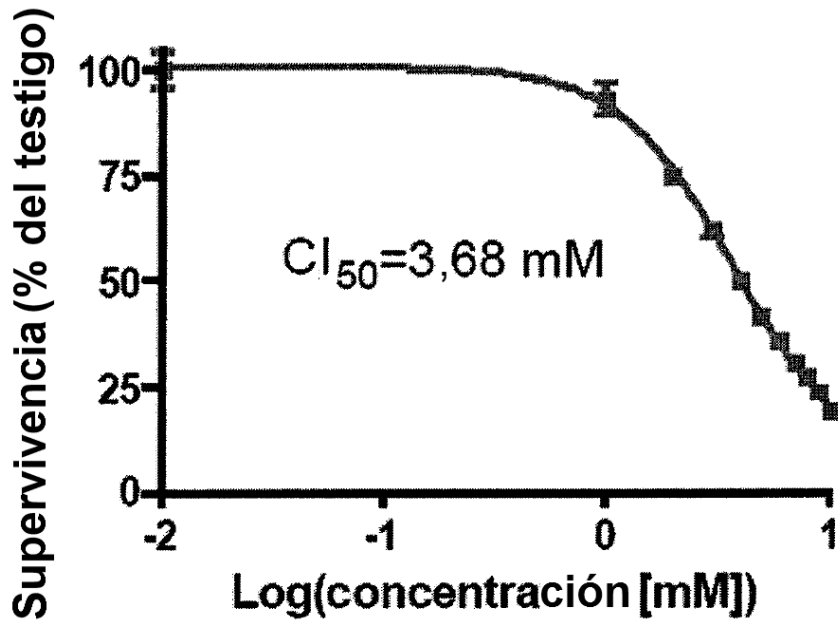


Figura 1

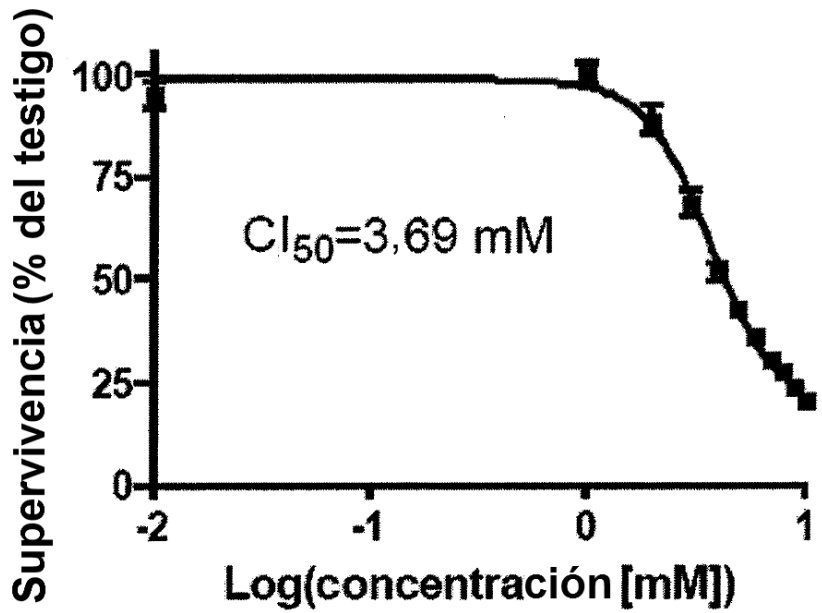


Figura 2

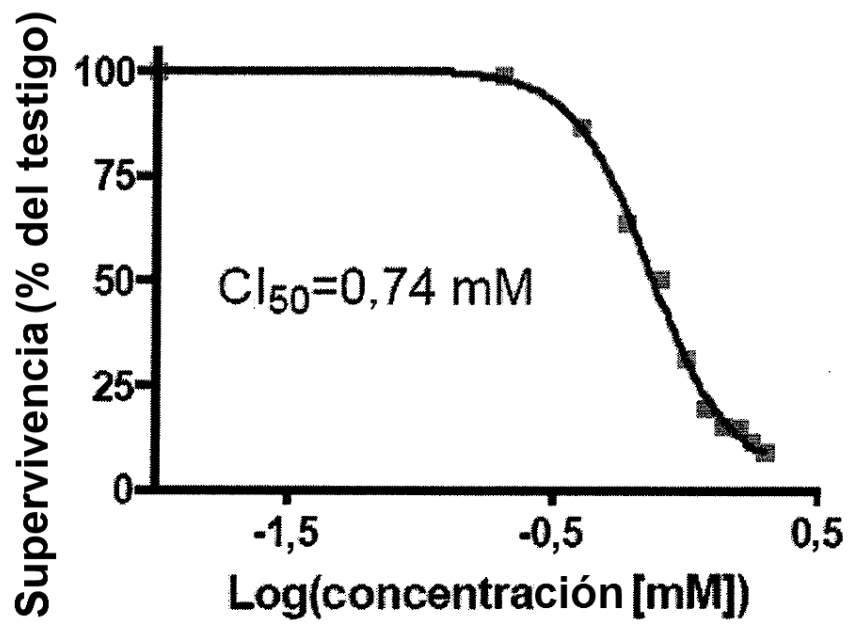


Figura 3

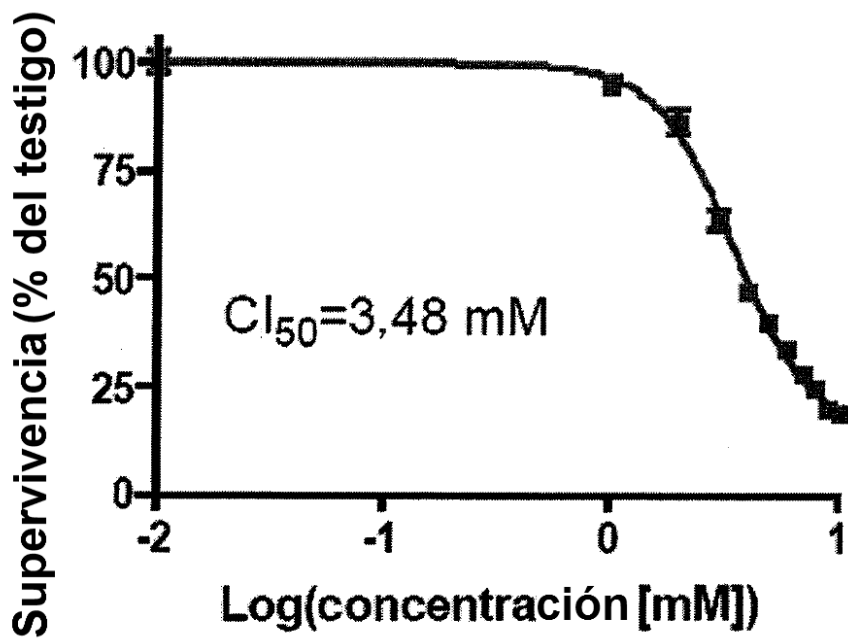


Figura 4

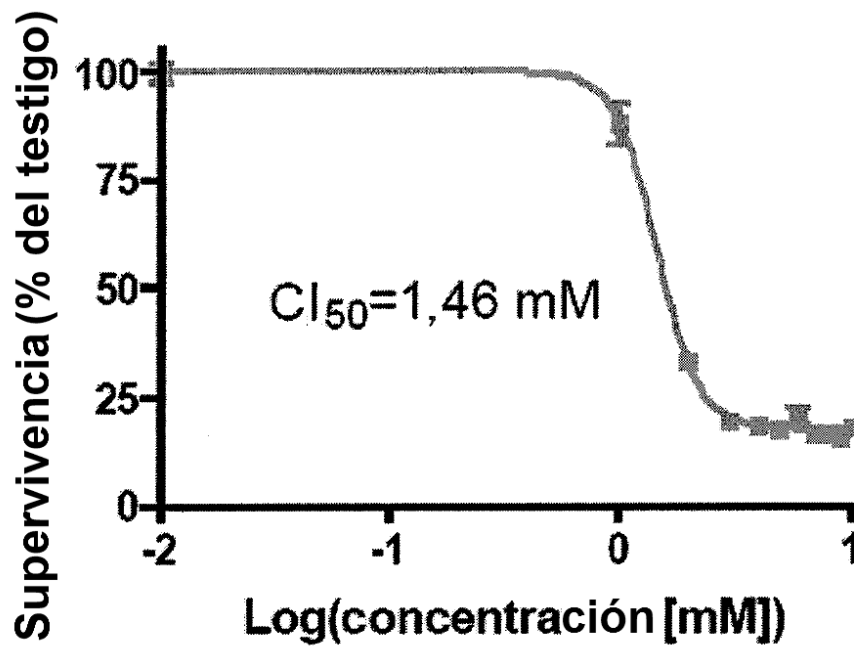


Figura 5

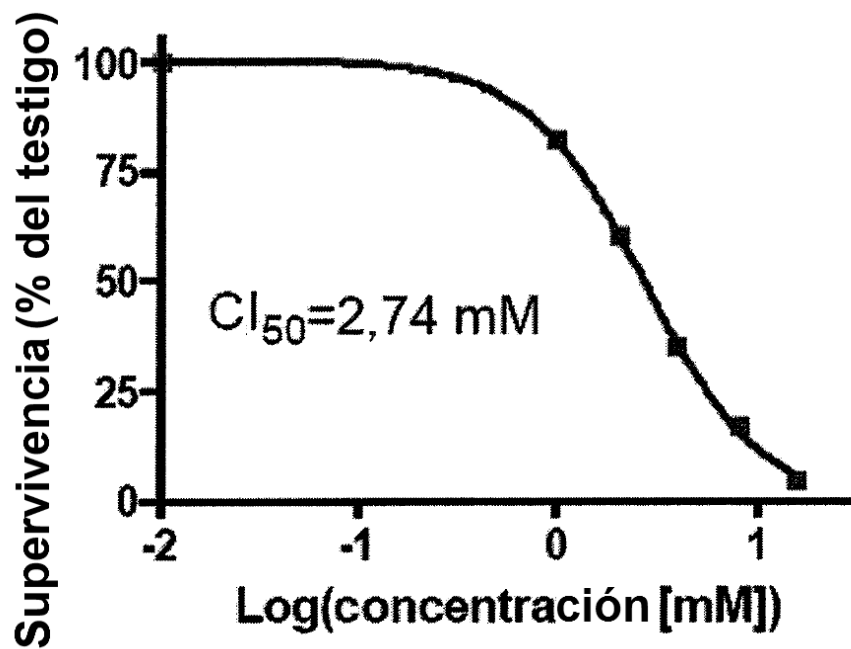


Figura 6