

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 594 356**

51 Int. Cl.:

C07D 211/46 (2006.01)

A61K 31/445 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.10.2004 PCT/NL2004/000761**

87 Fecha y número de publicación internacional: **06.05.2005 WO05040118**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.10.2004 E 04793685 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.06.2016 EP 1680403**

54 Título: **Análogos de desoxinojirimicina y sus usos como inhibidores de la glucosilceramidasa**

30 Prioridad:

29.10.2003 EP 03078395

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

19.12.2016

73 Titular/es:

**GENZYME CORPORATION (100.0%)
153 SECOND AVENUE
WALTHAM, MA 02451, US**

72 Inventor/es:

**AERTS, JOHANNES, MARIA, FRANCISCUS,
GERARDUS**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 594 356 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

Análogos de desoxinojirimicina y sus usos como inhibidores de la glucosilceramidasa.

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a análogos de desoxinojirimicina o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, que se pueden usar de manera conveniente para el tratamiento de varias enfermedades en las que la síntesis de glucosilceramida y/u otros glucoesfingolípidos desempeña una función. Tales enfermedades incluyen resistencia a la insulina (diabetes sacarina tipo II), obesidad y sobrepeso, trastornos de almacenamiento de glucoesfingolípidos, inflamación, hiperpigmentación y afecciones inflamatorias cutáneas, melanoma y otros tumores, infecciones fúngicas, infecciones víricas, infecciones microbianas y endotoxinas.

10 Glucoesfingolípidos

15 Los glucoesfingolípidos se denominan como aquéllas moléculas de lípidos que comprenden un resto ceramida ligado a una cadena de azúcares. El resto ceramida está constituido por un aminoalcohol de cadena larga característico, principalmente D-*eritro*-esfingosina C16, acoplado por un enlace amido a un ácido graso que puede variar en longitud y grado de saturación. Existen varios cientos de glucoesfingolípidos específicos debido a la variabilidad en su resto oligosacárido que difiere en número y naturaleza de unidades de azúcar y sus enlaces glucosídicos. Los glucoesfingolípidos se clasifican en series tales como, por ejemplo, gangliósidos y globósidos (véase la ref. 1).

20 Durante varias décadas los glucoesfingolípidos se han considerado como estructuras bastante exóticas y recibieron poca atención en bioquímica general. Su compleja composición y baja abundancia han limitado los esfuerzos de investigación a pocos grupos de expertos pioneros. Su relevancia fisiológica ha seguido siendo un misterio durante mucho tiempo puesto que no se podía atribuir una función clara a los glucoesfingolípidos específicos, con la excepción de aquéllos que actúan como antígeno de grupo sanguíneo.

25 En los glucoesfingolípidos del cuerpo humano y sus precursores de esfingolípidos existe ceramida en el interior y en el exterior de las células. En la epidermis, las moléculas de ceramida y glucosilceramida están presentes de manera abundante como entidades libres así como estructuras ligadas a proteína y contribuyen a la permeabilidad de agua y la integridad de la piel (véase la ref. 2). El intercambio de glucoesfingolípidos entre el hígado, un sitio prominente de su síntesis, y los tejidos periféricos está mediado por lipoproteínas que contienen una cantidad significativa de estos lípidos. En las células, los glucoesfingolípidos están localizados más o menos exclusivamente en la hojuela externa de la membrana plasmática, estando expuestas sus cadenas de oligosacáridos al entorno. La cadena principal de lípidos de ceramida proporciona a los esfingolípidos propiedades físicas especiales (véase la ref. 3). En presencia de colesterol se pueden segregar del volumen de los fosfolípidos de membrana, agregándose en un dominio más ordenado, pero aún dominio "ordenado líquido" fluido. Las proteínas de membrana implicadas en la señalización se concentran en estos microdominios enriquecidos en glucoesfingolípidos colesterol (o "balsas") (véase la ref. 4).

35 La composición de los glucoesfingolípidos en la superficie celular puede variar con el crecimiento celular, la diferenciación, la transformación vírica, ontogénesis y oncogénesis (véase la ref. 5). Ha llegado a estar claro que los gangliósidos son particularmente abundantes en células neuronales. Como componentes estructurales son esenciales para la función del sistema nervioso. Los glucoesfingolípidos están como componentes de microdominios implicados en la transducción de una multitud de señales extracelulares en el interior de las células (véase la ref. 6). Por otra parte, se cree que los esfingolípidos tales como ceramida y sus metabolitos esfingosina(-1-fosfato) desempeñan una función directa como moléculas de señalización en una variedad de procesos celulares (véase la ref. 7, 8 y 9).

Síntesis y degradación de glucoesfingolípidos

45 La síntesis y degradación de los glucoesfingolípidos es un procedimiento multi-etapa, complejo, que tiene lugar en varios compartimentos intracelulares (véase la ref. 10 y 11). Las enzimas implicadas en la biosíntesis de la ceramida están localizadas en la hojuela citosólica del retículo endoplasmático rugoso. La biosíntesis empieza con la condensación del aminoácido serina con una palmitoil coenzima A por serina palmitoil transferasa para proporcionar 3-cetoefingánina. A continuación, ésta es reducida a D-*eritro*-efingánina por 3-cetoefingánina reductasa y es acilada con posterioridad a dihidroceramida por una N-aciltransferasa. La dihidroceramida es extensamente desaturada a ceramida por la acción de dihidroceramida desaturasa.

50 Tiene lugar metabolismo adicional de ceramida en tres distintas categorías de esfingolípidos: esfingomielina, galactosilceramida y derivados o glucosilceramida y derivados. La ceramida se convierte en esfingomielina por la transferencia de fosforilcolina a partir del fosfolípido fosfatidilcolina en el grupo 1-hidroxilo de ceramida. El diacilglicerol es liberado en esta reacción. La biosíntesis de esfingomielina tiene lugar en la parte luminal de membranas de Golgi pero también se han considerado otros sitios. La síntesis de galactosilceramida tiene lugar en

el lumen del retículo endoplasmático y es catalizada por una β -galactosiltransferasa específica de la cual UDP-galactosa es el co-sustrato. La galactosilceramida y su sulfatida derivada sulfatada, sólo se sintetizan en tipos de célula específicos. Desempeñan una función principal, por ejemplo, en la formación y estabilidad de mielina en el sistema nervioso central. Se forma glucosilceramida por glucosilceramida sintasa que está localizada en la hojuela citosólica del aparato de Golgi. La enzima usa UDP-glucosa como co-sustrato y cataliza el enlace β -glucosídico de glucosa en la posición 1 de ceramida. La glucosilceramida se transloca con posterioridad por la membrana de Golgi para alcanzar la hojuela interna. Desde aquí, puede alcanzar la membrana plasmática o puede ser modificada por glucosilación adicional en el aparato de Golgi. La lactosilceramida, el precursor común de los glucoesfingolípidos en vertebrados, se forma por la adición de un resto galactosa de UDP-Gal catalizada por galactosiltransferasa I. Después se puede formar una variedad de glucoesfingolípidos por glucosilación etapa por etapa que se realiza mediante sólo unas pocas glucosiltransferasas de especificidad limitada. Como en una cadena de montaje, transfieren restos carbohidrato y ácido siálico a aceptores de glucosilo. Una serie prominente de glucoesfingolípidos es la serie de ganglio. La biosíntesis de gangliósidos complejos requiere la actividad de las sialiltransferasas I, II y III, GalNac transferasa, galactosiltransferasa II y sialiltransferasas IV y V.

La degradación de los glucoesfingolípidos tiene lugar en compartimentos ácidos especializados de células, los lisosomas. Las glucosidasas lisosomales, ayudadas por proteínas activadoras, escinden de manera secuencial los restos azúcar del extremo no reductor de sus sustratos glucolípidos y la ceramida restante se hidroliza finalmente por ceramidasa lisosomal para proporcionar ácido graso libre y esfingosina. Los monosacáridos liberados, ácidos siálicos, ácidos grasos y bases esfingoides pueden abandonar el lisosoma y se pueden usar de nuevo para fines de biosíntesis. Más recientemente, se ha observado que la degradación de los glucoesfingolípidos puede también tener lugar fuera de los lisosomas. Por ejemplo, se ha descubierto que una glucosilceramidasa no lisosomal puede hidrolizar glucosilceramida a ceramida (véase la ref. 12). La enzima última es claramente distinta de la glucosilceramidasa lisosomal (glucocerebrosidasa) que es deficiente en pacientes con enfermedad de Gaucher. La importancia fisiológica de la degradación extra lisosomal aún se entiende deficientemente, aunque parece probable que la formación asociada de ceramida pueda actuar como una señal y regule el comportamiento celular (véase la ref. 13).

Trastornos de almacenamiento de los glucoesfingolípidos.

Los glucoesfingolípidos se sintetizan de manera continua y se degradan en las células. Una serie de enfermedades heredadas en el hombre se caracteriza por acumulación de glucoesfingolípidos intralisosomales. Estos denominados trastornos de almacenamiento de los glucoesfingolípidos son producidos por defectos en la degradación lisosomal (véase la ref. 13). Son ejemplos gangliosidosis GM1, enfermedad de Sandhoff (gangliosidosis GM2, tipo II o variante O), enfermedad de Tay-Sachs (gangliosidosis GM2, tipo I o variante B), enfermedad de Fabry (a-galactosil-lactosilceramidosis), lactosilceramidosis, enfermedad de Gaucher (glucocerebrosidosis). Otras esfingolipidosis son síndrome de deficiencia de sulfatasa múltiple (mucosulfatidosis), enfermedad de Krabbe (leucodistrofia celular global, galactocerebrosidosis), enfermedad de Niemann-Pick (esfingomielinosis, enfermedad de Farber (ceramidosis).

Enfermedad de Gaucher

La enfermedad de Gaucher es el trastorno de almacenamiento lisosomal encontrado lo más frecuentemente en el hombre (véase la ref. 14 y 15). En 1.882 las características clínicas de la enfermedad fueron descritas primero con detalle por el estudiante de medicina francés Philippe C. E. Gaucher, indicando la presencia de grandes células inusuales en una mujer de 32 años con un bazo agrandado. Ya a comienzos del siglo pasado se sugirió que la enfermedad era un trastorno familiar. En 1.934 el material de almacenamiento primario en enfermedad de Gaucher fue identificado finalmente como glucocerebrósido (glucosilceramida). El glucocerebrósido de glucoesfingolípidos es el compuesto intermedio común en la síntesis y degradación de gangliósidos y globósidos. Se ha demostrado que el defecto principal en la enfermedad de Gaucher es una acusada deficiencia en la actividad de la enzima lisosomal glucocerebrosidasa (EC. 3.2.1.45) (véase la ref. 16 y 17). Las deficiencias heredadas en glucocerebrosidasa dan como resultado la acumulación de su sustrato lipídico en el compartimento lisosomal de los macrófagos por todo el cuerpo. Se reconocen tres diferentes fenotipos, que se diferencian sobre la base de la presencia o ausencia de síntomas neurológicos. Se han identificado fenotipos adicionales más recientemente de enfermedad de Gaucher. Por ejemplo, la deficiencia completa en actividad de la glucocerebrosidasa da como resultado anomalías en la permeabilidad cutánea principal con consecuencias letales prenatales o poco tiempo después del nacimiento. La variante más prevalente de la enfermedad es la forma no neuropática, denominada enfermedad de Gaucher tipo 1. La edad de comienzo y las manifestaciones clínicas de la enfermedad de Gaucher tipo 1 son muy variables. Los síntomas más comunes incluyen esplenomegalia con anemia y trombocitopenia, debido principalmente a hiperesplenismo, hepatomegalia y enfermedad ósea. La anemia puede contribuir a fatiga crónica. La trombocitopenia y los tiempos de coagulación prolongados pueden conducir a un incremento en la tendencia a hemorragias. El dolor óseo adípico, las fracturas patológicas, la necrosis avascular y crisis óseas extremadamente dolorosas también pueden presentar un gran impacto sobre la calidad de vida. La enfermedad de Gaucher tipo 1 es relativamente común en todos los grupos étnicos. Es prevalente entre Asquenazíes con una frecuencia portadora

tan alta como aproximadamente 1 en 10 y una incidencia de aproximadamente 1 en 5.000. La mutación más común en el gen de la glucocerebrosidasa caucásica, incluyendo Asquenazíes, codifica la sustitución de aminoácidos N370S. La presencia heteroalélica de la mutación N370S está siempre asociada a un campo no neuropático. Se ha demostrado que la glucocerebrosidasa N370S es producida normalmente y está presente en los lisosomas. Su actividad catalítica está sólo dañada severamente a valores de pH por encima de 5,0, que ilustra la sutil naturaleza de la mutación (véase la ref. 18). La mayoría, pero no todos los homocigotos para la mutación N370S no desarrolla síntomas clínicos significativos. Estudios con gemelos y el deficiente poder predictivo de investigaciones de fenotipo -genotipo en enfermedad de Gaucher han señalado claramente que los factores epigenéticos también desempeñan una función clave en la manifestación de la enfermedad de Gaucher (véase la ref. 19 y 20). Aunque la glucocerebrosidasa está presente en los lisosomas de todos los tipos de células, los pacientes con enfermedad de Gaucher tipo 1 desarrollan solamente almacenamiento de glucocerebrósido en células del sistema de fagocitos mononucleares. Los macrófagos participan en la degradación de microbios invasores, el recambio natural de células sanguíneas y en el modelado de tejidos. A la vista de esto, no es sorprendente que en un número considerable de los trastornos de almacenamiento lisosomal la acumulación de material de almacenamiento también tenga lugar prominentemente en macrófagos de tejidos. La variante de tipo 1 de enfermedad de Gaucher es única con respecto al hecho de que el almacenamiento lisosomal tiene lugar exclusivamente en macrófagos. Se cree que el origen del material almacenado de la descomposición de lípidos exógenos procedían del recambio de células sanguíneas. Las células cargadas de glucocerebrósido muestran una morfología característica con un aspecto de tipo "papel rugoso" de su citoplasma que contiene cuerpos de inclusión lisosomales; estas células se refieren como células de Gaucher. En las últimas décadas ha llegado a ser evidente que las células de Gaucher no son envases inertes de material de almacenamiento sino macrófagos activados de manera crónica, viables, que contribuyen a las diversas manifestaciones clínicas de la enfermedad de Gaucher. Se han indicado niveles de circulación aumentados de diversas citocinas proinflamatorias (TNF-alfa, IL-1 beta, IL-6 e IL-8), la citocina antiinflamatoria IL-10 y M-CSF (véase la ref. 21 y 22). Se ha propuesto la hipótesis de que las anomalías de las citocinas pueden desempeñar una función crucial en el desarrollo de anomalías clínicas comunes en pacientes de Gaucher tales como osteopenia, activación de la coagulación, hipermetabolismo, gammopatías y mieloma múltiple e hipolipoproteinemias. Más recientemente, el examen de perfiles de expresión de genes por análisis de hibridación de sustracción supresora de Gaucher y bazos de control ha conducido a la identificación de sobreexpresión por células de Gaucher de transcripciones para catepsinas B, K y S (véase la ref. 23). Es de interés observar que la catepsina K procedente de osteoclasto está implicada prominentemente en destrucción de colágeno tipo I óseo. La liberación local de esta catepsina puede contribuir a la osteolisis en enfermedad de Gaucher.

Terapia de la enfermedad de Gaucher

La enfermedad de Gaucher tipo 1 ha sido considerada en general que es el candidato más atractivo entre los trastornos de almacenamiento lisosomales heredados para desarrollar intervenciones terapéuticas eficaces. En primer lugar, la base molecular del defecto genético subyacente ha sido establecido ya con detalle a nivel de genes y proteínas. En segundo lugar, justo un solo tipo de célula, el macrófago de tejido, está implicado principalmente en la fisiopatología del trastorno. El razonamiento para intervención terapéutica de la enfermedad de Gaucher tipo 1 es por lo tanto relativamente simple: corrección (o prevención de formación continua) de células de Gaucher. Esto se podía llevar a cabo por suplementación de macrófagos con la enzima glucocerebrosidasa (terapia enzimática sustitutiva), por reducción de síntesis de glucolípidos con inhibidores específicos (privación de sustrato o tratamiento equilibrador de sustrato) o por introducción de ADNc de glucocerebrosidasa en progenitores hematopoyéticos de macrófagos (terapia génica). El trabajo pionero de Brady, Barranger y colaboradores en el Instituto Nacional de Salud (Bethesda, USA) así como contribuciones valiosas por otros muchos, ha conducido a un tratamiento muy eficaz de la enfermedad de Gaucher tipo 1 basándose en administración intravenosa crónica de glucocerebrosidasa humana (véase la ref. 24-26). Se han realizado tres estudios independientes de transferencia de genes a las células hematopoyéticas de pacientes de Gaucher pero ninguno produjo resultados alentadores (véase la ref. 27). Las bajas eficacias de transducción de células CD34 y la expresión no sostenida de glucocerebrosidasa en glóbulos blancos han contribuido a esto. El desarrollo de estrategias de terapia génica para corregir trastornos hematológicos y genéticos ha estado dificultado por los bajos niveles de transferencia de genes a células madre humanas usando vectores procedentes de oncoretrovirus.

Terapia de reducción de sustrato

Una propuesta alternativa para intervención terapéutica de Gaucher tipo 1 y otros glucoesfingolípidos es tratamiento de privación de sustrato (también denominada reducción de sustrato). Radin y colaboradores formularon en primer lugar el concepto del reto (véase la ref. 28). La propuesta se dirige a reducir la velocidad de biosíntesis de glucoesfingolípidos a niveles que corresponden a catabolismo deficiente. Se concibe que los pacientes que presentan una actividad enzimática lisosomal residual significativa podían aclarar gradualmente el material de almacenamiento lisosomal y por lo tanto se beneficiarían mayoritariamente de la reducción de biosíntesis de sustrato (véase la ref. 29).

Se han descrito en el momento presente dos clases principales de inhibidores de la biosíntesis de

glucoesfingolípidos, ambas de las cuales inhiben la glucosiltransferasa específica de ceramida (también denominada glucosilceramida sintasa; GlcT-1; UDP-glucosa : N-acilesfingosina D-glucosil-transferasa, EC 2.4.1.80). La enzima cataliza la transferencia de glucosa a ceramida, la primera etapa de la biosíntesis de glucoesfingolípidos. La primera clase de inhibidores se forma por análogos de ceramida. El inhibidor del prototipo es PDMP (D, L-treo-1-fenil-2-decanoilamino-3-morfolino-1-propanol). Se han desarrollado con posterioridad análogos más específicos y potentes basándose en la sustitución por el grupo morfolino de una función pirrolodino y por sustituciones en el grupo fenilo: 4-hidroxi-1-fenil-2-palmitoilamino-3-pirrolidono-1-propanol (p-OH-P4) y etilendioxi-1-fenil-palmitoilamino-3-pirrolidino-1-propanol (EtDo-P4) (véase la ref. 30). Estudios en un modelo de ratones *knock-out* para enfermedad de Fabry han demostrado que la administración oral de los compuestos puede dar como resultado una reducción acusada del glucoesfingolípidos que se acumula globotriaosilceramida (véase la ref. 31).

Iminoazúcares

La segunda clase de inhibidores de la glucosilceramida sintasa se forma por iminoazúcares N-alquilados. Dicho tipo de compuestos tenían ya uso común como inhibidores de enzimas de tratamiento de N-glicano y la aplicación potencial de N-butildesoxinojirimicina como inhibidor de VIH había sido estudiado en pacientes de SIDA. Platt y Butters en el Instituto de Glicobiología en Oxford fueron los primeros en reconocer la capacidad de N-butildesoxinojirimicina para inhibir la síntesis de glucosilceramida en concentraciones micromolares bajas (véase la ref. 32). Los mismos investigadores demostraron en modelos de ratones *knock-out* de enfermedad de Tay-Sachs y enfermedad de Sandhoff reducciones significativas en el almacenamiento de glucoesfingolípidos en el cerebro (véase la ref. 33). Estudios preclínicos en animales y el ensayo clínico previo en pacientes de SIDA han indicado efectos adversos (transitorios) en el tubo digestivo, probablemente relacionados con la capacidad de NB-DNJ para inhibir las disacaridasas en el borde cuticular intestinal. Los estudios en animales han demostrado que el análogo de galactosa N-butildesoxigalactonojirimicina (NB-DGJ) puede presentar la misma eficacia terapéutica que N-butildesoxigalactonojirimicina (NB-DNJ) pero no produce efectos secundarios gastrointestinales (véase la ref. 34). Overkleeft y colaboradores en su investigación para inhibidores de glucosidasas han desarrollado de un modo casual un inhibidor más potente de la glucosilceramida sintasa. Se encontró que la N-Adamantano-1il-metoxipentil-desoxinojirimicina (AMP-DNM) inhibía la biosíntesis de los glucoesfingolípidos en concentraciones nanomolares (véase la ref. 35) y podía prevenir la acumulación de globotriaosilceramida en un modelo de ratones *knock-out* de Fabry sin efectos secundarios claros.

El primer estudio clínico del uso de N-butildesoxinojirimicina (NB-DNJ) para tratar un trastorno de almacenamiento de glucoesfingolípidos se ha indicado recientemente (Cox et al. 2.000). En un ensayo de fase I/II abierto 28 pacientes de Gaucher tipo 1 adultos recibieron tres veces al día 100 mg de NB-DNJ (OGT918; Oxford GlycoSciences).

Se han descrito mejoras en visceromegalias y anomalías hematológicas así como correcciones en los niveles en plasma de glucosilceramida y biomarcadores de actividad de la enfermedad de Gaucher, aunque la extensión de la respuesta es menos espectacular que la observada en general con terapia enzimática sustitutiva de alta dosis. Como se espera, es demostrable una relación dosis-respuesta para NB-DNJ en pacientes Gaucher tipo 1. Se indicó recientemente que la administración tres veces al día de 50 mg de NB-DNJ es mucho menos eficaz (véase la ref. 37). Muy recientemente la EMEA (el sustituto europeo de la FDA) ha registrado NB-DNJ (Zavesca, Oxford GlycoSciences) para tratamiento de pacientes de Gaucher tipo 1 que no son adecuados para recibir tratamiento enzimático sustitutivo.

Iminoazúcares y otras aplicaciones terapéuticas

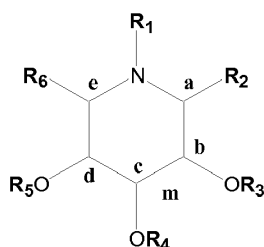
Los iminoazúcares son alcaloides polihidroxilados que son imitadores estructurales de los monosacáridos, donde un átomo de nitrógeno reemplaza el oxígeno del anillo. Se han descrito ejemplos de iminoazúcares, por ejemplo, en la Patente Internacional WO 98102161. Como análogos de estado de carga de transición los iminoazúcares pueden actuar como inhibidores de enzimas que catalizan la eliminación o adición de azúcares ("enzimas que tratan glucoconjugados"). Se ha encontrado que las desoxinojirimicinas que son imitadores estructurales próximos de la glucosa son inhibidores de alfa-glucosidasas I y II que tratan glucoproteínas. Algunas desoxinojirimicinas N-alquiladas, como N-butil-desoxinojirimicina, se han evaluado como compuestos terapéuticos antivíricos (VIH) con éxitos clínicos limitados, a pesar de la eficacia demostrada usando modelos *in vitro* para infectividad vírica (véase la ref. 38). En el momento presente se investiga la nonil-desoxi-galactonojirimicina y N-7-oxanonil-6-Me-desoxigalactonojirimicina con respecto al valor terapéutico para infecciones por virus de la hepatitis. Otras desoxinojirimicinas N-alquiladas, como N-hidroxietil-desoxinojirimicina (Miglitol, Glyset) se han desarrollado para inhibición de glucosidasas intestinales. Se asume que la reducción de actividad de las glucosidasas intestinales es beneficiosa para individuos que padecen resistencia a la insulina (diabetes sacarina tipo II) puesto que tamponaría la absorción de monosacárido de carbohidratos complejos de los alimentos. Otro uso de los iminoazúcares en el desarrollo de fármacos para control metabólico es en la modificación de oligosacáridos N-ligados sobre proteínas de la superficie de la célula para reducir las metástasis de células tumorales (véase la ref. 39).

Ahora se ha encontrado que el metabolismo anormal y las concentraciones anormales de glucoesfingolípidos se asocian a una variedad de patologías que oscilan desde resistencia a la insulina (diabetes sacarina tipo II), sobrepeso y obesidad, trastornos del almacenamiento lisosomal, inflamación, a hiperpigmentación y enfermedades inflamatorias cutáneas. Por otra parte, se ha encontrado que los glucoesfingolípidos desempeñan una función importante en infecciones víricas, microbianas y fúngicas y sensibilidad a algunas endotoxinas. Se cree que la corrección del metabolismo de los glucoesfingolípidos y la reducción de excesivos glucoesfingolípidos por administración de iminoazúcares alquilados seleccionados cuidadosamente puede dar como resultado respuestas beneficiosas en dichas patologías. Un prerrequisito para el éxito de tales propuestas es sin embargo que el compuesto administrado sea eficaz y bien tolerado. También se ha encontrado que los iminoazúcares pueden interferir no sólo con la actividad de las glucosiltransferasas tales como glucosilceramida sintasa sino también con la de otras diversas enzimas (intestinales y otras glucosidasas de la superficie celular, glucosidasas lisosomales y endosomales, enzima desramificadora de glucógeno y glucosidasas de modificación de glucoproteínas). La aplicación terapéutica exitosa de los iminoazúcares requiere por lo tanto especificidad de actividades biológicas. Es esencial el conocimiento de la naturaleza precisa de los objetivos enzimáticos que tratan glucoconjugado que debería ser inhibido por un iminoazúcar terapéutico también los que no se deberían inhibir. Forma la base para desarrollar iminoazúcares terapéuticos adaptados para diferentes patologías. Los iminoazúcares disponibles en el momento presente, sin embargo, están lejos de ser óptimos. En primer lugar, no son muy biodisponibles y son inhibidores relativamente deficientes de la glucosilceramida sintasa. El segundo lugar, son inhibidores relativamente fuertes de actividades enzimáticas beneficiosas y producen por consiguiente efectos secundarios inaceptables cuando se administran en una dosis mayor. Se requiere por lo tanto mejora a dos niveles diferentes: 1, el diseño y la síntesis de nuevos iminoazúcares alquilados y 2, selección de iminoazúcares alquilados óptimos usando criterios apropiados de actividad inhibitoria para cada patología.

Sumario de la invención

La presente invención se refiere a una clase particular de derivados de iminoazúcar alquilados novedosos que se pueden usar de manera conveniente para el tratamiento de varias enfermedades en las que la síntesis de glucosilceramida y/u otros glucoesfingolípidos desempeña una función.

Por consiguiente, la presente invención se refiere a un análogo de desoxinojirimicina, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, con la estructura (1) general y como se define en las reivindicaciones.



(I)

Los análogos de desoxinojirimicina según la presente invención comprenden al menos una entidad X que comprende un resto hidrófobo y un espaciador. La entidad X puede estar situada en cualquiera de las posiciones R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆.

El espaciador y el resto hidrófobo se representan por Z e Y como se muestra en la Figura 1.

Preferiblemente, el resto hidrófobo grande está ligado a dicho átomo de nitrógeno de la desoxinojirimicina por medio del espaciador. El resto hidrófobo grande procede de un compuesto seleccionado del grupo que consiste en: adamantanometanol, colesterol, β-colestanol, adamantanol y 9-hidroxi-fenantreno.

Los análogos de desoxinojirimicina según la presente invención presentan la configuración ido. En particular ido-N-(5-adamantano-1-il-metoxipentil)desoxinojirimicina es un compuesto preferido.

La preparación de los análogos de desoxinojirimicina según la presente invención se ejemplifica por los siguientes ejemplos.

N-(adamantano-1-il-metoxipentil)-L-ido-desoxinojirimicina 4.

2,3,4,6-tetra-O-bencil-L-*ido*-desoxinojirimicina **1** (Tetrahedron Lett. 44, 3.085-3.088, 2.003) se desbenciló vía hidrogenación (H₂, Pd/C, HCl (ac.), EtOH) a **3**, que se condensó con adamantano-1-il-metoxipentalal **2** (J. Biol. Chem. 273, 26.522, 1.998, Patente Internacional WO 98102161) en condiciones de aminación reductora (H₂, Pd/C, HCl (ac.), EtOH) para proporcionar *N*-(adamantano-1-il-metoxipentil)-L-*ido*-desoxinojirimicina **4**. La purificación proporcionó compuesto **4** objetivo homogéneo con rendimiento del 93% como un jarabe amarillo claro (véase la **Figura 2**).

N-(adamantano-1-il-metoxipentil)-D-*galacto*-desoxinojirimicina **7**.

Se llevó a cabo la síntesis de **7** (véase la **Figura 3**) siguiendo la ruta sintética como se indicó en líneas generales anteriormente para el congénere 4 *ido*, partiendo de 2,3,4,6-tetra-O-bencil-D-*galacto*-nojirimicina **7** (Tetrahedron 56, 32, 5.819-5.834, 2.000).

C1-beta-(adamantano-1-il-metoxipentil)-desoxinojirimicina **17**, *N*-metil-C1-beta-(adamantano-1-il-metoxipentil)-desoxinojirimicina **18** y *N*-butil-C1-beta-(adamantano-1-il-metoxipentil)-desoxinojirimicina **19**.

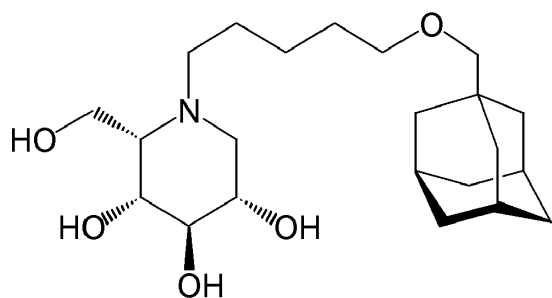
La síntesis de derivados **17**, **18** y **19** de beta-C1-alquildesoxinojirimicina comienza con la preparación de 5-O-(adamantano-1-metil)-1-pentinol **13** (véase la **Figura 4**). Se silió pentin-1-ol **8** completamente (nBuLi, TMSCl) seguido por desprotección selectiva del silil éter (HCl 1 N) para proporcionar acetileno **9** protegido. El alcohol libre de **9** fue transformado en éster **10** trifluorometanosulfonílico (cloruro de trifluorometanosulfonilo, trietilamina). La alquilación de adamantano-metanol **11** con **10** (K₂CO₃, calentando para hacer hervir a reflujo CH₂Cl₂) y posterior eliminación del grupo protector de TMS (metanolato de sodio, MeOH/THF) proporcionó acetileno **13** con rendimiento total del 64% basado en **8**. La adición nucleófila del litio de **13** (preparado haciéndolo reaccionar con butil litio en THF a -50°C) a 2,3,4,6-tetra-O-bencil-D-gluconic-delta-lactona **14** (J. Org. Chem., 2.531, 1.967) proporcionó cetoglucósido **15** como una mezcla anomérica. El compuesto **15** fue fácilmente y con alta estereoselectividad, transformado en el iminoazúcar **16** completamente protegido usando el siguiente procedimiento de tres etapas (Eur. J. Org. Chem. 5, 1.185-1.189, 1.999): 1) reducción al correspondiente diol (NaBH₄, CH₂Cl₂/MeOH), 2) oxidación al dicetocompuesto (oxidación de Swern) y 3) doble aminación reductora empleando formiato de amonio y cianoborohidruro de sodio (el rendimiento global basado en **14** fue 45%). La hidrogenación catalizada con paladio proporcionó iminoazúcar **17** (79%), a partir del cual se prepararon fácilmente los metil- y butil-homólogos **18** y **19** por aminación reductora con formaldehído (**18**, **rendimiento del 20%**) y butanal (**19**, **rendimiento del 73%**), respectivamente.

2-O-(adamantano-1-il-metoxipentil)-desoxinojirimicina **28**, *N*-metil-2-O-(adamantano-1-il-metoxipentil)-desoxinojirimicina **29** y *N*-butil-2-O-(adamantano-1-il-metoxipentil)-desoxinojirimicina **30**.

La preparación de los derivados **28**, **29** y **30** de desoxinojirimicina 2-O-alquilada (véase la **Figura 5**) empieza con la *p*-metoxibencil-protección de la función alcohol libre en alil-3,4,6-tri-O-bencil-β-D-glucopiranosido **20** (Tetrahedron: Asymmetry, 8, 765-774, 1.997) y posterior isomerización/hidrólisis del grupo alilo anomérico para proporcionar **22** en 80% durante dos etapas. Se transformó el hemiacetal **22** en el derivado **23** de desoxinojirimicina ortogonalmente protegido usando el siguiente procedimiento de cuatro etapas: 1) reducción al correspondiente diol (LiAlH₄, THF), 2) oxidación a la aldehídocetona (oxidación de Swern), 3) doble aminación reductora empleando formiato de amonio y cianoborohidruro de sodio y 4) protección de la amina secundaria resultante con el grupo benciloxicarbonilo (ZCl, K₂CO₃, 71% durante las cuatro etapas). El tratamiento de **23** con TFA al 2% proporcionó compuesto **24** (99% de rendimiento), con el C-2-OH desprotegido de manera selectiva para asegurar la alquilación. El correspondiente agente de alquilación 1-bromo-5-(adamantano-1-il)metoxipentano **26** se preparó a partir de aldehído **2** por reducción de la función aldehído al correspondiente alcohol primario (NaBH₄, MeOH) seguido por bromación bajo la agencia de PBr₃ (88%, dos etapas). La alquilación de **24** se efectuó por adición de exceso de **26** y tratamiento con hidruro de sodio en DMF para proporcionar **27** en 83%. La eliminación reductora de los grupos protectores **Z**- y bencilo en **27** proporcionó iminoazúcar **28** (80% de rendimiento), a partir de lo cual se prepararon fácilmente los metil- y butil-homólogos **29** y **30** por aminación reductora con formaldehído (**29**, 49% de rendimiento) y butanal (**30**, 79% de rendimiento), respectivamente.

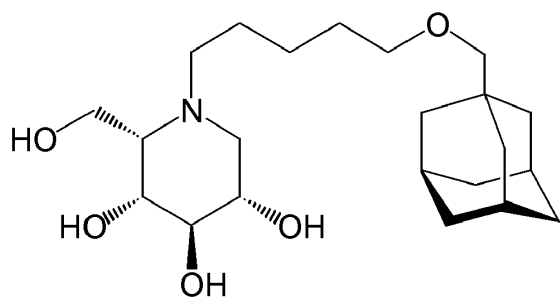
Datos espectroscópicos:

N-(adamantano-1-il-metoxipentil)-L-*ido*-desoxi-nojirimicina (**4**):



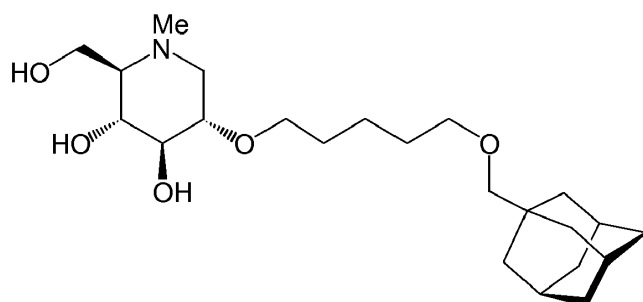
5 RMN de ^1H (MeOD, 400 MHz): δ 4,01-3,97 (dd, 1H, H6), 3,89 (m, 1H, H2), 3,85-3,70 (m, 3H, H2, H3, H4), 3,55-3,52 (m, 2H, CH_2 espaciador), 3,40-3,08 (m, 5H, $2^*\text{H}1$, H5, CH_2 espaciador), 2,96 (s, 2H, O- CH_2 metoxi), 1,94 (s ancho, 3H, CH adamantilo), 1,77-1,66 (dd ancho, 6H, 3^*CH_2 adamantilo), 1,63-1,54 (d, 4H, 2^*CH_2 espaciador), 1,55 (d, 6H, 3^*CH_2 adamantilo), 1,45-1,37 (m, 2H, CH_2 espaciador medio), MS (ESI): obs. $m/z = 398,2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$; PM calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{39}\text{NO}_5$: 397,3.

2-O-(adamantano-1-il-metoxipentil)-desoxi-nojirimicina (28):



10
15 RMN de ^1H (MeOD, 400 MHz): δ 3,92-3,84 (2^*dd , 2H, $2^*\text{H}6$), 3,72-3,62 (m, 2H, O- CH_2 espaciador), 3,57-3,43 (m, 3H, H2, H3, H4), 3,38-3,36 (m, 2H, O- CH_2 espaciador), 3,07 (m, 1H, H5), 2,95 (s, 2H, O- CH_2 metoxi), 2,89-2,79 (m, 2H, $2^*\text{H}1$), 1,93 (s ancho, 3H, CH adamantilo), 1,76-1,65 (dd ancho, 6H, 3^*CH_2 adamantilo), 1,62-1,56 (d, 4H, 2^*CH_2 espaciador), 1,54 (d, 6H, 3^*CH_2 adamantilo), 1,45-1,39 (m, 2H, CH_2 espaciador medio), MS (ESI): obs. $m/z = 398,2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$; PM calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{39}\text{NO}_5$: 397,3.

N-Metil-2-O-(adamantano-1-il-metoxipentil)-desoxi-nojirimicina (29):

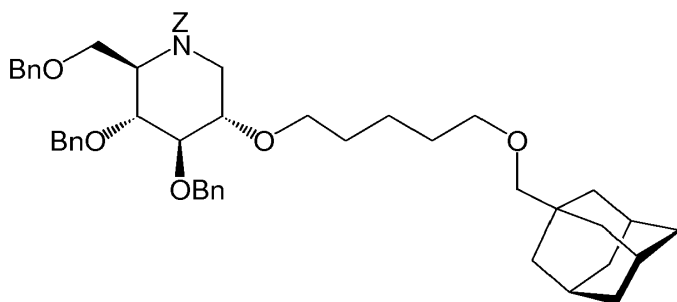


20 RMN de ^1H (MeOD, 400 MHz): δ 4,13-4,10 (2^* d ancho, 2H, $2^*\text{H}6$), 3,72-3,64 (m, 2H, O- CH_2 espaciador), 3,62-3,48 (m, 3H, H2, H3, H4), 3,42-3,38 (m, 2H, O- CH_2 espaciador), 3,09-2,89 (m, 3H, H5 y $2^*\text{H}1$), 3,01 (s, 3H, N- CH_3), 2,95 (s, 2H, O- CH_2 metoxi), 1,96 (s ancho, 3H, CH adamantilo), 1,78-1,65 (dd ancho, 6H, 3^*CH_2 adamantilo), 1,62-1,56 (d, 4H, 2^*CH_2 espaciador), 1,57 (d, 6H, 3^*CH_2 adamantilo), 1,48-1,42 (m, 2H, CH_2 espaciador medio), MS (ESI): obs. $m/z = 412,2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$; PM calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{41}\text{NO}_5$: 411,3.

25 *N*-Butil-2-O-(adamantano-1-il-metoxipentil)-desoxi-nojirimicina (30):

MS (ESI): obs. $m/z = 454,2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$; PM calculado para $\text{C}_{26}\text{H}_{47}\text{NO}_5$: 453,3.

N-benciloxicarbonil-2-O-(adamantano-1-il-metoxipentil)-3,4,6-tri-O-bencil-desoxi-nojirimicina (27):



5 RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7,31- 7,25 (m, 20H, CH Bn), 5,16-5,06 (2H, CH_2 Bn), 4,75-4,49 (2^*CH_2 Bn), 4,43-4,31 (2H, CH_2 Bn), 4,14-4,12 (m, 1H, H5), 4,00-3,97 (dd, 1H, H1 ax o eq), 3,93-3,89 (dd, 1H, H4), 3,67-3,54 (m, 4H, H2, H3, 2^*H_6), 3,38-3,31 (m, 5H, H1 ax o eq, 2^*O-CH_2 espaciador), 2,93 (s, 2H, CH_2 metoxi), 1,94 (s ancho, 3H, CH adamantilo), 1,71-1,62 (dd ancho, 6H, 3^*CH_2 adamantilo), 1,58-1,52 (m, 10H, 3^*CH_2 adamantilo, 2^*CH_2 espaciador), 1,38-1,33 (m, 2H, CH_2 espaciador medio), RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 155,7 (C=O, grupo Z), 138,3, 136,6 (Cq Bn y Z), 128,4-127,4 (CH arom, Bn), 82,4; 79,5; 74,3 (3^*CH ; C2; C3 y C4); 73,1; 72,9; 72,8; 71,5; 69,0; 68,5; 67,1 (7^*CH_2 ; 3^*CH_2 Bn; CH_2 grupo Z; 2^*O-CH_2 espaciador; C6); 55,8 (C5); 41,6 (C1); 39,7; 37,2 (2^*CH_2 adamantilo); 34,0 (Cq adamantilo); 29,7; 29,4 (2^*CH_2 espaciador), 28,2 (CH adamantilo), 22,7 (CH_2 espaciador medio), MS (ESI): obs. m/z = 802,4 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$; 824,6 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$; PM calculado para $\text{C}_{51}\text{H}_{63}\text{NO}_7$: 801,5.

Campos de aplicación

1. Diabetes sacarina tipo II (resistencia a la insulina)

15 La frecuencia de la diabetes sacarina tipo II está aumentando drásticamente en el Mundo Occidental. El principal defecto subyacente es una absorción alterada de glucosa del torrente sanguíneo por músculo y tejido adiposo como resultado de una sensibilidad reducida a movilizar transportadores de GLUT4 a su superficie celular en respuesta a la insulina. Ya es conocido durante muchos años que las concentraciones aumentadas de ácidos grasos en el músculo están asociadas con homeostasis aberrante de glucosa. A inversa, las mejoras en homeostasis de glucosa inducida por agonistas de PPAR gamma y rexinoides se asocian con el reparto alterado de ácidos grasos, es decir redistribución de ácidos grasos a tejido adiposo y agotamiento relativo de absorción y metabolismo de ácidos grasos del músculo. El mecanismo molecular, sin embargo, se entiende deficientemente por lo que la lipotoxicidad en el músculo produce el comienzo y el progreso de la diabetes. Más conocimiento en esta materia ayudará por lo tanto a mejorar/desarrollar medicamentos para tratar la resistencia a la insulina.

Mecanismo molecular de lipopatogénesis

25 Las actividades de investigación sobre glucoesfingolípidos y diabetes tipo II en el Departamento de Bioquímica en el Centro Médico Académico/Universidad de Amsterdam ha conducido recientemente a un nuevo conocimiento inesperado en la lipopatogénesis de la diabetes sacarina tipo II. El mecanismo subyacente se describe con detalle a continuación.

Función para glucoesfingolípidos en resistencia a la insulina adquirida

30 Se formuló una hipótesis sobre la función para los (gluco)esfingolípidos en la patogénesis de la diabetes. Se piensa en el origen del hecho ignorado de que el palmitato es el bloque de construcción esencial del resto ceramida en los esfingolípidos: la primera etapa de su biosíntesis implica la transferencia de palmitato a serina, catalizada por la serina palmitoiltransferasa, véase la Figura 1. La velocidad de síntesis de los esfingolípidos en el hígado es altamente dependiente de la concentración de palmitato. Curiosamente, esto se podía confirmar experimentalmente para células musculares cultivadas (células de músculo liso, mioblastos): la adición de palmitato 0,1; 0,5; 1,0 mM en el medio de cultivo condujo a aumentos proporcionales en la síntesis de glucoesfingolípidos, como se revela por la incorporación aumentada de serina radiomarcada en estas estructuras.

40 Este hallazgo impulsó a un examen más detallado de la posibilidad de que en realidad los (gluco)esfingolípidos median la lipotoxicidad en los músculos que subyace a la diabetes. Se ha puesto en evidencia recientemente que GM3 (el gangliósido más simple en la superficie celular, véase la Figura 2) puede y alterar la señalización de la insulina. Con respecto a esto, se observa que la concentración de GM3 en la superficie celular parece regular la absorción de glucosa en respuesta a la insulina por interferencia de manera negativa con agrupaciones múltiples de receptores de insulina. Por otra parte, altas concentraciones de GM3 se asocian con la movilización reducida de GLUT4 en la superficie celular. Por el contrario, la reducción de GM3 se asocia con sensibilidad a la insulina mejorada (véase Yamishita et al. Proc Natl Acad Sci USA (2.003) 100, 3.445-9 Sensibilidad a la insulina mejorada en ratones que carecen de gangliósido GM3; Tagami et al. (2.002) J Biol Chem 277, 3.085-92 El gangliósido GM3 participa en las patologías de resistencia a la insulina). Se postula que en condiciones obesas, los niveles de

palmitato son crónicamente altos y que por lo tanto la formación de glucoesfingolípidos en adipocitos así como células musculares tendrá lugar a velocidades aumentadas, favoreciendo la resistencia a la insulina. La conexión entre concentración aumentada de palmitato en el músculo como fuerza impulsora para la síntesis de glucoesfingolípidos local aumentada (incluyendo GM3) y resistencia a la insulina (véase la Figura 3) aún no ha sido reconocida por otros.

Función crucial de la glucosilceramida sintasa

Adicionalmente se observó que la concentración de GM3 y otros gangliósidos en la superficie celular depende mucho de la actividad de la glucosilceramidasa sintasa (la síntesis de glucosilceramida), la etapa que limita la velocidad en la síntesis de gangliósido (véase la Figura 3). Esta enzima cataliza la formación de glucosilceramida a partir de ceramida y UDP-glucosa. Los valores de Km de ambos sustratos (ceramida y UDP-glucosa) están en el intervalo fisiológico. Se demuestra que la glucosilceramida sintasa es una enzima reguladora clave con respecto a la sensibilidad a la insulina. Se han observado aumentos en su actividad y se han indicado previamente en respuesta a citocinas inflamatorias (TNF-alfa), hormonas esteroideas, ácido graso saturado e infección vírica. Ahora se ha encontrado sorprendentemente que los cambios en la síntesis de los glucoesfingolípidos tienen un impacto sobre la promoción de la diabetes sacarina tipo II (véase la Figura 4). Este hallazgo de que la lipopatogénesis impacte en la diabetes tipo II demuestra que la inhibición de la actividad de la glucosilceramida sintasa ejerce un efecto anti-hiperglucémico beneficioso.

Nuevo uso de los inhibidores a base de iminoazúcar

Ha llegado a estar claro que las desoxinojirimicinas, una categoría particular de iminoazúcares, son agentes adecuados para reducir la síntesis de los glucoesfingolípidos por la inhibición de la síntesis de glucosilceramida. Además, se ha obtenido considerable experiencia práctica con la seguridad de la administración de iminoazúcar en el hombre.

Se ha registrado recientemente la N-butil-desoxinojirimicina como fármaco para el tratamiento de enfermedad de Gaucher tipo 1. Un estudio clínico, realizado en gran medida en el Centro Médico Académico en colaboración con la Universidad de Cambridge, reveló que el fármaco es tolerado por la mayoría de los pacientes, al menos hasta 5 años. A pesar del hecho de que la síntesis de los glucoesfingolípidos está sólo inhibida muy moderadamente (20-30%) por 100 mg de TID N-butil-desoxinojirimicina, algunos pacientes de Gaucher sin embargo desarrollan serias dolencias intestinales y ocasionalmente neuropatía periférica alarmante. A dosis mayores de N-butil-desoxinojirimicina estos hechos adversos tienen lugar incluso con más frecuencia. Se postula que la deficiente especificidad de la N-butil-desoxinojirimicina con respecto a la inhibición de glucosidasas y glucosiltransferasas contribuye a estos efectos secundarios no deseados. Como se muestra en la Tabla 1, la N-butil-desoxinojirimicina es también un inhibidor muy potente de las glucosidasas intestinales. Se postula que este efecto inhibidor da como resultado al menos parte de las dolencias intestinales de los pacientes. Es un inhibidor de la alfa-glucosidasa y glucocerebrosidasa lisosomales. Se postula que este efecto da como resultado el riesgo asociado de acumulación intralisosomal patológica de glucógeno y glucocerebrósido en lisosomas. A las concentraciones requeridas para GM3 significativamente menor en personas (pre)diabéticas, los efectos adversos tendrán lugar indudablemente cuando se haga uso de N-butil-desoxinojirimicina.

Diseño de inhibidores específicos como agentes terapéuticos para resistencia a la insulina (diabetes sacarina tipo II).

N-(5-adamantano-1-il-metoxi-pentil)desoxinojirimicina (antes denominada también como AMP-DNM) muestra una serie de características atractivas para su uso como agente terapéutico para diabetes sacarina tipo II: el compuesto es muy biodisponible cuando se administra por vía oral, el compuesto es un potente inhibidor de la glucosilceramida sintasa; el compuesto se inerte metabólicamente y no muestra toxicidad celular intrínseca a las dosis previstas durante el tratamiento.

Sin embargo, basándose en observaciones hechas con ensayos de actividad enzimática in vitro y con células cultivadas, parece posible que la administración crónica de N-(5-adamantano-1-il-metoxi-pentil)desoxinojirimicina también pudiera afectar a otras rutas metabólicas. Por ejemplo, la potencial inhibición de glucosidasa lisosomal alfa-glucosidasa y de glucocerebrosidasa lisosomal después de administración a largo plazo de N-(5-adamantano-1-il-metoxi-pentil)desoxinojirimicina no se puede excluir completamente. Esto podría conducir a la acumulación intralisosomal de glucógeno o glucosilceramida, respectivamente. El almacenamiento lisosomal excesivo de glucógeno o glucosilceramida podría dar como resultado patología que se parece a la enfermedad de Pompe y Gaucher, respectivamente. Además, N-(5-adamantano-1-il-metoxi-pentil)desoxinojirimicina es también un inhibidor de la sacarasa intestinal y como tal podría causar complicaciones gastrointestinales. Una inhibición potente de la glucosidasa intestinal conduciría a acumulación de azúcares activos osmóticos en el lumen gastrointestinal y favorecería el crecimiento enterobacteriano, contribuyendo ambos a espasmos y diarrea. Dichas complicaciones afectarían a la adhesión al tratamiento y reducirían la aplicación de N-(5-adamantano-1-il-metoxi-pentil)desoxinojirimicina en la práctica.

Todas estas consideraciones nos conducían a investigar una estructura de iminoazúcar que aún albergue las propiedades deseadas de N-(5-adamantano-1-il-metoxi-pentil)desoxinojirimicina pero carece de sus características desfavorables con respecto a tratamiento crónico de individuos resistentes a la insulina.

Se aplicaron los dos siguientes criterios de selección:

- 5 1. Inhibición reducida de glucosidasas lisosomales : β -glucosidasa y glucocerebrosidasa.

Con respecto a esto se observa que la inhibición de las glucosidasas lisosomales por un iminoazúcar no se desea puesto que sólo puede aumentar el riesgo de almacenamiento intralisosomal patológico de metabolitos, imitando los trastornos de almacenamiento lisosomal.

2. Ausencia de inhibición de glucosidasas intestinales

10 Otra propuesta para intervenir en diabetes sacarina tipo II se basa en tamponar la absorción de sacárido procedente de alimentos en el tubo digestivo por inhibición de las glucosidasas intestinales. Los inhibidores sintéticos de la sacarasa (Acarbosa, N-hidroxietil-desoxinojirimicina) se basan en este concepto y son fármacos antidiabéticos registrados.

15 La N-hidroxietil-desoxinojirimicina es el agente antidiabético más potente de los inhibidores de sacarasa (Campbell L, Baker DE y Campbell RK, Ann Pharmacother 2.000; 34:1.291-1.301). La gran desventaja de los potentes inhibidores sintéticos de la glucosidasa intestinal como N-hidroxietil-desoxinojirimicina y Acarbosa es, sin embargo, que pueden producir dolencias intestinales inevitablemente graves. Los potentes inhibidores de glucosidasa intestinal N-hidroxietil-desoxinojirimicina y Acarbosa no son por lo tanto muy bien tolerados por muchos individuos, dando como resultado una deficiente adhesión al tratamiento y aplicación limitada.

20 Aunque N-hidroxietil-desoxinojirimicina y Acarbosa ejercen efectos beneficiosos, se ha observado que es cuestionable en realidad si esto está relacionado con su capacidad para inhibir las glucosidasas intestinales. Curiosamente, la administración de N-hidroxietil-desoxinojirimicina o Acarbosa da como resultado incluso en la ausencia de alimento rico en carbohidratos la reducción de niveles de glucosa en sangre. Esto es inconsistente con el modo presumido de acción terapéutica de los compuestos. Parece más probable que después de la absorción en el cuerpo la N-hidroxietil-desoxinojirimicina y (metabolitos de) Acarbosa actúen más bien de manera beneficiosa inhibiendo la glucosilceramida sintasa. Esto implica que la inhibición de las glucosidasas intestinales no es un requisito previo para sus efectos terapéuticos sino que sólo conduce a efectos secundarios no deseados.

30 Basándose en los criterios de selección descritos anteriormente, la configuración ido de N-(5-adamantano-1-il-metoxi-pentil)desoxinojirimicina se identificó como un iminoazúcar atractivo para el tratamiento de la resistencia a la insulina (diabetes sacarina tipo II). La Tabla 1 muestra que ido- N-(5-adamantano-1-il-metoxi-pentil)desoxinojirimicina, cuando se compara con una N-(5-adamantano-1-il-metoxi-pentil)desoxinojirimicina, no inhibe la glucocerebrosidasa lisosomal y sólo inhibe deficientemente la actividad de la β -glucosidasa. Además, ido-N-(5-adamantano-1-il-metoxi-pentil)desoxinojirimicina es un inhibidor deficiente de las glucosidasas intestinales. Curiosamente, la ido-N-(5-adamantano-1-il-metoxi-pentil)desoxinojirimicina es aún un potente inhibidor de la glucosilceramida sintasa cuando se ensaya en células cultivadas (véase la Tabla 2).

Tabla 1.

Valor IC50 in vitro (uM) para inhibición de:						
Iminoazúcar	GCsintasa	GlcCer-asa	Alfa-Glu-asa	Sacarasa	Maltasa	Lactasa
N-(5-adamantano-1-il-metoxi-pentil)desoxinojirimicina	15	0,4	0,1	4,5	>25	18
Ido-N-(5-adamantano-1-il-metoxi-pentil)desoxinojirimicina	150	>100	11	>100	>100	>100

Tabla 2.

Valor IC50 in vivo (uM) para inhibición de:		
Iminoazúcar	GCsintasa	GlcCer-asa
N-(5-adamantano-1-il-metoxi-pentil)desoxinojirimicina	0,25	0,8
Ido-N-(5-adamantano-1-il-metoxi-pentil)desoxinojirimicina	2,5	>100

El valor de la *ido*-N-(5-adamantano-1-il-metoxi-pentil)desoxinojirimicina como agente anti-hiperglucémico fue analizado posteriormente en modelos animales exactamente según los procedimientos descritos anteriormente para N-(5-adamantano-1-il-metoxi-pentil)desoxinojirimicina. Para este fin, los animales fueron alimentados a diario con *ido*-N-(5-adamantano-1-il-metoxi-pentil)desoxinojirimicina a diferentes concentraciones. A una dosis de 250 mg de *ido*-N-(5-adamantano-1-il-metoxi-pentil)desoxinojirimicina /kg se observaron efectos beneficiosos similares a 25 mg de N-(5-adamantano-1-il-metoxi-pentil)desoxinojirimicina /kg.

Función de los glucoesfingolípidos en la obesidad

Se ha encontrado que el consumo creciente de grasa animal (rica en palmitato) y azúcares simples (mono- y disacáridos) favorece la sobreproducción de glucoesfingolípidos. Los altos niveles de glucoesfingolípidos inhiben las hormonas implicadas en la homeostasis de la energía, por ejemplo la insulina. Los altos niveles de glucoesfingolípidos refuerzan el desequilibrio entre la absorción y el gasto de energía y favorecen la ganancia constante de peso y co-morbilidades asociadas. Este nuevo conocimiento abre una nueva vía para la intervención terapéutica: el uso de iminoazúcares que puede reducir la sobreproducción de glucoesfingolípidos en los individuos con sobrepeso y obesidad. De acuerdo con esto, los análogos de desoxinojirimicina o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, según la presente invención se pueden usar convenientemente para el tratamiento de sobrepeso y obesidad.

Selección de iminoazúcares alquilados para tratar sobrepeso y obesidad.

Se encontró que en particular *ido*-N-(5-adamantano-1-il-metoxi-pentil)desoxinojirimicina no era un compuesto idealmente adecuado para este fin. Está biodisponible, no muestra toxicidad celular a las dosis previstas y son inhibidores relativamente específicos de la glucosilceramida sintasa. La ventaja de la *ido*-N-(5-adamantano-1-il-metoxi-pentil)desoxinojirimicina es que no produce dolencias gastrointestinales, una complicación causada por la mayoría de los iminoazúcares. La ausencia de tales efectos secundarios mejorará la adhesión al tratamiento.

2. Sobrepeso y obesidad

Por todo el mundo, la prevalencia del sobrepeso y la obesidad ha tomado proporciones epidémicas. En los Países Bajos, como en cualquier otra parte, hay un aumento constante en el número de individuos que padecen sobrepeso y obesidad. Mientras es comparable con la situación en otros países europeos, este aumento es menos pronunciado que en el Reino Unido y Alemania, por ejemplo. Lo más impresionante es la prevalencia aumentada en los Estados Unidos. De promedio, 40% de los adultos holandeses tienen sobrepeso, mientras que 10% de la población adulta es obesa. Se estima que 1 a 1,5% de los adultos padecen obesidad mórbida. En 2.000 en los Estados Unidos, 56% de los adultos tenían sobrepeso, 20 % obesos y 2,3 % obesidad mórbida. Según la definición de la OMS, los adultos se definen como obesos (severamente con sobrepeso) si tienen un IMC de 30 kg/m² o más. Aquellos con un valor de IMC de entre 25 y 30 kg/m² se dice que tienen sobrepeso. El IMC (Índice de Masa Corporal) se define como el peso corporal de un individuo (en kg) dividido por el cuadrado de su peso (en metros).

Una de las primeras consecuencias de la ganancia de peso es la resistencia a la insulina, que perturba la acción normal de la insulina. La resistencia a la insulina desempeña una función clave en el desarrollo del síndrome metabólico. Este síndrome se caracteriza por una serie de anomalías metabólicas asociadas tales como resistencia a la insulina, dislipemia (bajo colesterol en suero HDL, altos triglicéridos en suero, alto colesterol en suero LDL), hipertensión y obesidad abdominal. Estas anomalías a su vez forman la base para el desarrollo de trastornos tales como diabetes sacarina tipo II (diabetes relacionada con la edad) y sus complicaciones. Otros riesgos para la salud que se asocian con el sobrepeso y la obesidad son: enfermedades cardiovasculares, varios tipos de cáncer, enfermedades de la vesícula biliar, artrosis, problemas respiratorios, gota, infertilidad, trastornos menstruales y defectos fetales. Cuanto mayor es el sobrepeso mayor el riesgo de tales comorbilidades. De todos estos riesgos para la salud, la prevalencia aumentada de intolerancia a la glucosa y diabetes sacarina tipo II, es particularmente preocupante. En los Estados Unidos esto está ocurriendo incluso en niños. Estudios recientes revelaron que

aproximadamente el 60% de los niños obesos (5-17 años) mostraron factores de riesgo adicionales para enfermedad cardiovascular. Se observó intolerancia a la glucosa en 25% de 55 niños obesos (4-10 años) y 21% de 112 adolescentes (11-18 años). Además, la obesidad va acompañada con frecuencia de problemas psicológicos y sociales, así como una calidad de vida reducida. La morbilidad asociada a la obesidad (y, en una menor extensión, con el sobrepeso) conduce a numerosos tratamientos (medicinales) y discapacidad laboral adicional, así como costes aumentados para los servicios sanitarios. Se estima que en los Estados Unidos el coste de los servicios sanitarios relacionados directamente con el sobrepeso y la obesidad son 6-7% de total, los costes indirectos se estima que son cuatro veces mayores.

3. Trastornos de almacenamiento lisosomal

Los trastornos heredados caracterizados por acumulación intralosomal de glucoesfingolípidos (gangliosidosis GM1, enfermedad de Sandhoff (gangliosidosis GM2, tipo II o variante O), enfermedad de Tay-Sachs (gangliosidosis GM2, tipo I o variante B), enfermedad de Fabry (a-galactosil-lactosilceramidosis), lactosilceramidosis, enfermedad de Gaucher (glucocerebrosidosis) forman una gran fracción de todos los metabolismos innatos diagnosticados en el Mundo Occidental. Se ha previsto previamente que los pacientes que padecen estas enfermedades se beneficiarían de una reducción de la síntesis de los glucoesfingolípidos que se acumulan. Recientemente, se ha registrado la N-butil-desoxinojirimicina para el tratamiento de la enfermedad de Gaucher tipo 1 mediante la denominada terapia de reducción del sustrato (TRS).

La experiencia clínica con N-butil-desoxinojirimicina ha explicado que la aplicación del compuesto está limitada por las deficientes características de este iminoazúcar. La N-butil-desoxinojirimicina es deficientemente eficaz puesto que sólo está deficientemente biodisponible y es un relativamente deficiente inhibidor de la glucosilceramida sintasa. Por otra parte, la N-butil-desoxinojirimicina produce serios efectos secundarios a dosis mayores debido a su capacidad para inhibir acusadamente las glucosidasas lisosomales e intestinales.

Un derivado de la desoxinojirimicina específico para TRS de glucoesfingolipidosis: ido-N-(5-adamantano-1-il-metoxi-pentil)desoxinojirimicina.

Se ha encontrado que se pueden diseñar iminoazúcares más óptimos para TRS de trastornos de almacenamiento de glucoesfingolípidos. Se seleccionaron los compuestos sobre la base de su potencia para inhibir la glucosilceramida sintasa y su incapacidad para inhibir las actividades de las glucosidasas lisosomales e intestinales. Las Tablas 3 y 4 revelan que ido-N-(5-adamantano-1-il-metoxi-pentil)desoxinojirimicina es una sustancia ideal que muestra características superiores comparado con la N-butil-desoxinojirimicina.

Tabla 3

Valores IC50 in vitro aparentes (uM) para glucosidasas lisosomales					
Iminoazúcar	Hexosaminidasa	A-Galactosidasa	A b-Galactosidasa	Glucocerebrosidasa	a-Glucosidasa
N-butil-desoxinojirimicina	>100	>100	>100	500	0,8
Ido-N-(5-adamantano-1-il-metoxi-pentil)desoxinojirimicina	>100	>100	>100	>100	11

Se midieron las actividades enzimáticas con sustratos 4-MU apropiados usando enzimas purificadas de bazo. Se determinaron los valores IC50 por valoración de la cantidad de iminoazúcar requerida para inhibición del 50% de actividad enzimática.

Tabla 4

Valor IC50 in vivo para glucosilceramida sintasa	
N-butil-desoxinojirimicina	35
Ido-N-(5-adamantano-1-il-metoxi-pentil)desoxinojirimicina	2,5

Se determinó la actividad de la glucosilceramida sintasa in vivo según el procedimiento descrito en J. Biol. Chem, 273, 26.522-27 (1.998). En pocas palabras, se midió la actividad de la glucosilceramida sintasa por exposición de las células a C6-NBD-ceramida fluorescente complejada con albúmina. La conversión de C6-NBD-ceramida a C6-NBD-glucosilceramida se analizó siguiendo la recogida de células, extracción de lípidos y cromatografía de capa fina cuantitativa.

4. Enfermedades inflamatorias

La inflamación va acompañada por destrucción de tejido local y se asocia a síntomas clínicos. La inflamación crónica es un proceso perjudicial particular. Dicho tipo de inflamación se conduce con frecuencia por macrófagos activados crónicamente. Se usan diversos agentes farmacológicos para tratar la inflamación y la inflamación crónica. Sin embargo, estos agentes no son óptimamente eficaces o ejercen serios efectos secundarios. Hay una necesidad de mejorar los agentes antiinflamatorios basándose en un modo de acción distinto.

Función de los glucoesfingolípidos en la inflamación

Ahora se ha encontrado que la inflamación, especialmente la inflamación crónica, se asocia a la sobreproducción de glucoesfingolípidos y que esta sobreproducción fuerza el estado inflamatorio de los macrófagos y así fomenta la cascada de inflamación de tejido. Los niveles aumentados de glucoesfingolípidos activan los macrófagos de dos maneras. En primer lugar, la degradación excesiva de la glucosilceramida por la glucosilceramidasa no lisosomal da como resultado la formación de ceramida que actúa como molécula de señalización. Por otra parte, parte de la ceramida es metabolizada a diacilglicerol que estimula la PKC (por sus siglas en inglés). La producción de ceramida y diacilglicerol favorecen las dos la activación constante de los macrófagos. En segundo lugar, la síntesis aumentada de glucoesfingolípidos durante la inflamación cambia la composición de los glucoesfingolípidos de las balsas en la superficie celular. Esto afecta al comportamiento celular normal y fomenta los procedimientos inflamatorios.

Una nueva clase de agentes antiinflamatorios

Los hallazgos anteriores nos permitieron imaginar que los iminoazúcares deberían ser útiles agentes antiinflamatorios que actuarían por un nuevo modo de acción. Basándose en las características deseadas se seleccionó ido-N-(5-adamantano-1-il-metoxi-pentil)desoxinojirimicina como agente anti-inflamatorio idealmente adecuado. Este compuesto está biodisponible, no muestra toxicidad celular a las dosis previstas y es bien tolerado. El compuesto es un potente inhibidor de la glucosilceramidasa y la glucosilceramidasa sintasa no lisosomales, ambas actividades enzimáticas que contribuyen a la importancia y naturaleza crónica de la inflamación. De acuerdo con esto, los análogos de desoxinojirimicina o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se pueden usar adecuadamente para el tratamiento de enfermedades inflamatorias.

5. Hiperpigmentación y pigmentación en condiciones inflamatorias de la piel.

Los seres humanos producen dos tipos de pigmento melanina: el tipo pardo/negro o eumelanina y el tipo ámbar /rojo, o feomelanina. Eumelanina es principalmente responsable del color observado en la piel, pelo y ojos. La síntesis de melanina tiene lugar en compartimentos específicos de células especializadas, los melanosomas de melanocitos. El pigmento es transferido posteriormente a los queratinocitos en la piel.

La pigmentación normalmente aumenta con la edad y se puede ver alterada por defectos genéticos o por enfermedades adquiridas. En algunos casos, esto significa un aumento en la pigmentación (hiperpigmentación); en algunos casos, significa menos color (hipopigmentación). Tienen lugar varios tipos de hiperpigmentación: 1, pecas ; 2, hiperpigmentación relacionada con embarazo; 3, hiperpigmentación debida a deficiencias enzimáticas; 4, hiperpigmentación relacionada con enfermedad (post-inflamatoria). Las pecas son áreas donde los melanocitos (células que fabrican pigmentos) son más activos y responden a radiación UV que en piel próxima. La pigmentación aumentada observada en el embarazo es debida a la influencia de estrógenos, progesterona y hormona estimuladora de melanocitos. La hiperpigmentación relacionada con las hormonas, tal como la que ocurre en el embarazo, también puede aparecer como una afección denominada la máscara del embarazo o melasma. Esto es una afección en la que aparecen manchas de pigmentación en el rostro y en áreas expuestas al sol. El melasma es perjudicial. El pigmento observado en el melasma desaparece en su mayoría en varios meses de suministro. Los individuos con una deficiencia en la enzima hepática que metaboliza los carotenos pueden desarrollar un color de la piel amarillo/naranja con el consumo de grandes cantidades de zanahorias, pimientos u otras verduras amarillas/naranjas. La hiperpigmentación post-inflamatoria (PIH, por sus siglas en inglés) es un problema encontrado frecuentemente y representa la secuela de varios trastornos cutáneos así como intervenciones terapéuticas. Este exceso adquirido de pigmento se puede atribuir a varios procesos de enfermedad precedentes que afectan a la piel; estos procedimientos incluyen infecciones, reacciones alérgicas, lesiones mecánicas, reacciones a medicamentos, erupciones fototóxicas, traumatismo (por ejemplo, quemaduras) y enfermedades inflamatorias (por ejemplo, liquen plano, lupus eritematoso, dermatitis atópica, psoriasis y sarcoidosis).

Hiperpigmentación post-inflamatoria

La PIH se produce por 1 de 2 mecanismos que dan como resultado melanosos epidérmica o melanosos dérmica. La respuesta inflamatoria epidérmica (es decir, dermatitis) da como resultado la liberación y posterior oxidación de ácido araquidónico a prostaglandinas, leucotrienos y otros productos. Estos productos de inflamación alteran la actividad de tanto las células inmunitarias como los melanocitos. Específicamente, estos productos inflamatorios estimulan los melanocitos epidérmicos, haciendo que aumenten la síntesis de melanina y con posterioridad aumenten la transferencia de pigmento a los queratinocitos próximos. Dicha estimulación y transferencia aumentada de gránulos de melanina da como resultado hipermelanosos epidérmica. Por el contrario, la melanosos dérmica ocurre cuando se perturba la inflamación de la capa de células basal, haciendo que el pigmento melanina se libere y sea atrapado con posterioridad por macrófagos en la dermis papilar, también denominada como incontinencia pigmentaria.

La PIH es una respuesta universal de la piel, pero es más común en piel más oscura, pigmentada. La distribución de las lesiones hipermelanóticas depende de la localización de la dermatosis inflamatoria original. El color de las lesiones oscila de pardo claro a negro, con un aspecto pardo más claro si el pigmento está dentro de la epidermis (es decir, melanosos epidérmica) y un aspecto gris más oscuro si las lesiones contienen melanina dérmica (es decir, melanosos dérmica). La PIH puede ocurrir con varios procedimientos de enfermedad que afecten a la piel. Estos procedimientos incluyen reacciones alérgicas, infecciones, traumatismo y erupciones fototóxicas. Las enfermedades inflamatorias comunes que dan como resultado PIH incluyen acné, liquen planus, lupus eritematoso sistémico, dermatitis crónica y linfoma de células T cutáneo, especialmente variantes eritodérmicas, psoriasis y sarcoidosis).

Tratamiento de hiperpigmentación y afecciones inflamatorias de la piel con análogos de desoxinojirimicina.

La función de los glucoesfingolípidos en la inflamación ha sido discutida extensamente en la sección previa. Curiosamente, un requerimiento absoluto para la producción de melanina en los melanocitos es la presencia de glucoesfingolípidos como glucosilceramida. Las estirpes celulares de melanoma negativo de glucoesfingolípidos que carecen de actividad de la glucosilceramida sintasa difieren de sus células parenterales con síntesis normal de glucoesfingolípidos por la carencia de melanina. La adición de glucoesfingolípidos o transinfección con ADNc de glucosilceramida sintasa restablece la producción de melanina, indicando que la síntesis de glucosilceramida (y/u otros glucoesfingolípidos) es esencial para la producción de melanina en el melanosoma. La producción de glucoesfingolípidos tales como glucosilceramida parece requerida para la clasificación apropiada de tirosinasa para los melanosomas.

Se ha encontrado ahora que la sobreproducción de glucoesfingolípidos es un factor clave en los procesos inflamatorios en la piel y así puede producir intrínsecamente la sobreproducción de melanina (hiperpigmentación). Postulamos que la sobreproducción de glucoesfingolípidos (como resultado de afecciones inflamatorias locales) produce la síntesis de melanina local aumentada (véase el esquema a continuación). Los inhibidores de la síntesis de glucoesfingolípidos, tales como los análogos de desoxinojirimicina, según la presente invención, pueden reducir la producción excesiva de melanina e hiperpigmentación asociada. Por lo tanto, los análogos de desoxinojirimicina o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, según la presente invención pueden usarse convenientemente para el tratamiento de hiperpigmentación y afecciones inflamatorias de la piel. Hasta ahora las propuestas para interferir en la producción de melanina han perseguido otros objetivos en el procedimiento de melanogénesis que la síntesis de glucoesfingolípidos. Muchos agentes despigmentantes actúan como sustratos alternativos de la tirosinasa inhibiendo así la primera etapa enzimática en la síntesis de melanina la conversión de tirosina en dopaquinona, conduciendo al polímero de melanina. Aunque normalmente se reduce o elimina la hiperpigmentación bastante eficazmente, puede causar también ocronosis (moteado negro en la dermis) en pacientes con pieles más oscuras. Por otra parte, las hidroquinonas han sido prohibidas en partes de Europa y por todo Asia debido a la creencia de que concentraciones mayores son carcinogénicas.

Análogos de desoxinojirimicina específicos para el tratamiento de hiperpigmentación y procesos inflamatorios de la piel.

Se diseñaron iminoazúcares que albergan características óptimas para uso en la piel. La ceramida y la glucosilceramida son componentes estructurales importantes de la capa córnea y regulan la permeabilidad del agua de la piel. Se sabe que las glucosilceramidas junto con otros lípidos polares son segregadas en el espacio extracelular de la capa córnea por cuerpos laminares y se tratan con posterioridad a ceramidas. La glucocerebrosidasa lisosomal desempeña una función en este procedimiento como se sugiere por el hecho de que una completa deficiencia en esta enzima va acompañada por la función barrera epidérmica acusadamente alterada. Los iminoazúcares deberían no interferir con la generación crucial de ceramida a partir de glucosilceramida catalizada por glucocerebrosidasa lisosomal. Dado este prerrequisito, se encontró que el iminoazúcar ido-N-(5-adamantano-1-il-metoxi-pentil)desoxinojirimicina era un compuesto ideal (Tabla 5). La ido-N-(5-adamantano-1-il-metoxi-pentil)desoxinojirimicina es capaz de inhibir la actividad de la glucosilceramida sintasa y reducir la producción de melanina en los melanocitos humanos.

Tabla 5

Valores IC50 (uM) en células de melanoma			
Iminoazúcar	GC sintasa	GCasa no lisosomal	GCasa lisosomal
N-butyl-desoxinojirimicina	35	0,5	>100
Nonil-DNM	0,8	0,003	2,0
ido-N-(5-adamantano-1-il-metoxi-pentil)desoxinojirimicina	2,5	0,003	>100

Se analizaron varios iminoazúcares con respecto a la capacidad para inhibir la glucosilceramida sintasa, glucosilceramida no lisosomal y glucocerebrosidasa lisosomal en células de melanoma cultivadas. Se desea la inhibición de las dos primeras actividades enzimáticas mientras no se desea la inhibición de la última actividad. Se determinó la actividad de la glucocerebrosidasa in vivo, actividad de la glucosilceramidasa no lisosomal y actividad de la glucosilceramida sintasa según el procedimiento descrito en J. Biol. Chem, 273, 26.522-27 (1.998). En pocas palabras, se midió la actividad de la glucocerebrosidasa in vivo y glucosilceramidasa no lisosomal por exposición de las células a C6-NBD-glucosilceramida fluorescente complejada con albúmina. La degradación sensible e insensible de conduritol-B-epóxido de C6-NBD-glucosilceramida a C6-NBD-ceramida se analizó siguiendo a la recogida de células, extracción de lípidos y cromatografía de capa fina cuantitativa. La actividad que se inhibe por conduritol-B-epóxido se puede atribuir a glucocerebrosidasa y el resto a la glucosilceramidasa no lisosomal. Se midió la actividad de la glucosilceramida sintasa in vivo por exposición de las células a C6-NBD-ceramida fluorescente complejada con albúmina. Se analizó la conversión de C6-NBD-ceramida en C6-NBD-glucosilceramida después de recoger las células, extracción de lípidos y cromatografía de capa fina cuantitativa.

La inhibición de la síntesis de glucoesfingolípidos con ido-N-(5-adamantano-1-il-metoxi-pentil)desoxinojirimicina en el cultivo de MEB4 da como resultado la pérdida de pigmentación. Los dos cultivos de melanoma, uno pigmentado oscuro (An) y el otro pigmentado muy claro (M14) mostraron un contenido claramente mayor de glucosilceramida (GlcCer) en el cultivo pigmentado de manera más oscura tanto en el extracto de células totales como en una fracción del melanosoma.

En el caso de los melanocitos dentro de un pase de cultivo único se encontró una disminución significativa en pigmentación con células del tipo de piel más claro y más oscuro en la exposición a ido-N-(5-adamantano-1-il-metoxi-pentil)desoxinojirimicina. La aplicación farmacéutica de los análogos de desoxinojirimicina según la invención y será en hiperpigmentación post-inflamatoria y en afecciones inflamatorias de la piel. Hay una fuerte evidencia de que cuando se administran de manera sistémica estos análogos de desoxinojirimicina presentan fuerte actividad antiinflamatoria in vivo. Muestran características farmacológicas atractivas (buena biodisponibilidad, ausencia de metabolismo, no efectos toxicológicos adversos en 2 semanas de dosificación en animales). Ido-N-(5-adamantano-1-il-metoxi-pentil)desoxinojirimicina es particularmente adecuado para aplicación a la piel puesto que no inhibe o inhibe apenas la glucocerebrosidasa lisosomal, una actividad enzimática clave para la integridad de la piel.

30 **6. Melanoma y otros tumores.**

Las células tumorales contienen gangliósidos en su superficie y los desprenden activamente tras lo cual son absorbidos por otras células. Se ha indicado que los gangliósidos tumorales presentan actividad inmunosupresora, propiedades proangiogénicas y estimulan los fibroblastos medianos por factor de crecimiento y la proliferación de células endoteliales vasculares. La expresión aumentada de los gangliósidos se ha asociado a formación mejorada del tumor y progreso acelerado. La inhibición de biosíntesis de gangliósidos puede impedir la progresión del tumor y/o disminuir la metástasis. Se demostró que un inhibidor de iminoazúcar de glucosilceramida sintasa (OGT2378) ejercía una inhibición acusada de crecimiento de tumores de melanoma en un modelo de ratón.

Análogos de desoxinojirimicina para tratamiento de melanoma y otros tumores

40 Ahora se ha encontrado que los iminoazúcares que son inhibidores potentes y específicos de glucosilceramida sintasa así como glucosilceramida no lisosomal pueden reducir el crecimiento de tumores y/o la metástasis. La inhibición concomitante de ambas actividades enzimáticas se requieren para una eficacia óptima. Los análogos de desoxinojirimicina de acuerdo con la presente invención albergan todas las características deseadas incluyendo una buena biodisponibilidad, ausencia de metabolismo y toxicidad. Por lo tanto, los análogos de desoxinojirimicina o

sales farmacéuticas de los mismos, según la presente invención pueden ser usados convenientemente para el tratamiento de melanoma y otros tumores.

Datos experimentales

- 5 Se analizaron varios iminoazúcares con respecto a la capacidad para inhibir la glucosilceramida sintasa, glucosilceramida no lisosomal y glucocerebrosidasa lisosomal en células del melanoma cultivadas. La inhibición de las dos primeras actividades enzimáticas es deseada mientras que no lo es la inhibición de la última actividad.

Tabla 6

Valores IC50 (uM) en células de melanoma			
Iminoazúcar	GC sintasa	GCasa no lisosomal	GCasa lisosomal
N-butyl-desoxinojirimicina	35	0,5	>100
Nonil-DNM	0,8	0,003	2,0
ido-N-(5-adamantano-1 -il- metoxi- pentil)desoxinojirimicina	2,5	0,003	>100

- 10 Se determinó la actividad de la glucocerebrosidasa in vivo, la actividad de la glucosilceramidasa no lisosomal y la actividad de la glucosilceramida sintasa según el procedimiento descrito en J. Biol. Chem, 273, 26.522-27 (1.998). En pocas palabras, se midió la actividad de la glucocerebrosidasa in vivo y glucosilceramidasa no lisosomal por exposición de las células a C6-NBD-glucosilceramida fluorescente complejada con albúmina. Se analizó la degradación sensible e insensible de conductitol-B-epóxido de C6-NBD-glucosilceramida a C6-NBD-ceramida después de la recogida de células, extracción de lípidos y cromatografía de capa fina cuantitativa. La actividad que se inhibe por conductitol-B-epóxido se puede atribuir a glucocerebrosidasa y el resto a la glucosilceramidasa no lisosomal. Se midió la actividad de la glucosilceramida sintasa in vivo por exposición de las células a C6-NBD-ceramida fluorescente complejada con albúmina. Se analizó la conversión de C6-NBD-ceramida en C6-NBD-glucosilceramida después de recoger las células, extracción de lípidos y cromatografía de capa fina cuantitativa.

Modelo en animales para vigilar la eficacia de los análogos de desoxinojirimicina seleccionados.

- 20 Se puede administrar Ido-N-(5-adamantano-1-il-metoxi-pentil)desoxinojirimicina por vía oral en la comida en polvo. Se puede hacer uso de ratones C57BL/6 inyectados por vía intradérmica con células MEB4, sublínea de células de melanoma de murina B16 (Riken Cell Bank, Saitama, Japón). Se puede examinar en los ratones la formación de tumores y el tamaño tres veces a la semana. Se puede medir el tamaño del tumor en tres dimensiones usando calibradores y se puede estimar el volumen del tumor usando la fórmula $a \times b \times c / 2$ (Weiss et al. 2.003. Cancer Research 63, 3.654-8).

7. Enfermedades fúngicas

- 30 Recientemente ha llegado a ser evidente que los hongos patógenos poseen una enzima homóloga a la glucosilceramida sintasa humana. Las glucosilceramidas son producidas de manera selectiva durante el crecimiento de la hifa y se concentran en la membrana celular adyacente a la punta de crecimiento. La inhibición del crecimiento de hifa se ha observado después de exposición de hongos para un análogo de ceramida que es conocido que inhibe la actividad de la glucosilceramida sintasa.

- 35 Ahora se ha encontrado que los iminoazúcares hidrófobos seleccionados cuidadosamente son inhibidores más potentes y bien tolerados de la glucosilceramida sintasa. La selección de un iminoazúcar que interfiere específicamente con la actividad de la glucosilceramida sintasa fúngica y sólo afecta deficientemente a la glucosilceramida ceramida sintasa humana endógena se puede emplear para combatir las infecciones fúngicas peligrosas para la vida. Dichas infecciones constituyen un problema creciente en la clínica. Los iminoazúcares seleccionados podían ser usados junto con quitotriosidasa, una quitinasa que ataca la pared celular en la punta de crecimiento de la hifa fúngica. De acuerdo con esto, los análogos de desoxinojirimicina o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, según la presente invención pueden ser usados convenientemente para el tratamiento de enfermedades fúngicas.

8. Infecciones víricas

Se han investigado los iminoazúcares como agentes para tratamiento de infecciones víricas. Se han realizado

estudios con N-butildesoxinojirimicina para tratar la infección con VIH, el agente que causa el SIDA. El SIDA afecta a varios cientos de millones de individuos en el mundo. La infectividad vírica y la formación de sincitio se observó in vitro. Los estudios clínicos de fase II con N-butildesoxinojirimicina como agente anti-VIH no dio un resultado alentador. A las concentraciones en suero requeridas tuvieron lugar efectos secundarios principales. El virus de la hepatitis B (HBC) infecta a más de 350 millones de personas en el mundo y puede causar enfermedad hepática y carcinoma hepatocelular. En marmotas infectadas de manera crónica con virus de la hepatitis de la marmota, un modelo de animales estrechamente relacionado de infección de HBV, el tratamiento con nonildesoxinojirimicina se encontró que prevenía la secreción de virus infecciosos con cubierta. En el mundo, más de 100 millones de personas están infectadas de manera crónica con el virus de la hepatitis C (HCV). En ausencia de una vacuna esto representa una de las amenazas más serias para la salud pública de los países desarrollados. Con una estimación de 3.9 millones de norteamericanos infectados de manera crónica, la hepatitis C es ahora la razón principal para trasplante de hígado en los Estados Unidos. Causa aproximadamente 8.000 muertes anuales en los Estados Unidos, una cifra que se espera que sea el triple en los próximos 20 años en ausencia de intervención eficaz.

El iminoazúcar N-nonildesoxinojirimicina ha demostrado actividad antivírica en virus de diarrea vírica bovina, un modelo sustituto in vitro de hepatitis C.

Se cree que la α -glucosidasas ER son responsables de la eliminación escalonada de restos de glucosa terminales de cadenas de N-glucano unidas a glucoproteínas nacientes. Esto permite que las glucoproteínas interactúen con las chaperonas ER calnexina y calreticulina, que se unen exclusivamente a las glucoproteínas monoglucosiladas. La interacción con calnexina es crucial para el correcto plegamiento de algunas pero no todas las glucoproteínas y los inhibidores de las glucosidasas se pueden usar para fijar como objetivo de manera específica proteínas que dependen de ello. La actividad antivírica de las desoxinojirimicinas se piensa que se basa en la inhibición de α -glucosidasas ER conduciría a la alteración del plegamiento apropiado y transporte de las glucoproteínas víricas con cubierta y evitaría la secreción de virus infeccioso con cubierta.

Se postula, sin embargo que la actividad antivírica observada de los iminoazúcares no se basa en la inhibición de α -glucosidasas ER sino más bien en la inhibición de la síntesis de la glucosilceramida y sus metabolitos de glucoesfingolípidos. Las balsas ricas en glucoesfingolípidos en la superficie de la célula huésped es probable que sean de importancia clave en la fusión y ligitación de los virus. La manipulación de la composición de los glucoesfingolípidos superficiales afectará a estos procedimientos.

Este nuevo conocimiento hace un nuevo razonamiento para la selección de los iminoazúcares para el tratamiento de infecciones víricas. Los compuestos tienen que ser seleccionados principalmente en el criterio de que son potentes inhibidores de la actividad de la glucosilceramida sintasa. Además, los compuestos deberían ser biodisponibles y ser bien tolerados. Los análogos de desoxinojirimicina según la presente invención, en particular ido-N-(5-adamantano-1-il-metoxi-pentil)desoxinojirimicina. Por lo tanto, los análogos de desoxinojirimicina o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, según la presente invención pueden ser usados convenientemente para el tratamiento de virus que satisfacen estos criterios.

9. Infecciones microbianas e infecciones mucosales de endotoxinas

Los sitios fijados como objetivo patógenos mucosales de infección por adherencia específica a receptores de glucoconjugados huésped. Como consecuencia el agotamiento de tales receptores de la superficie celular se puede esperar que inhiba la unión, debilite la colonización bacteriana y reduzca la activación de la inflamación de la mucosa. Los inhibidores de la síntesis de glucoesfingolípidos se pueden usar para agotar los receptores. N-butildesoxinojirimicina trató ratones redujo por supuesto la susceptibilidad a infección del tracto urinario experimental con *E. coli* fimbrias P (Svensson et al. *Mol. Microbiol.* 2.003; 47-453-61). La respuesta inflamatoria de la mucosa estuvo debilitada, como se muestra por la secreción de quimiocina reducida y reclutamiento de neutrófilos disminuido y las bacterias colonizadas del tracto urinario menos eficazmente que en ratones normales. Las especies *E. coli* que producen infecciones del tracto urinario (UTI, por sus siglas en inglés) presentan típicamente fimbria con un receptor terminal para el antígeno "P". El antígeno P es un marcador de grupo que se encuentra también en la superficie de las células que revisten el perineon y el tracto urinario. Aproximadamente 75% de la población expresa el antígeno P, y estos individuos son particularmente susceptibles de UTI. El antígeno P también se encuentra en secreciones vaginales y prostáticas: estos antígenos P secretados son protectores por que se unen al receptor bacteriano, evitando la unión del organismo al epitelio superficial. Los individuos más susceptibles de UTI son aquéllos que expresan antígeno P en sus células y carecen de antígeno P en sus secreciones.

Otro ejemplo forma *Helicobacter pylori* que produce inflamación gástrica diseminada compleja. Se ha encontrado ahora por lo tanto que los glucoesfingolípidos son también cruciales para su adhesión firme a la mucosa. El agotamiento de los glucoesfingolípidos gástricos por los apropiados iminoazúcares podía tener gran uso terapéutico.

55 Endotoxinas

Ahora se ha encontrado además que los receptores de glucolípidos no sólo pueden actuar como la interfase

5 primaria entre bacterias y su huésped sino que también sirven como objetivo para factores de virulencia bacteriana tales como las endotoxinas. El gangliósido GM1 puede actuar como un receptor para las subunidades B de varias toxinas AB5 como la toxina del Cólera (CTX, por sus siglas en inglés) o la toxina II termoestable de *Escherichia coli* mientras el globotriaósido Gb3 es un receptor para la toxina AB5-toxina Shiga (TS) y algunas toxinas relacionadas como Verotoxina. La prevención de la unión de endotoxina es de gran importancia clínica. Por ejemplo, la verotoxinas están implicadas en la fijación como objetivo del endotelio en las microangiopatías de colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico (HUS, por sus siglas en inglés). Los inhibidores de la síntesis de glucoesfingolípidos se podían emplear para intervenir en la patología mediada por endotoxina.

10 **Análogos de desoxinojirimicina para el tratamiento de infecciones bacterianas mucosales y prevención de patología mediada por endotoxinas.**

15 Los nuevos conocimientos anteriores hacen un razonamiento para la selección de los iminoazúcares para el tratamiento de infecciones víricas. Los compuestos se tienen que seleccionar principalmente sobre el criterio de que son potentes inhibidores de la actividad de la glucosilceramida sintasa. Por otra parte, los compuestos deberían ser biodisponibles y ser bien tolerados. Los presentes análogos de la desoxinojirimicina, en particular Ido-N-(5-adamantano-1-il-metoxi-pentil)desoxinojirimicina satisfacen estos criterios. Por lo tanto, los análogos de desoxinojirimicina o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, según la presente invención, se pueden usar convenientemente para el tratamiento de infecciones bacterianas mucosales y la prevención de patología mediada por endotoxina.

Leyendas de las figuras

20 Figura 1. Diseño de entidades hidrófobas adecuadas

Figura 2. Síntesis de análogo 4 de desoxinojirimicina.

Figura 3. Síntesis de desoxinojirimicina 7.

Figura 4. Síntesis de análogos 17, 18 y 19 de desoxinojirimicina.

Figura 5. Síntesis de análogos 28, 29 y 30 de desoxinojirimicina.

25

Referencias

1. Kolter T, Proia RL and Sandhoff K. 2002. *J. Biol.Chem.* 277, 25859-62. Combinatorial ganglioside biosynthesis.
2. Wertz PW & van den Bergh B. 1998. *Chem. Phys. Lipids* 91, 85-96. The physical, chemical and functional properties of lipids in the skin and other biological barriers.
3. Simons K & van Meer G. 1988. *Biochemistry* 27, 6197-6202. Lipid sorting in epithelial cells.
4. Brown DA & London E. 1998. *J. Membr. Biol.* 164, 103-114. Structure and origin of ordered lipid domains in biological membranes.
5. Hakomori S. 1981. *A.Rev.Biochem.* 50, 733-764. Glycosphingolipids in cellular interaction.
6. Huwiler A, Kolter T, Pfeilschifter J & Sandhoff K 2000. *Biochim.Biophys.Acta* 1485, 63-99. Physiology and pathophysiology of sphingolipid metabolism and signaling.
7. Hannun YA & Obeid LM. 1995. *Trends Biochem.Sci.*20, 73-77. Ceramide: an intracellular signal for apoptosis.
8. Kolesnick R & Kronke M. 1988. *Annu.Rev.Physiol.*60, 643-665. Regulation of ceramide production and apoptosis.

9. van Blitterswijk WJ, van der Luit AH, Veldman RJ, Verheij M, & Borst J. 2003. *Biochem J.* 2003 Jan 15;369(Pt 2):199-211. Ceramide: second messenger or modulator of membrane structure and dynamics?
10. Merrill AH. 2002. *J. Biol. Chem.* 277, 25843-25846. De novo sphingolipid biosynthesis: a necessary, but dangerous, pathway.
11. Sandhoff K & Kolter T. 2003. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 358(1433):847-61. Biosynthesis and degradation of mammalian glycosphingolipids.
12. Van Weely S, Brandsma M, Strijland A, Tager JM & Aerts JMFG. 1993. *Biochim. Biophys. Acta* 1181,55-62. The existence of a non-lysosomal glucocerebrosidase that is not deficient in Gaucher disease.
13. Aerts JM, Hollak C, Boot R, & Groener A. 2003. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 358(1433):905-14. Biochemistry of glycosphingolipid storage disorders: implications for therapeutic intervention.
14. Barranger JA & Ginns EI. 1989. Glycosylceramide lipidosis: Gaucher disease. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D (eds) *The metabolic basis of inherited disease.* McGraw-Hill, New York, p 1677-1698
15. Beutler E & Grabowski GA. 1995. Gaucher's disease. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D (eds) *The metabolic and molecular bases of inherited disease.* McGraw-Hill, New York, p 2641-2670
16. Brady RO, Kanfer JN, Bradley RM & Shapiro D. 1966. Demonstration of a deficiency of glucocerebrosidase-cleaving enzyme in Gaucher's disease. *J Clin Invest* 45, 1112-1115

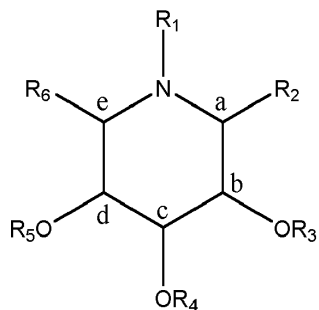
17. Patrick AD. 1965. A deficiency of glucocerebrosidase in Gaucher's disease. *Biochem J* 97, 17c-18c
18. Van Weely S, van den Berg M, Barranger JA, Sa Miranda MC, Tager JM & Aerts JMFG. 1993. Role of pH in determining the cell-type specific residual activity of glucocerebrosidase in type 1 Gaucher disease. *J Clin Invest* 91, 1167-1175
19. Aerts JM, van Weely S, Boot R, Hollak CE & Tager JM. 1993. Pathogenesis of lysosomal storage disorders as illustrated by Gaucher disease. *J Inherit Met Dis* 16, 288-291
20. Cox TM, & Schofield JP. 1997. Gaucher's disease: clinical features and natural history *Baillieres Clin.Hematol.*10, 657-689
21. Aerts JMFG & Hollak CEM. 1997. Plasma and metabolic abnormalities in Gaucher's disease. *Baillieres Clin Haematol* 10, 691-709
22. Cox TM .2001. Gaucher disease: understanding the molecular pathogenesis of sphingolipidoses. *J Inherit Met Dis* 24 (suppl 2), 106-121
23. Moran MT, Schofield JP, Hayman AR, Shi G-P, Young E & Cox TM. 2000. Pathologic gene expression in Gaucher disease: upregulation of cysteine proteinases including osteoclastic cathepsin K. *Blood* 96, 1969-1978
24. Brady RO.1997. Gaucher's disease: past, present and future. *Baillieres Clin Haematol* 10, 621-634
25. Barranger JA, & O'Rourke E. 2001. Lessons learned from the development of enzyme therapy for Gaucher disease *J Inherit Met Dis* 24 (suppl 2), 89-96

26. Hollak CEM, Aerts JMFG, Goudsmit ER, Phoa SS, Ek M, van Weely S, von dem Borne AE & van Oers MH. 1995. Individualised low-dose alglucerase therapy for type 1 Gaucher's disease. *Lancet* 345, 1474-1478
27. Richter J & Karlsson S. 2001. Clinical gene therapy in hematology: past and future. *Int. J Hematol* 73, 162-169
28. Radin NS. 1996. Treatment of Gaucher disease with an enzyme inhibitor. *Glycoconj J* 13, 153-157
29. Platt FM, Jeyakumar M, Andersson U, Priestman DA, Dwek RA, Butters TD, Cox TM, Lachmann RH, Hollak CEM, Aerts JMFG, Hrebicek M, Moyses C, Gow I, Elstein D & Zimran A. 2001. *J. Inher. Met. Dis.* 24, 275-290. Inhibition of substrate synthesis as a strategy for glycolipid lysosomal storage disease therapy.
30. Lee L, Abe A & Shayman JA. 1999. *J Biol Chem* 274, 146662-146665
Improved inhibitors of glucosylceramide synthase.
31. Abe A, Gregory S, Lee L, Killen PD, Brady RO, Kulkarni A & Shayman JA. 2000. Reduction of globotriaosylceramide in Fabry disease mice by substrate deprivation. *J Clin Invest* 105, 1563-1567
32. Platt FM, Neises GR, Dwek RA & Butters TD. 1994. N-butyl-deoxynojirimycin is a novel inhibitor of glycolipid biosynthesis. *J Biol Chem* 269, 8362-8365
33. Jeyakumar M, Butters TD, Cortina-Borja M, Hunnam V, Proia RL, Perry VH, Dwek RA & Platt FM. 1999. Delayed symptom onset and increased life expectancy in Sandhoff mice treated with N-butyl-deoxynojirimycin. *Proc Natl Acad Sci USA* 96, 6388-6393

34. Andersson U, Butters TD, Dwek RA & Platt FM. 2000. N-butyldeoxygalactonojirimycin: a more selective inhibitor of glycosphingolipid biosynthesis than N-butyldeoxynojirimycin, in vitro and in vivo. *Biochem Pharmacol* 49, 821-829
35. Overkleeft HS, Renkema GH, Neele J, Vianello P, Hung IO, Strijland A, van den Burg A, Koomen, GJ, Pandit UK & Aerts J. 1998. Generation of specific deoxynojirimycin-type inhibitors of the non-lysosomal glucosylceramidase. *J Biol Chem* 273, 26522-26527
36. Cox T, Lachmann R, Hollak C, Aerts J, van Weely S, Hrebicek M, Platt F, Butters T, Dwek R, Moyses C, Gow I, Elstein D & Zimran A. 2000. *Lancet*. 355(9214):1481-5. Novel oral treatment of Gaucher's disease with N-butyldeoxynojirimycin (OGT 918) to decrease substrate biosynthesis.
37. Heitner R, Elstein D, Aerts J, Weely S & Zimran A. 2002. Low-Dose N-Butyldeoxynojirimycin (OGT 918) for Type I Gaucher Disease. *Blood Cells Mol Dis* 28, 127-33
38. Fischl MA, Resnick L, Coombs R, Kremer AB, Pottage JC Jr, Fass RJ, Fife KH, Powderly WG, Collier AC, Aspinall RL, et al. The safety and efficacy of combination N-butyl-deoxynojirimycin (SC-48334) and zidovudine in patients with HIV-1 infection and 200-500 CD4 cells/mm³. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 1994 Feb;7(2):139-47.
39. Goss PE, Reid CL, Bailey D & Dennis JW. 1997. Phase 1B clinical trial of the oligosaccharide processing inhibitor swainsonine in patients with advanced malignancies.

REIVINDICACIONES

1. Análogo de desoxinójirimicina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que tiene la estructura que tiene la estructura (I) general:



(I)

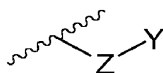
en la que

R₁, R₃, R₄ y R₅ comprenden cada uno independientemente H o (CH₂)_nCH₃ o X;

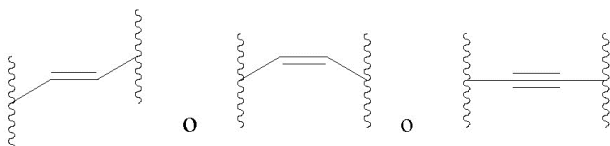
n es 0-9;

a, b, c, d, e son centros quirales que tienen una configuración R o S;

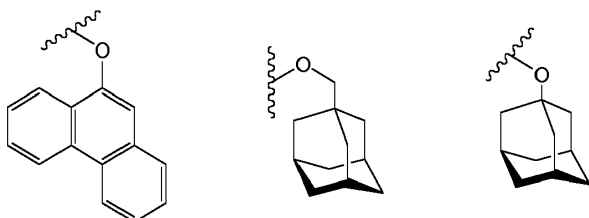
y comprendiendo dicho análogo de desoxinójirimicina al menos una entidad X, representada por:

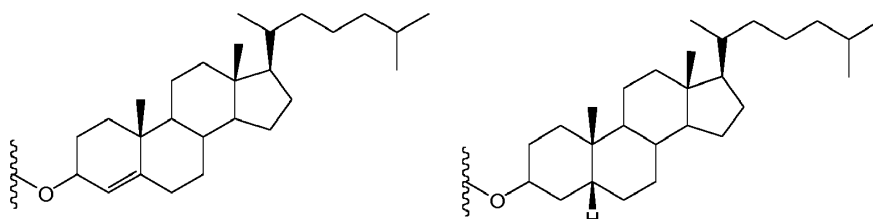


que comprende un resto hidrófobo grande Y y un espaciador Z, según lo cual el resto hidrófobo grande está ligado por el espaciador al átomo de nitrógeno o átomo de carbono relacionado y en el que el espaciador Z está representado por (CH₂)_o, [(CH₂)_pP(CH₂)_q], en la que 0 = 0-9, p = 0-9, q = 0-9, P = CH₂ o CH₂SCH₂ o CH₂OCH₂ o



y el resto Y hidrófobo grande se selecciona de:





y siendo dicho análogo de desoxinojirimicina seleccionado del grupo que consiste en:

piperidinas en las que $R_2 = (CH_2)_nCH_3$ o X, $R_6 = CH_2OH$ o CH_2OX y

a = S, b = S, c = R, d = R, e = S beta-L-idopiranosido imitación,

5 a = R, b = S, c = R, d = R, e = S alfa-L-idopiranosido imitación,

piperidinas en las que $R_2 = H$, $R_6 = CH_2OH$ o CH_2OX y

b = S, c = R, d = R, e = S L-1-desoxiidopiranosido imitación.

10 2. Análogo de desoxinojirimicina, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según la reivindicación 1, en el que el resto hidrófobo grande está ligado a dicho átomo de nitrógeno de la desoxinojirimicina mediante un espaciador que comprende un alcoxi polialquileno o cadena de polialquileno de 3 a 8 átomos de carbono.

3. Análogo de desoxinojirimicina según la reivindicación 1, que comprende ido-N-(5-adamantano-1-il-metoxipentil)desoxinojirimicina, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15 4. Análogo de desoxinojirimicina según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, para uso en el tratamiento de una enfermedad que implica niveles aumentados de glucosilceramida y glucoesfingolípidos.

5. Análogo de desoxinojirimicina según una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, para uso en el tratamiento de una enfermedad que implica niveles aumentados de glucosilceramida, glucoesfingolípidos y glucosidasas.

6. Análogo de desoxinojirimicina según la reivindicación 4, para uso en el tratamiento de enfermedad de Gaucher.

20 7. Análogo de desoxinojirimicina según la reivindicación 4, para uso en el tratamiento de una enfermedad inflamatoria.

8. Análogo de desoxinojirimicina según la reivindicación 4, para uso en el tratamiento de hiperpigmentación y/o afecciones cutáneas inflamatorias.

9. Análogo de desoxinojirimicina según la reivindicación 4, para uso en el tratamiento de una enfermedad fúngica.

10. Análogo de desoxinojirimicina según la reivindicación 4, para uso en el tratamiento de sobrepeso y obesidad.

25 11. Análogo de desoxinojirimicina según la reivindicación 4, para uso en el tratamiento de trastornos de almacenamiento lisosomal.

12. Análogo de desoxinojirimicina según la reivindicación 4, para uso en el tratamiento de melanoma y otros tumores.

30 13. Análogo de desoxinojirimicina según la reivindicación 4, para uso en el tratamiento de una infección microbacteriana.

14. Análogo de desoxinojirimicina según la reivindicación 5, para uso en el tratamiento de resistencia a la insulina.

15. Composición farmacéutica que comprende un análogo de desoxinojirimicina, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3 y un portador farmacéuticamente aceptable.

35

Fig 1

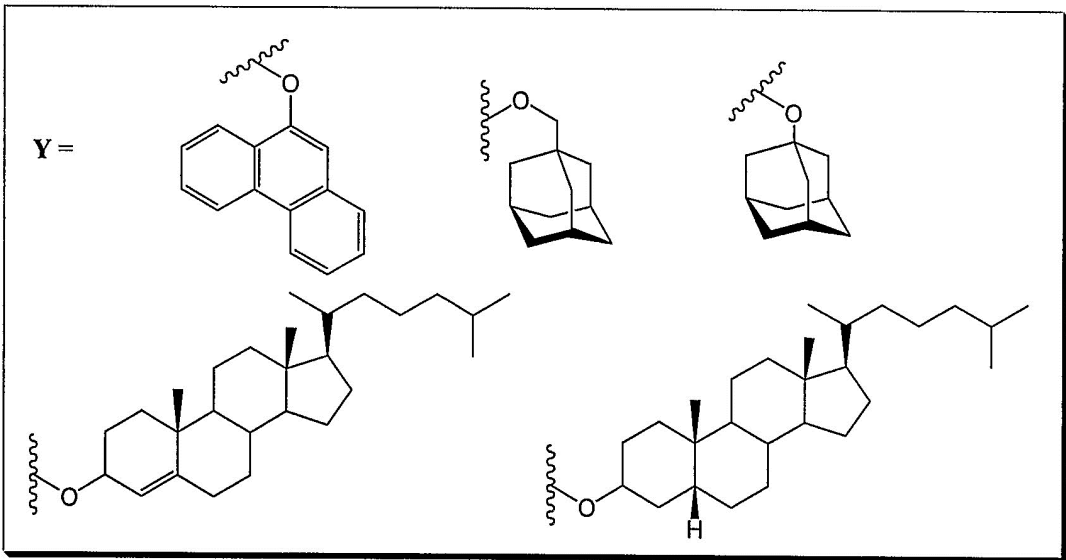
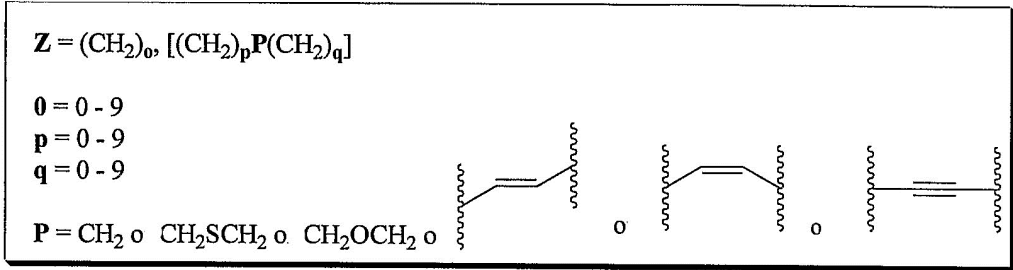
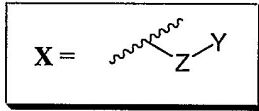


Fig 2

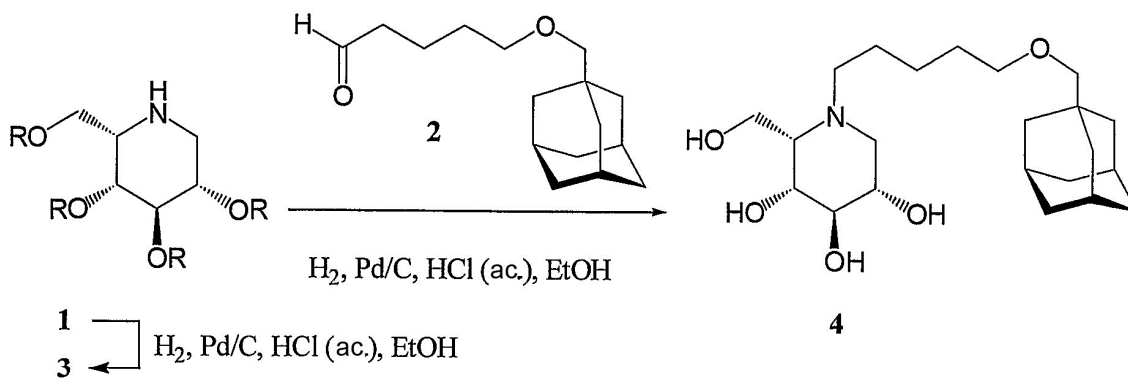


Fig 3

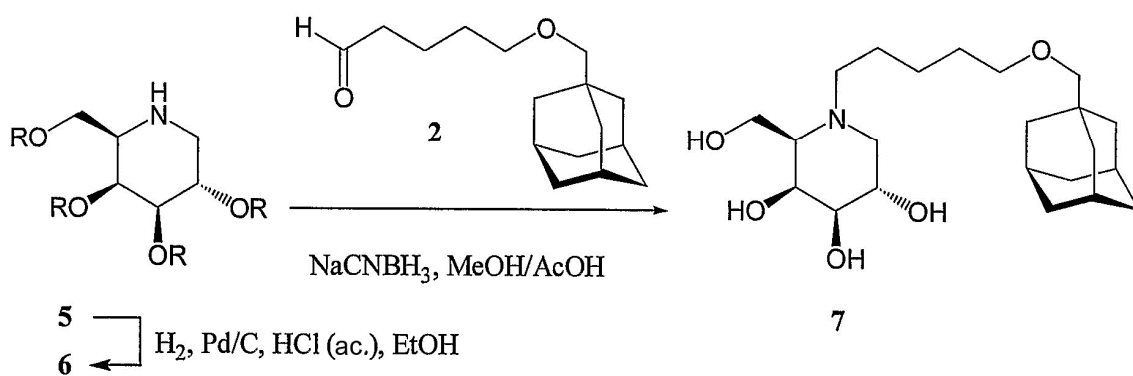


Fig 4

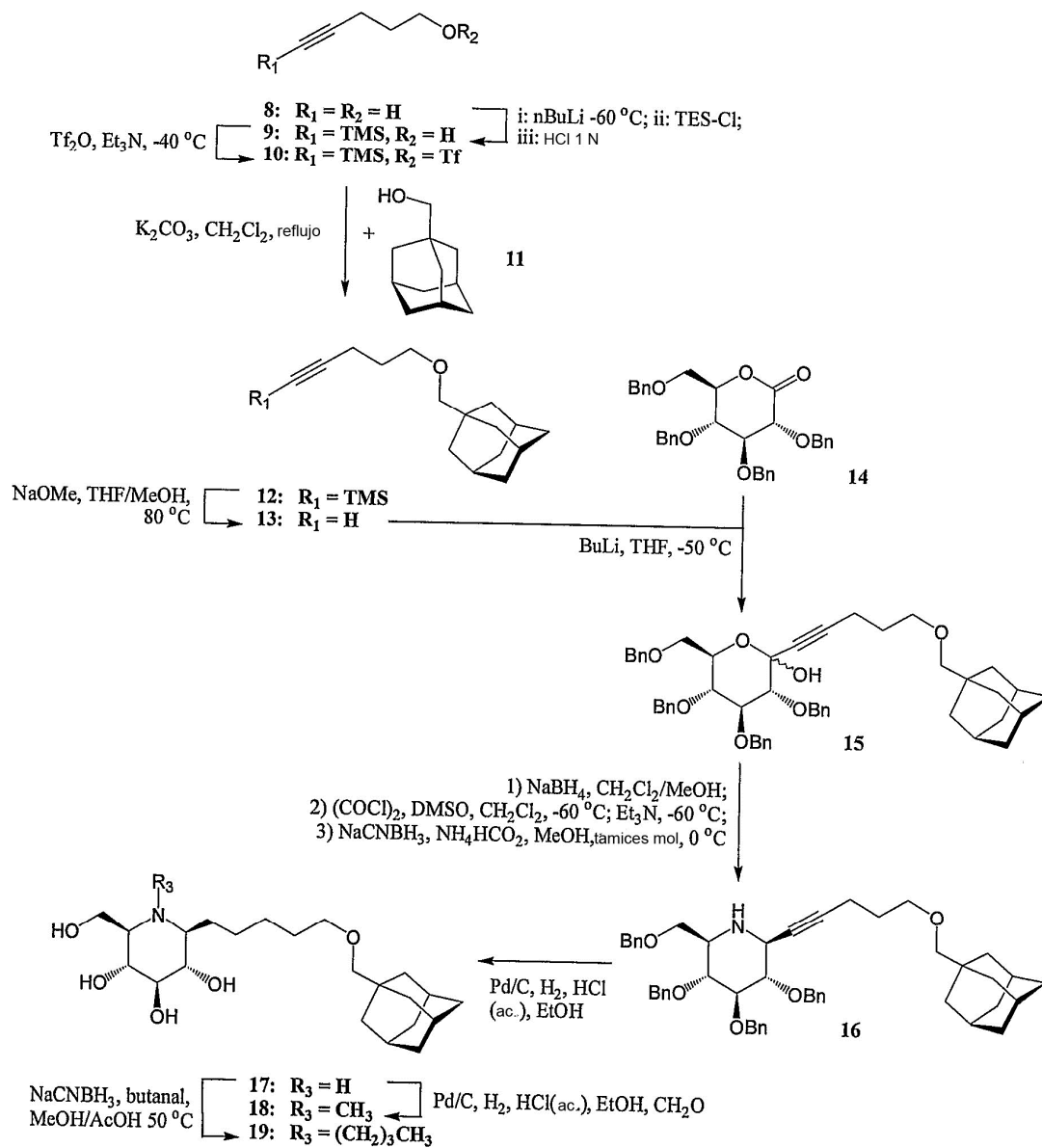


Fig 5

