

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 434 791**

51 Int. Cl.:

**C07H 15/04** (2006.01)

**C07H 15/12** (2006.01)

**C07H 15/14** (2006.01)

**A61K 31/7012** (2006.01)

**A61P 31/20** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.07.2010 E 10728244 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.08.2013 EP 2451822**

54 Título: **Nuevos compuestos antivirales útiles para el tratamiento o la prevención de queratoconjuntivitis epidémica**

30 Prioridad:

**07.07.2009 SE 0950531**  
**08.07.2009 US 223900 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**17.12.2013**

73 Titular/es:

**ADENOVIR PHARMA AB (100.0%)**  
**Kullagatan 8**  
**252 20 Helsingborg, SE**

72 Inventor/es:

**STERNER, OLOV;**  
**ELLERVIK, ULF;**  
**APLANDER, KAROLINA y**  
**CARLSSON, ANDERS**

74 Agente/Representante:

**PONTI SALES, Adelaida**

**ES 2 434 791 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 compuestos antivirales útiles para el tratamiento o la prevención de queratoconjuntivitis epidémica

5 **Campo de la Invención**

10 [0001] La presente invención se refiere a nuevos compuestos antivirales, agregados antivirales que comprenden tales compuestos, composiciones farmacéuticas que comprenden tales agregados, y un método para tratar o prevenir la queratoconjuntivitis epidémica y otras enfermedades oculares causadas por virus, cuyo virus se une a residuos siálicos terminales presentes en la superficie celular, mediante el uso de tales compuestos.

**Antecedentes**

15 [0002] La queratoconjuntivitis epidémica (EKC) es una infección ocular seria y contagiosa (conjuntiva y cornea) causada por los adenovirus HAdV-8, HAdV-19, y HAdV-37 de especie HAdV-D, y HAdV-4 de especie E.

20 [0003] Además, también se ha descrito que HAdV-53 de especie D causa EKC (PloS One, 2009, 4(6), 1-14, doi:10.1371/journal.pone.0005635.g001). Además, el adenovirus denominado HAdV-22,37/H8 ha sido aislado de pacientes con EKC.

25 [0004] Recientemente, también se ha descrito que un virus denominado HAdV-54 causa EKC. (British Journal of Ophthalmology (2010) Hisatoshi Kaneko et al, "Epidemiological and virological features of epidemic keratoconjunctivitis due to new human adenovirus type 54 in Japan (Características epidemiológicas y virológicas de queratoconjuntivitis epidémica debido al nuevo tipo de adenovirus humano 54 en Japón), publicado en línea el 8 de junio de 2010: 10.1136/bjo.2009.178772).

30 [0005] Los síntomas de EKC son la inflamación en la conjuntiva (conjuntivitis) y en la cornea (queratitis), dolor, edema, visión reducida, lagrimeo, sensibilidad a la luz, sensación de un cuerpo extraño en el ojo y desarrollo de pseudo-membranas. Durante la fase aguda de la enfermedad (aproximadamente dos a tres semanas), los virus se encuentran presentes y en reproducción. Uno de los ojos generalmente se infecta primero y luego se expande al otro ojo en dos o tres días. La infección en el primer ojo generalmente es más seria. En aproximadamente el 30% de los pacientes, las opacidades de la córnea que provocan el deterioro de la visión del ojo permanecen durante semanas e incluso años.

35 [0006] Dado que la enfermedad es frecuentemente epidémica en su naturaleza, se la denomina queratoconjuntivitis epidémica (EKC).

40 [0007] El paciente no puede o se le recomienda no ir a trabajar o a la escuela debido a los síntomas y la naturaleza altamente contagiosa de la enfermedad. Aproximadamente el 45% de las personas que rodean al paciente, por ejemplo miembros de la familia, se contagian. El índice de reaparición es del 25% (dentro de los cinco años) después de la primera infección y 50% después de la segunda.

45 [0008] La EKC es transferida entre los individuos a través del contacto físico, por ejemplo del ojo a la mano, de la mano al picaporte, del picaporte a la mano de otra persona, y luego a un ojo no infectado. Los virus que causan EKC pueden sobrevivir por ejemplo en picaportes, toallas, etc, durante meses. Las medidas adecuadas de control de infección deben ser cumplidas para evitar y reducir los brotes epidémicos.

50 [0009] Se ha utilizado ampliamente el tratamiento de la fase aguda de la infección con esteroides tópicos. Sin embargo, los descubrimientos recientes concluyen en que los esteroides pueden prolongar la persistencia en la córnea y el uso frecuente puede conducir a síntomas de ojo seco de larga duración. La recomendación es evitar el uso de esteroides en la fase aguda y crónica de la enfermedad.

55 [0010] Esta enfermedad altamente contagiosa se puede hallar en todo el mundo, pero es más común en países altamente poblados de Asia. La conjuntivitis adenovirica es particularmente problemática en Japón en donde se describen aproximadamente 1.000.000 de casos de EKC por año.

60 [0011] La EKC aparece internacionalmente de modo esporádico y epidémico y es endémica en el este asiático, incluyendo Japón, Corea y Taiwán. Ha ganado reconocimiento como un problema de salud importante en estas regiones. Los costos económicos y sociales de esta epidemia también son altos. Los lugares de trabajo, instituciones públicas, tal como escuelas y centros de cuidado diario de niños deben ser cerrados al producirse un brote de una epidemia. Se pierden muchas horas de trabajo por año como consecuencia de esta enfermedad.

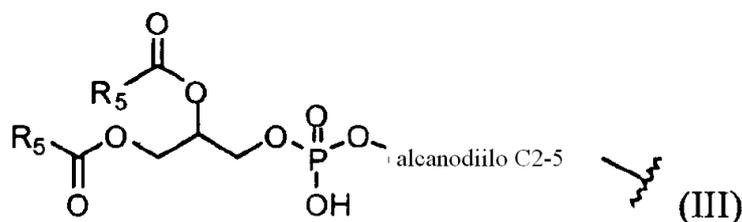
65 [0012] Aunque la EKC normalmente se cura de 2 a 3 semanas, los costes para la sociedad en términos de cuidado de salud y pérdida de producción causados por esta enfermedad altamente contagiosa son muy importantes. La enfermedad también tiene implicaciones a largo plazo en la vista y es recurrente.



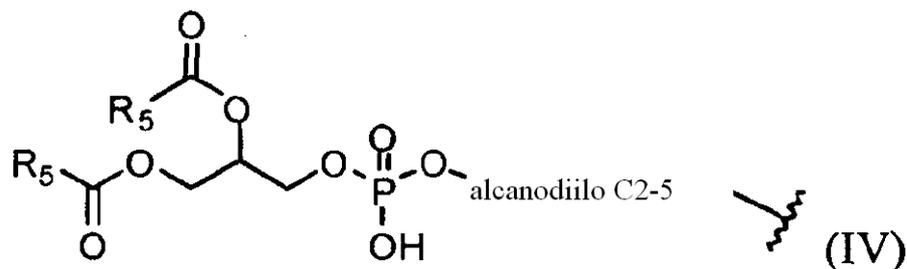
es R3 y un alcanodiilo de C2-7 si R2 es R4 o R8, en el que "X" y R2 están conectados a diferentes átomos de carbono de dicho alcanodiilo y en el que dichos átomos de carbono diferentes son los átomos de carbono más separados en dicho alcanodiilo; R3 se selecciona del grupo que consiste en N(alquilo C0-3)C(O)R5, OC(O)R5, C(O)N(alquilo C0-3)R5 y C(O)OR5, en el que R5 es una cadena lineal de carbonos que comprende de 14 a 30 átomos de carbono; dicha cadena de carbonos es saturada o comprende uno o más dobles y/o triples enlaces; además, dicha cadena de carbonos está no sustituida o sustituida con uno o más grupos alquilo C1-C5; R4 es un sustituyente de acuerdo con la fórmula (II),



en el que "D" está conectado a "A" y se selecciona del grupo que consiste en N(alquilo C0-3)C(O), OC(O), C(O)N(alquilo C0-3) y C(O)O; el número entero "m" es 0 (cero) a 3; el número entero "n" es 1 a 15; el número entero "p" es 0 (cero) a 3; "E" se selecciona del grupo que consiste en N(alquilo C0-3)C(O), OC(O), C(O)N(alquilo C0-3) y C(O)O; y R7 se selecciona del grupo que consiste en R5, como se define anteriormente, y R6, en el que R6 es un sustituyente de acuerdo con la fórmula (III)



en el que cada R5, independientemente, es como se define anteriormente, y el alquilo C2-5 está unido a "E"; y R8 se selecciona del grupo que consiste en N(alquilo C0-3)C(O)R9, OC(O)R9, C(O)N(alquilo C0-3)R9 y C(O)OR9, en el que R9 es un sustituyente de acuerdo con la fórmula (IV)



en el que cada R5, independientemente, es como se define anteriormente; como un ácido en su forma protonada no cargada, una sal de adición farmacéuticamente aceptable, un solvato, o un solvato de una sal del mismo.

**[0025]** De acuerdo con otro aspecto de la invención, se da a conocer un agregado que comprende una pluralidad de un compuesto de acuerdo con la fórmula (I) y una pluralidad de una molécula anfifílica separada de dicho compuesto y capaz de formar bicapas en agua.

**[0026]** De acuerdo con otro aspecto de la invención, se da a conocer una composición farmacéutica que comprende un agregado, como se describe anteriormente, y por lo menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

**[0027]** De acuerdo con otro aspecto de la invención, se pueden usar en un tratamiento un compuesto de acuerdo con la fórmula (I), un agregado, como se describe anteriormente, o una composición farmacéutica, como se describe anteriormente.

**[0028]** De acuerdo con otro aspecto de la invención, se pueden usar un compuesto de acuerdo con la fórmula (I), un agregado, como se describe anteriormente, o una composición farmacéutica, como se describe anteriormente, en el tratamiento y/o prevención de una infección ocular, tal como queratoconjuntivitis epidémica, causada por un virus, cuyo virus se une a los residuos siálicos terminales presentes en la superficie celular de la célula a ser infectada por dicho virus. Ejemplos de dichos virus incluyen HAdV-8, HAdV-19, HAdV-37, HAdV-53, HAdV-54 y HAdV-22,37/H8.

**[0029]** Además, se definen características ventajosas de varias realizaciones de la invención en las reivindicaciones dependientes y en la descripción detallada siguiente.

**Breve descripción de los dibujos****[0030]**

La figura 1 describe la capacidad de los agregados de acuerdo con la presente invención de causar el agregado de HAdV37.

Las figuras 2 y 3 describen la capacidad de los agregados de acuerdo con la presente invención de inhibir HAdV37 de infectar las células HCE en varias concentraciones.

**Descripción detallada de las realizaciones preferidas.**

**[0031]** El término "sal de adición" pretende indicar las sales formadas por la adición de un ácido farmacéuticamente aceptable, tales como ácidos orgánicos o inorgánicos, o una base farmacéuticamente aceptable. El ácido orgánico puede ser, pero sin limitación, ácido acético, propanoico, metanosulfónico, bencenosulfónico, láctico, málico, cítrico, tartárico, succínico o maleico. El ácido inorgánico puede ser, pero sin limitación, ácido clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, nítrico o ácido fosfórico. La base puede ser, pero sin limitación, amoníaco e hidróxidos de metales alcalinos o alcalinotérreos. El término "sal de adición" también comprende formas de adición de hidratos y disolventes, tales como hidratos y alcoholatos.

**[0032]** Como se utiliza en el presente documento, "alquilo" usado solo o como sufijo o prefijo, pretende incluir grupos de hidrocarburos alifáticos saturados tanto de cadena lineal como ramificada que poseen un número específico de átomos de carbono. Por ejemplo "alquilo C1-6" indica alquilo que posee 1, 2, 3, 4, 5 ó 6 átomos de carbono.

**[0033]** Como se utiliza en el presente documento, "alcanodiilo", usado solo o como sufijo o prefijo, pretende incluir grupos de hidrocarburos alifáticos saturados tanto de cadena lineal como ramificada que poseen un número específico de átomos de carbono.

**[0034]** Por ejemplo, "alcanodiilo de C1-6" indica un alcanodiilo que posee 1, 2, 3, 4, 5 ó 6 átomos de carbono.

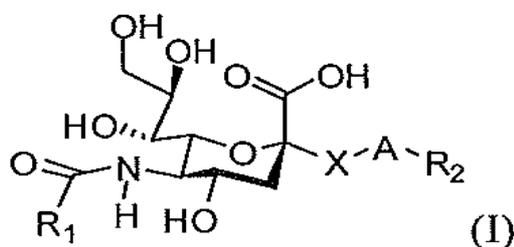
**[0035]** Como se utiliza en el presente documento, los grupos unidos por un grupo alcanodiilo, si no está indicado, pueden estar unidos a cualquiera de los átomos de carbono del grupo alcanodiilo.

**[0036]** Los ejemplos de alquilo incluyen, pero sin limitación, metilo, etilo, n-propilo, i-propilo, n-butilo, i-butilo, sec-butilo, t-butilo, pentilo, y hexilo.

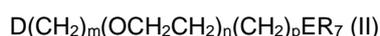
**[0037]** Los ejemplos de alcanodiilo incluyen, pero sin limitación, metileno, etileno (etandiilo), propileno (propandiilo), y butileno (butandiilo).

**Compuestos**

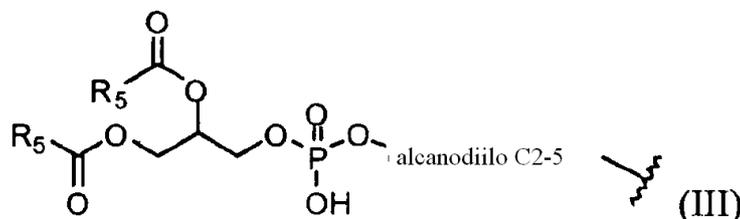
**[0038]** Una realización de la invención se refiere a un compuesto de acuerdo con la fórmula (I)



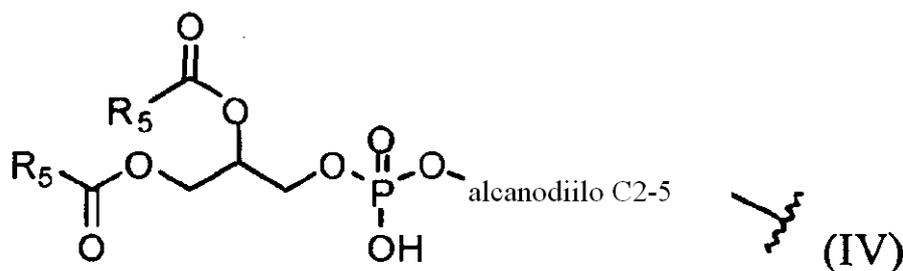
en el que R1 es un grupo metilo o etilo; R2 es R3, R4 o R8; "X" es O, S o NH; y "A" es un alcanodiilo de C3-7 si R2 es R3 y un alcanodiilo de C2-7 si R2 es R4 o R8, en el que "X" y R2 están conectados a diferentes átomos de carbono de dicho alcanodiilo y en el que dichos átomos de carbono diferentes son los átomos de carbono más separados en dicho alcanodiilo; R3 se selecciona del grupo que consiste en N(alquilo C0-3)C(O)R5, OC(O)R5, C(O)N(alquilo C0-3)R5 y C(O)OR5, en el que R5 es una cadena lineal de carbonos que comprende de 14 a 30 átomos de carbono; dicha cadena de carbonos es saturada o comprende uno o más dobles y/o triples enlaces; además, dicha cadena de carbonos está no sustituida o sustituida con uno o más grupos alquilo C1-C5; R4 es un sustituyente de acuerdo con la fórmula (II),



en el que "D" está conectado a "A" y se selecciona del grupo que consiste en N(alquilo C0-3)C(O), OC(O), C(O)N(alquilo C0-3) y C(O)O; el número entero "m" es 0 (cero) a 3; el número entero "n" es 1 a 15; el número entero "p" es 0 (cero) a 3; "E" se selecciona del grupo que consiste en N(alquilo C0-3)C(O), OC(O), C(O)N(alquilo C0-3) y C(O)O; y R7 se selecciona del grupo que consiste en R5, como se define anteriormente, y R6, en el que R6 es un sustituyente de acuerdo con la fórmula (III).



en el que cada R5, independientemente, es como se define anteriormente, y el alquilo C2-5 está unido a "E"; y R8 se selecciona del grupo que consiste en N(alquilo C0-3)C(O)R9, OC(O)R9, C(O)N(alquilo C0-3)R9 y C(O)OR9, en el que R9 es un sustituyente de acuerdo con la fórmula (IV).



en el que cada R5, independientemente, es como se define anteriormente; como un ácido en su forma protonada no cargada, una sal de adición farmacéuticamente aceptable, un solvato, o un solvato de una sal del mismo. Además dicho compuesto puede estar presente como un estereoisómero puro, o en una mezcla racémica, diastereomérica, escalémica o anomérica que comprende dicho compuesto. Preferentemente, dicho compuesto se encuentra presente como un estereoisómero puro o una mezcla anomérica.

**[0039]** Como se describe anteriormente, R1 de la fórmula (I) es un grupo metilo o etilo. Preferentemente, R1 es un grupo metilo. Además, X de la fórmula (I) se puede seleccionar, como se describe anteriormente, entre O, S, o NH. Preferentemente, X es O. "A" en la fórmula (I) es, como se describe anteriormente, un alcanodiilo de C3-7, si R2 es R3, o un alcanodiilo de C2-7, si R2 es R4 o R8. Preferentemente, dicho alcanodiilo de C3-7 y dicho alcanodiilo de C2-7 son alcanodilos de cadena lineal no ramificada, tal como 1,5-pentandiilo.

**[0040]** Una realización de la invención se refiere a un compuesto de acuerdo con la fórmula (I), en el que "A" es una cadena lineal no ramificada de alcanodiilo de C3-5, tal como 1,5-pentandiilo, R1 es metilo, X es O y R5 es una cadena de carbonos lineal no sustituida.

**[0041]** Una realización de la invención se refiere a un compuesto de acuerdo con la fórmula (I), en el que R1 es metilo, "X" es O, R5 es una cadena de carbonos lineal no sustituida, R2 es R4 o R8 y "A" es un alcanodiilo de C2-5 de cadena lineal no ramificada, tal como 1,2-etandiilo o 1,5-pentandiilo.

**[0042]** Como se describe anteriormente, R2 de la fórmula (I) es R3, R4 o R8. Preferentemente, R2 es R4 o R8, y más preferentemente R2 es R4. Sin embargo, R2 también puede ser R3.

**[0043]** Como se describe anteriormente, R5 de la fórmula (I) es una cadena de carbonos lineal que comprende de 14 a 30 átomos de carbono. La cadena de carbonos puede comprender opcionalmente uno o más dobles y/o triples enlaces. Además, dicha cadena de carbonos puede opcionalmente estar sustituida con uno o más, tal como 1 a 3, grupos alquilo C1-C5, tal como grupos metilos. Preferentemente, R5 comprende de 20 a 30 átomos de carbono, tal como 24 a 26 átomos de carbono. Aunque R5 puede estar sustituido, se prefiere que R5 sea no sustituido.

**[0044]** De acuerdo con una realización, R5 comprende por lo menos un doble o triple enlace. Preferentemente, R5

comprende por lo menos un triple enlace y más preferentemente dos triples enlaces conjugados. De este modo, R5 puede ser, por ejemplo, un grupo 9,11-tetracosadiinilo.

5 **[0045]** De acuerdo con una realización, R5 es una cadena de carbonos lineal que comprende de 20 a 30 átomos de carbono y dos triples enlaces conjugados, tal como R5 es un grupo 9,11-tetracosadiinilo.

10 **[0046]** Como se describe anteriormente, R4 es un sustituyente de acuerdo con la fórmula (II). Aunque el número entero "p" puede ser de 0 (cero) a 3, se prefiere que "p" sea 0 (cero). El número entero "m", que puede ser de 0 (cero) a 3, preferentemente es 2 ó 3. Aunque el número entero "n" puede ser de 1 a 15, se prefiere que "n" sea 3 o más, tal como 4 ó 5 o más. Además, aunque el número entero "n" puede ser de hasta 15, se prefiere que "n" sea 12 o menos.

15 **[0047]** De acuerdo con una realización, R2 es R4 y el número entero "n" es de 4 a 15. La presencia de dicho enlazador de polietilenglicol parece aumentar la actividad antiviral, la cual se analiza posteriormente, de un agregado que comprende un compuesto de acuerdo con la fórmula (I).

**[0048]** En compuestos en los que "n" es 4 o mayor, se prefiere que R5 comprenda 20 átomos de carbono o más.

20 **[0049]** Como se describe anteriormente, "D" de la fórmula (II) se selecciona del grupo que consiste en N(alquilo C0-3)C(O), OC(O), C(O)N(alquilo C0-3) y C(O)O. Preferentemente, "D" se selecciona del grupo que consiste en N(alquilo C0-1)C(O) y C(O)N(alquilo C0-1). Más preferentemente, "D" es NHC(O).

25 **[0050]** Como se describe anteriormente, "E" se selecciona del grupo que consiste en N(alquilo C0-3)C(O), OC(O), C(O)N(alquilo C0-3) y C(O)O. Preferentemente, "E" se selecciona del grupo que consiste en N(alquilo C0-1)C(O) y OC(O). Si "E" se selecciona del grupo que consiste en N(alquilo C0-1)C(O) y OC(O), entonces R5 es parte del residuo de ácido carboxílico. Más preferentemente, "E" es NHC(O).

**[0051]** Aunque R7 se puede seleccionar entre R5 y R6, se prefiere que R7 sea R5.

30 **[0052]** Si R2 es R4 y R7 es R6, entonces el alcanodiilo de C2-5 de R6 es preferentemente 1,2-etandiilo (etileno) y "E" es preferentemente C(O)NH.

35 **[0053]** De acuerdo con una realización, R2 es R4, "D" es NHC(O) o OC(O), el número entero "m" es 2, el número entero "p" es 0 (cero), "E" es NHC(O) o OC(O) y R7 es R5. En tal realización, se prefiere que R1 sea metilo y que X sea O. Además, se prefiere que "A" sea alcanodiilo de C2-C5 de cadena lineal, tal como 1,2-etandiilo o 1,2-pentandiilo. Además, se prefiere que el número entero "n" sea 3 o más en tal realización.

40 **[0054]** De acuerdo con una realización, R2 es R4, "D" es C(O)NH o C(O)O, el número entero "m" es 2, el número entero "p" es 0 (cero), "E" es NHC(O) o OC(O), y R7 es R5. En tal realización, se prefiere que A sea una cadena lineal alcanodiilo de C2-C5, tal como etan-1,2-diilo o pentano-1,2-diilo. Además, se prefiere que para el número entero "n" sea de 3 o mayor en dicha realización.

45 **[0055]** Aunque, como se describe anteriormente, se prefiere que R2 sea R4 o R8, una realización de la invención se refiere a un compuesto de la fórmula (I), en el que R2 es R3 y R3 es NHC(O)R5 o OC(O)R5. Preferentemente, R3 es NHC(O)R5 en dicha realización.

50 **[0056]** De acuerdo con una realización, un compuesto de acuerdo con la fórmula (I) se puede seleccionar del grupo que consiste en ácido 6,19-diaza-10,13,16-trioxa-7,20-dioxo-tritetracontanil 5-acetamido-3,5-didesoxi-D-glicero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonilopiranosilónico, ácido 6,25-diaza-10,13,16,19,22-pentaoxa-7,26-dioxo-nonatetracontanil 5-acetamido-3,5-didesoxi-D-glicero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonilopiranosilónico, ácido 6,46-diaza-10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46-dodecaoxa-7,47-dioxo-tetrahexacontanil 5-acetamido-3,5-didesoxi-D-glicero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonilopiranosilónico, ácido 6,19-diaza-10,13,16-trioxa-7,20-dioxo-29,31-tetratetraconta-diinil 5-acetamido-3,5-didesoxi-D-glicero-D-galacto-2-nonilopiranosilónico, ácido 6,25-diaza-10,13,16,19,22-pentaoxa-7,26-dioxo-35,37-pentacontadiinil 5-acetamido-3,5-didesoxi-D-glicero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonilopiranosilónico y ácido 6,46-diaza-10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46-dodecaoxa-7,47-dioxo-56,58-henheptaconta-diinil 5-acetamido-3,5-didesoxi-D-glicero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonilopiranosilónico. Un compuesto de acuerdo con la fórmula (I) se puede seleccionar del grupo que consiste en 6,19-diaza-10,13,16-trioxa-7,20-dioxo-29,31-tetratetraconta-diinil 5-acetamido-3,5-didesoxi-D-glicero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonilopiranosilónico, 6,25-diaza-10,13,16,19,22-pentaoxa-7,26-dioxo-35,37-pentacontadiinil 5-acetamido-3,5-didesoxi-D-glicero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonilopiranosilónico y ácido 6,46-diaza-10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46-dodecaoxa-7,47-dioxo-56,58-henheptaconta-diinil 5-acetamido-3,5-didesoxi-D-glicero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonilopiranosilónico.

65 **[0057]** Como se describe anteriormente, algunas realizaciones de la presente invención se refieren a un compuesto de acuerdo con la fórmula (I), como un ácido en su forma protonada no cargada, una sal de adición farmacéuticamente aceptable, tal como un ácido en su forma desprotonada, solvato, o solvato de una sal del mismo. Además, el compuesto de acuerdo con la fórmula (I) puede estar presente como un estereoisómero puro o una

mezcla anomérica.

**[0058]** Si se encuentra presente en una mezcla anomérica, se prefiere si prevalece el anómero  $\alpha$ . Por consiguiente, se prefiere que un 75% o más, tal como más del 90%, 95%, 99% o incluso más del 99,9% de un compuesto esté presente como el anómero  $\alpha$ .

#### *Agregados*

**[0059]** Como la parte receptora celular de la membrana celular, cuyo adenovirus que causa EKC lo utiliza para adherirse a la célula, posee residuos de ácido siálico terminales, se incorporó una pluralidad de un compuesto, como se describe en el presente documento, en un agregado anfifílico que comprende una pluralidad de una molécula anfifílica capaz de formar bicapas en agua y separadas de dicho compuesto. Se descubrió que dichos agregados inhiben la unión de HAdV-37 en las células de córnea humana de modo más efectivo que el compuesto en la forma monovalente.

**[0060]** Un agregado que comprende una molécula anfifílica capaz de formar bicapas en agua, puede estar presente como una bicapa con un interior lipofílico.

**[0061]** Sin estar unidos a ninguna teoría, parece que dicho agregado puede caracterizarse como un agregado polivalente con respecto al número de residuos de ácido siálico en un solo agregado disponible para la unión al adenovirus. Por lo tanto, tales agregados pueden ser usados para tratar y/o prevenir EKC más efectivamente que un residuo de ácido siálico correspondiente o ácido siálico en sí mismo.

**[0062]** Por lo tanto, tal agregado puede superar varias de las desventajas con el uso de SA-HSA. En particular, los constituyentes del agregado son moléculas bien definidas y el agregado estará libre de cualquier agente infeccioso.

**[0063]** Por consiguiente, una realización de la presente invención se refiere a un agregado que comprende una pluralidad de un compuesto como se describe en el presente documento y una pluralidad de una molécula separada de dicho compuesto. Tal molécula puede ser una molécula anfifílica capaz de formar bicapas en agua. El agregado puede comprender una bicapa formada por dicha molécula. Como el agregado comprende una molécula anfifílica capaz de formar bicapas en agua, se puede parecer a una membrana celular. Por lo tanto, los compuestos que poseen una parte lipofílica más grande, tal como los compuestos descritos en la presente, pueden insertarse en el agregado.

**[0064]** Cuando está insertado en dicho agregado en una solución acuosa, el residuo del ácido siálico de un compuesto, como se describe en el presente documento, se presentará al medio acuoso circundante. La parte lipofílica de los compuestos que comprenden R5 de la fórmula (I) estará escondida en el agregado.

**[0065]** Dicho agregado puede comprender por lo menos 40% molar de una molécula anfifílica capaz de formar bicapas en agua. Preferentemente, comprende 50% molar o más, tal como 65, 75 o incluso 85% molar o más, de dicha molécula.

**[0066]** De modo similar, el contenido de dicha molécula anfifílica también puede determinarse en base al peso. Por consiguiente, un agregado, como se describe en el presente documento, puede comprender 40% en peso o más de una molécula anfifílica capaz de formar bicapas en agua. Preferentemente, comprende 50% en peso o más, tal como 65, 75 o incluso 85% en peso o más, de dicha molécula anfifílica.

**[0067]** Los agregados tal como se describen en la presente pueden comprender 50% molar o menos de un compuesto como se describe en el presente documento. El contenido de dicho compuesto puede ser 25, 15, 10 ó 5% molar o menos.

**[0068]** Un contenido demasiado alto de dicho compuesto puede conferir la estabilidad del agregado. Además, un contenido demasiado alto puede colocar los compuestos discretos que presentan residuos de ácido siálico en el medio acuoso circundante demasiado cerca uno de otro. Por el contrario, un contenido demasiado bajo puede conducir a una unión no satisfactoria con el virus. Por consiguiente, el contenido de dicho compuesto, de acuerdo con una realización, puede ser de 0,1 a 25% molar, tal como de 5 a 15% molar. De acuerdo con otra realización, el contenido es de aproximadamente 10% molar.

**[0069]** De modo similar, el contenido de dicho compuesto, de acuerdo con una realización, puede ser de 0,1 a 25% en peso, tal como de 1 a 15 % en peso o de 5 a 15 % en peso. De acuerdo con otra realización, el contenido es de aproximadamente 10 % en peso.

**[0070]** Habitualmente, una molécula anfifílica capaz de formar una bicapa en agua comprende por lo menos una, tal como una o dos, cadenas de carbono lipofílicas. Dicha cadena o cadenas pueden ser saturadas. Además, dicha cadena o cadenas pueden ser no insaturadas y así comprender uno o varios dobles y/o triples enlaces. Aunque dicha cadena o cadenas de carbono pueden ser ramificadas, se prefiere que dicha cadena o cadenas de carbono

sean lineales. La cadena o cadenas de carbono constituyen habitualmente la mayor parte de la parte lipofílica de dicha molécula anfifílica. Puede comprender más de 12 átomos de carbono. De acuerdo con una realización, la cadena de carbono comprende 16 átomos de carbono o más, tal como 20 átomos de carbono o más.

5 **[0071]** Aunque se puede usar cualquier molécula capaz de formar una bicapa en agua, puede ser ventajoso usar una molécula que comprenda una cadena de carbonos lineal, en la que dicha cadena de carbonos comprende por lo menos un triple enlace, tal como dos triples enlaces conjugados.

10 **[0072]** De acuerdo con una realización, dicha molécula capaz de formar una bicapa en agua se puede seleccionar entre moléculas que comprenden un grupo 9,11-tetracosadiinilo. Un ejemplo de dicha molécula es el ácido 10,12-pentacosadiinoico.

15 **[0073]** Si los constituyentes del agregado comprenden triples enlaces conjugados, tal como hace el ácido 10,12-pentacosadiinoico, los constituyentes del agregado pueden polimerizarse mediante tratamiento con radiación UV. Una realización de la invención se refiere de este modo a dicho agregado, en el que dicho agregado ha sido tratado con radiación UV para provocar la polimerización.

20 **[0074]** Un compuesto de acuerdo con la fórmula (I), presente en un agregado tal como se describe en el presente documento, y que comprende triples enlaces conjugados, tal como R5 de la fórmula (I) siendo 9,11-tetracosadiinilo, puede ser parte de dicha red polimérica formada mediante el tratamiento con radiación UV.

25 **[0075]** El grado de polimerización en dichos agregados puede ser, de acuerdo con una realización, de por lo menos el 50% o más, tal como 60, 70 o incluso 80%, o más. En este contexto, el grado de polimerización pretende indicar el porcentaje de los triples enlaces que han pasado a formar parte de la red de polímero polimerizada.

30 **[0076]** De acuerdo con otra realización, los agregados que pueden ser polimerizados, tal como mediante tratamiento con radiación UV, han sido tratados con cuidado a efectos de evitar la polimerización, tal como evitando la exposición a la radiación UV. De acuerdo con una realización, el 10% o menos, tal como 5, 1 o incluso 0,1 o menos, de los constituyentes en el agregado, que pueden ser polimerizados, han sido polimerizados.

35 **[0077]** En una realización, R5 en la fórmula (I), se selecciona entre un grupo funcional también presente en la molécula anfifílica siendo parte del agregado. Por ejemplo, si R5 es 9,11-tetracosadiinilo, entonces dicha molécula puede ser ácido 10,12-pentacosadiinoico. Además, si dicha molécula es un fosfolípido siendo un diéster de glicerol, entonces R5 puede seleccionarse entre la cadena de carbonos en uno de los residuos de ácidos grasos en dicho éster.

40 **[0078]** Habitualmente, una molécula anfifílica capaz de formar una bicapa en agua comprende un grupo funcional hidrofílico. Ejemplos de tales grupos funcionales hidrofílicos comprenden un grupo carboxi, un grupo fosfato, ésteres de fosfatos, tales como colina, serina y ésteres de glicerol, grupo sulfato, aminas, sacáridos, tal como monosacáridos y disacáridos, y grupos hidroxilo.

45 **[0079]** Tal como se describe anteriormente, los agregados deberían comprender moléculas anfifílicas capaces de formar bicapas en agua. Dichas moléculas se pueden seleccionar entre ácidos carboxílicos que comprenden más de 12 átomos de carbono, fosfoglicéridos, tales como fosfatidilcolinas, fosfatidilserinas, y fosfatidiletanolaminas, y esfingomielinas.

50 **[0080]** De acuerdo con una realización, las moléculas anfifílicas capaces de formar bicapas en agua se pueden seleccionar entre moléculas anfifílicas que poseen una temperatura de transición de más de 40°C, tal como más de 50 ó 60°C. Como es bien sabido por un experto en la materia, la temperatura de transición en este contexto significa la temperatura en la que tiene lugar la transición desde una fase ordenada (también conocida como fase de gel) a una fase cristalina líquida desordenada de una bicapa, formada por la molécula anfifílica en agua.

55 **[0081]** Los agregados de moléculas anfifílicas que forman bicapas en agua pueden estar presentes como liposomas, es decir, una o más bicapas esféricas que comprenden una parte de la solución acuosa en la cual se formaron los liposomas. Dichos agregados también pueden estar presentes como bicapas en la forma de láminas. Además, las moléculas anfifílicas también pueden formar micelas en agua. Sin embargo, las micelas no comprenden ninguna bicapa.

60 **[0082]** De acuerdo con una realización, el agregado, como se describe en el presente documento, es una lámina que comprende una o más bicapas, tal como 1 a 5.

65 **[0083]** A diferencia de un liposoma, ambos lados de la bicapa en una lámina con una sola bicapa estarán de cara al medio acuoso circundante. Por lo tanto, todos los residuos siálicos de los compuestos en la lámina estarán disponibles para la unión con el virus.

**[0084]** Además, parece que los agregados en forma de láminas que comprenden una o varias bicapas provocan

una inhibición más efectiva de la unión de HAdV-37 a las células de la córnea humana.

**[0085]** El tamaño de tales láminas puede variar dependiendo del procedimiento de preparación.

5 **[0086]** De acuerdo con una realización, el ancho promedio de las láminas puede ser de hasta varios micrómetros, tal como hasta de 10 a 100  $\mu\text{m}$ .

10 **[0087]** El tamaño de los agregados, que pueden estar presentes como láminas, puede reducirse mediante sonicación. Dicha sonicación puede tener lugar antes de la formulación del agregado en un medicamento. De acuerdo con una realización, el ancho promedio de tales láminas con un tamaño reducido puede ser de 1  $\mu\text{m}$  o menos.

15 **[0088]** Se prefiere un tamaño reducido del agregado desde el punto de vista de estabilidad coloidal, ya que los agregados más pequeños tienden a aglomerarse y sedimentarse en menor grado que los más grandes. Una reducción en el tamaño se puede llevar a cabo sometiendo los agregados a, entre otros, ultrasonido, extrusión u homogenización a alta presión, tal como mediante el uso del homogenizador de alta presión Emulsifix C50 (F160). Preferentemente, estos procedimientos se llevan a cabo por encima de la temperatura de transición de las moléculas anfifílicas que constituyen las bicapas.

20 **[0089]** La temperatura de transición de las moléculas anfifílicas que forman el agregado puede no solo influenciar la fluidez de la bicapa, sino también la forma real del agregado. Las moléculas anfifílicas que tienen una temperatura de transición por encima de la temperatura ambiente tenderán más a formar láminas, mientras que las moléculas anfifílicas que tienen una temperatura de transición por debajo de la temperatura ambiente tenderán más a formar liposomas.

25 **[0090]** Por consiguiente, la molécula anfifílica que formará parte del agregado tal como se describe en el presente documento, puede, de acuerdo con una realización, seleccionarse entre las moléculas anfifílicas que tienen una temperatura de transición por encima de la temperatura ambiente, tal como una temperatura de transición de 40, 50 o incluso 60°C o mayor.

30 **[0091]** La temperatura de transición de las moléculas anfifílicas no solo se ve afectada por la longitud de la cadena de carbonos, sino también por la presencia de dobles y/o triples enlaces. Los dobles enlaces son conocidos por bajar la temperatura de transición, ya que el enlace rompe la estructura normalmente periódica regular y afecta así de modo negativo a las interacciones Van der Waals. Se sabe menos con respecto al efecto del triple enlace y específicamente el efecto de triples enlaces conjugados.

35 **[0092]** Sin estar unidos a ninguna teoría, puede ser que la buena actividad obtenida con los agregados que comprenden ácido 10,12 pentacosadiinoico, por lo menos parcialmente, se deba al hecho de que dichos agregados parecen estar presentes como láminas más que como liposomas. Puede ser que las triples enlaces conjugados favorezcan dicha forma.

40 **[0093]** De acuerdo con una realización, los agregados, tal como se describen en la presente, pueden comprender además componentes adicionales. Como ejemplo, se pueden usar componentes que afecten la fluidez y la estabilidad del agregado. Un ejemplo de dicho componente es el colesterol. Habitualmente dichos otros componentes estarán presentes en una cantidad igual o menor que la cantidad de molécula anfifílica. De acuerdo con una realización, el contenido de dicho componente adicional, tal como colesterol, puede ser 1:1 (componente adicional, tal como colesterol: molécula anfifílica).

50 *Formación de agregados*

**[0094]** Los agregados, como se describen en la presente, pueden obtenerse mediante procedimientos familiares para el experto en la materia. Dichos procedimientos incluyen sonicación y/o extrusión de soluciones o suspensiones acuosas que comprenden un compuesto, como se describe en el presente documento, y una molécula anfifílica, como se describe en el presente documento.

55 **[0095]** Además, los ejemplos de dichos procedimientos incluyen la disolución de películas secas en soluciones acuosas.

60 **[0096]** De acuerdo con una realización, se puede obtener un agregado, como se describe en el presente documento, mediante:

- la disolución de un compuesto, como se describe en el presente documento, y una molécula anfifílica, como se describe en el presente documento, en un disolvente orgánico, tal como cloroformo, diclorometano, metanol, etanol, hidrocarburos, tal como hexano y heptano, o mezclas de los mismos;
  - la aplicación de dicha solución a una superficie;
  - la evaporación del disolvente orgánico; y
- 65

- la dispersión de la película resultante en una solución acuosa; opcionalmente, dicha solución se puede a continuación sonicar. Dicha etapa de sonicación se lleva a cabo preferentemente a una temperatura por encima de la temperatura ambiente, tal como a o por encima de 40°C.

## 5 *Formulación*

[0097] Otra realización de la invención se refiere a una composición farmacéutica, por ejemplo un medicamento para el tratamiento y/o prevención de EKC, que comprende un agregado, cuyo agregado, como se ha descrito en el presente documento, comprende un compuesto de acuerdo con la fórmula (I). Dicha composición farmacéutica puede comprender además excipientes, tales como portadores, diluyentes, y/o estabilizadores, farmacéuticamente aceptables.

[0098] "Farmacéuticamente aceptable" significa un excipiente que, en la dosis y concentración utilizadas, no causa ningún efecto no deseado en los pacientes a los cuales es administrado. Dichos excipientes farmacéuticamente aceptables son muy conocidos en la técnica.

[0099] De acuerdo con una realización, dicha composición farmacéutica, como se describe en el presente documento, es una composición farmacéutica adecuada para ser administrada en el ojo.

[0100] Sin limitación alguna, las composiciones farmacéuticas de ejemplo habituales y adecuadas para la administración en el ojo comprenden gotas para ojos, pomadas, pulverizadores, vendajes y geles.

[0101] De acuerdo con una realización, una composición farmacéutica, como se describe en el presente documento comprende de 0,001 a 10 mg/ml, tal como de 0,01 a 5 mg/ml o de 0,01 a 1 mg/ml, de un agregado, cuyo agregado, como se ha descrito anteriormente, comprende una sustancia de acuerdo con la fórmula (I).

[0102] Además, una composición farmacéutica, como se describe en el presente documento, puede comprender de 0,001 a 10 mM, tal como de 0,01 a 1 mM, de una sustancia de acuerdo con la fórmula (I).

[0103] De acuerdo con una realización, una composición farmacéutica, como se describe en el presente documento, puede ser una composición acuosa. Dicha composición acuosa puede tener un contenido en agua del 90 % en peso o más de agua, tal como del 90 al 99,9, del 95 al 99 o del 95 al 98 % en peso de agua.

[0104] Además, una composición acuosa puede comprender un agente para proporcionar una solución isotónica. Por consiguiente, una composición acuosa puede comprender un agente seleccionado del grupo que consiste en cloruro de sodio, glicerol, polietilenglicol, sacáridos, tal como monosacáridos, por ejemplo glucosa y manitol, y disacáridos, por ejemplo sacarosa.

[0105] De acuerdo con una realización, una composición farmacéutica, como se describe en el presente documento, es una composición acuosa que comprende un electrolito, tal como cloruro de sodio. Preferentemente, dicho contenido debe ser cercano a la concentración isoosmótica, tal como aproximadamente el 0,9% en peso.

[0106] De acuerdo con una realización, una composición farmacéutica, como se describe en el presente documento, es una composición acuosa que comprende glicerol. El contenido de glicerol puede ser del 2 al 3 % en peso, tal como de 2,3 a 2,3 o de 2,5 a 2,7% en peso. Preferentemente, dicho contenido debería ser cercano a la concentración isoosmótica, tal como aproximadamente 2,6 % en peso.

[0107] De acuerdo con una realización, una composición farmacéutica acuosa, como se describe en el presente documento, tiene un pH de aproximadamente 6,5 a 8. Preferentemente, dicho pH debería ser cercano al pH fisiológico, tal como aproximadamente de 7,2 a 7,8.

[0108] Dado que los compuestos de acuerdo con la fórmula (I) comprenden un grupo funcional de ácido carboxílico, dicha composición farmacéutica puede comprender un ácido y/o una base farmacéuticamente aceptables para ajustar el pH al nivel deseado. De modo similar, la composición farmacéutica también puede comprender sustancias amortiguadoras, tal como  $\text{HCO}_3^-/\text{CO}_3^{2-}$  o  $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$ .

[0109] De acuerdo con otra realización, el pH de la composición farmacéutica no se ajusta después de añadir el agregado como se describe en el presente documento. Por consiguiente, dicha realización se refiere a una composición farmacéutica acuosa tal como se describe en el presente documento, que tiene un pH de aproximadamente 5 a 7. Una composición con un pH ácido, es decir, por debajo de 7, puede tener la desventaja de ser menos susceptible al crecimiento de microorganismos.

[0110] De acuerdo con una realización, una composición farmacéutica, como se describe en el presente documento, puede comprender un conservante. Ejemplos de dichos conservantes incluyen cloruro de benzalconio, ácido benzoico, hidroxianisol butilado, parabenos, tal como butil parabeno, propil parabeno, etil parabeno, metil parabeno y mezclas de los mismos, fenoxietanol, alcohol feniletílico o ácido sórbico. Una composición farmacéutica

que comprende un conservante puede ser más adecuada para almacenamiento.

**[0111]** Además, una composición farmacéutica, como se describe en el presente documento, puede estar esterilizada, tal como mediante esterilización por calor o por filtración.

**[0112]** De acuerdo con una realización, una composición farmacéutica, como se describe en el presente documento, también puede comprender otros excipientes farmacéuticamente aceptables, tales como conservantes, antioxidantes, agentes de isotonicidad adicional, agentes colorantes y similares.

**[0113]** En realizaciones relacionadas con suspensiones acuosas, una composición farmacéutica, como se describe en el presente documento, puede comprender agentes estabilizantes y de suspensión, tales como tensoactivos no iónicos, polímeros hidrofílicos y similares.

**[0114]** De acuerdo con una realización, una composición farmacéutica, como se describe en el presente documento, puede comprender un agente espesante. Los agentes espesantes se pueden utilizar para crear una solución, gel, jarabe, crema, o ungüento espesados. Para formar un gel o solución espesados, se puede usar un material de formación de hidrogel. Dicho material de formación de hidrogel se puede seleccionar del grupo que consiste en polímeros sintéticos, polímeros semisintéticos y gomas naturales.

**[0115]** De acuerdo con una realización, la composición farmacéutica, como se describe en el presente documento, es una solución acuosa espesada. La viscosidad habitual de dicha solución puede estar en el intervalo de 1 a 100 mPas, más habitualmente 5 a 50 ó 10 a 25 mPas.

**[0116]** Ejemplos de polímeros sintéticos incluyen polivinilalcohol, polivinilpirrolidona, ácido poliacrílico, polietilenglicol, copolímeros de bloque de poloxámero.

**[0117]** Los ejemplos de polímeros semisintéticos incluyen éteres de celulosa, tales como carboximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa y etilhidroxietilcelulosa.

**[0118]** Ejemplos de gomas naturales incluyen acacia, alginato, carragenano, quitosano, pectina, almidón, goma de xantano.

**[0119]** Una solución o gel espesados pueden resultar mucoadhesivos mediante el uso de materiales, tales como ácido hialurónico y derivados del mismo, ácidos poliacrílicos reticulados del tipo carbómero y policarbófilo, y polímeros que forman geles fácilmente, que son conocidos por adherirse fuertemente a las membranas de mucosas.

**[0120]** De acuerdo con una realización, una composición farmacéutica, como se describe en el presente documento, puede comprender un copolímero de bloque del tipo poloxámero. Es ventajoso usar el copolímero de bloque del tipo poloxámero, tal como polímeros que comprenden bloques de polietilenglicol y polipropilenglicol, ya que ciertos poloxámeros dispersos en agua son termorreversibles. Los ejemplos de poloxámeros termorreversibles son el poloxámero 188 y poloxámero 407.

**[0121]** Los poloxámeros termoreversibles dispersos en agua poseen baja viscosidad pero exhiben un marcado aumento de la viscosidad a temperaturas elevadas, dando lugar a una formación de gel a temperatura corporal. Por lo tanto, se puede prolongar el tiempo de contacto de una formulación farmacéutica administrada a la cornea relativamente caliente. Por consiguiente, una realización de la invención se refiere a una composición farmacéutica, como se describe en el presente documento, que es termorreversible.

**[0122]** De acuerdo con una realización, una composición farmacéutica, como se describe en el presente documento, puede comprender un compuesto antiviral adicional. Los ejemplos de dichos compuestos incluyen N-clorotaurina y yodo-povidona (PVP-I).

**[0123]** La N-clorotaurina (Cl-HN-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-SO<sub>3</sub>H) es un agente antimicrobiano endógeno. Es un compuesto de cloro medianamente activo producido por granulocitos y monocitos durante el estallido oxidativo. Dado su mecanismo de reacción no específico, es decir, oxidación de grupos aminos, compuestos tio y compuestos aromáticos, posee una actividad microbicida de amplio espectro similar a los antisépticos. La solución de sal sódica de N-clorotaurina (Cl-HN-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-SO<sub>3</sub>Na) ha demostrado que elimina las bacterias y los hongos in vitro. Además, se ha demostrado un efecto virucida. La yodo-povidona es un complejo químico estable de polivinilpirrolidona (povidona, PVP) y yodo elemental.

**[0124]** De acuerdo con una realización, una composición farmacéutica, como se describe en el presente documento, puede comprender un compuesto adicional anti-viral, en el que dicho compuesto anti-viral es un compuesto útil para tratar tópicamente infecciones causadas por herpes. Ejemplos de dichos compuestos incluyen los análogos de guanosina aciclovir, velaciclovir, penciclovir, y famciclovir, y foscarnet (hexahidrato de fosfonoformiato de sodio).

**[0125]** De acuerdo con una realización, una composición farmacéutica, como se describe en el presente documento, puede comprender un anestésico local. Como la EKC puede ser una enfermedad muy dolorosa, puede ser ventajoso incluir un anestésico local para proporcionar un alivio del dolor. Además, dicho alivio del dolor puede tener la ventaja de animar al paciente a continuar el tratamiento aunque la administración misma pueda ser dolorosa. Además, el uso del anestésico local con un inicio rápido, puede posibilitar al paciente abrir realmente el ojo para permitir la administración de la composición directamente a la córnea. Ejemplos de anestésicos locales útiles incluyen lidocaína, prilocaína, y ropivacaína.

*Terapia*

**[0126]** De acuerdo con otra realización, se pueden utilizar en terapia un compuesto, un agregado o una composición farmacéutica, como se describe en el presente documento.

*Tratamiento de infecciones oculares*

**[0127]** Como se menciona anteriormente, el agregado, como se describe en el presente documento, demostró que inhibe la unión de HAdV-37 a las células de la córnea en humanos.

**[0128]** Por consiguiente, una realización de la invención se refiere a un compuesto, un agregado o una composición farmacéutica, como se describe en el presente documento, para utilizar en el tratamiento y/o prevención de una infección ocular causada por un virus, cuyo virus se une a residuos siálicos terminales presentes en la superficie celular de la célula a ser infectada por dicho virus.

**[0129]** De manera similar, una realización de la presente invención se refiere a la utilización de un compuesto, un agregado o una composición farmacéutica, como se describe en el presente documento, para la fabricación de un medicamento para utilizar en el tratamiento y/o prevención de una infección ocular causada por un virus, cuyo virus se une a residuos siálicos terminales presentes en la superficie celular de la célula a ser infectada por dicho virus.

**[0130]** De acuerdo con una realización, dicho virus se puede seleccionar del grupo que consiste en HAdV-8, HAdV-19, HAdV-37, HAdV-53, HAdV-54 y HAdV-22,37/H8. Dicho virus también se puede seleccionar entre HAdV-8, HAdV-19 y HAdV-37, tal como HAdV-37.

**[0131]** De acuerdo con una realización, la infección ocular a ser tratada y/o prevenida puede ser queratoconjuntivitis epidémica (EKC).

**[0132]** De acuerdo con una realización, la infección ocular tratada y/o prevenida puede ser conjuntivitis hemorrágica aguda. La conjuntivitis hemorrágica aguda es causada por un virus, tal como la variante 24 de Coxsachievirus A (CVA24v) y enterovirus tipo 70 (EV70).

**[0133]** Otra realización se refiere a un método de prevención y/o tratamiento de una infección ocular causada por un virus, cuyo virus se une a residuos siálicos terminales presentes en la superficie celular de la célula a ser infectada por dicho virus, tal como EKC, que comprende la administración a un mamífero, incluyendo una persona, con necesidad de dicha prevención y/o tratamiento, de una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto o agregado, como se describe en el presente documento, o una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto, como se describe en el presente documento. Preferentemente, dicho compuesto, agregado o composición farmacéutica es administrado al ojo en dicho método.

**[0134]** Una composición farmacéutica, de acuerdo con las realizaciones del presente documento, puede administrarse a un paciente en una dosis farmacéuticamente efectiva. Por "dosis farmacéuticamente efectiva" se entiende una dosis que sea suficiente para producir los efectos deseados en relación con la afección para la cual es administrada. La dosis exacta puede depender de la actividad del compuesto, modo de administración, naturaleza y gravedad del trastorno y/o enfermedad y las condiciones generales, tal como edad y peso corporal del paciente.

**[0135]** De acuerdo con una realización, una composición farmacéutica, como se describe en el presente documento, será administrada una o más veces por día. Habitualmente, dicha composición farmacéutica será administrada tres veces por día.

**[0136]** Cuando se utiliza en el presente documento, "prevenir/prevención" no debe interpretarse como que una afección y/o enfermedad nunca ocurrirá nuevamente después del uso de un compuesto o composición farmacéutica de acuerdo con las realizaciones descritas en la presente documento para lograr la prevención. Además, el término tampoco debe interpretarse que significa que una afección no podría ocurrir, por lo menos hasta cierto grado, después de dicho uso para prevenir dicha afección. Más bien, "prevenir/prevención" pretende indicar que la afección a ser prevenida, si ocurriera a pesar de dicho uso, será menos grave que sin dicho uso.

**[0137]** De acuerdo con una realización, el tratamiento también comprende el pretratamiento, es decir, tratamiento profiláctico.

Observaciones generales

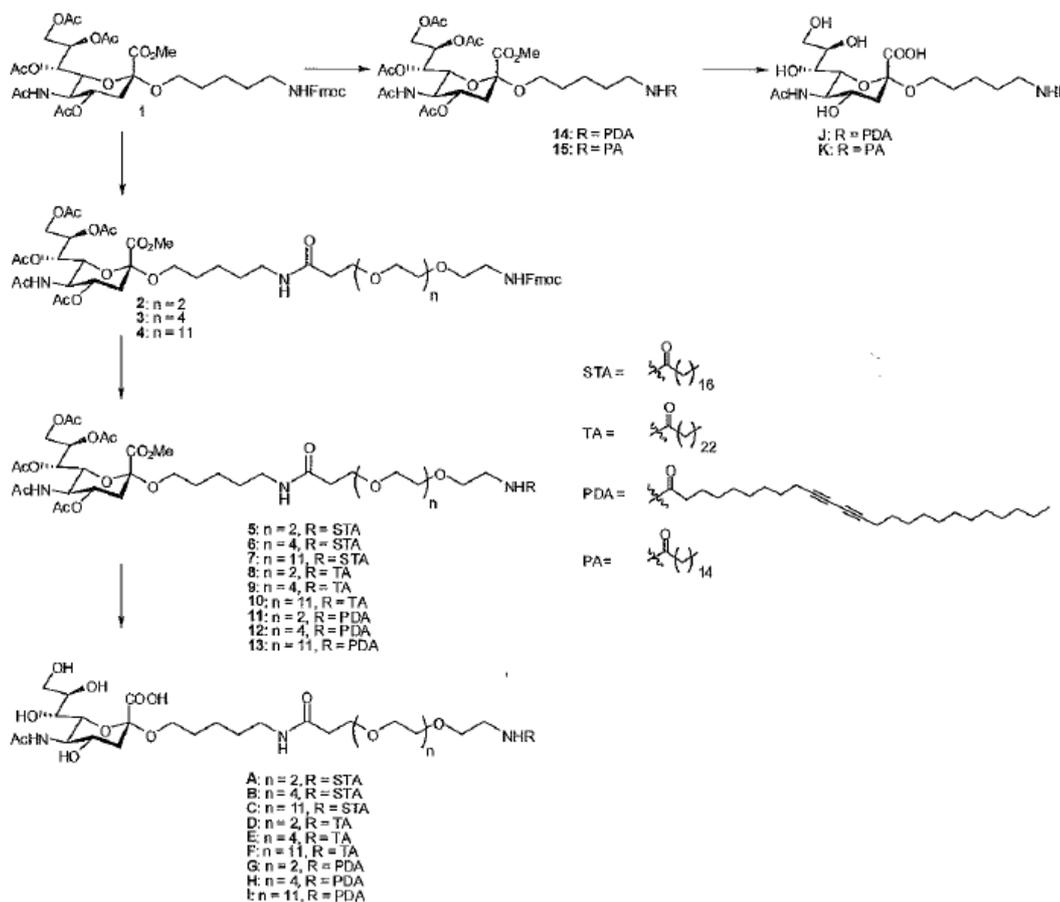
[0138] Aunque la presente invención ha sido descrita anteriormente con referencia a realizaciones ilustrativas específicas, no pretende limitarse a la forma específica establecida en el presente documento. Cualquier combinación de las realizaciones mencionadas anteriormente deberá entenderse que se encuentra dentro del alcance de la invención. Más bien, la invención está limitada solamente por las reivindicaciones que se acompañan y otras realizaciones además de las especificadas anteriormente son igualmente posibles dentro del alcance de estas reivindicaciones que se adjuntan.

[0139] En las reivindicaciones, el término "comprende/que comprende" no excluye la presencia de otras especies o etapas. Adicionalmente, aunque las características individuales pueden ser incluidas en diferentes reivindicaciones, éstas pueden ser posiblemente combinadas de manera ventajosa, y la inclusión en las diferentes reivindicaciones no implica que una combinación de características no sea factible y/o ventajosa. Además, las referencias singulares no excluyen una pluralidad. Los términos "un/a", "primero/a", "segundo/a" etc. no descartan una pluralidad.

Parte experimental

Compuestos

[0140] Los compuestos A-K (ver el esquema 1) se sintetizaron usando una síntesis en bloque. De este modo, el ácido siálico 1 (Johansson, S.M.C.; Nilsson, E.C.; Elofsson, M.; Ahlskog, N.; Kihlberg, J.; Arnberg, N. Antiviral Res. 2007, 73, 92-100) acoplado con un aminopentanol protegido con Fmoc, se desprotegió usando piperidina en DMF. El producto crudo se acopló usando EDC-HCl, con un enlazador de polietilenglicol protegido con Fmoc (PEG 2,4 u 11) para obtener compuestos 2-4, o con PDA (ácido 10,12-pentacosadiínico) o ácido hexadecanoico para obtener el compuesto 14 y 15, respectivamente. Los compuestos 2-4 se desprotegeron usando piperidina en DMF. A continuación, se acoplaron los compuestos crudos usando EDC-HCl, con ácido esteárico (para obtener los compuestos 5-7), con ácido tetracosanoico (para obtener los compuestos 8-10) o con ácido 10,12-pentacosadiínico (para obtener los compuestos 11-13). A continuación, los compuestos 5-15 se desprotegeron mediante el tratamiento de NaOMe (0,05 M en MeOH) durante 1 hora seguido de la adición de 5 equivalentes de NaOH durante otras 18 horas. Los compuestos finales (A-K) se purificaron mediante cromatografía en columna en SiO<sub>2</sub> usando los sistemas CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH:H<sub>2</sub>O. La síntesis en bloque facilita la síntesis de nuevos compuestos mediante la simple variación de enlazadores (por ejemplo enlazador de longitud, tipo de enlazador, tipo de enlace) y ácidos.



## E Esquema 1 Síntesis del compuesto A a K

[0141] Los detalles experimentales para los compuestos A a K se describen a continuación.

[0142] En general:

i. Las operaciones se llevaron a cabo a temperatura ambiente, es decir, en el intervalo de 17 a 25°C a menos que se especifique de otro modo;

ii. Las evaporaciones se llevaron a cabo por evaporación giratoria al vacío;

iii. La cromatografía en columna (por procedimiento flash) se llevó a cabo usando columnas de vidrio en gel de sílice (35-70 nm, 60Å);

iv. Los rendimientos, si están presentes, no son necesariamente los máximos obtenibles;

v. En general, las estructuras de los productos finales se confirmaron mediante técnicas de resonancia magnética nuclear (RMN) y/o espectrometría de masas (EM); se obtuvieron datos del espectro de masa usando Micromasa Q-ToF (ESI); los valores de desplazamiento químico de la RMN se midieron en la escala delta (los espectros de resonancia magnética de protón se determinaron usando un espectrómetro Bruker DRX 400 trabajando a una intensidad de campo de 400MHz); se han utilizado las siguientes abreviaturas: s, singlete; d, doblete; t, triplete; m, multiplete;

vi. Los intermedios no fueron necesariamente purificados totalmente pero sus estructuras y pureza se evaluaron mediante el análisis cromatográfico en capa fina y/o análisis RMN;

vii. Se han utilizado las siguientes abreviaturas:

aq	acuosa
C	Celsius
d	doblete
DCM	diclorometano
CDCl <sub>3</sub>	cloroformo deuterizado
DIPEA	N,N-diisopropiletilamina
DMF	N,N-dimetilformamida
DMSO	dimetilsulfóxido
EDC·HCl	Clorhidrato de N-Etil-N'-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida
ESI	Ionización por electropulverización
EtOAc	Acetato de etilo
h	hora/s
HRMS	espectro de masas de alta resolución
H <sub>2</sub> O	agua
m	multiplete
MeOD	metanol deuterizado
MeOH	metanol
MgSO <sub>4</sub>	sulfato de magnesio
mg	miligramo
Mhz	megahertz
ml	mililitro
mmol	milimol
NaOH	hidróxido de sodio
NaOMe	metóxido de sodio
RMN	resonancia magnética nuclear
s	singlete
t	triplete
μL	microlitro

**Compuesto 2 – metil(5-acetamida-4,7,8,9-tetra-O-acetil-3,5-didesoxi-D-glicero-α-D-galacto-2-nonilpiranosil)onato de 6,19-diaza-22-(9H-fluoren-9-il)-10,13,16,21-tetraoxa-7,20-dioxo-docosanilo.**

[0143] Se disolvió 1 (150,9 mg, 0,189 mmol) en DMF anhidro (5 ml) y a continuación se agregó piperidina (706 μL, 7,14 mmol) a la solución. La mezcla de reacción se agitó durante 2 h, después de lo cual se evaporaron el disolvente y la piperidina restante bajo presión reducida para producir un intermedio crudo. Se disolvieron este intermedio crudo (36,3 mg, 0,063 mmol) y Fmoc-NH-(PEG)2-COOH en DCM (1 ml) y la solución se enfrió hasta 0°C. Se añadió EDC·HCl (18,2 mg, 0,095 mmol) a la solución. La mezcla de reacción se agitó durante 18h. El crudo se sometió a cromatografía en columna flash (DCM/MeOH 25:1) para producir el compuesto del título (45,0 mg, 71%).

[0144] <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)δ 1.28-1.57 (m), 1.87 (s, 3H), 1.90-1.96 (m), 2.01 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 2.13 (s, 3H), 2.13 (s, 3H), 2.42 (t, 2H), 2.53-2.58 (m, 1H), 3.17-3.27 (m, 3H), 3.38-3.40(m), 3.55-3.62 (m), 3.68-3.78 (m), 4.02-4.10 (m, 3H) 4.21 (t,1H), 4.29-4.33 (m, 1H), 4.40 (d, 2H), 4.79-4.86 (m, 1H), 5.19-5.22 (m, 1H), 5.29-5.32 (m, 1H), 5.37-5.44 (m, 2H), 6.37 (t, 1H), 7.28-7.32 (m, 2H), 7.39 (t, 2H), 7.60 (d, 2H), 7.76 (d, 2H).

[0145] HRMS calculado para C<sub>49</sub>H<sub>67</sub>N<sub>3</sub>O<sub>19</sub> (M+Na)<sup>+</sup> 1024,4266, hallado 1024,4921.

**Compuesto 3 – metil(5-acetamida-4,7,8,9-tetra-O-acetil-3,5-didesoxi-D-glicero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonilopiranosil)onato de 6,25-diaza-28-(9H-fluoren-9-il)-10,13,16,19,22,28-hexaoxa-7,26-dioxo-octaicosanilo.**

5 **[0146]** El siguiente compuesto se sintetizó de manera análoga al Compuesto 2, usando Fmoc-NH-(PEG)4-COOH en lugar de Fmoc-NH-(PEG)2-COOH.

**[0147]** Rendimiento 83,4mg (61%).

10 **[0148]**  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.27-1.57 (m), 1.86-2.04 (m), 2.13 (s, 6H), 2.43 (t, 2H), 2.53-2.58 (m, 1H), 3.17-3.24 (m, 3H), 3.36-3.40 (m), 3.55-3.62 (m), 3.68-3.77(m), 4.02-4.11 (m, 3H), 4.21 (t, 1H), 4.29-4.32 (m, 1H), 4.39 (d, 2H), 4.79-4.85 (m, 1H), 5.23-5.25 (m, 1H), 5.29-5.32 (m, 1H), 5.36-5.40 (m, 1H), 5.48 (t, 1H), 6.47 (t, 1H), 7.28-7.32 (m, 2H), 7.37-7.41 (m, 2H), 7.60 (d, 2H), 7.75 (d, 2H).

15 **[0149]** HRMS calculado para  $\text{C}_{53}\text{H}_{75}\text{N}_3\text{O}_{21}$  ( $\text{M}+\text{Na}$ ) $^+$  1112,4791, hallado 1112,5548.

**Compuesto 4 - metil(5-acetamida-4,7,8,9-tetra-O-acetil-3,5,didesoxi-D-glicero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonilopiranosil)onato de 6,46-diaza-49-(9H-fluoren-9-il)-10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,48-tridecaoxa-7,47-dioxo-nonatetracontanilo.**

20 **[0150]** El siguiente compuesto se sintetizó de manera análoga al Compuesto 2, usando Fmoc-NH-(PEG)11-COOH en lugar de Fmoc-NH-(PEG)2-COOH.

**[0151]** Rendimiento 45,8mg (60%).

25 **[0152]**  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.23-1.57(m), 1.86 (s, 3H), 1.88-1.98 (m), 2.01 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 2.12 (s, 6H), 2.43 (t, 2H), 2.53-2.57 (m, 1H), 3.16-3.27 (m, 3H), 3.37-3.43 (m, 2H), 3.54-3.62 (m), 3.69-3.75 (m), 3.75-3.77 (m), 4.01-4.10 (m), 4.20 (t, 1H), 4.28-4.32 (m, 1H), 4.34-4.39 (m, 2H), 4.78-4.85 (m, 1H), 5.24-5.31 (m, 2H), 5.35-5.39 (m, 1H), 5.43 (t, 1H), 6.50 (t, 1H), 7.27-7.31 (m, 2H), 7.36-7.40 (m, 2H), 7.58-7.63 (m, 2H), 7.74 (d, 2H).

30 **[0153]** HRMS calculado para  $\text{C}_{67}\text{H}_{103}\text{N}_3\text{O}_{28}$  ( $\text{M}+\text{Na}$ ) $^+$ , hallado 1420,7222.

**[0154] Compuesto 5 – metil(5-acetomida-4,7,8,9-tetra-O-acetil-3,5-didesoxi-D-glicero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonilopiranosil)onato de 6,19-diaza-10,13,16-trioxa-7,20-dioxo-heptatricontanilo.** Se disolvió 2 (43,3 mg, 0,043mmol) en DMF (2ml) y, a continuación se añadió piperidina (162  $\mu\text{L}$ , 1,63 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 2,5 horas. El disolvente se evaporó para producir el intermedio crudo. Este intermedio crudo se separó en 2 lotes iguales. El intermedio crudo de uno de los lotes se disolvió en DCM (1 ml) y, a continuación, se añadió ácido esteárico (9,1 mg, 0,032 mmol) a la solución y la reacción se enfrió hasta 0°C. Se añadió EDC-HCl (6,1 mg, 0,032mmol) a la solución. La mezcla de reacción se agitó durante 16 horas. La mezcla de reacción se lavó con agua (2x5 ml), se secó sobre  $\text{MgSO}_4$ , se filtró y se concentró bajo presión reducida. El crudo se sometió a cromatografía en columna flash (DCM/MeOH 25:1  $\rightarrow$ 20:1) para producir el compuesto del título (6,3 mg, 28%).

45 **[0155]**  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.87 (t, 3h), 1.23-1.31 (m), 1.87 (s,3H), 1.92-1.96 (m), 2.02 (s, 3H), 2.03 (s, 3H), 2.14-2.18 (m), 2.45 (t, 2H), 2.54-2.58 (m, 1H), 3.20-3.24 (m, 3H), 3.43-3.46 (m, 2H), 3.53-3.56 (m, 2H), 3.59-3.64 (m), 3.71-3.77 (m), 3.79 (s, 3H), 4.02-4.11 (m), 4.30-4.34 (m, 1H), 4.79-4.86 (m, 1H), 5.20-5.22 (m, 1H), 5.29-5.32 (m, 1H), 5.36-5.41 (m, 1H), 6.13 (t, 1H), 6.42 (t,1H).

**[0156]** HRMS calculada para  $\text{C}_{52}\text{H}_{91}\text{N}_3\text{O}_{18}$  ( $\text{M}+\text{Na}$ ) $^+$  1068,6195, hallado 1068,6290.

50 **Compuesto 6 – metil(5-acetamida-4,7,8,9-tetra-O-acetil-3,5-didesoxi-D-glicero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonilopiranosil)onato de 6,25-diaza-10,13,16,19,22-pentaoxa-7,26-dioxo-tritetracontanilo.**

**[0157]** El siguiente compuesto se sintetizó de manera análoga al Compuesto 5, usando 3 en lugar de 2.

55 **[0158]** Rendimiento 14,2mg (52%)

**[0159]**  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.88 (t), 1.25-.42 (m), 1.46-1.67 (m), 1.79-1.83 (m), 1.88 (s, 3H), 1.91-1.97 (m), 2.03, (s, 3H), 2.04, (s, 3H), 2.10-2.19 (m), 2.44-2.47 (t, 2H), 2.54-2.60 (m), 3.18-3.33 (m), 3.42-3.46 (m, 2H), 3.54-3.56 (m, 2H), 3.61-3.65 (m), 3.71-3.77 (m), 3.79 (s, 3H), 4.02-4.11 (m, 3H), 4.30-4.33 (m, 1H), 4.80-4.87 (m, 1H), 5.15-5.17 (m, 1H), 5.30-5.33 (m, 1H), 5.37-5.41 (m, 1H), 6.18 (t, 1H), 6.51 (t, 1H).

**[0160]** HRMS calculado para  $\text{C}_{56}\text{H}_{99}\text{N}_3\text{O}_{20}$  ( $\text{M}+\text{Na}$ ) $^+$  1156,6720, hallado 1156,7217.

65 **Compuesto 7 – metil(5-acetomida-4,7,8,9-tetra-O-acetil-3,5-didesoxi-D-glicero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonilopiranosil)onato de 6,46-diaza-10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46-dodecaoxa-7,47-dioxo-heptacontanilo.**

[0161] El siguiente compuesto se sintetizó de modo análogo al Compuesto 5, usando 4 en lugar de 2.

[0162] Rendimiento 6,0 mg (42%).

[0163]  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.88 (t, 3H), 1.25-1.42(m), 1.46-1.63(m), 1.88 (s, 3H), 1.90-2.00(m), 2.03 (s, 3H), 2.04 (s, 3H), 2.10-2.18 (m), 2.45 (t, 2H), 2.54-2.59 (m), 3.18-3.33 (m), 3.40-3.46 (m, 2H), 3.54-3.56 (m, 2H), 3.61-3.65 (m), 3.71-3.79 (m), 4.02-4.11(m), 4.29-4.36 (m, 1H), 4.80-4.87 (m, 1H), 5.14-5.17 (m, 1H), 5.30-5.32 (m, 1H), 5.37-5.41 (m, 1H), 6.18 (t, 1H), 6.50 (t, 1H).

[0164] HRMS calculado para  $\text{C}_{70}\text{H}_{127}\text{N}_3\text{O}_{27}$  ( $\text{M}+\text{Na}$ ) $^+$  1464,8555, hallado 1464,8711.

**Compuesto 8 – metil(5-acetamida-4,7,8,9-tetra-O-acetil-3,5-didesoxi-D-glicero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonilopiranosil)onato de 6,19-diaza-10,13,16-trioxa-7,20-dioxo-tritetracontanilo.**

[0165] El siguiente compuesto se sintetizó de modo análogo al Compuesto 5, usando ácido tetracosanoico en lugar de ácido esteárico.

[0166] Rendimiento 15,9mg (65%).

[0167]  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.85-0.89 (m), 1.15-1.41 (m), 1.46-1.63 (m), 1.88-1.89 (m), 1.90-1.97 (m), 2.02 (s, 3H), 2.03 (s, 3H), 2.10-2.18 (m), 2.38-2.46 (m), 2.54-2.58 (m), 3.19-3.32 (m), 3.42-3.48 (m, 2H), 3.53-3.56 (m, 2H), 3.60-3.63 (m), 3.71-3.79 (m), 4.03-4.11 (m, 3H), 4.30-4.34 (m, 1H), 4.80-4.86 (m, 1H), 5.19-5.21 (m, 1H), 5.30-5.32 (m, 1H), 5.37-5.41 (m, 1H), 6.14(t, 1H), 6.42 (t, 1H).

[0168] HRMS calculado para  $\text{C}_{58}\text{H}_{103}\text{N}_3\text{O}_{18}$  ( $\text{M}+\text{Na}$ ) $^+$  1152,7134, hallado 1152,7108.

**Compuesto 9 – metil(5-acetamida-4,7,8,9-tetra-O-acetil-3,5-didesoxi-D-glicero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonilopiranosil)onato de 6,25-diaza-10,13,16,19,22-pentaoxa-7,26-dioxo-nonatetracontanilo.**

[0169] El siguiente compuesto se sintetizó de modo análogo al Compuesto 5, usando 3 y ácido tetracosanoico en lugar de 2 y ácido esteárico.

[0170] Rendimiento 18,3 mg (63%)

[0171]  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.87 (t, 3H), 1.24-1.40 (m), 1.46-1.62 (m), 1.87 (s, 3H), 1.90-1.96 (m), 2.02 (s, 3H), 2.03 (s, 3H), 2.10-2.18 (m), 2.43-2.46 (t, 2H), 2.54-2.59 (m), 3.17-3.30 (m), 3.41-3.45 (m, 2H), 3.53-3.56 (m, 2H), 3.60-3.64 (m), 3.70-3.76 (m), 3.78 (s, 3H), 4.02-4.11 (m), 4.29-4.33 (m, 1H), 4.79-4.86 (m, 1H), 5.22-5.24 (m, 1H), 5.29-5.32 (m, 1H), 5.26-5.40 (m, 1H), 6.15 (t, 1H), 6.51 (t, 1H).

[0172] HRMS calculado para  $\text{C}_{62}\text{H}_{111}\text{N}_3\text{O}_{20}$  ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$  1218,7839, hallado 1218,7875.

**Compuesto 10 – metil (5-acetamida-4,7,8,9-tetra-O-acetil-3,5-didesoxi-D-glicero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonilopiranosil)onato de 6,46-diaza-10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46-dodecaoxa-7,47-dioxo-tetrahexacontanilo.**

[0173] El siguiente compuesto se sintetizó de modo análogo al Compuesto 5, usando 4 y ácido tetracosanoico en lugar de 2 y ácido esteárico.

[0174] Rendimiento 6,2 mg (41%).

[0175]  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.86-0.89 (m), 1.25-1.44 (m), 1.46-1.63 (m), 1.88 (s, 3H), 1.90-1.99 (m), 2.02 (s, 3H), 2.04 (s, 3H), 2.10-2.18 (m), 2.41-2.47 (m), 2.54-2.58 (m, 2H), 3.18-3.33 (m), 3.42-3.48 (m), 3.54-3.56 (m), 3.61-3.65 (m), 3.71-3.79 (m), 4.02-4.11 (m), 4.29-4.35 (m, 1H), 4.80-4.87 (m, 1H), 5.16-5.18 (m, 1H), 5.30-5.32 (m, 1H), 5.37-5.41 (m, 1H), 6.20 (t, 1H), 6.51 (t, 1H).

[0176] HRMS calculado para  $\text{C}_{76}\text{H}_{139}\text{N}_3\text{O}_{27}$  ( $\text{M}+\text{Na}$ ) $^+$  1548,9494, hallado 1548,9514.

**Compuesto 11 –metil(5-acetomida-4,7,8,9-tetra-O-acetil-3,5-didesoxi-D-glicero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonilopiranosil)onato de 6,19-diaza-10,13,16-trioxa-7,20-dioxo-29, 31-tetratetraconta-diinilo**

[0177] El siguiente compuesto se sintetizó de modo análogo al Compuesto 5, usando ácido 10,12-pentacosadiinoico en lugar de ácido esteárico.

[0178] Rendimiento 36,3 mg (73%).

[0179]  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.86 (t, 3H), 1.23-1.41 (m), 1.42-1.61 (m), 1.86 (s, 3H), 1.89-1.97 (m), 2.01 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 2.08-2.18 (m), 2.20-2.23 (m), 2.43 (t, 2H), 2.53-2.59 (m, 1H), 3.18-3.31 (m), 3.4-3.44 (m, 2H), 3.52-3.55 (m, 2H), 3.59-3.62 (m), 3.69-3.75 (m), 3.77 (s, 3H), 4.01-4.10 (m), 4.28-4.32 (m, 1H), 4.78-4.85 (m, 1H), 5.28-5.39 (m, 3H), 6.11 (t, 1H), 6.43 (t, 1H).

[0180] HRMS calculado para  $\text{C}_{59}\text{H}_{97}\text{N}_3\text{O}_{18}$  ( $\text{M}+\text{Na}$ ) $^+$  1158,6665, hallado 1158,6655.

**Compuesto 12 – metil(5-acetamida-4,7,8,9-tetra-O-acetil-3,5-didesoxi-D-glicero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonilopiranosil)onato de 6,25-diaza-10,13,16,19,22-pentaoxa-7,26-dioxo-35,37-pentacontadiinilo.**

[0181] El siguiente compuesto se sintetizó de modo análogo al Compuesto 5, usando 3 y ácido 10,12-pentacosadiinoico en lugar de 2 y ácido esteárico.

[0182] Rendimiento 21,9 mg (62%).

[0183]  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.86 (t, 3H), 1.24-1.39 (m), 1.45-1.62 (m), 1.86 (s, 3H), 1.92-1.95 (m), 2.01 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 2.10-2.17 (m), 2.20-2.24 (m), 2.45 (t, 2H), 2.53-2.59 (m), 3.17-3.31 (m), 3.41-3.45 (m, 2H), 3.53-3.55 (m, 2H), 3.61-3.64 (m), 3.70-3.76 (m), 3.78 (s, 3H), 4.01-4.10 (m), 4.28-4.35 (m, 1H), 4.78-4.85 (m, 1H), 5.26-5.31 (m, 2H), 5.35-5.40 (m, 1H), 6.19 (t, 1H).

[0184] HRMS calculado para  $\text{C}_{63}\text{H}_{105}\text{N}_3\text{O}_{20}$  ( $\text{M}+\text{Na}$ ) $^+$  1246,7189, hallado 1246,7118.

**Compuesto 13 – metil(5-acetamida-4,7,8,9-tetra-O-acetil-3,5-didesoxi-D-glicero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonilopiranosil)onato de 6,46-diaza-10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46-dodecaoxa-7,47-dioxo-56,58-henheptaconta-diinilo**

[0185] El siguiente compuesto se sintetizó de modo análogo al Compuesto 5, usando 4 y ácido 10,12-pentacosadiinoico en lugar de 2 y ácido esteárico.

[0186] Rendimiento 25,2 (50%).

[0187]  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.87 (t, 3H), 1.24-1.41 (m), 1.46-1.62 (m), 1.87 (s, 3H), 1.90-2.02 (m), 2.03 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 2.13-2.18 (m), 2.21-2.24 (m), 2.46 (t, 2H), 2.54-2.58 (m, 1H), 3.17-3.26 (m), 3.42-3.49 (m), 3.54-3.56 (m), 3.62-3.65 (m),

[0188] 3.70-3.75 (m), 3.79 (s, 3H), 4.02-4.11 (m), 4.29-4.32 (m, 1H), 4.79-4.86 (m, 1H), 5.17-5.20 (m, 1H), 5.29-5.32 (m, 1H), 5.26-5.40 (m, 1H), 6.17 (s, 1H), 6.58 (s, 1H).

[0189] HRMS calculado para  $\text{C}_{77}\text{H}_{133}\text{N}_3\text{O}_{27}$  ( $\text{M}+\text{Na}$ ) $^+$  1554,9024, hallado 1554,9325.

**Compuesto 14 – metil(5-acetamida-4,7,8,9-tetra-O-acetil-3,5-didesoxi-D-galacto-2-nonilopiranosil)onato de 6-aza-7-oxo-16,18-hentriaconta-diinilo.**

[0190] Se disolvió 1 (121,9 mg, 0,153 mmol) en DMF (5 ml) y a continuación se añadió piperidina. La mezcla de reacción se agitó bajo una atmósfera de nitrógeno durante 2 horas. El disolvente se evaporó para dar un intermedio crudo. Este intermedio crudo se dividió en dos lotes iguales. El intermedio crudo de 1 de los lotes se disolvió en DCM (1 ml) y a continuación se añadió ácido 10,12-pentacosadiinoico (37,1 mg, 0,099 mmol) a la solución y la reacción se enfrió hasta 0°C. Se añadió EDC-HCl (14,6 mg, 0,076 mmol) a la solución. La mezcla de reacción se agitó durante 20 horas. La mezcla de reacción se diluyó con DCM y se lavó con agua (3x5 ml), se secó sobre  $\text{MgSO}_4$ , se filtró y se concentró bajo presión reducida. El crudo se sometió a cromatografía en columna por flash (DCM/MeOH 25:1) para producir el compuesto del título (47,8 mg, 67%) contaminado con ácido 10,12-pentacosadiinoico según el RMN.

[0191]  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.86 (t), 1.23-1.35 (m), 1.45-1.58 (m), 1.86 (s, 3H), 1.90-1.93 (m), 2.01 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 2.11-2.15 (m), 2.22 (t), 2.30 (t, 1H), 2.52-2.58 (m, 1H), 3.18-3.28 (m), 3.70-3.73 (m, 1H), 3.77 (s, 3H), 4.00-4.08 (m), 4.31-4.34 (m, 1H), 4.78-4.85 (m, 1H), 5.28-5.30 (m, 1H), 5.33-5.38 (m, 2H), 5.85 (t, 1H).

[0192] HRMS calculado para  $\text{C}_{50}\text{H}_{81}\text{N}_2\text{O}_{14}$  ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$  933,5688, hallado 933,5718.

**Compuesto 15 – metil(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetil-3,5-didesoxi-D-glicero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonilopiranosil)onato de 6-aza-7-oxo-docosanilo.**

[0193] El siguiente compuesto se sintetizó de modo análogo al Compuesto 14, usando 1 y ácido hexadecanoico en lugar de ácido 10,12-pentacosadiinoico.

[0194] Rendimiento 37 mg (48%).

[0195]  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.87 (t, 3H), 1.20-1.30 (m), 1.32-1.65 (m), 1.86 (s, 3H), 1.94 (t, 1H), 2.00-2.05 (m), 2.10-2.16 (m), 2.55 (dd, 1H), 3.15-3.30 (m), 3.72 (dt, 1H), 3.79 (s, 3H), 4.00-4.10 (m), 4.33 (dd, 1H), 4.79-4.87 (m), 5.15-5.20 (m) 5.30 (dd, 1H), 5.39 (ddd, 1H), 5.79 (bt, 1H).

**Compuesto A – ácido 6,19-diaza-10,13,16-trioxa-7,20-dioxo-heptatricontanil 5-acetamida-3,5-didesoxi-D-glicero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonilopiranosilónico.**

[0196] Se disolvió **5** (6,0 mg, 0,006 mmol) en NaOMe (600  $\mu\text{L}$ , 0,05M en MeOH). La reacción se agitó durante 2 horas y a continuación se añadió NaOH (30  $\mu\text{L}$ , 1 M, en agua) a la mezcla de reacción. La mezcla de reacción se agitó durante 24 horas y a continuación se interrumpió con Duolite C436 hasta obtener un pH neutro. La mezcla de reacción se filtró, se enjuagó con MeOH y se concentró bajo presión reducida. El crudo se sometió a cromatografía en columna flash (DCM/MeOH/ $\text{H}_2\text{O}$  80:15:5) para producir el compuesto del título en rendimiento cuantitativo.

[0197]  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz, MeOD)  $\delta$  0.90 (t, 3H), 1.29 (m), 1.36-1.42 (m), 1.48-1.60 (m), 1.89 (m) 2.01 (s, 3H), 2.20 (t, 2H), 2.43-2.46 (m, 2H), 2.81-2.85 (m, 1H), 3.17 (t, 2H), 3.35-3.37 (m), 3.45-3.89 (m).

[0198] HRMS calculado para  $\text{C}_{43}\text{H}_{81}\text{N}_3\text{O}_{14}$  ( $\text{M}+\text{Na}$ ) $^+$  886,5616, hallado 886,5621.

**Compuesto B – ácido 6,25-diaza-10,13,16,19,22-pentaoxa-7,26-dioxo-tritetracontanil 5-acetamida-3,5-didesoxi-D-glicero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonilopiranosilónico.**

[0199] El siguiente compuesto se sintetizó de modo análogo al Compuesto **A**, usando **6** en lugar de **5**.

[0200] Rendimiento 3,1 mg (27%).

[0201]  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz, MeOD)  $\delta$  0.90 (t, 3H), 1.29-1.42 (m), 1.48-1.62 (m), 2.00 (s, 3H), 2.19 (t, 2H), 2.45 (t, 2H), 2.81-2.85 (m, 1H), 3.18 (t, 2H), 3.35-3.38 (m), 3.45-3.89 (m).

[0202] HRMS calculada para  $\text{C}_{47}\text{H}_{89}\text{N}_3\text{O}_{16}$  ( $\text{M}+\text{Na}$ ) $^+$  951,6243.

**Compuesto C – Ácido 6,46-diaza-10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46-dodecaoxa-7,47-dioxo-heptacontanil 5-acetamida-3,5-didesoxi-D-glicero- $\epsilon$ -D-galacto-2-nonilopiranosilónico.**

[0203] El siguiente compuesto se sintetizó de modo análogo al Compuesto **A**, usando **7** en lugar de **5**.

[0204] Rendimiento cuantitativo.

[0205]  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz, MeOD)  $\delta$  0.90 (t, 3H), 1.29-1.42 (m), 1.48-1.60 (m), 2.01 (s, 3H), 2.19 (t, 2H), 2.45 (t, 2H), 2.81-2.85 (m, 1H), 3.18 (t, 2H), 3.33-3.37 (m), 3.45-3.89 (m).

[0206] HRMS calculado para  $\text{C}_{61}\text{H}_{117}\text{N}_3\text{O}_{23}$  ( $\text{M}+\text{Na}$ ) $^+$  1282,7976, hallado 1282,8201.

**Compuesto D – Ácido 6,19-diaza-10,13,16-trioxa-7,20-dioxo-tritetracontanil 5-acetamida-3,5-didesoxi-D-glicero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonilopiranosilónico.**

[0207] El siguiente compuesto se sintetizó de modo análogo al Compuesto **A**, usando **8** en lugar de **5**.

[0208] Rendimiento cuantitativo.

[0209]  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz, MeOD)  $\delta$  0.90 (t), 1.29-1.42 (m), 1.48-1.60 (m), 2.01 (s, 3H), 2.19 (t, 2H), 2.45 (t, 2H), 2.81-2.85 (m, 1H), 3.17 (t, 2H), 3.35-3.37 (m), 3.45-3.89 (m).

[0210] HRMS calculado para  $\text{C}_{49}\text{H}_{93}\text{N}_3\text{O}_{14}$  ( $\text{M}+\text{Na}$ ) $^+$  970,6555, hallado 970,6328.

**Compuesto E – Ácido 6,25-diaza-10,13,16,19,22-pentaoxa-7,26-dioxo-nonatetracontanil 5-acetamida-3,5-didesoxi-D-galacto-2-nonilopiranosilónico.**

[0211] El siguiente compuesto se sintetizó de modo análogo al Compuesto **A**, usando **9** en lugar de **5**.

[0212] Rendimiento 14,8 mg (95%).

[0213]  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz, MeOD)  $\delta$  0.90 (t), 1.29-1.60 (m), 2.01 (s, 3H), 2.19 (t, 2H), 2.45 (t, 2H), 2.81-2.84 (m, 1H), 3.12-3.19 (m), 3.35-3.37 (m), 3.47-3.87 (m).

[0214] HRMS calculado para  $C_{53}H_{101}N_3O_{16}$  (M+Na)<sup>+</sup> 1058,7080, hallado 1058,6575.

**Compuesto F – Ácido 6,46-diaza-10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46-dodecaoxa-7,47-dioxo-tetrahexacontanil 5-acetamida-3,5-didesoxi-D-glicero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonilopiranosilónico.**

5 [0215] El siguiente compuesto se sintetizó de modo análogo al Compuesto A, usando 10 en lugar de 5.

[0216] Rendimiento cuantitativo.

10 [0217] <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, MeOD)  $\delta$  0.90 (t), 1.29-1.40(m), 1.49-1.59 (m), 2.00-2.01 (s, 3H), 2.13-2.21 (m), 2.45 (t, 2H), 2.81-2.85 (m, 1H), 3.12-3.19 (m), 3.35-3.37 (m), 3.45-3.88 (m).

[0218] HRMS calculado para  $C_{67}H_{129}N_3O_{23}$  (M+Na)<sup>+</sup> 1366,8915, hallado 1388,9717.

15 **Compuesto G – Ácido 6,19-diaza-10,13,16-trioxa-7,20-dioxo-29,31-tetratetraconta-diinil 5-acetamida-3,5-didesoxi-D-glicero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonilopiranosilónico.**

[0219] El siguiente compuesto se sintetizó de modo análogo al Compuesto A, usando 11 en lugar de 5.

20 [0220] Rendimiento 22,4 mg (73%).

[0221] <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, MeOD)  $\delta$  0.90 (m), 1.30-1.40 (m), 1.47-1.63 (m), 2.01 (s, 3H), 2.18-2.26(m), 2.45 (t, 2H), 2.81-2.85 (m, 1H), 3.17 (t, 2H), 3.36 (t, 2H), 4.45-3.88 (m).

25 [0222] HRMS calculado para  $C_{50}H_{87}N_3O_{14}$  (M+Na)<sup>+</sup> 976,6086, hallado 976,5989.

**Compuesto H – Ácido 6,25-diaza-10,13,16,19,22-pentaoxa-7,26-dioxo-35,37-pentacontadinil 5-acetamida-3,5-didesoxi-D-galacto-2-nonilopiranosilónico.**

30 [0223] El siguiente compuesto se sintetizó de modo análogo al Compuesto A, usando 12 en lugar de 5.

[0224] Rendimiento 16,6 mg (84%).

35 [0225] <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, MeOD)  $\delta$  0.90 (t, 3H), 1.27-1.40 (m), 1.47-1.63 (m), 2.01 (s, 3H), 2.12-2.26 (m), 2.45-2.48 (m, 2H), 2.81-2.85 (m, 1H), 3.10-3.23 (m, 2H), 3.35-3.38 (m, 2H), 3.45-3.88 (m).

[0226] HRMS calculado para  $C_{54}H_{95}N_3O_{16}$  (M+Na)<sup>+</sup> 1064,6610, hallado 1064,6732.

40 **Compuesto I – Ácido 6,46-diaza-10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46-dodecaoxa-7,47-dioxo-56,58-henheptaconta-diinil5-acetamida-3,5-didesoxi-D-glicero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonilopiranosilónico.**

[0227] El siguiente compuesto se sintetizó de modo análogo al Compuesto A, usando 13 en lugar de 5.

[0228] Rendimiento 17,2 mg (98%).

45 [0229] <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, MeOD)  $\delta$  0.90 (t, 3H), 1.30-1.40 (m), 1.49-1.63 (m), 2.01 (s, 3H), 2.18-2.26 (m), 2.46 (t, 2H), 2.81-2.85 (m, 1H), 3.18 (t, 2H), 3.35-3.38 (m, 2H), 3.45-3.88 (m).

50 [0230] HRMS calculado para  $C_{68}H_{123}N_3O_{23}$  (M+Na)<sup>+</sup> 1372,8445, hallado 1372,8213.

**Compuesto J – Ácido 6-aza-7-oxo-16,18-hentriaconta-dinil 5-acetamida-3,5-didesoxi-D-glicero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonilopiranosilónico**

55 [0231] El siguiente compuesto se sintetizó de modo análogo al Compuesto A, usando 14 en lugar de 5.

[0232] Rendimiento 24,2 mg (63%).

60 [0233] <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, MeOD)  $\delta$  0.90 (t, 3H), 1.30-1.41(m), 1.47-1.62 (m), 2.03 (s, 3H), 2.18 (t), 2.24(t), 2.80-2.84 (m, 1H), 3.14-3.18 (m, 2H), 3.45-3.90 (m).

[0234] HRSM calculado para  $C_{41}H_{70}N_2O_{10}$  (M+Na)<sup>+</sup> 751,5103, hallado 751,4911.

**Compuesto K – Ácido 6-aza-7-oxo-16,18-docosanil 5-acetomida-3,5-didesoxi-D-glicero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonilopiranosilónico**

65 [0235] El siguiente compuesto se sintetizó de modo análogo al Compuesto A, usando 15 en lugar de 5.

[0236] Rendimiento 29 mg (% cuantitativo)

[0237] <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, MeOD) δ 0.90 (t, 3H), 1.25-1.41 (m), 1.46-1.63(m), 1.85-1.95(m), 2.02(s, 3H), 2.17 (t,2H), 2.83(dd, 1H), 3.15(t,2H), 3.45-3.90(m).

*Formación de agregados y su posterior formulación en solución acuosa*

[0238] Las formulaciones se llevaron a cabo mediante un sonicador tipo sonda (50% de salida, microtip) o un dispositivo de extrusión fabricado por Northern Lipids (Vancouver, BC, Canadá) usando filtros de membrana de policarbonato, tamaño del poro de 100 nm o 200 nm;

DCM	Diclorometano
DPPC	Dipalmitoilfosfatidilcolina
MCT	triglicérido de cadena mediana
s-PC	fosfatidilcolina de soja
Tm	temperatura de fusión

**Formulación 13** (control sin ningún residuo de ácido siálico)

[0239] Se mezcló ácido 10,12-pentacosadiinoico (3,7 mg, 10 μmol) en DCM y se puso en un recipiente de vidrio. El disolvente se evaporó y se añadió agua destilada (10 ml). La mezcla se sonicó con una sonda hasta obtener una solución clara, aproximadamente 15 minutos. La solución caliente se filtró a través de un filtro de nylon (0,8 μm) para eliminar de la sonda cualquier lípido no dispersado y trazas de partículas de titanio.

**Formulación 14H**

[0240] La formulación se llevó a cabo con un método análogo a la **Formulación 13**, usando el compuesto **H** (0,1 mg, 0,1 μmol) y ácido 10,12-pentacosadiinoico (3,7 mg, 9,9 μmol).

**Formulación 15H**

[0241] La formulación se llevó a cabo con un método análogo a la **Formulación 13**, usando el compuesto **H** (0,5 mg, 0,5 μmol) y ácido 10,12-pentacosadiinoico (3,6 mg, 9,5 μmol).

**Formulación 16H**

[0242] La formulación se llevó a cabo con un método análogo a la **Formulación 13**, usando el compuesto **H** (1,0 mg, 1,0 μmol) y ácido 10,12-pentacosadiinoico (3,4 mg, 9,0 μmol).

**Formulación 20J**

[0243] La formulación se llevó a cabo con un método análogo a la **Formulación 13**, usando el compuesto **J** (0,75 mg, 1,0 μmol) y ácido 10,12-pentacosadiinoico (3,4 mg, 9,0 μmol).

**Formulación 24H**

[0244] La formulación se llevó a cabo con un método análogo a la **Formulación 13**, usando el compuesto **H** (1,0 mg, 1,0 μmol), DPPC (3,3 mg, 4,5 μmol) y colesterol (1,7 mg, 4,5 μmol).

**Formulación 41H**

[0245] Se mezclaron el compuesto **H** (2,1 mg, 2,0 μmol) y ácido 10,12-pentacosadiinoico (3,0 mg, 8,0 μmol) en CHCl<sub>3</sub> y se colocaron en un recipiente de vidrio. La mezcla se agitó y el disolvente se evaporó con nitrógeno para producir una película delgada de los lípidos sobre el vidrio. Se añadió agua Milli-Q (10 ml) y la mezcla se hidrató a 65°C bajo agitación durante la noche. A continuación, la dispersión liposomal se pasó secuencialmente (10 ciclos) a través de un filtro de membrana de policarbonato (200 nm de tamaño de poro) por encima de la T<sub>m</sub> (65°C) mediante un dispositivo de extrusión.

**Formulación 42D**

[0246] La formulación se llevó a cabo con un método análogo a la **Formulación 41H**, usando el compuesto **D** (1,0 mg, 1,0 μmol) y ácido 10,12-pentacosadiinoico (3,4 mg, 9,0 μmol). La extrusión se llevó a cabo mediante un filtro de membrana de policarbonato (tamaño de poro de 100 nm).

**Formulación 44F**

5 [0247] La formulación se llevó a cabo con un método análogo a la **Formulación 41H**, usando el compuesto **F** (1,3 mg, 1,0  $\mu$ mol) y ácido 10,12-pentacosadiinoico (3,4 mg, 9,0  $\mu$ mol). La extrusión se llevó a cabo mediante un filtro de membrana de policarbonato (tamaño de poro de 100 nm).

**Formulación 47E**

10 [0248] La formulación se llevó a cabo con un método análogo a la **Formulación 41H**, usando el compuesto **E** (1,0 mg, 1,0  $\mu$ mol) y ácido 10,12-pentacosadiinoico (3,4 mg, 9,0  $\mu$ mol). La extrusión se llevó a cabo mediante un filtro de membrana de policarbonato (tamaño del poro de 100 nm).

**Formulación 48B**

15 [0249] La formulación se llevó a cabo con un método análogo a la **Formulación 41H**, usando el compuesto **B** (1,0 mg, 1,0  $\mu$ mol) y ácido 10,12-pentacosadiinoico (3,4 mg, 9,0  $\mu$ mol). La extrusión se llevó a cabo mediante un filtro de membrana de policarbonato (tamaño del poro de 100 nm).

**Formulación 49G**

20 [0250] La formulación se llevó a cabo mediante un método análogo a la **Formulación 41H**, usando el compuesto **G** (1,0 mg, 1,0  $\mu$ mol) y ácido 10,12-pentacosadiinoico (3,4 mg, 9,0  $\mu$ mol). La extrusión se llevó a cabo mediante un filtro de membrana de policarbonato (tamaño del poro de 100 nm).

**Formulación 50I**

25 [0251] La formulación se llevó a cabo mediante un método análogo a la **Formulación 41H**, usando el compuesto **I** (1,4 mg, 1,0  $\mu$ mol) y ácido 10,12-pentacosadiinoico (3,4 mg, 9,0  $\mu$ mol). La extrusión se llevó a cabo mediante un filtro de membrana de policarbonato (tamaño del poro de 100nm).

30

**Formulación 56H**

35 [0252] La formulación se llevó a cabo mediante un método análogo a la **Formulación 41H**, usando el compuesto **H** (1,0 mg, 1,0  $\mu$ mol), s-PC/MCT (1,0 mg/3,4 mg). La extrusión se llevó a cabo, después de la sonicación por sonda durante 2 minutos, mediante un filtro de membrana de policarbonato (tamaño del poro de 100 nm).

**Formulación 59H**

40 [0253] La formulación se llevó a cabo mediante un método análogo a la **Formulación 41H**, usando el compuesto **H** (1,0 mg, 1,0  $\mu$ mol), s-PC (7,2 mg, ~9  $\mu$ mol). La extrusión se llevó a cabo mediante un filtro de membrana de policarbonato (tamaño del poro de 100 nm).

40

**Ejemplo de Formulación 1**

45 [0254] El compuesto **H** y PDA se disolvieron en cloroformo a una concentración de 10,1 mg/ml y 3,41 mg/ml, respectivamente. Las soluciones resultantes se almacenaron en un refrigerador. A un matraz de base redonda de 10 ml se le añadieron 100  $\mu$ L de la solución del Compuesto A y 1 ml de la solución de PDA. La mezcla se evaporó a sequedad a 35°C en un rotavapor (Heidolph Laborota 4001, Alemania). A la película seca resultante se le añadieron 10 ml de agua filtrada por membrana (Milli-Q). El matraz se colocó en un baño de sonicación (Bandelin Sonora Digitech, Alemania) y se sonicó durante 10 min a 50°C y durante 5 min a aproximadamente 70°C. Esto dio lugar a una dispersión opaca, homogénea con un color rosa claro.

50

**Ejemplo de Formulación 2**

55 [0255] La dispersión del **Ejemplo de Formulación 1** se calentó hasta aproximadamente 80°C en un baño de agua y extruyó 11 veces a través de una membrana de policarbonato con un tamaño de poro de 100 nm (Avestin LiposoFast, Canadá). La dispersión fina resultante se transfirió a cubetas de cuarzo y se iluminó con luz UV durante 5 min a temperatura ambiente (ICT Beam Boost Photoreactor, Alemania). Esto produjo una dispersión de color azul oscuro.

60

**Ejemplo de Formulación 3**

65 [0256] Una película de lípido seca se preparó como se describe en el **Ejemplo de Formulación 1**. A la película se le añadieron 10 ml de una solución acuosa que consistía en 2,6% (p/p) de glicerol y 0,50% (p/p) de Hypromellose (Sigma-Aldrich, H-3785). Después de hidratación durante 15 min a aproximadamente 45°C en un baño de sonicación, se obtuvo una preparación ligeramente viscosa, la cual es adecuada para instilar en el ojo.

*Ensayo biológico*

5 **[0257]** La actividad biológica de los compuestos, agregados y formulación descritos en el presente documento se evaluaron en varios ensayos que se describen a continuación.

Células

10 **[0258]** El HCE (epitelio de córnea humana) y las células A549 se cultivaron como se describe anteriormente (Araki-Sasaki, K., Ohasi, K.Y. Sasabe, T., Hayashi, K., Watanabe, H., Tano, Y., Handa, H., 1995. "An SV-40-immortalized human corneal epithelial cell line and its characterization". Invest. Ophthalmol. 36,614-621 y Arnberg, N., Edlund, K., Kidd, A.H., Wadell, G., 2000a. Adenovirus type 37 uses sialic acid as a cellular receptor. J. Virol. 74, 42-48).

15 Virus

**[0259]** Los viriones HAdV37 (cepa 1477) se produjeron de la siguiente manera: se añadieron 0,3 ml de material de inoculación de HAdV37 (preparado a partir de células A549 infectadas) a las células A549 (matraces de 175 cm<sup>2</sup>) y se incubaron durante 2 horas a 37°C. Se extrajeron los virus no internalizados mediante lavado, y las células se incubaron posteriormente a 37°C en medio Eagle modificado por Dulbecco (DMEM; Sigma-Aldrich) complementado con 1% de suero fetal bovino (FCS; Sigma-Aldrich). Aproximadamente 72 horas después, se agruparon las células, se resuspendieron en Tris-HCl, pH 7,4, y se congelaron-descongelaron tres veces. Después de otra ronda de centrifugación, el sobrenadante se cargó en un gradiente de CsCl discontinuo (densidades: 1,27 g/ml, 1,32 g/ml, y 1,37g/ml, en Tris-HCl 20 mM, pH 8,0; Sigma-Aldrich) y se centrifugó a 25.000 rpm (rotor SW41, ultracentrífuga Beckman Optima L-80 XP; Beckman Coulter Inc.) durante 2,5 h a +4°C. La banda de viriones se recogió y desaló en una columna NAP (Amersham Biosciences AB, Uppsala, Suecia) en un tampón PBS estéril complementado con glicerol al 10% (Sigma-Aldrich). Los viriones en alícuotas se almacenaron a continuación a -80°C hasta un uso posterior. Se produjeron viriones Ad37 marcados con <sup>35</sup>S como se indica anteriormente con las siguientes excepciones: 20 horas después de la infección, las células se dejaron sin alimentar durante 2 horas en DMEM libre de metionina y cisteína (Sigma-Aldrich). A continuación, se añadió isótopo (1,4 mCi/matraz; mezcla de marcaje de proteínas que expresan Easytag NEG-772; Perkin-Elmer). Se añadió L-cisteína (concentración final 2 mM; Sigma-Aldrich) 23 horas y 48 horas después de la infección y 1-metionina (concentración final 1 mM; Sigma-Aldrich) 37,5 y 48 horas después de la infección. Se determinó que la radioactividad específica de los viriones marcados fue de 4x10<sup>-6</sup> cpm por virión. La identidad de HAdV-37 se determinó mediante la digestión de ADN viral con enzimas de restricción y se comparó con los patrones establecidos para cepas prototipos de HAdV-37 (Wadell, G., Sundell, G., de Jong, J.C. 1981. "La caracterización del adenovirus candidato 37 por electroforesis de gel de poliacrilamida SDS de polipéptidos viriones y mapeo de los sitios de restricción de ADN. J. Med. Virol. 7, 119-125).

40 Anticuerpos

**[0260]** El suero anti-HAdV-37 policlonal de conejo se preparó como se describe anteriormente (Wadell, G. Allard., A., Hierholzer, J.C., 1999. Adenovirus en: Murray, P.B., Baron, E.J., Pfaller, M.A., Tenover, F.C., Tenover, R.H. (Eds.), Manual de Microbiología Clínica, 7ª edición ASM Press, Washington, pág. 970-982).

45 Ensayo de Unión

**[0261]** Las células HCE adherentes se separaron con PBS que contenía EDTA al 0,05% (PBS-EDTA; Merck, Darmstadt, Alemania) y se recuperaron en un medio de crecimiento durante una hora a 37°C. Después de lavado, se reagruparon 2x10<sup>5</sup> células HCE en microplacas 96 pocillos en forma de V, a continuación se resuspendieron e incubaron con 10<sup>4</sup> viriones HAdV-37 marcados con <sup>35</sup>S/célula complementados con diferentes concentraciones de los compuestos de prueba en 50 µl de tampón de unión (BB: DMEM que contenía albúmina de suero bovino al 1% [Roche AB, Estocolmo, Suecia], penicilina/estreptomina [Gibco, Carlsbad, CA, Estados Unidos] y HEPES [EuroClone, Milán, Italia], pH 7,4, a 4°C con agitación suave.

55 **[0262]** Antes de la adición a las células, los viriones HAdV-37 se pretrataron de este modo con varias concentraciones del agregado a analizar en placas de 96 pocillos 1 hora a 4°C con agitación suave.

**[0263]** Después de una hora adicional, los viriones no unidos se eliminaron mediante lavado, y se midió la radioactividad asociada a las células con un contador de centelleo Wallc 1409 (Perkin-Elmer).

60 **[0264]** Mediante la comparación de la radioactividad asociada con las células para células tratadas con diferentes concentraciones del agregado analizado, se podía determinar IC<sub>50</sub>.

**[0265]** En la Tabla 1 siguiente, se proporcionan los resultados del ensayo para algunas de las formulaciones descritas en el presente documento.

65

**Tabla 1 – inhibición de la unión de viriones HAdV-37 a células HCE mediante formulaciones descritas en el presente documento**

	<b>Formulación</b>	<b>IC50</b>	<b>Formulación</b>	<b>IC50</b>
5	13 (control)	-	42D	+++
	14H	+++	44F	+++
	15H	+++	47E	+++
	16H	++++	48B	+
	20J	++/+++	49G	+
10	24H	+	50I	+++
	41H	++	56H	+

- Sin inhibición

+ más de 0% pero menos que el 50% de inhibición entre 50 y 100 µM.

15 ++ 50% de inhibición entre 25 y 50 µM

+++ 50% de inhibición entre 5 y 25 µM

++++ 50% de inhibición a 5 µM o menos.

20 **[0266]** Como se observa en la **Tabla 1**, varios compuestos y agregados descritos en el presente documento son capaces de inhibir la unión de viriones HAdV-37 a células HCE. En este contexto, se debería indicar que la IC<sub>50</sub> de ácido siálico es de aproximadamente 2-5 mM. Además, se debe indicar que la IC<sub>50</sub> cuando nos referimos a formulaciones, se refiere a la concentración de los residuos de ácido siálico en la formulación.

Ensayo de agregación

25 **[0267]** Los viriones HAdV37 marcados con <sup>35</sup>S (50x10<sup>8</sup> por pocillo) se incubaron con o sin la **Formulación 16H** (que contiene residuo de ácido siálico 0,05 mM) en BB a +4°C. Una hora después, las muestras se centrifugaron a diferentes velocidades (1000 rpm, 4000 rpm, 7000 rpm, 10.000 rpm, 13.000 rpm) usando una centrífuga Beckman Coulter Microfuge 22R (Beckman Coulter Inc., Fullerton, CA, Estados Unidos). La radioactividad en el sobrenadante  
30 (90 µl de la parte superior) y en el residuo celular (10 µl de la parte inferior) se midió usando un contador de centelleo líquido como se describe anteriormente.

35 **[0268]** Como se observa en la figura 1, la **Formulación 16H** provoca la agregación de HAdV37. S indica el sobrenadante y P indica el residuo celular. Por consiguiente, el compuesto **H** es una especie multivalente con respecto a sus residuos de ácido siálico.

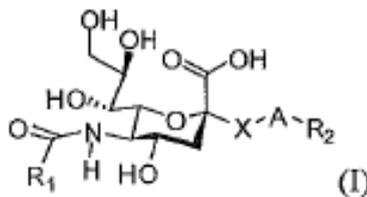
Ensayo de infectividad

40 **[0269]** Los viriones HAdV-37 no marcados (4x10<sup>8</sup> por pocillo en 300 µL de BB) se incubaron a +4°C en placas de 24 pocillos junto con diferentes concentraciones de la **Formulación 16H**. Después de 1h, las mezclas se añadieron a las células HCE cultivadas como monocapas en portaobjetos de vidrio en placas de 24 pocillos (2x10<sup>5</sup> células/pocillo) y se incubaron en hielo. Una hora después, los pocillos se lavaron tres veces con SHEM (medio epitelial de hormona complementada (Araki-Sasaki, K. Ohasi, K.Y., Sasabe, T., Hayashi, K., Watanabe, H., Tano, Y., Handa, H., "An SV-40-immortalized human corneal epithelial cell line and its characterization" Invest. Ophthalmol. 1995, 36, 614-621)) al 1% a +4C para eliminar los viriones no unidos, y se incubaron durante 44 horas a 37°C para permitir la infección. Los portaobjetos de vidrio se lavaron con solución salina tamponada con fosfato (PBS, pH 7,4), se fijó con metanol (99%) y se incubaron con suero anti-HAdV37 policlonal de conejo (diluido 1:200 en PBS) a temperatura ambiente. Una hora después, los portaobjetos se lavaron tres veces en PBS y se incubaron con anticuerpo marcado con FITC anti-conejo de cerdo (DakoCytomation, Glostrup, Dinamarca) a temperatura ambiente  
50 (diluido 1:200 en PBS). Los portaobjetos se montaron con medio de montaje fluorescente (DakoCytomation) y se examinaron en un microscopio inmunofluorescencia (Axioskop2, Carl Zeiss, Alemania; aumentos 10x).

55 **[0270]** Como se observa en las figuras 2 y 3, la **Formulación 16H** inhibe de modo significativo HAdV-37 de infectar las células HCE (IC<sub>50</sub> es aproximadamente 0,7 µM con respecto a los residuos de ácido siálico presentes en los agregados).

REIVINDICACIONES

1. Compuesto según la fórmula (I)



5 en el que

R1 es un grupo metilo o etilo;

R2 es R3, R4 o R8;

"X" es O, S o NH; y

"A" es un alcanodiilo de C3-7 si R2 es R3 y un alcanodiilo de C2-7 si R2 es R4 o R8, en el que X y R2 están conectados a diferentes átomos de carbono de dicho alcanodiilo y en el que dichos átomos de carbono diferentes son los átomos de carbono más separados en dicho alcanodiilo;

10 R3 se selecciona del grupo que consiste en N(alquilo C0-3)C(O)R5, OC(O)R5, C(O)N(alquilo C0-3)R5 y C(O)OR5, en el que R5 es una cadena lineal de carbonos que comprende de 14 a 30 átomos de carbono; dicha cadena de carbonos es saturada o comprende uno o más dobles y/o triples enlaces; además, dicha cadena de carbonos está

15 no sustituida o sustituida con uno o más grupos alquilo C1-C5;

R4 es un sustituyente de acuerdo con la fórmula (II),



20 en el que

"D" está conectado a "A";

"D" se selecciona del grupo que consiste en N(alquilo C0-3)C(O), OC(O), C(O)N(alquilo C0-3) y C(O)O;

el número entero "m" es 0 (cero) a 3;

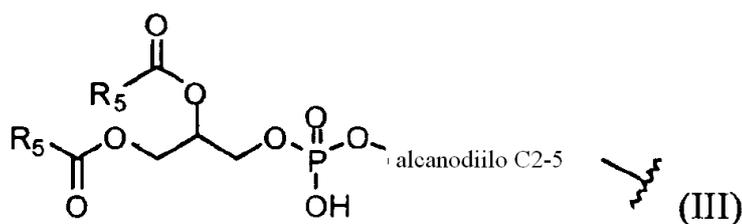
el número entero "n" es 1 a 15;

25 el número entero "p" es 0 (cero) a 3;

"E" se selecciona del grupo que consiste en N(alquilo C0-3)C(O), OC(O), C(O)N(alquilo C0-3) y C(O)O;

R7 se selecciona del grupo que consiste en R5, como se define anteriormente, y R6, en el que R6 es un sustituyente de acuerdo con la fórmula (III)

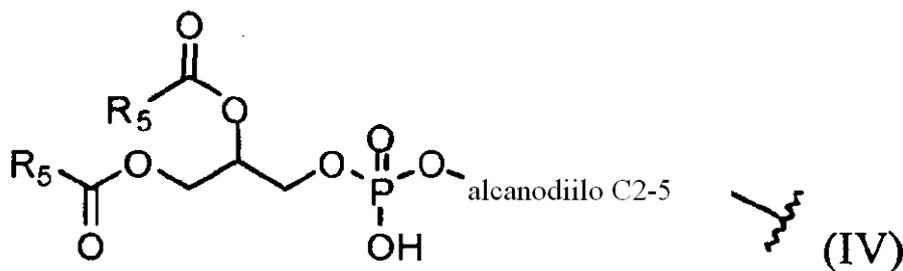
30



40

en el que cada R5, independientemente, es como se define anteriormente, y el alcanodiilo C2-5 está unido a "E"; y R8 se selecciona del grupo que consiste en N(alquilo C0-3)C(O)R9, OC(O)R9, C(O)N(alquilo C0-3)R9 y C(O)OR9, en el que R9 es un sustituyente de acuerdo con la fórmula (IV)

45



50

55

- en el que cada R5, independientemente, es como se define anteriormente; como un ácido en su forma protonada no cargada, una sal de adición farmacéuticamente aceptable, un solvato, o un solvato de una sal del mismo, estando dicho compuesto presente como un estereoisómero puro, o en una mezcla anomérica que comprende dicho compuesto, en el que en la mezcla anomérica prevalece el anómero  $\alpha$ .
- 5 2. Compuesto, según la reivindicación 1, en el que "A" es un alcanodiilo de C2-5 de cadena lineal no ramificada; R1 es metilo; "X" es O; R2 es R4 o R8; y R5 es una cadena lineal de carbonos no sustituida.
- 10 3. Compuesto, según la reivindicación 1 ó 2, en el que R2 es R4; y R7 es R5, en el que R5 es una cadena lineal de carbonos no sustituida que comprende de 20 a 30 átomos de carbono.
4. Compuesto, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que R5 comprende por lo menos un doble o triple enlace, tal como dos triples enlaces conjugados.
- 15 5. Compuesto, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que R2 es R4; R7 es R5; el número entero "n" es 4 a 15; D es NHC(O) u OC(O); el número entero "m" es 2; el número entero "p" es 0 (cero); y E es NHC(O) u OC(O); o en el que R2 es R4; R7 es R5; el número entero "n" es 4 a 15; D es C(O)NH u OC(O); el número entero "m" es 2; el número entero "p" es 0 (cero); y E es NHC(O) u OC(O).
- 20 6. Compuesto, según la reivindicación 1, en el que R2 es R3; y R3 es NHC(O)R5.
7. Compuesto, según la reivindicación 1, en el que dicho compuesto se selecciona del grupo que consiste en ácido 6,19-diaza-10,13,16-trioxa-7,20-dioxo-tritetracontanil 5-acetamido-3,5-didesoxi-D-glicero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonilopiranosilónico, ácido 6,25-diaza-10,13,16,19,22-pentaoxa-7,26-dioxo-nonatetracontanil 5-acetamido-3,5-didesoxi-D-glicero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonilopiranosilónico, ácido 6,46-diaza-10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46-dodecaoxa-7,47-dioxo-tetrahexacontanil 5-acetamido-3,5-didesoxi-D-glicero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonilopiranosilónico, ácido 6,19-diaza-10,13,16-trioxa-7,20-dioxo-29,31-tetratetraconta-diinil 5-acetamido-3,5-didesoxi-D-glicero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonilopiranosilónico, ácido 6,25-diaza-10,13,16,19,22-pentaoxa-7,26-dioxo-35,37-pentacontadiinil 5-acetamido-3,5-didesoxi-D-glicero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonilopiranosilónico y ácido 6,46-diaza-10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46-dodecaoxa-7,47-dioxo-56,58-henheptaconta-diinil 5-acetamido-3,5-didesoxi-D-glicero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonilopiranosilónico.
- 25 8. Agregado que comprende una pluralidad del compuesto, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, y una pluralidad de una molécula anfifílica separada de dicho compuesto y capaz de formar bicapas en agua, en el que dicha molécula anfifílica comprende una cadena lineal de carbonos que comprende por lo menos 12, tal como por lo menos 16 o por lo menos 20, átomos de carbono; y opcionalmente por lo menos un triple enlace, y/o un grupo carboxilo.
- 35 9. Agregado, según la reivindicación 7 u 8, en el que el agregado comprende de 0,1 a 25% molar, tal como de 5 a 15% molar, de dicho compuesto, y por lo menos el 40% molar de dicha molécula anfifílica.
- 40 10. Agregado, según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9, en el que dicha molécula anfifílica es el ácido 10,12-pentacosadiinoico.
- 45 11. Composición farmacéutica que comprende un agregado, según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 10, y por lo menos un excipiente farmacéuticamente aceptable, en la que dicha composición es una composición acuosa, que tiene preferiblemente un contenido de agua de por lo menos el 90% en peso, y en la que dicha composición comprende de 0,001 a 10 mM, tal como de 0,01 a 1 mM, de una sustancia, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.
- 50 12. Composición farmacéutica, según la reivindicación 11, en la que dicha composición comprende un agente, tal como glicerol, para suministrar una solución isotónica, un agente espesante, un compuesto antiviral adicional y/o un anestésico local.
- 55 13. Composición farmacéutica, según cualquiera de las reivindicaciones 11 ó 12, en la que dicha composición es para la administración en el ojo.
- 60 14. Compuesto, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, agregado, según cualquiera de las reivindicaciones 8 a 10, o composición farmacéutica, según cualquiera de las reivindicaciones 11 a 13, para utilizar en terapia.
- 65 15. Compuesto, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, agregado, según cualquiera de las reivindicaciones 8 a 10, o composición farmacéutica, según cualquiera de las reivindicaciones 11 a 13, para utilizar en el tratamiento y/o prevención de una infección ocular, tal como queratoconjuntivitis epidémica, causada por un virus, tal como un virus seleccionado del grupo que consiste en HAdV-8, HAdV-19, HAdV-37, HAdV-53, HAdV-54 y HAdV-22,37/H8, cuyo virus se une a residuos siálicos terminales presentes en la superficie celular de la célula a ser infectada por dicho virus.

AVirC018 causa la agregación de Ad37

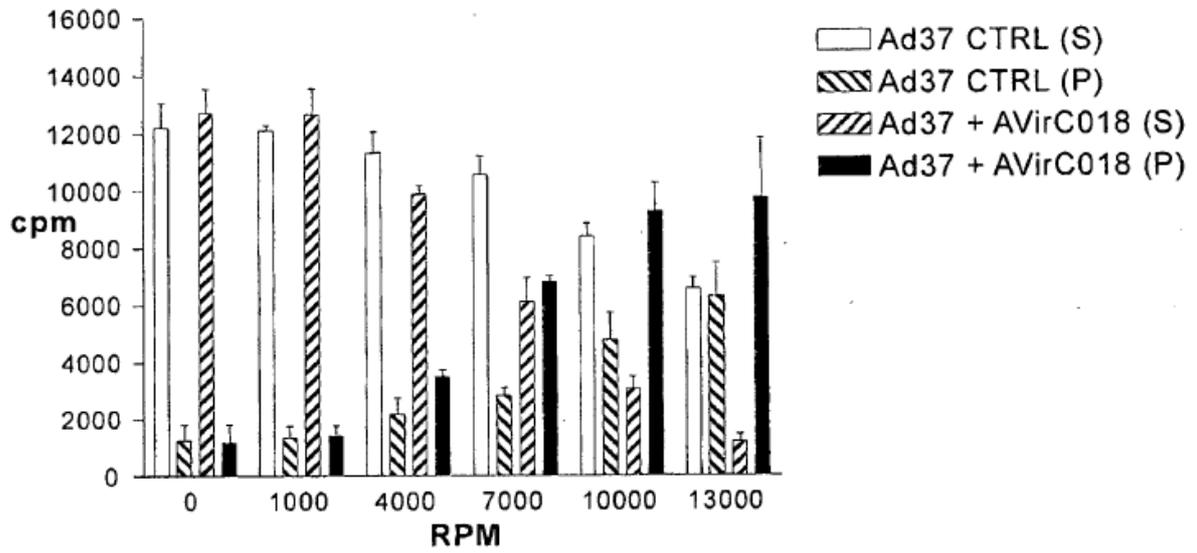


Figura 1

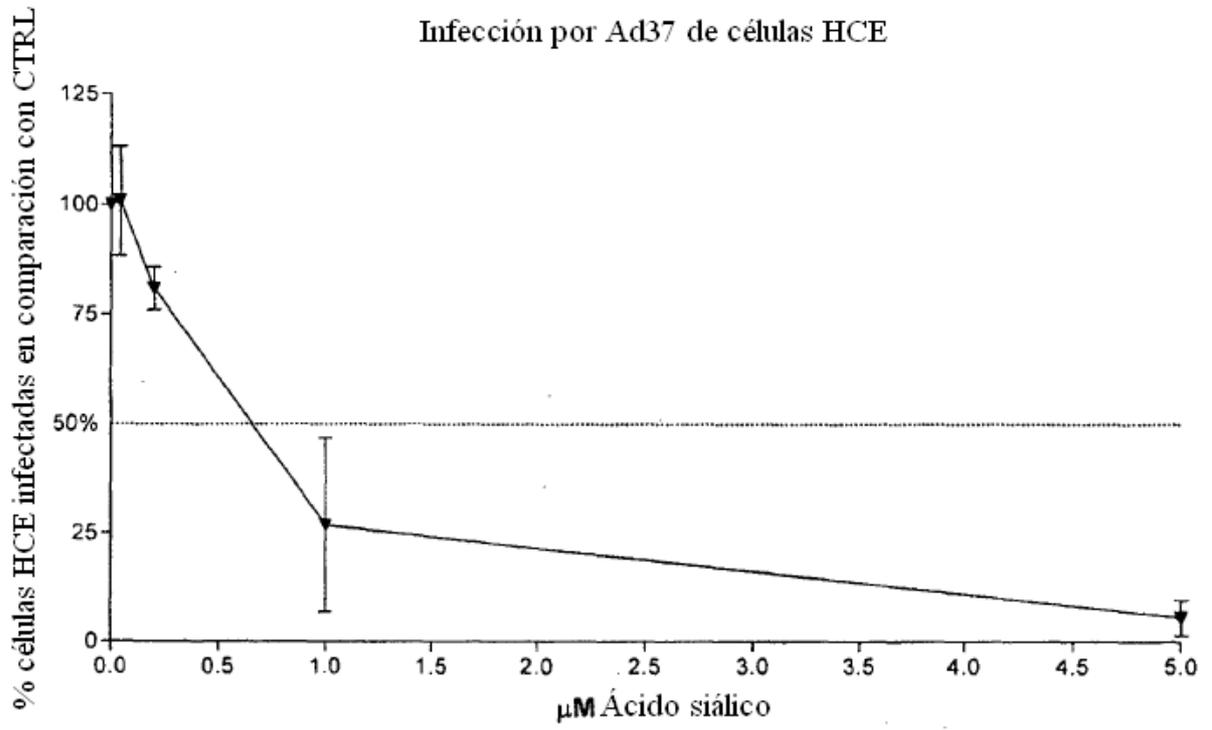


Figura 2

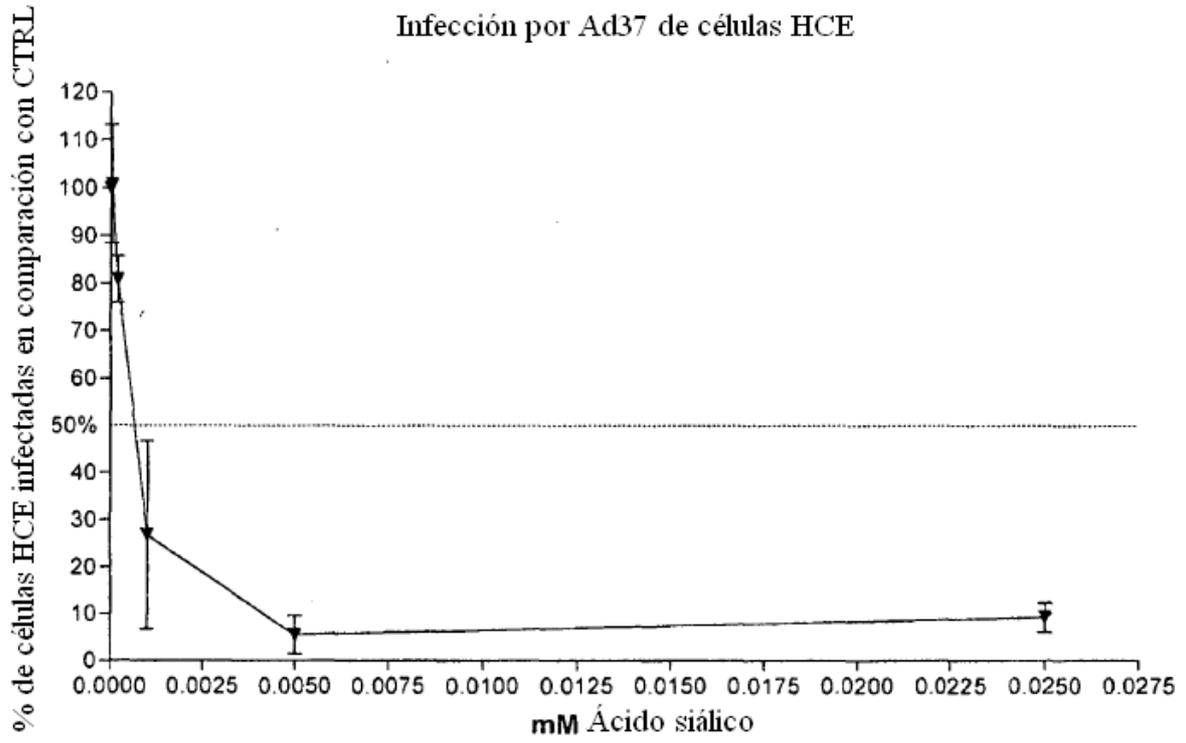


Fig. 3