

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 651 929**

51 Int. Cl.:

C07H 15/22 (2006.01)

A61K 31/7056 (2006.01)

A61K 31/7072 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.09.2006 E 10011660 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.11.2017 EP 2264043**

54 Título: **Inhibidores de pan-selectina heterobifuncionales**

30 Prioridad:

02.09.2005 US 713994 P

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

30.01.2018

73 Titular/es:

**GLYCOMIMETICS, INC. (100.0%)
9708 Medical Center Drive
Rockville, MD 20850, US**

72 Inventor/es:

**MAGNANI, JOHN L.;
PATTON, JOHN T.;
SARKAR, ARUN K.;
SVAROVSKY, SERGEI A. y
ERNST, BEAT**

74 Agente/Representante:

MILTENYI, Peter

ES 2 651 929 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

Inhibidores de pan-selectina heterobifuncionales

Antecedentes de la invención**Campo de la invención**

5 La presente invención se refiere en general a compuestos, composiciones y métodos para modular procesos mediados por la unión de selectina, y más particularmente a moduladores de selectina y a su uso, en el que los moduladores de selectina que modulan una función mediada por selectina comprenden glicomiméticos particulares solos o unidos a un miembro de una clase de compuestos denominados BASA (ácidos bencil-aminosulfónicos) o un miembro de una clase de compuestos denominados BACA (ácidos bencil-aminocarboxílicos).

10 Descripción de la técnica relacionada

Cuando un tejido está infectado o dañado, el proceso inflamatorio dirige leucocitos y otros componentes del sistema inmunitario al sitio de infección o lesión. Dentro de este proceso, los leucocitos desempeñan un papel importante en la ingestión y digestión de microorganismos. Por tanto, el reclutamiento de leucocitos al tejido dañado o infectado es crítico para montar una defensa inmunitaria eficaz.

15 Las selectinas son un grupo de receptores de superficie celular estructuralmente similares que son importantes para mediar la unión de los leucocitos a las células endoteliales. Estas proteínas son proteínas de membrana de tipo 1 y están compuestas por un dominio de lectina amino terminal, un dominio similar al factor de crecimiento epidérmico (EGF), un número variable de repeticiones relacionadas con el receptor del complemento, una región que abarca el dominio hidrófobo y un dominio citoplásmico. Las interacciones de unión parecen estar mediadas por el contacto del dominio de lectina de las selectinas y diversos ligandos de hidrato de carbono.

Hay tres selectinas conocidas: E-selectina, P-selectina y L-selectina. La E-selectina se encuentra en la superficie de las células endoteliales activadas, que recubre la pared interior de los capilares. La E-selectina se une al hidrato de carbono sialil-Lewis^x (SLe^x), que se presenta como una glicoproteína o glicolípido en la superficie de determinados leucocitos (monocitos y neutrófilos) y ayuda a estas células a adherirse a las paredes capilares en áreas en las que el tejido circundante está infectado o dañado; y la E-selectina también se une a sialil-Lewis^a (SLe^a), que se expresa en muchas células tumorales. La P-selectina se expresa en endotelio inflamado y plaquetas, y también reconoce SLe^x y SLe^a, pero también contiene un segundo sitio que interacciona con la tirosina sulfatada. La expresión de la E-selectina y la P-selectina se aumenta generalmente cuando el tejido adyacente a un capilar está infectado o dañado. La L-selectina se expresa en leucocitos. La adhesión intercelular mediada por selectina es un ejemplo de una función mediada por selectina.

Los moduladores de la función mediada por selectina incluyen la proteína PSGL-1 (y fragmentos de péptidos menores), fucoidano, glicirizina (y derivados), anticuerpos anti-selectina, derivados de lactosa sulfatada y heparina. Todos han mostrado que son inadecuados para el desarrollo de fármacos debido a actividad insuficiente, toxicidad, falta de especificidad, malas características de ADME y/o disponibilidad de material.

35 Aunque se requiere la adhesión celular mediada por selectina para combatir la infección y destruir el material foráneo, hay situaciones en que tal adhesión celular es inadecuada o excesiva, dando como resultado daño tisular en lugar de reparación. Por ejemplo, muchas patologías (tales como enfermedades autoinmunitarias e inflamatorias, choque y lesiones por reperfusión) implican la adhesión anómala de glóbulos blancos. Tal adhesión celular anómala también puede desempeñar un papel en el rechazo de injerto y trasplante. Además, algunas células cancerosas circulantes parecen aprovechar del mecanismo inflamatorio para unirse al endotelio activado. En tales circunstancias, puede ser deseable la modulación de la adhesión intercelular mediada por selectina.

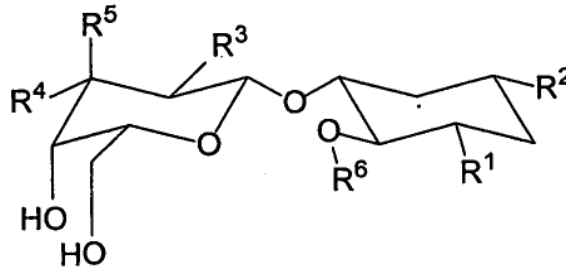
Bänteli *et al* helvetica chimica acta, 83 (2000), 2893-2907 dan a conocer posibles antagonistas de E-selectina.

Por consiguiente, hay una necesidad en la técnica de identificar inhibidores de la función mediada por selectina, por ejemplo, de la adhesión celular dependiente de selectina, y para el desarrollo de métodos *in vitro* que emplean tales compuestos para inhibir estados asociados con la actividad de selectina excesiva. La presente invención cumple estas necesidades y proporciona además otras ventajas relacionadas.

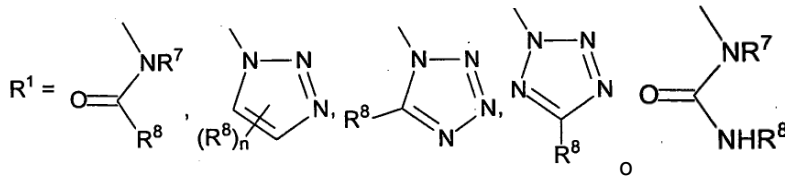
Breve resumen de la invención

En pocas palabras, esta invención proporciona compuestos, composiciones y métodos *in vitro* para modular procesos mediados por selectina. En la presente invención, los compuestos que modulan (por ejemplo, inhiben o potencian) una función mediada por selectina comprenden un glicomimético particular solo o unido a un BASA o un BACA. Tales compuestos pueden combinarse con un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable para formar una composición farmacéutica. Los compuestos o composiciones pueden usarse en un método para modular (por ejemplo, inhibir o potenciar) una función mediada por selectina, tal como inhibir una adhesión intercelular mediada por selectina.

En un aspecto de la presente invención, se proporcionan compuestos que tienen la fórmula:

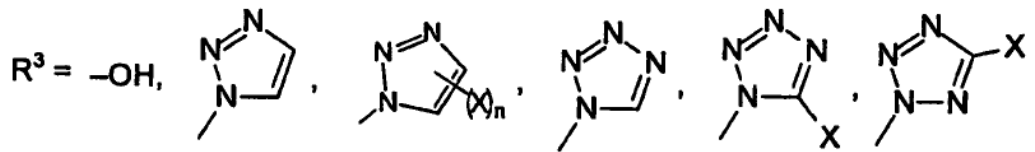


en la que:

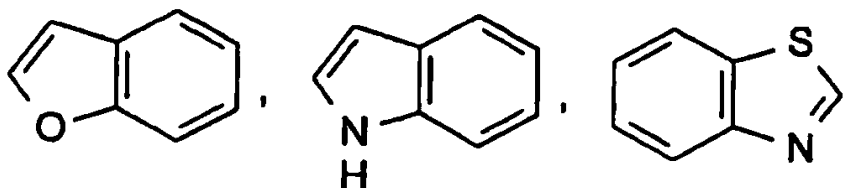
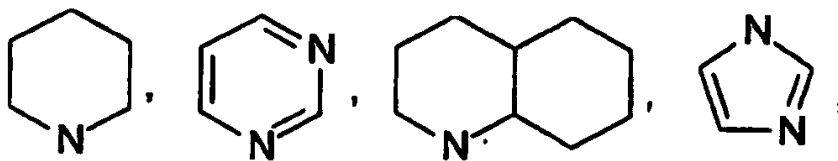
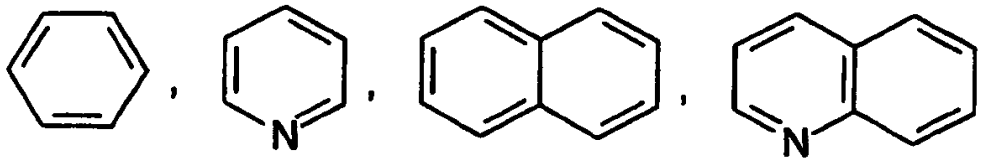


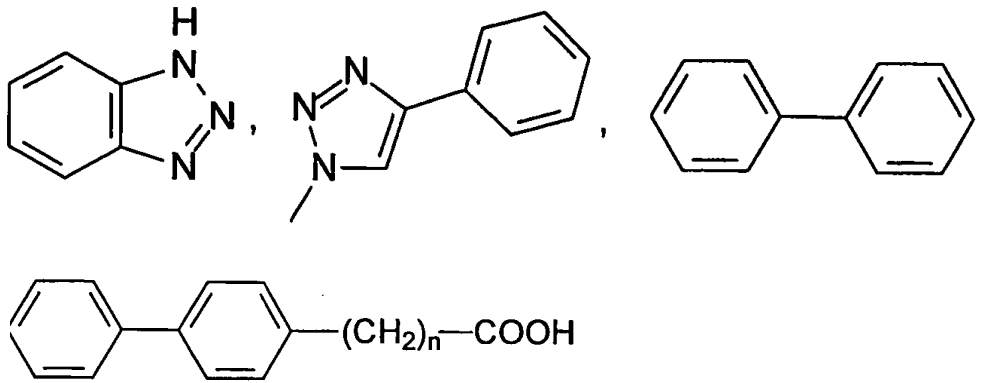
5 en las que $n=0-2$, y R^8 se selecciona independientemente en las que $n=2$;

$R^2 = -[C(=O)NH(CH_2)_nNHC(=O)]_m(L)_mZ$, en la que $n=0-30$, $m=0-1$, L es un grupo de unión y Z es un ácido bencil-aminosulfónico, un ácido bencil-aminocarboxílico, un polietilenglicol,



10 $-O-C(=O)-X$, $-NH_2$, $-NH-C(=O)-NHX$ o $-NH-C(=O)-X$ en las que $n=0-2$ y X se selecciona independientemente de alcanilo C_1-C_8 , alquenilo C_2-C_8 , alquinilo C_2-C_8 ,



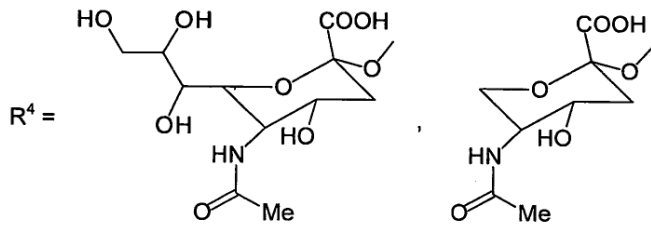


y

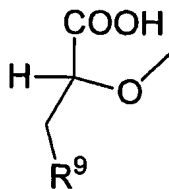
en las que n= 0-10

y cualquiera de los compuestos de anillo anteriores puede estar sustituido con de uno a tres seleccionados independientemente de Cl, F, alcanilo C₁-C₈, alqueno C₂-C₈, alquino C₆-C₈, arilo C₆-C₁₄, u OY en la que Y es H, alcanilo C₁-C₈, alqueno C₂-C₈, alquino C₂-C₈ o arilo C₆-C₁₄;

5



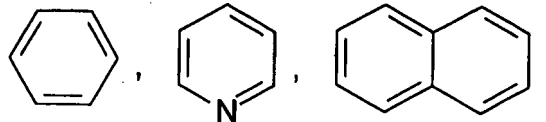
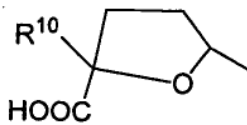
GlcNAc 6' sulfatada, GlcNAc 6' carboxilada, GalNAc 6' sulfatada, galactosa 6' sulfatada, galactosa 6' carboxilada o



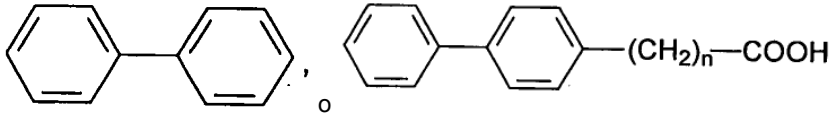
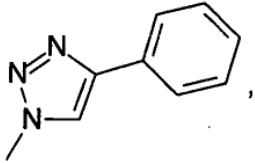
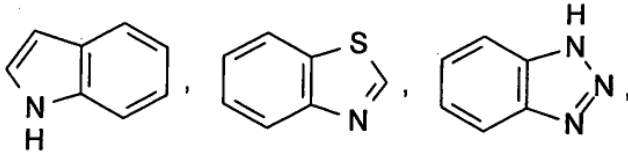
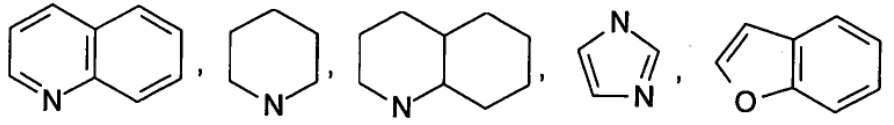
en la que R⁹ es arilo, heteroarilo, ciclohexano, t-butano, adamantano o triazol, y cualquiera de R⁹ puede estar sustituido con de uno a tres seleccionados independientemente de Cl, F, alcanilo C₁-C₈, alqueno C₂-C₈, alquino C₂-C₈ u OY en la que Y es H, alcanilo C₁-C₈, alqueno C₂-C₈, alquino C₂-C₈ o arilo C₆-C₁₄;

10

R⁵ =H, o R⁴ y R⁵ se toman juntos para formar



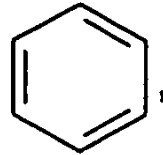
en la que R¹⁰ es arilo, heteroarilo,



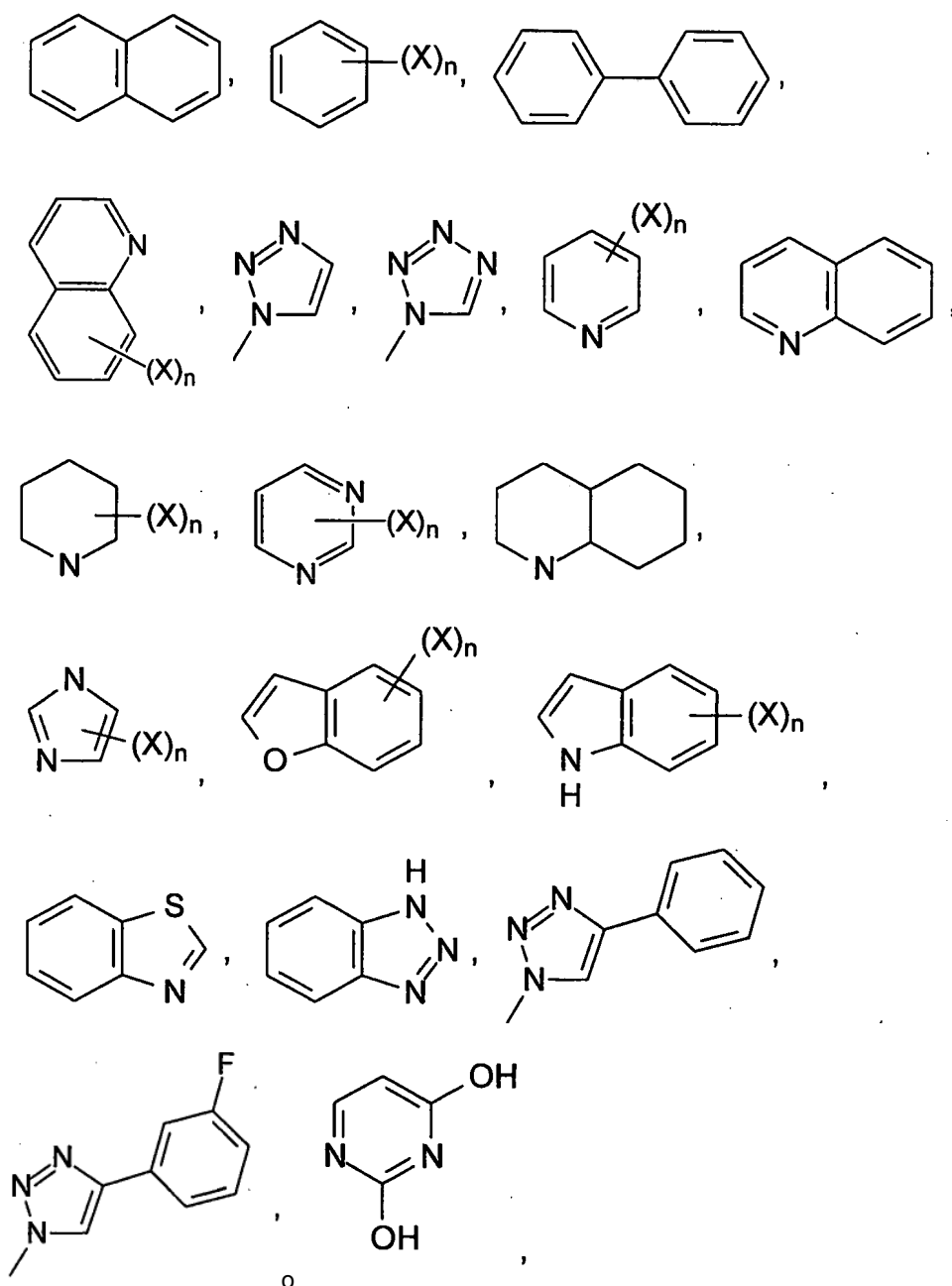
5 en las que $n=0-10$ y uno cualquiera de los compuestos de anillo anteriores puede estar sustituido con de uno a tres seleccionados independientemente de Cl, F, alcanilo C_1-C_8 , alquenilo C_2-C_8 , alquinilo C_2-C_8 u OY en la que Y es H, alcanilo C_1-C_8 , alquenilo C_2-C_8 o alquinilo C_2-C_8 ;

$R^6 = H$, fucosa, manosa, arabinosa, galactosa o polioles;

$R^7 = H$, alcanilo C_1-C_8 , alquenilo C_2-C_8 , alquinilo C_2-C_8 o $-COR_8$; y



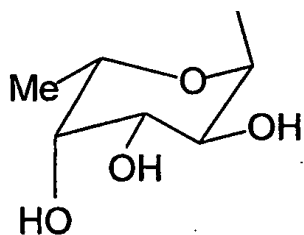
$R^8 = H$, alcanilo C_1-C_8 , alquenilo C_2-C_8 , alquinilo C_2-C_8 ,



5 en las que $n=0-3$ y X se selecciona independientemente de H, OH, Cl, F, N_3 , NH_2 , alcanilo C_1-C_8 , alqueno C_2-C_8 , alquino C_2-C_8 , arilo C_6-C_{14} , O-alcanilo C_1-C_8 , O-alqueno C_2-C_8 , O-alquino C_2-C_8 y O-arilo C_6-C_{14} , y cualquiera de los compuestos de anillo anteriores puede estar sustituido con de uno a tres seleccionados independientemente de Cl, F, alcanilo C_1-C_8 , alqueno C_2-C_8 , alquino C_2-C_8 , arilo C_6-C_{14} u OY en la que Y es H, alcanilo C_1-C_8 , alqueno C_2-C_8 , alquino C_2-C_8 o arilo C_6-C_{14} .

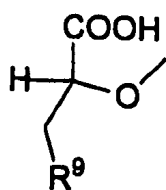
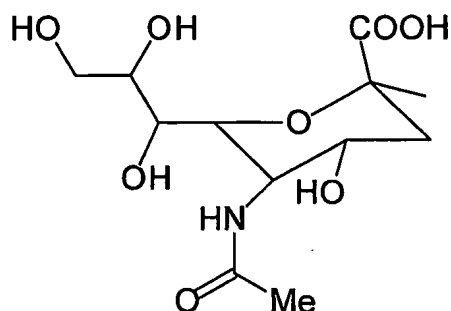
10 Un compuesto de la presente invención incluye sales fisiológicamente aceptables del mismo. Un compuesto de la presente invención en combinación con un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable proporciona una composición de la presente invención. En las fórmulas químicas en el presente documento, una línea que se extiende desde un átomo representado o un carbono relacionado con la intersección de las dos otras líneas, representa el punto de unión (y no representa un grupo metilo).

En una realización de la presente invención, R^6 es fucosa:



En una realización, R⁷ es H.

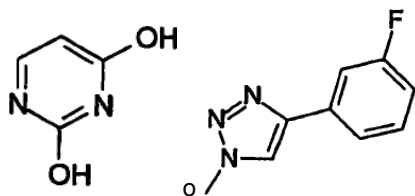
En una realización, R⁴ es



5 En una realización, R⁴ es en la que R⁹ se define como para la fórmula general anterior.

En una realización, R⁹ es ciclohexano.

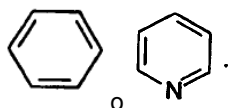
En una realización, R⁶ es galactosa.



En una realización, R⁸ es

Z es un ácido bencil-aminosulfónico, un ácido bencil-aminocarboxílico o un polietilenglicol.

10 En una realización, R³ es -O-C(=O)-X, en la que X se define como para la fórmula general anterior.



En una realización, X es

En una realización, R⁵ es H.

En una realización, L es un polietilenglicol o un tiadiazol.

15 En una realización, un compuesto comprende un compuesto según la presente invención, que comprende además un agente terapéutico o de diagnóstico. Un compuesto de ese tipo puede combinarse con un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable para formar una realización de una composición de la presente invención.

En otro aspecto de la presente invención, se proporcionan métodos *in vitro* para usar un compuesto o composición de la presente invención para modular una función mediada por selectina. Un compuesto o composición de ese tipo puede usarse, por ejemplo, para inhibir o potenciar una función mediada por selectina, tal como interacciones

intercelulares mediadas por selectina. Un compuesto o composición puede usarse en un método para poner en contacto una célula que expresa una selectina en una cantidad eficaz para modular la función de la selectina. Un compuesto o composición puede usarse en un método para administrar a un paciente, que necesita inhibir el desarrollo de un estado asociado con una función mediada por selectina excesiva (tal como una adhesión intercelular mediada por selectina excesiva), en una cantidad eficaz para inhibir el desarrollo de un estado de ese tipo. Los ejemplos de tales estados incluyen enfermedades inflamatorias, enfermedades autoinmunitarias, infección, cáncer, choque, trombosis, heridas, quemaduras, lesión por reperusión, enfermedades mediadas por plaquetas, lesión pulmonar mediada por leucocitos, daño de la médula espinal, trastornos de la membrana mucosa del tubo digestivo, osteoporosis, artritis, asma y reacciones alérgicas. Un compuesto o composición puede usarse en un método para administrar a un paciente que es el receptor de un tejido trasplantado en una cantidad eficaz para inhibir el rechazo del tejido trasplantado. Un compuesto o composición puede usarse en un método en una cantidad eficaz para dirigir un agente (por ejemplo, un agente terapéutico o de diagnóstico) a una célula que expresa selectina poniendo en contacto una célula de ese tipo con el agente unido al compuesto o composición. Un compuesto o composición puede usarse en la fabricación de un medicamento, por ejemplo para cualquiera de los usos citados anteriormente.

Estos y otros aspectos de la presente invención resultarán evidentes haciendo referencia a la siguiente descripción detallada y a los dibujos adjuntos.

Breve descripción de los dibujos

- Las figuras 1A y 1B son diagramas que ilustran las síntesis de BASA.
- La figura 2 es un diagrama que ilustra la síntesis de un BACA.
- La figura 3 es un diagrama que ilustra la síntesis de un glicomimético (XIX).
- La figura 4 es un diagrama que ilustra la síntesis de un glicomimético (XXVIII).
- La figura 5 es un diagrama que ilustra la síntesis de un glicomimético PEGilado (XXX).
- La figura 6 es un diagrama que ilustra la síntesis de un glicomimético PEGilado (XXXI).
- Las figuras 7A, 7B y 7C son diagramas que ilustran las síntesis de BASA PEGilados (XXXII y XXXIII) y BACA PEGilados (XXXVI y XXXVIa).
- Las figuras 8A, 8B y 8C son diagramas que ilustran las síntesis de glicomimético-BASA (figuras 8A y 8C) y glicomimético-BACA (figura 8B).
- Las figuras 9A, 9B y 9C son diagramas que ilustran las síntesis de glicomimético-BASA (figuras 9A y 9C) y glicomimético-BACA (figura 9B).
- La figura 10 es un diagrama que ilustra la síntesis de un glicomimético.
- La figura 11 es un diagrama que ilustra la síntesis de un glicomimético.
- La figura 12 es un diagrama que ilustra la síntesis de un glicomimético.
- La figura 13 es un diagrama que ilustra la síntesis de un glicomimético-BASA.
- La figura 14 es un diagrama que ilustra la síntesis de un glicomimético-BASA.
- La figura 15 es un diagrama que ilustra la síntesis de un glicomimético-BASA.
- La figura 16 es un diagrama que ilustra la síntesis de glicomiméticos.
- Las figuras 17A y 17B muestran una comparación de la actividad de inhibidores de glicomiméticos en ensayos de unión para E-selectinas (figura 17A) y P-selectinas (figura 17B) *in vitro*. A y B son glicomimético-BASA distintos de la presente invención. C es el glicomimético-BASA de la figura 8C.
- La figura 18 muestra el efecto del glicomimético-BASA de la figura 8C sobre la migración de neutrófilos. A es un vehículo sólo y E es un control positivo (anticuerpos mezclados). B, C y D son el glicomimético-BASA de la figura 8C a una dosis de 5 mg/kg, 10 mg/kg y 20 mg/kg, respectivamente.
- La figura 19 muestra una comparación de los efectos de inhibidores de glicomiméticos sobre la migración de neutrófilos en un modelo de bolsa de aire murino. A es IL-1 β +vehículo. B es IL-1 β +el glicomimético-BASA de la figura 13. C es IL-1 β +el glicomimético-BASA de la figura 8C. D es IL-1 β +anticuerpos mezclados (control positivo). *P<0,05 frente a A (grupo de vehículo).

Descripción detallada de la invención

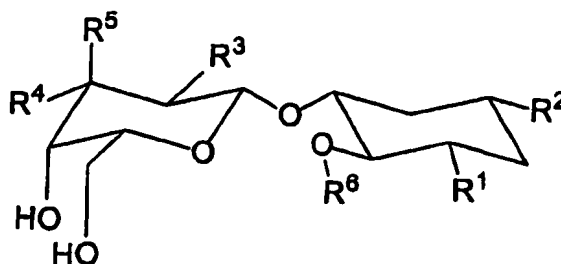
Tal como se observó anteriormente, la presente invención proporciona moduladores de selectina, composiciones de los mismos y métodos *in vitro* para modular funciones mediadas por selectina. Tales moduladores pueden usarse *in vitro* o *in vivo*, para modular (por ejemplo, inhibir o potenciar) funciones mediadas por selectina en una variedad de contextos, comentados en detalle adicional a continuación. Los ejemplos de funciones mediadas por selectina incluyen adhesión intercelular y la formación de nuevos capilares durante la angiogénesis.

Moduladores de selectina

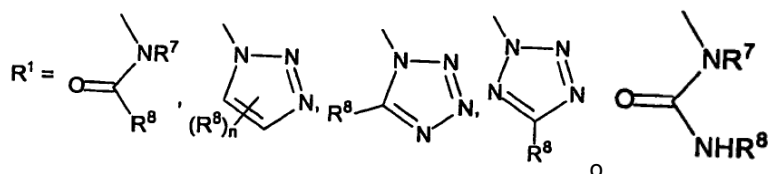
El término “modulador de selectina,” tal como se usa en el presente documento, se refiere a una(s) molécula(s) que modula(n) (por ejemplo, inhibe(n) o potencia(n)) una función mediada por selectina, tal como interacciones intercelulares mediadas por selectina. Un modulador de selectina puede consistir totalmente en un compuesto glicomimético de la presente invención, o puede consistir en un glicomimético de ese tipo unido a un BASA (ácido bencil-aminosulfónico) o un BACA (ácido bencil-aminocarboxílico), o puede comprender uno o más componentes moleculares adicionales a cualquiera de lo anterior.

Un modulador de selectina de la presente invención que no tiene un BASA o un BACA se usa preferiblemente para inhibir una función mediada por E-selectina. Con la adición de un BASA o un BACA a un glicomimético de la presente invención, el modulador de selectina también ha aumentado la capacidad de modular las funciones mediadas por P- y L-selectina.

Un modulador de selectina de la presente invención es un compuesto o sal fisiológicamente aceptable del mismo, que tiene la fórmula:

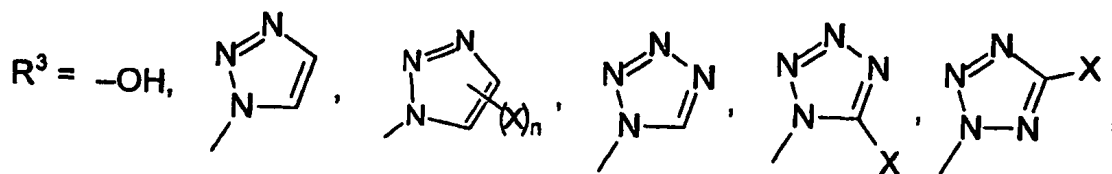


en la que

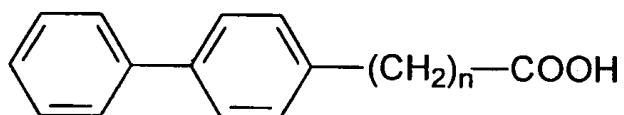
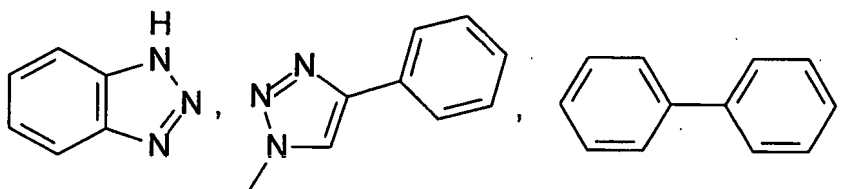
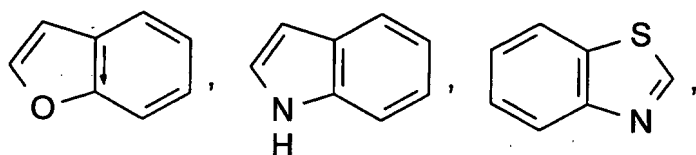
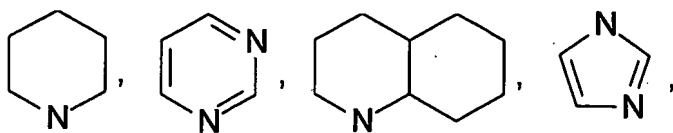
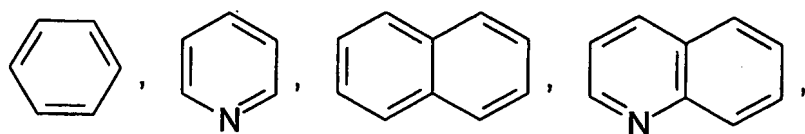


en las que n=0-2, y R⁸ se selecciona independientemente en las que n=2;

R² = -[C(=O)NH(CH₂)_nNHC(=O)]_m(L)_mZ, en la que n=0-30, m=0-1, L es un grupo de unión y Z es un ácido bencil-aminosulfónico, un ácido bencil-aminocarboxílico, un polietilenglicol,



-O-C(=O)-X, -NH₂, -NH-C(=O)-NHX o -NH-C(=O)-X en las que n=0-2 y X se selecciona independientemente de alcanilo C₁-C₈, alquenilo C₂-C₈, alquinilo C₂-C₈,

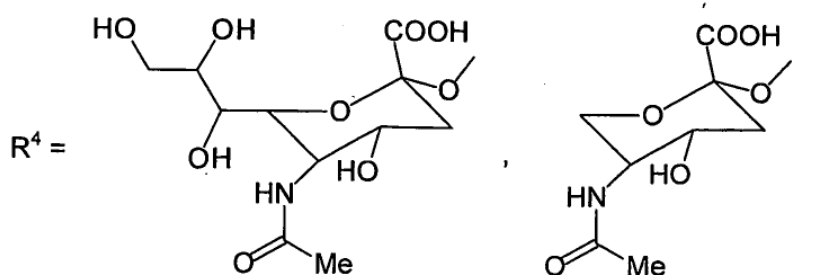


y

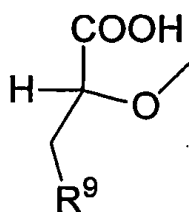
en las que n=0-10

y cualquiera de los compuestos de anillo anteriores puede estar sustituido con de uno a tres seleccionados independientemente de Cl, F, alcanilo C₁-C₈, alquenilo C₂-C₈, alquinilo C₂-C₈, arilo C₆-C₁₄, u OY en la que Y es H, alcanilo C₁-C₈, alquenilo C₂-C₈, alquinilo C₂-C₈ o arilo C₆-C₁₄;

5

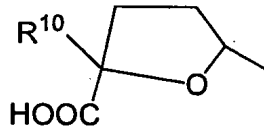


GlcNAc 6' sulfatada, GlcNAc 6' carboxilada, GalNAc 6' sulfatada, galactosa 6' sulfatada, galactosa 6' carboxilada o

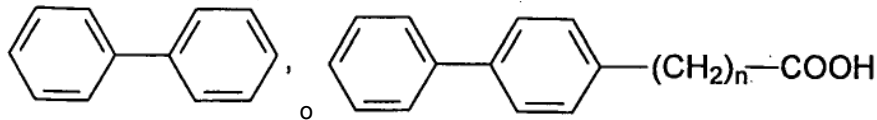
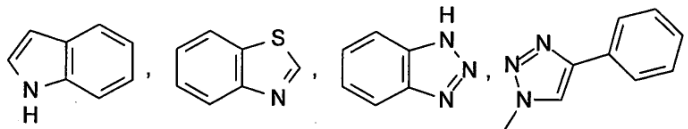
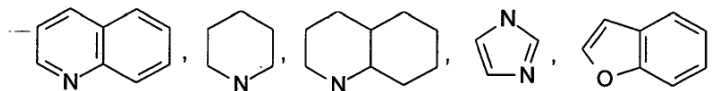
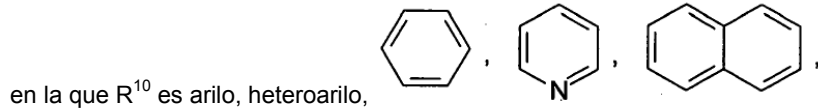


en la que R⁹ es arilo, heteroarilo, ciclohexano, t-butano, adamantano o triazol, y cualquiera de R⁹ puede estar sustituido con de uno a tres seleccionados independientemente de Cl, F, alcanilo C₁-C₈, alquenilo C₂-C₈,

alquinilo C₂-C₈ u OY en la que Y es H, alcanilo C₁-C₈, alquenilo C₂-C₈, alquinilo C₂-C₈ o arilo C₆-C₁₄;



R⁵ =H, o R⁴ y R⁵ se toman juntos para formar



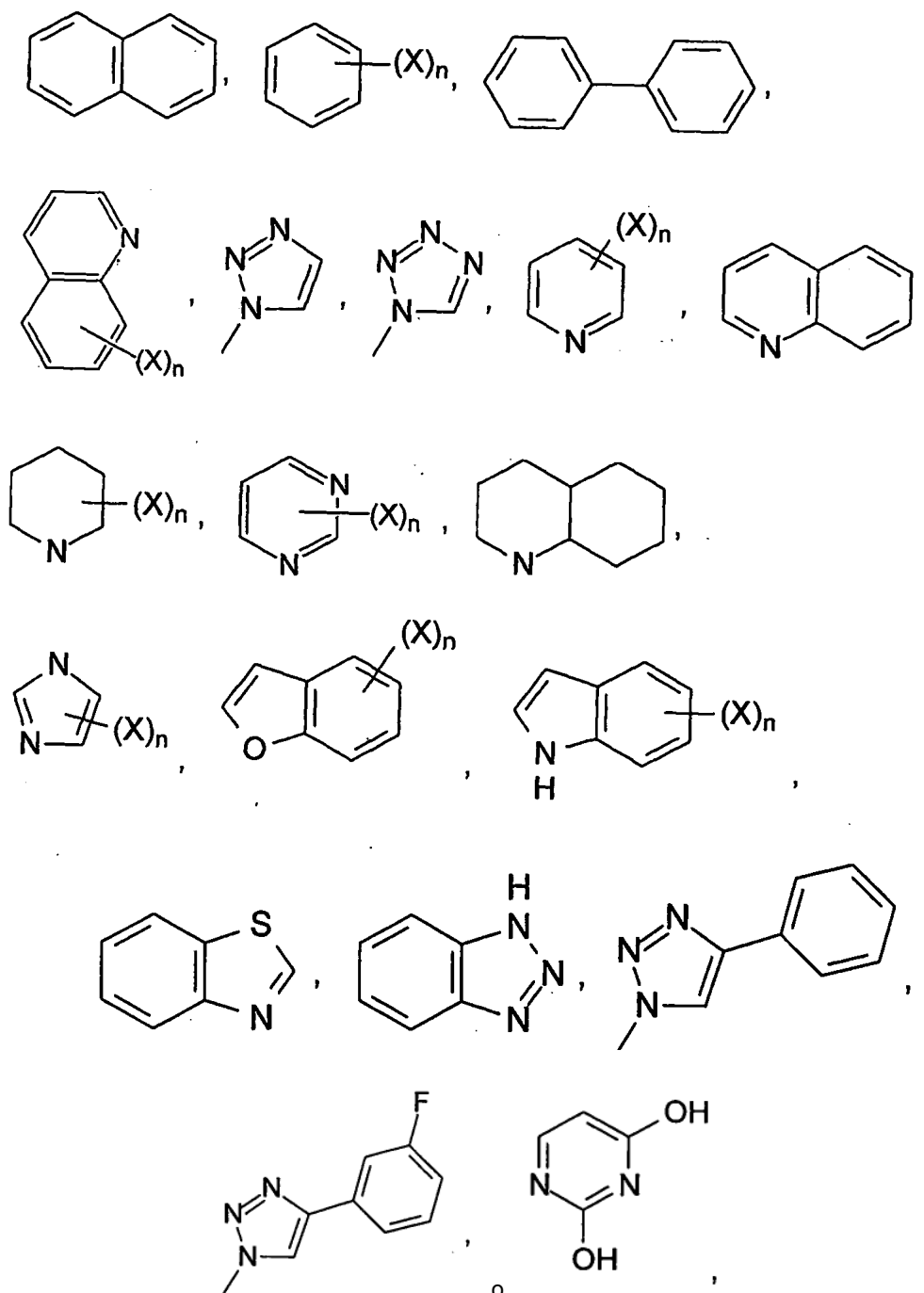
5 en las que n=0-10, y uno cualquiera de los compuestos de anillo anteriores puede estar sustituido con de uno a tres seleccionados independientemente de Cl, F, alcanilo C₁-C₈, alquenilo C₂-C₈, alquinilo C₂-C₈ u OY en la que Y es H, alcanilo C₁-C₈, alquenilo C₂-C₈ o alquinilo C₂-C₈;

R⁶ =H, fucosa, manosa, arabinosa, galactosa o polioles;

10 R⁷ =H, alcanilo C₁-C₈, alquenilo C₂-C₈, alquinilo C₂-C₈ o -COR₈; y



R⁸ =H, alcanilo C₁-C₈, alquenilo C₂-C₈, alquinilo C₂-C₈,



5 en las que $n=0-3$ y X se selecciona independientemente de H, OH, Cl, F, N_3 , NH_2 , alcanilo C_1-C_8 , alqueno C_2-C_8 , alquínulo C_2-C_8 , arilo C_6-C_{14} , O-alcanilo C_1-C_8 , O-alqueno C_2-C_8 , O-alquínulo C_2-C_8 y O-arilo C_6-C_{14} , y cualquiera de los compuestos de anillo anteriores puede estar sustituido con de uno a tres seleccionados independientemente de Cl, F, alcanilo C_1-C_8 , alqueno C_2-C_8 , alquínulo C_2-C_8 , arilo C_6-C_{14} u OY en la que Y es H, alcanilo C_1-C_8 , alqueno C_2-C_8 , alquínulo C_2-C_8 o arilo C_6-C_{14} .

10 Tal como se usa en el presente documento, un "alcanilo C_1-C_8 " se refiere a un sustituyente de alcano con de uno a ocho átomos de carbono y puede ser de cadena lineal o ramificada. Ejemplos son metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo y t-butilo. Un "alqueno C_2-C_8 " se refiere a un sustituyente de alqueno con de dos a ocho átomos de carbono, al menos un doble enlace carbono-carbono y puede ser de cadena lineal o ramificada. Los ejemplos son similares a ejemplos de "alcanilo C_1-C_8 " excepto en que tienen al menos un doble enlace carbono-carbono. Un "alquínulo C_2-C_8 " se refiere a un sustituyente de alquino con de dos a ocho átomos de carbono, al menos un triple enlace carbono-carbono y puede ser de cadena lineal o ramificada. Los ejemplos son similares a ejemplos de "alcanilo C_1-C_8 " excepto en que tienen al menos un triple enlace carbono-carbono. Un "arilo" se refiere a un sustituyente aromático con de seis a catorce átomos de carbono en uno o múltiples anillos que pueden estar separados por un enlace o

15

condensados. Un "heteroarilo" es similar a un "arilo" excepto en que el sustituyente aromático tiene al menos un heteroátomo (tal como N, O o S) en lugar de un carbono de anillo. Los ejemplos de arilos y heteroarilos incluyen fenilo, naftilo, piridinilo, pirimidinilo, triazolo, furanilo, oxazolilo, tiofenilo, quinolinilo y difenilo. Tal como se usa en el presente documento, el término "seleccionado independientemente" se refiere a la selección de sustituyentes idénticos o diferentes.

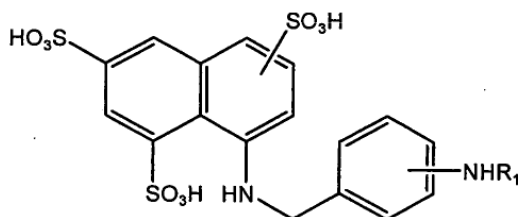
Tal como se usa en el presente documento, polietilenglicol ("PEG") se refiere a múltiples unidades de etilenglicol, así como a aquellas con uno o más sustituyentes (por ejemplo, PEG dicarboxilado). Los expertos en la técnica conocen bien PEG con y sin sustituyentes. Dentro de la presente invención, PEG puede servir como sustituyente en un modulador de selectina, o como un grupo de unión para unir otros grupos o compuestos a un modulador de selectina, o un modulador de selectina puede tener más de un PEG.

Cuando un segundo modulador de selectina se une a un primer modulador de selectina, se forma un dímero de moduladores de selectina (es decir, una molécula divalente). Puede usarse una variedad de grupos de unión para unir los dos moduladores de selectina. Por ejemplo, puede usarse PEG como el grupo de unión para preparar un dímero. Tal como se usa en el presente documento, un "dímero" puede ser un homodímero o un heterodímero. Un homodímero se refiere a un dímero en el que los dos moduladores de selectina unidos entre sí son idénticos (independiente de los sustituyentes para la unión entre sí). Un heterodímero se refiere a un dímero en el que los dos moduladores de selectina (independiente de la unión de los sustituyentes) no son idénticos.

Un modulador de selectina de la presente invención puede tener, en R^4 de la fórmula anterior, ácido siálico o un compuesto que imita al ácido siálico tal como se expuso anteriormente. Por ejemplo, el anillo de hexosa del ácido siálico puede estar reemplazado con ciclohexano. La presencia de ácido siálico en el modulador de selectina potenció la unión de P-selectina. Cuando se desea sólo la unión de E-selectina (y no tanto la unión de E- como de P-selectina), un compuesto que imita al ácido siálico reemplaza al ácido siálico en el modulador de selectina.

Alternativamente a (o en combinación con) el reemplazo del ácido siálico con un compuesto que imita al ácido siálico, la unión de P-selectina puede potenciarse mediante la adición de un BASA o un BACA. Tal como se dio a conocer anteriormente, los compuestos moduladores de selectina de la presente invención pueden tener un "Z" en R^2 y Z puede ser un BASA o un BACA. La adición de un BASA o un BACA a un compuesto modulador de selectina de la presente invención que carece de ácido siálico, puede convertir el modulador de selectina de un compuesto que es selectivo para la unión a E-selectina en uno que une tanto E- como P-selectina. BASA o BACA incluye una parte o un análogo de un BASA o un BACA o una parte de cualquiera de los dos, siempre que el compuesto conserve la capacidad de modular una función mediada por selectina. PEG puede añadirse a un modulador de selectina con o sin un BASA (o un BACA). PEG también puede usarse para unir un BASA o un BACA a un modulador de selectina.

Dentro de la presente invención, los BASA son compuestos sulfatados de bajo peso molecular que tienen la capacidad de interactuar con una selectina. La interacción modula o ayuda en la modulación (por ejemplo, inhibición o potenciación) de una función mediada por selectina (por ejemplo, una interacción intercelular). Existen o bien como su forma de ácido protonado, o bien como una sal de sodio, aunque el sodio puede reemplazarse por potasio o cualquier otro contraión farmacéuticamente aceptable. Un BASA representativo tiene la siguiente estructura:

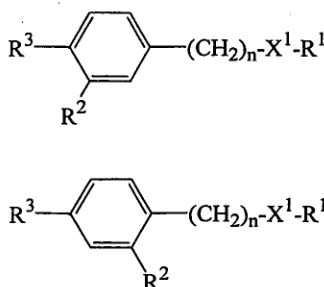


Partes de BASA que conservan la capacidad de interactuar con una selectina (interacción que modula o ayuda en la modulación de una función mediada por selectina tal como se describe en el presente documento) también son un componente de BASA de los moduladores de selectina de la presente invención. Tales partes comprenden generalmente al menos un anillo aromático presente dentro de la estructura de BASA. Dentro de determinadas realizaciones, una parte puede comprender un anillo aromático individual, múltiples de tales anillos o la mitad de una molécula de BASA simétrica.

Tal como se observó anteriormente, dentro de la presente invención también se abarcan análogos de BASA y partes del mismo (teniendo ambos la característica biológica expuesta anteriormente), por ejemplo, por el componente de BASA de los moduladores de selectina. Tal como se usa en el presente documento, un "análogo" es un compuesto que difiere de BASA o una parte del mismo debido a una o más adiciones, deleciones y/o sustituciones de restos químicos, de modo que no se disminuye la capacidad del análogo para inhibir una interacción mediada por selectina. Por ejemplo, un análogo puede contener sustituciones de S con P (por ejemplo, un grupo sulfato reemplazado con un grupo fosfato). Otras posibles modificaciones incluyen: (a) modificaciones con respecto al tamaño del anillo (por

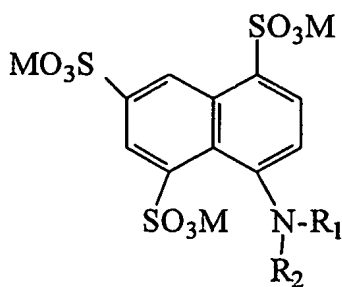
ejemplo, cualquier anillo puede contener entre 4 y 7 átomos de carbono); (b) variaciones en el número de anillos condensados (por ejemplo, un anillo individual puede estar reemplazado con un resto policíclico que contiene hasta tres anillos condensados, un resto policíclico puede estar reemplazado con un anillo no condensado individual o el número de anillos condensados dentro de un resto policíclico puede alterarse); (c) sustituciones de anillo en las que átomos de hidrógeno u otros restos unidos covalentemente a un átomo de carbono dentro de un anillo aromático pueden estar reemplazados con cualquiera de una variedad de restos, tales como F, Cl, Br, I, OH, O-alquilo (C1-8), SH, NO₂, CN, NH₂, NH-alquilo (C1-8), N-(alquilo)₂, SO₃M (en la que M=H⁺, Na⁺, K⁺ u otro contraión farmacéuticamente aceptable), CO₂M, PO₄M₂, SO₂NH₂, alquilo(C1-8), arilo(C6-10), CO₂-alquilo (C1-8), -CF₂X (en la que X puede ser H, F, grupos alquilo, arilo o acilo) e hidratos de carbono; y (d) modificaciones con respecto a los restos de unión (es decir, restos ubicados entre anillos en la molécula de BASA) en las que grupos tales como grupos alquilo, éster, amida, anhídrido y carbamato pueden estar sustituidos entre sí.

Determinadas partes y análogos de BASA contienen una de las siguientes estructuras genéricas:



Dentro de esta estructura, n puede ser 0 ó 1, X¹ puede ser -PO₂M, -SO₂M o -CF₂- (en las que M es un contraión farmacéuticamente aceptable tal como hidrógeno, sodio o potasio), R¹ puede ser -OH, -F o -CO₂R⁴ (en la que R⁴ puede ser -H o -(CH₂)_m-CH₃ y m es un número que oscila entre 0 y 3, R² puede ser -H, -PO₃M₂, -SO₃M₂, -CH₂-PO₃M₂, -CH₂-SO₃M₂, -CF₃ o -(CH₂)_m-C(R⁶)H-R⁵ o R⁹-N(R¹⁰)-, R³ puede ser -H, -(CH₂)_m-C(R⁶)H-R⁵ o R⁹-N(R¹⁰)- (en las que R⁵ y R⁶ pueden seleccionarse independientemente de -H, -CO₂-R⁷ y -NH-R⁸, R⁷ y R⁸ pueden seleccionarse independientemente de hidrógeno y restos que comprenden uno o más de un grupo alquilo, un resto aromático, un grupo amino o un grupo carboxilo, y R⁹ y R¹⁰ pueden seleccionarse independientemente de -H, -(CH₂)_m-CH₃; -CH₂-Ar, -CO-Ar, en las que m es un número que oscila entre 0 y 3 y Ar es un resto aromático (es decir, cualquier resto que comprende al menos un anillo aromático sustituido o no sustituido, en el que el anillo se une directamente al grupo -CH₂- o -CO- indicado anteriormente)).

Otras partes y análogos de BASA comprenden la estructura genérica:



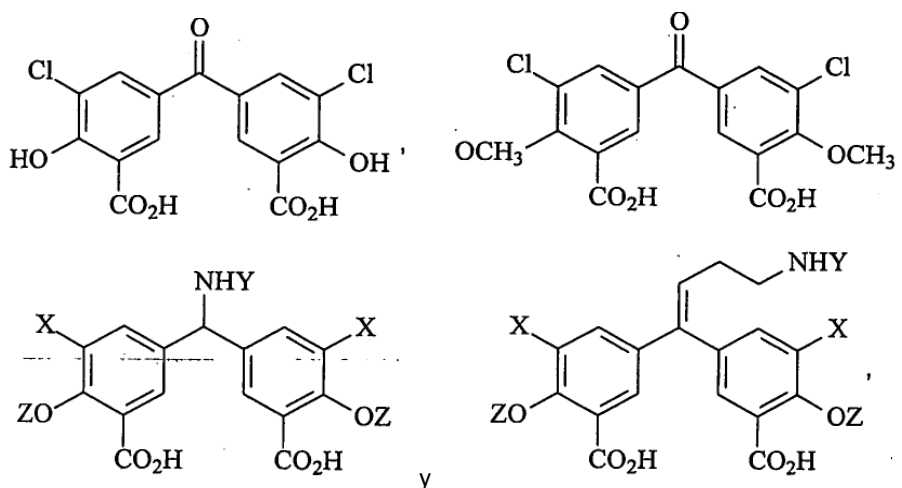
Dentro de esta estructura, R₁ y R₂ pueden seleccionarse independientemente de (i) hidrógeno, (ii) restos que comprenden uno o más de un grupo alquilo, un resto aromático, un grupo amino o un grupo carboxilo, y (iii) -CO-R₃ (en la que R₃ comprende un resto aromático o alquilo tal como se describió anteriormente) y M es un contraión farmacéuticamente aceptable.

Los compuestos individuales, o grupos de compuestos, derivados de las diversas combinaciones de las estructuras y sustituyentes descritos en el presente documento, se dan a conocer por la presente solicitud en el mismo grado que si se expusiese individualmente cada compuesto o grupo de compuestos. Por tanto, la selección de estructuras particulares y/o sustituyentes particulares está dentro del alcance de la presente invención.

Las partes y análogos de BASA representativos se incluyen en los compuestos mostrados en las figuras 1A-1B. Resultará evidente para los expertos habituales en la técnica que pueden prepararse modificaciones a los compuestos mostrados dentro de estas figuras, sin afectar adversamente a la capacidad de funcionar como moduladores de selectina. Tales modificaciones incluyen delecciones, adiciones y sustituciones tal como se describió anteriormente.

Un BACA es similar a un BASA, excepto que en lugar de grupos de ácido sulfónico, el compuesto tiene grupos de ácido carboxílico. Por ejemplo, los grupos de ácido sulfónico de los compuestos de BASA anteriores pueden estar reemplazados con grupos de ácido carboxílico. Por tanto, la divulgación anterior con respecto a BASA se incorpora como referencia en esta descripción de BACA.

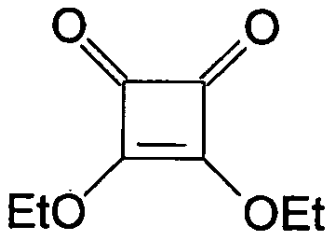
5 Los ejemplos de BACA incluyen:



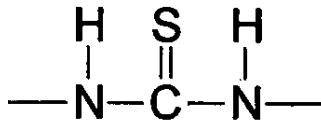
en los que X es F o Cl; Y es H, $-C(=O)(O-CH_2CH_2)_n$ o $-C(=O)(CH_2)_n$ en las que $n=0-8$; y Z es H, alcanilo C_1-C_8 , alquenoilo C_1-C_8 o alquínilo C_1-C_8 .

Tal como se describió anteriormente, un BASA o un BACA puede unirse a un compuesto de la presente invención en R^2 a través de un grupo de unión ("L"). Normalmente, un grupo de unión se une en primer lugar a uno de un glicomimético o un BASA/BACA, que entonces se hace reaccionar con el otro. La unión de un BASA o un BACA a un glicomimético particular puede realizarse de una variedad de formas para formar un modulador de selectina. Un grupo de unión poseído por (o añadido a) un BASA o un BACA o un glicomimético puede incluir un grupo espaciador, tal como $-(CH_2)_n-$ u $-O(CH_2)_n-$ en las que n generalmente es aproximadamente 1-20 (incluyendo cualquier intervalo de números enteros completo en el mismo). Un ejemplo de un grupo de unión es $-NH_2$ en un glicomimético, por ejemplo, $-CH_2-NH_2$ cuando incluye un grupo espaciador corto. En una realización, $-CH_2-NH_2$ se une a un glicomimético en R^1 que entonces puede usarse para unir un BASA o un BACA. El método de unión más sencillo es aminación reductora del BASA o BACA a un glicomimético que contiene un extremo reductor (un hidroxilo/aldehído anomérico). Esto se realiza mediante reacción sencilla del BASA o BACA al extremo reductor y posterior reducción (por ejemplo, con $NaCNBH_3$ a pH 4,0) de la imina formada. El enfoque más general conlleva la unión sencilla de un grupo de unión activado al glicomimético a través de un heteroátomo de O, S o N (o átomo de C) en la posición anomérica. Se ha investigado ampliamente la metodología de tales uniones para hidratos de carbono y la selectividad anomérica se realiza fácilmente mediante la selección apropiada de metodología y/o grupos protectores. Los ejemplos de posibles métodos sintéticos glicosídicos incluyen formación de enlace catalizada por ácido de Lewis con halógeno o azúcares peracetilados (Koenigs Knorr), formación de enlace de tricloroacetamido, acoplamiento y activación de tioglicósido, acoplamiento y activación de glucal, acoplamiento de n-pentenilo, homologación de éster de fosfonato (reacción de Horner-Wadsworth-Emmons), y muchos otros. Alternativamente, los grupos de unión podrían unirse a posiciones en los restos distintos del anomérico. El sitio más accesible para la unión está en una posición de hidroxilo seis (6-OH) de un glicomimético (un alcohol primario). La unión de un grupo de unión en la 6-OH puede lograrse fácilmente mediante una variedad de medios. Los ejemplos incluyen reacción del oxi-anión (alcohol-anión formado mediante desprotonación con base) con un electrófilo apropiado tal como un éster de bromuro, cloruro o sulfonato de alquilo/acilo, activación del alcohol a través de la reacción con un cloruro de éster de sulfonato o $POCl_3$ y desplazamiento con un nucleófilo posterior, oxidación del alcohol en el aldehído o ácido carboxílico para acoplamiento, o incluso el uso de la reacción de Mitsunobu para introducir funcionalidades diferentes. Una vez unido el grupo de unión, entonces se funcionaliza para la reacción con un nucleófilo adecuado en el BASA o BACA (o viceversa). Esto se realiza a menudo mediante el uso de tiófosgeno y aminas para preparar ligandos heterobifuncionales unidos a tiourea, reacciones de unión de escuarato de dietilo (de nuevo con aminas) y/o de alquilo/acilación sencillas. Los métodos adicionales que podrían utilizarse incluyen técnicas sintéticas en fase de disolución o sólida de Fmoc usadas tradicionalmente para técnicas de síntesis quimioenzimáticas y acoplamiento de péptidos e hidratos de carbono utilizando posiblemente glicosil/fucosil transferasas y/o oligosacariltransferasa (OST).

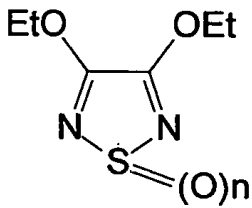
Las realizaciones de grupos de unión incluyen los siguientes:



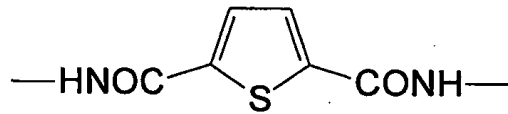
Ácido escuárico



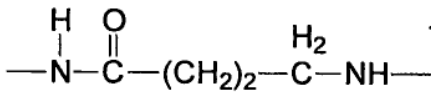
Tiourea



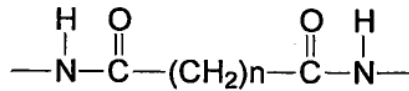
Óxido de ditiadiazol



Acilación a través de tiofurano



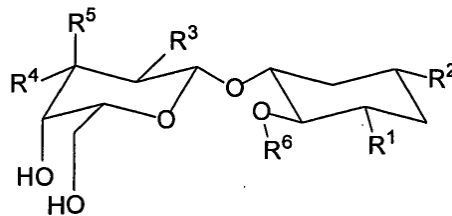
N-pentenoilación y aminación reductora



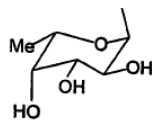
Acoplamiento a través del reactivo de NHS bifuncional

Otros grupos de unión (por ejemplo, PEG) serán familiares para los expertos en la técnica o en posesión de la presente divulgación.

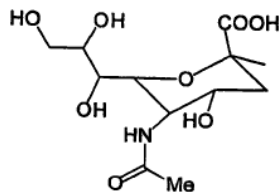
Un compuesto, o sal fisiológicamente aceptable del mismo, de la presente invención tiene la fórmula:

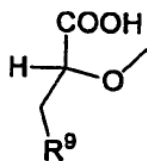


en la que R¹-R⁹ se definen tal como se expuso anteriormente.

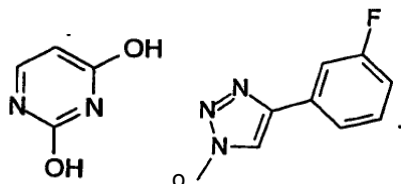


En una realización preferida, R⁶ es fucosa: En una realización preferida, R⁷ es H. En una realización preferida, R⁴ es

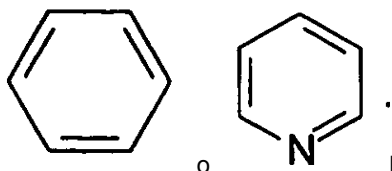




En una realización preferida, R^4 es en la que R^9 se define como anteriormente. En una realización preferida, R^9 es ciclohexano. En una realización preferida, R^9 es galactosa. En una realización preferida, R^9 es



R^2 es $-[C(=O)NH(CH_2)_nNHC(=O)]_m(L)_mZ$, en las que n , m , L y Z se definen como anteriormente. Z es un ácido bencil-aminosulfónico, un ácido bencil-aminocarboxílico o un polietilenglicol. En una realización preferida, R^3 es $-O-C(=O)-X$, en la que X se define como anteriormente. En una realización preferida, X es



En una realización preferida, R^5 es H. En una realización preferida, L es un polietilenglicol o un tiadiazol.

Aunque los moduladores de selectina, tal como se describe en el presente documento, pueden dirigirse suficientemente a un sitio deseado *in vivo*, puede ser beneficioso para determinadas aplicaciones incluir un resto de direccionamiento adicional para facilitar el direccionamiento a uno o más tejidos específicos. Tal como se usa en el presente documento, un "resto de direccionamiento," puede ser cualquier sustancia (tal como un compuesto o célula) que, cuando se une a un agente modulador potencia el transporte del modulador a un tejido diana, aumentando de ese modo la concentración local del modulador. Los restos de direccionamiento incluyen anticuerpos o fragmentos de los mismos, receptores, ligandos y otras moléculas que se unen a células de, o en las proximidades del tejido diana. El enlace es generalmente covalente y puede lograrse mediante, por ejemplo, condensación directa u otras reacciones, o mediante grupos de unión bi o multifuncionales.

Para determinadas realizaciones, puede ser beneficioso unir también, o alternativamente, un fármaco a un modulador de selectina. Tal como se usa en el presente documento, el término "fármaco" se refiere a cualquier agente bioactivo pretendido para la administración a un mamífero para prevenir o tratar una enfermedad u otro estado no deseado. Los fármacos incluyen hormonas, factores de crecimiento, proteínas, péptidos y otros compuestos. Los ejemplos de fármacos potenciales incluyen agentes antineoplásicos (tales como 5-fluorouracilo y distamicina), agonistas/antagonistas de integrina (tales como péptido RGD cíclico), agonistas/antagonistas de citocina, agonistas/antagonistas de histamina (tales como difenhidramina y clorfeniramina), antibióticos (tales como aminoglicósidos y cefalosporinas) y agentes biológicos activos redox (tales como glutatión y tioredoxina). En otras realizaciones, radionúclidos terapéuticos o de diagnóstico pueden unirse a un modulador de selectina. En muchas realizaciones, el agente puede unirse directa o indirectamente a un modulador de selectina.

Los moduladores tal como se describe en el presente documento pueden estar presentes dentro de una composición farmacéutica. Una composición farmacéutica comprende uno o más moduladores en combinación con uno o más portadores, diluyentes o excipientes farmacéutica o fisiológicamente aceptables. Tales composiciones pueden comprender tampones (por ejemplo, solución salina tamponada neutra o solución salina tamponada con fosfato), hidratos de carbono (por ejemplo, glucosa, manosa, sacarosa o dextranos), manitol, proteínas, polipéptidos o aminoácidos tales como glicina, antioxidantes, agentes quelantes tales como EDTA o glutatión, adyuvantes (por ejemplo, hidróxido de aluminio) y/o conservantes. Aún dentro de otras realizaciones, las composiciones de la presente invención pueden formularse como un liofilizado. Las composiciones de la presente invención pueden formularse para cualquier manera de administración apropiada, incluyendo por ejemplo, administración tópica, oral, nasal, intravenosa, intracraneal, intraperitoneal, subcutánea o intramuscular.

Una composición farmacéutica puede contener también, o alternativamente, uno o más agentes activos, tales como fármacos (por ejemplo, los expuestos anteriormente), que pueden unirse a un modulador o pueden estar libres dentro de la composición.

Las composiciones descritas en el presente documento pueden administrarse como parte de una formulación de liberación sostenida (es decir, una formulación tal como una cápsula o compresa que efectúa una liberación lenta del

agente modulador tras la administración). Tales formulaciones pueden prepararse generalmente usando tecnología bien conocida y pueden administrarse, por ejemplo, por vía oral, rectal o implantación subcutánea, o mediante implantación en el sitio diana deseado. Los portadores para su uso dentro de tales formulaciones son biocompatibles, y también pueden ser biodegradables; preferiblemente la formulación proporciona un nivel relativamente constante de liberación de agente modulador. La cantidad de agente modulador contenida dentro de una formulación de liberación sostenida depende del sitio de implantación, de la tasa y de la duración de liberación esperada y de la naturaleza del estado que va a tratarse o prevenirse.

Los moduladores de selectina están presentes generalmente dentro de una composición farmacéutica en una cantidad terapéuticamente eficaz. Una cantidad terapéuticamente eficaz es una cantidad que da como resultado un beneficio perceptible para el paciente, tal como aumento de la curación de un estado asociado con función mediada por selectina en exceso (por ejemplo, adhesión intercelular), tal como se describe a continuación.

En general, los agentes moduladores y composiciones descritos en el presente documento pueden usarse para potenciar o inhibir una función mediada por selectina. Tal potenciación o inhibición puede lograrse *in vitro* y/o *in vivo* en un animal de sangre caliente, preferiblemente en un mamífero tal como un ser humano, siempre que una célula que expresa selectina se ponga en contacto en última instancia con un modulador, en una cantidad y durante un tiempo suficiente para potenciar o inhibir la función mediada por selectina.

Dentro de determinados aspectos, la presente invención describe métodos para inhibir el desarrollo de un estado asociado con una función mediada por selectina, tal como la adhesión intercelular. En general, tales métodos pueden usarse para prevenir, retrasar o tratar un estado de ese tipo. En otras palabras, los métodos terapéuticos descritos en el presente documento pueden usarse para tratar una enfermedad, o pueden usarse para prevenir o retrasar la aparición de una enfermedad de ese tipo en un paciente que está sin enfermedad o que está aquejado de una enfermedad que no está asociada con una función mediada por selectina. Por ejemplo, los métodos terapéuticos tienen usos que pueden incluir la detención del crecimiento celular, la destrucción de células, la prevención de células o crecimiento celular, el retraso de la aparición de células o crecimiento celular, o la prolongación de la supervivencia de un organismo.

Una variedad de estados están asociados con una función mediada por selectina. Tales estados incluyen, por ejemplo, rechazo de trasplante tisular, enfermedades mediadas por plaquetas (por ejemplo, aterosclerosis y coagulación), circulación coronaria hiperactiva, lesión pulmonar mediada por leucocitos aguda (por ejemplo, síndrome de dificultad respiratoria del adulto (SDRA)), enfermedad de Crohn, enfermedades inflamatorias (por ejemplo, enfermedad inflamatoria del intestino), enfermedades autoinmunitarias (EM, miastenia grave), infección, cáncer (y metástasis), trombosis, heridas (y sepsis asociada con heridas), quemaduras, daño de la médula espinal, trastornos de la membrana mucosa del tubo digestivo (gastritis, úlceras), osteoporosis, artritis reumatoide, osteoartritis, asma, alergia, psoriasis, choque séptico, choque traumático, accidente cerebrovascular, nefritis, dermatitis atópica, lesión por congelación, síndrome de disnea en adulto, colitis ulcerosa, lupus eritematoso sistémico, diabetes y lesión por reperfusión tras episodios isquémicos. Los moduladores de selectina también pueden administrarse a un paciente antes de la cirugía cardíaca para potenciar la recuperación. Otros usos incluyen tratamiento del dolor, prevención de reestenosis asociada con implantación de endoprótesis vascular, y para angiogénesis no deseada, por ejemplo, asociada con cáncer.

Los moduladores de selectina de la presente invención pueden administrarse de una manera apropiada para la enfermedad que va a tratarse (o prevenirse). Las dosificaciones apropiadas y una duración y frecuencia de administración adecuadas pueden determinarse por factores tales como el estado del paciente, el tipo y la gravedad de la enfermedad del paciente y el método de administración. En general, una dosificación y régimen de tratamiento apropiados proporcionan el/los agente(s) modulador(es) en una cantidad suficiente para proporcionar beneficio profiláctico y/o terapéutico. Dentro de las realizaciones particularmente preferidas de la invención, un modulador de selectina puede administrarse a una dosificación que oscila entre 0,001 y 1000 mg/kg de peso corporal (más normalmente entre 0,01 y 1000 mg/kg), en un régimen de dosis diarias únicas o múltiples. Las dosificaciones apropiadas pueden determinarse generalmente usando modelos experimentales y/o ensayos clínicos. En general, se prefiere el uso de la dosificación mínima que es suficiente para proporcionar la terapia eficaz. Los pacientes pueden monitorizarse generalmente para determinar la eficacia terapéutica usando ensayos adecuados para el estado que está tratándose o previniéndose, lo que será familiar para los expertos en la técnica.

Los moduladores de selectina también pueden usarse para dirigir sustancias a células que expresan una selectina. Tales sustancias incluyen agentes terapéuticos y agentes de diagnóstico. Los agentes terapéuticos pueden ser una molécula, virus, componente viral, célula, componente celular o cualquier otra sustancia que puede demostrarse que modifica las propiedades de una célula diana de modo que proporcione un beneficio para tratar o prevenir un trastorno o regular la fisiología de un paciente. Un agente terapéutico también puede ser un profármaco que genera un agente que tiene una actividad biológica *in vivo*. Las moléculas que pueden ser agentes terapéuticos pueden ser, por ejemplo, polipéptidos, aminoácidos, ácidos nucleicos, polinucleótidos, esteroides, polisacáridos o compuestos inorgánicos. Tales moléculas pueden funcionar en cualquiera de una variedad de formas, incluyendo como enzimas, inhibidores enzimáticos, hormonas, receptores, oligonucleótidos antisentido, polinucleótidos catalíticos, agentes antivirales, agentes antitumorales, agentes antibacterianos, agentes inmunomoduladores y agentes citotóxicos (por ejemplo, radionúclidos tales como yodo, bromo, plomo, paladio o cobre). Los agentes de diagnóstico incluyen

agentes de obtención de imágenes tales como metales y agentes radioactivos (por ejemplo, compuestos que contienen galio, tecnecio, indio, estroncio, yodo, bario, bromo y fosforo), agentes de contraste, colorantes (por ejemplo, colorantes fluorescentes y cromóforos) y enzimas que catalizan una reacción colorimétrica o fluorométrica. En general, los agentes terapéuticos y de diagnóstico pueden unirse a un modulador de selectina usando una

5 variedad de técnicas tales como las descritas anteriormente. Para fines de direccionamiento, un modulador de selectina puede administrarse a un paciente tal como se describe en el presente documento. Puesto que las selectinas se expresan en células endoteliales implicadas en la formación de nuevos capilares durante la angiogénesis, un modulador de selectina puede usarse para dirigir un agente terapéutico para destruir una vasculatura del tumor. Un modulador de selectina también puede usarse para el direccionamiento génico.

10 Los moduladores de selectina también pueden usarse *in vitro*, por ejemplo, dentro de una variedad de métodos de cultivo celular y de separación de células bien conocidos. Por ejemplo, los moduladores pueden unirse a la superficie interior de una placa de cultivo tisular u otro soporte de cultivo celular, para su uso en la inmovilización de células que expresan selectina para exámenes, ensayos y crecimiento en cultivo. Tal unión puede realizarse mediante cualquier técnica adecuada, tal como los métodos descritos anteriormente, así como otras técnicas

15 convencionales. Los moduladores también pueden usarse, por ejemplo, para facilitar la identificación y la clasificación celulares *in vitro*, permitiendo la selección de células que expresan una selectina (o diferentes niveles de selectina). Preferiblemente, el/los modulador(es) para su uso en tales métodos se unen a un marcador detectable. Los marcadores adecuados se conocen bien en la técnica e incluyen radionúclidos, grupos luminiscentes, grupos fluorescentes, enzimas, colorantes, dominios constantes de inmunoglobulina y biotina. Dentro

20 de una realización preferida, un modulador unido a un marcador fluorescente, tal como fluoresceína, se pone en contacto con las células, que entonces se analizan mediante clasificación celular activada por fluorescencia (FACS).

Los agentes moduladores tal como se describió anteriormente pueden inhibir, por ejemplo, la adhesión celular mediada por selectina. Esta capacidad puede evaluarse generalmente usando cualquiera de una variedad de

25 ensayos *in vitro* diseñados para medir el efecto en la adhesión entre células que expresan selectina (por ejemplo, adhesión entre leucocitos o células tumorales y plaquetas o células endoteliales). Por ejemplo, tales células pueden sembrarse en placas en condiciones normales que, en ausencia de modulador, permiten la adhesión celular. En general, un modulador es un inhibidor de la adhesión celular mediada por selectina si el contacto de las células de prueba con el modulador da como resultado una inhibición perceptible de la adhesión celular. Por ejemplo, en

30 presencia de moduladores (por ejemplo, a niveles micromolares), la ruptura de la adhesión entre leucocitos o células tumorales y plaquetas o células endoteliales puede determinarse visualmente en el plazo de aproximadamente varios minutos, observando la reducción de la interacción de las células entre sí.

Todos los compuestos de la presente invención o útil para la misma, incluyen sales fisiológicamente aceptables de los mismos.

Los siguientes ejemplos se ofrecen a modo de ilustración y no a modo de limitación.

35 Ejemplos

(Los ejemplos 1-9, 16 y 20 son ejemplos preparativos no según la invención)

Ejemplo 1

Síntesis de BASA (figura 1A)

40 Síntesis del compuesto 4: La nitración de 2 comercialmente disponible (1 g) es según el procedimiento descrito (para condiciones en la bibliografía, véase la patente estadounidense n.º 4.534.905; Allison, F. *et al.* Helv. Chim. Acta 4:2139 (1952)).

Se disuelve el producto bruto 3 en agua (40 ml) y se añade Pd al 10%/C (0,3 g). Se hidrogena la mezcla (~45 psi, 310 kPa) a temperatura ambiente durante 48 h. Se filtra el catalizador a través de Celite y se lava el lecho de filtro con agua. Se concentra el filtrado a vacío para proporcionar un sólido rosa. Tras la eliminación del catalizador, se

45 concentra el filtrado hasta 15 ml y se añade un volumen igual de etanol. Se recoge el precipitado mediante filtración para proporcionar el compuesto 4 con muy poca impureza.

Síntesis del compuesto 7a: Se trata una disolución de 5 (5 g) y 8 (4,45 g, 24,7 mmol) y K_2CO_3 (2 M en H_2O , 24,7 ml, 49,4 mmol) en tolueno/etanol 10:1 (70 ml) con $Pd(PPh_3)_4$ (1,43 g, 1,24 mmol) y se somete la mezcla a reflujo durante 20 h. Tras el tratamiento final, la recristalización del producto bruto en EtOH y la purificación cromatográfica del

50 filtrado de la recristalización proporciona el compuesto 9 (2,9 g, 46%, HPLC >90%) y 2,2 g de 5 recuperado. Se caracteriza el producto mediante 1H -RMN.

Se agita una mezcla de 9 (2,9 g, 11,3 mmol) y $LiOH \cdot H_2O$ (1,43 g, 34,1 mmol) en THF/ H_2O 1:1 (250 ml) a TA durante 21 h. La reacción proporciona 7 (2,58 g, 94%, HPLC >90%) tras el tratamiento final. Se caracteriza el producto mediante 1H -RMN.

55 Se añade DMF (20 μ l) a una suspensión de 7 (500 mg, 1,94 mmol), $SOCl_2$ (0,23 ml, 3,10 mmol) y tolueno (3 ml) y

entonces se calienta hasta 80°C. Tras 20 h se realiza el tratamiento final de la reacción para proporcionar el cloruro del ácido (640 mg). Se caracteriza el producto 7a mediante IR y ¹H-RMN.

5 Síntesis del compuesto 10: A una disolución de amina 4 (268 mg, 0,641 mmol) en H₂O (2 ml) y dioxano (18 ml) se le añade una disolución de 7a (273 mg, 0,99 mmol) en dioxano (16 ml) gota a gota durante 30 min. Se ajusta el pH de la mezcla de reacción hasta 8,5 con NaOH 0,25 M a medida que la adición progresa. Se agita la reacción a temperatura ambiente durante 2,5 h tras la adición. La purificación mediante cromatografía en columna (metanol/tolueno 1:1) seguido por CCF prep. (metanol/tolueno 1:1) proporciona 50 mg del compuesto 10, que se caracteriza mediante ¹H-RMN y EM.

10 Hidrogenación del compuesto 10: Se hidrogena una suspensión de 10 (30 mg, 0,049 mmol) y Pd al 10% sobre carbono (50 mg) en H₂O (20 ml) (55 psi) a temperatura ambiente durante 4 h para producir el BASA de la figura 1A.

Ejemplo 2

Síntesis de BASA (figura 1B)

15 Síntesis del compuesto 4: Se añade yoduro de 3-nitro-bencilo (1) (48,3 g) a una disolución acuosa (pH 11) de ácido 8-aminonaftalen-1,3,5-trisulfónico (2) (29,5 g) comercialmente disponible con agitación a temperatura ambiente. Se ajusta el pH de la disolución hasta 1 y tras la evaporación del disolvente, se precipita el producto 3 (6,4 g) a partir del etanol.

La hidrogenación catalizada por platino del compuesto 3 proporciona el compuesto 4 (el BASA de la figura 1B) en un rendimiento del 96%.

Ejemplo 3

20 Síntesis de BACA (figura 2)

Se calienta una suspensión de 1 (8,9 g), paraformaldehído (8,9 g) y H₂SO₄ (125 ml) hasta 90°C durante 14 h y se proporciona 2 bruto (7,8 g) tras el tratamiento final. El producto bruto es puro al 77% mediante HPLC y se caracteriza mediante ¹H-RMN.

25 A una disolución de 2 (1,0 g) en acetona (30 ml) se le añade K₂CO₃ (3,1 g) y dimetilsulfato (1,4 ml) y se calienta la reacción hasta reflujo durante 24 h. Se combina la reacción con el siguiente lote para el tratamiento final y la purificación.

30 A una disolución de 2 (7,5 g) en acetona (225 ml) se le añade K₂CO₃ (23,2 g) y dimetilsulfato (10,8 ml) y se calienta la reacción hasta reflujo durante 16 h. La reacción, combinada con el lote anterior, proporciona 3 (7,3 g, 74%) tras el tratamiento final y la purificación cromatográfica en columna (acetato de etilo/heptano 1:9). El producto es puro al 80% mediante HPLC y se caracteriza mediante ¹H-RMN.

Se añade anhídrido crómico (6,94 g) a una suspensión de 3 (7,16 g) en anhídrido acético (175 ml) a 3°C y entonces se agita a temperatura ambiente durante 15 h. La reacción proporciona 4 (5,89 g) tras el tratamiento final y purificación en columna (diclorometano al 100%). El producto es puro al 90% mediante HPLC y se caracteriza mediante ¹H-RMN.

35 A una suspensión de 4 (5,89 g) en THF/H₂O (300 ml, 1:1) se le añade LiOH H₂O (1,74 g) a temperatura ambiente y se agita la mezcla resultante durante 14 h. Tras un tratamiento final con ácido/base, se obtiene el producto como un sólido blanco. Se seca el producto a alto vacío y se caracteriza mediante RMN y espectroscopia de masas.

Ejemplo 4

Síntesis de glicomimético (figura 3)

40 Síntesis del producto intermedio II: Se agitan ácido (-)-siquímico (20 g) en MeOH (200 ml) y ácido sulfúrico (2 ml, 98%) a ta durante 50 h. Se neutraliza la mezcla de reacción con NaOH acuoso 2 N en el frío. Tras la evaporación hasta la sequedad, se purifica el residuo mediante cromatografía en gel de sílice para proporcionar II (19,2 g).

45 Síntesis del producto intermedio (III): Se disuelven siquimato de metilo (II, 10 g), 2,2 dimetoxipropano (10 ml) y p-TsOH (0,8 g) en acetonitrilo (125 ml) y se agitan a ta durante 1 h. Entonces se neutraliza la mezcla de reacción con trietilamina (2 ml) y se evapora hasta la sequedad. Se cromatografía el residuo en gel de sílice para producir III (11 g).

Síntesis del producto intermedio IV: Se hidrogenan el derivado de ácido siquímico III (10 g) y PtO₂/C (10%, 250 mg) en MeOH (40 ml) a ta con agitación vigorosa. Tras 16 h se filtra la mezcla de reacción sobre Celite y se evapora hasta la sequedad. Se cromatografía el residuo en gel de sílice para producir IV.

50 Síntesis del producto intermedio V: A una disolución de IV (8 g) en DCM (100 ml) a 0°C se le añaden piridina (12 ml),

anhídrido acético (7 ml) y un DMAP (25 mg). Se agita la mezcla de reacción a ta durante 1 h, y se diluye con EtOAc (250 ml). Tras lavar con HCl acuoso 0,5 M (3x50 ml), disolución saturada de KHCO₃ (3x50 ml) y salmuera (3x50 ml), se secan las fases orgánicas combinadas (Na₂SO₄) y se evaporan hasta la sequedad. Se purifica el residuo mediante cromatografía en gel de sílice para producir V (6,8 g).

- 5 Síntesis del producto intermedio VI: Se agita una disolución de V (6,0 g) en ácido acético (30 ml, 80%) a 80°C durante 1 h. Se elimina el disolvente mediante evaporación y se purifica el residuo mediante cromatografía en gel de sílice (DCM/MeOH 14:1) para producir VI (3,6 g).

- 10 Síntesis del producto intermedio (VII): Se agita una disolución de VI (3 g) y p-TsCl (3,5 g) en piridina (30 ml) a ta durante 6 h. Se añade MeOH (5 ml) y se evapora el disolvente a presión reducida, se disuelve el residuo en EtOAc (3x150 ml) y se lavan las fases orgánicas con HCl 0,5 M acuoso (0°C.), agua (fría) y salmuera (fría). Se secan las fases orgánicas combinadas (Na₂SO₄), se filtran sobre Celite y se evaporan hasta la sequedad. Se purifica el residuo mediante cromatografía en gel de sílice (tolueno/EtOAc 4:1) para producir VII (3,7 g).

- 15 Síntesis del compuesto VIII: Se agita una disolución de VII (3 g) y NaN₃ (2,5 g) en DMF (20 ml) a 80°C. Se enfría la mezcla de reacción hasta ta y se diluye con EtOAc (200 ml) y agua (50 ml). Se lava adicionalmente dos veces la fase orgánica con agua (2x50 ml) y una vez con salmuera (50 ml). Se extraen todas las fases acuosas dos veces con EtOAc (2x50 ml). Se secan las fases orgánicas combinadas con Na₂SO₄, se filtran y se elimina el disolvente mediante evaporación. Se purifica el residuo mediante cromatografía en gel de sílice (éter de petróleo/EtOAc 5:2) para proporcionar VIII (2,2 g).

- 20 Síntesis del compuesto X: A una disolución de 2,3,4-tri-O-bencil- α -L-fucotiopiranosido de etilo IX (1,5 g) en DCM (3 ml), se le añade bromo (150 μ l) a 0°C bajo argón. Tras 5 min se retira el baño de enfriamiento y se agita la mezcla de reacción durante 25 min adicionales a ta. Se añade ciclohexeno (200 μ l) y se añade la mezcla de reacción a una disolución de VIII (400 mg), (Et)₄NBr (750 mg) y tamices moleculares de 4Å en polvo en DCM (10 ml) y DMF (5 ml). Tras 16 h, se añade trietilamina (1,5 ml) y se agita durante 10 min adicionales, se diluye con EtOAc (50 ml) y se lava con NaHCO₃ acuoso saturado, agua y salmuera. Se extraen las fases acuosas dos veces con EtOAc (2x50 ml). Se secan las fases orgánicas combinadas (Na₂SO₄), se filtran y se evaporan hasta la sequedad. Se purifica el residuo mediante cromatografía en gel de sílice (tolueno/EtOAc 9:1) para producir X (700 mg).
- 25

- 30 Síntesis del compuesto XI: A una disolución de X (1,5 g) en MeOH (20 ml) se le añade NaOMe recién preparado (80 mg) y se agita la mezcla de reacción en un tubo de presión a 80°C durante 20 h. Se enfría la mezcla de reacción hasta ta y se neutraliza con ácido acético. Se evapora el disolvente hasta la sequedad y se disuelve el residuo en éter. Se añade diazometano recién preparado y se neutraliza el diazometano en exceso con ácido acético. Se elimina el disolvente mediante evaporación para proporcionar XI (1,25 g).

Síntesis del elemento estructural XV: Se realiza esta síntesis exactamente de la misma manera que se describió anteriormente (Helvetica Chemica Acta 83:2893-2907 (2000)).

- 35 Síntesis del compuesto XVI: Se agita una mezcla de XI (1,6 g), XV (3 g) y tamices moleculares de 4Å en polvo activados (1 g) en DCM (17 ml) a ta bajo argón durante 2 h. Entonces se añade DMTST (2 g) en 4 partes iguales durante un periodo de 1,5 h. Tras 24 h se filtra la mezcla de reacción sobre Celite y se diluye el filtrado con DCM (100 ml). Se lava la fase orgánica con NaHCO₃ acuoso saturado y salmuera y se extraen las fases acuosas dos veces con DCM. Se secan las fases orgánicas combinadas (Na₂SO₄), se filtran y se evaporan hasta la sequedad. Se purifica el residuo mediante cromatografía en gel de sílice (tolueno/ EtOAc 8:1) para producir XVI (1,5 g).

- 40 Síntesis del compuesto XVII: A una disolución de XVI (500 mg) y cloruro del ácido orótico (500 mg) en diclorometano (10 ml) se le añade una disolución de trifenilfosfina (500 mg en 5 ml diclorometano) gota a gota durante 10 min. Se agita la mezcla de reacción a ta durante 25 h y se elimina el disolvente mediante evaporación. Se purifica el residuo (cromatografía en gel de sílice DCM/MeOH 19:1) para proporcionar XVII (250 mg).

- 45 Síntesis del compuesto XVIII: A una disolución de XVII (200 mg) en dioxano-agua (5:1, 12 ml) se le añade Pd al 10% -C (100 mg) y se agita la mezcla de reacción vigorosamente bajo hidrógeno (55 psi) durante 24 h. Se filtra el catalizador a través de un lecho de Celite y se elimina el disolvente mediante evaporación. Se purifica el residuo mediante cromatografía en gel de sílice para proporcionar el compuesto XVIII (150 mg).

- 50 Síntesis de XIX: A una disolución del compuesto XVIII (145 mg) en MeOH (5 ml) se le añade una disolución de NaOMe en MeOH (25%, 0,025 ml) y se agita la mezcla de reacción a ta durante 4 h, se neutraliza con ácido acético y se elimina el disolvente mediante evaporación. Se disuelve el residuo en agua y se hace pasar a través de un lecho de resina Dowex 50wX-8 (forma de Na). Se elimina mediante evaporación el lavado con agua para proporcionar el compuesto XIX (100 mg).

- 55 Síntesis de EDA-XIX: Se calienta XIX (80 mg) a 70°C con etilendiamina (EDA) (1 ml) con agitación durante 5 h. Se elimina el disolvente mediante evaporación y se purifica mediante columna de Sephadex G-25 para proporcionar EDA-XIX (82 mg).

Ejemplo 5

Síntesis de glicomimético (figura 4)

Síntesis del compuesto XXI: A una disolución del compuesto XX (1,5 g, sintetizado según el procedimiento publicado anteriormente en Carbohydrate Chemistry and Biochemistry, 2000, vol. 1, página 345-365) en piridina (60 ml) se le añade anhídrido benzoico (0,73 g) y dimetilaminopiridina (0,02 g). Se agita la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 20 h. Se elimina el disolvente mediante evaporación y se disuelve el residuo en diclorometano. Se lava sucesivamente la disolución con HCl 1 N frío y agua. Se seca la disolución (sulfato de sodio) y se concentra hasta la sequedad. Se purifica el residuo mediante cromatografía en columna (gel de sílice) para proporcionar el compuesto XXI (1 g).

Síntesis del compuesto XXII: A una disolución del compuesto XXI en diclorometano (20 ml) se le añade ácido trifluoroacético (20 ml) a 0°C y se agita la mezcla de reacción a la misma temperatura durante 1 h. Se elimina el disolvente mediante evaporación y se purifica el residuo mediante cromatografía en columna (gel de sílice) para proporcionar el compuesto XXII (0,6 g).

Síntesis del compuesto XXIII: A una disolución del compuesto XXII (1 g) en diclorometano (40 ml) se le añade DBU (0,05 ml) y tricloroacetnitrilo (0,4 g) a 0°C. Se agita la disolución a la misma temperatura durante 1,5 h. Se elimina el disolvente mediante evaporación y se purifica mediante cromatografía en columna (gel de sílice) para proporcionar el compuesto XXIII (0,6 g).

Síntesis del compuesto XXIV: A una mezcla de compuesto XI (0,7 g), compuesto XXIII (0,5 g) en diclorometano (40 ml) y tamices moleculares (4 Å, 5 g) se le añade una disolución de TMSOTf (0,15 ml en diclorometano (5 ml)) gota a gota a 0°C con agitación. Se sigue con la agitación a la misma temperatura durante 2 h. Se añade trietilamina (0,2 ml) y se filtra la mezcla de reacción a través de un lecho de Celite. Se lava la mezcla de reacción con disolución saturada fría de bicarbonato de sodio y agua. Se seca (sulfato de sodio) y se concentra hasta la sequedad. Se purifica el residuo mediante cromatografía en columna (gel de sílice) para proporcionar el compuesto XXIV (0,7 g).

Síntesis del compuesto XXV: A una disolución del compuesto XXIV (0,6 g) en DMF (30 ml) se le añade DBU (30 gotas) y dl-ditio-treitol (DTT, 0,28 g). Se agita la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 1 h. Se elimina el disolvente mediante evaporación, se disuelve el residuo en diclorometano y se lava con agua. Se seca la fase orgánica (sulfato de sodio) y se concentra hasta la sequedad. Se purifica el residuo mediante cromatografía en columna (gel de sílice) para proporcionar el compuesto XXV (0,45 g).

Síntesis del compuesto XXVI: A una disolución del compuesto XXV (0,4 g) en DMF (10 ml) se le añade ácido orótico (0,14 g), EEDQ (0,19 g), 4-metil-morfolina (0,09 g) y se agita la mezcla de reacción a 70°C durante 20 h. Se elimina el disolvente mediante evaporación y se disuelve el residuo en diclorometano. Se lava la disolución con disolución saturada fría de bicarbonato de sodio y agua. Se seca la fase orgánica (sulfato de sodio) y se concentra hasta la sequedad. Se purifica el residuo mediante cromatografía en columna (gel de sílice) para proporcionar el compuesto XXVI (0,2 g).

Síntesis del compuesto XXVII: Se hidrogena el compuesto XXVII (0,2 g) exactamente en la misma condición que se describe y se desbenzoíla parcialmente el producto intermedio usando NaOMe en MeOH tal como se describe para proporcionar el compuesto XXVII (0,050 g) tras purificación cromatográfica.

Síntesis del compuesto XXVIII: Se trata el compuesto XXVII con etilendiamina tal como se describe y se purifica mediante cromatografía en columna (gel de sílice y filtración en gel Sephadex G-25) para proporcionar el compuesto XXVIII (25 mg).

Ejemplo 6

Síntesis de BASA PEGilado (figura 7B)

A una disolución de ácido 3,6-dioxaoctanodioico (PEG, 200 mg, disponible comercialmente) en DMF (1 ml) se le añade base de Hunig (0,4 ml), y luego se añade HATU (0,35 g) tras 5 min. Se agita la disolución a TA durante 10 min y entonces se añade una disolución del BASA del ejemplo 2 (50 mg) en DMF (0,1 ml). Se agita la mezcla de reacción durante 4 h a ta y se elimina el disolvente mediante evaporación. Se purifica el residuo mediante HPLC (columna C18 de fase inversa) para proporcionar XXXIII (40 mg).

Ejemplo 7

Síntesis de BASA PEGilado (figura 7A)

Se realiza esta síntesis de la misma manera que se describió en el ejemplo 6, excepto que se usa el BASA del ejemplo 1 para proporcionar XXXII (50 mg).

Ejemplo 8

Síntesis de BACA PEGilado (figura 7C)

Síntesis del producto intermedio XXXIV (método 1): Se suspende el BACA del ejemplo 3 (0,5 g) en metanol-agua (1 ml, 9:1) y se ajusta el pH hasta 8,2 mediante la adición de una disolución acuosa de Cs₂CO₃. Se elimina el disolvente y luego se evapora conjuntamente con tolueno. Se disuelve el residuo en DMF (1 ml). Se añade bromuro de bencilo (0,5 ml) y se agita durante 20 h a temperatura ambiente. Se añade diclorometano (15 ml) lavado con agua fría. Se seca la fase orgánica (sulfato de sodio anhidro) y se elimina el disolvente mediante evaporación. Se purifica el residuo mediante cromatografía en columna (sílice) para proporcionar XXXIV (0,48 g).

Síntesis del producto intermedio XXXIV (método 2): A una disolución del BACA del ejemplo 3 (1 g) en DMF se le añade N,N-diisopropiletilamina (1,5 g) y bromuro de bencilo (1,5 g). Se agita la mezcla de reacción a 50°C durante 20 h. Se elimina el disolvente mediante evaporación y se purifica el residuo mediante cromatografía en columna (sílice) para proporcionar XXXIV.

Síntesis del producto intermedio de XXXV: A una disolución de XXXIV (0,2 g) en MeOH (10 ml) se le añade borohidruro de sodio (0,070 g) a 0°C y se agita la mezcla de reacción a 0°C durante 1 h. Se extingue la reacción mediante adición de ácido acético y se concentra hasta la sequedad. Se purifica el residuo mediante cromatografía en columna (sílice) para proporcionar XXXV (0,16 g).

Síntesis del producto intermedio de XXXVb: A una disolución de XXXV (0,36 g) en diclorometano se le añade trietilamina (0,6 ml) y MeSO₂Cl (0,29 ml). Se agita la mezcla de reacción a TA durante 21 h. Se diluye la mezcla de reacción con diclorometano, se lava con agua, HCl 1 M y salmuera. Se seca la fase orgánica (Na₂SO₄) y se concentra hasta la sequedad para proporcionar XXXVa bruto. A una disolución de XXXVa bruto en DMF (5 ml) se le añade NaN₃ (0,18 g). Se agita la mezcla de reacción a 100°C durante 4 h y se elimina el disolvente mediante evaporación. Se disuelve el residuo en CH₂Cl₂ y se lava con salmuera fría, HCl 1 M frío, disolución fría de NaHCO₃, y agua fría. Se seca la fase orgánica (Na₂SO₄) y se concentra hasta la sequedad. Se purifica el residuo mediante cromatografía en columna (sílice) para proporcionar XXXVb (0,14 g).

Síntesis del producto intermedio XXXVc: A una disolución de XXXVc (0,08 g) en DMF (3 ml) se le añade DTT (0,04 g) y DBU (0,02 ml) y se agita a TA durante 1 h. Se elimina el disolvente mediante evaporación y se disuelve el residuo en EtOAc, se lava con H₂O y se concentra la fase orgánica hasta la sequedad. Se purifica el residuo mediante cromatografía en columna (sílice) para proporcionar el producto intermedio XXXVc (0,061 g).

Síntesis del producto intermedio XXXVd: A una disolución de ácido PEG-dicarboxílico monoprotectado (0,6 g) en DMF (3 ml) se le añade diisopropiletilamina (0,24 ml) y HATU (0,513 g) con agitación. Se añade una disolución de producto intermedio XXXVc (0,185 g) en DMF (3 ml) en la disolución anterior. Se agita la mezcla de reacción a TA durante 1 h. Se elimina el disolvente mediante evaporación y se disuelve el residuo en EtOAc. Se lava la fase de EtOAc con agua y se purifica mediante cromatografía en columna para proporcionar el producto intermedio XXXVd.

Síntesis de XXXVI: A una disolución de XXXVd (0,185 g) en AcOH glacial (3 ml) se le añade polvo de Zn (0,1 g) y se agita la reacción a 40°C durante 30 min. Se filtra la mezcla de reacción a través de un lecho de Celite y se lava la torta de Zn con MeOH. Se concentra el filtrado hasta la sequedad y se purifica mediante columna C18 Sep-Pak para proporcionar XXXVI (0,050 g).

Síntesis del producto intermedio XXXIVa: Se somete a reflujo una suspensión de complejo de TiCl₄-tetrahidrofurano (0,705 g) y polvo de Zn (0,28 g) en THF (25 ml) durante 2 h a 75°C durante 2 h con agitación bajo atmósfera inerte. A esta mezcla se le añade una disolución del BACA del ejemplo 3 (0,3 g) y N-fluorenilmetoxicarbonil-3-aminopropanol (0,312 g, preparada tal como se describe en la bibliografía, Casimiro-García *et al*, Bioorg. Med. Chem., 1979 (2001) 2827). Se agita la mezcla de reacción a 75°C durante 2,5 h (acoplamiento de McMurray) bajo atmósfera inerte. Se enfría la reacción hasta TA y se añade H₂O (30 ml), se filtra a través de un lecho de Celite y se lava el filtrado tres veces con EtOAc (30 ml cada vez). Se recoge junto la fase orgánica y se seca (Na₂SO₄), se filtra y se concentra hasta la sequedad. Se purifica el residuo mediante cromatografía en columna para producir XXXIVa.

Síntesis del producto intermedio XXXIVb: A una disolución de XXXIVa (0,444 g) en THF anhidro (21 ml) se le añade piperidina (6,25 ml) y se agita la mezcla de reacción a TA durante 3 h. Se elimina el disolvente mediante evaporación y se purifica el residuo mediante cromatografía en columna (sílice) para proporcionar el producto intermedio XXXIVb (0,26 g).

Síntesis en fase sólida del producto intermedio XXXIVc: Se agita una mezcla de resina de PS-carbodiimida (0,200 g), HOBt (0,030 g) y COOH monoprotectado con PEG (0,080 g) en CH₂Cl₂ (3 ml) durante 5 min a TA en un reactor en jeringuilla. A la mezcla anterior se le añade una disolución de producto intermedio XXXIVb (0,080 g) en CH₂Cl₂ (3 ml) y se agita la mezcla de reacción a TA durante 3 h. Se añade resina de MP-carbonato (0,216 g) y se agita durante 2 h a TA. Se elimina la resina mediante filtración y entonces se lava la resina 5 veces con CH₂Cl₂. Se combina el filtrado y se concentra hasta la sequedad para proporcionar el producto intermedio XXXIVc.

Síntesis del producto intermedio XXXVIa: Se trata XXXIVc (0,12 g) con Zn/AcOH exactamente de la misma manera que se describe para la síntesis del producto intermedio XXXVI para producir el producto intermedio XXXVIa (0,104 g).

Ejemplo 9

Síntesis de BACA PEGilado (figura 7C)

Síntesis del producto intermedio XXXIVa: Se somete a reflujo una suspensión de complejo $TiCl_4$ -tetrahidrofurano (0,705 g) y polvo de Zn (0,28 g) en THF (25 ml) durante 2 h a 75°C durante 2 h con agitación bajo atmósfera inerte. A esta mezcla se le añade una disolución del BACA del ejemplo 3 (0,3 g) y N-fluorenilmetoxicarbonil-3-aminopropanol (0,312 g, preparada tal como se describe en la bibliografía, Casimiro-García *et al*, Bioorg. Med. Chem., 1979 (2001) 2827). Se agita la mezcla de reacción a 75°C durante 2,5 h (acoplamiento de McMurray) bajo atmósfera inerte. Se enfría la reacción hasta TA y se añade H_2O (30 ml), se filtra a través de un lecho de Celite y se lava el filtrado tres veces con EtOAc (30 ml cada vez). Se recogen juntas las fases orgánicas y se secan (Na_2SO_4), se filtran y se concentran hasta la sequedad. Se purifica el residuo mediante cromatografía en columna para producir XXXIVa.

Síntesis del producto intermedio XXXIVb: A una disolución de XXXIVa (0,444 g) en THF anhidro (21 ml) se le añade piperidina (6,25 ml) y se agita la mezcla de reacción a TA durante 3 h. Se elimina el disolvente mediante evaporación y se purifica el residuo mediante cromatografía en columna (sílice) para proporcionar el producto intermedio XXXIVb (0,26 g).

Síntesis en fase sólida del producto intermedio XXXIVc: Se agita una mezcla de resina de PS-carbodiimida (0,200 g), HOBt (0,030 g) y COOH monoprotectado con PEG (0,080 g) en CH_2Cl_2 (3 ml) durante 5 min a TA en un reactor en jeringuilla. A la mezcla anterior se le añade una disolución del producto intermedio XXXIVb (0,080 g) en CH_2Cl_2 (3 ml) y se agita la mezcla de reacción a TA durante 3 h. Se añade resina de MP-carbonato (0,216 g) y se agita durante 2 h a TA. Se elimina mediante filtración la resina y entonces se lava la resina 5 veces con CH_2Cl_2 . Se combina el filtrado y se concentra hasta la sequedad para proporcionar el producto intermedio XXXIVc.

Síntesis de XXXVIa: Se trata XXXIVc (0,12 g) con Zn/AcOH exactamente de la misma manera que se describe para la síntesis del producto intermedio XXXVI para producir el producto intermedio XXXVIa (0,104 g).

Ejemplo 10

Síntesis de glicomimético-BASA (figura 8A)

A una disolución de XXXII del ejemplo 7 (0,015 g) en DMF (0,1 ml) se le añade base de Hunig (0,015 ml) y luego HATU (0,007 g). Se agita la mezcla de reacción durante 10 min a TA. Se añade una disolución de EDA-XIX del ejemplo 4 (0,010 g en DMF ml) y se agita la mezcla de reacción a TA durante 8 h. Se elimina el disolvente mediante evaporación y se purifica el residuo mediante cromatografía Sephadex G-25 para proporcionar glicomimético-BASA de la figura 8A (0,008 g).

Ejemplo 11

Síntesis de glicomimético-BACA (figura 8B)

Acoplamiento entre EDA-XIX y XXXVI: A una disolución de XXXVI del ejemplo 8 en DMF se le añade diisopropiltilamina y luego HATU. Se agita la disolución durante 3 min a TA. Entonces se añade la disolución anterior a EDA-XIX con agitación en un vial cónico. Se agita la mezcla de reacción durante 2 h a TA. Se elimina el disolvente mediante evaporación para proporcionar el producto intermedio XXXVIb bruto y se usa para la siguiente etapa sin purificación adicional.

Se trata el XXXVIb bruto con NaOMe-MeOH- H_2O durante 2 h y entonces se purifica mediante filtración en gel para proporcionar un glicomimético-BACA.

Acoplamiento entre EDA-XIX y XXXVIa del ejemplo 9: Se realiza esta reacción de acoplamiento exactamente de la misma manera que se describió para la síntesis de XXXVIb para proporcionar el producto XXXVIc bruto.

Se trata XXXVIc con NaOMe-MeOH- H_2O exactamente de la misma manera que se describió para proporcionar un glicomimético-BACA.

Ejemplo 12

Síntesis de glicomimético-BASA (figura 8C)

Se realiza esta síntesis de la misma manera que se describió en el ejemplo 10 usando XXXIII del ejemplo 6 y EDA-XIX del ejemplo 4 para proporcionar el glicomimético-BASA de la figura 8C. Alternativamente, XXXIII puede reemplazarse con XLV del ejemplo 18 para la reacción con EDA-XIX.

Ejemplo 13

Síntesis de glicomimético-BASA (figura 9A)

Se realiza esta síntesis de la misma manera que se describió en el ejemplo 10 usando XXXII del ejemplo 7 y EDA-

XXVIII del ejemplo 5 para proporcionar el glicomimético-BASA de la figura 9A.

Ejemplo 14

Síntesis de glicomimético-BACA (figura 9B)

5 Acoplamiento entre EDA-XXVIII y XXXVI: Se realiza esta reacción de acoplamiento exactamente de la misma manera que se describió para la síntesis de XXXVIb para proporcionar el producto XXXVIId bruto.

Se trata XXXVIId con NaOMe-MeOH-H₂O exactamente de la misma manera que se describió para proporcionar un glicomimético-BACA.

Acoplamiento entre EDA-XXVIII y XXXVIa: Se realiza esta reacción de acoplamiento exactamente de la misma manera que se describió para la síntesis de XXXVIb para proporcionar el producto XXXVIe bruto.

10 Se trata XXXVIe con NaOMe-MeOH-H₂O exactamente de la misma manera que se describió para proporcionar un glicomimético-BACA.

Ejemplo 15

Síntesis de glicomimético-BASA (figura 9C)

15 Se realiza esta síntesis de la misma manera que se describió en el ejemplo 10 usando XXXIII del ejemplo 6 y EDA-XXVIII del ejemplo 5 para proporcionar el glicomimético-BASA de la figura 9C. Alternativamente, XXXIII puede reemplazarse con XLV del ejemplo 18 para la reacción con EDA-XXVIII.

Ejemplo 16

Síntesis de glicomimético (figura 12)

20 Síntesis del producto intermedio XXXVII: Se trata una disolución del producto intermedio XXIV (0,1 g) del ejemplo 5 en piridina con cloruro de nicotilo (0,08 ml) en piridina y dimetilaminopiridina (0,04 g) de la misma manera que se describió en el ejemplo 5 para la síntesis del producto intermedio XXV para proporcionar el producto intermedio XXXVII (0,075 g).

25 Síntesis del producto intermedio XXXVIII: Se trata el producto intermedio XXXVII (0,07 g) con trifenilfosfina y cloruro del ácido orótico de la misma manera que se describió en el ejemplo 4 para la síntesis del compuesto XVII para proporcionar XXXVIII (0,048 g).

Síntesis del producto intermedio XXXIX: La hidrogenación del producto intermedio XXXVIII (0,04 g) con Pd/C tal como se describe proporciona el compuesto XXXIX (0,02 g).

Síntesis del compuesto XL: Se trata el producto intermedio XXXIX (0,015 g) con NaOH 0,5 N durante 10 min a 60°C para proporcionar el compuesto XL (0,010 g) tras purificación mediante filtración en gel Sephadex G-25.

30 Ejemplo 17

Síntesis de glicomimético (figura 13)

35 Síntesis de XLI: A una suspensión del compuesto XVI (0,1 g) en t-BuOH-agua (4 ml, 1:1) se le añade 1-etil-3-fluorobenceno (0,9 g), CuSO₄ al 1% (0,1 ml) y Na-l-ascorbato (4 mg). Se calienta la mezcla (70°C) con agitación durante 20 h. Se elimina el disolvente mediante evaporación y se disuelve el residuo en diclorometano. Se lava la fase orgánica con agua, se seca (sulfato de sodio anhidro) y se concentra hasta la sequedad. Se purifica el residuo mediante cromatografía en columna (gel de sílice) para proporcionar el compuesto XLI (0,08 g).

Síntesis de XLII: Se disuelve el compuesto XLI (0,25 g) en dioxano-agua (4:1, 7,5 ml). Se añade Pd al 10%-C (0,25 g), seguido por AcOH (7 gotas). Se hidrogena la mezcla durante 15 h a 40 psi. Se filtra la mezcla de reacción a través de un lecho de Celite y se concentra hasta la sequedad para proporcionar el compuesto XLII (0,2 g).

40 Síntesis de XLIII: A una disolución del compuesto XLII (0,2 g) en MeOH (5 ml) se le añade una disolución de NaOMe en MeOH (0,05 ml) y se agita la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 2 h. Se neutraliza la mezcla de reacción con pocas gotas de ácido acético y se concentra hasta la sequedad. Se purifica el residuo mediante cromatografía en columna (gel de sílice) para proporcionar el compuesto XLIII (0,15 g).

45 Síntesis de XLIV: Se disuelve el compuesto XLIII (0,15 g) en etilendiamina (7 ml) y se agita la mezcla de reacción a 70°C durante 9 h. Se elimina el disolvente mediante evaporación y en primer lugar se purifica el residuo mediante cromatografía en columna (gel de sílice) y luego mediante C18 de fase inversa para proporcionar el compuesto XLIV (0,11 g).

Síntesis de glicomimético-BASA (compuesto XLV): Se realiza esta síntesis de la misma manera que se describió en

el ejemplo 10 usando XXXIII del ejemplo 6 y XLIV para proporcionar el compuesto XLV.

Ejemplo 18

Síntesis de glicomimético-BASA (figura 14)

5 Síntesis del compuesto XLV: A una disolución de ácido 3,6-dioxaoctanodioico (PEG, 200 mg, disponible comercialmente) en DMF (1 ml) se le añade base de Hunig (0,4 ml) y entonces se añade HATU (0,35 g) tras 5 min. Se agita la disolución a TA durante 10 min y entonces se añade la disolución de ácido 8-aminonaftalen-1,3,6-trisulfónico (50 mg, disponible comercialmente) en DMF. Se agita la mezcla de reacción durante 4 h a TA y se elimina el disolvente mediante evaporación. Se purifica el residuo mediante HPLC (columna C18 de fase inversa) para proporcionar XLV (25 mg).

10 Síntesis del compuesto XLVI: Se realiza esta síntesis de la misma manera que se describió en el ejemplo 10 usando XLV y EDA-XIX del ejemplo 4 para proporcionar el compuesto XLVI (4 mg).

Ejemplo 19

Síntesis de glicomimético-BASA (figura 15)

15 Síntesis de XLVII: Partiendo del compuesto XXIV, se realiza esta síntesis de la misma manera que se describió para la síntesis de XLI para proporcionar el compuesto XLVI.

Síntesis de XLVIII: Partiendo del compuesto XLVII, se realiza esta síntesis de la misma manera que se describió para el compuesto XLIII (a partir de XLI) para proporcionar el compuesto XLVIII.

Síntesis de XLIX: Partiendo del compuesto XLVIII, se realiza esta síntesis de la misma manera que se describió para la síntesis de XLIV para proporcionar el compuesto XLIX.

20 Síntesis de glicomimético-BASA (compuesto L): Se realiza esta síntesis de la misma manera que se describió en el ejemplo 10 usando XXXIII del ejemplo 6 y XLIX para proporcionar el compuesto L. Alternativamente, XXXIII puede reemplazarse con XLV del ejemplo 18 para la reacción con XLIX.

Ejemplo 20

Síntesis de glicomiméticos (figura 16)

25 Síntesis del compuesto I: Tal como se describe en la bibliografía [J. Org. Chem. 54, 3738-3740 (1989); Liebigs Annalen der Chemie 575, 1 (1952)]

30 Síntesis del producto intermedio II: Se agitan I (2,8 g, 15,04 mmol), piridina (4,8 ml, 60,15 mmol), cloruro de benzoilo (3,5 ml, 30,07 mmol) y una cantidad catalítica de dimetilaminopiridina en diclorometano (6 ml) a temperatura ambiente ("t.a."). Tras 2 h, el control por CCF muestra terminación de la reacción. Entonces se diluye la mezcla de reacción con acetato de etilo (200 ml) y se lava con agua, HCl 1 N acuoso (enfriado con hielo), NaHCO₃ acuoso saturado y salmuera (cada 50 ml). Se lavan las fases acuosas dos veces con acetato de etilo (2x150 ml), se combinan y se secan con Na₂SO₄. Tras la filtración y la evaporación del disolvente se purifica el residuo mediante cromatografía en gel de sílice (PE/EtOAc 4:1) para producir el compuesto II (3,78 g, 86%).

35 Síntesis del producto intermedio III: Se agitan II (3,78 g, 13,02 mmol) y NaBH₄ en metanol (35 ml) a 0°C. Tras 30 min se extingue la mezcla de reacción con agua (15 ml) y se neutraliza con AcOH 1 N acuoso. De nuevo se añade agua (10 ml) y se extrae la mezcla 3 veces con diclorometano (3x150 ml). Se secan las fases orgánicas combinadas con Na₂SO₄, se filtran y se evaporan. La cromatografía del residuo en gel de sílice (PE/EtOAc 3,2) proporciona el compuesto III (3,7 g, 97%). [α]_D+79,78° (c=0,940, CH₂Cl₂);

40 Síntesis del producto intermedio IV: A una disolución de III (3,4 mg, 11,64 mmol) en CHCl₃ (50 ml, filtrada sobre Alox básico) a t.a. bajo argón se le añade 1-cloro-N,N,2-trimetilpropenilamina (4,94 ml, 34,93 mmol) mediante una jeringuilla. Se agita la mezcla de reacción a reflujo hasta que el control por CCF indique terminación de la reacción (30 min). Tras enfriamiento hasta t.a. se extingue la mezcla de reacción con trietilamina (6 ml) y se evapora (temperatura del baño de 30°C) hasta la sequedad. Se purifica el residuo mediante cromatografía en gel de sílice (PE/EtOAc 9:1) para producir el compuesto IV (3,3 g, 92%).

45 Síntesis del producto intermedio V: A una disolución de IV (3,25 g, 10,47 mmol) en tolueno seco (40 ml) bajo argón se añaden Bu₃SnH recién destilado (30,58 ml, 115,14 mmol) y AIBN (1,7 g, 10,47 mmol). Se somete la reacción a reflujo. Tras 75 min, cuando la CCF muestra terminación de la reacción, se enfría la mezcla de reacción hasta t.a. y entonces se diluye con acetonitrilo (50 ml). Se lava la disolución con hexano (50 ml) y se extrae la fase de hexano de nuevo con acetonitrilo (50 ml). Se evaporan las fases de acetonitrilo combinadas. La cromatografía del residuo en gel de sílice (tolueno/EtOAc 14:1) produce el compuesto V (2,66 g, 92%). [α]_D-117,79° (c=1,810, CH₂Cl₂).

50

Síntesis del producto intermedio VI: Se agita una disolución de V (2,63 g, 9,54 mmol) en AcOH al 80% acuoso a

80°C. Cuando el control por CCF indica terminación de la reacción (30 min), se enfría la mezcla de reacción hasta t.a. Tras neutralización con NaOH acuoso, se extrae la mezcla 3 veces con diclorometano (3x200 ml). Se secan las fases orgánicas combinadas con Na₂SO₄, se filtran y se evaporan hasta la sequedad. Se purifica el residuo mediante cromatografía en gel de sílice (PE/EtOAc 3:2) para producir el compuesto VI (2,01 g, 89%). [α]_D -54,86° (c=1,420, CH₂Cl₂).

Síntesis del producto intermedio VII: Se agita una disolución de VI (1,98 g, 8,39 mmol), cloruro de tolueno-4-sulfonilo recién recristalizado (1,9 g, 10,07 mmol), Bu₂SnO (2,09 g, 8,39 mmol) y trietilamina (1,8 ml, 16,78 mmol) en diclorometano seco (40 ml) a t.a. bajo argón. Tras 20 h, el control por CCF indicó terminación de la reacción. Entonces se extingue la mezcla de reacción con metanol (15 ml) y luego se evapora hasta la sequedad. La cromatografía del residuo en gel de sílice (tolueno/EtOAc 8:1) proporciona el compuesto VII (2,65 g, 85%). [α]_D -68,08° (c=0,448, CH₂Cl₂).

Síntesis del producto intermedio VIII: Se agita una mezcla de VII (640 mg, 1,71 mmol) y NaN₃ (555 mg, 8,55 mmol) en DMF (30 ml) bajo argón a 80°C. Cuando el control por CCF muestra terminación de la reacción (tras 1 h), se enfría la mezcla de reacción hasta t.a., se diluye con diclorometano (50 ml) y se lava con agua (50 ml). Entonces se extrae la fase acuosa dos veces con diclorometano (2x50 ml) y se secan las fases orgánicas combinadas con Na₂SO₄, se filtran y se evaporan. Se purifica el residuo mediante cromatografía en gel de sílice (tolueno/EtOAc 6:1) para producir el compuesto VIII (391 mg, 87%). [α]_D -69,39° (c=2,330, CH₂Cl₂).

Síntesis del producto intermedio IX: A una disolución con agitación de 2,3,4-tri-O-bencil- α -L-fucotopiranosido de etilo (223 mg, 0,47 mmol) en diclorometano seco (1 ml) a 0°C bajo atmósfera de Ar, se le añade bromo (48 μ , 0,54 mmol). Tras 5 min se retira el baño de enfriamiento y se agita la mezcla de reacción durante 40 min adicionales a t.a. Para eliminar el exceso de bromo, se añade ciclohexeno (50 μ l), lo que conduce a una decoloración de la mezcla de reacción. Entonces se añade la mezcla de reacción a una disolución agitada previamente (1 h, t.a.) de VIII (61 mg, 0,23 mmol), (Et)₄NBr (98 mg, 0,47 mmol) y tamices moleculares de 4Å en polvo (100 mg) en diclorometano (1,6 ml) y DMF (1 ml). Tras 18 h, se extingue la reacción con piridina (2 ml) y se agita durante 15 min adicionales, antes de diluirse con EtOAc (50 ml) y se lava con KHCO₃ acuoso sat., agua y salmuera (cada 50 ml). Se extraen las fases acuosas dos veces con EtOAc (2x50 ml). Se secan las fases orgánicas combinadas con Na₂SO₄, se filtran y se evaporan hasta la sequedad. Se purifica el residuo mediante cromatografía en gel de sílice (tolueno/EtOAc 9:1) para producir IX (116 mg, 73%). [α]_D -95,96° (c=1,040, CH₂Cl₂).

Síntesis del producto intermedio X: Se agitan IX (530 mg, 0,78 mmol) en MeOH (10 ml) y una cantidad catalítica de NaOMe recién preparado a t.a. bajo Ar durante 48 h. Se neutraliza la mezcla de reacción con Amberlyst-15 en polvo y se filtra sobre Celite. Se evapora el filtrado hasta la sequedad y se purifica mediante cromatografía en gel de sílice (tolueno/EtOAc 9:1) para proporcionar el compuesto X (380 mg, 85%). [α]_D -76,425° (c=4,00, CH₂Cl₂).

Síntesis del producto intermedio XI: Se agita una mezcla de X (184 mg, 0,32 mmol), el elemento estructural de galactosa [375 mg, 0,4811 mmol, síntesis tal como se describió anteriormente, Helv. Chim. Acta 83: 2893-2907 (2000)] y tamices moleculares de 4Å en polvo activados (200 mg) en diclorometano (3 ml) a t.a. bajo argón durante 4 h. Entonces se añade DMTST [B] (165 mg, 0,64 mmol) en 4 partes iguales durante un periodo de 1,5 h a una mezcla agitada previamente (4 h, t.a.) de tamices moleculares de 4Å en polvo activados (100 mg) en diclorometano (3 ml). Tras 92 h, cuando el control por CCF muestra terminación de la reacción, se filtra la mezcla de reacción sobre Celite y se diluye el filtrado con diclorometano (50 ml). Se lava la fase orgánica con NaHCO₃ acuoso sat. y salmuera (cada 20 ml) y se extraen las fases acuosas dos veces con diclorometano (2x50 ml). Se secan las fases orgánicas combinadas con Na₂SO₄, se filtran y se evaporan hasta la sequedad. Se purifica el residuo mediante cromatografía en gel de sílice (tolueno/EtOAc 9:1) para producir el compuesto XI (310 mg, 75%). [α]_D -36,98° (c=2,32, CH₂Cl₂).

Procedimiento general A

Síntesis del producto intermedio XII: A una disolución con agitación de XI (100 mg, 0,077 mol) en diclorometano seco (3 ml), se le añade cloruro del ácido acético (27 μ l, 0,387 mmol). Tras 5 min se añade PPh₃ (101 mg, 0,387 mmol) y se agita la disolución a t.a. Cuando la CCF tras 22 h muestra terminación de la reacción, se elimina el disolvente y el residuo cromatografiado en gel de sílice (tolueno/EtOAc 2:1) produce el compuesto XII (43 mg, 43%). [α]_D -55,33° (c=2,185, CH₂Cl₂).

Síntesis del producto intermedio XIII: Según el procedimiento A: XI (80 mg, 0,062 mol) con cloruro del ácido orótico (59 mg, 0,310 mmol) y PPh₃ (81 mg, 0,310 mmol), 4 h, (diclorometano/MeOH 25:1) proporciona el compuesto XIII (35 mg, 40%). [α]_D -26,08° (c=1,48, CH₂Cl₂).

Síntesis del producto intermedio XIV: Según el procedimiento A: XI (70 mg, 0,054 mmol) con cloruro del ácido bifenil-4-carboxílico (58 mg, 0,271 mmol) y PPh₃ (71 mg, 0,271 mmol), 4 h, (tolueno/EtOAc 6:1) proporciona XIV (22 mg, 28%). [α]_D -32,11° (c=1,065, CH₂Cl₂).

Síntesis del producto intermedio XV: Según el procedimiento A: XI (45 mg, 0,035 mmol) con cloruro del ácido bifenil-2-carboxílico (125 mg, 0,577 mmol) y PPh₃ (151 mg, 0,577 mmol), 5 h, (tolueno/EtOAc 6:1), proporciona el compuesto XV (22 mg, 44%). [α]_D -19,54° (c=1,10, CH₂Cl₂).

Procedimiento general B

5 Síntesis del producto intermedio XVI: Se agita una mezcla de XI (120 mg, 0,093 mmol) y PPh₃ (30 mg, 0,116 mmol) en CH₂Cl₂ (2 ml) y agua (100 µl) durante 44 h a t.a. Entonces se eliminan los disolventes y se disuelve el residuo en CH₂Cl₂ (2 ml) y se añaden DIC (11,8 mg, 0,094 mmol) y el ácido vanílico (24 mg, 0,139 mmol). Tras agitarse la mezcla a t.a. durante 62 h adicionales, se eliminan los disolventes y se purifica el producto bruto mediante cromatografía en gel de sílice (tolueno/EtOAc 2,5:1) para proporcionar el compuesto XVI (62 mg, 47%). [α]_D -29,58° (c=2,86, CH₂Cl₂).

Procedimiento general C

10 Síntesis del producto intermedio XVII: Se hidrogena una mezcla de XII (40 mg, 0,0306 mmol), Pd(OH)₂ (30 mg), dioxano (2 ml) y agua (0,4 ml) en un agitador Parr bajo 5 bar a t.a. Tras 20 h el control por CCF indicó terminación de la reacción. Se filtra la mezcla de reacción sobre Celite y se evapora hasta la sequedad. La purificación del producto bruto mediante cromatografía (CH₂Cl₂/MeOH 9:1) produjo XVII (20 mg, 69%). [α]_D -43,50° (c=1,00, MeOH).

Síntesis del producto intermedio XVIII: Según el procedimiento C: XIV (26 mg, 0,018 mmol), Pd(OH)₂ (11 mg), dioxano (1,2 ml), agua (0,25 ml), 50 h, (CH₂Cl₂/MeOH 2:1) proporciona XVIII (10 mg, 50%).

15 Síntesis del producto intermedio XIX: Según el procedimiento C: XV (22 mg, 0,015 mmol), Pd(OH)₂ (20 mg), dioxano (1 ml), agua (0,25 ml), 22 h, (CH₂Cl₂/MeOH 15:1) proporciona el compuesto XIX (13 mg, 82%). [α]_D -9,50° (c=1,21, MeOH).

Síntesis del producto intermedio XXI: Según el procedimiento C: XIII (21 mg, 0,015 mmol), Pd(OH)₂ (20 mg), dioxano (1 ml), agua (0,25 ml), 22 h, (CH₂Cl₂/MeOH 15:1) proporciona el compuesto XXI (13 mg, 86%).

20 Síntesis del producto intermedio XX: Se agita una mezcla de XVI (20 mg, 0,0141 mmol), Pd al 10%/C (20 mg), MeOH (2 ml) y AcOH (50 µl) bajo una atmósfera de hidrógeno. Cuando el control por CCF indicó terminación de la reacción (tras 22 h), se filtra la mezcla sobre Celite y se evapora hasta la sequedad. La cromatografía del residuo en gel de sílice (CH₂Cl₂/MeOH 2:1) proporciona XX (15 mg, cant.). [α]_D -29,32° (c=1,105, MeOH).

Procedimiento general D

25 Síntesis del producto XXII: Se agita una disolución de XVII (27 mg, 0,0278 mmol) en MeOH seco (1 ml) y una cantidad catalítica de NaOMe recién preparado a t.a. bajo argón. Tras 1 h, el control por CCF muestra terminación de la reacción. Se neutraliza la mezcla de reacción con Amberlyst-15 en polvo, se filtra sobre Celite y se evapora el filtrado hasta la sequedad. Se disuelve el residuo en MeOH (20 ml) y se filtra sobre Dowex Na⁺ de intercambio iónico. Se evapora el filtrado hasta la sequedad y la cromatografía (CH₂Cl₂/MeOH/agua 10:4:0,8) del producto bruto proporciona XXII (12 mg, 56%). [α]_D -97,49° (c=0,546, MeOH).

30 Síntesis del producto XXIII: Según el procedimiento D: XVIII (9,0 mg, 0,0083 mmol), 2 h, (CH₂Cl₂/MeOH/agua 10:3:0,5) proporciona el compuesto XXIII (7,5 mg, cant.). [α]_D -79,50° (c=0,400, MeOH).

Síntesis del producto XXIV: Según el procedimiento D: XIX (23 mg, 0,0212 mmol), MeOH (2 ml), 2,5 h, (CH₂Cl₂/MeOH/agua 10:3:0,5) proporciona el compuesto XXIV (7,0 mg, 39%). [α]_D -54,54° (c=0,586, MeOH).

35 Síntesis del producto XXV: Según el procedimiento D: XX (19 mg, 0,0180 mmol), MeOH (2 ml), 4 h, (CH₂Cl₂/MeOH/agua 10:3:0,5) proporciona el compuesto XXV (10,5 mg, 70%). [α]_D -69,96° (c=0,793, MeOH).

Síntesis del producto XXVI: Según el procedimiento D: XXI (19 mg, 0,0180 mmol), MeOH (2 ml), 4 h, (CH₂Cl₂/MeOH/agua 10:3:0,5) proporciona el compuesto XXVI (10 mg, 65%).

Ejemplo 21

40 Ensayo para la actividad del antagonista de la E-selectina (figura 17A)

Se recubren los pocillos de una placa de microtitulación (placa 1) con quimera de E-selectina/hlg (GlycoTech Corp., Rockville, Md.) mediante incubación durante 2 h a 37°C. Tras lavar la placa 5 veces con TrisHCl 50 mM, NaCl 150 mM, CaCl₂ 2 mM, pH 7,4 (Tris-Ca), se añaden 100 µl de BSA al 1% en Tris-Ca/Stabilcoat (SurModics, Eden Prairie, Minn.) (1:1, v/v) a cada pocillo para bloquear la unión no específica. Se diluyen en serie los compuestos de prueba en una segunda placa de fondo redondo de baja adherencia (placa 2) en Tris-Ca (60 µl/pocillo). Se añaden los conjugados preformados de SLea-PAA-biotina (GlycoTech Corp., Rockville, Md.) mezclados con estreptavidina-HRP (Sigma, St. Louis, Mo.) a cada pocillo de la placa 2 (60 µl/pocillo de 1 µg/ml). Se lava la placa 1 varias veces con Tris-Ca y se transfieren 100 µl/pocillo de la placa 2 a la placa 1. Tras la incubación a temperatura ambiente durante exactamente 2 horas se lava la placa y se añaden 100 µl/pocillo del reactivo TMB (KPL labs, Gaithersburg, Md.) a cada pocillo. Tras la incubación durante 3 minutos a temperatura ambiente, se detiene la reacción añadiendo 100 µl/pocillo de H₃PO₄ 1 M y se determina la absorbancia de luz a 450 nm mediante un lector de placas de microtitulación.

Ejemplo 22

Ensayo para determinar la actividad del antagonista de P-selectina (figura 17B)

Se recubre la neoglicoproteína, sialylLe^a-HSA (Isosep AB, Suecia) en pocillos de una placa de microtitulación (placa 1) y entonces se bloquean los pocillos mediante la adición de albúmina sérica bovina al 2% (BSA) diluida en solución salina tamponada con fosfato de Dulbecco (DPBS). En una segunda placa de microtitulación (placa 2), se diluyen en serie los antagonistas de prueba en BSA al 1% en DPBS. Tras el bloqueo, se lava la placa 1 y se transfiere el contenido de la placa 2 a la placa 1. Se añade adicionalmente la proteína quimérica recombinante P-selectina/hlg (GlycoTech Corp., Rockville, Md.) a cada pocillo en la placa 1 y se deja que el proceso de unión se incube durante 2 horas a temperatura ambiente. Entonces se lava la placa 1 con DPBS y se añade anticuerpo de cabra anti-humano Ig(γ) marcado con peroxidasa (KPL Labs, Gaithersburg, Md.) a 1 μg/ml a cada pocillo. Tras la incubación a temperatura ambiente durante 1 hora, se lava la placa con DBPS y entonces se añade sustrato de TMB (KPL Labs) a cada pocillo. Tras 5 minutos, se detiene la reacción mediante la adición de H₃PO₄ 1 M. Entonces se determina la absorbancia de luz a 450 nm usando un lector de placas de microtitulación.

Ejemplo 23

Modelo de ratón antiinflamatorio. Efectos del compuesto de prueba sobre la migración de neutrófilos inducida por IL-1β a una bolsa de aire *in vivo*. (figura 19)

Animales

Se adquieren ratones albinos suizos no consanguíneos macho (15-18 g de peso corporal) de Bantin y Kingman (T.O. cepa; Hull, Humberside) y se mantienen con una dieta de pienso para roedores convencional con agua del grifo a voluntad y un ciclo de luz/oscuridad de 12:00 h. Se alojan todos los animales durante 7 días antes de la experimentación para permitir que el peso corporal alcance ~25 g en el día del experimento (día 6; véase a continuación).

Diseño experimental

Se forman bolsas de aire en el lomo de los ratones mediante inyección de aire (2,5 ml s.c.) en el día 0 y el día 3 (Perretti & Flower, 1993). Se prepara una suspensión homogénea de carboximetilcelulosa (CMC) al 0,5% p/v en PBS y se añade IL-1β recombinante murino a la misma a una concentración de 20 ng/ml.

Se administra el compuesto de prueba en el tiempo 0 justo antes de la administración de IL-1β. También se añade un grupo extra, en el que un grupo de ratones recibió CMC sólo (sin IL-1β) para proporcionar un control negativo basal.

En todos los casos, se lavan las bolsas de aire 4 h tras IL-1β con 2 ml de PBS que contiene EDTA 3 mM, y se determina el número de leucocitos migrados (≥90% de leucocitos polimorfonucleares, PMN), tomando una alícuota (100 μl) del líquido de lavado y diluyendo 1:10 en una disolución de Turk (cristal violeta al 0,01% en ácido acético al 3%). Entonces se agitan con vórtex las muestras y se colocan 10 μl de la disolución celular teñida en un hemocitómetro Neubauer y se cuenta el número de neutrófilos usando un microscopio óptico (Olympus B061).

Administración del compuesto

En el día del experimento, se preparan disoluciones nuevas del compuesto de prueba en tampón PBS de Dulbecco complementado con CaCl₂ 1 mM y MgCl₂. Se adquieren anticuerpos monoclonales (Amc) contra P- o E-selectina de ratón de BD Pharmingen, mientras que el Amc anti-L-selectina es de Serotec:

L-selectina de rata anti-ratón (clon MEL-14): 1 mg

P-selectina de rata anti-ratón (clon RB40.34): 0,5 mg/ml

E-selectina de rata anti-ratón (clon 10E9.6): 0,5 mg/ml

Figura 19

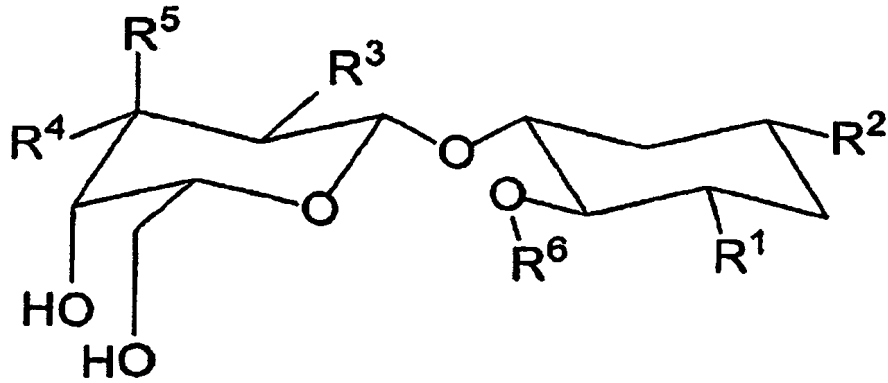
Se inflaman bolsas de aire del ratón de 6 días de edad con IL-1β (10 ng) en el tiempo 0; se administran i.v. glicomimético-BASA del ejemplo 17 (figura 13) y glicomimético-BASA del ejemplo 12 (figura 8C) en el tiempo de 0 y 4 h; y se administra i.v. la mezcla de Amc anti-selectina en el tiempo 0.

Se lavan las bolsas de aire en el punto de tiempo de 8 h y se determina el número de PMN migrados mediante tinción y microscopía óptica.

El número n es 9, 8, 7 y 8 ratones por grupo A, B, C y D, respectivamente, en la figura 19.

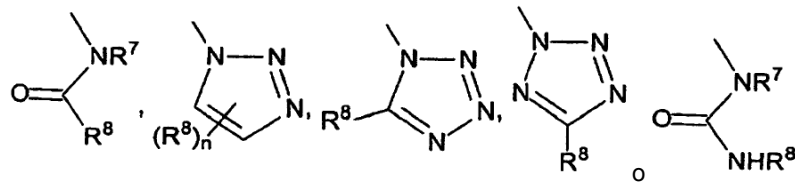
REIVINDICACIONES

1. Compuesto o sal fisiológicamente aceptable del mismo, que tiene la fórmula:



en la que

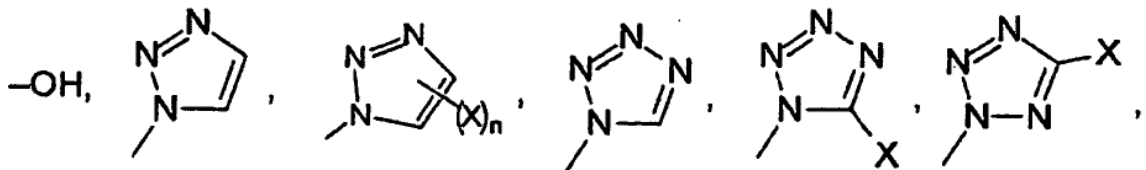
5 R¹=



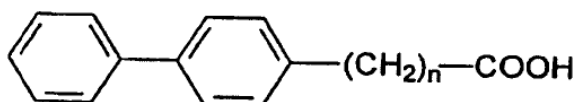
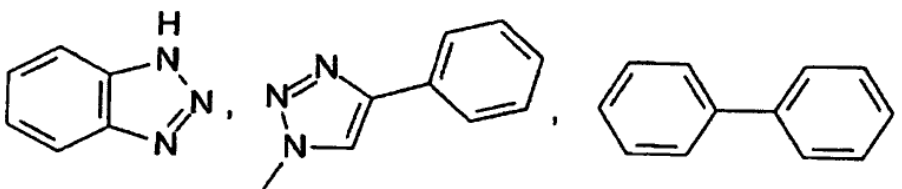
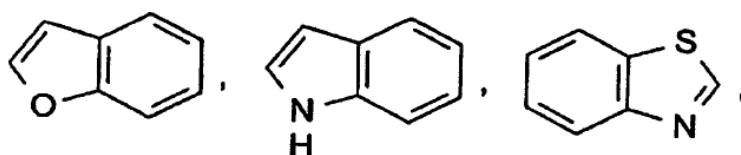
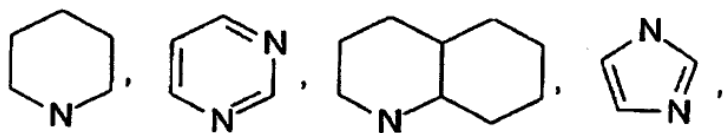
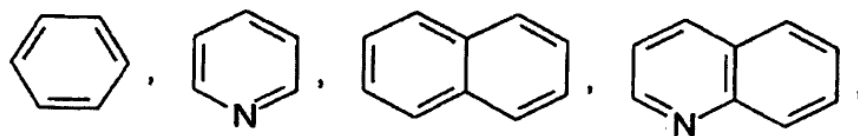
en las que n=0-2, y cuando n = 2, cada aparición de R⁸ se selecciona independientemente;

R²= -[C(=O)NH(CH₂)_nNHC(=O)]_m(L)_mZ, en la que n=0-30, m=0-1, L es un grupo de unión y Z es un ácido bencil-aminosulfónico, un ácido bencil-aminocarboxílico, o un polietilenglicol;

10 R³=



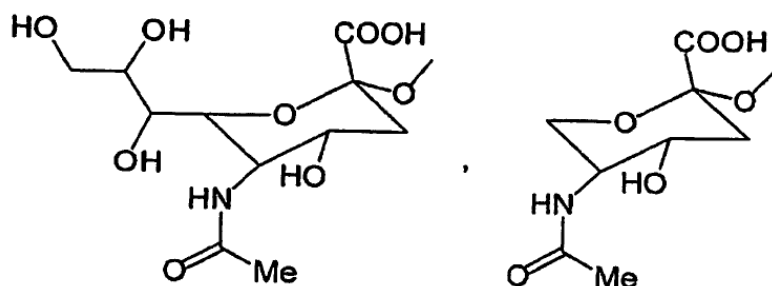
-O-C(=O)-X, -NH₂, -NH-C(=O)-NHX o -NH-C(=O)-X en las que n=0-2 y X se selecciona independientemente de alcanilo C₁-C₈, alqueno C₂-C₈, alquino C₂-C₈,



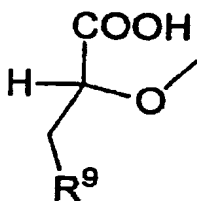
y en las que n= 0-10, y cualquiera de los compuestos de anillo anteriores puede estar sustituido con de uno a tres sustituyentes seleccionados independientemente de Cl, F, alcanilo C₁-C₈, alquenilo C₂-C₈, alquinilo C₂-C₈, arilo C₆-C₁₄, u OY en la que Y se selecciona independientemente de H, alcanilo C₁-C₈, alquenilo C₂-C₈, alquinilo C₂-C₈ o arilo C₆-C₁₄;

5

R⁴ =



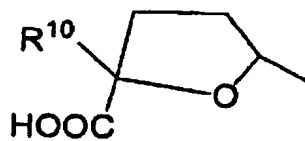
GlcNAc 6' sulfatada, GlcNAc 6' carboxilada, GalNAc 6' sulfatada, galactosa 6' sulfatada, galactosa 6' carboxilada o



10

en la que R⁹ es arilo, heteroarilo, ciclohexano, t-butano, adamantano o triazol, y cualquiera de R⁹ puede

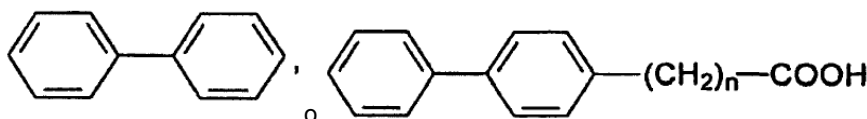
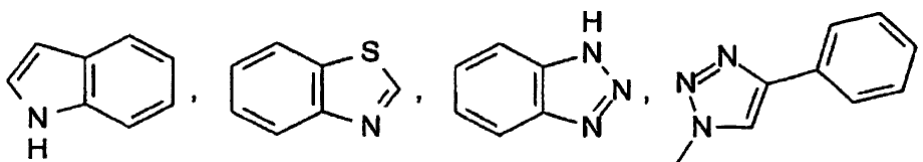
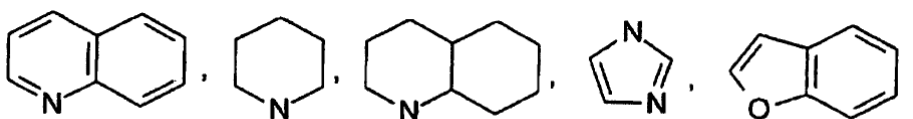
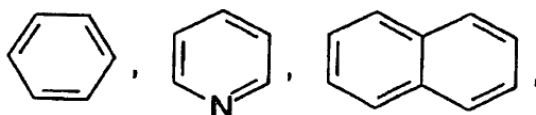
estar sustituido con de uno a tres sustituyentes seleccionados independientemente de Cl, F, alcanilo C₁-C₈, alquenido C₂-C₈, alquinilo C₂-C₈ y OY en la que Y es H, alcanilo C₁-C₈, alquenido C₂-C₈, alquinilo C₂-C₈ o arilo C₆-C₁₄;



R⁵ =H, o R⁴ y R⁵ se toman juntos para formar

5

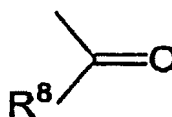
en la que R¹⁰ es arilo, heteroarilo,



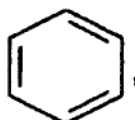
10

en las que n=0-10, y uno cualquiera de los compuestos de anillo anteriores puede estar sustituido con de uno a tres sustituyentes seleccionados independientemente de Cl, F, alcanilo C₁-C₈, alquenido C₂-C₈, alquinilo C₂-C₈ y OY en la que Y es H, alcanilo C₁-C₈, alquenido C₂-C₈, alquinilo C₂-C₈;

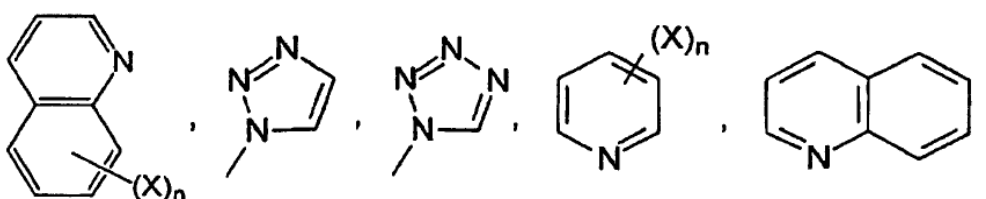
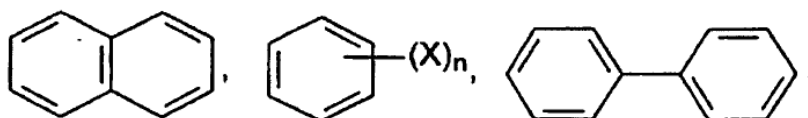
R⁶ =H, fucosa, manosa, arabinosa, galactosa o polioli;

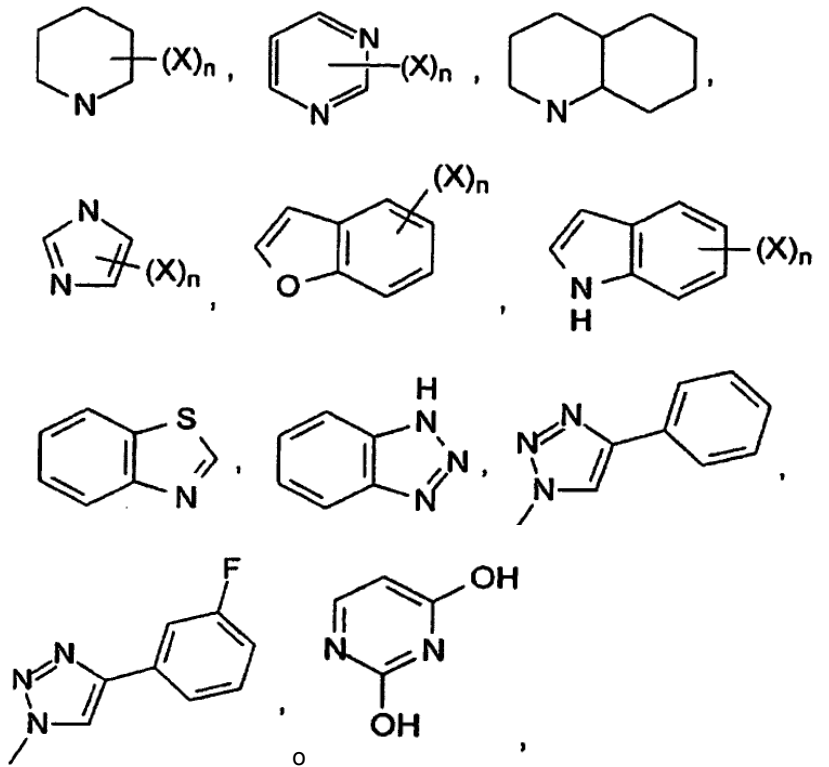


R⁷ =H, alcanilo C₁-C₈, alquenido C₂-C₈, alquinilo C₂-C₈ o ; y



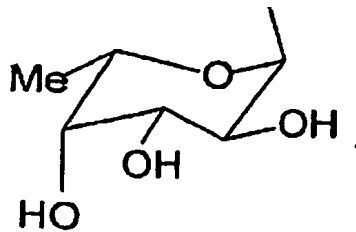
R⁸ =H, alcanilo C₁-C₈, alquenido C₂-C₈, alquinilo C₂-C₈,



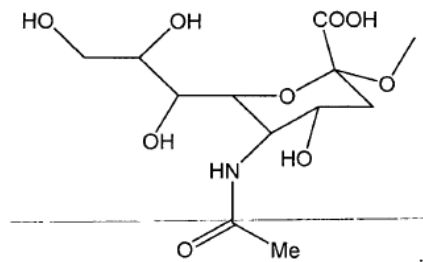


5 en las que $n=0-3$ y X se selecciona independientemente de H, OH, Cl, F, N_3 , NH_2 , alcanilo C_1-C_8 , alquenilo C_2-C_8 , alquinilo C_2-C_8 , arilo C_6-C_{14} , O-alcanilo C_1-C_8 , O-alquenilo C_2-C_8 , O-alquinilo C_2-C_8 y O-arilo C_6-C_{14} , y cualquiera de los compuestos de anillo anteriores puede estar sustituido con de uno a tres sustituyentes seleccionados independientemente de Cl, F, alcanilo C_1-C_8 , alquenilo C_2-C_8 , alquinilo C_2-C_8 , arilo C_6-C_{14} y OY en la que Y es H, alcanilo C_1-C_8 , alquenilo C_2-C_8 , alquinilo C_2-C_8 o arilo C_6-C_{14} .

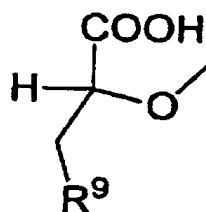
2. Compuesto o sal del mismo según la reivindicación 1, en el que R^6 es



- 10 3. Compuesto o sal del mismo según la reivindicación 1, en el que R^7 y/o R^5 es H.
4. Compuesto o sal del mismo según la reivindicación 1, en el que R^4 es



5. Compuesto o sal del mismo según la reivindicación 1, en el que R^4 es

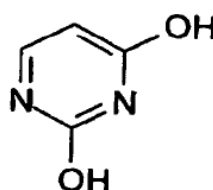


en el que R⁹ se define según la reivindicación 1.

6. Compuesto o sal del mismo según la reivindicación 5, en el que R⁹ es ciclohexano.

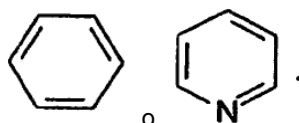
7. Compuesto o sal del mismo según la reivindicación 1, en el que R⁶ es galactosa.

5 8. Compuesto o sal del mismo según la reivindicación 1, en el que R⁸ es



9. Compuesto o sal del mismo según la reivindicación 1, en el que R³ es -O-C(=O)-X o -NH-C(=O)-X, en las que X se define según la reivindicación 1.

10. Compuesto o sal del mismo según la reivindicación 9, en el que X es



10 11. Compuesto o sal del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en el que L es un polietilenglicol o un tiadiazol.

12. Composición farmacéutica que comprende un compuesto o sal del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en combinación con un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable.

15 13. Compuesto o sal fisiológicamente aceptable del mismo que comprende un compuesto o sal del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, que comprende además un agente terapéutico o de diagnóstico.

14. Composición farmacéutica que comprende un compuesto o sal del mismo según la reivindicación 13, en combinación con un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable.

20 15. Método *in vitro* para modular una función mediada por selectina, que comprende poner en contacto una célula que expresa una selectina con un compuesto o sal del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, o con una composición farmacéutica según la reivindicación 12, en una cantidad eficaz para modular la función de la selectina.

25 16. Método *in vitro* de direccionamiento de un agente a una célula que expresa selectina, que comprende poner en contacto una célula que expresa una selectina con un compuesto o sal del mismo según la reivindicación 13, o con una composición farmacéutica según la reivindicación 14, en una cantidad eficaz para dirigir un agente terapéutico o de diagnóstico a la célula.

30 17. Compuesto o sal del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, para modular una función mediada por selectina, o para su uso en el tratamiento de un paciente que necesita inhibir el desarrollo de un estado asociado con una función mediada por selectina excesiva, o para su uso en la inhibición del rechazo de un tejido trasplantado, o para dirigir un agente terapéutico o de diagnóstico a una célula.

35 18. Uso de un compuesto o sal del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, para la preparación de un medicamento para modular una función mediada por selectina o para inhibir el desarrollo de un estado asociado con una función mediada por selectina excesiva o para inhibir el rechazo de un tejido trasplantado o para dirigir un agente terapéutico o de diagnóstico a una célula.

19. Compuesto o sal del mismo para su uso según la reivindicación 17, en el que dicho estado asociado con una función mediada por selectina excesiva es una enfermedad mediada por plaquetas o una enfermedad de trombosis.
20. Uso según la reivindicación 18, en el que dicho estado asociado con una función mediada por selectina excesiva es una enfermedad mediada por plaquetas o una enfermedad de trombosis.
- 5

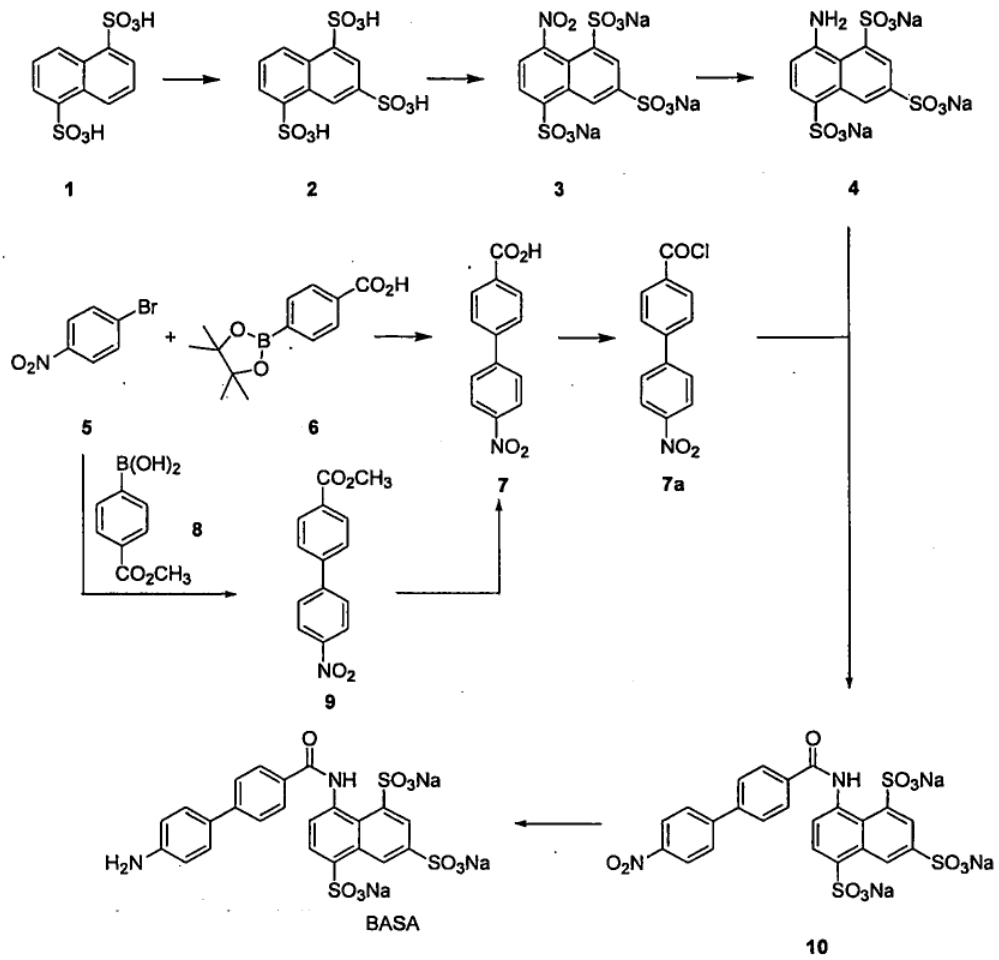


Fig. 1A

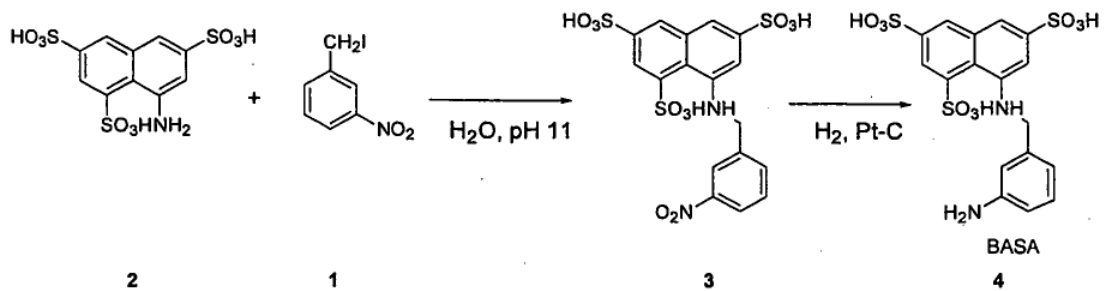


Fig. 1B

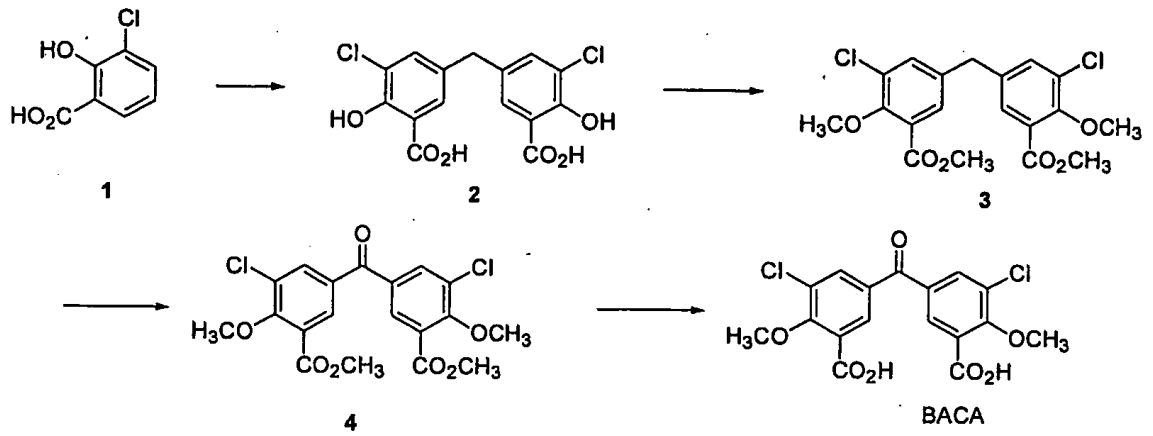


Fig. 2

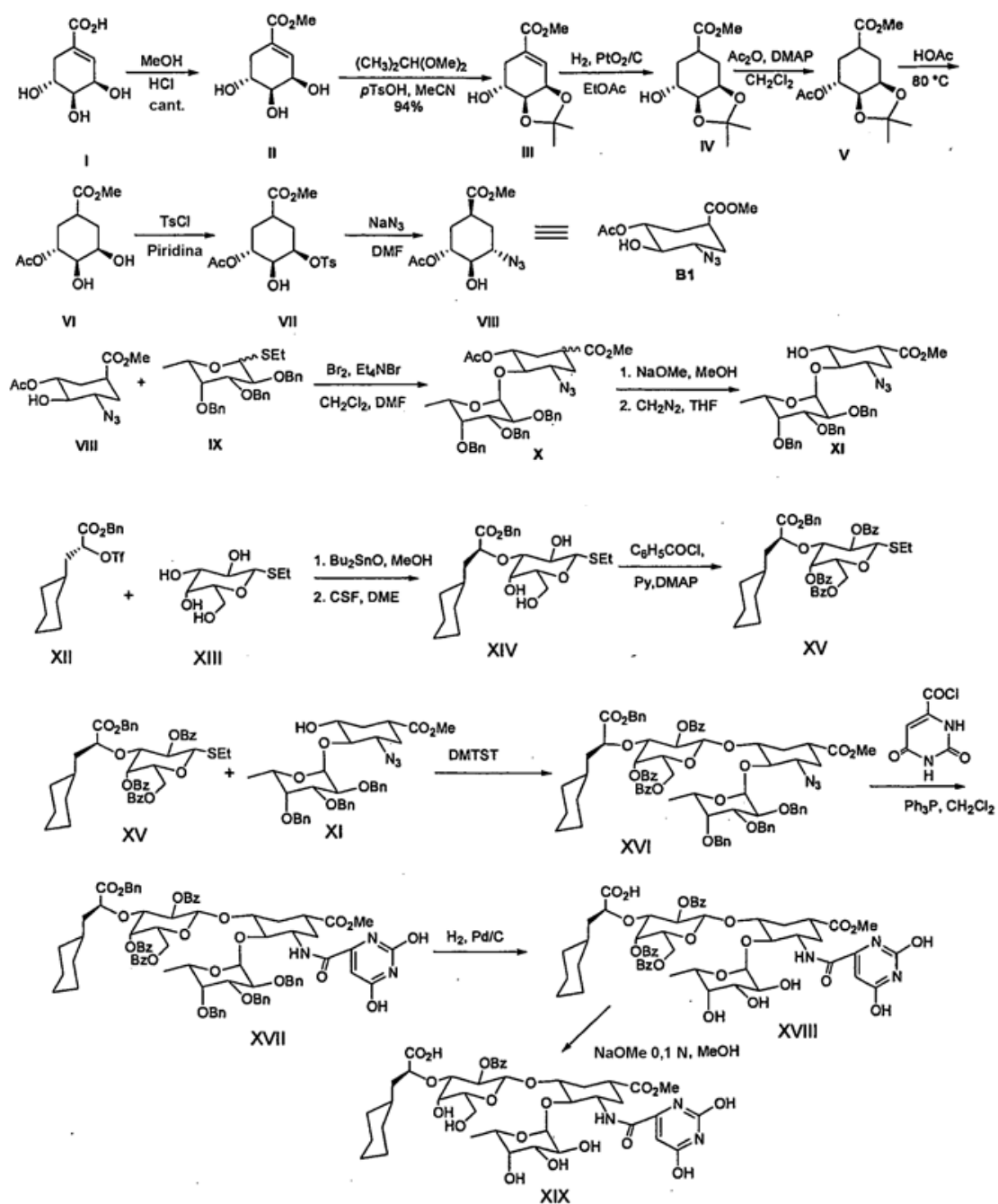


Fig. 3

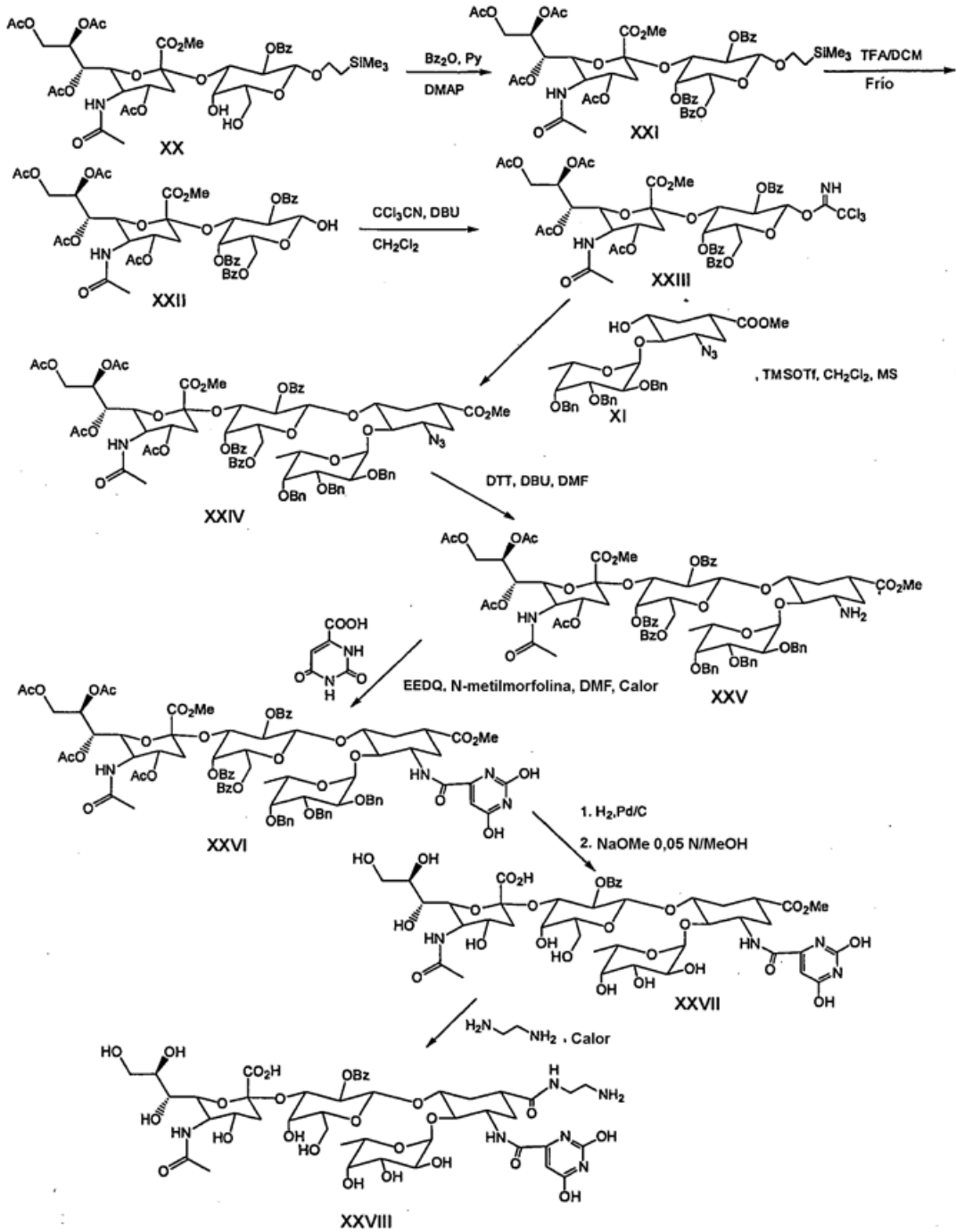


Fig. 4

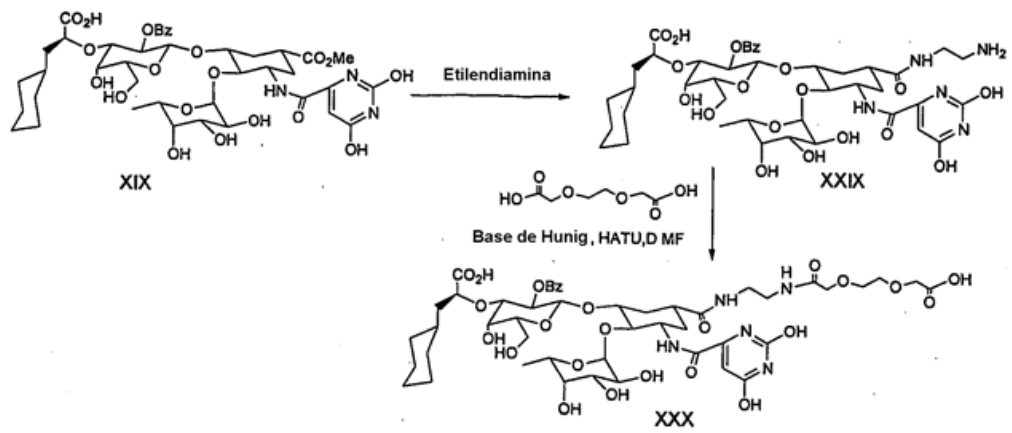


Fig. 5

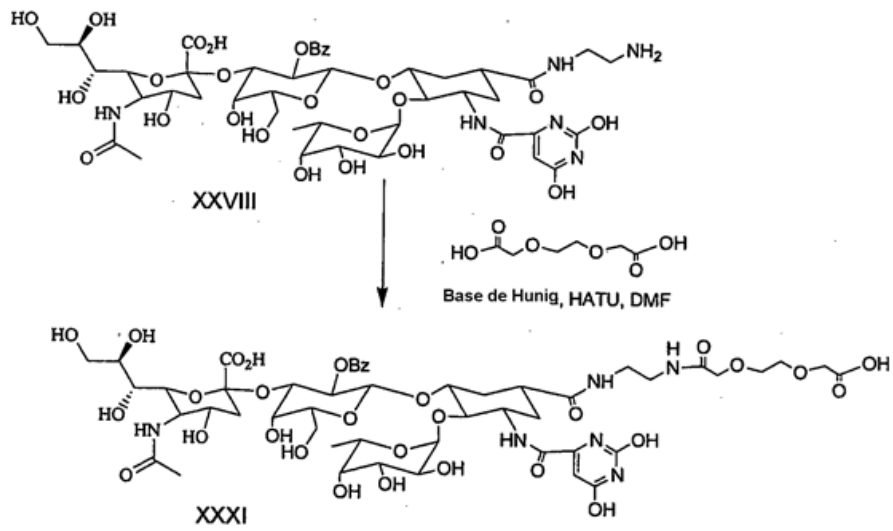


Fig. 6

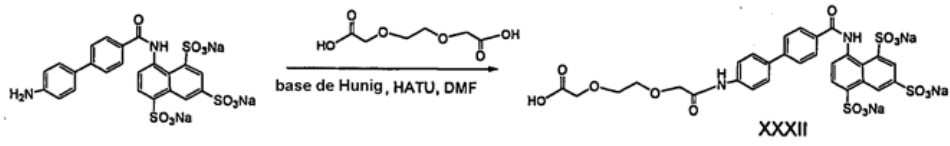


Fig. 7A

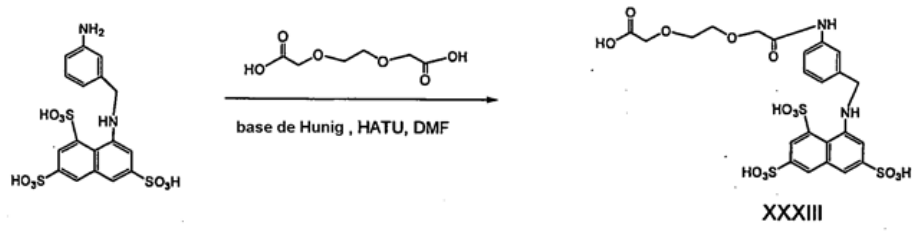


Fig. 7B

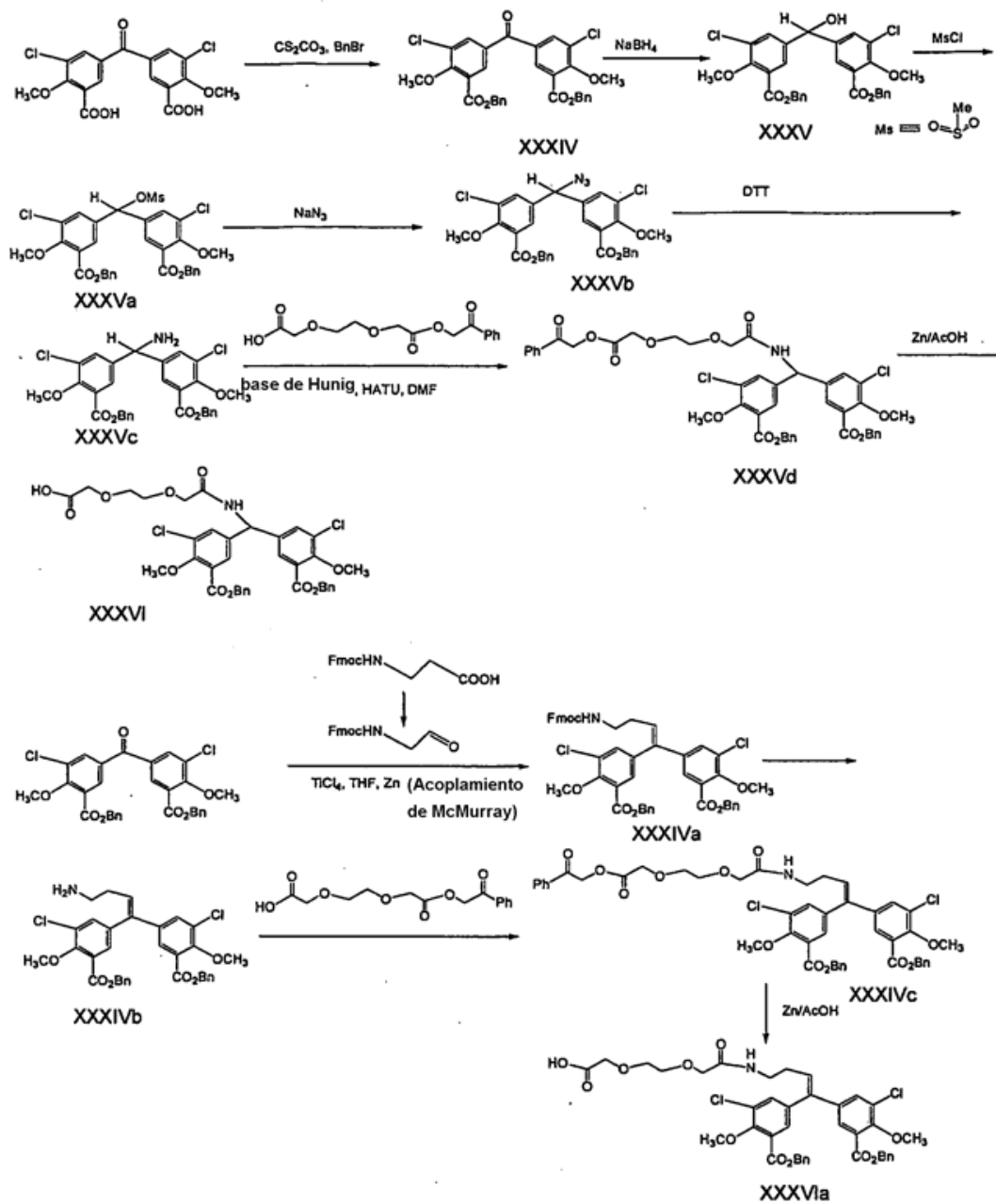


Fig. 7C

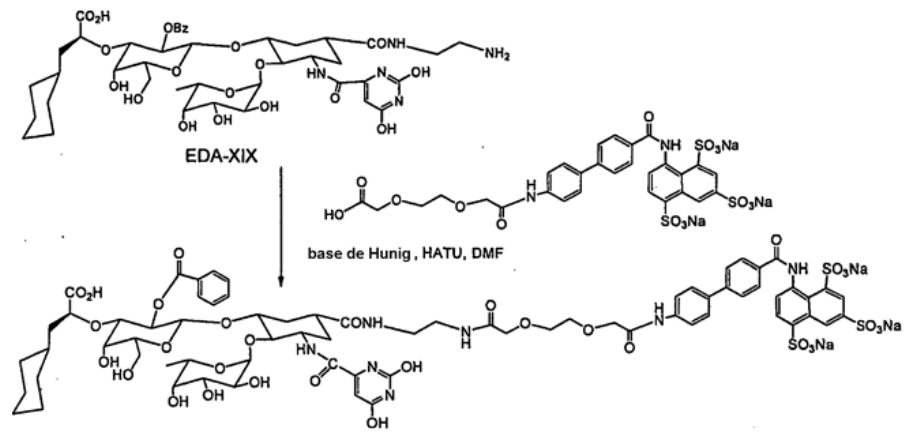


Fig. 8A

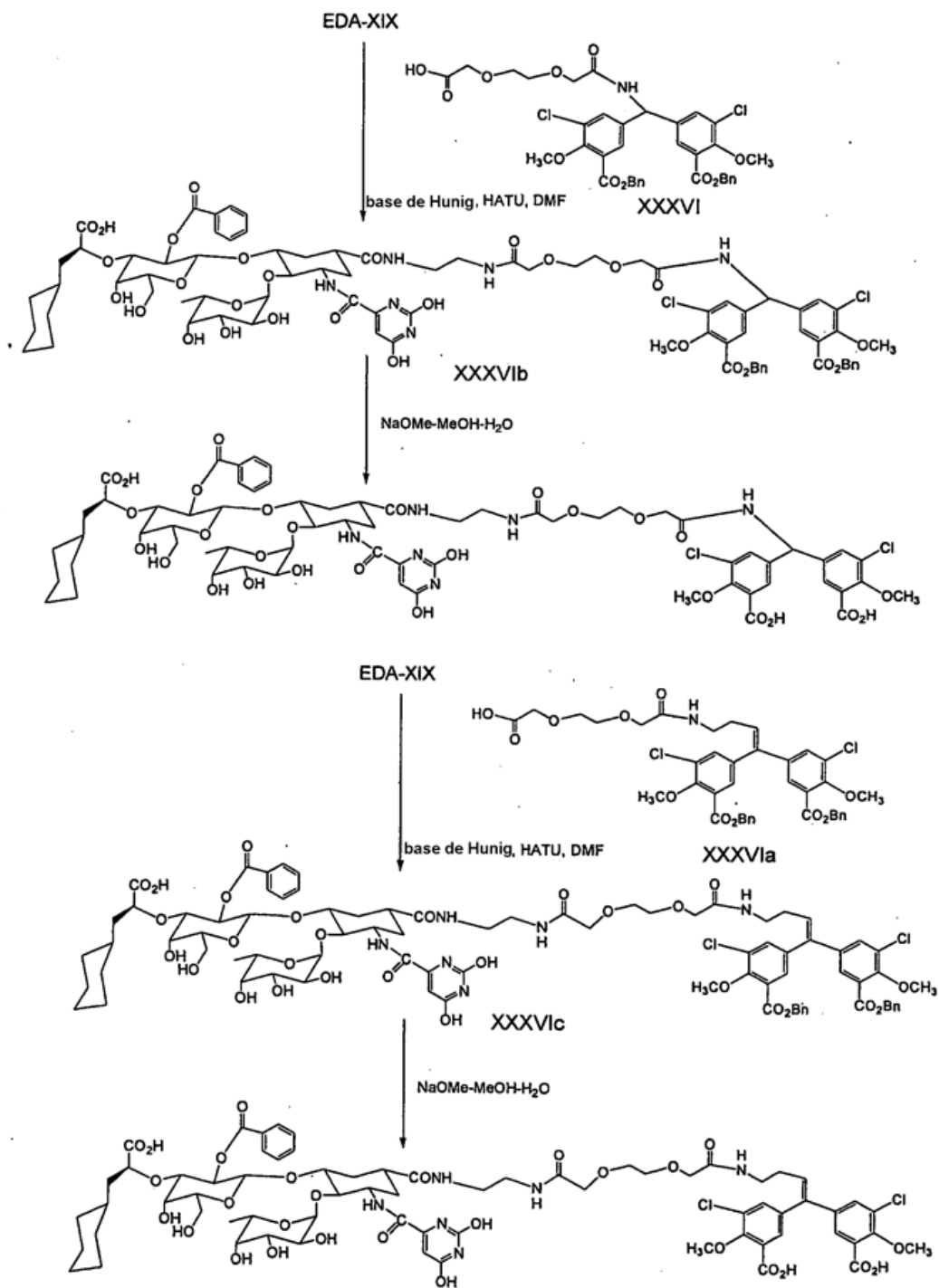


Fig. 8B

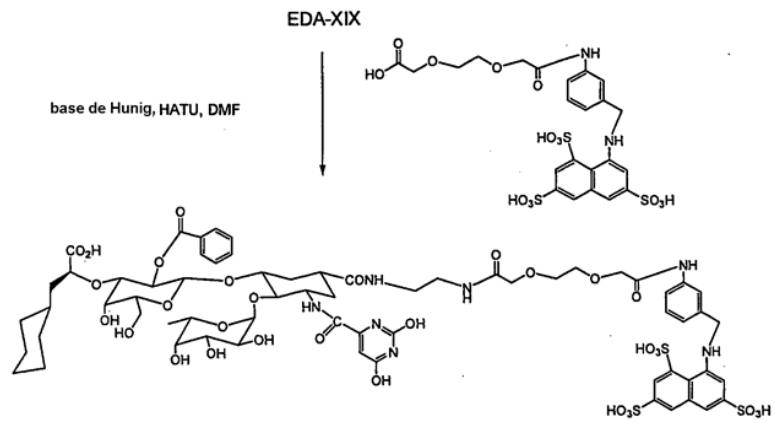


Fig. 8C

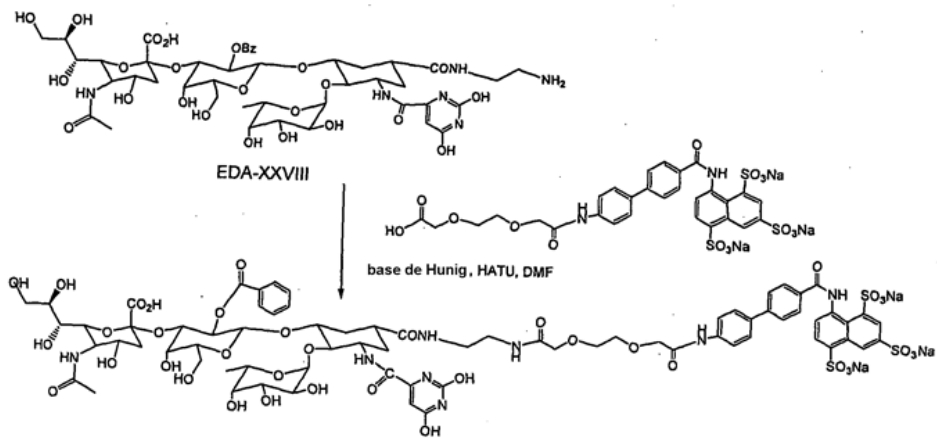
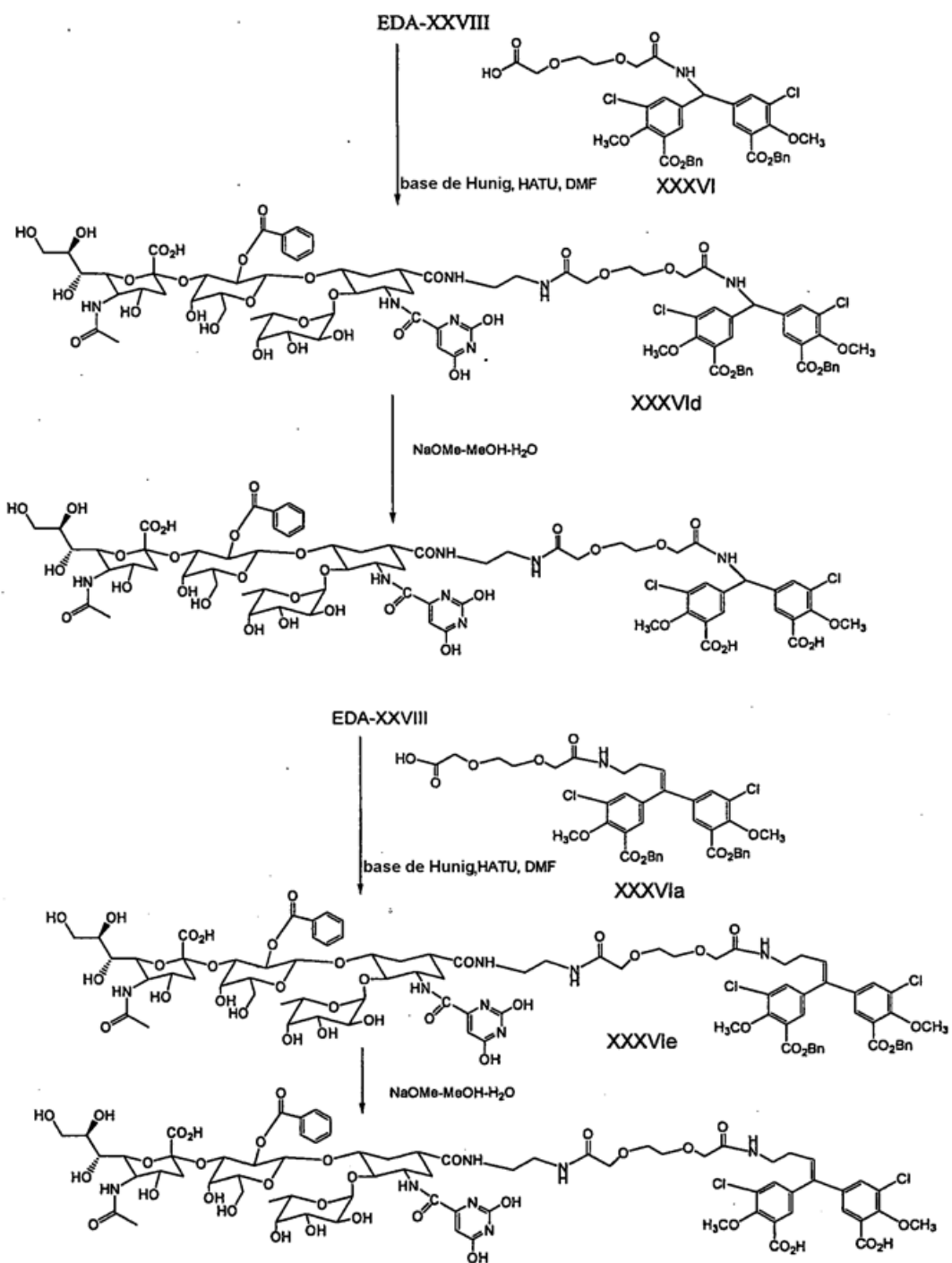


Fig. 9A

*Fig. 9B*

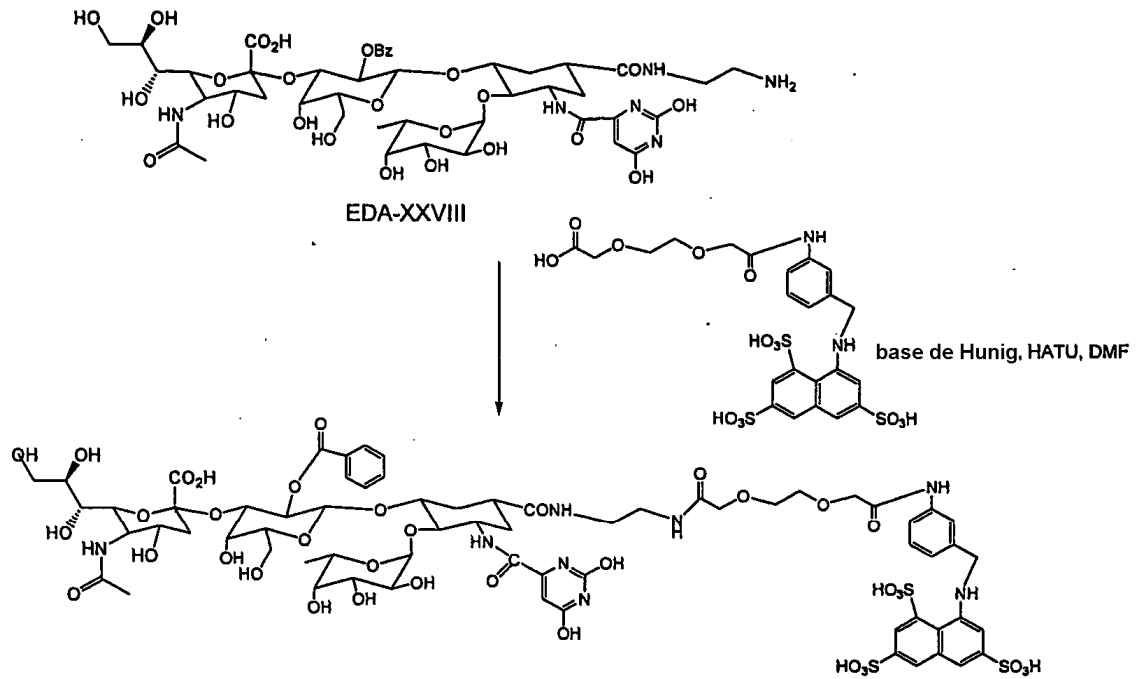


Fig. 9C

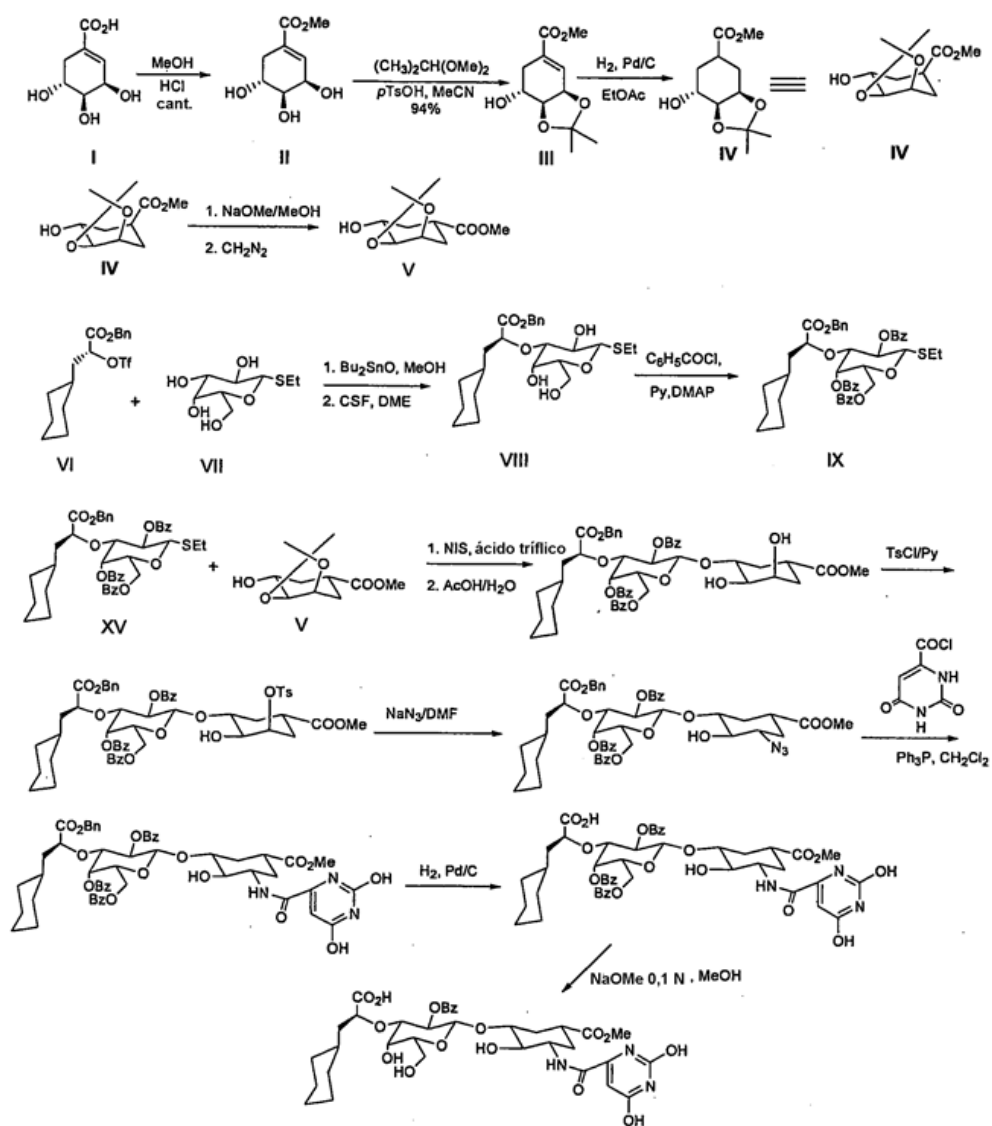


Fig. 10

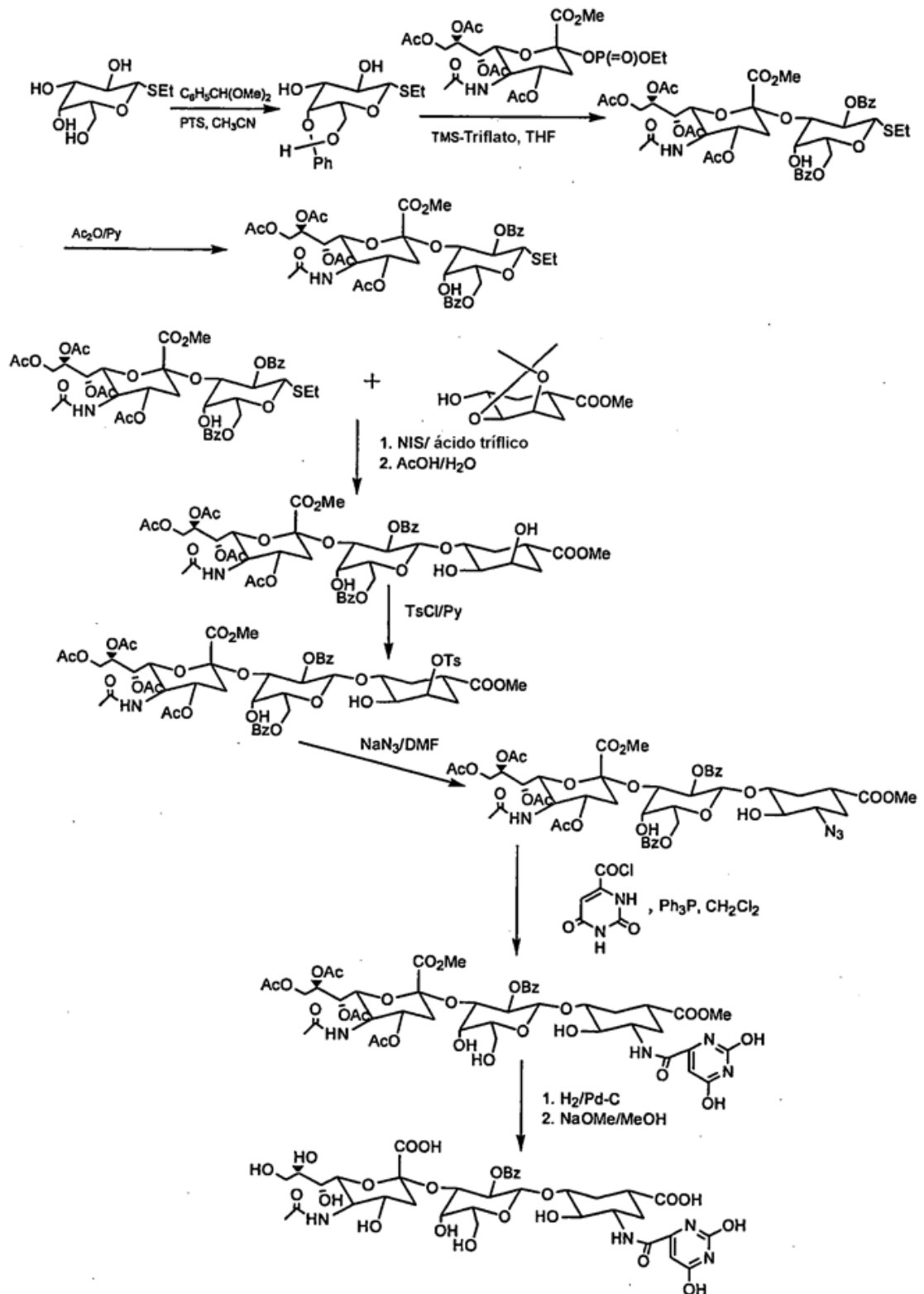


Fig. 11

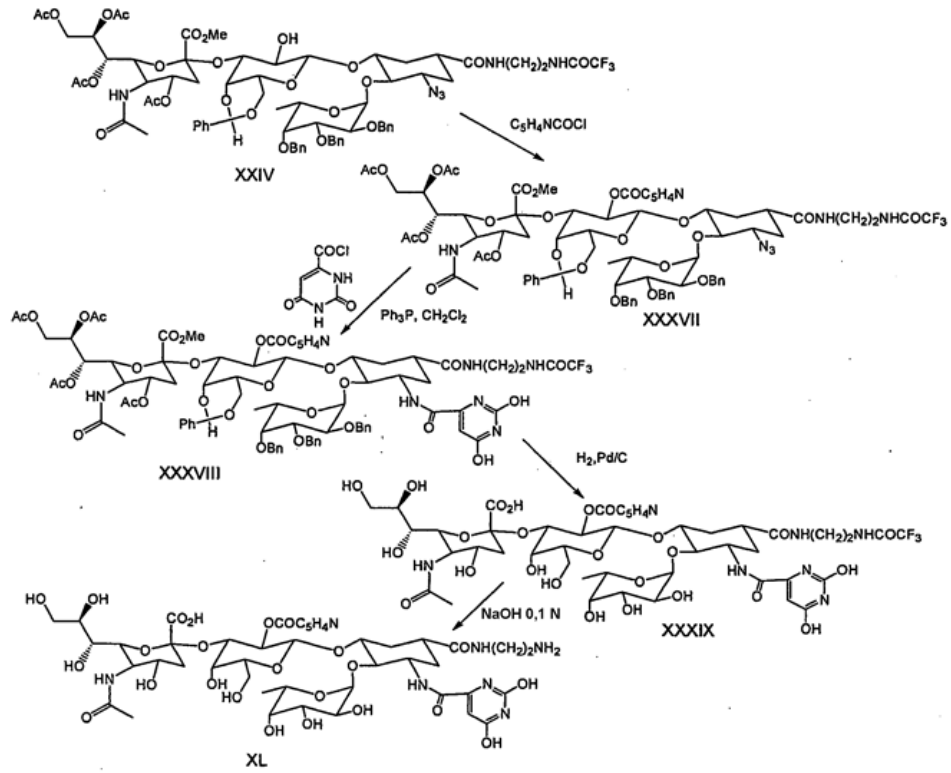
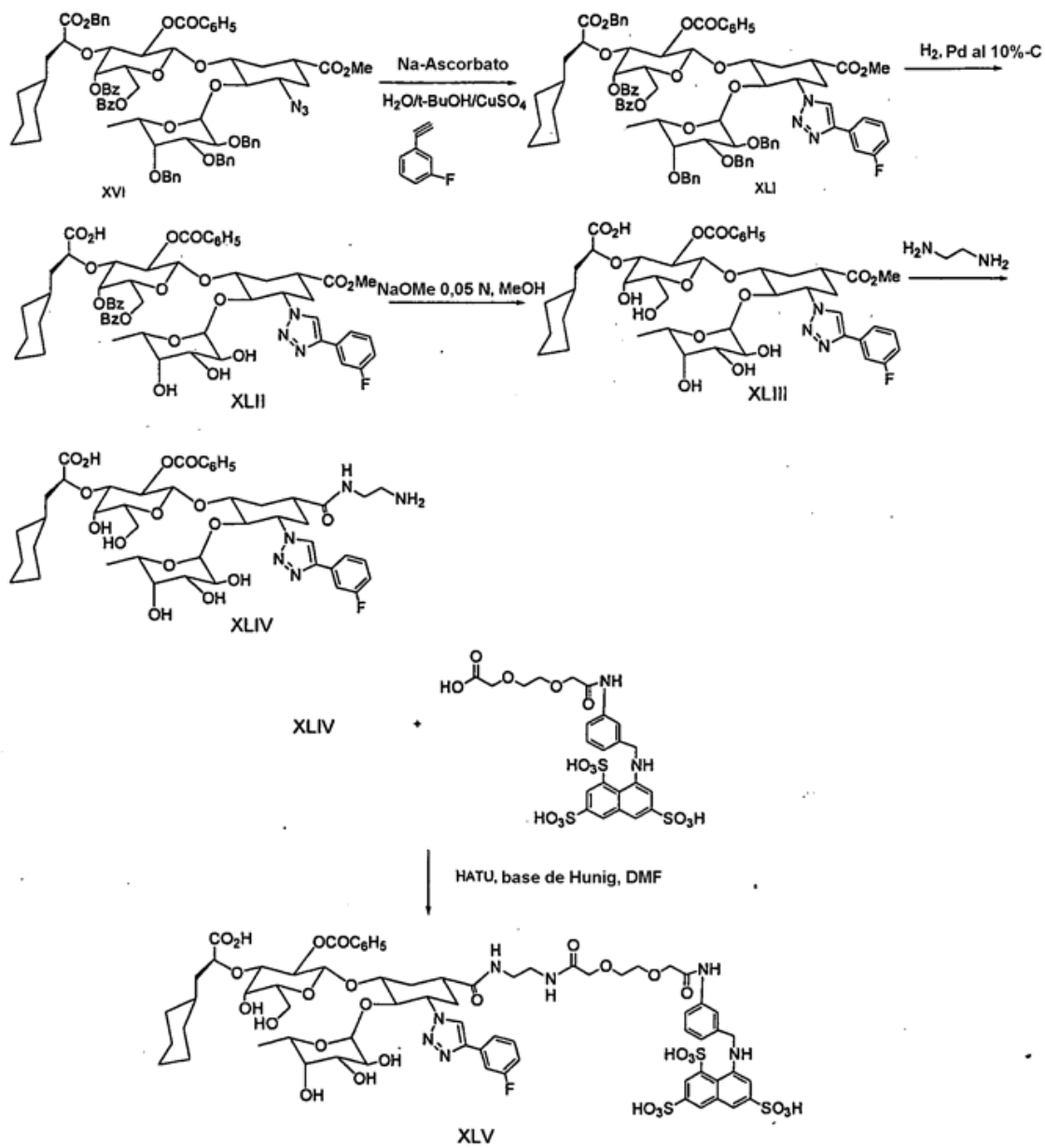


Fig. 12

**Fig. 13**

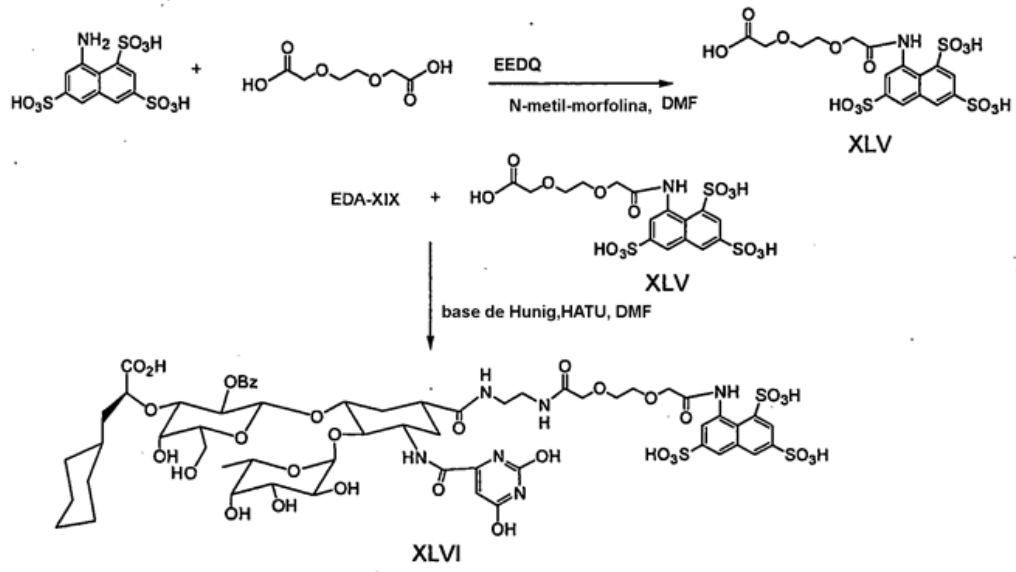


Fig. 14

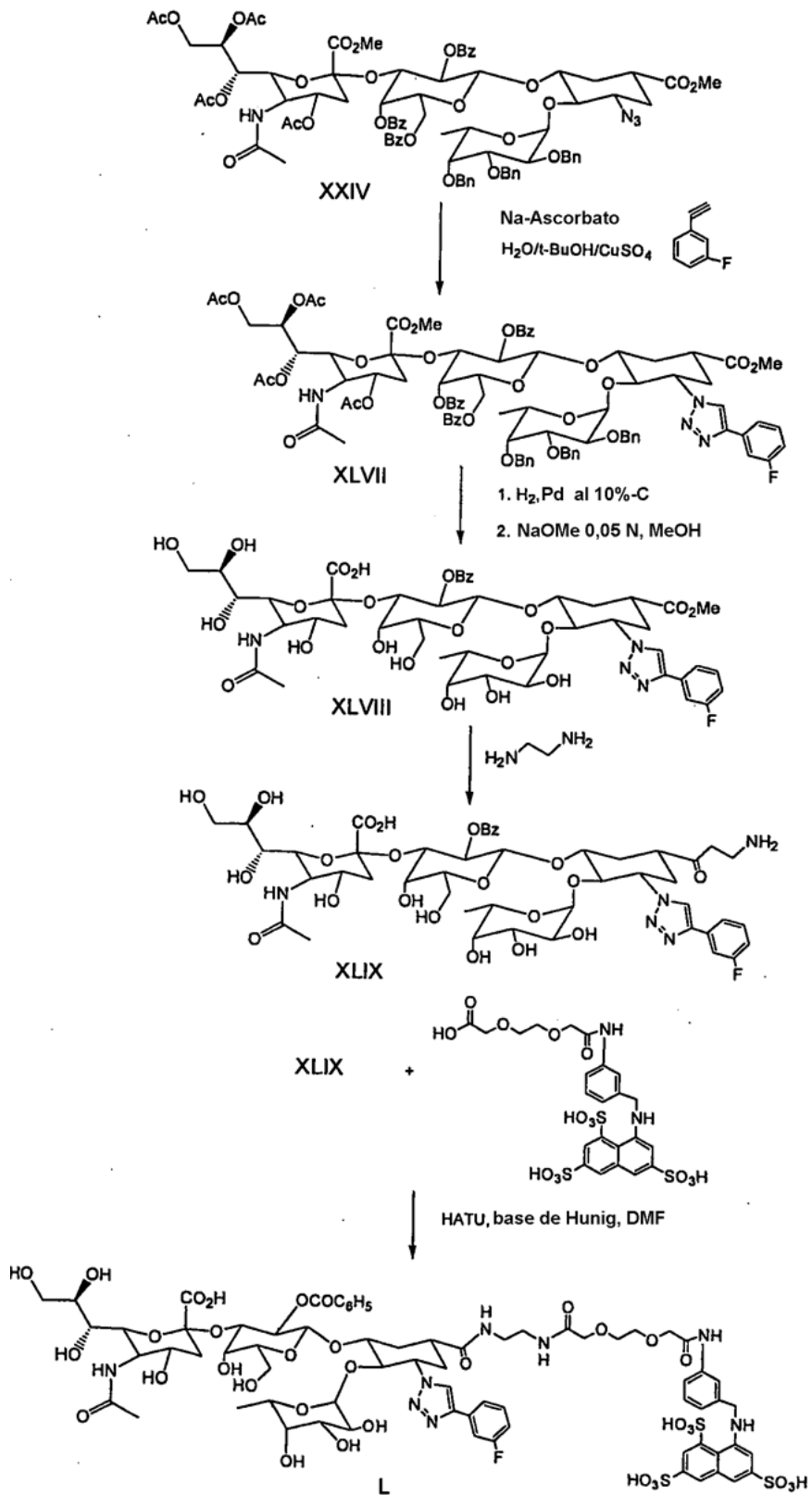


Fig. 15

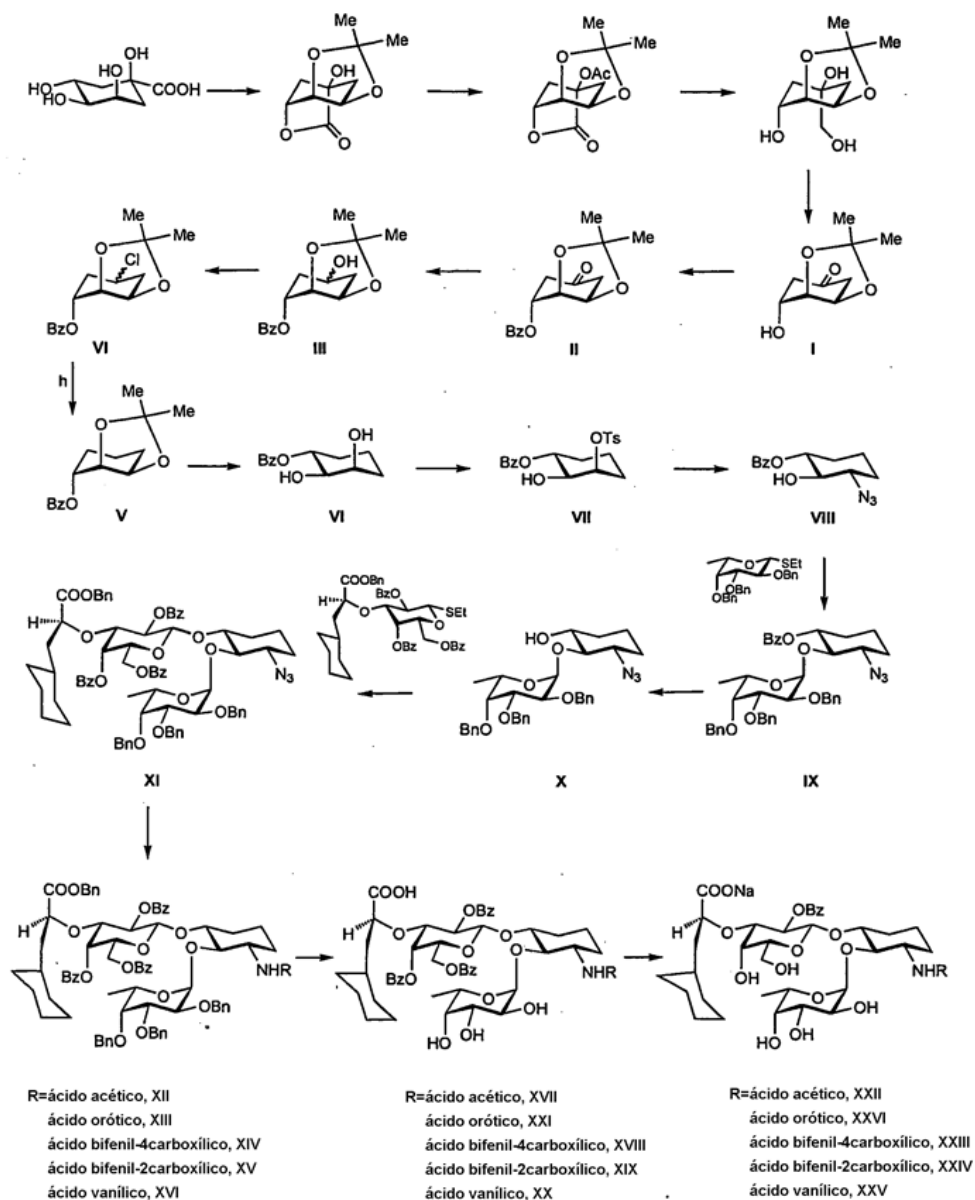


Fig. 16

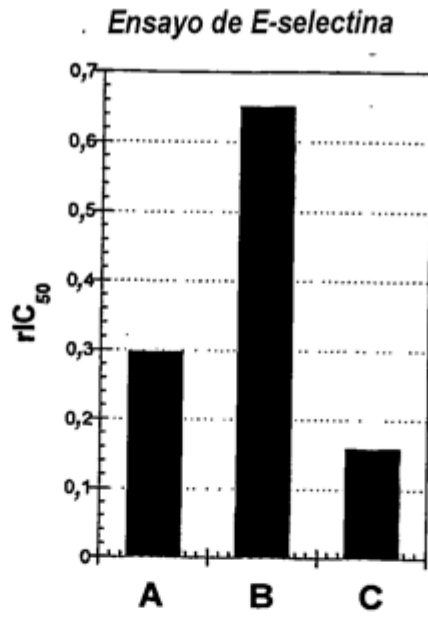


Fig. 17A

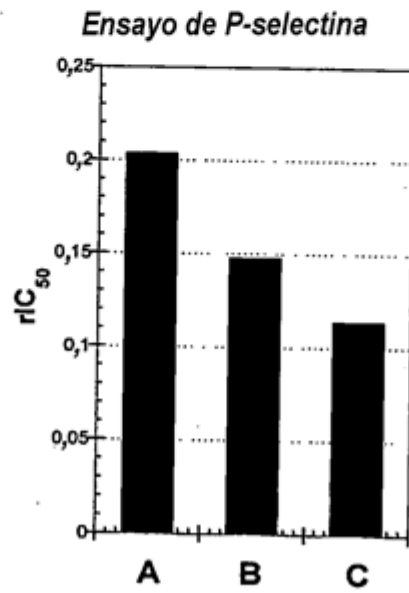


Fig. 17B

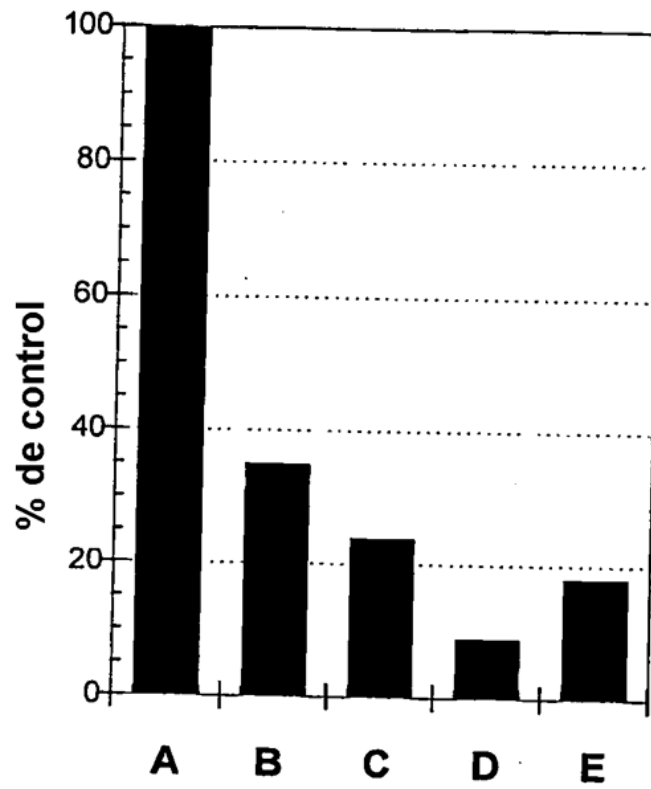


Fig. 18

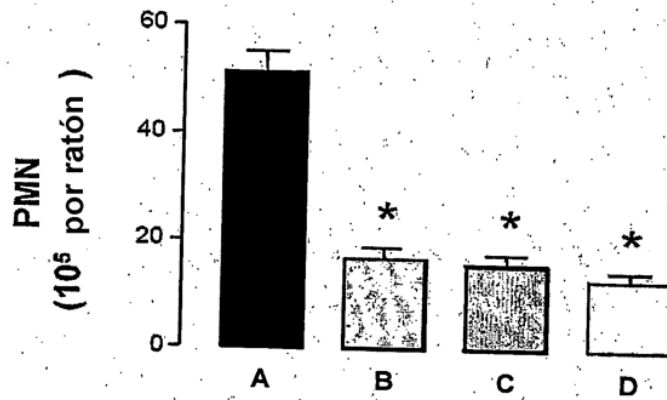


Fig. 19