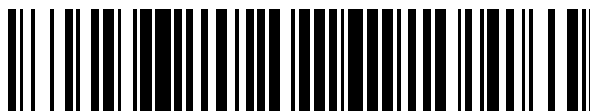


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 652 488**

51 Int. Cl.:

C07H 15/22 (2006.01)

A61K 31/7028 (2006.01)

A61K 31/7056 (2006.01)

A61P 19/02 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

C07H 19/056 (2006.01)

C07H 5/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.04.2010** **PCT/SE2010/050458**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.11.2010** **WO10126435**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.04.2010** **E 10770027 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.11.2017** **EP 2424873**

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

30 Prioridad:

28.04.2009 US 173284 P

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

02.02.2018

73 Titular/es:

GALECTO BIOTECH AB (100.0%)
Ole Maaløes Vej 3
2200 Copenhagen N, DK

72 Inventor/es:

LEFFLER, HAKON;
NILSSON, ULF J. y
VON WACHENFELDT, HENRIK

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 652 488 T3

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

DESCRIPCIÓN

Nuevos inhibidores de galactósidos de galectinas

Campo de la invención

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

Antecedentes de la técnica

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

15 La reciente finalización de las secuencias del genoma humano, de ratón y de la rata revelan aproximadamente 15 galectinas y proteínas de tipo galectina en el genoma de los mamíferos con una ligera variación entre las especies (Leffler et al., 2004; Houzelstein et al., 2004).

20 Las subunidades de galectina pueden contener uno o dos CRD dentro de una sola cadena peptídica. La primera categoría, las galectinas mono-CRDs, pueden aparecer como monómeros o dímeros (dos tipos) en vertebrados. Las galectinas mucho mejor estudiadas son la galectina-1 dimerica y la galectina-3, que es un monómero en solución, pero pueden agregarse y volverse multiméricas al encontrarse con ligandos (Leffler et al., 2004; Ahmad et al., 2004). Estas fueron las primeras galectinas descubiertas y abundan en muchos tejidos. Sin embargo, el análisis filogenético reciente (Figura 2) de los inventores sugiere que las galectinas con dos CRD dentro de una cadena peptídica, las galectinas bi-CRD, parecen ser más antiguas y centrales para la familia de lo que se pensaba anteriormente y que la mayoría de las galectinas mono-CRD de mamíferos pueden haber descendido de uno u otro CRD de una galectina bi-CRD.

25 Actualmente hay más de 2500 publicaciones sobre galectinas en PubMed, y la mayoría, como se mencionó anteriormente, sobre galectinas-1 (> 600) y -3 (>1100). Importantes evidencias sugieren roles para las galectinas en, p. ej., la inflamación y el cáncer, y el desarrollo, recientemente revisado en un número especial (Leffler (editor), 2004b).

30 Las galectinas se sintetizan como proteínas citosólicas, sin un péptido señal en los ribosomas libres. Su extremo N-terminal está acetilado, una modificación típica de las proteínas citosólicas, y residen en el citosol durante mucho tiempo (no es típico de las proteínas secretadas). Desde allí, pueden dirigirse al núcleo, sitios citosólicos específicos, o secretarse (inducidas o constitutivamente) mediante una vía no clásica (no ER-Golgi), aún desconocida, pero posiblemente similar a la exportación de, p.ej. IL-1 (Leffler et al., 2004). También pueden funcionar en todos estos compartimentos; para galectina-3, la evidencia sólida publicada en revistas respetadas apoya papeles en el empalme de ARN en el núcleo, la inhibición de la apoptosis en el citosol y una variedad de efectos extracelulares sobre la señalización celular y la adhesión (Patterson et al., Ochieng et al., Takenaka et al., Hsu et al. y otros en Leffler (editor), 2004b). La galectina-7 y -12 también actúan en el citosol potenciando la apoptosis y regulando el ciclo celular y la diferenciación en ciertas células (Hsu y Liu en Leffler (editor), 2004b). La mayoría de las galectinas también actúan extracelularmente por reticulación de glucoproteínas (por ejemplo, laminina, integrinas y receptores de IgE) formando posiblemente matrices supramoleculares ordenadas (Brewer et al., 2002) y pueden modular por lo tanto la adhesión celular e inducir señales intracelulares. En relación con esto, en los últimos años ha surgido un mecanismo molecular de estas funciones de galectina que implica una formación de microdominios (retículos) dentro de las membranas (Dam et al., 2008; Garner et al., 2008; Sacchetti et al., 2001) que a su vez afecta al tráfico intracelular y a la presentación en la superficie de las células de receptores de glicoproteínas. (Delacour et al., 2007; Fortin et al., 2008; Lau et al., 2007; Lau et al., 2008). Esto ha sido documentado en cultivo celular, en ratones mutantes nulos, (Blois et al., 2007; Gedronneau et al., 2008; Thijssen et al., 2007; Toscano et al., 2007; Saegusa et al., 2009) y en animales tratados con galectina (Blois et al., 2007; Perone et al., 2009) o inhibidores de galectina (John et al., 2003; Pienta et al., 1995; Glinsky et al., 1996).

35 La presente invención se refiere principalmente a inhibidores de galectina-1 e inhibidores de galectina-3, pero sus principios pueden aplicarse también a inhibidores de otras galectinas.

Potencial uso terapéutico de inhibidores de galectina-3

55 La galectina-3 ha sido implicada en diversos fenómenos y, por lo tanto, los inhibidores pueden tener múltiples usos. Es fácil percibir esto como una falta de especificidad o falta de enfoque científico. Por lo tanto, la analogía con la

aspirina y las ciclooxigenasas (COX-I y II) es útil. Las COX producen el precursor de una amplia variedad de prostaglandinas y, por lo tanto, están involucradas en una amplia gama de mecanismos biológicos. Sus inhibidores, aspirina y otros AINE (medicamentos antiinflamatorios no esteroideos) también tienen efectos amplios y diversos. A pesar de esto, estos inhibidores son muy útiles desde el punto de vista médico y tienen varias utilidades específicas diferentes.

Entonces, si las galectinas, como las COX, son parte de algún mecanismo básico de regulación biológica (aún desconocido), es probable que sean 'utilizadas por la naturaleza' para diferentes propósitos en diferentes contextos. No se espera que los inhibidores de galectina, como los AINE, limpien todo el sistema, sino que inclinan un poco la balanza.

Inhibición de la inflamación

Un papel proinflamatorio de la galectina-3 está indicado por su inducción en células en sitios inflamatorios, una variedad de efectos sobre las células inmunes (p. ej., explosión oxidativa en neutrófilos y quimiotaxis en monocitos) y una disminución de la respuesta inflamatoria, principalmente en neutrófilos y macrófagos, en ratones mutantes nulos (capítulos de Rabinovich et al., Sato et al., y Almkvist et al. en Leffler (editor), 2004b). En particular, recientemente se ha demostrado que la diferenciación de los macrófagos y la fibrosis dependen de la galectina-3 y se demostró que los inhibidores de la galectina-3 bloquean la diferenciación de los macrófagos y los procesos moleculares relacionados con la fibrosis (Mackinnon et al., 2008). Además, los ratones knock-out de Mac-2BP, un ligando de galectina-3, tienen respuestas inflamatorias aumentadas (Trahey et al., 1999). La inflamación es una respuesta protectora del cuerpo a los organismos invasores y a la lesión de los tejidos. Sin embargo, si está desequilibrada, con frecuencia también es destructiva y ocurre como parte de la patología en muchas enfermedades. Debido a esto, existe un gran interés médico en la modulación farmacológica de la inflamación. Se espera que un inhibidor de la galectina-3 proporcione una adición importante al arsenal disponible para esto.

Tratamiento del choque séptico

La idea de un posible papel de la galectina-3 en el choque séptico proviene de los estudios propios de los inventores (Almquist et al. 2001). Brevemente, el argumento es el siguiente. Se sabe que el choque séptico implica la diseminación de lipopolisacáridos bacterianos en la corriente sanguínea, y que los efectos patológicos de esto están mediados a través de leucocitos neutrófilos (Karima et al., 1999). El LPS no activa la respuesta dañina a los tejidos del neutrófilo. En cambio, prepara el neutrófilo, de modo que se convierte de no receptivo a receptivo a otros activadores, supuestamente endógenos. En el choque séptico, esta preparación ocurre prematuramente en el torrente sanguíneo. Los activadores endógenos podrían inducir la respuesta perjudicial al tejido en el lugar y el momento equivocados. Se han propuesto varios candidatos como estos activadores endógenos, incluido el TNF-alfa. Los inhibidores de estos se han usado en esquemas de tratamiento sin mucho éxito (Karima et al., 1999). Dado que los propios estudios de los inventores indican que la galectina-3 es un buen candidato para ser un activador endógeno de neutrófilos preparados (Almquist et al., 2001), los inhibidores de galectina-3 pueden ser muy útiles en el choque séptico.

Tratamiento del cáncer

Una gran cantidad de estudios inmunohistoquímicos muestran cambios en la expresión de ciertas galectinas en el cáncer (van den Brule y col., y Bidon y col. en Leffler (editor), 2004b). La galectina-3 es ahora un marcador histoquímico establecido del cáncer de tiroides y la neoexpresión de galectina-4 es un marcador prometedor del inicio del cáncer de mama (Huflejt y Leffler, 2004). La evidencia directa de un papel de la galectina-3 en el cáncer proviene de los modelos de ratón, principalmente de Raz et al, pero también de otros (Takenaka et al. en Leffler (editor), 2004b). En líneas celulares tumorales emparejadas (con expresión disminuida o aumentada de galectina-3), la inducción de galectina-3 produce más tumores y metástasis, y la supresión de galectina-3 produce menos tumores y metástasis. La galectina-3 se ha propuesto para mejorar el crecimiento tumoral al ser antiapoptótico, promover la angiogénesis o promover la metástasis al afectar la adhesión celular. De lo anterior, está claro que los inhibidores de la galectina-3 podrían tener valiosos efectos contra el cáncer. De hecho, se ha mostrado que los sacáridos reivindicados pero no probados que inhiben la galectina-3 tienen efectos anticancerígenos. En el propio estudio de los inventores, un fragmento de galectina-3 que contiene el CRD inhibió el cáncer de mama en un modelo de ratón al actuar como un inhibidor negativo dominante (John et al., 2003). Además, los inhibidores de galectina a concentraciones nanomolares disminuyen drásticamente la motilidad de las células tumorales y, por lo tanto, aumentan potencialmente la sensibilidad a la citostática convencional.

También la galectina-1 se sobreexpresa con frecuencia en células cancerosas poco diferenciadas, y la galectina-9 o sus compuestos relacionados galectina-4 y galectina-8 pueden inducirse en tipos específicos de cáncer (Huflejt y Leffler, 2004; Leffler (editor), 2004b). La galectina-1 induce la apoptosis en células T activadas y tiene un notable efecto inmunosupresor sobre la enfermedad autoinmune in vivo (Rabinovich y col., y Pace y col. en Leffler (editor), 2004b). Por lo tanto, la sobreexpresión de estas galectinas en cánceres podría ayudar al tumor a defenderse contra la respuesta de células T planteada por el huésped (Rubinstein et al., 2004).

Ratones mutantes nulos para las galectinas-1 y -3 han sido establecidos desde hace muchos años (Poirier, 2002). Son saludables y se reproducen aparentemente normalmente en las condiciones domésticas de estos animales. Sin embargo, estudios recientes han revelado fenotipos sutiles en función de neutrófilos y macrófagos (como se describió anteriormente) y en la formación de hueso para mutantes nulos de galectina-3, y en la regeneración/diferenciación de células musculares y nerviosas para los mutantes nulos de galectina-1 (Leffler et al., 2004; Poirier, 2002; Watt en Leffler (editor), 2004b). Recientemente, se han generado ratones mutantes nulos en galectina-7 y galectina-9 y también son extremadamente saludables en las condiciones domésticas del animal, pero aún no se han analizado en detalle. Las diferencias en el sitio de expresión, la especificidad y otras propiedades hacen que sea poco probable que diferentes galectinas se puedan reemplazar entre sí funcionalmente. Las observaciones en los ratones mutantes nulos indicarían que las galectinas no son esenciales para las funciones básicas de soporte de la vida, como se puede observar en las condiciones normales domésticas de los animales. En cambio, pueden ser optimizadores de la función normal y/o esenciales en condiciones de estrés que no se encuentran en las condiciones domésticas de los animales. La falta de un efecto fuerte en ratones mutantes nulos puede hacer que los inhibidores de galectina sean más favorables que los fármacos. Si la actividad de galectina contribuye a condiciones patológicas como se sugirió anteriormente, pero menos a las condiciones normales, entonces la inhibición de ellas tendrá menos efectos secundarios no deseados.

Inhibidores conocidos

Ligandos naturales.

Los ensayos de unión en fase sólida y de inhibición han identificado varios sacáridos y glicoconjugados con la capacidad de unirse a galectinas (revisado por Leffler, 2001 y Leffler et al., 2004). Todas las galectinas se unen a lactosa con una K_d de 0,5-1 mM. La afinidad de la D-galactosa es 50-100 veces menor. La N-acetil-lactosamina y los disacáridos relacionados se unen tan bien como la lactosa, pero para ciertas galectinas, pueden unirse peor o hasta 10 veces mejor. Los mejores ligandos de sacáridos pequeños para la galectina-3 fueron aquellos que portaban determinantes del grupo sanguíneo A unidos a residuos de lactosa o lacNAc y se observó que se unían hasta aproximadamente 50 veces mejor que la lactosa. La galectina-1 no muestra preferencia por estos sacáridos.

Se han propuesto sacáridos más grandes del tipo de polilactosamina como ligandos preferidos para las galectinas. En solución, usando glicopéptidos portadores de polilactosamina, había evidencia de esto para la galectina-3, pero no para la galectina-1 (Leffler y Barondes, 1986). Se ha informado que un polisacárido de pectina de planta modificado se une a la galectina-3 (Pienta et al., 1995).

Los sacáridos naturales descritos anteriormente que se han identificado como ligandos de galectina-3 no son adecuados para usar como componentes activos en composiciones farmacéuticas, porque son susceptibles a la hidrólisis ácida en el estómago y a la degradación enzimática. Además, los sacáridos naturales son de naturaleza hidrófila y no se absorben fácilmente desde el tracto gastrointestinal después de la administración oral.

Inhibidores sintéticos.

Los sacáridos acoplados a aminoácidos con actividad anticancerígena se identificaron primero como compuestos naturales en el suero, pero posteriormente se hicieron análogos sintéticos (Glinsky et al., 1996). Entre ellos, aquellos con lactosa o acoplados a Gal al aminoácido inhiben las galectinas, pero solo con aproximadamente la misma potencia que el correspondiente azúcar no derivatizado. Una forma químicamente modificada de pectina de cítricos (Platt y Raz, 1992) que inhibe la galectina-3 muestra actividad antitumoral in vivo (Pienta et al., 1995; Nangia-Makker et al., 2002).

Una forma divalente de un lactosil-aminoácido tuvo mayor potencia en un ensayo en fase sólida (Naidenko et al., 2000; Huflejt et al., 2001; Huflejt y Leffler, 2004) y los grupos que tienen hasta cuatro restos de lactosa mostraron un fuerte efecto multivalencia cuando se unían a la galectina-3, pero no a la galectina-1 y -5 (Vrasidas et al., 2003). Las glico-agrupaciones basadas en ciclodextrina con siete residuos de galactosa, lactosa o N-acetil-lactosamina también mostraron un fuerte efecto multivalente frente a la galectina-3, pero menos frente a las galectinas-1 y -7 (André et al., 2004). Los dendrímeros Starburst (André et al., 1999) y los glicopolímeros (Pohl et al., 1999; David et al., 2004), hechos polivalentes en residuos de lactosa, se han descrito como inhibidores de la galectina 3 con potencia marginalmente mejorada en comparación con la lactosa. Los compuestos sintéticos antes mencionados que se han identificado como ligandos de galectina-3 no son adecuados para su uso como componentes activos en composiciones farmacéuticas, porque son de naturaleza hidrófila y no son absorbidos fácilmente en el tracto gastrointestinal tras la administración oral.

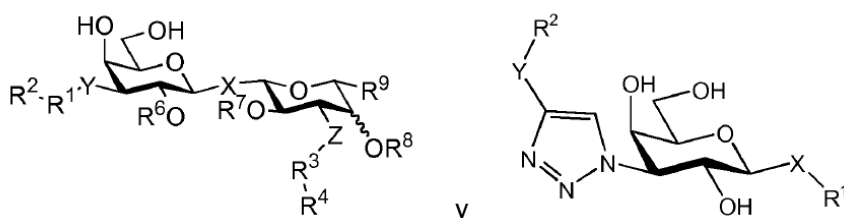
Los oligosacáridos naturales, glico-agrupaciones, glicodendrímeros, y glicopolímeros descritos anteriormente son demasiado polares y demasiado grandes para ser absorbidos y, en algunos casos, son lo suficientemente grandes para producir respuestas inmunes en pacientes. Además, son susceptibles a la hidrólisis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

Se sabe que el tiodigalactósido es un inhibidor sintético e hidrolíticamente estable, pero polar, aproximadamente tan eficaz como la N-acetil-lactosamina (Leffler y Barondes, 1986). Una biblioteca de pentapéptidos proporcionó inhibidores contra la galectina-1 y -3, pero solo con bajas afinidades, similares a la de la galactosa (Arnusch et al.,

2004). Además, los péptidos no son agentes ideales para dirigir a las galectinas in vivo, ya que son susceptibles a la hidrólisis y típicamente son polares. Se ha demostrado que los derivados de N-acetil-lactosamina portadores de amidas aromáticas o bencil-éteres sustituidos en C-3' son inhibidores altamente eficientes de la galectina-3, con valores de CI50 sin precedentes tan bajos como 4,8 μM , que es una mejora de 20 veces en comparación con el disacárido de N-acetil-lactosamina natural (Sörme et al., 2002; Sörme et al., 2003b). Estos derivados son menos polares en general, debido a la presencia de restos amido aromáticos y, por lo tanto, son más adecuados como agentes para la inhibición de galectinas in vivo. Además, se ha demostrado que los C3-triazolil galactósidos son inhibidores tan potentes como las correspondientes amidas C3 de algunas galectinas. Por lo tanto, cualquier sustituyente C3 de galactosa debidamente estructurado puede conferir una mayor afinidad de galectina.

Sin embargo, dichos compuestos derivatizados C3-amido y C3-triazolilo todavía son susceptibles a la degradación hidrolítica in vivo, debido a la presencia de un enlace glucosídico en la galactosa y el resto de sacárido de N-acetil-lactosamina y, aunque son potentes inhibidores de molécula pequeña de galectina-3, es deseable incluso una afinidad y estabilidad mejoradas. Por consiguiente, se han desarrollado inhibidores basados en la derivatización 3,3' de tiodigalactósido (Cumpstey et al., 2005; Cumpstey et al., 2008) que carecen de enlaces O-glucosídicos hidrolíticamente y enzimáticamente lábiles. Estos inhibidores también mostraron una afinidad superior para varias galectinas (hasta Kd en el rango bajo nM). Sin embargo, aunque presentan una alta afinidad por las galectinas, los tiodigalactósidos 3,3'-derivatizados todavía comprenden dos restos de monosacáridos de galactosa que son demasiado polares, lo que da como resultado una mala absorción y aclaramiento rápido, y demasiada susceptibilidad a la degradación.

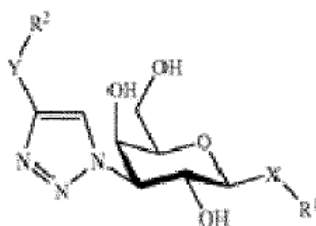
Se conocen compuestos de la técnica anterior por las fórmulas generales



en la que la segunda fórmula R^1 puede ser una D-galactosa.

Por lo tanto, debido a las propiedades farmacocinéticas menos que óptimas de los compuestos de la técnica anterior, todavía existe una considerable necesidad en la técnica de inhibidores frente a galectinas, en particular, galectina-1 y galectina-3.

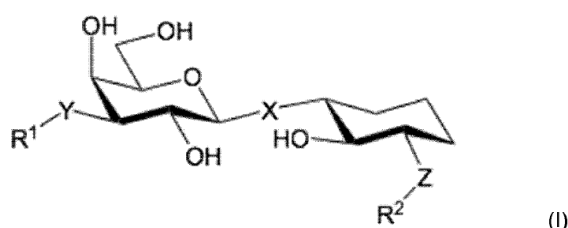
El documento WO 2005/113569 se refiere a compuestos de la fórmula:



en el que la configuración del anillo de piranosa es D-galacto; dichos compuestos se describen como útiles para el tratamiento de la inflamación, el choque séptico, el cáncer, las enfermedades autoinmunes, la artritis reumatoide y la esclerosis múltiple.

Sumario de la invención

Por lo tanto, la presente invención se refiere a un compuesto que tiene la fórmula general (I):



en donde

la configuración del anillo de piranosa es D-galacto;

X se selecciona del grupo que consiste en O, S y SO;

Y y Z se seleccionan independientemente de un anillo de 1H-1,2,3-triazol;

5 R¹ y R² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en:

a) un grupo alquilo de al menos 4 carbonos, un grupo alqueno de al menos 4 carbonos, un grupo alquino de al menos 4 carbonos;

10 b) un grupo carbamoilo, un grupo carbamoilo sustituido con un grupo alquilo, un grupo carbamoilo sustituido con un grupo alqueno, un grupo carbamoilo sustituido con un grupo alquino, un grupo carbamoilo sustituido con un grupo arilo, un grupo carbamoilo sustituido con un grupo alquilo sustituido, y un grupo carbamoilo sustituido con un grupo arilo sustituido;

15 c) un grupo fenilo sustituido con al menos un grupo carboxi, un grupo fenilo sustituido con al menos un halógeno, un grupo fenilo sustituido con al menos un grupo alcoxi, un grupo fenilo sustituido con al menos un grupo trifluorometilo, un grupo fenilo sustituido con al menos un grupo trifluorometoxi, un grupo fenilo sustituido con al menos un grupo sulfo, un grupo fenilo sustituido con al menos un grupo hidroxi, un grupo fenilo sustituido con al menos un grupo carbonilo, y un grupo fenilo sustituido con al menos un grupo carbonilo sustituido;

20 d) un grupo naftilo, un grupo naftilo sustituido con al menos un grupo carboxi, un grupo naftilo sustituido con al menos un halógeno, un grupo naftilo sustituido con al menos un grupo alquilo, un grupo naftilo sustituido con al menos un grupo alcoxi, un grupo naftilo sustituido con al menos un grupo sulfo, un grupo naftilo sustituido con al menos un grupo hidroxi, un grupo naftilo sustituido con al menos un grupo carbonilo y un grupo naftilo sustituido con al menos un grupo carbonilo sustituido;

25 e) un grupo heteroarilo, un grupo heteroarilo sustituido con al menos un grupo carboxi, un grupo heteroarilo sustituido con al menos un halógeno, un grupo heteroarilo sustituido con al menos un grupo alcoxi, un grupo heteroarilo sustituido con al menos un grupo sulfo, un grupo heteroarilo sustituido con al menos un grupo arilamino, un grupo heteroarilo sustituido con al menos un grupo hidroxi, un grupo heteroarilo sustituido con al menos un halógeno, un grupo heteroarilo sustituido con al menos un grupo carbonilo y un grupo heteroarilo sustituido con al menos un grupo carbonilo sustituido; y

30 f) un grupo tienilo, un grupo tienilo sustituido con al menos un grupo carboxi, un grupo tienilo sustituido con al menos un halógeno, un grupo tienilo sustituido con al menos un grupo alcoxi, un grupo tienilo sustituido con al menos un grupo sulfo, un grupo tienilo sustituido con al menos un grupo arilamino, un grupo tienilo sustituido con al menos un grupo hidroxi, un grupo tienilo sustituido con al menos un grupo carbonilo y un grupo tienilo sustituido con al menos un grupo carbonilo sustituido.

35 La presente invención también se refiere a un compuesto para su uso en el tratamiento de trastornos de la proteína galectina en mamíferos, en particular seres humanos, en el que dicho trastorno se selecciona del grupo que consiste en inflamación, choque séptico, cáncer, enfermedades autoinmunes, artritis reumatoide y esclerosis múltiple.

40 La presente invención se refiere además a los compuestos de acuerdo con la invención para su uso como medicamentos así como a composiciones farmacéuticas que comprenden el compuesto de acuerdo con la invención. Dichas composiciones farmacéuticas normalmente también comprenden uno o más ingredientes seleccionados del grupo que consiste en adyuvantes, diluyentes, excipientes y vehículos farmacéuticamente aceptables. Estos medicamentos y composiciones farmacéuticas son adecuados para el tratamiento de cualquier trastorno relacionado con la unión de una galectina a ligandos en un mamífero.

Es posible usar solo un compuesto de acuerdo con la invención para los fines discutidos anteriormente. Sin embargo, también es posible usar dos o más compuestos en combinación.

45 Especificidad de galectina

50 Los estudios de especificidad de galectina usando la inhibición por los pequeños sacáridos naturales mencionados anteriormente indicaban que todas las galectinas se unían a lactosa, LacNAc y disacáridos relacionados, pero que la galectina-3 se unía a ciertos sacáridos más largos mucho mejor (Leffler y Barondes, 1986). Estos sacáridos más largos se caracterizaron por tener un residuo de azúcar adicional añadido a la posición C-3 de Gal en lactosa o LacNAc. Las estructuras cristalinas de rayos X de las galectinas-1, -2 y -3 demostraron un sitio de unión central altamente conservado para lactosa y LacNAc con características de acuerdo con los estudios de especificidad (Lobsanov y Rini, 1997; Seetharaman et al., 1998). Además, se encontró un surco extendido, que podría acomodar el residuo de azúcar añadido en los sacáridos más largos (A-B en la Figura 1). La forma de este surco varía entre las galectinas, lo que sugiere que las mismas extensiones no estarían unidas por igual por las diferentes galectinas.

Además, incluyendo a otras galectinas (por ejemplo, las galectinas-4, -8 y -9) queda claro que también hay variaciones en la preferencia de unión en el otro lado del residuo de Gal (sitios D-E en la Figura 1) (Leffler et al., 2004).

Diseño de ciclohexil galactósidos sustituidos con triazolilo y amido como inhibidores de galectina.

- 5 El sitio de unión extendido cerca de HO-3' de N-acetil-lactosamina (sitio B, figura 1b) se ha explotado en el diseño de potentes derivados de 3'-amido-N-acetil-lactosamina inhibidores de galectina-3 (Sörme et al., 2002). En particular, las amidas aromáticas o anillos de triazol sustituidos en C3 de compuestos que contienen galactopiranosas hicieron inhibidores eficientes (Salameh et al., 2005; Sörme et al., 2005) formando una interacción de apilamiento energéticamente favorable con el grupo arginina-144 guanidino de galectin-3 (Sörme et al., 2005).
- 10 La presencia de residuos de arginina adicionales en el sitio de unión a N-acetil-lactosamina/lactosa o cerca del mismo de las galectinas sugirió el diseño de inhibidores que utilizaban interacciones adicionales de apilamiento entre grupos aromáticos y grupos arginina guanidino para proporcionar inhibidores aún más potentes. Por ejemplo, el grupo N-acetilo de N-acetil-lactosamina, de acuerdo con la estructura cristalina de galectina-3 en el complejo con N-acetil-lactosamina, interactúa con la arginina-186 de galectina-3 (Figura 1b). La sustitución de dicho grupo N-acetilo con un grupo amido aromático permitiría una nueva interacción de apilamiento entre la amida aromática y el grupo arginina 186 guanidino o con los residuos de arginina conservados correspondientes en otras galectinas.

- Además, el reemplazo del disacárido N-acetil-lactosamina por un agente mimético hidrolíticamente estable agregaría valor a un inhibidor en términos de vida media más larga in vivo. Se usó tiodigalactósido como un agente mimético de N-acetil-lactosamina hidrolíticamente estable, que se cree que se une a galectinas de una manera que imita la de la N-acetil-lactosamina. Como los derivados de N-acetil-lactosamina portadores de grupos amido aromáticos en C-3' muestran una alta afinidad por la galectina-3 debido a una interacción con arginina-144, los derivados simétricos de tiodigalactósidos portadores de amidas aromáticas en ambos carbonos C-3 permitieron la formación de una interacción areno-guanidino entre uno de los grupos amido aromáticos y la arginina 144 (análogo a la interacción con el derivado 3'-amido-N-acetil-lactosamina). El segundo grupo amido aromático se posiciona de forma similar al grupo N-acetilo de la N-acetil-lactosamina, es decir, cerca de la arginina-186 al unirse a la galectina-3; eso estaría en el sitio D como se muestra en la FIG. 1 a. A partir de aquí, se demostró que los derivados de tiodigalactósidos simétricos con amidas aromáticas en ambos carbonos C-3 son inhibidores particularmente potentes de varios miembros de la familia de galectina de proteínas con valores de K_d hasta el bajo intervalo nM (Cumpstey et al., 2005; Cumpstey et al., 2008). Sin embargo, aunque muestran alta afinidad por las galectinas, los tiodigalactósidos 3,3'-derivatizados todavía forman parte de dos restos de monosacáridos de galactosa que son demasiado polares, lo que produce una absorción deficiente y una eliminación rápida, y son demasiado susceptibles a la degradación enzimática.

- Un enfoque de inhibidores de galectina menos polares y más estables sería reemplazar uno o más residuos de hidratos de carbono de los inhibidores con restos estructurales no sacáridos. Un anillo de ciclohexano es un resto estructural que imita a la piranosa conceptualmente simple. Sin embargo, si un residuo de N-acetilglucosamina de unión en D subsitio de N-acetil-lactosamina ha de sustituirse por un anillo de ciclohexano, dicho anillo de ciclohexano debería llevar preferiblemente un grupo hidroxilo capaz de formar parte de enlaces de hidrógeno clave (por ejemplo, con arg162 y glu184 en galectina-3) y un triazol o amida sustituido capaz de interactuar con cadenas laterales de galectina o arginina conservadas.

40 Breve descripción de los dibujos.

- Fig. 1. a) Esquema del dominio de reconocimiento de carbohidratos de galectina (CRD) (izquierda) y sitios de unión de carbohidratos (derecha) (Barondes et al., 1994; Leffler et al., 2004). El CRD se muestra en la vista frontal y lateral con un disacárido unido simbolizado por una flecha o punto (izquierda). Consta de dos hojas β llamadas S y F. El lado cóncavo de las hojas S forma un surco que puede contener un tetrasacárido y tiene cuatro subsitios (A-D) con el sitio de unión de galactosa definido como C y un quinto subsitio (E) fuera del surco (arriba a la derecha). Un LacNAc enlazado se muestra en la hoja S-beta (extremo inferior derecho) con extensiones en el subsitio B y E. Los aminoácidos correspondientes en la galectina-3 alrededor del subsitio B están indicados en el código de una letra (gris).

- Fig. 1 b) Estructura del sitio de reconocimiento de carbohidratos de galectina-3 CRD (superficie lisa) con LacNAc unido (modelo de barra). Los subsitios descritos en la FIG. 1a se indican debajo de la figura con Gal en el sitio C. Las flechas indican espacios en el sitio B dirigidos por derivación en la posición 3 de Gal (Sörme et al., 2002). Los aminoácidos seleccionados son nombrados. La GlcNAc de LacNAc está en el sitio D.

- Fig. 2. Galectinas de mamíferos y su filogenia de un ancestro cordado (Houzelstein et al., 2004). Todos los CRD son de cualquiera de dos tipos (F4 y F3, negro y gris, respectivamente) definidos por la estructura génica correspondiente (límites intrón-exón) y soportados por sus respectivas relaciones de secuencia. Las galectinas recordadas ancestrales incluyen una galectina bi-CRD con uno de cada tipo de CRD (muy probablemente derivado en una evolución mucho más temprana a partir de la duplicación de una galectina mono-CRD). La duplicación a gran escala de los fragmentos del genoma en la evolución temprana de los cordados-vertebrados da lugar a las cuatro

principales galectinas bi-CRD que se encuentran en los mamíferos. Los eventos locales de duplicación-delección dan lugar a galectinas mono-CRD relacionadas con la CRD N- o C-terminal. Algunos de estos ocurrieron en tiempos más inciertos (flechas punteadas) mientras que otros son recientes y más seguros (flechas llenas). Las duplicaciones recientes también han producido copias adicionales de galectinas bi-CRD en ciertos mamíferos (por ejemplo, dos copias adicionales de galectina-9 en humanos (no se muestra), galectina-6 en ratón).

Descripción detallada de las realizaciones preferidas de la invención

De acuerdo con un aspecto de la invención, en la fórmula mencionada anteriormente, X es S u O.

De acuerdo con un aspecto de la invención, Y y Z pueden ser ambos un anillo de 1H-1,2,3-triazol.

Cuando Y es un anillo de 1H-1,2,3-triazol, se puede unir mediante el átomo de N1 al anillo de piranosa. En este caso, R¹ se puede unir al átomo de C4 del anillo de 1H-1,2,3-triazol.

Cuando Z es un anillo de 1H-1,2,3-triazol, se puede unir a través del átomo N1 al ciclohexano. En este caso, R² puede estar unido al átomo C4 del anillo de 1H-1,2,3-triazol.

De acuerdo con un aspecto de la invención, R¹ y R² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en un grupo carbamoilo, un grupo carbamoilo alquilado, un grupo carbamoilo alquenilado, un grupo carbamoilo arilado, un grupo fenilo, un grupo fenilo sustituido, un grupo fenilo halogenado, un grupo fenilo fluorado, un grupo fenilo clorado, un grupo fenilo bromado, un grupo fenilo alquilado, un grupo fenilo alquenilado, un grupo fenilo trifluorometilado, un grupo fenilo metoxilado, un grupo fenilo trifluorometoxilado, un grupo naftilo, un grupo naftilo sustituido, un grupo heteroarilo, un grupo heteroarilo sustituido, un grupo tienilo y un grupo tienilo sustituido.

Según otro aspecto, uno o ambos de R¹ y R² pueden seleccionarse del grupo que consiste en un grupo carbamoilo alquilado, un grupo fenilo fluorado y un grupo tienilo.

En la presente descripción, el término "alquilado" significa que el grupo está sustituido con un grupo alquilo. El término "alquenilado" significa que el grupo está sustituido con un grupo alquenilo "grupo alquenilo", etc.

La expresión "grupo alquilo" pretende comprender de 1 a 7 átomos de carbono, preferiblemente de 1 a 4 átomos de carbono. Dicho grupo alquilo puede ser de cadena lineal o ramificada. Dicho grupo alquilo también puede formar un ciclo que comprende de 3 a 7 átomos de carbono, preferiblemente 3, 4, 5, 6 o 7 átomos de carbono. Así, alquilo significará cualquiera de metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, terc-butilo, pentilo, isopentilo, 3-metilbutilo, 2,2-dimetilpropilo, n-hexilo, 2-metilpentilo, 2,2-dimetilbutilo, 2,3-dimetilbutilo, n-heptilo, 2-metilhexilo, 2,2-dimetilpentilo, 2,3-dimetilpentilo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo y 1-metilciclopropilo.

En la presente descripción, la expresión "grupo alquenilo" pretende comprender de 2 a 7 átomos de carbono. Dicho grupo alquenilo comprende al menos un doble enlace. Por lo tanto, el grupo alquenilo significará cualquiera del grupo vinilo, alilo, but-1-enilo, but-2-enilo, 2,2-dimetilenilo, 2,2-dimetilprop-1-enilo, pent-1-enilo, pent-2-enilo, 2,3-dimetilbut-1-enilo, hex-1-enilo, hex-2-enilo, hex-3-enilo, prop-1,2-dienilo, 4-metilhex-1-enilo, cicloprop-1-enilo, y otros.

En la presente descripción, la expresión "grupo arilo" pretende comprender de 4 a 12 átomos de carbono. Dicho grupo arilo puede ser un grupo fenilo o un grupo naftilo. Los grupos mencionados anteriormente pueden estar sustituidos naturalmente con cualquier otro sustituyente conocido dentro de la técnica de la química orgánica. Los grupos también pueden estar sustituidos con dos o más de dichos sustituyentes. Los ejemplos de sustituyentes son grupos halógeno, alquilo, alquenilo, alcoxi, nitro, sulfo, amino, hidroxilo y carbonilo. Los sustituyentes halógenos son bromo, fluoro, yodo y cloro. Los grupos alquilo son como se definen anteriormente que contienen de 1 a 7 átomos de carbono. Los alquenilos son como se definen anteriormente que contienen de 2 a 7 átomos de carbono, preferiblemente de 2 a 4. Alcoxi es como se define a continuación que contiene de 1 a 7 átomos de carbono, preferiblemente de 1 a 4 átomos de carbono, que pueden contener un átomo de carbono insaturado. Pueden estar presentes combinaciones de sustituyentes tales como trifluorometilo.

En la presente descripción, la expresión "grupo alcoxi" pretende comprender de 1 a 7 átomos de carbono, preferiblemente de 1 a 4 átomos de carbono. Dicho grupo alcoxi puede ser un grupo metoxi, un grupo etoxi, un grupo propoxi, un grupo isopropoxi, un grupo n-butoxi, un grupo sec-butoxi, un grupo terc-butoxi, un grupo pentoxi, un grupo isopentoxi, un grupo 3-metilbutoxi, un grupo 2,2-dimetilpropoxi, grupo n-hexoxi, grupo 2-metilpentoxi, grupo 2,2-dimetilbutoxi, grupo 2,3-dimetilbutoxi, grupo n-heptoxi, grupo 2-metilhexoxi, grupo 2,2-dimetilpentoxi, grupo 2,3-dimetilpentoxi, grupo ciclopropoxi, grupo ciclobutoxi, grupo ciclopentiloxi, grupo ciclohexiloxi, grupo cicloheptiloxi y grupo 1-metilciclopropil oxí.

En la presente descripción, la expresión "grupo alquilamino" pretende comprender de 1 a 7 átomos de carbono, preferiblemente de 1 a 4 átomos de carbono, en donde el grupo alquilo es como se definió anteriormente. Así, alquilo significará cualquiera de metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, terc-butilo, pentilo, isopentilo, 3-metilbutilo, 2,2-dimetilpropilo, n-hexilo, 2-metilpentilo, 2,2-dimetilbutilo, 2,3-dimetilbutilo, n-heptilo, 2-metilhexilo, 2,2-dimetilpentilo, 2,3-dimetilpentilo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo y 1-metilciclopropilo.

En la presente descripción, la expresión "grupo arilamino" pretende comprender de 4 a 7 átomos de carbono. Dicho "grupo arilamino" puede ser anilina, anilina carboxilada o anilina halogenada, siendo el halógeno como se definió anteriormente.

5 En la presente descripción, la expresión "grupo ariloxi" pretende comprender de 4 a 12 átomos de carbono. Dicho "grupo ariloxi" puede ser fenol, fenol carboxilado o fenol halogenado, en el que el halógeno es como se definió anteriormente.

10 En la presente descripción, la expresión "grupo heteroarilo" pretende comprender cualquier grupo arilo que comprenda de 4 a 18 átomos de carbono, en donde al menos un átomo del anillo es un heteroátomo, es decir, no es un carbono. Preferiblemente, dicho heteroátomo es N, O o S. Dicho grupo heteroarilo puede ser una piridina, o un grupo indol.

15 Los grupos mencionados anteriormente pueden estar sustituidos con cualquier otro sustituyente conocido dentro de la técnica de la química orgánica. Los grupos también pueden estar sustituidos con dos o más de los sustituyentes. Los ejemplos de sustituyentes son grupos halógeno, alcoxi, nitro, sulfo, amino, hidroxi y carbonilo. Los sustituyentes halógenos son bromo, fluoro, yodo y cloro. Los grupos alquilo son como se definen anteriormente que contienen de 1 a 7 átomos de carbono. Los alquienilos son como se definieron anteriormente que contienen de 2 a 7 átomos de carbono, preferiblemente de 2 a 4. Alcoxi es como se define a continuación que contiene de 1 a 7 átomos de carbono, preferiblemente de 1 a 4 átomos de carbono, que pueden contener un átomo de carbono insaturado.

En un aspecto de la invención, el compuesto se selecciona del grupo que consiste en:

20 ((1R,2R,3S)-2-hidroxi-3-(4-(N-(1-propil)-carbamoil)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)ciclohexil) 3-deoxi-(3-(4-(N-(1-propil)-carbamoil)-1H-1,2,3-triazol-1-il))-β-D-galactopiranosido (7),

((1R,2R,3S)-2-hidroxi-3-(4-(2-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-ciclohexil) 3-deoxi-3-(4-(2-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-1-tio-β-D-galactopiranosido (15),

((1R,2R,3S)-2-hidroxi-3-(4-(3-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-ciclohexil) 3-desoxi-3-(4-(3-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-1-tio-β-D-galactopiranosido (16),

25 ((1R,2R,3S)-2-hidroxi-3-(4-(4-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-ciclohexil) 3-desoxi-3-(4-(4-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-1-tio-β-D-galactopiranosida (17),

(1R,2R,3S)-2-hidroxi-3-(4-(3-tienil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-ciclohexil) 3-deoxi-3-(4-(3-tienil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-1-tio-β-D-galactopiranosido (18),

30 (1R,2R,3S)-2-hidroxi-3-(4-(N-(1-propil)-carbamoilo)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-ciclohexil) 3-desoxi-3-(4-(N-(1-propil)-carbamoil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-1-tio-β-D-galactopiranosido (19).

35 En un aspecto, la presente invención se refiere a un compuesto de acuerdo con la fórmula mencionada anteriormente para uso como un medicamento. En otro aspecto, la invención se refiere a un compuesto de acuerdo con la fórmula mencionada anteriormente para su uso en el tratamiento de un trastorno que se selecciona del grupo que consiste en inflamación, choque séptico, cáncer y enfermedades autoinmunes como la artritis reumatoide y la esclerosis múltiple. Preferiblemente, dicho compuesto es para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer.

40 En otro aspecto más, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con la fórmula mencionada anteriormente como ingrediente activo junto con un adyuvante farmacéuticamente aceptable, diluyente, excipiente o vehículo. Una composición farmacéutica de la invención comprende de 1 a 99% en peso de un adyuvante, diluyente, excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable y de 1 a 99% en peso de un compuesto de acuerdo con la fórmula mencionada anteriormente.

45 La composición farmacéutica según la presente invención que comprende un compuesto de la invención puede adaptarse para su administración oral, intravenosa, tópica, intraperitoneal, nasal, bucal, sublingual o subcutánea, o para la administración a través del tracto respiratorio en forma de, por ejemplo, un aerosol o un polvo fino suspendido en aire. Por lo tanto, la composición farmacéutica de la presente invención puede estar en forma de, por ejemplo, tabletas, cápsulas, polvos, soluciones, parches transdérmicos o supositorios.

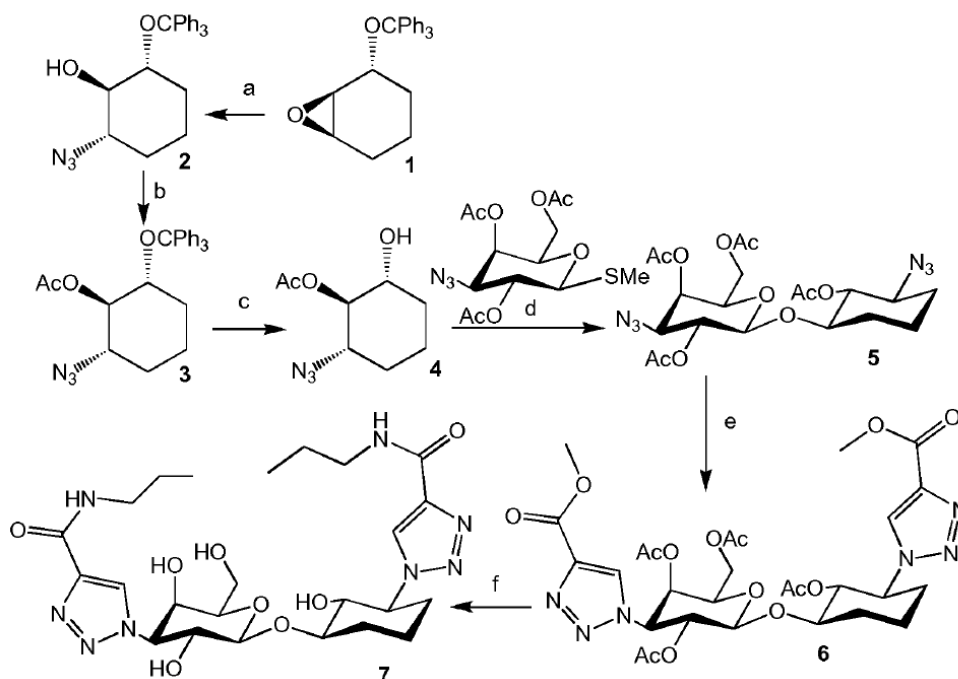
La composición farmacéutica de la presente invención puede comprender opcionalmente dos o más compuestos de la presente invención. La composición también se puede usar junto con otros medicamentos dentro de la técnica para el tratamiento de trastornos relacionados.

50 Las dosificaciones típicas de los compuestos de la presente invención varían dentro de un amplio intervalo y dependen de muchos factores, tales como la vía de administración, el requerimiento del individuo que necesita tratamiento, el peso corporal del individuo, la edad y el estado general.

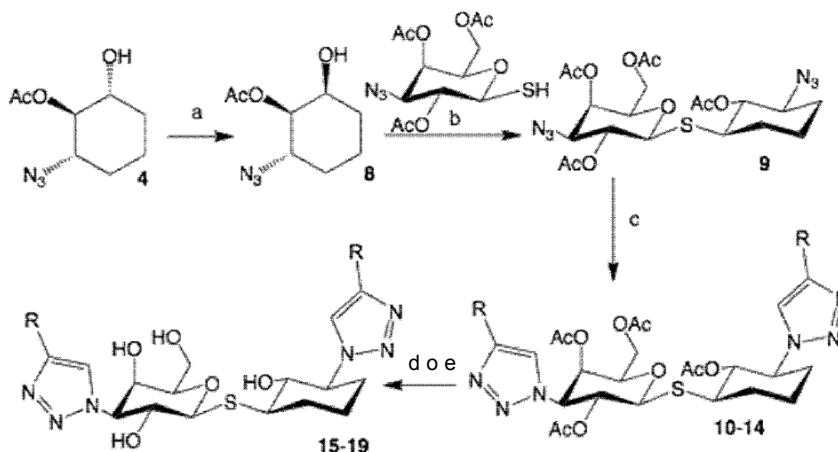
Los adyuvantes, diluyentes, excipientes y/o vehículos que pueden usarse en la composición de la invención deben ser farmacéuticamente aceptables en el sentido de ser compatibles con los compuestos y los otros ingredientes de la composición farmacéutica, y no perjudiciales para el receptor de los mismos. Los coadyuvantes, diluyentes, excipientes y vehículos que pueden usarse en la composición farmacéutica de la invención son bien conocidos por los expertos de la técnica.

Síntesis de ciclohexil galactósidos sustituido con triazolilo y amido.

Los ciclohexil galactósidos sustituidos con amino no forman parte de la invención. Se sintetizaron ciclohexil galactósidos sustituidos con triazolilo y amido a partir del óxido de ciclohexano quiral ((1R,2R,6R)-2-(trifenilmetoxi)-7-oxabicyclo[4.1.0]heptano) conocido (documento US2008200406) (1) y metil 2,4,6-tri-O-acetil-3-azido-3-desoxi-1-tio-β-D galactopiranosido (Sörme et al., 2002) como se muestra en los esquemas 1-3.



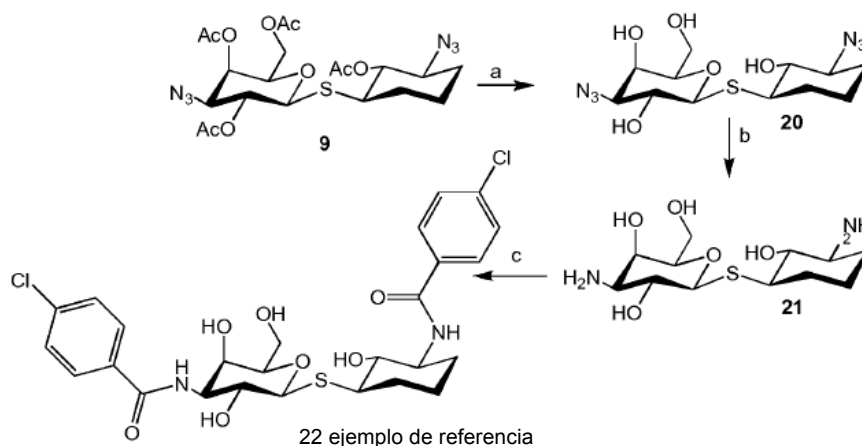
Esquema 1. a) NaN_3 , H_2O , MeOH (62%); b) AcCl , piridina, CH_2Cl_2 (100%); c) AcOH (81%); d) NIS , TfOH , CH_2Cl_2 (6%); e) metilpropiolato, CuI , DIPEA , tolueno (44%); f) propilamina, MeOH (53%).



Esquema 2. a) TF_2O , piridina, CH_2Cl_2 ; b) TF_2O , piridina, CH_2Cl_2 , 2,4,6-tri-O-acetil-3-azido-3-desoxi-1-tio-β-D-galactopiranosido, Et_3N , CH_2Cl_2 ; c) alquino (para R véase la Tabla 1 más abajo), CuI , DIPEA , tolueno (44-93%); d) NaOMe (0,05 M en MeOH) (53-85%); e) n-propilamina, MeOH .

Tabla 1. Estructuras R del esquema 2

R en la estructura del esquema 2	Alquino dentro del esquema 2	c) rendimiento (%)	d) rendimiento (%)	e) rendimiento (%)
Orto-fluorofenilo	1-etinil-orto-fluorobenceno	93 (10)	55 (15)	
Meta-fluorofenilo	1-etinil-meta-fluorobenceno	66 (11)	83 (16)	
Para-fluorofenilo	1-etinil-para-fluorobenceno	44 (12)	85 (17)	
3-tienilo	3-etinil tiofeno	88 (13)	53 (18)	
N-(1-Propil)-carbamoilo	Metil propiolato	100 (14)		68 (19)



Esquema 3. a) NaOMe (0,05 M en MeOH); b) PPh₃, THF, H₂O; c) cloruro de 4-clorobenzoilo, Na₂CO₃ (ac., 1M) (16% respecto a las tres etapas a partir de 20).

5 Evaluación de los valores de K_d frente a galectina-3

Los compuestos 7, 15-19 y 22 (siendo el compuesto 22 un ejemplo de referencia) se evaluaron en cuanto a su eficacia en la inhibición de galectina-1 y galectina-3 (Tabla 2) en un ensayo conocido basado en la polarización de fluorescencia (Sornne et al., 2003a, 2004). Los inhibidores de galectina conocidos galactosa y N-acetil-lactosamina-metil-glucósidos se incluyeron como compuestos de referencia. De hecho, todos los compuestos fueron inhibidores potentes de galectina-1 y galectina-3 con la constante de disociación en el rango bajo de μM o nM. Esto demuestra que un ciclohexano estructurado adecuadamente puede imitar el resto de sacárido de unión a D del subsitio, p. ej. N-acetilglucosamina en el disacárido N-acetil-lactosamina. En particular, (1R,2R,3S)-2-hidroxi-3-(1H-1,2,3-triazol-1-il)-ciclohexil)β-D-galactopiranosidos sustituidos y (1R,2R,3S)-2-hidroxi-3-(amido)-ciclohexil)β-D-galactopiranosidos son capaces de tal imitación, al igual que sus correspondientes tioglicósidos. Por lo tanto, combinar dicho (1R,2R,3S)-2-hidroxi-3-(1H-1,2,3-triazol-1-il)-ciclohexil) β-D-galactopiranosidos y (1R,2R,3S)-2-hidroxi-3-(amido)-ciclohexil)β-D-galactopiranosidos con triazoles de galactosa C3 o amidas aromáticas da como resultado potentes inhibidores de galectina de varios órdenes de magnitud mejor que los inhibidores de referencia conocidos.

La potencia del inhibidor inesperadamente alta, la polaridad adecuada y la estabilidad de dichos ciclohexil galactósidos sustituidos frente a la galectina-3 los hacen adecuados para ser componentes activos en composiciones farmacéuticas dirigidas a condiciones en las que la galectina-3 desempeña un papel patológico.

Tabla 2. Afinidad de compuestos para galectina-1 y galectina-3 calculada a partir de la prueba por polarización de fluorescencia.

	Estructura	Conc. probada (μM)	Kd calculada (μM)	Conc. probada (μM)	Kd calculada (μM)
		Galectina-1		Galectina-3	
Compuesto de referencia		2000 0	>1000 0	10000	4400
Compuesto de referencia		200	65	200	59
7		-	-	1	0.43
15		2	1.9	1	0.23
16		2	1.5	1	0.15
17		2	1.2	1	0.21
18		2	0.35	1	0.55
19		2	1.3	0.5	0.19
Ejemplo de referencia 23		10	6.3	4	1.4

Metodología/Parte experimental

Procedimientos sintéticos generales

Los compuestos de esta invención se pueden preparar mediante los siguientes métodos y procedimientos generales. Los ensayos de galectina-3 de esta invención pueden realizarse mediante los siguientes métodos y procedimientos generales. Debería apreciarse que cuando se dan condiciones de proceso típicas o preferidas (por ejemplo, temperaturas de reacción, tiempos, relaciones molares de reactivos, disolventes, presiones, pH, etc.), también se pueden usar otras condiciones de proceso a menos que se indique lo contrario. Las condiciones de reacción óptimas pueden variar con los reactivos particulares, los disolventes usados y el pH, etc., pero tales condiciones pueden determinarse por cualquier experto en la técnica mediante procedimientos de optimización de rutina.

La identificación de las sustancias se realizó mediante HRMS (Micromass Q-tof micro) y RMN (Bruker Ultrashield 400 plus, 400 MHz). Los desplazamientos químicos se informaron campo abajo de Me₄Si usando CHD₂Cl residual (7,26 ppm) o CHD₂OD (3,35 ppm) como referencia. Los desplazamientos químicos y las constantes de acoplamiento se obtuvieron a partir de ¹H-RMN y las resonancias de protón se asignaron a partir de los experimentos COSY. La purificación se realizó mediante RF-HPLC (Beckman, sistema gold) o cromatografía ultrarrápida, usando gel de sílice (Davisil 35-70 µm, 60 Å). Las reacciones fueron seguidas por TLC (lámina de aluminio, gel de sílice 60 F254) observada por luz UV, H₂SO₄ (ac) o una solución de iso-vainillina/H₂SO₄/EtOH. THF y Et₂O se secaron sobre sodio/benzofenona y se destilaron. El CH₂Cl₂ se secó mediante tamices moleculares (4 Å, 1,6 mm). Otros disolventes y reactivos estaban disponibles comercialmente y se usaron sin más purificaciones. Los experimentos de polarización de fluorescencia se realizaron en un instrumento PolarStar (BMG, Offenburg, Alemania). La evaluación de 7, 15-19 y 22 (siendo el compuesto 22 un ejemplo de referencia) como inhibidores de galectinas se realizó mediante el uso de polarización de fluorescencia como se describe en la bibliografía (Sörme et al., 2003a, 2004).

(1R,2S,6R)-2-azido-6-(tritoloxi)ciclohexanol (2)

La mezcla diastereomérica de (1R,2R,6R)-2-(trifenilmetoxi)-7-oxabicyclo [4.1.0] heptano 1 (755 mg, 2,12 mmol) y el S,S-epóxido se disolvió con NaN₃ (861 mg, 13,3 mmol) en H₂O (1,7 mL) y MeOH (15 mL). La mezcla se calentó a 80°C, se calentó a reflujo durante la noche y luego se diluyó con agua y CH₂Cl₂. La capa orgánica se separó y la capa acuosa se lavó nuevamente (CH₂Cl₂). La capa orgánica completa se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró. La purificación se realizó mediante recristalización en MeOH a -18°C. La reacción produjo 62% de 2. ¹H-RMN (CDCl₃) 7,50 (m, 6 H), 7,20-7,40 (m, 9 H), 3,69 (t, J = 9,50 Hz, 1 H), 3,05 (ddd, J = 4,80, 9,44, 12,05 Hz, 1 H), 2,91 (ddd, J = 4,17, 8,81, 11,28 Hz, 1 H), 2,70 (s, 1 H), 1,80 (m, 1 H), 1,50 (m, 2 H), 1,20-1,40 (m, 2 H), 0,80 (m, 1 H).

acetato de (1R,2S,6R)-2-azido-6-(tritoloxi)ciclohexilo (3)

El compuesto 2 (625 mg, 1,57 mmol), piridina (363 µL, 4,69 mmol) y AcCl (272 µL, 3,13 mmol) se disolvieron en CH₂Cl₂ (15 mL) en atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente. Después de 2 h, la mezcla se diluyó con CH₂Cl₂. La capa orgánica se lavó (HCl (ac) al 5%, NaHCO₃ saturado, salmuera), se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró. No se necesitó más purificación. La reacción produjo 100% de 3. ¹H-RMN (CDCl₃) 7,45 (m, 6 H), 7,20-7,35 (m, 9 H), 5,14 (t, J = 9,49 Hz, 1 H), 2,99-3,10 (m, 2 H), 1,93 (s, 3 H), 1,86 (m, 1 H), 1,50 (m, 2 H), 1,25-1,40 (m, 2 H), 0,80 (m, 1 H).

acetato de (1R,2S,6R)-2-azido-6-hidroxyciclohexilo (4)

El compuesto 3 (677 mg, 1,53 mmol) se disolvió en AcOH (10 ml), se calentó a 56°C y se dejó durante la noche. La mezcla se concentró y se purificó por cromatografía ultrarrápida usando EtOAc:n-heptano (1:1) como eluyente. La reacción produjo 81% de 4. ¹H-RMN (CDCl₃) 4,72 (t, J = 9,54 Hz, 1 H), 3,56 (m, 1 H), 3,47 (m, 1 H), 2,19 (s, 3 H), 2,00-2,10 (m, 3 H), 1,80 (m, 1 H), 1,25-1,45 (m, 3 H). Masa calculada de HRMS (C₈H₁₄N₃O₃⁺): 200,1030, masa observada: 200,1056.

((1R,2R,3S)-2-acetoxi-3-azidociclohexil) 2,4,6-tri-O-acetil-3-azido-3-desoxi-β-D-galactopiranosido (5)

El compuesto 4 (29,5 mg, 147 µmol), metil 2,4,6-tri-O-acetil-3-azido-3-desoxi-1-tio-β-D-galactopiranosido (63,7 mg, 178 µmol) y tamices moleculares activados AW300 se agitaron bajo nitrógeno a temperatura ambiente durante 30 minutos antes de que se enfriara a -42°C. Se añadió N-yodosuccinimida (49,5 mg, 221 µmol) y TfOH (1,91 µL, 22,1 µmol). Después de 4 h, la reacción se calentó a -18°C durante la noche y luego se calentó a temperatura ambiente, se filtró y se diluyó con CH₂Cl₂. La capa orgánica se lavó (Na₂S₂O₃ (ac)), se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró. La purificación se realizó por cromatografía ultrarrápida usando acetona:tolueno (1:10) como eluyente. La reacción produjo 6,1% de 5. ¹H-RMN (CDCl₃) 5,42 (dd, J = 0,99, 3,40 Hz, 1 H), 5,06 (dd, J = 7,75, 10,72 Hz, 1 H), 5,33 (t, J = 9,55 Hz, 1 H), 4,48 (d, J = 7,82 Hz, 1 H), 4,10 (m, 2 H), 3,85 (dt, J = 1,19, 6,71 Hz, 1 H), 3,62 (m, 1 H), 3,54 (dd, J = 3,41, 10,65 Hz, 1 H), 3,36 (m, 1 H), 2,19 (s, 3 H), 2,12 (s, 3 H), 2,11 (s, 3 H), 2,08 (s, 3 H), 2,00-2,10 (m, 2 H), 1,81 (m, 1 H), 1,25-1,45 (m, 3 H). Masa calculada de HRMS (C₂₀H₂₈N₆NaO₁₀⁺): 535,1759, masa observada: 535,1776.

((1R,2R,3S)-2-acetoxi-3-(4-(metoxycarbonil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)ciclohexil)2,4,6-tri-O-acetil-3-desoxi-(3-(4-(metoxycarbonil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)) β-D-galactopiranosido (6)

El compuesto 5 (8 mg, 15,7 μ mol), metilpropionato (2,78 μ L, 31,2 μ mol), CuI (595 μ g, 3,12 μ mol) y diisopropiletilamina (5,35 μ L, 31,2 μ mol) se disolvieron en tolueno (1 ml), se calentaron a 45°C y se dejaron durante la noche. La mezcla se concentró y se purificó por cromatografía ultrarrápida usando EtOAc como eluyente. La reacción produjo 44% de 6. $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) 8,15 (s, 1 H), 8,14 (s, 1 H), 5,50 (m, 2 H), 5,15-5,20 (m, 2 H), 4,71 (d, J = 7,53 Hz, 1 H), 4,65 (m, 1 H), 4,10 (m, 3 H), 3,96 (s, 3 H), 3,95 (s, 3 H), 2,28 (m, 1 H), 2,18 (m, 1 H), 2,08 (s, 3 H), 2,06 (s, 3 H), 1,95-2,10 (m, 3 H), 1,91 (s, 6 H), 1,50 (m, 2 H). Masa calculada de HRMS ($\text{C}_{28}\text{H}_{36}\text{N}_6\text{NaO}_{14}^+$): 703,2182, masa observada: 703,2201.

((1R,2R,3S)-2-hidroxi-3-(4-(N-(1-propil)-carbamoyl)-1h-1,2,3-triazol-1-il)ciclohexil)3-desoxi-(3-(4-(N-(1-propil)-carbamoyl)-1h-1,2,3-triazol-1-il))- β -D-galactopiranosido (7)

El compuesto 6 (5 mg, 7,37 μ mol) se disolvió en MeOH:propilamina (5:1, 2,4 ml) y se dejó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla se concentró y se purificó por cromatografía ultrarrápida usando MeOH: CH_2Cl_2 (1:9) como eluyente. La reacción produjo 53% de 7. Se realizó una purificación adicional mediante HPLC de fase inversa usando un gradiente lineal de H_2O :MeCN (100% $\rightarrow$ 0% de H_2O) como eluyente. $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) 8,42 (s, 1 H), 8,39 (s, 1 H), 4,64 (d, J = 7,47 Hz, 1 H), 4,49 (ddd, J = 4,63, 8,95, 12,17 Hz, 1 H), 4,13 (dd, J = 7,50, 11,14 Hz, 1 H), 4,04 (d, J = 2,63 Hz, 1 H), 3,73-3,90 (m, 4 H), 3,68 (dd, J = 4,82, 11,17 Hz, 1 H), 3,36 (t, J = 7,15 Hz, 4 H), 2,25 (m, 1 H), 2,00-2,20 (m, 2 H), 1,91 (m, 1 H), 1,62 (m, 4 H), 1,55 (m, 2 H), 0,98 (t, J = 7,4, 6 H). Masa calculada de HRMS ($\text{C}_{24}\text{H}_{39}\text{N}_8\text{O}_8^+$): 567,2885, masa observada: 567,2894.

acetato de (1R,2S,6S)-2-azido-6-hidroxyciclohexilo (8)

A una solución de 4 (416 mg, 2,09 mmol) y piridina (506 μ L, 6,27 mmol) en CH_2Cl_2 (10 ml), se añadió gota a gota Ti_2O (421 μ L, 2,51 mmol) a -10°C. La mezcla se dejó reaccionar durante 10 minutos cuando se diluyó (CH_2Cl_2), se lavó (HCl (ac) 5%, NaHCO_3 (ac) sat, salmuera), se secó (MgSO_4), se filtró y se concentró. El crudo se disolvió luego en DMF (20 ml). Se añadió Bu_4NNO_2 (1810 mg, 6,27 mmol) y la mezcla se calentó a 50°C. Después de 1 h, la mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se concentró. La purificación se realizó por cromatografía ultrarrápida usando EtOAc:n-heptano (1:1) como eluyente. La reacción produjo 64% de 8. $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) 4,79 (dd, J = 4,78, 9,75 Hz, 1 H), 4,17 (m, 1 H), 3,83 (ddd, J = 4,58, 9,84, 11,29 Hz, 1 H), 2,18 (s, 3 H), 2,00-2,10 (m, 1 H), 1,85-1,95 (m, 1 H), 1,70-1,80 (m, 1 H), 1,50-1,65 (m, 2 H), 1,30-1,45 (m, 1 H)

((1R,2R,3S)-2-acetoxi-3-azidociclohexil) 2,4,6-tri-O-acetil-3-azido-3-desoxi 1-tio- β -D-galactopiranosido (9)

A una solución de 8 (64,5 mg, 324 μ mol) y piridina (78,6 μ L, 973 μ mol) en CH_2Cl_2 (1,7 ml) se añadió gota a gota Ti_2O (65,4 μ L, 389 μ mol) a -10°C. La mezcla se dejó reaccionar durante 1 h cuando se diluyó (CH_2Cl_2), se lavó (HCl (ac) al 5%, NaHCO_3 (ac) saturado, salmuera), se secó (MgSO_4), se filtró y se concentró. El crudo se coevaporó en tolueno con 2,4,6-tri-O-acetil-3-azido-3-desoxi-1-tio- β -D-galactopiranosido de metilo (Sörme y otros, 2002) (108 mg, 311 μ mol) y se añadió CH_2Cl_2 (3,2 ml). La mezcla se desgasificó y se añadió Et_3N (65,0 μ L, 467 μ mol). La mezcla se dejó reaccionar durante 16 h cuando se diluyó (CH_2Cl_2), se lavó (HCl (ac) al 5%, salmuera), se secó (MgSO_4), se filtró y se concentró. La purificación se realizó por cromatografía ultrarrápida usando EtOAc:n-heptano (2:3) como eluyente. La reacción produjo 43% de 9. $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) 5,46 (dd, J = 1,10, 3,50 Hz, 1 H), 5,12 (t, J = 10,07 Hz, 1 H), 4,82 (dd, J = 9,45, 10,54 Hz, 1 H), 4,70 (d, J = 9,95 Hz, 1 H), 4,10 (d, J = 6,61 Hz, 2 H), 3,89 (t, J = 6,10 Hz, 1 H), 3,67 (dd, J = 3,33, 9,77 Hz, 1 H), 3,35-3,45 (m, 1 H), 2,77-2,87 (m, 1 H), 2,18 (s, 1 H), 2,15 (s, 3 H), 2,14 (s, 3 H), 2,06 (s, 3 H).

((1R,2R,3S)-2-acetoxi-3-(4-(2-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-ciclohexil)2,4,6-tri-O-acetil-3-desoxi-3-(4-(2-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-1-tio- β -D-galactopiranosido (10)

El compuesto 9 (8,80 mg, 16,7 μ mol), 1-etinil-2-fluorobenceno (5,67 μ L, 50,0 μ mol), CuI (0,634 mg, 5,00 μ mol) y DIPEA (8,55 μ L, 50,0 μ mol) se disolvió en tolueno (1 ml). La mezcla se calentó a 45°C y se dejó reaccionar durante 22 h cuando se diluyó (CH_2Cl_2), se lavó (HCl (ac) al 5%, salmuera), se secó (MgSO_4), se filtró y se concentró. La purificación se realizó por cromatografía ultrarrápida usando EtOAc:n-heptano (3:2) como eluyente. La reacción produjo el 93% de 10. De la misma manera, se prepararon los compuestos 11-13:

((1R,2R,3S)-2-acetoxi-3-(4-(3-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-ciclohexil)2,4,6-tri-O-acetil-3-desoxi-3-(4-(3-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-1-tio- β -D-galactopiranosido (11)

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) 7,86 (s, 1 H), 7,81 (s, 1 H), 7,48-7,63 (m, 4 H), 7,35-7,45 (m, 2 H), 7,70-7,10 (m, 2 H), 5,70 (dd, J = 9,74, 10,83 Hz, 1 H), 5,62 (d, J = 3,24 Hz, 1 H), 5,26 (t, J = 10,38 Hz, 1 H), 5,20 (dd, J = 3,25, 10,97 Hz, 1 H), 4,92 (d, J = 9,58 Hz, 1 H), 4,63-4,73 (m, 1 H), 4,10-4,25 (m, 3 H), 3,05-3,15 (m, 1 H), 2,30-2,50 (m, 1 H), 2,00-2,20 (m, 2 H), 2,09 (s, 3 H), 2,09 (s, 3 H), 1,80-1,90 (m, 1 H), 1,90 (s, 3 H), 1,88 (s, 3 H), 1,60-1,70 (m, 1 H).

((1R,2R,3S)-2-acetoxi-3-(4-(4-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-ciclohexil) 2,4,6-tri-O-acetil-3-desoxi-3-(4-(4-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-1-tio- β -D-galactopiranosido (12)

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) 7,70-7,85 (m, 6 H), 7,05-7,15 (m, 4 H), 5,70 (t, J = 10,20 Hz, 1 H), 5,62 (d, J = 2,36 Hz, 1 H), 5,26 (t, J = 10,30 Hz, 1 H), 5,20 (d, J = 10,44 Hz, 1 H), 4,92 (d, J = 9,46 Hz, 1 H), 4,63-4,73 (m, 1 H), 4,10-4,25 (m, 3 H),

3,05-3,15 (m, 1 H), 2,30-2,50 (m, 2 H), 2,00-2,20 (m, 2 H), 2,09 (s, 3 H), 2,08 (s, 3 H), 1,80-1,90 (m, 1 H), 1,89 (s, 3 H), 1,87 (s, 3 H), 1,60-1,70 (m, 1 H).

((1R,2R,3S)-2-acetoxi-3-(4-(3-tiofenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-ciclohexil) 2,4,6-tri-O-acetil-3-desoxi-3-(4-(3-tienil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-1-tio-β-D-galactopiranosido (13)

5 ¹H-RMN (CDCl₃) 7,74 (s, 1 H), 7,65-7,70 (m, 3 H), 7,42-7,46 (m, 1 H), 7,35-7,42 (m, 3 H), 5,70 (dd, J = 9,72, 10,84 Hz, 1 H), 5,61 (d, J = 3,20 Hz, 1 H), 5,25 (t, J = 10,40 Hz, 1 H), 5,19 (dd, J = 3,26, 11,06 Hz, 1 H), 4,91 (d, J = 9,64 Hz, 1 H), 4,63-4,73 (m, 1 H), 4,10-4,25 (m, 3 H), 3,05-3,15 (m, 1 H), 2,30-2,50 (m, 2 H), 2,00-2,20 (m, 2 H), 2,09 (s, 3 H), 2,08 (s, 3 H), 1,80-1,90 (m, 1 H), 1,89 (s, 3 H), 1,87 (s, 3 H), 1,60-1,70 (m, 1 H).

10 ((1R,2R,3S)-2-hidroxi-3-(4-(2-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-ciclohexil)3-desoxi-3-(4-(2-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-1-tio-β-D-galactopiranosido (15)

15 El compuesto 10 (12,0 mg, 15,6 μmol) se disolvió en NaOMe (0,05 M, 1 ml). Después de 21 h, la mezcla se neutralizó (Duolite C436) y se concentró. La purificación se realizó mediante HPLC de fase inversa usando un gradiente lineal de H₂O:MECN (100% -> 0% de H₂O). La reacción produjo 55% de 15, ¹H-RMN (MeOD) 8,38 (d, J = 3,53 Hz, 1 H), 8,35 (d, J = 3,55 Hz, 1 H), 8,08-8,18 (m, 2 H), 7,33-7,43 (m, 2 H), 7,18-7,33 (m, 4 H), 4,92 (dd, 1 H), 4,76 (d, 9,48 Hz, 1 H), 4,47-4,57 (m, 1 H), 4,28 (dd, J = 9,51, 10,55 Hz, 1 H), 4,15 (d, J = 2,98 Hz, 1 H), 3,83-3,93 (m, 2 H), 3,76 (dd, J = 6,87, 11,35 Hz, 1 H), 3,68 (dd, J = 5,19, 11,37 Hz, 1 H), 3,07-3,17 (m, 1 H), 2,28-2,38 (m, 1 H), 2,08-2,25 (m, 2 H), 1,90-2,00 (m, 1 H), 1,60-1,77 (m, 2 H).

De la misma manera, se prepararon los compuestos 16-18:

20 ((1R,2R,3S)-2-hidroxi-3-(4-(3-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-ciclohexil)3-desoxi-3-(4-(3-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-1-tio-β-D-galactopiranosido (16)

¹H-RMN (MeOD) 8,50 (s, 1 H), 8,47 (s, 1 H), 7,55-7,70 (m, 4 H), 7,40-7,50 (m, 2 H), 7,03-7,13 (m, 2 H), 4,89 (dd, 1 H), 4,77 (d, 9,48 Hz, 1 H), 4,47-4,57 (m, 1 H), 4,30 (t, J = 10,03 Hz, 1 H), 4,14 (d, J = 2,87 Hz, 1 H), 3,83-3,93 (m, 2 H), 3,77 (dd, J = 6,77, 11,31 Hz, 1 H), 3,69 (dd, J = 5,15, 11,24 Hz, 1 H), 3,07-3,17 (m, 1 H), 2,28-2,38 (m, 1 H), 2,08-2,25 (m, 2 H), 1,90-2,00 (m, 1 H), 1,60-1,77 (m, 2 H).

25 ((1R,2R,3S)-2-hidroxi-3-(4-(4-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-ciclohexil) 3-desoxi-3-(4-(4-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-1-tio-β-D-galactopiranosido (17)

30 ¹H-RMN (MeOD) 8,42 (s, 1 H), 8,38 (s, 1 H), 7,75-7,95 (m, 4 H), 7,10-7,25 (m, 4 H), 4,89 (dd, 1 H), 4,77 (d, 9,47 Hz, 1 H), 4,47-4,57 (m, 1 H), 4,29 (dd, J = 9,77, 10,33 Hz, 1 H), 4,14 (d, J = 2,73 Hz, 1 H), 3,83 -3,93 (m, 2 H), 3,77 (dd, J = 6,81, 11,34 Hz, 1 H), 3,69 (dd, J = 5,24, 11,27 Hz, 1 H), 3,07-3,17 (m, 1 H), 2,28-2,38 (m, 1 H), 2,08-2,25 (m, 2 H), 1,90-2,00 (m, 1 H), 1,60-1,77 (m, 2 H).

((1R,2R,3S)-2-hidroxi-3-(4-(3-tiofenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-ciclohexil) 3-desoxi-3-(4-(3-tienil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-1-tio-β-D-galactopiranosido (18)

35 ¹H-RMN (MeOD) 8,44 (s, 1 H), 8,31 (s, 1 H), 7,70-7,83 (m, 2 H), 7,40-7,65 (m, 4 H), 4,85 (dd, 1 H), 4,76 (d, 9,46 Hz, 1 H), 4,47-4,57 (m, 1 H), 4,28 (dd, J = 9,53, 10,50 Hz, 1 H), 4,14 (d, J = 2,95 Hz, 1 H), 3,83 -3,93 (m, 2 H), 3,77 (dd, J = 6,79, 11,35 Hz, 1 H), 3,69 (dd, J = 5,17, 11,35 Hz, 1 H), 3,07-3,17 (m, 1 H), 2,28 -2,38 (m, 1 H), 2,08-2,25 (m, 2 H), 1,90-2,00 (m, 1 H), 1,60-1,77 (m, 2 H).

((1R,2R,3S)-2-hidroxi-3-(4-(propilcarbamoil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-ciclohexil)-3-desoxi-3-(4-(propilcarbamoil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-tio-β-D-galactopiranosido (19)

40 El compuesto ((1R,2R,3S)-2-acetoxi-3-(4-(metoxicarbonil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)ciclohexil)-3-desoxi-3-(4-(metoxicarbonil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-tio-β-D-galactopiranosido (2,4,6)-triacetato (14) se preparó siguiendo el procedimiento descrito anteriormente para el compuesto (6). El compuesto 14 se disolvió en MeOH (2,0 ml) y propilamina (400 μl). Después de 16 h, la mezcla se concentró y se purificó por HPLC de fase inversa (gradiente lineal de H₂O:MeCN 100% -> 0% H₂O) para dar 19 (68%). ¹H-RMN (CDCl₃) 8,46 (s, 1 H), 8,40 (s, 1 H), 4,73 (d, J = 9,5 Hz, 1 H), 4,50 (ddd, J = 4,6, 9,0, 12,2 Hz, 1 H), 4,21 (dd, J = 9,5, 10,0 Hz, 1 H), 4,09 (d ancho, J = 2,6 Hz, 1 H), 3,63-3,86 (m, 4 H), 3,08 (m, 1 H), 2,30 (m, 1 H), 2,08-2,23 (m, 2 H), 1,95 (m, 1 H), 1,62 (m, 6 H), 1,55 (m, 2 H), 0,98 (t, J = 7,5 Hz, 6 H).

((1R,2R,3S)-2-hidroxi-3-(4-clorobenzamido)-ciclohexil)-3-desoxi-3-(4-clorobenzamido)-tio-β-D-galactopiranosido (22) – ejemplo de referencia.

50 El Compuesto 9 (135 mg, 0,263 mmol) se disolvió en DCM (500 μl). Se añadió NaOMe (500 μl, 0,05 M en MeOH) y la mezcla se agitó durante la noche. La mezcla se neutralizó (Duolite C436/H⁺), se filtró y se concentró para dar ((1R,2R,3S)-2-hidroxi-3-azidociclohexil)-3-desoxi-3-azido-tio-β-D-galactopiranosido (20). Una porción del compuesto bruto 20 (5,0 mg, 13,9 μmol) se disolvió en THF (800 μL) y agua (800 μL). Se añadió PMe₃ (139 μmol, 139 μL, 1 M en THF). Después de 1 h, la mezcla se concentró para dar ((1R,2R,3S)-2-hidroxi-3-aminociclohexil)-3-desoxi-3-amino-tio-β-D-galactopiranosido (21). El compuesto crudo 21 se disolvió en DCM (550 μL) y agua (550 μL). Se

añadió cloruro de 4-clorobenzoilo (30,5 μ mol, 3,9 μ L) y Na_2CO_3 (14,7 mg, 139 μ mol) y la mezcla se agitó durante 1 h. La concentración y la cromatografía ultrarrápida (5 g de SiO_2 , EtOAc), y finalmente la HPLC de fase inversa (gradiente lineal de $\text{H}_2\text{O}:\text{MeCN}$ 100% $\rightarrow$ 0% H_2O) dieron 22 (0,91 mg, 16% de 9). ^1H -RMN (CDCl_3) 7,85 (m, 4 H), 7,48 (m, 4 H), 4,58 (d, J = 10,0 Hz, 1 H), 4,13 (dd, J = 2,8, 10,0 Hz, 1 H), 4,03 (d, J = 3,2 Hz, 1 H), 3,94 (m, 1 H), 3,82 (t, J = 10,0 Hz, 1 H), 3,77-3,64 (m, 3 H), 3,42 (t, J = 10,0 Hz, 1 H), 2,97 (m, 1 H), 2,23 (m, 1 H), 2,00 (m, 1 H), 1,80 (m, 1 H), 1,60-1,23 (m, 3 H).

Ejemplos de la eficacia in vivo de la inhibición de galectina en la inflamación y el cáncer. Inflamación

Como se mencionó anteriormente, muchos estudios sugieren un papel para la galectina-3 en la mejora de la respuesta inflamatoria. Por ejemplo, la adición de galectina-3 a los leucocitos neutrófilos de un sitio inflamatorio, o cebada por la exposición a LPS, da como resultado una mayor generación de radicales tóxicos de oxígeno. La lactosa puede inhibir esta respuesta (Karlsson et al., 1998; Almquist et al., 2001). En otro estudio (Sano et al., 2000), se descubrió que la galectina-3 era quimiotáctica para macrófagos y monocitos, tanto in vitro como in vivo. O bien la lactosa o la CRD aislada de galectina-3 (galectina 3C), capaz de unirse al mismo receptor de sacárido que la galectina-3 pero que no se reticula (véase a continuación), actuaron como inhibidores de esta respuesta. Las sustancias descritas en la presente invención serían mucho más eficaces como inhibidores de las respuestas mencionadas anteriormente que la lactosa porque son inhibidores de galectina-3 mucho más potentes. También serían mucho más útiles in vivo que la lactosa y la galectina-3C porque son moléculas pequeñas, más hidrófobas y probablemente más estables a la degradación.

Cáncer

Como se mencionó anteriormente, varios estudios de modelos de cáncer humano en ratones indican que la expresión aumentada de galectina-3 da como resultado un crecimiento tumoral más rápido y más metástasis (Bresalier et al., 1998, revisado por Leffler, 2001 y Takenaka et al en Leffler (editor), 2004b). Se observó que la inyección de un sacárido con potencia inhibidora frente a la galectina-3, pero quizás también para otras proteínas, disminuye el cáncer de próstata en ratas (Pienta et al., 1995). Por lo tanto, se espera que potentes inhibidores de molécula pequeña de galectina-3 tengan efectos anticancerosos similares a la galectina-3C (John et al., 2003).

Referencias

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

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

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

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

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

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

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

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

Fortin, S., Le Mercier, M., Camby, I., Spiegl-Kreinecker, S., Berger, W., Lefranc, F., and Kiss, R. (2008). Galectin-1 Is Implicated in the Protein Kinase C epsilon/Vimentin-Controlled Trafficking of Integrin-beta1 in Glioblastoma Cells. *Brain Pathol.* 1-11.

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

Gendronneau, G., Sidhu, S. S., Delacour, D., Dang, T., Calonne, C., Houzelstein, D., Magnaldo, T., and Poirier, F. (2008). Galectin-7 in the control of epidermal homeostasis after injury. *Mol Biol Cell* 19, 5541-5549.

- Glinsky, G. V., Price, J. E., Glinsky, V. V., Mossine, V. V., Kiriakova, G., and Metcalf, J. B. (1996). *Cancer Res* 56, 5319-5324.
- Houzelstein, D., Goncalves, I. R., Fadden, A. J., Sidhu, S. S., Cooper, D. N., Drickamer, K., Leffler, H., and Poirier, F. (2004) Phylogenetic Analysis of the Vertebrate Galectin Family. *Mol. Biol. Evol.* 21: 1177-1187
- 5 Huflejt, M. E. and Leffler, H. (2004) Galectin-4 in normal tissues and cancer. *Glycoconj. J.* 20: 247-255.
- John, C. M., Leffler, H., Kahl-Knutsson, B., Svensson, I., and Jarvis, G. A. (2003) Truncated Galectin-3 Inhibits Tumor Growth and Metastasis in Orthotopic Nude Mouse Model of Human Breast Cancer. *Clin. Cancer Res.* 9:2374-2383.
- 10 Karlsson, A., Follin, P., Leffler, H., Dahlgren, C. (1998) Galectin-3 activates the NADPH-oxidase in exudated but not peripheral blood neutrophils. *Blood* 91:3430-3438.
- MacKinnon, A. C., Farnworth, S. L., Henderson, N. C., Hodgkinson, P. S., Kipari, T., Leffler, H., Nilsson, U. J., Haslett, C., Hughes, J., and Sethi, T. (2008). Regulation of alternative macrophage activation by Galectin-3 controls renal fibrosis following ureteric obstruction. *J. Immun.* 180, 2650-2658.
- Lau, K. S., and Dennis, J. W. (2008). N-Glycans in cancer progression. *Glycobiology* 18, 750-760.
- 15 Lau, K. S., Partridge, E. A., Grigorian, A., Silvescu, C. I., Reinhold, V. N., Demetriou, M., and Dennis, J. W. (2007). Complex N-glycan number and degree of branching cooperate to regulate cell proliferation and differentiation. *Cell* 129, 123-134.
- Leffler, H. and Barondes, S. H. (1986) Specificity of binding of three soluble rat lung lectins to substituted and unsubstituted mammalian beta-galactosides. *J. Biol. Chem.* 261:10119-10126.
- 20 Leffler, H. *Galectins Structure and Function—A Synopsis in Mammalian Carbohydrate Recognition Systems* (Crocker, P. ed.) Springer Verlag, Heidelberg, 2001 pp. 57-83.
- Leffler, H., Carlsson, S., Hedlund, M., Qian, Y. and Poirier, F. (2004) Introduction to galectins. *Glycoconj. J.* 19: 433-440.
- Leffler, H., editor, (2004b) Special Issue on Galectins. *Glycoconj. J.* 19: 433-638.
- 25 Massa, S. M., Cooper, D. N. W., Leffler, H., Barondes, S. H. (1993) L-29, an endogenous lectin, binds to glycoconjugate ligands with positive cooperativity. *Biochemistry* 32; 260-267.
- Perone, M. J., Bertera, S., Shufesky, W. J., Divito, S. J., Montecalvo, A., Mathers, A. R., Larregina, A. T., Pang, M., Seth, N., Wucherpfennig, K. W., et al. (2009). Suppression of autoimmune diabetes by soluble galectin-1. *J Immunol* 182, 2641-2653.
- 30 Pienta, K. J., Naik, H., Akhtar, A., Yamazaki, K., Reploge, T. S., Lehr, J., Donat, T. L., Tait, L., Hogan, V., and Raz, A. (1995). Inhibition of spontaneous metastasis in a rat prostate cancer model by oral administration of modified citrus pectin. *J Natl Cancer Inst* 87, 348-353.
- Sacchettini, J. C., Baum, L. G., and Brewer, C. F. (2001). Multivalent protein-carbohydrate interactions. A new paradigm for supermolecular assembly and signal transduction. *Biochemistry* 40, 3009-3015.
- 35 Saegusa, J., Hsu, D. K., Chen, FLY., Yu, L., Fermin, A., Fung, M. A., and Liu, F. T. (2009). Galectin-3 is critical for the development of the allergic inflammatory response in a mouse model of atopic dermatitis. *Am J Pathol* 174, 922-931.
- Salameh, B. A., Leffler, H. and Nilsson, U. J. (2005) *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 15: 3344-3346.
- Seetharaman, J., Kanigsberg, A., Slaaby, R., Leffler, H., Barondes, S. H., Rini, J. M. (1998) X-ray crystal structure of the human galectin-3 carbohydrate recognition domain at 2.1-Å resolution. *J. Biol. Chem.* 273:13047-13052.
- Sörme, P., Qian, Y., Nyholm, P.-G., Leffler, H., Nilsson, U. J. (2002) Low micromolar inhibitors of galectin-3 based on 3'-derivatization of N-acetyllactosamine. *ChemBioChem* 3:183-189.
- Sörme, P., Kahl-Knutsson, B., Wellmar, U., Nilsson, U. J., and Leffler H. (2003a) Fluorescence polarization to study galectin-ligand interactions. *Meth. Enzymol.* 362: 504-512.
- 45 Sörme, P., Kahl-Knutsson, B., Wellmar, U., magnusson, B.-G., Leffler H., and Nilsson, U. J. (2003b) Design and synthesis of galectin inhibitors. *Meth. Enzymol.* 363: 157-169.
- Sörme, P., Kahl-Knutsson, B., Huflejt, M., Nilsson, U. J., and Leffler H. (2004) Fluorescence polarization as an analytical tool to evaluate galectin-ligand interactions. *Anal. Biochem.* 334: 36-47.

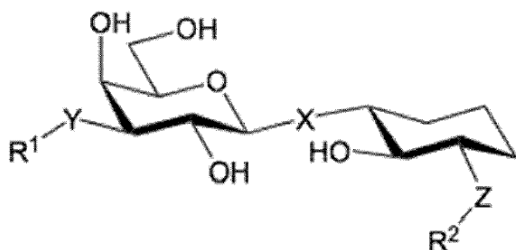
Thijssen, V. L., Poirer, F., Baum, L. G., and Griffioen, A. W. (2007). Galectins in the tumor endothelium: opportunities for combined cancer therapy. *Blood* 110, 2819-2827.

Toscano, M. A., Bianco, G. A., Ilarregui, J. M., Croci, D. O., Correale, J., Hernandez, J. D., Zwirner, N. W., Poirier, F., Riley, E. M., Baum, L. G., et al. (2007). Differential glycosylation of TH1, TH2 and TH-17 effector cells selectively regulates susceptibility to cell death. *Nat Immunol* 8, 825-834.

5

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula general (I):



(I)

en donde

5 la configuración del anillo de piranosa es D-galacto;

X se selecciona del grupo que consiste en O y S;

Y y Z se seleccionan de un anillo de 1H-1,2,3-triazol;

R¹ y R² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en:

10 a) un grupo alquilo de al menos 4 carbonos, un grupo alquenilo de al menos 4 carbonos, un grupo alquinilo de al menos 4 carbonos;

b) un grupo carbamoilo, un grupo carbamoilo sustituido con un grupo alquilo, un grupo carbamoilo sustituido con un grupo alquenilo, un grupo carbamoilo sustituido con un grupo alquinilo, un grupo carbamoilo sustituido con un grupo arilo, un grupo carbamoilo sustituido con un grupo alquilo sustituido, y un grupo carbamoilo sustituido con un grupo arilo sustituido;

15 c) un grupo fenilo sustituido con al menos un grupo carboxi, un grupo fenilo sustituido con al menos un halógeno, un grupo fenilo sustituido con al menos un grupo alquilo, un grupo fenilo sustituido con al menos un grupo alcoxi, un grupo fenilo sustituido con al menos un grupo trifluorometilo, un grupo fenilo sustituido con al menos un grupo trifluorometoxi, un grupo fenilo sustituido con al menos un grupo sulfo, un grupo fenilo sustituido con al menos un grupo hidroxilo, un grupo fenilo sustituido con al menos un grupo carbonilo, y un grupo fenilo sustituido con al menos un grupo carbonilo sustituido;

20 d) un grupo naftilo, un grupo naftilo sustituido con al menos un grupo carboxi, un grupo naftilo sustituido con al menos un halógeno, un grupo naftilo sustituido con al menos un grupo alquilo, un grupo naftilo sustituido con al menos un grupo alcoxi, un grupo naftilo sustituido con al menos un grupo sulfo, un grupo naftilo sustituido con al menos un grupo carbonilo y un grupo naftilo sustituido con al menos un grupo carbonilo sustituido;

25 e) un grupo heteroarilo, un grupo heteroarilo sustituido con al menos un grupo carboxi, un grupo heteroarilo sustituido con al menos un halógeno, un grupo heteroarilo sustituido con al menos un grupo alcoxi, un grupo heteroarilo sustituido con al menos un grupo sulfo, un grupo heteroarilo sustituido con al menos un grupo arilamino, un grupo heteroarilo sustituido con al menos un grupo hidroxilo, un grupo heteroarilo sustituido con al menos un grupo carbonilo y un grupo heteroarilo sustituido con al menos un grupo carbonilo sustituido; y

30 f) un grupo tienilo, un grupo tienilo sustituido con al menos un grupo carboxi, un grupo tienilo sustituido con al menos un halógeno, un grupo tienilo sustituido con al menos un grupo alcoxi, un grupo tienilo sustituido con al menos un grupo sulfo, un grupo tienilo sustituido con al menos un grupo arilamino, un grupo tienilo sustituido con al menos un grupo hidroxilo, un grupo tienilo sustituido con al menos un grupo carbonilo y un grupo tienilo sustituido con al menos un grupo carbonilo sustituido.

35 2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R¹ y R² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en un grupo carbamoilo, un grupo carbamoilo alquilado, un grupo carbamoilo alquenilado, un grupo carbamoilo arilado, un grupo fenilo sustituido, un grupo fenilo halogenado, un grupo fenilo fluorado, un grupo fenilo clorado, un grupo fenilo bromado, un grupo fenilo alquilado, un grupo fenilo trifluorometilado, un grupo fenilo metoxilado, un grupo fenilo trifluorometoxilado, un grupo naftilo, un grupo naftilo sustituido, un grupo heteroarilo, un grupo heteroarilo sustituido, un grupo tienilo y un grupo tienilo sustituido.

3. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R¹ es un grupo carbamoilo alquilado, un grupo fenilo fluorado o un grupo tienilo.

4. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R² es un grupo carbamoilo alquilado, un grupo fenilo fluorado o un grupo tienilo.

5. El compuesto de acuerdo con las reivindicaciones 1-4, en el que dicho compuesto se selecciona del grupo que consiste en:

5 ((1R,2R,3S)-2-hidroxi-3-(4-(N-(1-propil)-carbamoilo)-1H-1,2,3-triazol-1-il)ciclohexil) 3-desoxi-3-(4-(N-(1-propil)-carbamoilo)-1H-1,2,3-triazol-1-il))-β-D-galactopiranosido,

((1R,2R,3S)-2-hidroxi-3-(4-(2-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-ciclohexil) 3-desoxi-3-(4-(2-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-1-tio-β-D-galactopiranosido,

10 ((1R,2R,3S)-2-hidroxi-3-(4-(3-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-ciclohexil) 3-desoxi-3-(4-(3-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-1-tio-β-D-galactopiranosido,

((1R,2R,3S)-2-hidroxi-3-(4-(4-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-ciclohexil) 3-desoxi-3-(4-(4-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-1-tio-β-D-galactopiranosido, y

((1R,2R,3S)-2-hidroxi-3-(4-(3-tienil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-ciclohexil) 3-desoxi-3-(4-(3-tienil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-1-tio-β-D-galactopiranosido, y

15 ((1R,2R,3S)-2-hidroxi-3-(4-(N-(1-propil)-carbamoilo)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-ciclohexil) 3-desoxi-3-(4-(N-(1-propil)-carbamoilo)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-1-tio-β-D-galactopiranosido.

6. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-5 como ingrediente activo junto con un adyuvante, diluyente, excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

7. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-5 para uso como un medicamento.

20 8. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-5 para su uso en el tratamiento de trastornos de la proteína galectina en mamíferos, siendo dicho trastorno seleccionado del grupo que consiste en inflamación, choque séptico, cáncer, enfermedades autoinmunes, artritis reumatoide y esclerosis múltiple.

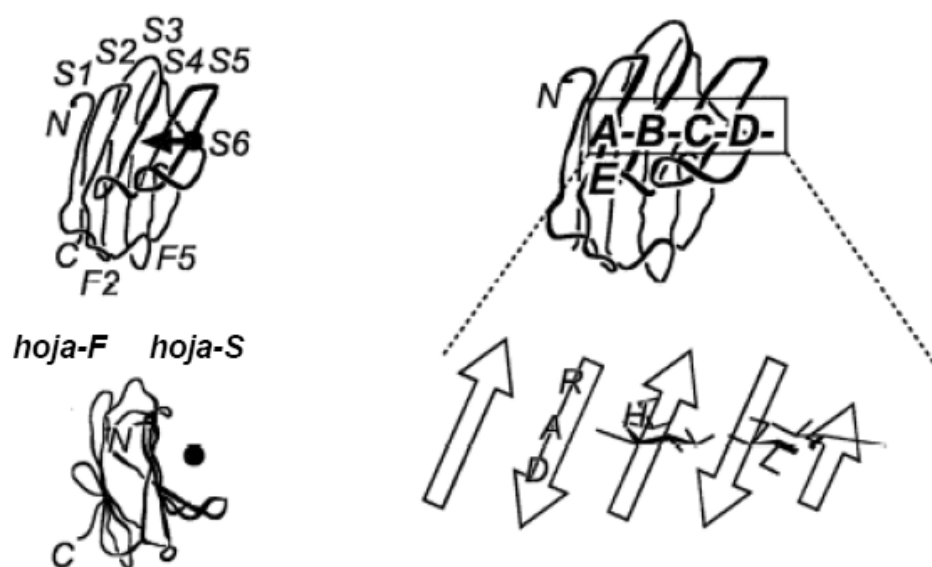


Fig. 1a

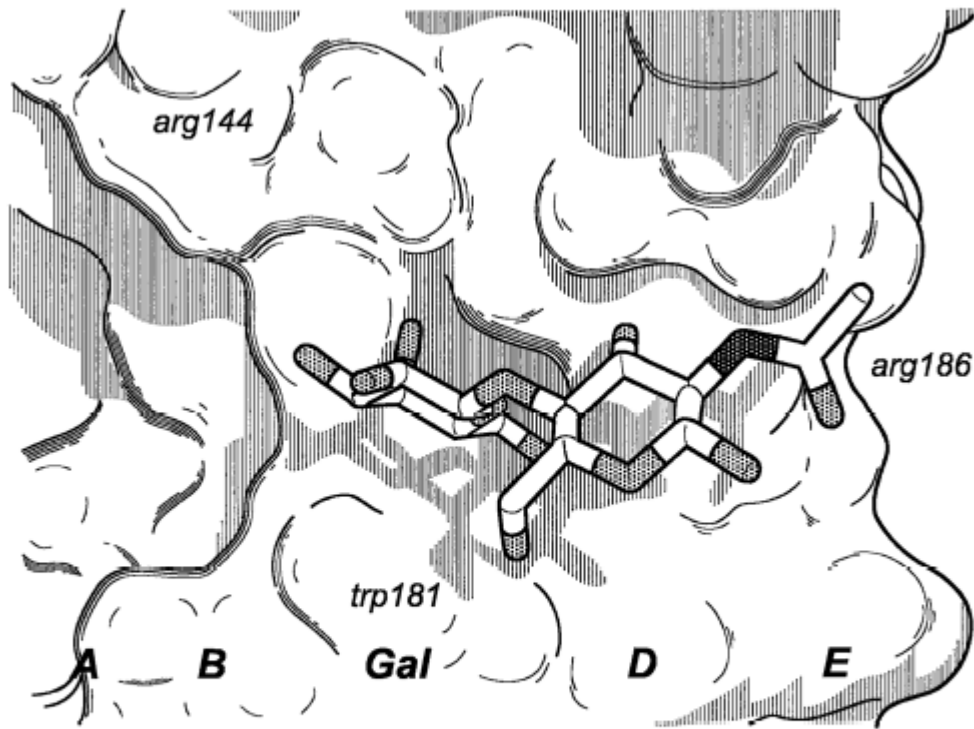


Fig. 1b

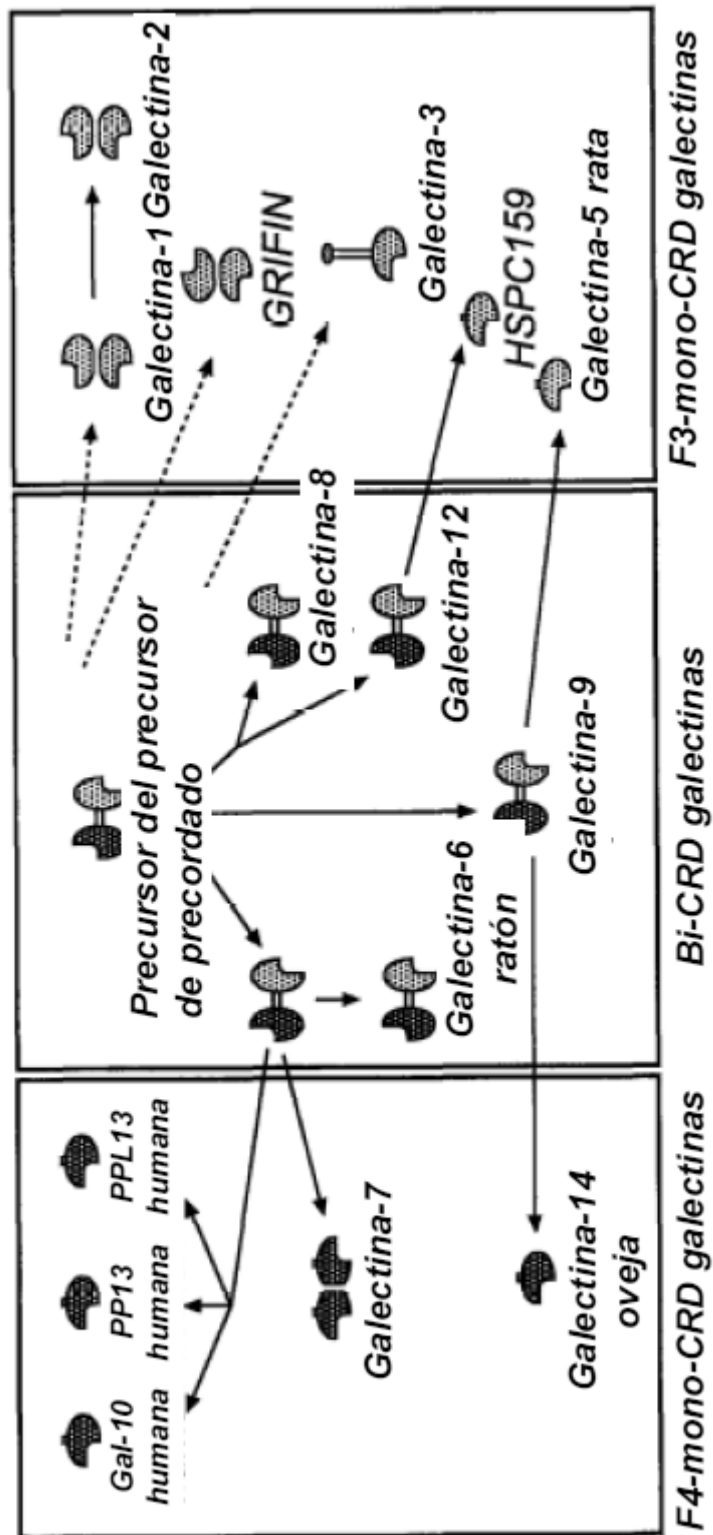


Fig. 2