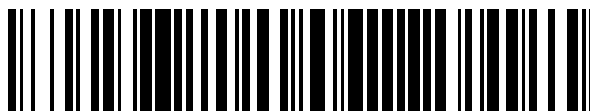


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 559 857**

51 Int. Cl.:

C07H 15/26 (2006.01)

A61K 31/7068 (2006.01)

A61P 19/02 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.01.2013 E 13700935 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.12.2015 EP 2807176**

54 Título: **Nuevos inhibidores de galactósido de galectinas**

30 Prioridad:

25.01.2012 EP 12152413

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

16.02.2016

73 Titular/es:

GALECTO BIOTECH AB (100.0%)

Ole Måløes Vej 3

2200 Copenhagen, DK

72 Inventor/es:

NILSSON, ULF;

LEFFLER, HAKON;

MUKHOPADHYAY, BALARAM y

RAJPUT, VISHAL

74 Agente/Representante:

LAZCANO GAINZA, Jesús

ES 2 559 857 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 inhibidores de galactósido de galectinas

5 Campo de la técnica

La presente invención se refiere a compuestos nuevos, el uso de dichos compuestos como medicamento y de la fabricación de un medicamento para el tratamiento de cualquier trastorno relacionado con la unión de una galectina a un ligando en los mamíferos. La invención se refiere también a composiciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos nuevos.

Antecedentes de la técnica

15 Las galectinas son proteínas con un dominio de reconocimiento de carbohidratos característico (CRD) (Barondes y *otros*, 1994; Leffler y *otros*, 2004). Este es un emparejado β (β -sandwich) fuertemente plegado de aproximadamente 130 aminoácidos (aproximadamente 15 kDa) con las dos características definitorias 1) un sitio de unión a β -galactosa y 2) suficiente similitud en un motivo secuencial de aproximadamente siete aminoácidos, la mayoría de los cuales (aproximadamente seis residuos) conforman el sitio de unión a β -galactosa. Sin embargo, se requieren sitios adyacentes al sitio de β -galactosa para una unión fuerte de los sacáridos naturales y diferentes preferencias de estos le dan a las galectinas una especificidad diferente para los sacáridos naturales.

La reciente conclusión de las secuencias del genoma humano, de ratón y de rata revela aproximadamente 15 galectinas y proteínas similares a galectinas en un genoma de mamífero con una ligera variación entre especies (Leffler y *otros*, 2004)

25 Las subunidades de galectinas pueden contener uno o dos CRD dentro de una sola cadena peptídica. La primera categoría, galectinas mono-CRD, pueden presentarse como monómeros o dímeros (dos tipos) en vertebrados. Las galectinas mejor estudiadas hasta el momento son la galectina 1 dimérica, y la galectina 3 que es un monómero en solución pero puede agregarse y volverse multimérica tras encontrarse con ligandos (Leffler y *otros*, 2004). Estas fueron las primeras galectinas descubiertas y son abundantes en muchos tejidos.

En la actualidad existen más de 3500 publicaciones sobre galectinas en PubMed, con la mayoría, como se mencionó anteriormente, sobre galectinas-1 (>900) y -3 (>1600). Fuerte evidencia sugiere papeles de las galectinas en por ejemplo la inflamación y cáncer, y el desarrollo revisado recientemente en un tema especial (Leffler (editor), 2004b).

35 Las galectinas se sintetizan como proteínas citosólicas, sin un péptido señal en los ribosomas libres. Su N-terminal está acetilado, una modificación típica de las proteínas citosólicas, y residen en el citosol durante un largo tiempo (no típico de las proteínas secretadas). A partir de ahí pueden dirigirse al núcleo, sitios citosólicos específicos, o secretarse (inducido o constitutivamente) por una vía no clásica (no-ER-Golgi), hasta ahora desconocida, pero posiblemente similar a la exportación de por ejemplo IL-1 (Leffler y *otros*, 2004). Pueden funcionar además en todos estos compartimentos; para la galectina-3, evidencia sólida publicada en revistas bien respetadas apoya los papeles en el corte y empalme de ARN en el núcleo, la inhibición de la apoptosis en el citosol, y una variedad de efectos extracelulares en la señalización celular y la adhesión (Leffler (editor), 2004b). La galectina-7 y -12 actúan además en el citosol mejorando la apoptosis y regulando el ciclo celular y la diferenciación en ciertas células (Hsu y Liu en Leffler (editor), 2004b). La mayoría de galectinas actúan además extracelularmente mediante el entrecruzamiento de las glicoproteínas (por ejemplo, laminina, integrinas, y receptores de IgE) posiblemente formando matrices ordenadas supramoleculares (Brewer y *otros*, 2002) y pueden por lo tanto modular la adhesión celular e inducir señales intracelulares. En relación con esto, los últimos años han visto el surgimiento de un mecanismo molecular de estas funciones de galectina que implican una formación de microdominios (enrejados) dentro de las membranas (Dam y *otros*, 2008; Garner y *otros*, 2008) que a su vez afecta el tráfico intracelular y la presentación en la superficie de la célula de receptores de glicoproteína. (Delacour y *otros*, 2007; Lau y *otros*, 2007; Lau y *otros* 2008) Esto se ha documentado en cultivo celular, en ratones mutantes nulos, (Blois y *otros*, 2007; Gedronneau y *otros*, 2008; Thijssen y *otros*, 2007; Toscano y *otros*, 2007; Saegusa y *otros*, 2009) y animales tratados con galectina (Blois y *otros*, 2007; Perone y *otros*, 2009) o inhibidores de galectina. (John y *otros*, 2003; Pienta y *otros*, 1995; Glinksky y *otros*, 1996)

55 Uso terapéutico potencial de los inhibidores de galectina 3

La galectina 3 se ha implicado en diversos fenómenos y, por lo tanto, los inhibidores pueden tener múltiples usos. Es fácil percibir esto como una falta de especificidad o falta de enfoque científico. Por lo tanto, es útil la analogía con la aspirina y las ciclooxigenasas (COX-I y II). Las COX producen el precursor de una amplia variedad de prostaglandinas y, por lo tanto, están implicadas en un diverso conjunto de mecanismos biológicos. Sus inhibidores, la aspirina y otros NSAID (fármacos antiinflamatorios no esteroideos) tienen, además, amplios y diversos efectos. A pesar de esto, estos inhibidores son muy útiles en la medicina, y tienen varias utilidades específicas diferentes.

65 De manera que, si las galectinas, al igual que las COX, forman parte de algún mecanismo regulatorio biológico básico (hasta ahora desconocido), es probable que se 'usen por la naturaleza' para diferentes propósitos en diferentes

contextos. No se espera que los inhibidores de galectinas, al igual que los NSAID, eliminen todo el sistema, sino que inclinan un poco el equilibrio.

Inhibición de la inflamación

Un papel proinflamatorio de la galectina 3 es indicado por su inducción en células en sitios inflamatorios, una variedad de efectos sobre células inmunológicas (por ejemplo explosión oxidativa en neutrófilos, quimiotaxis en monocitos), y disminución de la respuesta inflamatoria principalmente en neutrófilos y macrófagos, en ratones mutantes nulos (en Leffler (editor), 2004b). Además, los ratones knock-out de Mac-2BP, un ligando de galectina-3, han aumentado las respuestas inflamatorias (Trahey y otros, 1999). Es importante destacar que estudios recientes han identificado la galectina-3 como un factor clave limitante de la velocidad en la diferenciación de macrófagos M2 y activación de miofibroblastos, que influye en el desarrollo de la fibrosis (Mackinnon y otros, 2008; Mackinnon y otros, 2012).

La inflamación es una respuesta protectora del cuerpo a organismos invasores y al daño tisular. Sin embargo, si se desequilibra, frecuentemente es además destructiva y ocurre como parte de la patología en muchas enfermedades. Debido a esto, existe un gran interés médico en la modulación farmacológica de la inflamación. Se espera que un inhibidor de galectina 3 proporcione una importante adición al arsenal disponible para esto.

Tratamiento de las afecciones relacionadas con la fibrosis

La idea de un posible papel de la galectina-3 en la fibrosis proviene de las células y estudios *ex vivo* sobre la diferenciación de los macrófagos (Mackinnon y otros, 2008), así como de estudios *in vivo* sobre la diferenciación de los macrófagos y activación de miofibroblastos (Mackinnon y otros, 2012). En resumen, la hipótesis es la siguiente: la Galectina-3 se ha demostrado que prolonga la residencia en la superficie celular y mejora por lo tanto la respuesta del receptor de TGF- β (Partridge y otros, 2004), que a su vez regula la diferenciación alternativa de macrófagos en macrófagos M2 y la activación de miofibroblastos. Por lo tanto, como la galectina-3 es un buen candidato por ser un potenciador endógeno de la señalización de TGF- β y diferenciación alternativa de macrófagos y activación de miofibroblastos, los inhibidores de la galectina-3 pueden ser muy útiles en el tratamiento de la fibrosis y remodelación tisular adversa.

Tratamiento de cáncer

Un gran número de estudios inmunohistoquímicos muestran cambios en la expresión de ciertas galectinas en cáncer (van den Brule y otros y Bidon y otros en Leffler (editor), 2004b) y por ejemplo, la galectina-3 es ahora un marcador histoquímico establecido de cáncer tiroideo. La evidencia directa de un papel de la galectina 3 en el cáncer proviene de modelos murinos, principalmente por Raz y otros, pero también otros (en Leffler (editor), 2004b). En líneas de células tumorales pareadas (con aumento o disminución de la expresión de galectina 3), la inducción de galectina 3 produce más tumores y metástasis y la supresión de galectina 3 produce menos tumores y metástasis. Se ha propuesto que la galectina 3 potencia el crecimiento tumoral al ser antiapoptótica, promover la angiogénesis, o promover metástasis al afectar la adhesión celular. A partir de lo anterior es claro que los inhibidores de galectina 3 pudieran tener efectos anticancerosos valiosos. De hecho, se han reportado sacáridos que tienen efectos anticancerosos, los cuales se han reivindicado pero no se ha demostrado que inhiben la galectina 3. En nuestro propio estudio un fragmento de galectina 3 que contiene el CRD inhibió el cáncer de mamas en un modelo murino al actuar como un inhibidor negativo dominante (John y otros, 2003). Más recientemente, la inhibición de la galectina-3 con pequeñas moléculas se ha demostrado claramente que mejora en gran medida la sensibilidad de las células tumorales hacia la radiación y los fármacos pro-apoptóticos estándar en ensayos de células y *ex vivo* (Lin y otros, 2009), así como *in vivo* (Glinsky y otros, 2009).

Además, la galectina 1 se sobreexpresa frecuentemente en células cancerosas poco diferenciadas, y la galectina 9 o sus parientes la galectina 4 y la galectina 8 pueden inducirse en tipos de cáncer específicos (Huflejt y Leffler, 2004; Leffler (editor), 2004b). La galectina 1 induce apoptosis en células T activadas y tiene un efecto inmunosupresor notable en enfermedades autoinmunitarias *in vivo* (Rabinovich y otros; y Pace y otros en Leffler (editor), 2004b). Por lo tanto, la sobreexpresión de estas galectinas en cáncer podría ayudar al tumor a defenderse contra la respuesta de células T levantada por el huésped.

Los ratones mutantes nulos para las galectinas 1 y 3 se han establecido desde hace muchos años (Poirier, 2002). Éstos son sanos y aparentemente se reproducen normalmente en condiciones de alojamiento de animales. Sin embargo, los estudios recientes han revelado fenotipos sutiles en función de neutrófilos y macrófagos (como se describió anteriormente) y en la formación ósea para los mutantes nulos para la galectina 3, y en la regeneración/diferenciación de células nerviosas y musculares para los mutantes nulos para la galectina-1 (Leffler y otros, 2004; Poirier, 2002; Watt en Leffler (editor), 2004b). Recientemente se han generado ratones mutantes nulos para la galectina 7 y galectina 9 y también son sanos generalmente en las condiciones de alojamiento de animales, pero aún no se han analizado en detalle. Las diferencias en el sitio de expresión, la especificidad y otras propiedades hacen poco probable que las diferentes galectinas puedan remplazarse entre sí funcionalmente. Las observaciones en los ratones mutantes nulos indicarían que las galectinas no son esenciales en funciones básicas para el soporte de la vida como puede observarse en condiciones normales de alojamiento de animales. En su lugar ellas pueden ser optimizadores de la función normal y/o pueden ser esenciales en condiciones de estrés que no ocurren en las condiciones de alojamiento de animales. La

falta de un efecto fuerte en ratones mutantes nulos puede hacer que los inhibidores de galectinas sean más favorables como fármacos. Si la actividad de las galectinas contribuye a condiciones patológicas como se sugirió anteriormente pero menos a las condiciones normales, entonces su inhibición tendrá menos efectos secundarios no deseados.

5 *Tratamiento de la angiogénesis*

La señalización de los factores de crecimiento endotelial vascular (VEGF) a través del receptor-2 de VEGF (VEGFR-2) es la vía angiogénica primaria. Estudios han sido publicados demostrando que tanto la galectina-1 (Gal-1) como la galectina-3 (Gal-3) son moduladores importantes para la vía de señalización de VEGF/VEGFR-2. Se ha publicado además que un inhibidor de la galectina, TDX, se espera tenga eficacia contra la angiogénesis patológica. (Chen 2012).

Inhibidores conocidos

Ligandos naturales

Los ensayos de unión en fase sólida y los ensayos de inhibición han identificado un número de sacáridos y glicoconjugados con la capacidad de unirse a las galectinas (revisado por Leffler, 2001 y Leffler y *otros*, 2004). Todas las galectinas se unen a lactosa con una K_d de 0.5 - 1 mM. La afinidad de la D-galactosa es 50 - 100 veces menor. La *N*-acetilactosamina y disacáridos relacionados se unen aproximadamente como la lactosa, pero para ciertas galectinas, estos pueden unirse ya sea peor o hasta 10 veces mejor. Los mejores sacáridos pequeños ligandos para la galectina 3 fueron los que portaron determinantes del grupo sanguíneo A unidos a lactosa o residuos lacNAc y se encontró que se unen hasta aproximadamente 50 veces mejor que la lactosa. La galectina 1 no muestra preferencia por estos sacáridos.

Los sacáridos más grandes del tipo de polilactosamina se han propuesto como los ligandos preferidos para las galectinas. En solución, usando glicopéptidos portadores de polilactosamina, hubo evidencia de esto para galectina-3, pero no para galectina-1 (Leffler y Barondes, 1986). Un polisacárido de pectina de planta modificado se ha reportado que une galectina-3 (Pienta y *otros*, 1995).

Los sacáridos naturales descritos anteriormente que se han identificado como ligandos de la galectina 3 no son adecuados para su uso como componentes activos en composiciones farmacéuticas, porque son susceptibles a hidrólisis ácida en el estómago y a degradación enzimática. Adicionalmente, los sacáridos naturales son hidrofílicos por naturaleza, y no se absorben fácilmente a partir del tracto gastrointestinal después de una administración oral.

Especificidad para la Galectina

Los estudios de especificidad de galectina usando la inhibición por pequeños sacáridos naturales mencionados anteriormente indicaron que todas las galectinas unen lactosa, disacáridos LacNAc y relacionados, pero que la galectina-3 une mucho mejor ciertos sacáridos más largos (Leffler y Barondes, 1986). Estos sacáridos más largos se caracterizaron por tener un residuo de azúcar adicional añadido a la posición C-3 de galactosa (en, por ejemplo lactosa o LacNAc) que une un ranura de unión extendida. La forma de esta ranura varía entre las galectinas, lo que sugiere que las mismas extensiones no se podrían unir igualmente por las diferentes galectinas.

Inhibidores sintéticos

Los sacáridos acoplados a aminoácidos con actividad anticancerosa se identificaron primero como compuestos naturales en el suero, pero posteriormente, se han fabricado análogos sintéticos (Glinsky y *otros*, 1996). Entre ellos, aquellos con lactosa o galactosa acopladas al aminoácido inhiben las galectinas, pero solo aproximadamente con la misma potencia que el azúcar no derivada correspondiente. Una forma modificada químicamente de la pectina cítrica (Platt y Raz, 1992) que inhibe la galectina-3 muestra la actividad anti-tumoral *in vivo* (Pienta y *otros*, 1995; Nangia-Makker y *otros*, 2002).

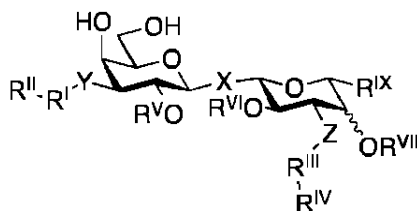
Las moléculas de las agrupaciones que tienen hasta cuatro porciones de lactosa mostraron un fuerte efecto de multivalencia al unirse a galectina-3, pero no a galectina-1 y galectina-5 (Vrasidas y *otros*, 2003). Las glicoagrupaciones basadas en ciclodextrina con siete residuos de galactosa, lactosa, o *N*-acetilactosamina mostraron, además, un fuerte efecto de multivalencia contra la galectina-3, pero menor contra las galectinas-1 y -7 (André y *otros*, 2004). Dendrimeros Starburst (André y *otros*, 1999) y glicopolímeros (Pohl y *otros*, 1999; David y *otros*, 2004), hechos polivalentes en residuos con lactosa, han sido descritos como inhibidores de la galectina-3 con potencia marginalmente mejorada en comparación con la lactosa. Los compuestos sintéticos antes mencionados que se han identificado como ligandos de galectina 3 no son adecuados para su uso como componentes activos en composiciones farmacéuticas, porque son hidrofílicos por naturaleza y no se absorben fácilmente a partir del tracto gastrointestinal después de una administración oral.

Los oligosacáridos naturales, las glicoagrupaciones, los glicodendrimeros, y los glicopolímeros descritos anteriormente son demasiado polares y demasiado grandes para ser absorbidos y en algunos casos son lo suficientemente grandes para producir respuestas inmunitarias en los pacientes. Además, son susceptibles a la hidrólisis ácida en el estómago y a la hidrólisis enzimática. Por lo tanto, existe una necesidad de moléculas sintéticas pequeñas

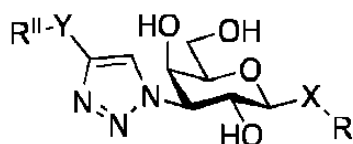
El tiodigalactósido se conoce por ser un inhibidor sintético e hidrolíticamente estable, sin embargo, polar, aproximadamente tan eficiente como *N*-acetilactosamina (Leffler y Barondes, 1986). Se ha demostrado que los derivados de *N*-acetilactosamina que portan amidas aromáticas o bencil éteres sustituidos en C-3' son inhibidores altamente eficientes de la galectina 3, con valores de IC₅₀ sin precedentes tan bajos como 4.8 μM, lo que es una mejora 20 veces en comparación con el disacárido natural de *N*-acetilactosamina (Sörme y otros, 2002; Sörme y otros, 2003b). Estos derivados son menos polar en general, debido a la presencia de las porciones amido aromáticas y son por lo tanto más adecuados como agentes para la inhibición de las galectinas *in vivo*. Además, los galactósidos C3-triazolilo han demostrado ser inhibidores potentes como las correspondientes C3-amidas de algunas galectinas. Por lo tanto, cualquier C3-sustituyente de galactosa debidamente estructurado puede conferir una mayor afinidad galectina

Sin embargo, los compuestos C3-amido y C3-triazolilo-derivatizados todavía son susceptibles a la degradación hidrolítica *in vivo*, debido a la presencia de un enlace glicosídico en la galactosa y porción de sacárido *N*-acetilactosamina y, aunque son inhibidores de moléculas pequeñas potentes de la galectina-3, aún es deseable además mejora de la afinidad y estabilidad. En consecuencia, se han desarrollado inhibidores basados en la derivatización 3,3'-diamido- o 3,3'-ditriazolilo de tiodigalactósido, (Cumpstey y otros, 2005b; Cumpstey y otros, 2008; Salameh y otros, 2010; WO/2005/113569 y US2007185041; WO/2005/113568, US7,638,623 B2) que carecen de enlaces hidrolítica y enzimáticamente lábiles O-glicosídicos. Estos inhibidores muestran además afinidad superior para varias galectinas (hasta Kd en el intervalo bajo nM). Sin embargo, a pesar de que muestran alta afinidad para galectinas, los tiodigalactósidos 3,3-derivatizados todavía comprenden una desventaja en su síntesis de múltiples etapas que implica la reacción de doble inversión para llegar a galactosa 3-*N*-derivatizada. Además, la sustitución con ciclohexano de un anillo galactosa en el tiodigalactósido se ha evidenciado que imita el anillo de galactosa y por lo tanto que proporciona inhibidores de galectina-1 y -3 con eficiencia acercándose aquellos de los derivados diamido- y ditriazolilo-tiodigalactósido (WO/2010/126435). La sustitución de una unidad de D-galactopiranososa con un ciclohexano sustituido disminuye la polaridad y muy probablemente además la susceptibilidad metabólica, mejorando por lo tanto las propiedades similares al fármaco.

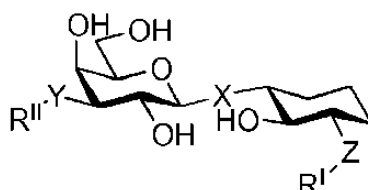
Algunos compuestos descritos anteriormente tienen las siguientes fórmulas generales



como se describe en WO/2005/113568, y



como se describe en WO/2005/113569, en el que R¹ puede ser una D-galactosa, y



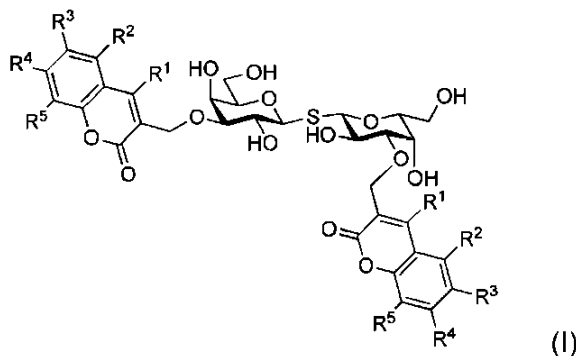
como se describe en WO/2010/126435.

Por lo tanto, debido a que menos fabricación óptima se procesa hacia la derivatización galactosa 3-*N* (Z y Y son preferentemente átomos de nitrógeno) que implica reacciones de doble inversión con un complejo D-galactopiranososa protegida derivado de los compuestos de la técnica anterior, todavía existe una necesidad considerable dentro de la técnica de inhibidores contra galectinas, particularmente, de la galectina-1 y galectina-3.

Resumen de la invención

Por lo tanto la presente invención se refiere a compuestos que se fabrican fácilmente a través de derivados 3-O-propargil-galactosa, que portan porciones cumarilmetil en las posiciones O3- y O3'- de tiodigalactósido I y poseen actividad de unión a la galectina comparable con los compuestos conocidos de la técnica anterior.

Los compuestos descritos en la presente descripción, tienen la Fórmula general (I)



en donde:

R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y R^5 son independientemente seleccionados del grupo que consiste en hidrógeno, grupos alquilo opcionalmente sustituidos, halógenos, grupos alcoxi opcionalmente sustituidos de al menos 1 carbono, grupo hidroxilo, grupos carbonilo sustituidos, grupos aciloxi opcionalmente sustituidos, y grupos amino opcionalmente sustituidos. Dos, tres, cuatro o cinco de R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y R^5 en posiciones adyacentes pueden unirse para formar uno o más anillos, en donde el resto de R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y R^5 es/son independientemente seleccionados del grupo anterior.

Como se desprende de la estructura (I) la configuración de los anillos de piranosa es β -D-galacto.

La presente invención se refiere también a los compuestos mencionados anteriormente para su uso como medicamentos.

Además, la presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden uno o más de los compuestos mencionados anteriormente y al menos un adyuvante, diluyente, excipiente y/o portador farmacéuticamente aceptable.

Además, la presente invención se refiere a los compuestos mencionados anteriormente para el uso en el tratamiento de un trastorno relacionado con la unión de una galectina a un ligando en un mamífero.

Además, la presente invención se refiere a los compuestos mencionados anteriormente para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno relacionado con la unión de una galectina a un ligando en un mamífero.

Además, la presente invención se refiere a métodos para el tratamiento de un trastorno relacionado con la unión de una galectina a un ligando en un mamífero, en donde una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1- 4 se administra a un mamífero en necesidad de dicho tratamiento.

Los compuestos descritos en la presente son inhibidores principalmente de galectina-3. Sin embargo, en alguna medida al menos algunos de ellos son además inhibidores de otras galectinas.

Diseño de tiodigalactósidos sustituido con cumaril como inhibidores de galectina

La técnica anterior describe medios diferentes de porciones estructurales que mejoran la afinidad de fijación a las posiciones 3- y 3' de tiodigalactósido. Las porciones descritas se enlazan a través de O o N al tiodigalactósido. Sin embargo, para lograr alta afinidad por las galectinas y particularmente galectina-3, estas porciones estructurales deben ser grupos aromáticos enlazados a través de N (enlace amida o anillo triazolilo) a las posiciones 3 y 3' de tiodigalactósido (Cumpstey y otros, 2005b; Cumpstey y otros, 2008; Salameh y otros, 2010; WO2005113569/US2007185041; WO2005113568, US7,638,623 B2). Porciones estructurales enlazadas a través de O proporcionan efectos inhibitorios, pero con afinidades inferiores (Delaine y otros; 2008). El requisito de enlazamiento a través de N a las posiciones 3 y 3' de tiodigalactósido resulta en secuencias sintéticas prolongadas no óptimas para introducir el átomo de N en las posiciones 3 y 3' de tiodigalactósido. Hemos descubierto que las porciones estructurales O-enlazadas más fácilmente accesibles en las posiciones 3- y 3'- de tiodigalactósido se pueden obtener a través de la

unión de grupos O-propargil a las posiciones 3- y 3'- de tiodigalactósido. Los grupos O-propargil se pueden convertir con transformaciones químicas eficientes conocidas en diferentes sistemas de anillos aromáticos heterocíclicos. La transformación de los grupos 3-O-propargil en el derivado galactopiranososa en estructuras de cumarilmetil, seguido por la implementación sobre una formación tiodigalactósido claramente dio inhibidores 3,3'-diamido- y 3,3'-triazolilo-tiodigalactósidos con eficiencias en el mismo intervalo de la técnica anterior. Esto es inesperado, porque los tiodigalactósidos 03- y O3'- enlazados de la técnica anterior fueron mucho menos eficiente que los derivados N-enlazados. La eficiencia inesperada es aparentemente debido a las propiedades óptimas de las porciones (hetero) bicíclicas sustituidas (cumarilmetil) obtenidas de una molécula precursora fácilmente accesible que porta O-propargilo.

10 Descripción detallada

De acuerdo con un aspecto de la invención, como se menciona anteriormente, R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y R^5 son independientemente seleccionados del grupo que consiste en hidrógeno, grupos alquilo opcionalmente sustituidos, halógenos, grupos alcoxi opcionalmente sustituidos de al menos 1 carbono, grupo hidroxilo, grupos carbonilo sustituidos, grupos aciloxi opcionalmente sustituidos, y grupos amino opcionalmente sustituidos.

En la presente descripción, el término "grupo alquilo" se refiere a un grupo alquilo que contiene 1-7 átomos de carbono, que puede incluir uno o más átomos de carbono insaturados. En algunas modalidades el grupo alquilo contiene 1-4 átomos de carbono, el cual puede incluir uno o más átomos de carbono insaturados. Los átomos de carbono en el grupo alquilo pueden formar una cadena lineal o ramificada. Los átomos de carbono en dicho grupo alquilo pueden formar además un ciclo que contiene 3, 4, 5, 6, o 7 átomos de carbono. Por lo tanto, el término "grupo alquilo" usado en la presente descripción abarca metilo, etil, n-propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, ter-butilo, pentilo, isopentilo, 3-metilbutilo, 2,2-dimetilpropilo, n-hexilo, 2-metilpentil, 2,2-dimetilbutilo, 2,3-dimetilbutilo, n-heptilo, 2-metilhexilo, 2,2-dimetilpentilo, 2,3-dimetilpentilo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, y 1-metilciclopropilo.

Como se mencionó anteriormente, si uno o más de R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , y R^5 es/son un grupo alquilo, este grupo alquilo puede ser opcionalmente sustituido. Si varios de R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y R^5 son grupos alquilo, estos son opcionalmente sustituido independientemente uno de otro. Esta sustitución opcional significa que los grupos alquilo se pueden sustituir con uno, dos o más sustituyentes conocidos dentro de la técnica de la química orgánica. Los ejemplos de sustituyentes que se pueden usar para los grupos alquilo opcionalmente sustituidos como se describe en la presente descripción son grupos halógeno, alcoxi, nitro, sulfo, amino, hidroxilo y carbonilo.

En la presente descripción, el término "halógeno" se refiere a un grupo fluoro, uno cloro, uno bromo o uno yodo.

En la presente descripción, el término "grupo alcoxi" se refiere a un grupo alcoxi que contiene 1-7 átomos de carbono, que puede incluir uno o más átomos de carbono insaturados. En algunas modalidades el grupo alcoxi contiene 1-4 átomos de carbono, que puede incluir uno o más átomos de carbono insaturados. Por lo tanto, el término "grupo alcoxi" abarca un grupo metoxi, un grupo etoxi, un grupo propoxi, un grupo isopropoxi, un grupo n-butoxi, un grupo sec-butoxi, un grupo tert-butoxi, grupo pentoxi, grupo isopentoxi, grupo 3-metilbutoxi, grupo 2,2-dimetilpropoxi, grupo n-hexox, grupo 2-metilpentoxi, grupo 2,2-dimetilbutoxi, grupo 2,3-dimetilbutoxi, grupo n-heptoxi, grupo 2-metilhexoxi, grupo 2,2-dimetilpentoxi, grupo 2,3-dimetilpentoxi, grupo ciclopropoxi, grupo ciclobutoxi, grupo ciclopentiloxi, grupo ciclohexiloxi, grupo cicloheptiloxi, y grupo 1-metilciclopropiloxi.

Como se mencionó anteriormente, si uno o más de R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y R^5 es/son un grupo alcoxi, este grupo alquilo puede ser opcionalmente sustituido. Si varios de R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y R^5 son grupos alcoxi, estos son opcionalmente sustituido independientemente uno de otro. Esta sustitución opcional significa que los grupos alcoxi se pueden sustituir con uno, dos o más sustituyentes conocidos dentro de la técnica de la química orgánica. Ejemplos de sustituyentes que se pueden usar para los grupos alcoxi opcionalmente sustituidos como se describe en la presente descripción son grupos halógeno, alcoxi, amino, hidroxilo y carbonilo.

Como se mencionó anteriormente, uno o más de R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y R^5 puede ser un grupo carbonilo sustituido. Cada grupo carbonilo puede estar sustituido con un sustituyente conocido dentro de la técnica de la química orgánica. Ejemplos de sustituyentes que se pueden usar para los grupos carbonilo sustituido como se describen en la presente descripción son hidrógeno, alquilo, arilo, heteroarilo, fenilo, amino, alcoxi, e hidroxilo. Dicho grupo carbonilo puede incorporar además unas estructuras bi- a policíclicas que comprenden 9-14 átomos de carbono, tales como 10 átomos de carbono. Por lo tanto la expresión "un carbonilo sustituido" de acuerdo con esta descripción abarca cualquiera de benzoilo, naftoilo y similares.

En la presente descripción, el término "grupo aciloxi" se refiere a un grupo que contiene 1-7 átomos de carbono, que puede incluir uno o más átomos de carbono insaturados. En algunas modalidades el grupo aciloxi contiene 1-4 átomos de carbono, que puede incluir uno o más átomos de carbono insaturados. Por lo tanto el término "grupo aciloxi" abarca un grupo acetoxi, un grupo propioxi y similares.

Como se mencionó anteriormente, si uno o más de R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y R^5 es/son un grupo aciloxi, este grupo aciloxi puede ser opcionalmente sustituido. Si varios de R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y R^5 son grupos aciloxi, estos son opcionalmente sustituido independientemente uno de otro. Esta sustitución opcional significa que los grupos aciloxi se pueden sustituir con uno,

dos o más sustituyentes conocidos dentro de la técnica de la química orgánica. Ejemplos de sustituyentes que se pueden usar para los grupos aciloxi opcionalmente sustituido como se describe en la presente son grupos halógeno, alcoxi, amino, hidroxilo y carbonilo. Los sustituyentes halógeno son bromo, fluoro, yodo, y cloro.

- 5 Como se mencionó anteriormente, si uno o más de R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y R^5 es/son un grupo amino, este grupo amino puede ser opcionalmente sustituido. Si varios de R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y R^5 son grupos amino, estos son opcionalmente sustituido independientemente uno de otro. Esta sustitución opcional significa que los grupos amino se pueden sustituir con uno, dos o más sustituyentes conocidos dentro de la técnica de la química orgánica. Ejemplos de sustituyentes que pueden ser usados para los grupos aminos opcionalmente sustituidos como se describen en la presente descripción son grupos alquilo, carbonilo, arilo, heteroarilo, y fenilo. Dicho grupo amino puede incorporar además unas estructuras bi- a policíclicas que comprenden 9-14 átomos de carbono, tales como 10 átomos de carbono. Por lo tanto el término grupo amino sustituido significará cualquiera de benzamido, ciclohexilamino, fenilamino y similares.
- 10
- 15 Además, dos, tres, cuatro o cinco de R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y R^5 en posiciones adyacentes pueden unirse para formar uno o más anillos, en donde el resto de R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y R^5 es/son independientemente seleccionados del grupo anterior tales anillos pueden ser alifáticos o aromático y contienen heteroátomos. Ejemplos de tales anillos son anillos de benceno, piperidina, ciclopentano, y naftaleno. En algunas modalidades R^2 y R^3 forman un anillo de benceno.
- 20 En algunas modalidades, al menos uno de R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y R^5 es, independientemente del otro de R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y R^5 , hidrógeno. Por lo tanto, uno, dos, tres, cuatro o la totalidad de R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y R^5 pueden ser hidrógeno.
- En algunas modalidades al menos uno de R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y R^5 se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en halógeno. Por lo tanto, uno, dos, tres, cuatro o la totalidad de R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y R^5 pueden ser un halógeno.
- 25 En algunas modalidades al menos uno de R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y R^5 se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en grupos alcoxi opcionalmente sustituidos. Por lo tanto, uno, dos, tres, cuatro o la totalidad de R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y R^5 pueden ser un grupo alcoxi opcionalmente sustituido.
- 30 En algunas modalidades al menos uno de R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y R^5 es independientemente grupo hidroxilo. Por lo tanto, uno, dos, tres, cuatro o la totalidad de R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y R^5 pueden ser un grupo hidroxilo.
- En algunas modalidades al menos uno de R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y R^5 se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en grupos carbonilo opcionalmente sustituidos. Por lo tanto, uno, dos, tres, cuatro o la totalidad de R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y R^5 pueden ser un grupo carbonilo opcionalmente sustituido.
- 35 En algunas modalidades al menos uno de R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y R^5 se selecciona independientemente del grupo que consiste en grupos amino opcionalmente sustituidos. Por lo tanto, uno, dos, tres, cuatro o la totalidad de R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y R^5 pueden ser un grupo amino opcionalmente sustituido.
- 40 En algunas modalidades, el compuesto de la fórmula general (I) tiene una K_d contra la galectina-3 que es menor que (es decir $<$) $1 \mu M$. En este contexto, el valor de K_d se mide de acuerdo con la prueba descrita en Sörme y otros, 2003a, 2004.
- 45 En algunas modalidades R^5 es hidrógeno.
- En algunas modalidades R^2 es fluoro mientras que cada uno de R^1 , R^3 , R^4 y R^5 es hidrógeno.
- En algunas modalidades R^3 es fluoro mientras que cada uno de R^1 , R^2 , R^4 y R^5 es hidrógeno.
- 50 En algunas modalidades R^3 es un grupo hidroxilo mientras que cada uno de R^1 , R^2 , R^4 y R^5 es hidrógeno.
- En algunas modalidades R^4 es un grupo hidroxilo mientras que cada uno de R^1 , R^2 , R^3 y R^5 es hidrógeno.
- 55 En algunas modalidades ambos R^2 y R^3 son fluoro, mientras que cada uno de R^1 , R^4 y R^5 es hidrógeno.
- En algunas modalidades ambos R^3 y R^4 son fluoro, mientras que cada uno de R^1 , R^2 y R^5 es hidrógeno.
- En algunas modalidades R^2 es cloro mientras que cada uno de R^1 , R^3 , R^4 , y R^5 es hidrógeno.
- 60 En algunas modalidades R^2 y R^3 se unen para formar un anillo de benceno, mientras que cada uno de R^1 , R^4 , y R^5 es hidrógeno.
- En algunas modalidades, todos de R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y R^5 en la Fórmula general (I) son hidrógeno.
- 65 En algunas modalidades, el compuesto es bis-{3-O-[(2*H*-1-benzopirano-2-on-3-il)-metil]- β -D-galactopiranosil}sulfano (20).

- En algunas modalidades, el compuesto es bis-{3-O-[(7-cloro-2*H*-1-benzopiran-2-on-3-il)-metil]-β-D-galactopiranosil}sulfano (21).
- 5 En algunas modalidades, el compuesto es bis-{3-O-[(7-metoxi-2*H*-1-benzopiran-2-on-3-il)-metil]-β-D-galactopiranosil}sulfano (22).
- En algunas modalidades, el compuesto es bis-{3-O-[(7-hidroxi-2*H*-1-benzopiran-2-on-3-il)-metil]-β-D-galactopiranosil}sulfano (23).
- 10 En algunas modalidades, el compuesto es bis-{3-O-[(6-hidroxi-2*H*-1-benzopiran-2-on-3-il)-metil]-β-D-galactopiranosil}sulfano (24).
- En algunas modalidades, el compuesto es bis-{3-O-[(3*H*-nafto[2,1-*b*]piran-3-on-2-il)-metil]-β-D-galactopiranosil}sulfano (25).
- 15 En algunas modalidades, el compuesto es bis-{3-O-[(6-*terc*-butil-2*H*-1-benzopiran-2-on-3-il)-metil]-β-D-galactopiranosil}sulfano (26).
- 20 En algunas modalidades, el compuesto es bis-{3-O-[(6-cloro-2*H*-1-benzopiran-2-on-3-il)-metil]-β-D-galactopiranosil}sulfano (27).
- En algunas modalidades, el compuesto es bis-{3-O-[(6-fluoro-2*H*-1-benzopiran-2-on-3-il)-metil]-β-D-galactopiranosil}sulfano (28).
- 25 En algunas modalidades, el compuesto es bis-{3-O-[(6,7-difluoro-2*H*-1-benzopiran-2-on-3-il)-metil]-β-D-galactopiranosil}sulfano (29).
- En algunas modalidades, el compuesto es bis-{3-O-[(5-cloro-2*H*-1-benzopiran-2-on-3-il)-metil]-β-D-galactopiranosil}sulfano (30).
- 30 En algunas modalidades, el compuesto es bis-{3-O-[(5-fluoro-2*H*-1-benzopiran-2-on-3-il)-metil]-β-D-galactopiranosil}sulfano (31).
- En algunas modalidades, el compuesto es bis-{3-O-[(5,6-difluoro-2*H*-1-benzopiran-2-on-3-il)-metil]-β-D-galactopiranosil}sulfano (32).
- 35 En algunas modalidades, el compuesto es bis-{3-O-[(6-trifluorometoxi-2*H*-1-benzopiran-2-on-3-il)-metil]-β-D-galactopiranosil}sulfano (33).
- 40 En algunas modalidades, el compuesto es bis-{3-O-[(7-metil-2*H*-1-benzopiran-2-on-3-il)-metil]-β-D-galactopiranosil}sulfano (34).
- Como se mencionó anteriormente, las composiciones farmacéuticas como se describen en la presente pueden, además de los compuestos descritos en la presente, comprender además al menos un adyuvante, diluyente, excipiente y/o portador farmacéuticamente aceptable. En algunas modalidades, las composiciones farmacéuticas comprenden de 1 a 99 % en peso de dicho al menos un adyuvante, diluyente, excipiente y/o portador farmacéuticamente aceptable y de 1 a 99% en peso de un compuesto como se describe en la presente. La cantidad combinada del ingrediente activo y del adyuvante, diluyente, excipiente y/o portador farmacéuticamente aceptable, no pueden constituir más de 100% en peso de la composición farmacéutica.
- 45
- 50
- Como se mencionó anteriormente, los compuestos y composiciones farmacéuticas descritos en la presente se pueden usar para el tratamiento de un trastorno relacionado con la unión de una galectina a un ligando en un mamífero.
- 55 Cuando los compuestos y composiciones farmacéuticas descritas en la presente se usan para el tratamiento anterior y/o inhibición, una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto se administra a un mamífero en necesidad de dicho tratamiento.
- El término "tratamiento" usado en la presente descripción se refiere tanto al tratamiento para curar o aliviar una enfermedad o una afección, como al tratamiento para prevenir el desarrollo de una enfermedad o una afección. El tratamiento se puede realizar ya sea en una forma aguda o en una crónica.
- 60
- El término "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad que conducirá al efecto terapéutico deseado.
- 65 En algunas modalidades, el trastorno relacionado con la unión de una galectina a un ligando en un mamífero es un trastorno dependiente de la expresión de galectina.

En este contexto, el término "ligando" se refiere a un ligando, receptor y/o estructura similar a la que se une la galectina. Tal ligando, receptor y/o estructura similar puede por ejemplo, ser un glicolípido, una glicoproteína o un proteoglicano.

5 En algunas modalidades, la galectina es galectina-3.

En algunas modalidades, el mamífero mencionado anteriormente es un ser humano.

10 En algunas modalidades el mamífero es un ser humano que se ha encontrado que tienen un alto nivel de galectina-3. Esto pudo haber sido detectado usando una propiedad o una prueba disponible en el comercio, tal como un ELISA o sistema de detección similar basado en anticuerpo adecuado para la medición de la galectina-3 en los fluidos o tejidos de dicho mamífero. Los niveles de galectina-3 se pueden cuantificar mediante la realización de un inmunoensayo. Un inmunoensayo de galectina-3 implica poner en contacto una muestra de un sujeto que se prueba con un anticuerpo adecuado en condiciones tales que la unión inmuno-específica puede ocurrir si está presente la galectina-3, y detectar o medir la cantidad de cualquier unión inmuno-específica por el anti-cuerpo. Cualquier inmunoensayo adecuado se puede usar, que incluyen, sin limitarse a, sistemas de ensayo competitivos y no competitivos usando técnicas tales como transferencias en membranas de western, radioinmunoensayos, inmunohistoquímica, ELISA (ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas), inmunoensayos "sándwich", ensayos de inmunoprecipitación, ensayos de inmunodifusión, ensayos de aglutinación, ensayos de fijación del complemento, ensayos inmunoradiométricos, inmunoensayos fluorescentes e inmunoensayos de proteína A. El inmunoensayo enzimático más común es el "Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA)." ELISA es una técnica para detectar y medir la concentración de un antígeno usando una forma marcada (por ejemplo, ligado a enzimas) del anticuerpo. Existen diferentes formas de ELISA, que son bien conocidos por aquellos con experiencia en la técnica. Técnicas ELISA estándar se describen en "Methods in Immunodiagnosis", 2da Edición, Rose y Bigazzi, eds. John Wiley & Sons, 1980; Campbell y otros, "Methods and Immunology", W. A. Benjamin, Inc., 1964; y Oellerich, M. (1984), J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 22:895-904. Un kit de ensayo inmunoenzimático ligado a enzima preferido (ELISA) para detectar la galectina-3 está disponible en el comercio (BG Medicine, Waltham, Mass.).

30 En algunas modalidades, el trastorno relacionado con la unión de una galectina a un ligando en un mamífero es un trastorno o enfermedad. Ejemplos de tal trastorno o enfermedades inflamatorias que se pueden tratar de acuerdo con la invención, o con el compuesto o composición farmacéutica de acuerdo con la invención, son IBD (Enfermedad Inflamatoria del intestino), colitis ulcerativa, enfermedad de Crohn, SLE (Lupus Eritematoso Sistémico, esclerosis múltiple).

35 En algunas modalidades, el trastorno relacionado con la unión de una galectina a un ligando en un mamífero es la fibrosis, que se pueden denominar además enfermedades, afecciones o trastornos fibróticos. Ejemplo de enfermedades fibróticas que se pueden tratar de acuerdo con la invención, o con el compuesto o composición farmacéutica de acuerdo con la invención, son la fibrosis pulmonar, fibrosis hepática y fibrosis renal; fibrosis del corazón e insuficiencia cardíaca causada por fibrosis, fibrosis del ojo (es decir, fibrosis oftalmológica), fibrosis después de la lesión, fibrosis después de la cirugía, fibrosis inducida por la radiación, fibrosis asociada con afecciones inflamatorias, fibrosis del intestino, fibrosis peritoneal y fibrosis en cualquier órgano que compromete la función normal de dicho órgano. Un ejemplo de la fibrosis pulmonar que se puede tratar de acuerdo con la invención, o con el compuesto o composición farmacéutica de acuerdo con la invención es la fibrosis pulmonar idiopática.

45 En algunas modalidades, el trastorno relacionado con la unión de una galectina a un ligando en un mamífero es el choque séptico.

En algunas modalidades, el trastorno relacionado con la unión de una galectina a un ligando en un mamífero es cáncer, que incluyen metástasis del cáncer.

50 En algunas modalidades, el trastorno relacionado con la unión de una galectina a un ligando en un mamífero es una enfermedad autoinmune. Ejemplos de enfermedades autoinmunes que se pueden tratar de acuerdo con la invención, o con el compuesto o composición farmacéutica de acuerdo con la invención, son la artritis reumatoide y la esclerosis múltiple.

55 En algunas modalidades, el trastorno relacionado con la unión de una galectina a un ligando en un mamífero es una enfermedad metabólica. Uno de los ejemplos de trastorno metabólico que se pueden tratar de acuerdo con la invención, o con el compuesto o composición farmacéutica de acuerdo con la invención, es la diabetes.

60 En algunas modalidades, el trastorno relacionado con la unión de una galectina a un ligando en un mamífero es la enfermedad del corazón o insuficiencia cardíaca.

65 En algunas modalidades, el trastorno relacionado con la unión de una galectina a un ligando en un mamífero es la angiogénesis patológica. Ejemplos de la angiogénesis patológica que se puede tratar de acuerdo con la invención, o con el compuesto o composición farmacéutica de acuerdo con la invención, son angiogénesis ocular, enfermedad o afecciones asociadas con la angiogénesis ocular y cáncer.

5 En algunas modalidades, el trastorno relacionado con la unión de una galectina a un ligando en un mamífero es una enfermedad ocular. Ejemplos de enfermedades oculares que se pueden tratar de acuerdo con la invención, o con el compuesto o composición farmacéutica de acuerdo con la invención, son la angiogénesis ocular y enfermedades o afecciones asociadas con la angiogénesis ocular, como se mencionó anteriormente, y relacionados además con la degeneración macular y neovascularización corneal.

10 En algunas modalidades sólo un compuesto como se describe en la presente se usa para los propósitos descritos anteriormente.

En algunas modalidades dos o más del compuesto como se describe en la presente se usan en combinación para los propósitos descritos anteriormente.

15 La composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención que comprende un compuesto de la invención se puede adaptar para la administración oral, intravenosa, tópica, intraperitoneal, nasal, bucal, sublingual, o subcutánea, o para la administración a través del tracto respiratorio en forma de, por ejemplo, un aerosol o un polvo fino suspendido en el aire, o, para la administración a través del ojo, por vía intra-ocular, vía intravítrea o vía corneal. Por lo tanto, la composición farmacéutica de la presente invención pueden estar en la forma de, por ejemplo, tabletas, cápsulas, polvos, soluciones para inyección, soluciones para pulverización, ungüentos, parches transdérmicos o supositorios. Como alternativa, particularmente, para el tratamiento de diferentes enfermedades o trastornos que afectan al ojo, la composición farmacéutica de acuerdo con la invención puede estar en la forma de colirios, geles oculares, aerosoles oculares o parches para los ojos.

20 La composición farmacéutica de la presente invención puede comprender opcionalmente dos o más compuestos de la presente invención. La composición se puede usar además junto con otros medicamentos dentro de la técnica para el tratamiento de trastornos relacionados.

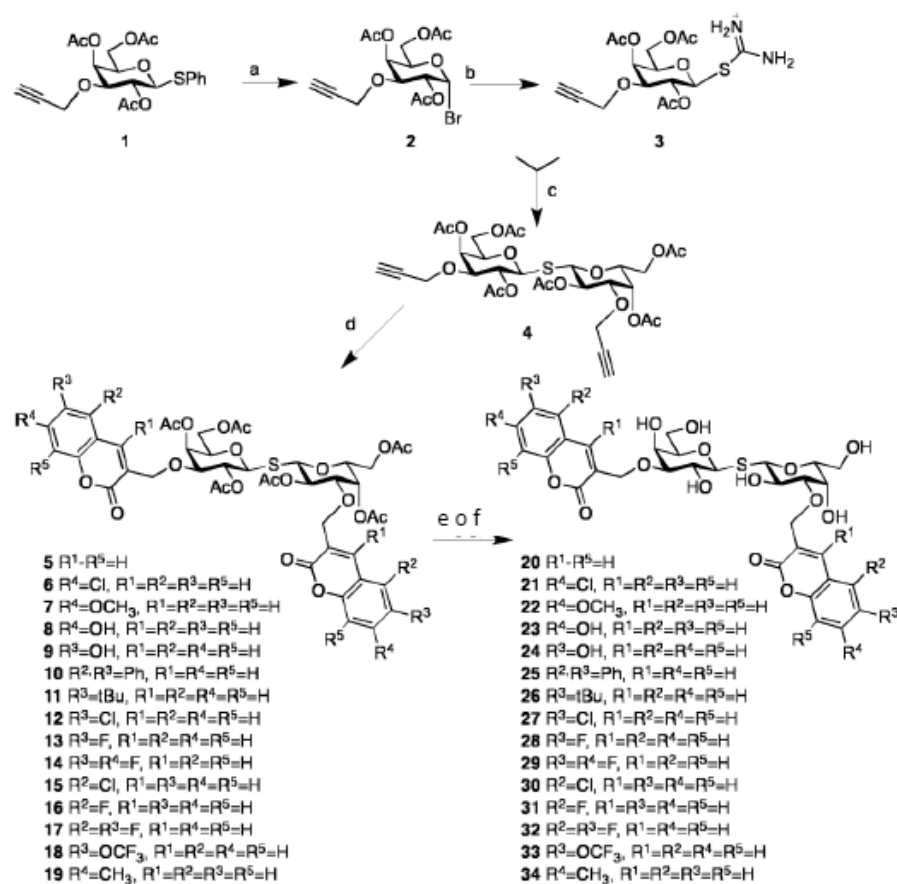
30 Las dosis típicas de los compuestos de la presente invención varían dentro de un amplio intervalo y dependen de muchos factores, tales como la vía de administración, el requisito del individuo en necesidad de tratamiento, el peso corporal del individuo, edad y estado general.

35 Los adyuvantes, diluyentes, excipientes y/o portadores que se pueden usar en la composición de la invención deben ser farmacéuticamente aceptables en el sentido de ser compatibles con los compuestos y los otros ingredientes de la composición farmacéutica, y no perjudiciales para el receptor de esta. Se prefiere que las composiciones no contendrán cualquier material que pueda causar una reacción adversa, tal como una reacción alérgica. Los adyuvantes, diluyentes, excipientes y portadores que se pueden usar en la composición farmacéutica de la invención son bien conocidos por una persona dentro de la técnica.

40 **Ejemplos**

Síntesis de tiodigalactósidos sustituidos con cumaril

45 Los tiodigalactósidos sustituidos con cumaril se sintetizaron a partir de fenilo 3-O-propargil-1-tio-β-D-galactopiranosido conocido **1** (Giguere y otros, 2006) como se muestra en el esquema 1.



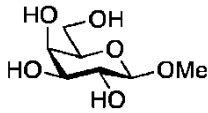
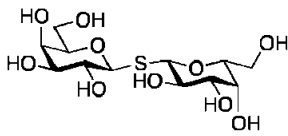
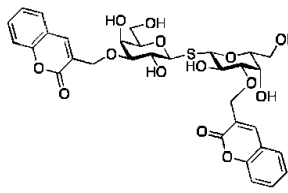
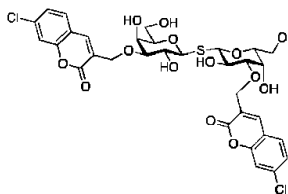
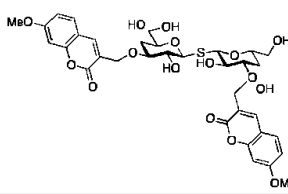
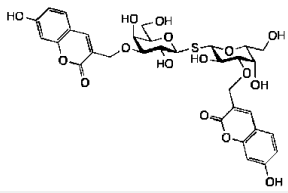
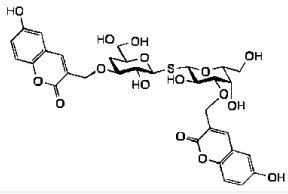
Esquema 1. a) Br_2 , CH_2Cl_2 ; b) Tiourea, MeCN; c) Et_3N , MeCN; d) TsN_3 , CuI, Derivado de salicaldehído o acetofenona, THF; e) NaOMe, MeOH; f) AcCl , MeOH

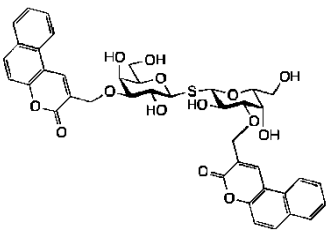
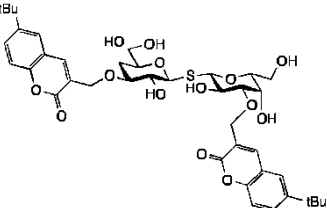
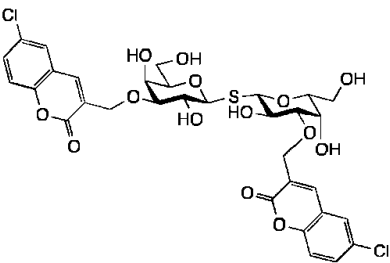
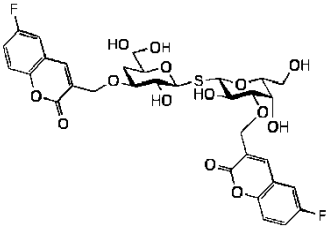
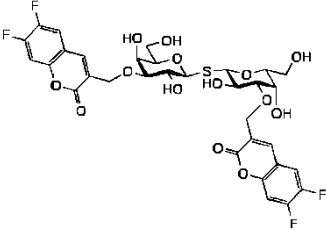
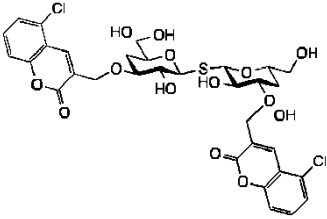
Evaluación de valores K_d contra galectina-3

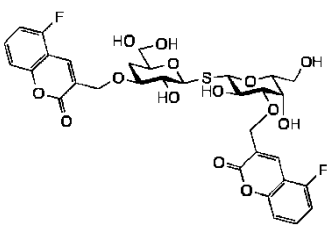
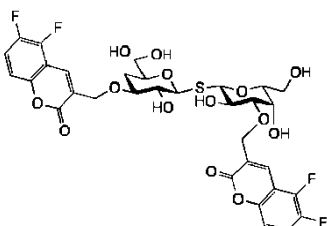
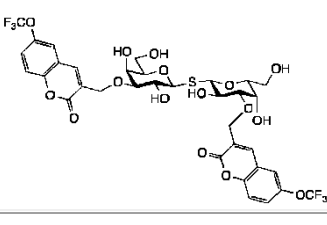
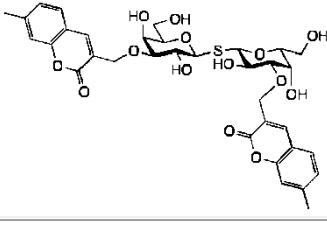
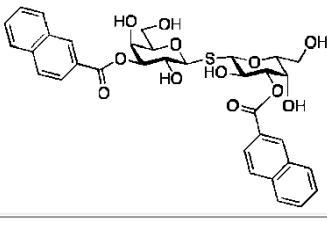
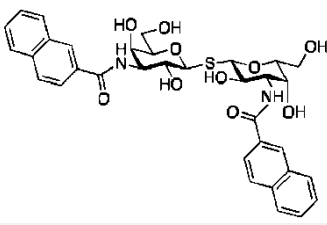
Los compuestos **20-34** se evaluaron para su eficacia en la inhibición de galectina-1 y galectina-3 en un ensayo basado en polarización fluorescente (Sörme y otros, 2003a, 2004) (ver además la Tabla 1 más abajo). Los inhibidores de galectina conocidos metil β -D-galactósido y tiodigalactósido se incluyeron como compuestos de referencia. Claramente, todos los compuestos fueron inhibidores potentes de la galectina-1 y galectina-3 con constante de disociación en el intervalo bajo de μM o nM . Esto evidencia que unos sustituyentes de cumaril sintéticamente sencillos y bien estructurados en O3 y O3' de tiodigalactósido muestran eficiencias inhibitorias en el intervalo de los compuestos sustituidos 3-N y sintéticamente comparables conocidos anteriormente (3,3-amido-tiodigalactósido; tal como el estrechamente relacionado **36**) y significativamente mejor que los compuestos sustituidos 3-O comparables mejores conocidos anteriormente (3,3'-diéster tiodigalactósido **35**) cuando se evaluó en el mismo ensayo.

La inesperada alta potencia inhibidora de **20**, **23-24**, y **28-32**, en el intervalo de los mejores de la técnica anterior, junto con la vía sintética simplificada significativamente a través de los derivados 3-O-propargil-galactosa fácilmente accesibles, rinden los 3-O-tiodigalactósidos sustituidos con cumaril adecuados como componentes activos en las composiciones farmacéuticas dirigidas a las afecciones donde la galectina-3 juega un papel patológico.

Tabla 1. Afinidad de los compuestos por la galectina-1, 3, 7, 8 (dominio N-terminal), y 9 (dominio N-terminal)

Comp #.	Estructura	Kd Calculada (μM) Galectina							
		1	3	4 (dominio N-terminal)	4 (dominio C-terminal)	7	8 (dominio N-terminal)	9 (dominio N-terminal)	9 (dominio C-terminal)
		> 10000	4400	6600	> 10000	4800	5200	3400	5000
	Compuesto de referencia								
		24	49	440	940	160	61	38	44
	Compuesto de referencia								
20		15.4	0.25	49	156	3.9	11	1.7	2.4
21		21	4.7	na*	na	61	74	140	na
22		9.9	0.89	130	>500	37	85	13	=4.0
23		3.9	0.076	32	>300	na	40	1.5	na
24		20	0.15	180	>300	na	140	8.9	na

25		22	0.51	110	>300	na	>300	4.7	na
26		25	8.1	> 1000	>> 1000	na	62	39	17
27		7.9	6.0	430	100	na	34	>200	86
28		3.4	0.097	180	>> 1000	na	47	3.5	7.9
29		1.6	0.11	44	220	na	19	3.0	2.3
30		25	0.17	55	>> 1000	na	28	54	16

31		8.7	0.061	46	540	na	28	7.0	5.5
32		3.9	0.032	22	>500	na	41	1.1	1.5
33		84	0.95	>500	>500	na	110	29	21
34		200	9.4	>500	>500	na	>700	>200	>500
35		14.7	10.7	NA	NA	48	100	2.8	NA
Compuesto comparativo (Delaine y otros, 2008; WO2005113569/US2007185041)									
36		9.6	0.16	NA	NA	1.7	>100	0.73	NA
Compuesto comparativo (Cumpstey y otros, 2005b; Cumpstey y otros, 2008; WO2005113569/US2007185041)									
*na = no disponible; > = más que; >> = mucho más que; ≈ = aproximadamente									

Metodología/Experimental

Procedimientos generales de síntesis

Los compuestos como se describen en la presente se pueden preparar por los métodos y procedimientos generales mencionados más abajo. Los ensayos de galectina-1, ensayos de galectina-3, ensayos de galectina-7, ensayos de galectina-8 y ensayos de la galectina-9 usados en la presente descripción se pueden realizar por los métodos y procedimientos generales mencionados más abajo. Se apreciará que donde se dan las condiciones del proceso típicas o preferidas (por ejemplo, temperaturas de reacción, tiempos, relación molar de los reactivos, solventes, presiones, pH etc), otras condiciones del proceso pueden ser usadas a menos que se declare de cualquier otra forma. Las condiciones óptimas de reacción pueden variar con los reactivos particulares, solventes usados y pH etc., pero dichas condiciones pueden ser determinadas por una persona con experiencia en la técnica por procedimientos de optimización de rutina.

La identificación de las sustancias se hizo por HRMS (Micromass Q-tof micro) y NMR (Bruker Ultrashield 400 plus, 400 MHz). Los desplazamientos químicos se reportan campo abajo a partir de Me₄Si usando CHD₂Cl (7.26 ppm) o CHD₂OD (3.35 ppm) residual como referencia. Los desplazamientos químicos y las constantes de acoplamiento se obtuvieron a partir de ¹H-NMR y las resonancias de protones se asignaron a partir de experimentos COSY. La purificación se realizó mediante RF-HPLC (Beckman, sistema oro) o cromatografía rápida, usando gel de sílice (Davisil 35-70 µm, 60 Å). Las reacciones se siguieron por TLC (hoja de aluminio, gel de sílice 60 F254) se visualizaron con luz UV, H₂SO₄ (ac) o una solución de desarrollo iso-vainillina/H₂SO₄/EtOH. THF y Et₂O se secaron sobre sodio/benzofenona y destilada. CH₂Cl₂ se secó mediante tamices moleculares (4 Å, 1.6 mm). Otros solventes y reactivos estaban disponibles en el comercio y se usaron sin purificaciones adicionales. Los experimentos de polarización de fluorescencia se realizaron en un instrumento PolarStar (BMG, Offenburg; Alemania). La evaluación de **20-34** como inhibidores de galectinas se realizó mediante el uso de la polarización de la fluorescencia como se describe en la literatura (Sörme y otros; 2003a, 2004). Las concentraciones de galectina y la elección de la sonda fluorescente y concentraciones fueron como se describe en Cumpstey y otros 2005a, excepto para galectina-3 para el que la sonda tdga descrita en Salomonsson y otros. 2010 se usó a 20 nM junto con la galectina-3 a concentraciones de 200 nM. Cada inhibidor se probó en duplicado en varias concentraciones entre 4 y 0.25 µM. Todos los experimentos de polarización de la fluorescencia se llevaron a cabo a 20 °C, excepto la galectina-7 para los que se llevaron a cabo experimentos a 0 °C.

Síntesis de di-(3-O-propargil-β-D-galactopiranosil)-sulfano (Compuesto 4)

A una solución del compuesto **1** (2.0 g, 4.58 mmol, Giguere y otros 2006) en diclorometano seco (20 mL) se añadió bromo molecular (0.26 mL, 5.04 mmol) y la solución se agitó a 0 °C por 15 min cuando la TLC mostró la conversión completa del material de partida a un componente que se mueve ligeramente más rápido. El exceso de bromo se neutralizó con ciclopenteno y los solventes se evaporaron *al vacío*. El residuo se purificó mediante cromatografía rápida usando *n*-hexano-EtOAc (2:1) para proporcionar el compuesto puro **2** (1.52 g, 82%) como jarabe espeso incoloro. Habiendo tenido que ver con la estabilidad susceptible del compuesto **2**, se consideró en una reacción adicional sin su caracterización analítica. Para la mitad de la cantidad (0.76 g, 1.87 mmol) del compuesto **2** en acetonitrilo seco (15 mL) se añadió tiourea (0.14 g, 1.86 mmol) bajo flujo continuo de nitrógeno y la mezcla se dejó a reflujo a 80 °C durante 4 horas cuando el TLC usando fase móvil *n*-hexano-EtOAc (2:1) confirmó el consumo total de **2** con la mancha de movimiento más lento. La mezcla de reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente y posteriormente una solución de la segunda mitad del compuesto **2** (0.76 g, 1.87 mmol) en acetonitrilo seco se añadió a la reacción bajo atmósfera de nitrógeno seguido de una cantidad catalítica de Et₃N y la reacción se dejó en agitación durante toda la noche. La finalización de la reacción se confirmó por TLC (fase móvil *n*-hexano-EtOAc (1:1). Los solventes se evaporaron *al vacío*. El residuo se purificó mediante cromatografía rápida usando *n*-hexano-EtOAc. (1: 1) para proporcionar el compuesto **4** (0.92 g, 72%) puro como un sólido blanco.

Procedimiento experimental general para la síntesis de cumarinas 20-34

Una solución de **4** (1 mmol), tosilo azida (Waser y otros 2006) (2 mmol), CuI (0.1 mmol) y salicilaldehído (2.2 mmol) en THF seco (5 mL) en un matraz de fondo redondo de 25 mL se agita bajo nitrógeno por 1 hora. Et₃N (2 mmol) se añade después lentamente mediante una jeringa. Se deja agitar la solución resultante a temperatura ambiente durante 12-24 horas hasta que el análisis TLC muestra la conversión completa de **4** (*n*-hexano-EtOAc). Los solventes se evaporan *al vacío* y el residuo se disuelve en CH₂Cl₂ (10 mL) y se lavan sucesivamente con NH₄Cl (2x10 mL) acuoso y salmuera (10 mL). La capa orgánica se separa, se seca (Na₂SO₄) y evapora *al vacío*. El residuo se purifica mediante cromatografía rápida usando *n*-hexano-EtOAc como eluyente para dar los compuestos **5-19**. Para los compuestos **5-7** y **10-19**, el residuo se disuelve en metanol (50 mL) y se añade metóxido de sodio metanólico (0.1 mL, 1 M). (En algunos casos se añade diclorometano (10 mL) para obtener una solución de reacción clara.) Se añade agua (0.4 mL) después de 12-24 horas y después de otras 12-24 horas la reacción se concentra. La cromatografía en columna (SiO₂, diclorometano/metanol, 11:1) proporcionó >95% de **20-22** y **25-34** puro. Para los compuestos **8** y **9** el residuo se disuelve en metanol/diclorometano (1:1, 50 mL) y se añade lentamente AcCl (5.5 mL). Cuando el análisis TLC muestra que se completa la reacción (después de 2-6 días), se concentra la reacción. La cromatografía en columna (SiO₂, diclorometano/metanol, 5:1) proporcionó >95% de **23-24** puro.

Procedimiento experimental específico seleccionado para la síntesis de metoxi-derivado bis-[3-O-[(7-metoxi-2H-1-benzopiran-2-on-3-il)-metil]-β-D-galactopiranosil]sulfano (22)

El compuesto **4** (100mg, 0.14 mmol) se disolvió en THF seco (5mL). CuI (5.54 mg, 0.029 mmol), 4-metoxi-salicilaldehído (52.9 mg, 0.35 mmol), TsN₃ (68.6mg, 0.35 mmol) se añadieron a la solución anterior y la reacción se agitó bajo nitrógeno a temperatura ambiente. Después de 1 h, Et₃N (80 μL, 0.58 mmol) se inyectó lentamente y la solución resultante se dejó agitar a temperatura ambiente durante 12 h cuando la TLC mostró la conversión completa de **4** (*n*-hexano-EtOAc, 1:3). Los solventes se evaporan *al vacío* y el residuo se disuelve en CH₂Cl₂ (10 mL) y se lavan sucesivamente con NH₄Cl (2x10 mL) acuoso y salmuera (10 mL). La capa orgánica se separó, se secó (Na₂SO₄) y se evaporó *al vacío*. El residuo se disolvió en MeOH y NaOMe se añadió a esta con unas pocas gotas de CH₂Cl₂ para hacer la solución clara. La mezcla de reacción se agitó durante 12 horas y después se añadió 0.4 mL de agua y dejando de nuevo la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 12 h. Después de la finalización de la reacción, se neutralizó con DOWEX H⁺ resin. Se filtra la mezcla de reacción y evapora el solvente *al vacío*. El residuo se purificó mediante cromatografía rápida (SiO₂, diclorometano/metanol, 10:1) para proporcionar el compuesto **22** (85 mg, 83%) puro.

Procedimiento experimental específico seleccionado para la síntesis de metoxi-derivado bis-[3-O-[(5,6-difluoro-2H-1-benzopiran-2-on-3-il)-metil]-β-D-galactopiranosil]sulfano (32)

El Compuesto **4** (300mg, 0.437 mmol) y CuI (16.6 mg, 0.087 mmol) se agitaron en THF seco (3 mL) bajo argón. 5,6-Difluoro-salicilaldehído (166 mg, 1.05 mmol) y Et₃N (146 μL, 1.05 mmol) se añadieron, seguido de la adición gota a gota de TsN₃ (207 mg, 1.05 mmol). Después de 1.5 h a 20 °C, se añadió gel de sílice (1.5 g) y los solventes se evaporaron *al vacío* proporcionando un sólido de flujo libre. La purificación se realizó por cromatografía en columna rápida, cargando el material en una columna de gel de sílice (25 g) y eluyendo con 0→25% de acetona en tolueno. El producto se obtuvo como un polvo blanco (500 mg). El residuo (500 mg, 0.383 mmol) se disolvió en CH₂Cl₂ (20 mL) y metanol (20 mL). Una solución 25% en peso de metóxido de sodio en metanol se añadió gota a gota a pH 11. La mezcla de reacción se agitó durante 18 h a 20 °C. Se cargó agua (80μL) y la mezcla se agitó durante 24 h adicionales. La reacción se neutralizó mediante la adición de sedimentos de CO₂ sólido, se añadió después gel de sílice (1.2 g). La mezcla se concentró a vacío para proporcionar un sólido de flujo libre. La purificación se realizó por cromatografía en columna rápida, cargando el material en una columna de gel de sílice (25 g) y eluyendo con 0→25% metanol in CH₂Cl₂. El producto **32** se aisló como un sólido blanco (105 mg, 29%).

Datos para los compuestos obtenidos

Bis-[3-O-[(2H-1-benzopiran-2-on-3-il)-metil]-β-D-galactopiranosil]sulfano (**20**)

¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ: 8.21 (s, 2H, ArH), 7.68 (d, 2H, *J* 7.6 Hz, ArH), 7.59 (m, 2H, ArH), 7.39 (m, 4H, ArH), 4.61-4.54 (m, 6H, CH₂Ar, H-1), 4.02 (bs, 2H, H-4), 3.60 (t, 2H, *J* 9.6 Hz, H-2), 3.52 (m, 4H, H-6^a, H-6^b), 3.39 (m, 4H, H-3, H-5). ¹³C NMR (DMSO-d₆, 100 MHz) δ: 159.7, 152.5, 138.6, 131.3, 128.1, 126.2, 124.7, 119.1, 116.1 (ArC) 83.2 (C-1), 82.6, 78.9, 69.2, 65.2, 65.0, 60.3. HRMS calculado para C₃₂H₃₄NaO₁₄S (M+Na)⁺: 695.1567; encontrado 697.1582.

Bis-[3-O-[(7-cloro-2H-1-benzopiran-2-on-3-il)-metil]-β-D-galactopiranosil]sulfano (**21**)

¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ: 8.20 (s, 2H, ArH), 7.77 (bs, 2H, ArH), 7.64 (m, 2H, ArH), 7.48 (d, 2H, *J* 9.2 Hz, ArH), 4.46-4.53 (m, 6H, CH₂Ar, H-1), 4.03 (bs, 2H, H-4), 3.64-3.35 (m, 8H, H-2, H-6^a, H-6^b, H-3, H-5). ¹³C NMR (DMSO-d₆, 100 MHz) δ: 159.7, 151.4, 137.7, 131.1, 128.7, 127.8, 127.4, 120.7, 118.4 (ArC) 83.4 (C-1), 82.6, 79.1, 69.4, 65.6, 65.3, 60.6. HRMS calculado para C₃₂H₃₂Cl₂O₁₄SNa (M+Na)⁺: 765.0788; encontrado 765.0791.

Bis-[3-O-[(7-metoxi-2H-1-benzopiran-2-on-3-il)-metil]-β-D-galactopiranosil]sulfano (**22**)

¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ: 8.15 (s, 2H, ArH), 7.60 (d, 2H, *J* 8.8 Hz, ArH), 7.03 (d, 2H, *J* 8.6 Hz, ArH), 6.98 (dd, 4H, *J* 2.5, 8.6 Hz, ArH), 5.20 (brs, 2H, HO-2), 4.61 (d, 2H, *J* 10 Hz, H-1), 4.51 (bABq, 4H, *J* 14.8 Hz, CH₂Ar), 4.03 (bs, 2H, H-4), 3.84 (s, 6H, OCH₃), 3.63-3.48 (m, 6H, H-2, H-6^a, H-6^b), 3.36 (m, 4H, H-3, H-5). ¹³C NMR (DMSO-d₆, 100 MHz) δ: 162.2, 160.4, 154.6, 139.5, 129.3, 122.4, 112.8, 100.7 (ArC) 83.2 (C-1), 82.8, 79.0, 69.3, 65.4, 65.1, 60.4, 56.1 (OCH₃). HRMS calculado para C₃₄H₃₈O₁₆SNa (M+Na)⁺: 757.1778; encontrado 757.1781.

Bis-[3-O-[(7-hidroxi-2H-1-benzopiran-2-on-3-il)-metil]-β-D-galactopiranosil]sulfano (**23**)

¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ: 10.49 (s, 2H, HO-Ar), 8.11 (s, 2H, ArH), 7.50 (d, 2H, *J* 8.0 Hz, ArH), 6.82 (dd, 2H, *J* 2.4 Hz, 8.4 Hz, ArH), 6.74 (d, 2H, *J* 2.0 Hz, ArH), 5.20 (d, 2H, *J* 6.0 Hz, HO-2), 4.62 (m, 6H, H-1, HO-4, HO-6), 4.54 (ABq, 4H, *J* 14.4 Hz, CH₂Ar), 4.02 (br s, 2H, H-4), 3.60 (m, 6H, H-2, H-6), 3.39 (m, 4H, H-3, H-5). LRMS (ESI) *m/z*: 729.1 [M+Na]⁺

Bis-[3-O-[(6-hidroxi-2H-1-benzopiran-2-on-3-il)-metil]-β-D-galactopiranosil]sulfano (**24**)

¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ: 9.73 (s, 2H, HO-Ar), 8.14 (s, 2H, ArH), 7.27 (d, 2H, *J* 8.8 Hz, ArH), 7.02 (m, 4H, *J* 2.8

Hz, 8.8 Hz, ArH), 5.26 (d, 2H, *J* 5.6 Hz, HO-2), 4.64 (m, 6H, H-1, HO-4, HO-6), 4.58 (ABq, 4H, *J* 15.2 Hz, CH₂Ar), 4.02 (br s, 2H, H-4), 3.65 (m, 2H, H-2), 3.52 (m, 4H, H-6), 3.39 (m, 4H, H-3, H-5). LRMS (ESI) *m/z*: 729.2 [M+Na]⁺.

Bis-{3-O-[(3*H*-nafto[2,1-*b*]piran-3-on-2-il)-metil]-β-D-galactopiranosil}sulfano (25)

¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ: 9.09 (s, 2H, ArH), 8.61 (d, 2H, *J* 8 Hz, ArH), 8.18 (d, 2H, *J* 8.8 Hz, ArH), 8.08 (d, 2H, *J* 8.0 Hz, ArH), 7.79 (m, 2H, *J* 8.0 Hz, ArH), 7.65 (m, 2H, *J* 8.0 Hz, ArH), 7.62 (d, 2H, *J* 8.8 Hz, ArH), 5.60 (d, 2H, *J* 5.6 Hz, HO-2), 4.79 (d, 2H, *J* 4.8 Hz, HO-4), 4.67 (m, 8H, H-1, CH₂Ar, HO-6), 4.09 (br s, 2H, H-4), 3.76 (m, 2H, H-2), 3.58 (m, 4H, H-6), 3.47 (m, 4H, H-3, H-5). LRMS (ESI) *m/z*: 796.9 [M+Na]⁺.

Bis-{3-O-[(6-*terc*-butil-2*H*-1-benzopiran-2-on-3-il)-metil]-β-D-galactopiranosil}sulfano (26)

¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz) δ: 8.08 (s, 2H, ArH), 7.55 (dd, 2H, *J* 2.4, 7.2, Hz, ArH), 7.53 (s, 2H, ArH), 7.17 (m, 2H, ArH), 4.64 (d, 2H, *J* 9.9 Hz, H-1), 4.54 (dABq, 4H, *J* 1.3, 14.3 Hz, CH₂Ar), 4.10 (bd, 2H, *J* 2.6 Hz, H-4), 3.74 (dd, 4H, *J* 4.2, 11.5 Hz, H-6^a), 3.73 (dd, 2H, *J* 9.4, 11.4 Hz, H-2), 3.61 (dd, 2H, *J* 4.7, 11.5 Hz, H-6^b), 3.50 (brdd, 2H, *J* 4.9, 6.1 Hz, H-5), 3.41 (dd, 2H, *J* 3.2, 9.2 Hz, H-3) 1.26 (s, 18H, *t*Bu). HRMS calculado para C₄₀H₅₀NaO₁₄S (M+Na)⁺: 809.2819; encontrado 809.2839.

Bis-{3-O-[(6-cloro-2*H*-1-benzopiran-2-on-3-il)-metil]-β-D-galactopiranosil}sulfano (27)

¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ: 8.20 (s, 2H, ArH), 7.78 (d, 2H, *J* 2.5 Hz, ArH), 7.64 (dd, 2H, *J* 2.5, 8.8, Hz, ArH), 7.48 (d, 2H, *J* 8.8 Hz, ArH), 5.21 (d, 2H, *J* 5.8 Hz, HO-2), 4.62 (m, 6H, H-1, HO-4, HO-6), 4.54 (dABq, 4H, *J* 1.3, 14.6 Hz, CH₂Ar), 4.03 (br s, 2H, H-4), 3.64-3.36 (m, 8H, H-2, H-3, H-5, H-6). HRMS calculado para C₃₂H₃₂Cl₂NaO₁₄S (M+Na)⁺: 765.0788; encontrado 765.0807.

Bis-{3-O-[(6-fluoro-2*H*-1-benzopiran-2-on-3-il)-metil]-β-D-galactopiranosil}sulfano (28)

¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ: 8.20 (brs, 2H, ArH), 7.50 (m, 6H, ArH), 7.64 (dd, 2H, *J* 2.5, 8.8, Hz, ArH), 7.48 (d, 2H, *J* 8.8 Hz, ArH), 5.21 (brs, 2H, HO-2), 4.60 (m, 10H, H-1, HO-4, HO-6, CH₂Ar), 4.03 (br s, 2H, H-4), 3.69-3.25 (m, 8H, H-2, H-3, H-5, H-6). HRMS calculado para C₃₂H₃₂F₂NaO₁₄S (M+Na)⁺: 733.1379; encontrado 733.1411.

Bis-{3-O-[(6,7-difluoro-2*H*-1-benzopiran-2-on-3-il)-metil]-β-D-galactopiranosil}sulfano (29)

¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ: 8.17 (s, 2H, ArH), 7.80 (dd, 2H, *J* 8.8, 10.3 Hz, ArH), 7.73 (dd, 2H, *J* 6.8, 11.1 Hz, ArH), 4.60 (d, 2H, *J* 9.8 Hz, H-1), 4.53 (ABq, 4H, *J* 1.3, 14.9 Hz, CH₂Ar), 4.02 (br d, *J* 2.4 Hz, 2H, H-4), 3.62 (t, 2H, *J* 9.8 Hz, H-2), 3.54, 3.38 (2m, 8H, H-2, H-3, H-5, H-6). HRMS calculado para C₃₂H₃₀F₄NaO₁₄S (M+Na)⁺: 769.1190; encontrado 769.1222.

Bis-{3-O-[(5-cloro-2*H*-1-benzopiran-2-on-3-il)-metil]-β-D-galactopiranosil}sulfano (30)

¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ: 8.41 (brs, 2H, ArH), 7.60 (brt, 2H, *J* 8.2 Hz, ArH), 7.51 (dd, 2H, *J* 1.1, 8.0, Hz, ArH), 7.44 (brd, 2H, *J* 8.2 Hz, ArH), 4.62 (d, 2H, *J* 9.7 Hz, H-1), 4.58 (dABq, 4H, *J* 1.7, 15.9 Hz, CH₂Ar), 4.05 (br d, 2H, *J* 2.7 Hz, H-4), 3.64 (t, 2H, *J* 9.4 Hz, H-2), 3.55 (dd, 2H, *J* 6.5, 11.5 Hz, H-6^a), 3.50 (dd, 2H, *J* 6.1, 11.5 Hz, H-6^b), 3.40 (dd, 2H, *J* 3.1, 9.2 Hz, H-3). HRMS calculado para C₃₂H₃₂Cl₂NaO₁₄S (M+Na)⁺: 765.0788; encontrado 765.0793.

Bis-{3-O-[(5-fluoro-2*H*-1-benzopiran-2-on-3-il)-metil]-β-D-galactopiranosil}sulfano (31)

¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ: 8.32 (brs, 2H, ArH), 7.62 (m, 2H, ArH), 7.27 (m, 4H, ArH), 5.31 (brs, 2H, HO-2), 4.61 (m, 10H, H-1, HO-4, HO-6, CH₂Ar), 4.03 (br s, 2H, H-4), 3.68-3.35 (m, 10H, H-2, H-3, H-5, H-6). HRMS calculado para C₃₂H₃₂F₂NaO₁₄S (M+Na)⁺: 733.1379; encontrado 733.1407.

Bis-{3-O-[(5,6-difluoro-2*H*-1-benzopiran-2-on-3-il)-metil]-β-D-galactopiranosil}sulfano (32)

¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ: 8.35 (brs, 2H, ArH), 7.70 (brq, 2H, *J* 5.4 Hz, ArH), 7.34 (brd, 4H, *J* 4.4 Hz, ArH), 5.35 (brd, 2H, *J* 5.6 Hz, HO-2), 4.61 (m, 10H, H-1, HO-4, HO-6, CH₂Ar), 4.04 (br s, 2H, H-4), 3.69-3.36 (m, 10H, H-2, H-3, H-5, H-6). HRMS calculado para C₃₂H₃₀F₄NaO₁₄S (M+Na)⁺: 769.1190; encontrado 769.1220.

Bis-{3-O-[(6-trifluorometoxi-2*H*-1-benzopiran-2-on-3-il)-metil]-β-D-galactopiranosil}sulfano (33)

¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ: 8.27 (brs, 2H, ArH), 7.73 (brs, 2H, ArH), 7.61 (brdd, 2H, *J* 2.3, 8.6 Hz, ArH), 7.57 (d, 2H, *J* 9.0 Hz, ArH), 5.21 (brs, 2H, HO-2), 4.62 (m, 4H, HO-4, HO-6), 4.62 (d, 2H, *J* 9.7 Hz, H-1), 4.56 (bABq, 4H, *J* 11.8 Hz, CH₂Ar), 4.04 (br s, 2H, H-4), 3.64-3.50 y 3.43-3.35 (2m, 10H, H-2, H-3, H-5, H-6). HRMS calculado para C₃₄H₃₂F₆NaO₁₆S (M+Na)⁺: 865.1213; encontrado 865.1247.

Bis-{3-O-[(7-metil-2*H*-1-benzopiran-2-on-3-il)-metil]-β-D-galactopiranosil}sulfano (34).

¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ: 8.20 (s, 2H, ArH), 7.56 (d, 2H, *J* 7.9 Hz, ArH), 7.26 (s, 2H, ArH), 7.20 (brd, 2H, *J* 6.9 Hz, ArH), 4.61 (d, 2H, *J* 9.8 Hz, H-1), 4.53 (dABq, 4H, *J* 15.2 Hz, CH₂Ar), 4.03 (brs, 2H, H-4), 3.63 (t, 2H, *J* 9.4 Hz, H-2), 3.55 (m, 4H, H-6), 3.58-3.48 (dd, 2H, *J* 6.1, 11.5 Hz, H-6^b), 3.43-3.38 (m, 4H, H-3, H-5). HRMS calculado para C₃₄H₃₈NaO₁₄S (M+Na)⁺: 725.1880; encontrado 725.1904.

Ejemplos de eficacia *in vivo* de la inhibición de galectina en fibrosis, inflamación y cáncer

Inflamación

Como se mencionó anteriormente, muchos estudios sugieren un papel de la galectina-3 en la mejora de la respuesta inflamatoria. Por ejemplo, la adición de la galectina-3 a los leucocitos neutrófilos desde un sitio inflamatorio, o preparado por la exposición a LPS, resulta en el aumento de la generación de radicales de oxígeno tóxicos. La lactosa puede inhibir esta respuesta (Almquist y otros., 2001). Más recientemente, observaciones claves importantes son que la galectina-3 es limitante de la velocidad en la diferenciación de los macrófagos y la activación de miofibroblastos (Mackinnon y otros., 2008, Mackinnon y otros., 2011), que a su vez inicia los procesos de fibrosis. La inhibición de la galectina-3 se demostró en estos modelos que bloquea la diferenciación de macrófagos y la activación de miofibroblastos, y por lo tanto la fibrosis, lo que claramente validó la galectina-3 como un objetivo para la intervención terapéutica en los procesos inflamatorios/fibróticos. Las sustancias descritas en la presente invención serían mucho más eficaces como inhibidores de las respuestas anteriormente mencionadas que la lactosa debido a que son inhibidores de galectina-3 mucho más potentes. También serían mucho más útil *in vivo* que la lactosa y la galectina-3C porque son moléculas pequeñas, más hidrofóbicas y, probablemente, más estables a la degradación.

Efecto en la enfermedad inflamatoria del intestino

El objetivo del estudio es demostrar la capacidad de los inhibidores de la galectina-3 de la presente invención para reducir o eliminar la inflamación y/o la fibrosis en un modelo de inflamación intestinal.

Ratones hembra de 8-12 semanas de edad CBA/J (Jackson Laboratories, Bar Harbor, ME) reciben 20 mg de estreptomycin en 0.1 M de solución salina tamponada de Hank (HBSS) para erradicar la microbiota comensal 24 horas antes de la infección con 3 10⁶ unidades formadoras de colonias (ufc) de la cepa SL1344 de *S. typhimurium* en tampón 100 k 0.1 M de HEPES (pH 8.0) por sonda oral. Los ratones de control reciben 100 k 0.1 M de HEPES por sonda oral.

Todos los grupos se tratan con 0.5 mg/ml de levofloxacin comenzando el día 8, después de la infección para dar tiempo que desarrollen la inflamación y fibrosis, aunque sea para erradicar la respuesta inflamatoria a *S. typhimurium*.

Los ratones de los grupos seleccionados se tratan con diferentes dosis de los inhibidores de la galectina-3 a partir de cualquiera de los dos días 1, 8, 9, o 12 y continuando hasta la terminación del estudio. Las vías de dosificación empleadas incluyen oral, subcutánea, intraperitoneal e i.v.

Los animales se sacrifican 21 días después de la infección de *S. typhimurium*. El ciego y colon distal se disecan, miden, pesan, y fotografían. El ciego y colon distal se congelan rápido en nitrógeno líquido y se almacenan a -80 °C durante el análisis molecular y ambas secciones de tejido se recogen y conservan en formalina para el análisis histológico.

Las secciones se ensayan para la expresión de la fibrosis y marcadores de inflamación, que incluyen TNF-alfa, IL-1, TGF-β, IL-12, IL-6, galectina-3, IGF-1, y CTGF, usando tanto RT-PCR, inmunohistoquímica como las técnicas de ELISA. Las secciones se inspeccionan por unos patólogos independientes, y puntúan para el grado de inflamación y fibrosis usando una escala estandarizada.

Cáncer

Como se mencionó anteriormente, varios estudios de modelos de cáncer humano en ratones indican que el aumento de expresión de galectina-3 resulta en el crecimiento del tumor más rápido y más metástasis (revisado por Leffler, 2001 y Takenaka y otros en Leffler (editor), 2004b). La inyección de un polisacárido modificado (pectina cítrica) planteó como hipótesis inhibir la galectina-3, pero quizás además otras proteínas, se reportó que disminuye el cáncer de próstata en la rata (Pienta y otros., 1995). Un esteroide lactosilado se demostró que tiene un efecto beneficioso terapéutico en modelos de linfoma y de glioblastoma (Ingrassia y otros., 2006). Un derivado-lactosolil leucina propuso que inhibir la galectina-3 han sido evidenciado para mejorar la sensibilidad de las células tumorales a la apoptosis inducida por Taxol *in vivo* (Glinsky y otros; 2009). Por lo tanto, los inhibidores potentes de molécula pequeña de galectina-3 se esperan que tengan efectos anticancerígenos similares a los de la galectina-3C (John y otros., 2003).

Modelo de cáncer

Grupos de ratones desnudos CD-1 se xenoinjertan por vía subcutánea con células de una línea celular tumoral humana. Los tratamientos se inician cuando el crecimiento del tumor alcanza aproximadamente 130 mm³. Los ratones se dividen en grupos y tratamientos se administran en varias frecuencias y dosis a partir de este tiempo e incluyen vehículos y

sustancias de control activos, así como inhibidores de la galectina-3 de la presente invención. Los crecimientos del tumor y cambio de peso corporal se siguen durante 28 días.

Modelo de inflamación y fibrosis pulmonar

- 5 Ratones hembra C57/Bl6 (10-14 semanas de edad) se anestesian con halotano, y bleomicina o la solución salina se administra por vía intratraqueal (33 µg en 50 µl de solución salina) y los pulmones se cosechan en el día 26. Diferentes dosis de uno o más inhibidor(es) de la galectina-3 de acuerdo con la invención se instila (n) en los pulmones de ratones en los días 18, 20, 22 y 24 después de la lesión pulmonar inducida por bleomicina. La fibrosis se evalúa por la puntuación histológica de las secciones de pulmón teñidas con colágeno y por el contenido total de colágeno mediante el ensayo Sircol como se describe en MacKinnon y otros. 2012.

Efecto sobre las células del epitelio alveolar

- 15 Las células epiteliales alveolares primarias de ratones WT se siembran y tratan con TGF-β1 en presencia o ausencia del inhibidor de la galectina-3. Las células se lisan y analizan para β-catenina activa, β-catenina total y la β-actina por transferencia en membrana de Western.

Inmunohistoquímica

- 20 Secciones embebidas en parafina de tejido de ratón se tiñen con tricómico de Masson y hematoxilina y eosina (H&E) según las instrucciones del fabricante. Las secciones se procesan para inmunohistoquímica y usan los siguientes anticuerpos primarios: anti-beta-catenina activa (ABC) en ratón (Millipore) y las secciones visualizan y cuantifican.

- 25 *Determinación de fibrosis e inflamación pulmonar*

- La inflamación pulmonar histológica y la puntuación de la fibrosis se llevan a cabo en secciones teñidas con tricromo de Masson. La inflamación (peribronquiolar, perivascular, y espesor de la pared alveolar) se anotó en > 5 campos aleatorios en X630 de magnificación usando el siguiente sistema (peribronquiolar y perivascular, 1 = sin células, 2 = <20 células, 3 = 20 - 100 células, 4 = > 100 células; espesor de la pared alveolar, 1 = sin células, 2 = 2 - 3 células de espesor, 3 = 4 - 5 células de espesor, 4 = > 5 células de espesor). La puntuación inflamatoria combinada es la suma de estas puntuaciones. La puntuación de fibrosis se evalúa como el área de la sección teñidas positivamente para el colágeno (1 = ninguna, 2 = <10%, 3 = < 50%, 4 = > 50%). Sólo los campos donde la mayoría del campo se compone de los alvéolos se puntúan.

Determinación de colágeno pulmonar por ensayo sircol

- El contenido de colágeno en el lóbulo del pulmón izquierdo se determina por ensayo sircol según las instrucciones del fabricante. El lóbulo izquierdo se pica en 5 ml de pepsina 3 mg/ml en 0.5 M de ácido acético y se incubó con agitación a 4°C durante 24 h. El extracto de pulmón clarificado (0.2 ml) se incubó con 0.8 ml de reactivo sircol durante 1 h a temperatura ambiente y el colágeno precipitado se centrifuga a 10,000g durante 5 min a 4°C. Los sedimentos se solubilizan en 1 ml de 1 M de NaOH y la absorbancia se mide a 570 nm junto con estándares de colágeno.

Aislamiento primario de células epiteliales alveolares tipo II

- 45 Células epiteliales alveolares tipo II de pulmón de ratón control y tratado (AECs) se extraen siguiendo un método estándar. En resumen, 1 ml de 50 U/ml de dispasa (BD Biosciences) se administra por vía intratraqueal a los pulmones perfundidos seguido de la inspiración de 0.5 ml de agarosa de bajo punto de fusión al 1%. La agarosa dentro de las vías respiratorias superiores se deja ajustar en hielo durante 2 minutos y los pulmones se colocan en 4 ml de 50 U/ml de dispasa durante 45 min a temperatura ambiente. Los lóbulos pulmonares sin las vías respiratorias superiores se dispersan después en DMEM que contiene 50 µg/ml de ADNasa I (Sigma-Aldrich, Reino Unido). La suspensión de células se pasa a través de un filtro celular de 100-µm y las células se lavan en DMEM seguido por la resuspensión en DMEM que contiene SFB al 10%. La suspensión de células se siembra en plástico de cultivo de tejido durante 1 h para dejar adherirse cualquier fibroblastos y macrófagos contaminados. Las células epiteliales no adherentes se cuentan y cultivan durante 2 días en el plástico de cultivo de tejido o cubreobjetos pre-recubiertos con 5 µg/ml de colágeno (AMS Biotechnology) y 10 µg/ml de fibronectina (Sigma-Aldrich), las células se lavan tres veces en PBS antes del tratamiento. Las células epiteliales se incuban en DMEM que contiene SFB al 10%, 50 U/ml de penicilina, 50 µg/ml de estreptomina y 5 µg/ml de L-glutamina o se transfieren medios completos de ratón (DMEM/F-12 que contienen BSA al 0.25%, 10 nM de hidrocortisona, 5 µg/ml de Insulina transferrina-selenito sódico (ITS) y suplementan con 0.1 mg/ml de succinato sódico, 75 µg/ml de ácido succínico y 1.8 µg/ml de bitartrato de colina).

Transferencia en membrana de Western

- 65 Las células se lisan con 25 mM de HEPES pH 7.4, 0.3 M de NaCl, 1.5 mM de MgCl₂, 0.2 mM de EDTA, tritón X-100 al 0.5%, 0.5 mM de ditiotritol, 1 mM de ortovanadato sódico e inhibidores de la proteasa (Boehringer Mannheim, Sussex, Reino Unido; preparados según las instrucciones de los fabricantes). Los lisados se equilibran para la proteína usando

el reactivo de ensayo BCA Pierce para proteínas (Pierce) y se resuelven en geles 12% de SDS-PAGE. El análisis de transferencia en membrana de western se llevó a cabo usando los siguientes anticuerpos primarios; anti beta-catenina en conejo, (BD Biosciences), anticuerpo policlonal anti-beta-actina en conejo (Sigma, Reino Unido), anti-beta-catenina activa (ABC) en ratón (Millipore).

Inhibición de la neovascularización

La señalización del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) a través del receptor VEGF 2 (VEGFR2) es la vía angiogénica primaria, de lo cual las proteínas galectina-1 y galectina-3 son moduladores importantes.

La neovascularización en el ojo se induce en las córneas de ratones mediante la cauterización usando nitrato de plata. Un grupo de sujetos se inyectan por vía sub-conjuntival días alternos con uno o más del (los) inhibidor(es) de la galectina-3 de acuerdo con la invención en PBS que contiene DMSO al 0.5 %. Los sujetos de control se inyectan vía sub-conjuntival sólo con el vehículo (PBS que contiene sólo DMSO al 0.5%). Otro grupo de sujetos se administran con gotas oculares ya sean de 10 µl de vehículo sólo o 50 µM de inhibidor de galectina-3 en vehículo una vez al día.

Después de cinco días del tratamiento de inyección sub-conjuntival o bien del tratamiento con gotas oculares, los sujetos se sacrifican, y montajes planos de córneas se extirpan, fotografían y tiñen con anti-CD31 para visualizar los vasos sanguíneos.

La densidad de los vasos sanguíneos que cubre toda la córnea se cuantifica mediante ImageJ y se analiza con la prueba t de Student.

Referencias

Almkvist, J., Faldt, J., Dahlgren, C., Leffler, H., y Karlsson, A. (2001) Lipopolysaccharide- induced gelatinase granule mobilization primes neutrophils for activation by galectin-3 and f-Met-Leu-Phe. *Infect. Immun.* Vol. 69: 832-837.

Barondes, S. H., Cooper, D. N. W., Gitt, M. A., y Leffler, H. (1994). Galectins. Structure and function of a large family of animal lectins. *J. Biol. Chem.* 269:20807-20810.

Blois, S.M., Ilarregui, J.M., Tometten, M., Garcia, M., Orsal, A.S., Cordo-Russo, R., Toscano, M.A., Bianco, G.A., Kobelt, P., Handjiski, B., y otros (2007). A pivotal role for galectin-1 in fetomaternal tolerance. *Nat Med* 13: 1450-1457.

Chen, W.-S., Leffler H., Nilsson, U. J., Panjwani, N. (2012). Targeting Galectin-1 and Galectin-3 Attenuates VEGF-A-induced Angiogenesis; *Mol. Biol. Cell (suppl)*, Resumen núm. 2695.

Cumpstey, I., Carlsson, S., Leffler, H. y Nilsson, U. J. (2005) Synthesis of a phenyl thio-β-D-galactopyranoside library from 1,5-difluoro-2,4-dinitrobenzene: discovery of efficient and selective monosaccharide inhibitors of galectin-7. *Org. Biomol. Chem.* 3: 1922-1932.

Cumpstey, I., Sundin, A., Leffler, H. y Nilsson, U. J. (2005) C2-Symmetrical thiodigalactoside bis-benzamido derivatives as high-affinity inhibitors of galectin-3: Efficient lectin inhibition through double arginine arene interactions. *Angew. Chem. Int. Ed.* 44: 5110-5112.

Cumpstey, I., Salomonsson, E., Sundin, A., Leffler, H. y Nilsson, U. J. (2008) Double affinity amplification of galectin-ligand interactions through arginine-arene interactions: Synthetic, thermodynamic, and computational studies with aromatic diamido-thiodigalactosides. *Chem. Pat Eur. J.* 14: 4233-4245.

Dam, T.K., y Brewer, C.F. (2008). Effects of clustered epitopes in multivalent ligand-receptor interactions. *Biochemistry* 47: 8470-8476.

Delacour, D., Greb, C., Koch, A., Salomonsson, E., Leffler, H., Le Bivic, A., y Jacob, R. (2007). Apical Sorting by Galectin-3-Dependent Glycoprotein Clustering. *Traffic* 8: 379-388.

Delaine, T., Cumpstey, I., Ingrassia, L., Le Mercier, M., Okechukwu, P., Leffler, H., Kiss, R., y Nilsson, U.J. (2008). Galectin-Inhibitory Thiodigalactoside Ester Derivatives Have Anti-Migratory Effects in Cultured Lung and Prostate Cancer Cells. *J Med Chem* 51; 8109-8114.

Garner, O.B., y Baum, L.G. (2008). Galectin-glycan lattices regulate cell-surface glycoprotein organization and signalling. *Biochem Soc Trans* 36: 1472-1477.

Giguere, D., Patnam, R., Bellefleur, M.-A., St-Pierre, C., Sato, S., y Roy, R. (2006). Carbohydrate triazoles and isoxazoles as inhibitors of galectins-1 and -3. *Chem Commun*: 2379-2381.

Glinsky, G.V., Price, J.E., Glinsky, V.V., Mossine, V.V., Kiriakova, G., y Metcalf, J.B. (1996). *Cancer Res* 56: 5319-5324.

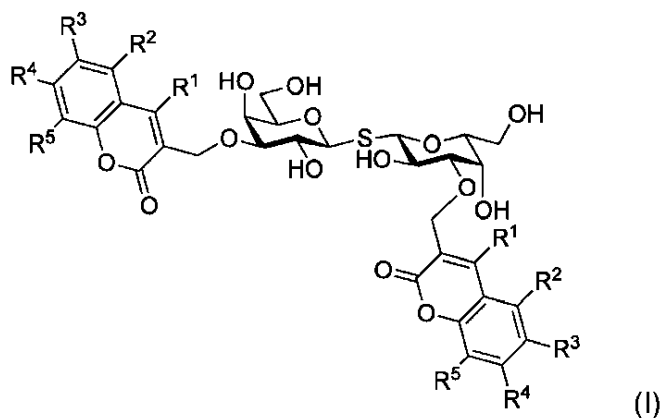
- Glinsky, V.V., Kiriakova, G., Glinskii, O.V., Mossine, V.V., Mawhinney, T.P., Turk, J.R., Glinskii, A.B., Huxley, V.H., Price, J.E., y Glinsky, G.V. (2009). Synthetic Galectin-3 Inhibitor Increases Metastatic Cancer Cell Sensitivity to Taxol-Induced Apoptosis In Vitro and In Vivo. *Neoplasia* 11; 901-909.
- 5 Huflejt, M. E. y Leffler, H. (2004) Galectin-4 in normal tissues and cancer. *Glycoconj. J.* 20: 247-255.
- Ingrassia y otros (2006) A Lactosylated Steroid Contributes in Vivo Therapeutic Benefits in Experimental Models of Mouse Lymphoma and Human Glioblastoma. *J. Med. Chem.* 49: 1800-1807.
- 10 John, C. M., Leffler, H., Kahl-Knutsson, B., Svensson, I., y Jarvis, G. A. (2003) Truncated Galectin-3 Inhibits Tumor Growth and Metastasis in Orthotopic Nude Mouse Model of Human Breast Cancer. *Clin. Cancer Res.* 9: 2374-2383.
- Lau, K.S., y Dennis, J.W. (2008). N-Glycans in cancer progression. *Glycobiology* 18: 750-760.
- 15 Lau, K.S., Partridge, E.A., Grigorian, A., Silvescu, C.I., Reinhold, V.N., Demetriou, M., y Dennis, J.W. (2007). Complex N-glycan number and degree of branching cooperate to regulate cell proliferation and differentiation. *Cell* 129: 123-134.
- Leffler, H. y Barondes, S. H. (1986) Specificity of binding of three soluble rat lung lectins to substituted and unsubstituted mammalian beta-galactosides. *J. Biol. Chem.* 261:10119-10126.
- 20 Leffler, H. Galectins Structure and Function -- A Synopsis in Mammalian Carbohydrate Recognition Systems (Crocker, P. ed.) Springer Verlag, Heidelberg, 2001 págs. 57-83.
- Leffler, H., Carlsson, S., Hedlund, M., Qian, Y. y Poirier, F. (2004) Introduction to galectins. *Glycoconj. J.* 19: 433-440.
- 25 Leffler, H., editor, (2004b) Special Issue on Galectins. *Glycoconj. J.* 19: 433-638.
- Lin, C.-I., Whang, E.E., Donner, D.B., Jiang, X., Price, B.D., Carothers, A.M., Delaine, T., Leffler, H., Nilsson, U.J., Nose, V., y otros (2009). Galectin-3 Targeted Therapy with a Small Molecule Inhibitor Activates Apoptosis and Enhances Both Chemosensitivity and Radiosensitivity in Papillary Thyroid Cancer. *Mol Cancer Res* 7: 1655-1662.
- 30 MacKinnon, A. C., Farnworth, S. L., Henderson, N. C., Hodgkinson, P. S., Kipari, T., Leffler, H., Nilsson, U. J., Haslett, C., Hughes, J., y Sethi T. (2008). Regulation of alternative macrophage activation by Galectin-3. *J. Immun.* 180; 2650-2658.
- Mackinnon, A., Gibbons, M., Farnworth, S., Leffler, H., Nilsson, U. J., Delaine, T., Simpson, A., Forbes, S., Hirani, N., Gauldie, J., y Sethi T. (2012). Regulation of TGF- β 1 driven lung fibrosis by Galectin-3. *Am. J. Resp. Crit. Care Med.*, in press.
- 35 Massa, S. M., Cooper, D. N. W., Leffler, H., Barondes, S. H. (1993) L-29, an endogenous lectin, binds to glycoconjugate ligands with positive cooperativity. *Biochemistry* 32: 260-267.
- 40 Partridge, E.A., Le Roy, C., Di Guglielmo, G.M., Pawling, J., Cheung, P., Granovsky, M., Nabi, I.R., Wrana, J.L., y Dennis, J.W. (2004). Regulation of cytokine receptors by Golgi N-glycan processing and endocytosis. *Science* 306: 120-124.
- 45 Perone, M.J., Bertera, S., Shufesky, W.J., Divito, S.J., Montecalvo, A., Mathers, A.R., Larregina, A.T., Pang, M., Seth, N., Wucherpfennig, K.W., y otros (2009). Suppression of autoimmune diabetes by soluble galectin-1. *J Immunol* 182: 2641-2653.
- Pienta, K.J., Naik, H., Akhtar, A., Yamazaki, K., Reploge, T.S., Lehr, J., Donat, T.L., Tait, L., Hogan, V., y Raz, A. (1995). Inhibition of spontaneous metastasis in a rat prostate cancer model by oral administration of modified citrus pectin. *J Natl Cancer Inst* 87, 348-353.
- 50 Saegusa, J., Hsu, D.K., Chen, H.Y., Yu, L., Fermin, A., Fung, M.A., y Liu, F.T. (2009). Galectin-3 is critical for the development of the allergic inflammatory response in a mouse model of atopic dermatitis. *Am J Pathol* 174: 922-931.
- 55 Salameh, B. A., Leffler, H. y Nilsson, U. J. (2005) *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 15: 3344-3346.
- Salameh, B.A., Cumpstey, I., Sundin, A., Leffler, H., y Nilsson, U.J. (2010). 1H-1,2,3-Triazol-1-yl tiodigalactóido derivatives as high affinity galectin-3 inhibitors. *Bioorg Med Chem* 18: 5367-5378.
- 60 Salomonsson, E., Larumbe, A., Tejler, J., Tullberg, E., Rydberg, H., Sundin, A., Khabut, A., Frejd, T., Lobsanov, Y.D., Rini, J.M., Nilsson, U.J., y Leffler, H (2010). Monovalent interactions of galectin-1. *Biochemistry* 49: 9518-9532.
- Sörme, P., Qian, Y., Nyholm, P.-G., Leffler, H., Nilsson, U. J. (2002) Low micromolar inhibitors of galectin-3 based on 3'-derivatization of N-acetyllactosamine. *ChemBioChem* 3:183-189.
- 65 Sorme, P., Kahl-Knutsson, B., Wellmar, U., Nilsson, U. J., y Leffler H. (2003a) Fluorescence polarization to study galectin-ligand interactions. *Meth. Enzymol.* 362: 504-512.

- Sörme, P., Kahl-Knutsson, B., Wellmar, U., Magnusson, B.-G., Leffler H., y Nilsson, U. J. (2003b) Design and synthesis of galectin inhibitors. *Meth. Enzymol.* 363: 157-169.
- 5 Sörme, P., Kahl-Knutsson, B., Huflejt, M., Nilsson, U. J., y Leffler H. (2004) Fluorescence polarization as an analytical tool to evaluate galectin-ligand interactions. *Anal. Biochem.* 334: 36-47.
- Thijssen, V.L., Poirer, F., Baum, L.G., y Griffioen, A.W. (2007). Galectins in the tumor endothelium: opportunities for combined cancer therapy. *Blood* 110: 2819-2827.
- 10 Toscano, M.A., Bianco, G.A., Ilarregui, J.M., Croci, D.O., Correale, J., Hernandez, J.D., Zwirner, N.W., Poirier, F., Riley, E.M., Baum, L.G., y otros (2007). Differential glycosylation of TH1, TH2 and TH-17 effector cells selectively regulates susceptibility to cell death. *Nat Immunol* 8: 825-834.

15

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la Fórmula general (I):



en donde:

R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y R^5 son independientemente seleccionados del grupo que consiste en hidrógeno, grupos alquilo opcionalmente sustituidos, halógenos, grupos alcoxi opcionalmente sustituidos, grupo hidroxilo, grupos carbonilo sustituidos, grupos aciloxi opcionalmente sustituidos, y grupos amino opcionalmente sustituidos, o en donde dos, tres, cuatro o cinco de R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y R^5 en posiciones adyacentes pueden unirse para formar uno o más anillos, en donde el resto de R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y R^5 es/son independientemente seleccionados del grupo anterior.

2. Un compuesto de acuerdo con la Reivindicación 1, en donde R^5 es hidrógeno.
3. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en donde uno de R^2 y R^3 es fluoro, y uno de R^2 y R^3 que no es fluoro es hidrógeno y R^1 , R^4 y R^5 todos son hidrógeno.
4. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en donde uno de R^3 y R^4 es un grupo hidroxilo, el uno de R^3 y R^4 que no es un grupo hidroxilo es hidrógeno y R^1 , R^2 , y R^5 son todos hidrógeno.
5. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en donde R^2 y R^3 son fluoro, y R^1 , R^4 y R^5 son todos hidrógeno, o en donde R^3 y R^4 son fluoro, y R^1 , R^2 y R^5 son todos hidrógeno.
6. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en donde R^2 es cloro y R^1 , R^3 , R^4 , y R^5 son todos hidrógeno.
7. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en donde R^2 y R^3 se unen para formar un anillo de benceno y R^1 , R^4 y R^5 son todos hidrógeno.
8. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en donde R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y R^5 son todos hidrógeno.
9. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en donde dicho compuesto es seleccionado del grupo que consiste en:

bis-{3-O-[(2*H*-1-benzopiran-2-on-3-il)-metil]-β-D-galactopiranosil}sulfano,

bis-{3-O-[(7-cloro-2*H*-1-benzopiran-2-on-3-il)-metil]-β-D-galactopiranosil}sulfano,

bis-{3-O-[(7-metoxi-2*H*-1-benzopiran-2-on-3-il)-metil]-β-D-galactopiranosil}sulfano,

bis-{3-O-[(7-hidroxí-2*H*-1-benzopiran-2-on-3-il)-metil]-β-D-galactopiranosil}sulfano,

bis-{3-O-[(6-hidroxí-2*H*-1-benzopiran-2-on-3-il)-metil]-β-D-galactopiranosil}sulfano,

bis-{3-O-[(3*H*-nafto[2,1-*b*]piran-3-on-2-il)-metil]-β-D-galactopiranosil}sulfano,

bis-{3-O-[(6-ter-butilo-2*H*-1-benzopiran-2-on-3-il)-metil]-β-D-galactopiranosil}sulfano,

bis-{3-O-[(6-cloro-2*H*-1-benzopiran-2-on-3-il)-metil]-β-D-galactopiranosil}sulfano,

bis-{3-O-[(6-fluoro-2*H*-1-benzopiran-2-on-3-il)-metil]-β-D-galactopiranosil}sulfano,

bis-{3-O-[(6,7-difluoro-2*H*-1-benzopiran-2-on-3-il)-metil]-β-D-galactopiranosil}sulfano,

bis-{3-O-[(5-cloro-2*H*-1-benzopiran-2-on-3-il)-metil]-β-D-galactopiranosil}sulfano,

bis-{3-O-[(5-fluoro-2*H*-1-benzopiran-2-on-3-il)-metil]-β-D-galactopiranosil}sulfano,

bis-{3-O-[(5,6-difluoro-2*H*-1-benzopiran-2-on-3-il)-metil]-β-D-galactopiranosil}sulfano,

bis-{3-O-[(6-trifluorometoxi-2*H*-1-benzopiran-2-on-3-il)-metil]-β-D-galactopiranosil}sulfano, y

bis-{3-O-[(7-metil-2*H*-1-benzopiran-2-on-3-il)-metil]-β-D-galactopiranosil}sulfano.

10. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-9 y un adyuvante, diluyente, excipiente y/o portador farmacéuticamente aceptable.

11. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-9 para usar en el tratamiento de un trastorno seleccionado del grupo que consiste en inflamación, fibrosis, choque séptico, cáncer, enfermedades autoinmunes, trastornos metabólicos, enfermedades del corazón, insuficiencia cardíaca, angiogénesis patológica, y enfermedades de los ojos.

12. Un compuesto para usar de acuerdo con la reivindicación 11, en donde el trastorno es fibrosis seleccionado del grupo que consiste en fibrosis pulmonar, fibrosis hepática, fibrosis renal, fibrosis oftalmológica y fibrosis del corazón.

13. Un compuesto para usar de acuerdo con la reivindicación 11, en donde el trastorno es angiogénesis patológica seleccionada de angiogénesis ocular o una enfermedad o afección asociada con angiogénesis ocular.

14. Un compuesto para usar de acuerdo con la reivindicación 11, en donde el trastorno es enfermedades oculares seleccionadas de degeneración macular relacionada con la edad y neovascularización de la córnea.

15. Un compuesto para usar de acuerdo con la reivindicación 11, en donde dicho trastorno es cáncer.