

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 655 443**

51 Int. Cl.:

C07H 15/207 (2006.01)

A61K 31/7034 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.12.2012 PCT/US2012/071519**

87 Fecha y número de publicación internacional: **27.06.2013 WO13096926**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.12.2012 E 12813711 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.11.2017 EP 2794626**

54 Título: **Compuestos antagonistas de E-selectina**

30 Prioridad:

22.12.2011 US 201161579646 P

05.01.2012 US 201261583547 P

21.09.2012 US 201261704399 P

21.09.2012 US 201261704424 P

07.12.2012 US 201261734924 P

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

20.02.2018

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**MAGNANI, JOHN, L.;
SARKAR, ARUN, K.;
BAEK, MYUNG-GI;
ANDERSON, FRANK, E., III y
LI, YANHONG**

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 655 443 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

Compuestos antagonistas de E-selectina

5 Antecedentes

Campo técnico

10 Los agentes y sus composiciones en la presente descripción se describen que son antagonistas de E-selectina y pueden usarse como terapéuticos. Los métodos y usos para estos antagonistas de E-selectina para tratar y prevenir enfermedades, trastornos y afecciones asociados con la actividad de E-selectina en la presente descripción se describen.

15 Descripción de la técnica relacionada

Muchas afecciones patológicas, tales como las enfermedades autoinmunes e inflamatorias, choque y las lesiones por reperfusión, implican una adhesión anormal de los glóbulos blancos. Cuando ocurre la adhesión anormal de la adhesión celular mediada por selectina, puede producirse daño tisular en lugar de reparación. Las selectinas incluyen tres moléculas de adhesión celular que tienen papeles bien caracterizados en la migración de leucocitos. La E-selectina (selectina endotelial) y la P-selectina (selectina de plaquetas) se expresan por las células endoteliales en sitios de inflamación o lesión. Investigaciones recientes han sugerido que las células cancerosas son inmunoestimuladoras e interactúan con las selectinas para extravasarse y metastatizar (*ver, por ejemplo, Gout y otros, Clin. Exp. Metastasis* 25:335-344 (2008); Kannagi y otros, *Cancer Sci.* 95:377-84 (2004); Witz, *Immunol. Lett.* 104:89-93 (2006); Brodt y otros, *Int. J. Cancer* 71:612-19 (1997)).

25 Un número cánceres son altamente tratables cuando se tratan antes de que el cáncer se haya movido más allá del sitio primario. Sin embargo, frecuentemente una vez que el cáncer se ha diseminado más allá del sitio primario, las opciones de tratamiento se limitan y las estadísticas de supervivencia disminuyen drásticamente. Por ejemplo, cuando se detecta cáncer colorrectal en una etapa (*es decir, confinado al colon o al recto*), más del 90% de los diagnosticados sobreviven más de cinco años. Por el contrario, cuando el cáncer colorrectal se ha diseminado a sitios distantes (*es decir, metastizó desde el sitio primario a sitios distantes*), la tasa de supervivencia de cinco años de los diagnosticados se reduce drásticamente a solo 11%.

35 Los tipos más comunes de cáncer incluyen cáncer de próstata, mama, pulmón, colorrectal, melanoma, vejiga, linfoma no Hodgkin, riñón, tiroides, leucemias, endometrio y páncreas basado en la incidencia estimada para 2012. El cáncer con la incidencia más alta esperada es el cáncer de próstata, con más de 240.000 nuevos casos esperados en los Estados Unidos en 2012, y la incidencia más baja esperada es el cáncer de páncreas, con aproximadamente 44.000 de nuevos casos esperados en 2012.

40 La tasa de mortalidad más alta es para pacientes que tienen cáncer de pulmón. Se esperan que sucumban a la enfermedad en 2012 más de 160000 pacientes. A pesar de las enormes inversiones de recursos financieros y humanos, el cáncer tal como el cáncer colorrectal sigue siendo una de las principales causas de muerte. El cáncer colorrectal es la segunda causa principal de muertes relacionadas con el cáncer en los Estados Unidos de los cánceres que afectan tanto a hombres como a mujeres. En los últimos años, más de 50000 pacientes con cáncer colorrectal han muerto cada año.

50 Los cuatro cánceres hematológicos que más comunes son la leucemia linfocítica aguda (ALL), la leucemia linfocítica crónica (CLL), la leucemia mielógena crónica (CML) y la leucemia mielógena aguda (AML). Las leucemias y otros cánceres de la sangre, la médula ósea y el sistema linfático afectan 10 veces más a los adultos que a los niños; sin embargo, la leucemia es el cáncer infantil más común, y el 75% de las leucemias infantiles son ALL. AML es la leucemia más común en adultos. Aproximadamente 47000 nuevos casos se diagnostican cada año, y aproximadamente 23500 personas mueren cada año de leucemia.

55 Los fármacos terapéuticos contra el cáncer pueden contribuir a la lesión endotelial, que a su vez puede causar tromboembolismo venoso (VTE). Otros factores de riesgo que predisponen a un individuo a VTE incluyen estasis o lesión endotelial (por ejemplo, que resultan de un dispositivo venoso interno, traumatismo o lesión importante), condiciones médicas (por ejemplo, malignidad, embarazo, afecciones o eventos cardiovasculares), administración de otros fármacos tales como hormonas y trombofilia. El bloqueo del flujo de sangre en un cuerpo priva al tejido de oxígeno y resulta en el daño, la destrucción o la muerte del tejido. Un trombo y una embolia pueden alojarse en un vaso sanguíneo y bloquear el flujo de sangre. En los Estados Unidos, aproximadamente 900.000 casos de VTE, que incluyen la trombosis venosa profunda (DVT) y embolia pulmonar (PE), se diagnostican anualmente y aproximadamente de 300.000 casos son fatales (Heit y otros, *Blood* 2005; 106 (resumen)). La trombosis venosa ocurre cuando los glóbulos rojos y la fibrina, y en menor grado, las plaquetas y los leucocitos, forman una masa dentro de una vena intacta. Típicamente, una embolia pulmonar ocurre cuando un trombo o una porción del trombo se desprenden de una pared de vena y se aloja dentro de una arteria pulmonar. Debido a que los signos y síntomas de la VTE son inespecíficos y difíciles de diagnosticar, la incidencia exacta de VTE es desconocida, pero puede tener una incidencia anual de 0,1-

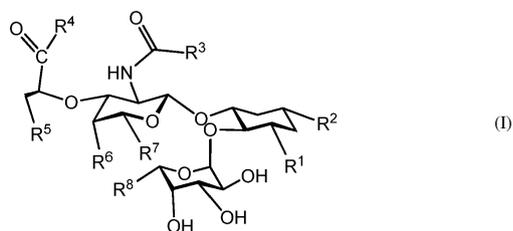
0,2% (ver, por ejemplo, Anderson y otros, *Arch. Intern. Med.* 151:933-38 (1991); Silverstein y otros, *Arch. Intern. Med.* 158:585-93 (1998)).

El documento de patente núm. WO 2007/028050 describe inhibidores de selectina que comprenden glicomiméticos particulares solos o unidos a ácidos bencil amino sulfónicos o ácidos bencil amino carboxílicos. El documento de patente núm. WO 2010/126888 describe compuestos heterobifuncionales que inhiben tanto las E-selectinas como los receptores de quimioquinas CXCR4. El documento de patente núm. WO 2012/061662 describe compuestos glicomiméticos-peptidomiméticos que inhiben tanto las E-selectinas como los receptores de quimioquinas CXCR4.

10 Breve resumen

Brevemente, en la presente descripción se proporcionan agentes que son antagonistas de E-selectina, composiciones que comprenden los agentes y métodos para usar los agentes. Estos agentes son útiles para tratar y prevenir enfermedades y trastornos tratables mediante la inhibición de la unión de una E-selectina a un ligando de E-selectina, tales como cáncer, metástasis y trombosis entre otros descritos en la presente descripción. En ciertas modalidades, se proporcionan compuestos glicomiméticos que son antagonistas de E-selectina. En la presente descripción se describen las siguientes modalidades.

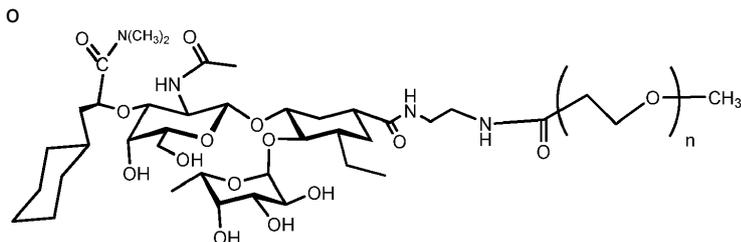
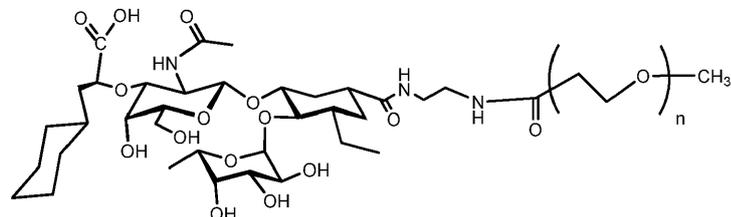
En la presente descripción se describe un compuesto (que es un compuesto glicomimético) que tiene la siguiente fórmula (I):



o una sal, estereoisómero, tautómero, hidrato o solvato farmacéuticamente aceptable de estos, en donde

- R¹ es C₁-C₈ alquilo, C₂-C₈ alquenilo, C₂-C₈ alquinilo, C₁-C₈ haloalquilo, C₂-C₈ haloalquenilo o C₂-C₈ haloalquinilo;
- R² es una porción no glicomimética enlazadora, en donde la porción no glicomimética comprende polietilenglicol;
- R³ es C₁-C₈ alquilo, C₂-C₈ alquenilo, C₂-C₈ alquinilo, C₁-C₈ haloalquilo, C₂-C₈ haloalquenilo, C₂-C₈ haloalquinilo o ciclopropilo;
- R⁴ es -OH o -NZ¹Z² donde Z¹ y Z² son cada una independientemente H, C₁-C₈ alquilo, C₂-C₈ alquenilo, C₂-C₈ alquinilo, C₁-C₈ haloalquilo, C₂-C₈ haloalquenilo o C₂-C₈ haloalquinilo o en donde Z¹ y Z² se unen para formar un anillo;
- R⁵ es C₃-C₈ cicloalquilo;
- R⁶ es -OH, C₁-C₈ alquilo, C₂-C₈ alquenilo, C₂-C₈ alquinilo, C₁-C₈ haloalquilo, C₂-C₈ haloalquenilo o C₂-C₈ haloalquinilo;
- R⁷ es -CH₂OH, C₁-C₈ alquilo, C₂-C₈ alquenilo, C₂-C₈ alquinilo, C₁-C₈ haloalquilo, C₂-C₈ haloalquenilo o C₂-C₈ haloalquinilo; y
- R⁸ es C₁-C₈ alquilo, C₂-C₈ alquenilo, C₂-C₈ alquinilo, C₁-C₈ haloalquilo, C₂-C₈ haloalquenilo o C₂-C₈ haloalquinilo.

Más particularmente, se proporciona un compuesto de fórmula (I) que tiene la fórmula:



o una sal, estereoisómero, tautómero, hidrato o solvato de este farmacéuticamente aceptable en donde n es 4, 8, 12, 16, 20, 24, o 28.

5 Además, se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden uno o más de los compuestos como se reivindica y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

10 Se proporciona en la presente descripción un compuesto para su uso en un método para tratar o prevenir la metástasis de células cancerosas en un sujeto, que comprende administrar al sujeto un compuesto como se reivindica o administrar una composición farmacéutica que comprende el compuesto y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

10 Todavía en otra modalidad, se proporciona un compuesto para su uso en un método para inhibir la infiltración de células cancerosas en la médula ósea en un sujeto, que comprende administrar al sujeto un compuesto como se reivindica, o administrar una composición farmacéutica que comprende el compuesto y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

15 En una modalidad, se proporciona un compuesto para su uso en un método para inhibir la adhesión de una célula tumoral que expresa un ligando de E-selectina a una célula endotelial que expresa E-selectina, en donde el método comprende poner en contacto la célula endotelial con un compuesto como se reivindica o administrar una composición farmacéutica que comprende el compuesto y un excipiente farmacéuticamente aceptable, que permite al compuesto interactuar con la E-selectina presente en la célula endotelial, y de ese modo inhibir la unión de la célula tumoral con la célula endotelial. En una modalidad específica, la célula endotelial está presente en la médula ósea.

20 En otra modalidad, se proporciona un compuesto para su uso en un método para tratar un cáncer en un sujeto que comprende administrar al sujeto (a) un compuesto como se reivindica o administrar una composición farmacéutica que comprende el compuesto y un excipiente farmacéuticamente aceptable; y (b) al menos uno de (i) quimioterapia y (ii) radioterapia.

30 Todavía en otra modalidad, se proporciona un compuesto para su uso en un método para tratar o prevenir la trombosis en un sujeto, que comprende administrar al sujeto un compuesto como se reivindica o administrar una composición farmacéutica que comprende el compuesto y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

35 En una modalidad, se proporciona un compuesto para usar en un método para potenciar la supervivencia de las células madre hematopoyéticas en un sujeto, que comprende administrar al sujeto un compuesto como se reivindica o administrar una composición farmacéutica que comprende el compuesto y un excipiente farmacéuticamente aceptable. En ciertas modalidades, el sujeto ha recibido o recibirá quimioterapia o radioterapia o tanto quimioterapia como radioterapia.

Además, en la presente descripción se describe un uso de un compuesto como se reivindica en la fabricación de un medicamento para tratar o prevenir la metástasis de células cancerosas.

40 En otra modalidad, en la presente descripción se describe un uso de un compuesto como se reivindica en la fabricación de un medicamento para su uso en combinación con quimioterapia o radioterapia o tanto quimioterapia como radioterapia para tratar el cáncer.

45 En otra modalidad, en la presente descripción se describe un uso de un compuesto como se reivindica en la fabricación de un medicamento para tratar o prevenir la trombosis.

Aun en otra modalidad, en la presente descripción se describe un uso de un compuesto como se reivindica en la fabricación de un medicamento para inhibir la infiltración de células cancerosas en la médula ósea.

50 Aun en otra modalidad, en la presente descripción se describe un uso de un compuesto como se reivindica en la fabricación de un medicamento para inhibir la adhesión de una célula tumoral que expresa un ligando de E-selectina a una célula endotelial que expresa E-selectina.

55 En otra modalidad, en la presente descripción se describe un uso de un compuesto como se reivindica en la fabricación de un medicamento para potenciar la supervivencia de las células madre hematopoyéticas.

60 Además, se describe un compuesto para su uso en un método para tratar o prevenir (es decir, disminuir o reducir la probabilidad de aparición de) metástasis de las células cancerosas en un individuo (es decir, sujeto) que lo necesita, que comprende administrar al individuo uno o más de los compuestos glicomiméticos de fórmula (I) descritos anteriormente y en la presente descripción o una composición farmacéutica que comprende el compuesto.

65 Además, se describe un compuesto para usar en un método para disminuir la probabilidad de aparición de infiltración de las células cancerosas en la médula ósea en un individuo que lo necesita, dicho método que comprende administrar al individuo uno o más de los compuestos glicomiméticos de la fórmula (I) descrito anteriormente y en la presente descripción, o una composición farmacéutica que comprende el compuesto.

Además, se describe un compuesto para usar en un método para disminuir la probabilidad de aparición de formación de trombos en un individuo, que comprende administrar al individuo uno o más de los compuestos glicomiméticos descritos anteriormente y en la presente descripción o una composición farmacéutica que comprende los compuestos.

5 En la siguiente descripción, ciertos detalles específicos se exponen para proporcionar una comprensión completa de varias modalidades. Sin embargo, un experto en la técnica entenderá que la invención puede practicarse sin estos detalles. En otros casos, las estructuras bien conocidas no han sido mostradas o descritas en detalle para evitar innecesariamente descripciones complicadas de las modalidades. A menos que el contexto requiera de cualquier otra manera, a lo largo de la descripción y las reivindicaciones que siguen, la palabra "comprender" y variaciones de esta, tales como "comprende" y "que comprende" deben interpretarse en un sentido abierto e inclusivo, es decir, como "que incluyen, pero no se limitan a." Además, el término "que comprende" (y términos relacionados tales como "comprender" o "comprende" o "que tiene" o "que incluye") no pretende excluir que en otras ciertas modalidades, por ejemplo, una modalidad de cualquier composición de materia, composición, método o proceso, o similares, descritos en la presente descripción, pueden "consistir en" o "consisten esencialmente en" los elementos descritos. Se proporcionan encabezados en la presente descripción solo por conveniencia y no interpretan el alcance o el significado de las modalidades reivindicadas.

20 La referencia a lo largo de toda esta descripción con "una modalidad" o "una modalidad" significa que un elemento particular, estructura o característica descrita en relación con la modalidad se incluye en al menos una modalidad. Así, la aparición de las frases "en una modalidad" o "en una modalidad" en varios lugares a lo largo de esta descripción no necesariamente todas se refieren a la misma modalidad. Además, los elementos, estructuras, materiales o características particulares pueden combinarse de cualquier manera adecuada en una o más modalidades.

25 Además, como se usa en esta descripción y las reivindicaciones anexas, las formas singulares "un," "una" y "el/la" incluyen las referencias en plural a menos que el contenido del texto dicte claramente de cualquier otra manera. Así, por ejemplo, la referencia a "un compuesto" puede referirse a uno o más compuestos, o una pluralidad de tales compuestos, y la referencia a "una célula" o "la célula" incluye referencia a una o más células y equivalentes de estas (por ejemplo, pluralidad de células) conocidas por los expertos en la técnica, y así sucesivamente. De forma similar, la referencia a "una composición" incluye una pluralidad de tales composiciones, y se refiere a una o más composiciones a menos que el contexto indique claramente de cualquier otra manera. Cuando las etapas de un método se describen o reivindican, y las etapas se describen como que ocurren en un orden particular, la descripción de una primera etapa que ocurre (o que se realiza) "antes de" (*es decir*, antes) una segunda etapa tiene el mismo significado es decir, si se reescribe para indicar que la segunda etapa ocurre (o se realiza) "posterior" a la primera etapa. El término "aproximadamente" cuando se refiere a un número o intervalo numérico significa que el número o intervalo numérico se refiere a una aproximación dentro de la variabilidad experimental (o dentro del error experimental estadístico), y así el número o intervalo numérico puede variar entre 1% y 15% del número indicado o intervalo numérico. Además se debería señalar que el término "o" se emplea generalmente en su sentido, que incluye "y/o", a menos que el contenido se indique claramente de cualquier otra manera. El término "al menos uno", por ejemplo, cuando se refiere al menos un compuesto o al menos a una composición, tiene el mismo significado y comprensión que el término "uno o más".

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

45 Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 (Fig. 1A, Fig. 1B, Fig. 1C y Fig. 1D) es un diagrama que ilustra la síntesis de una modalidad (compuesto 25) de los compuestos que tienen la fórmula I proporcionada en la presente descripción.

50 La Figura 2 es un diagrama que ilustra la síntesis de una modalidad de los compuestos que tienen la fórmula I proporcionada en la presente descripción.

La Figura 3 es un diagrama que ilustra que la E-selectina juega un papel central en la progresión del cáncer.

55 La Figura 4 es un gráfico que representa los resultados de una comparación de los efectos del compuesto 25 ("Comp. 25") de la Figura 1 vs. la heparina de bajo peso molecular ("heparina LMW") sobre el peso del trombo formado 2 días después de la lesión por EIM (modelo de vena cava inferior electrolítica). "Sin tratamiento" representa el peso del trombo 2 días después de la lesión por EIM. "Control" (solución salina) representa el explante venoso sin lesión. "Simulación" representa un explante venoso 2 días después de la implantación del electrodo sin corriente. Compuesto 25 contra Sin tratamiento, $P = 0,0271$; Heparina LMW contra Sin tratamiento, $P = 0,0203$.

La Figura 5 es un gráfico que representa los resultados de una comparación de los efectos del compuesto 25 ("Comp. 25") vs. heparina de bajo peso molecular ("LMWH") en el tiempo requerido para formar un coágulo.

60 Descripción detallada

65 Se proporcionan en la presente descripción agentes que inhiben la unión de E-selectina a un ligando de E-selectina. Los agentes incluyen compuestos glicomiméticos descritos en la presente descripción que inhiben la interacción de E-selectina con sialil Le^a (sLe^a) o sialil Le^x (sLe^x).

Los antagonistas de E-selectina descritos en la presente descripción pueden usarse en métodos para tratar una enfermedad o trastorno asociado con, mediado por, o exacerbado por, unión de E-selectina a un ligando de E-selectina, que a su vez causa una actividad biológica no deseada, que incluye, por ejemplo, una respuesta inflamatoria, promoción de la migración de la célula tumoral (*es decir*, promover o potenciar la metástasis), potenciar la resistencia a la quimioterapia de las células tumorales y contribuir a la formación de trombos. En ciertas modalidades, los agentes, que incluyen los compuestos glicomiméticos del antagonista de E-selectina descritos en la presente descripción, pueden usarse en el tratamiento de cánceres en combinación con quimioterapia, radioterapia o ambos. Todavía en otras modalidades, los compuestos descritos en la presente descripción pueden usarse para el tratamiento y prevención de metástasis de células cancerosas (además denominadas en la presente descripción células tumorales), que incluyen inhibir la infiltración de las células cancerosas en la médula ósea y reducir o inhibir la adhesión de las células cancerosas a células endoteliales que incluyen las células en la médula ósea.

Se proporcionan en la presente descripción agentes, tales como compuestos glicomiméticos, que inhiben significativamente el tromboembolismo venoso en un modelo de tratamiento de la formación de trombos y que tienen ciertas ventajas sobre los tratamientos actuales de la trombosis. Los agentes descritos en la presente descripción pueden usarse para tratar y prevenir (*es decir*, disminuir, inhibir o reducir la probabilidad de aparición de una trombosis estadística, biológica o clínicamente significativa), que incluyen la trombosis venosa profunda y la embolia pulmonar acompañante.

Los antagonistas de E-selectina (*por ejemplo*, compuestos de fórmula I) descritos en la presente descripción comprenden sustituyentes que tienen menos probabilidades de ser escindidos por esterazas y así tienen estabilidad aumentada. Estos compuestos, por lo tanto, proporcionan compuestos mejorados que los descritos previamente en la técnica.

Agentes

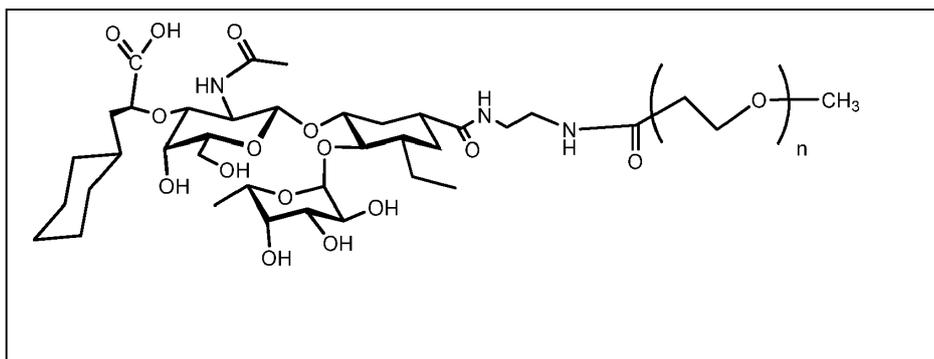
En una modalidad proporcionada en la presente descripción, el antagonista de E-selectina es un compuesto glicomimético o una sal farmacéuticamente aceptable (*es decir*, sal fisiológicamente adecuada), estereoisómero, tautómero, hidrato o solvato de este.

En los compuestos como se reivindica, R^2 es un enlazador (L)-porción no glicomimética (M), en donde la porción no glicomimética comprende polietilenglicol (PEG). En ciertas modalidades, cuando R^2 comprende un enlazador-porción no glicomimética descrito en la presente descripción, estas porciones proporcionan características ventajosas o mejoradas tales como biodisponibilidad potenciada; farmacocinética deseada; estabilidad mejorada, y similares, al compuesto y no son inmunogénicas.

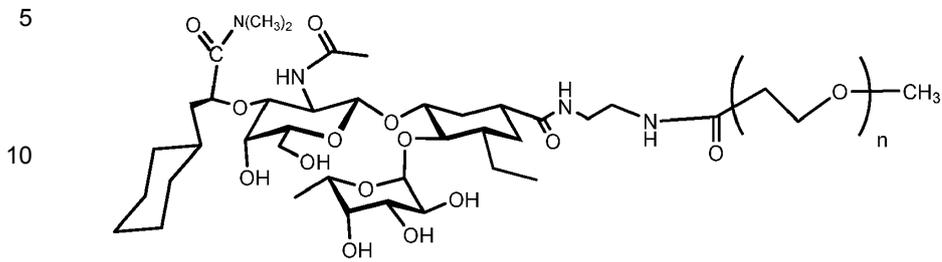
Los enlazadores son bien conocidos por un experto en la técnica. En los compuestos como se reivindica, el enlazador que une la porción glicomimética de fórmula I a una porción no glicomimética (M) es $-C(=O)NH(CH_2)_2NHC(=O)-$.

PEG es un polímero de unidades repetitivas de óxido de etileno. La longitud y, así, el peso molecular varían en dependencia de cuántas unidades repetitivas estén presentes. Las unidades de óxido de etileno se abrevian en la presente descripción como $(\text{---O---})_n$ donde n es un número entero o un intervalo general de números enteros de 1 a 100, y cualquier intervalo más pequeño dentro del intervalo general. Por ejemplo, el intervalo de números enteros para n puede ser 1 a 25, 1 a 50, 2 a 15, 2 a 20, 2 a 25, 2 a 40, 2 a 50, 2 a 100, 5 a 20, 5 a 40, 5 a 100, así como todas las otras combinaciones numéricas. En los compuestos como se reivindica, n es 4, 8, 12, 16, 20, 24 o 28.

En los compuestos como se reivindica, PEG es la porción no glicomimética (M) y el enlazador (L) es $-C(=O)NH(CH_2)_2NHC(=O)-$ para proporcionar uno de los siguientes compuestos:

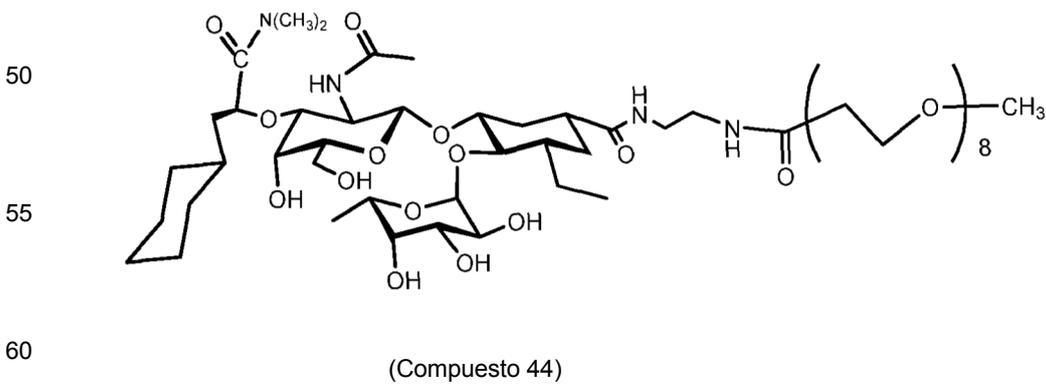
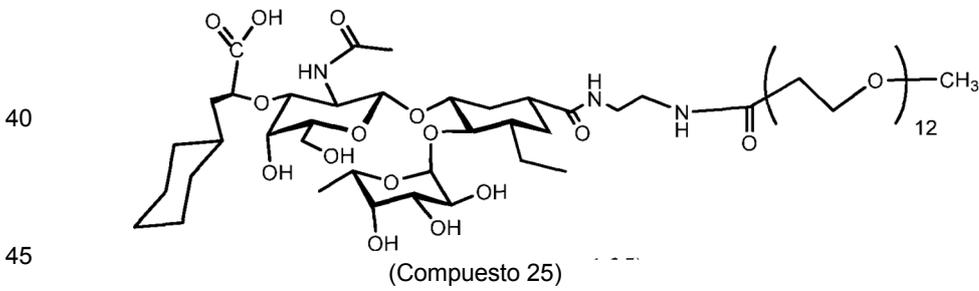
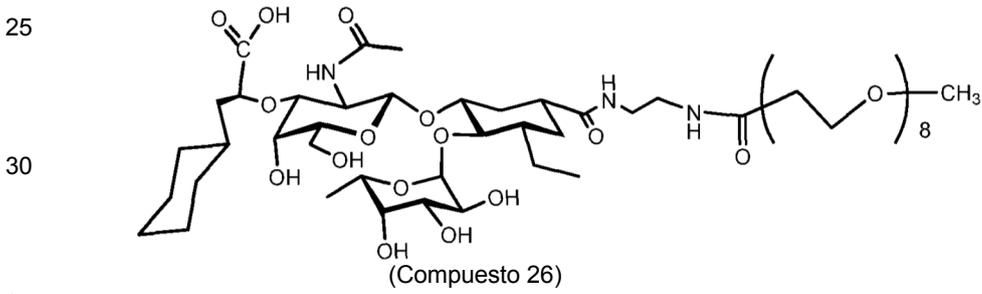


o

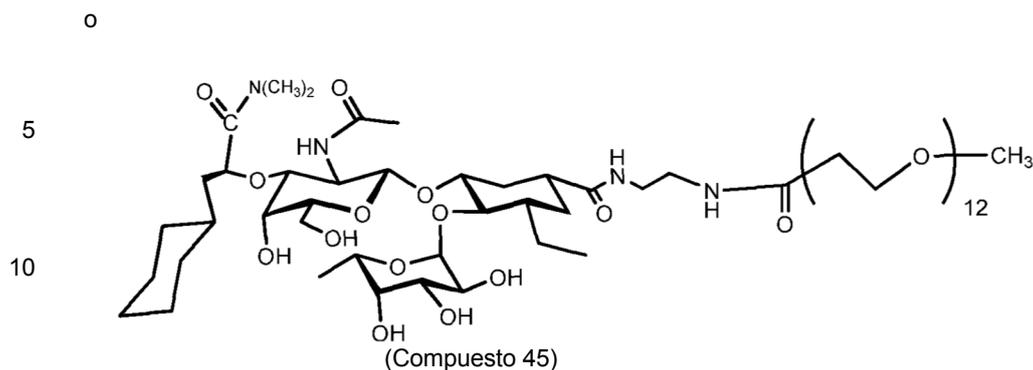


20 en donde n es 4, 8, 12, 16, 20, 24, o 28.

En dos modalidades particulares, el compuesto tiene una de las siguientes fórmulas:



65



15

Los compuestos de fórmula I incluyen isómeros, sales fisiológicamente aceptables (*es decir*, sales farmacéuticamente aceptables), hidratos, solvatos. Los isómeros son estereoisómeros (*por ejemplo*, enantiómeros y racematos) o tautómeros.

20

Además, en la presente descripción se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden uno o más de los compuestos como se reivindican, subestructuras y estructuras específicas de estos, y un excipiente farmacéuticamente aceptable. Un compuesto como se reivindica o una composición farmacéutica que comprende el compuesto puede usarse en los métodos descritos en la presente descripción para tratar o prevenir una enfermedad, trastorno o afección que es tratable al inhibir (*es decir*, bloquear, reducir, prevenir) la interacción entre E-selectina y un ligando de E-selectina. Tales enfermedades y trastornos incluyen una respuesta inflamatoria e inflamación relacionada, cáncer, migración no deseada o movimiento de una célula a través de la vasculatura (*por ejemplo*, metástasis de una célula tumoral) y trombosis, por ejemplo.

25

30

Los compuestos glicomiméticos de fórmula (I) pueden usarse para tratar una o más de las enfermedades o afecciones descritas en la presente descripción o para la preparación o fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento de una o más de las enfermedades o afecciones descritas en la presente descripción. Cada uno de estos métodos y usos se describen con mayor detalle en la presente descripción.

Definiciones

35

Los términos más abajo, como se usan en la presente descripción, tienen los siguientes significados, a menos que se indique de cualquier otra manera. Ciertos grupos químicos nombrados en la presente descripción se preceden por una notación abreviada que indica el número total de átomos de carbono que se encuentran en el grupo químico indicado.

40

Como se usa en la presente descripción, un "C₁-C₈ alquilo" o "C₁-C₄ alquilo" se refiere a un sustituyente alcano con uno a ocho átomos de carbono o de uno a cuatro átomos de carbono, respectivamente, y puede ser de cadena lineal, ramificada, o cíclico (*por ejemplo*, cicloalcanilo). El término "alcanilo" además puede usarse en la presente descripción y tiene el mismo significado que alquilo. Los ejemplos incluyen metilo ("Me"), etilo, propilo, isopropilo, butilo y t-butilo. Un "C₁-C₈ halo alquilo" se refiere a un C₁-C₈ alcanilo sustituido con al menos un halógeno (halo). Cuando más de un halógeno está presente, los halógenos presentes pueden ser iguales o diferentes o ambos (si al menos tres están presentes). Un "C₂-C₈ alqueno" o "C₂-C₄ alqueno" se refiere a un sustituyente alqueno con dos a ocho átomos de carbono o dos a cuatro átomos de carbono, respectivamente, al menos un doble enlace carbono-carbono, y puede ser de cadena lineal, ramificado o cíclico (cicloalqueno). Los ejemplos son similares a los ejemplos "C₁-C₈ alquilo" y "C₁-C₈ alquilo" excepto que el alqueno tiene al menos un doble enlace carbono-carbono. Un "C₂-C₈haloalqueno" se refiere a un C₂-C₈ alqueno sustituido con al menos un halógeno (halo). Cuando más de un halógeno está presente, los halógenos presentes pueden ser iguales o diferentes o ambos (si al menos tres están presentes). Un "C₂-C₈ alquino" o "C₂-C₄ alquino" se refiere a sustituyente alquino con dos a ocho átomos de carbono o dos a cuatro átomos de carbono, respectivamente, al menos un triple enlace carbono-carbono, y puede ser de cadena lineal, ramificado o cíclico (*por ejemplo*, cicloalquino). Los ejemplos son similares a los ejemplos de "C₁-C₈alquilo" y "C₁-C₈ alquilo" excepto que el alcanilo tiene al menos un triple enlace carbono-carbono. Un "C₂-C₈ haloalquino" se refiere a un "C₂-C₈alquino" sustituido con al menos un halógeno (halo). Cuando más de un halógeno está presente, los halógenos presentes pueden ser iguales o diferentes o ambos (si al menos tres están presentes).

50

55

Una porción no glicomimética (M) es una porción que confiere una o más propiedades ventajosas sobre el compuesto que potencia la eficacia y el uso del compuesto *in vivo*. Los ejemplos de tal propiedad incluyen una mayor solubilidad en agua, una menor inmunogenicidad, una estabilidad mejorada y un perfil farmacocinético mejorado. Un perfil farmacocinético mejorado incluye una semivida en suero aumentada, un aclaramiento reducido y de manera que mejora el índice terapéutico.

60

"Halo" (o "halógeno" o "haluro") es un radical fluoro (F), cloro (Cl), bromo (Br) o yodo (I).

65

"Arilo" se refiere a un radical derivado de un sistema de anillo de hidrocarburo que comprende hidrógeno, de 6 a 30 átomos de carbono y al menos un anillo aromático. El radical arilo puede ser un sistema de anillo monocíclico, bicíclico, tricíclico o tetracíclico, que puede incluir sistemas de anillo fusionados o puenteados. Los radicales arilo incluyen, pero no se limitan a, radicales arilo derivados de los sistemas de anillos hidrocarbonados de aceantrileno, acenaftileno, acetofenileno, antraceno, azuleno, benceno, criseno, fluoranteno, fluoreno, as-indaceno, s-indaceno, indano, indeno, naftaleno, fenaneno, fenantreno, pleiadena, pireno y trifenileno. A menos que se indique de cualquier otra forma específicamente en descripción, el término "arilo" o el prefijo "ar-" (tal como en "aralquilo") pretenden incluir radicales arilo que están opcionalmente sustituidos.

"Aralquilo" se refiere a un radical de la fórmula $-R_b-R_c$ donde R_b es una cadena alquileo como se definió anteriormente y R_c es uno o más radicales arilo como se definió anteriormente, por ejemplo, bencilo, difenilmetilo, tritilo y similares. A menos que se indique de cualquier otra forma específicamente en descripción, un grupo aralquilo puede estar opcionalmente sustituido.

"Heterociclilo", "heterociclo" o "anillo heterocíclico" se refiere a un radical de anillo no aromático estable de 3 a 24 miembros que comprende de 2 a 23 átomos de carbono y de uno a 8 heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en nitrógeno, oxígeno y azufre. En ciertas modalidades, el radical heterociclilo es un heterociclo de 5-10 miembros que comprende 3-9 átomos de carbono y de 1-3 heteroátomos. A menos que se indique específicamente de cualquier otra forma en la descripción, el radical heterociclilo puede ser un sistema de anillo monocíclico, bicíclico, tricíclico o tetracíclico, que puede incluir sistemas de anillo fusionados o puenteados; átomo(s) de nitrógeno, carbono o azufre en el radical heterociclilo pueden estar opcionalmente oxidados; el átomo de nitrógeno puede estar opcionalmente cuaternizado; y el radical heterociclilo puede estar parcialmente o completamente saturado. Ejemplos de tales radicales heterociclilo incluyen, pero sin limitación, dioxolanilo, tienilo[1,3]ditanilo, decahidroisoquinolilo, imidazolinilo, imidazolidinilo, isotiazolidinilo, isoxazolidinilo, morfolinilo, octahidroindolilo, octahidroisoindolilo, 2-oxopiperazinilo, 2-oxopiperidinilo, 2-oxopirrolidinilo, oxazolidinilo, piperidinilo, piperazinilo, 4-piperidonilo, pirrolidinilo, pirazolidinilo, quinuclidinilo, tiazolidinilo, tetrahydrofurilo, tritinilo, tetrahidropiranilo, tiomorfolinilo, tiamorfolinilo, 1-oxo-tiomorfolinilo, 1,1-dioxo-tiomorfolinilo, 12-corona-4, 15-corona-5, 18-corona-6, 21-corona-7, aza-18-corona-6, diaza-18-corona-6, aza-21-corona-7 y diaza-21-corona-7. A menos que se indique de cualquier otra forma específicamente en la descripción, un grupo heterociclilo puede estar opcionalmente sustituido.

"Heterocicilalquilo" se refiere a un radical de la fórmula $-R_b-R_c$ donde R_b es una cadena alquileo como se definió anteriormente y R_c es uno o más radicales heterociclilo como se definió anteriormente, por ejemplo, tetrahydrofuranilmetilo, tetrahidropiranilmetilo y similares. Un heterocicilalquilo de 6 miembros se refiere a un heterocicilalquilo, en donde la porción heterociclilo tiene 6 átomos en el anillo. A menos que se indique de cualquier otra forma específicamente en la descripción, un grupo heterocicilalquilo puede estar opcionalmente sustituido.

"Heteroarilo" se refiere a un radical de sistema de anillo de 5 a 14 miembros que comprende átomos de hidrógeno, de uno a trece átomos de carbono, de uno a seis heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en nitrógeno, oxígeno y azufre y al menos uno anillo aromático. En ciertas modalidades, el radical heteroarilo es un heteroarilo de 5-10 miembros que comprende 3-9 átomos de carbono y de 1-3 heteroátomos. Para propósitos de esta invención, el radical heteroarilo puede ser un sistema de anillo monocíclico, bicíclico, tricíclico o tetracíclico, que puede incluir sistemas de anillo fusionados o puenteados; y los átomos de nitrógeno, carbono o azufre en el radical heteroarilo pueden estar opcionalmente oxidados; el átomo de nitrógeno puede estar opcionalmente cuaternizado. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, azepinilo, acridinilo, bencimidazolilo, benzotiazolilo, benzindolilo, benzodioxolilo, benzofuranilo, benzoxazolilo, benzotiazolilo, benzotiadiazolilo, benzo[b][1,4]dioxepinilo, 1,4-benzodioxanilo, benzonaftofuranilo, benzoxazolilo, benzodioxolilo, benzodioxinilo, benzopiranilo, benzopiranonilo, benzofuranilo, benzofuranonilo, benzotienilo (benzotiofenilo), benzotriazolilo, benzo[4,6]imidazo[1,2-a]piridinilo, carbazolilo, cinolinilo, dibenzofuranilo, dibenzotiofenilo, furanilo, furanonilo, isotiazolilo, imidazolilo, indazolilo, indolilo, indazolilo, isoindolilo, indolinilo, isoindolinilo, isoquinolilo, indolizínilo, isoxazolilo, naftiridinilo, oxadiazolilo, 2-oxoazepinilo, oxazolilo, oxiranilo, 1-oxidopiridinilo, 1-oxidopirimidinilo, 1-oxidopirazinilo, 1-oxidopiridazinilo, 1-fenil-1H-pirrolilo, fenazinilo, fenotiazinilo, fenoxazinilo, ftalazinilo, pteridinilo, purinilo, pirrolilo, pirazolilo, piridinilo, pirazinilo, pirimidinilo, piridazinilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, quinolinilo, quinuclidinilo, isoquinolinilo, tetrahydroquinolinilo, tiazolilo, tiadiazolilo, triazolilo, tetrazolilo, triazinilo y tiofenilo (es decir, tienilo). A menos que se indique de cualquier otra forma específicamente en la descripción, un grupo heteroarilo puede estar opcionalmente sustituido.

"Heteroarilalquilo" se refiere a un radical de la fórmula $-R_b-R_c$ donde R_b es una cadena alquileo como se definió anteriormente y R_c es uno o más radicales heteroarilo como se definió anteriormente, por ejemplo, furanilmetilo, piridilmetilo y similares. Un heteroarilalquilo de 6 miembros se refiere a un heteroarilalquilo, en donde la porción heteroarilo tiene 6 átomos en el anillo. A menos que se indique de cualquier otra forma específicamente en la descripción, un grupo heteroarilalquilo puede estar opcionalmente sustituido.

Los compuestos descritos en la presente descripción pueden usarse generalmente como el ácido libre o la base libre. Alternativamente, los compuestos pueden usarse en forma de sales de adición de ácido o base. Las sales de adición de ácidos de los compuestos amino de base libre pueden prepararse de acuerdo con métodos bien conocidos en la técnica, y pueden formarse a partir de ácidos orgánicos e inorgánicos. Los ácidos orgánicos adecuados incluyen (pero

no se limitan a) ácido maleico, fumárico, benzoico, ascórbico, succínico, metanosulfónico, acético, oxálico, propiónico, tartárico, salicílico, cítrico, glucónico, láctico, mandélico, cinámico, aspártico, esteárico, palmítico, ácidos glicólico, glutámico y bencenosulfónico. Los ácidos inorgánicos adecuados incluyen (pero no se limitan a) ácidos clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, fosfórico y nítrico. Las sales de adición de bases de los compuestos de ácido libre de los compuestos descritos en la presente descripción además pueden prepararse por métodos bien conocidos en la técnica, y pueden formarse a partir de bases orgánicas e inorgánicas. Las bases inorgánicas adecuadas incluyen (pero no se limitan a) el hidróxido u otra sal de sodio, potasio, litio, amonio, calcio, magnesio, hierro, zinc, cobre, manganeso, aluminio y similares, y bases orgánicas tales como sales de amonio sustituidas. Así, el término "sal farmacéuticamente aceptable" (o sal fisiológicamente adecuada) de compuestos de fórmula I y sus estructuras, así como cualquiera y todas las subestructuras y compuestos específicos descritos en la presente descripción pretenden abarcar cualquiera y todas las formas de sal farmacéuticamente adecuadas.

Los compuestos de fórmula I y subestructuras de estos y estructuras específicas a veces pueden representarse como especies aniónicas. Un experto en la técnica reconocerá que los compuestos existen con una relación equimolar de catión. Por ejemplo, los compuestos descritos en la presente descripción pueden existir en la forma totalmente protonada, o en forma de una sal tal como sodio, potasio, amonio o en combinación con cualquier base inorgánica como se describió anteriormente. Cuando se representa más de una especie aniónica, cada especie aniónica puede existir independientemente como especie protonada o como especie de sal. En algunas modalidades específicas, los compuestos descritos en la presente descripción existen como la sal de sodio.

Además, algunas de las formas cristalinas de cualquier compuesto descrito en la presente descripción pueden existir como polimorfos, que además se incluyen y contemplan por la presente descripción. Además, algunos de los compuestos pueden formar solvatos con agua u otros disolventes. Tales solvatos se incluyen de manera similar dentro del alcance de los compuestos y composiciones descritos en la presente descripción.

Con respecto a los estereoisómeros, los compuestos de la fórmula I así como cualquier subestructura o estructura específica descrita en la presente descripción, pueden tener uno o más centros quirales (o asimétricos) y pueden así dar lugar a enantiómeros, diastereómeros y otros estereoisómeros formas que pueden definirse, en términos de estereoquímica absoluta, como (*R*)-o (*S*)-. Cuando los compuestos descritos en la presente descripción contienen enlaces dobles olefínicos u otros centros de asimetría geométrica, y a menos que se especifique de cualquier otra manera, se pretende que los compuestos incluyan ambos isómeros geométricos *E* y *Z* (por ejemplo, *cis* o *trans*). Similarmente, además se pretende que se incluyan, a menos que se especifique de cualquier otra manera, todos los isómeros posibles, así como sus formas racémicas y ópticamente puras, y todas las formas tautoméricas. Por lo tanto, se contempla que varios estereoisómeros y sus mezclas incluyen "enantiómeros", que se refiere a dos estereoisómeros cuyas moléculas son imágenes especulares no superpuestas entre sí. Así, los compuestos pueden ocurrir en cualquier forma isomérica, que incluyen racematos, mezclas racémicas y como enantiómeros o diastereómeros individuales. Un tautómero se refiere a un cambio de protón de un átomo de una molécula a otro átomo de la misma molécula.

"Profármaco" pretende indicar un compuesto que puede convertirse en condiciones fisiológicas o mediante solvolisis en un compuesto biológicamente activo descrito en la presente descripción. Así, el término "profármaco" se refiere a un precursor metabólico de un compuesto descrito en la presente descripción que es farmacéuticamente aceptable. Un profármaco puede ser inactivo cuando se administra a un sujeto que lo necesita, pero se convierte *in vivo* en un compuesto activo como en la presente descripción se describe. Los profármacos típicamente se transforman rápidamente *in vivo* para producir el compuesto original descrito en la presente descripción, por ejemplo, mediante hidrólisis en sangre. El compuesto profármaco frecuentemente ofrece ventajas de solubilidad, compatibilidad de tejidos o liberación retardada en un organismo mamífero (ver, por ejemplo, Bundgard, H., Design of Prodrugs (1985), págs. 7-9, 21-24 (Elsevier, Amsterdam). Se proporciona una discusión de profármacos en Higuchi, T., y otros, "Pro-drugs as Novel Delivery Systems," A.C.S. Symposium Series, Vol. 14, y en Bioreversible Carriers in Drug Design, ed. Edward B. Roche, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987.

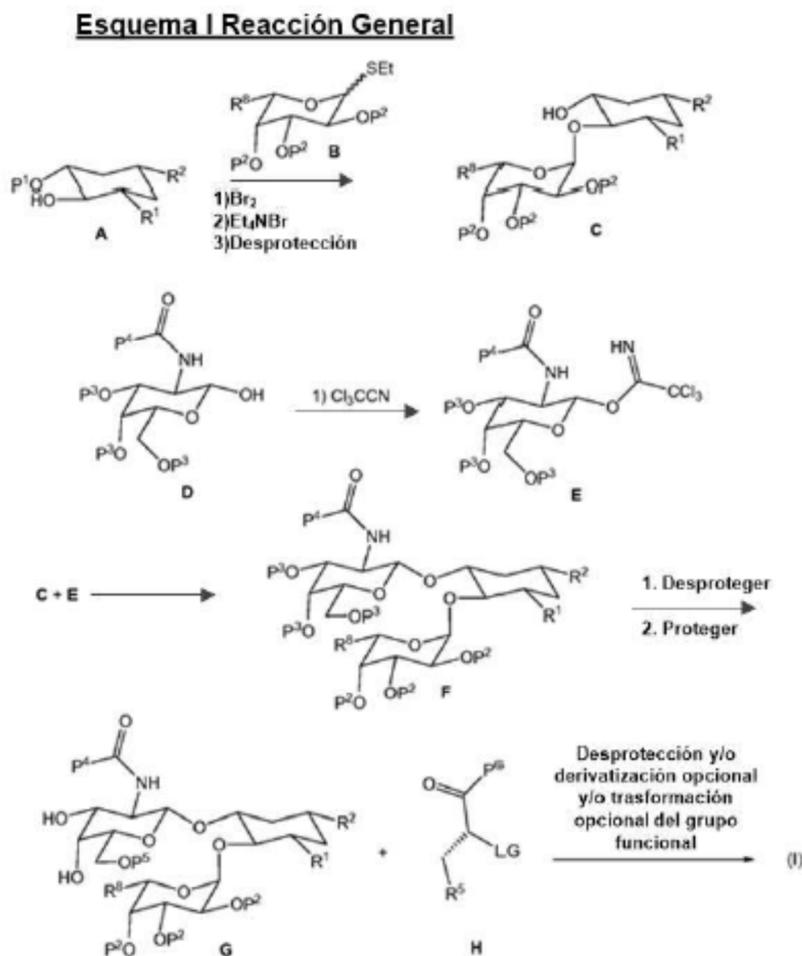
El término "profármaco" pretende además incluir cualquier portador unido covalentemente que libere el compuesto activo como en la presente descripción se describe *in vivo* cuando tal profármaco se administra a un sujeto mamífero. Los profármacos de un compuesto descrito en la presente descripción pueden prepararse mediante la modificación de los grupos funcionales presentes en el compuesto descrito en la presente descripción de tal manera que las modificaciones se escinden, ya sea en la manipulación rutinaria o *in vivo*, en el compuesto original descrito en la presente descripción. Los profármacos incluyen compuestos descritos en la presente descripción en donde un grupo hidroxilo, amino o mercapto se une a cualquier grupo que, cuando el profármaco del compuesto se administra a un sujeto mamífero, se escinde para formar un grupo hidroxilo libre, amino libre o mercapto libre, respectivamente. Los ejemplos de profármacos incluyen, pero no se limita a, derivados éster y amida de grupos funcionales hidroxilo, carboxi, mercapto o amino en los compuestos descritos en la presente descripción y similares.

Procedimientos de síntesis de compuestos

La síntesis de los compuestos de fórmula I (y subestructuras, y compuestos específicos) puede realizarse como en la presente descripción se describe, que incluyen los Ejemplos, mediante el uso de técnicas familiares para una persona

experta en la técnica. Los métodos sintéticos para preparar compuestos ilustrativos descritos en la presente descripción se describen en el Ejemplo 1. Los métodos pueden usarse para la síntesis de los compuestos de fórmula I mediante el uso de reactivos apropiados para la preparación del compuesto específico usando las técnicas y métodos descritos en la presente descripción, y que se practican rutinariamente en la técnica. A modo de ejemplo adicional, las Figuras 1 y 2 proporcionan esquemáticas de esquemas de síntesis para compuestos a modo de ejemplo descritos en la presente descripción.

En general, los compuestos de fórmula (I) pueden prepararse de acuerdo con el siguiente Esquema de Reacción General I:



Con referencia al Esquema 1 de Reacción General, los compuestos de estructura A, en donde R^1 y R^2 son como se definieron para la fórmula R^1 o son porciones que pueden convertirse sintéticamente a R^2 , y P^1 es un grupo protector adecuado, puede adquirirse de fuentes comerciales o prepararse de acuerdo con métodos los conocidos en la técnica. Similarmente, los compuestos de estructura B, en donde R^3 es como se define para la fórmula (I), o es un porción que puede convertirse sintéticamente en R^3 , y P^2 es un grupo protector adecuado, pueden adquirirse de fuentes comerciales o prepararse de acuerdo con los métodos conocidos en la técnica. La reacción de A con B, en condiciones apropiadas (por ejemplo, bromo seguido de bromuro de tetraetilamonio) y la posterior eliminación selectiva de P^1 produce compuestos de estructura C.

En un esquema paralelo, el compuesto D, en donde P^3 es un grupo protector adecuado y P^4 es un grupo protector adecuado o una porción que puede manipularse sintéticamente para obtener R^3 (como se definió para la fórmula (I)), puede comprarse o prepararse de acuerdo con las técnicas conocidas. La reacción de D con un agente activante adecuado (por ejemplo, Cl_3CCN) produce el compuesto E activado. Otros medios adecuados para activar compuestos de estructura D son conocidos por los expertos en la técnica. El acoplamiento de C y E bajo las condiciones apropiadas produce compuestos de estructura F.

La eliminación selectiva de P³, seguida de protección selectiva produce compuestos de estructura G, en donde P⁵ es un grupo protector adecuado. La reacción de G con H, en donde P⁶ es un grupo protector adecuado o una porción que puede manipularse sintéticamente para obtener R⁴ (como se define para la fórmula (I)), R⁵ es como se define para la fórmula (I) y LG es un grupo saliente activado adecuado (por ejemplo, triflato y similares), y la desprotección produce compuestos ilustrativos de fórmula (I).

Se apreciará que puede desearse una manipulación sintética adicional para obtener ciertos compuestos de fórmula (I). Por ejemplo, en ciertas modalidades, P⁴, puede ser un grupo aliloxi que puede transformarse para obtener una alquilamida (por ejemplo, metilo). En otros ejemplos, R¹ en el esquema anterior puede ser un porción alqueno, y el esquema sintético incluye la reducción del alqueno a un grupo alquilo. Son posibles otras diversas modificaciones al Esquema de Reacción General I anterior, tales como variar el (los) material(es) de partida o modificar cualquiera de los productos de reacción para incluir otras porciones no hidroxilo en R⁶ y/o R⁷. Los métodos para estas y otras modificaciones al esquema ilustrativo anterior son bien conocidos en la técnica y se describen en más detalle en los Ejemplos.

Los expertos en la técnica además apreciarán que, en los procedimientos descritos en la presente descripción, los grupos funcionales de compuestos intermedios pueden necesitar protección mediante grupos protectores adecuados, incluso si no se describen específicamente. Tales grupos funcionales incluyen hidroxilo, amino, mercapto y ácido carboxílico. Los grupos de protección adecuados para el hidroxilo incluyen trialkilsilil o diarilalkilsilil (por ejemplo, *t*-butildimetilsilil, *t*-butildifenilsilil o trimetilsilil), tetrahidropiranyl, benzil, y similares. Los grupos protectores adecuados para amino, amidino y guanidino incluyen *t*-butoxicarbonilo, benziloxycarbonilo y similares. Los grupos de protección adecuados para el mercapto incluyen -C(O)-R" (donde R" es alquil, aril o aralquil), *p*-metoxibencil, tritil y similares. Los grupos de protección adecuados para el ácido carboxílico incluyen ésteres de alquilo, arilo o aralquilo. Los grupos de protección pueden añadirse o eliminarse de acuerdo con las técnicas estándares, que son bien conocidas por aquellos con experiencia en la técnica y como en la presente descripción se describe. El uso de grupos protectores se describe en detalle en Green, T.W. y P.G.M. Wutz, *Protective Groups in Organic Synthesis* (1999), 3ra Ed., Wiley. Como apreciaría un experto en la técnica, el grupo protector además puede ser una resina de polímero tal como una resina de Wang, una resina de Rink o una resina de cloruro de 2-clorotritilo.

Los reactivos análogos a los descritos anteriormente pueden identificarse a través de los índices de sustancias químicas conocidas preparadas por el Servicio de Resúmenes de Química de la Sociedad Estadounidense de Química, disponible en la mayoría de las bibliotecas públicas y universitarias, así como a través de bases de datos en línea (la Sociedad Estadounidense de Química, Washington, DC, puede ser contactada para obtener más detalles). Las sustancias químicas que son conocidas pero no están disponibles comercialmente en catálogos pueden prepararse por suministradores de síntesis de sustancias químicas personalizadas, donde muchos de los suministradores de sustancias químicas estándar (*por ejemplo*, las enumeradas anteriormente) proporcionan servicios de síntesis personalizados. Una referencia para la preparación y selección de sales farmacéuticas de la presente descripción es P. H. Stahl & C. G. Wermuth "Handbook of Pharmaceutical Salts," Verlag Helvetica Chimica Acta, Zurich, 2002.

En general, los compuestos usados en las reacciones descritas en la presente descripción pueden prepararse de acuerdo con el Esquema de Reacción General I, Ejemplos 1 y 2, Figuras 1 y 2 y/o técnicas de síntesis orgánica conocidas por los expertos en esta técnica, a partir de productos químicos comercialmente disponibles y/o de compuestos descritos en la literatura química. "Productos químicos disponibles comercialmente" pueden obtenerse a partir de fuentes comerciales estándar que incluyen Acros Organics (Pittsburgh PA), Aldrich Chemical (Milwaukee WI, incluidos Sigma Chemical y Fluka), Apin Chemicals Ltd. (Milton Park Reino Unido), Avocado Research (Lancashire Reino Unido), BDH Inc. (Toronto, Canadá), Bionet (Cornwall, Reino Unido), Chemservice Inc. (West Chester Pensilvania), Crescent Chemical Co. (Hauppauge Nueva York), Eastman Organic Chemicals, Eastman Kodak Company (Rochester Nueva York), Fisher Scientific Co. (Pittsburgh Pensilvania), Fisons Chemicals (Leicestershire Reino Unido), Frontier Scientific (Logan Utah), ICN Biomedicals, Inc. (Costa Mesa California), Key Organics (Cornwall Reino Unido), Lancaster Synthesis (Windham New Hampshire), Maybridge Chemical Co. Ltd. (Cornwall Reino Unido), Parish Chemical Co. (Orem Utah), Pfaltz & Bauer, Inc. (Waterbury CN), Polyorganix (Houston Texas), Pierce Chemical Co. (Rockford Illinois), Riedel de Haen AG (Hannover, Alemania), Spectrum Quality Product, Inc. (New Brunswick, New Jersey), TCI America (Portland Oregón), Trans World Chemicals, Inc. (Rockville Maryland) y Wako Chemicals USA, Inc. (Richmond Virginia).

Los métodos conocidos por los expertos en la técnica pueden identificarse a través de diversos libros de referencia, artículos y bases de datos. Libros de referencia y tratados adecuados que detallan la síntesis de reactivos útiles en la preparación de compuestos de la presente descripción, o proporcionan referencias a artículos que describen la preparación, incluyen, por ejemplo, "Synthetic Organic Chemistry," John Wiley & Sons, Inc., Nueva York; S. R. Sandler y otros, "Organic Functional Group Preparations," 2da Ed., Academic Press, Nueva York, 1983; H. O. House, "Modern Synthetic Reactions", 2da Ed., W. A. Benjamin, Inc. Menlo Park, Calif. 1972; T. L. Gilchrist, "Heterocyclic Chemistry", 2da Ed., John Wiley & Sons, Nueva York, 1992; J. March, "Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms and Structure," 4ta Ed., Wiley-Interscience, Nueva York, 1992. Libros de referencia y tratados adicionales adecuados que detallan la síntesis de reactivos útiles en la preparación de compuestos de la presente descripción, o proporcionan referencias a artículos que describen la preparación, incluyen, por ejemplo, Fuhrhop, J. y Penzlin G. "Organic Synthesis:

Concepts, Methods, Starting Materials", Segunda edición revisada y ampliada (1994) John Wiley & Sons ISBN: 3-527-29074-5; Hoffman, R.V. "Organic Chemistry, An Intermediate Text" (1996) Oxford University Press, ISBN 0-19-509618-5; Larock, R. C. "Comprehensive Organic Transformations: A Guide to Functional Group Preparations" 2da Edición (1999) Wiley-VCH, ISBN: 0-471-19031-4; Marzo, J. "Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure" 4ta Edición (1992) John Wiley & Sons, ISBN: 0-471-60180-2; Otera, J. (editor) "Modern Carbonyl Chemistry" (2000) Wiley-VCH, ISBN: 3-527-29871-1; Patai, S. "Patai's 1992 Guide to the Chemistry of Functional Groups" (1992) Interscience ISBN: 0-471-93022-9; Quin, L.D. y otros. "A Guide to Organophosphorus Chemistry" (2000) Wiley-Interscience, ISBN: 0-471-31824-8; Solomons, T. W. G. "Organic Chemistry" 7ma Edición (2000) John Wiley & Sons, ISBN: 0-471-19095-0; Stowell, J.C., "Intermediate Organic Chemistry" 2da Edición (1993) Wiley-Interscience, ISBN: 0-471-57456-2; "Industrial Organic Chemicals: Starting Materials and Intermediates: An Ullmann's Encyclopedia" (1999) John Wiley & Sons, ISBN: 3-527-29645-X, en 8 volúmenes; "Organic Reactions" (1942-2000) John Wiley & Sons, en más de 55 volúmenes; y "Chemistry of Functional Groups" John Wiley & Sons, en 73 volúmenes.

Como se hizo notar anteriormente, además de los compuestos descritos en la presente descripción, se describen otros agentes en la presente descripción que se unen al o cerca del sitio de unión en E-selectina para los compuestos y compiten con los compuestos por la inhibición de la interacción de E-selectina con sLe^a o sLe^x . Los otros agentes incluyen anticuerpos, polipéptidos, péptidos y aptámeros. Tales agentes pueden producirse por una variedad de medios que son bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, la proteína E-selectina se usa para generar una biblioteca de anticuerpos. La biblioteca de anticuerpos se tamiza para detectar uno o más anticuerpos de interés usando un compuesto descrito en la presente descripción, tal como el compuesto 22 de la Figura 1A. Alternativamente, por ejemplo, la porción de E-selectina que se une al compuesto 22 de la Figura 1A se identifica y se usa para generar anticuerpos de interés (*por ejemplo*, el uso de la porción como un inmunógeno). Esta porción de E-selectina además puede usarse para diseñar y producir polipéptidos, péptidos y aptámeros que compitan con los compuestos descritos en la presente descripción.

Anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de estos.

Además, en la presente descripción se describen agentes, que pueden ser un anticuerpo, polipéptido, péptido o aptámero que son antagonistas de E-selectina y pueden ser útiles para los métodos y usos descritos en la presente descripción. Tales agentes se unen a selectina E en o cerca del sitio de unión en E-selectina a la que se une un compuesto de fórmula (I) como se proporciona en la presente descripción. Estos agentes son por lo tanto capaces de competir con un compuesto de fórmula I para unirse a E-selectina y son capaces de bloquear (*es decir*, inhibir) la unión de E-selectina a un ligando de E-selectina.

Péptidos y peptidomiméticos

La interacción entre E-selectina y sLe^a o sLe^x puede inhibirse (*es decir*, inhibirse, disminuirse, alterarse, reducirse de una manera biológica o estadísticamente significativa) por un péptido o peptidomimético de la porción de E-selectina que se une a un compuesto proporcionado en la presente descripción. El péptido y el porción peptídica del peptidomimético pueden comprender al menos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16-20, 21-25, 26-30, 31-35, 36-40, 41-45, o 46-50 aminoácidos. Los péptidos y peptidomiméticos tienen típicamente masas moleculares menores de 10^4 daltons, menos de 10^3 daltons, o menos de 10^2 daltons.

Métodos de uso

Los métodos en la presente descripción se describen para usar uno o más de los agentes antagonistas de E-selectina descritos anteriormente y en la presente descripción, que incluyen glicomiméticos como se reivindica, anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de estos, polipéptidos, péptidos y aptámeros para prevenir (*es decir*, reducir la probabilidad de aparición o recurrencia de) y/o tratar una enfermedad o trastorno asociado con, mediado por, o exacerbado por, la unión de E-selectina a un ligando de E-selectina, que a su vez causa una actividad biológica no deseada. Los compuestos particulares de fórmula (I) que se describen en las reivindicaciones se proporcionan para su uso en cualquiera de estos métodos. Así, los antagonistas de E-selectina descritos en la presente descripción pueden usarse en métodos para tratar una enfermedad o trastorno tratable mediante la inhibición de la unión de E-selectina a un ligando de E-selectina. Estos métodos y otras modalidades se describen con mayor detalle en la presente descripción.

Un compuesto de fórmula (I) o una composición farmacéutica que comprende el compuesto puede usarse en métodos para tratar y prevenir (*es decir*, disminuir o reducir la probabilidad de aparición de) metástasis de células cancerosas (además llamadas células tumorales en la presente descripción) en un individuo (*es decir*, sujeto, paciente) que lo necesita mediante la administración del compuesto o composición al individuo. Un compuesto de fórmula (I) o una composición farmacéutica que comprende el compuesto puede usarse en métodos para inhibir (reducir, disminuir o prevenir (*es decir*, disminuir la probabilidad de aparición)) la infiltración de células cancerosas en la médula ósea en un individuo (*es decir*, sujeto, paciente) que lo necesita mediante la administración el compuesto o composición al individuo. En otra modalidad, los métodos se proporcionan en la presente descripción para inhibir (reducir, disminuir o prevenir) la adhesión de una célula cancerosa que expresa un ligando de E-selectina a una célula endotelial que expresa E-selectina en la superficie celular de la célula endotelial en donde el método comprende poner en contacto la célula endotelial y el compuesto o composición que comprende el compuesto (*es decir*, de alguna manera permitir que

el compuesto o composición que comprende el compuesto interaccionar con la célula endotelial) de manera que cuando el compuesto interactúa con E-selectina en la célula endotelial, se inhibe la unión de la célula cancerosa a la célula endotelial. En ciertas modalidades, la célula endotelial está presente en la médula ósea. Un agente antagonista de E-selectina seleccionado de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de este, polipéptido, péptido y aptámero, cuyo agente es capaz de competir con un compuesto de fórmula (I), puede usarse en los métodos mencionados anteriormente.

Además, en la presente descripción se describe, un método para tratar un cáncer en un individuo (es decir, sujeto, paciente) mediante la administración de un compuesto de fórmula I o una composición farmacéutica que comprende el compuesto para el individuo. El compuesto (o composición farmacéutica que comprende el compuesto) puede administrarse junto con (es decir, como terapia adjunta, que además se denomina terapia adjunta) con quimioterapia o radiación o ambos. La quimioterapia o radioterapia o combinación puede denominarse como la principal terapia antitumoral o anticancerosa que está siendo administrada al individuo para tratar el cáncer en particular. Un agente antagonista de E-selectina seleccionado de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de este, polipéptido, péptido y aptámero, cuyo agente es capaz de competir con un compuesto de fórmula (I), puede usarse en los métodos mencionados anteriormente.

En otro método más, puede usarse un compuesto de fórmula I o composiciones farmacéuticas que comprenden el compuesto en métodos para potenciar la supervivencia de las células madre hematopoyéticas en un sujeto. Un agente antagonista de E-selectina seleccionado de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de este, polipéptido, péptido y aptámero, cuyo agente es capaz de competir con un compuesto de fórmula (I), puede usarse en los métodos mencionados anteriormente.

En otro método, un compuesto de fórmula I o composiciones farmacéuticas que comprenden el compuesto pueden usarse en métodos para tratar o prevenir (es decir, disminuir o reducir la probabilidad o el riesgo de aparición de) trombosis en un sujeto. En ciertos métodos, un compuesto de fórmula I o composiciones farmacéuticas que comprenden el compuesto pueden usarse en métodos para tratar o prevenir (es decir, disminuir o reducir el riesgo de aparición de) la formación de trombos en un individuo que necesita dicho tratamiento, que comprende administrar al individuo un compuesto que tiene la fórmula (I) (o la composición farmacéutica que comprende el compuesto), o cualquier subestructura o estructura específica descrita en la presente descripción. Un agente antagonista de E-selectina seleccionado de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de este, polipéptido, péptido y aptámero, cuyo agente es capaz de competir con un compuesto de fórmula (I), puede usarse en los métodos mencionados anteriormente.

Tal como lo entiende un experto en la técnica médica, los términos "tratar" y "tratamiento" se refieren al tratamiento médico de una enfermedad, trastorno o afección de un sujeto (es decir, paciente, individuo) (ver, por ejemplo, Stedman's Medical Dictionary). En general, una dosis apropiada y un régimen de tratamiento proporcionan al menos un compuesto glicomimético u otro agente descrito en la presente descripción en una cantidad suficiente para proporcionar un beneficio terapéutico y/o profiláctico. El beneficio terapéutico y/o profiláctico incluye, por ejemplo, un resultado clínico mejorado, tanto tratamiento terapéutico como medidas profilácticas o preventivas, en donde el objetivo es prevenir o retrasar (disminuir) un cambio o trastorno fisiológico no deseado, o prevenir o ralentizar o retrasar (disminuir) la expansión o gravedad de dicho trastorno. Como se discute en la presente descripción, los resultados clínicos beneficiosos o deseados del tratamiento de un sujeto incluyen, pero no se limitan a, mitigación, disminución o alivio de síntomas que resultan de o se asocian con la enfermedad, afección o trastorno que se trata; disminución de la aparición de síntomas; mejor calidad de vida; un estado más largo libre de enfermedad (es decir, mediante la disminución de la probabilidad o la propensión de que un sujeto presente síntomas sobre la base de los cuales se realiza un diagnóstico de una enfermedad); disminución de la extensión de la enfermedad; estado de enfermedad estabilizado (es decir, sin empeoramiento); retraso o ralentización de la progresión de la enfermedad; mejora o paliación del estado de la enfermedad; y remisión (ya sea parcial o total), ya sea detectable o indetectable; y/o supervivencia general. "Tratamiento" puede significar además prolongar la supervivencia cuando se compara con la supervivencia esperada si un sujeto no recibía tratamiento. Los sujetos que necesitan tratamiento incluyen aquellos que ya tienen la enfermedad, afección o trastorno, así como los sujetos propensos a tener o en riesgo de desarrollar la enfermedad, afección o trastorno, y aquellos en los que la enfermedad, afección o trastorno debe ser prevenido (es decir, disminuir la probabilidad de que aparezca la enfermedad, trastorno o afección).

Como se discute en detalle en la presente descripción, la enfermedad o trastorno que se trata o previene (es decir, reduce la probabilidad de aparición o recurrencia) es un cáncer y metástasis relacionadas e incluye cánceres que comprenden tumores sólidos y cánceres que comprenden tumor(es) líquido(s). Como se ilustra en la Figura 3, la E-selectina juega un papel central en la progresión de un cáncer. Las propiedades invasivas de las células cancerosas dependen, al menos en parte, de la capacidad de las células cancerosas para romper la barrera endotelial. Las células cancerosas, por ejemplo, las células de cáncer de colon, pueden expresar ligandos de selectina E que son capaces de unirse a células endoteliales que expresan selectina E en su superficie celular. Sin deseos de estar limitados por la teoría, la unión de la célula cancerosa a la célula endotelial puede contribuir a la extravasación de las células cancerosas (ver, por ejemplo, Tremblay y otros, *Oncogene* 25: 6563-6573. doi:10.1038/sj.onc.1209664; publicado en línea el 22 de mayo 2006).

Los cánceres que pueden evitar metástasis incluyen cánceres que comprenden tumores sólidos y aquellos que comprenden tumores líquidos (*por ejemplo*, neoplasias hematológicas). Ejemplos de tumores sólidos que pueden tratarse con los agentes descritos en la presente descripción (*por ejemplo*, compuestos glicomiméticos de fórmula I) incluyen cáncer colorrectal, cáncer de hígado, cáncer gástrico, cáncer de pulmón, cáncer cerebral, cáncer de riñón, cáncer de vejiga, cáncer de tiroides, cáncer de próstata, cáncer de ovario, cáncer de cuello uterino, cáncer de útero, cáncer de endometrio, melanoma, cáncer de mama y cáncer de páncreas. Los tumores líquidos se producen en la sangre, la médula ósea y los ganglios linfáticos e incluyen leucemia (*por ejemplo*, AML, ALL, CLL, y CML), linfoma (*por ejemplo*, linfoma no Hodgkin y linfoma de Hodgkin) y mieloma (*por ejemplo*, mieloma múltiple). Los reportes han descrito que los tumores líquidos tales como el mieloma múltiple siguen una invasión similar - cascada de metástasis como se observó con tumores sólidos y que los ligandos de E-selectina se presentan en células tumorales líquidas, como las células de mieloma (*ver, por ejemplo*, Ghobrial, *Blood* 120:20-30 (2012) Epub 2012 abril 24). Otros han observado que los ligandos de E-selectina (*por ejemplo*, CD65) pueden ser importantes para la infiltración extravascular de células de leucemia (*ver, por ejemplo*, Noguchi y otros, *Leukemia Res.* 25:847-53 (2001)). Las células tumorales líquidas además pueden adherirse a la médula ósea, lo que puede conducir a secuestro y quiescencia de las células tumorales, lo que resulta en la "resistencia" de las células tumorales a la quimioterapia, fenómeno que se denomina resistencia farmacológica mediada por adhesión. Los estudios además han indicado que la médula ósea contiene regiones anatómicas que comprenden endotelio especializado, que expresa la E-selectina (*ver, por ejemplo*, Sipkins y otros, *Nature* 435:969-973 (2005)). Como consecuencia, un antagonista de E-selectina, tal como el descrito en la presente descripción, puede ser útil para inhibir la metástasis de cánceres que comprenden ya sea un tumor sólido o líquido mediante la inhibición de la unión de un ligando de E-selectina a E-selectina.

Los compuestos de fórmula (I), que incluyen las subestructuras y compuestos específicos, y los agentes descritos en la presente descripción pueden usarse para tratar o prevenir (*es decir*, disminuir o reducir la probabilidad de aparición de) metástasis de células cancerosas en un individuo (*es decir*, sujeto, paciente) que lo necesita. Los compuestos y agentes descritos en la presente descripción pueden usarse para inhibir o prevenir (*es decir*, disminuir o reducir la probabilidad de aparición de) la infiltración de células cancerosas en la médula ósea en un individuo que lo necesita. Los individuos (o sujetos) que necesitan tales tratamientos incluyen sujetos que se han diagnosticado con cáncer, ya sea un cáncer que comprende un(os) tumor sólido(s) o un cáncer que comprende un tumor líquido. Sin deseos de estar limitados por la teoría, las células tumorales al inhibir que hagan metástasis en la médula ósea o a otros nichos protectores en el cuerpo, las células tumorales se inhiben del secuestro y protección de la exposición a quimioterapia o radioterapia.

Tales cánceres incluyen, por ejemplo, cáncer colorrectal, cáncer de hígado, cáncer gástrico, cáncer de pulmón, cáncer cerebral, cáncer de riñón, cáncer de vejiga, cáncer de tiroides, cáncer de próstata, cáncer de ovario, cáncer de cuello uterino, cáncer de útero, cáncer de endometrio, melanoma, cáncer de mama y cáncer de páncreas. Los tumores líquidos se producen en la sangre, la médula ósea, el tejido blando similar a una esponja en el centro de la mayoría de los huesos y los ganglios linfáticos e incluyen leucemia (*por ejemplo*, AML, ALL, CLL, y CML), linfoma y mieloma (*por ejemplo*, mieloma múltiple). Los linfomas incluyen el linfoma de Hodgkin, que se marca por la presencia de un tipo de célula llamada célula Reed-Sternberg, y linfomas no Hodgkin, que incluye un grupo grande y diverso de cánceres de células del sistema inmunitario. Los linfomas no Hodgkin pueden dividirse aún más en cánceres que tienen un curso indolente (de crecimiento lento) y en aquellos que tienen un curso agresivo (de crecimiento rápido) y qué subtipos responden al tratamiento de manera diferente.

Los compuestos de fórmula I y agentes descritos en la presente descripción (o la composición farmacéutica que comprende el compuesto o agente) pueden administrarse como terapia adjunta a quimioterapia o radioterapia o ambos, que se suministran al sujeto como terapia primaria para tratar el cáncer. La quimioterapia y la radioterapia que pueden administrarse dependen de varios factores, que incluyen el tipo de cáncer, la ubicación del tumor(es), el estadio del cáncer, la edad y el sexo, y el estado general de salud del sujeto. Una persona experta en la técnica médica puede determinar fácilmente el régimen de quimioterapia o el régimen de radioterapia apropiados para el sujeto que lo necesita. La persona experta en la técnica médica además puede determinar, con la ayuda de estudios preclínicos y clínicos, cuando el compuesto de fórmula (I) o agente se debe administrar al sujeto, es decir, si el compuesto o agente se administra antes de, concurrente o posterior a un ciclo de quimioterapia primaria o radioterapia.

Además, en la presente descripción se describe un método para inhibir la adhesión de una célula tumoral que expresa un ligando de E-selectina a una célula endotelial que expresa E-selectina en su superficie celular, método que comprende poner en contacto la célula endotelial con el compuesto de fórmula (I) o agente como en la presente descripción se describe, que permite de ese modo que el compuesto interacte con E-selectina en la superficie de la célula endotelial y que inhibe la unión de la célula tumoral a la célula endotelial. Sin deseos de estar limitados por la teoría, la inhibición de la adhesión de las células tumorales a las células endoteliales puede reducir de manera significativa la capacidad de las células tumorales para extravasarse en otros órganos, vasos sanguíneos, linfa o médula ósea y, por lo tanto, reducir, disminuir, o inhibir o ralentizar la progresión del cáncer, incluida la reducción, disminución, inhibición o ralentización de la metástasis.

En modalidades particulares de los métodos descritos en la presente descripción, el sujeto es un animal humano o no humano. Un sujeto que necesita los tratamientos descritos en la presente descripción puede exhibir síntomas o secuelas de la enfermedad, trastorno o afección del cáncer descritos en la presente descripción o puede estar en riesgo

de desarrollar la enfermedad, trastorno o afección. Los animales no humanos que pueden tratarse incluyen mamíferos, por ejemplo, primates no humanos (por ejemplo, mono, chimpancé, gorila y similares), roedores (*por ejemplo*, ratas, ratones, jerbos, hámsters, hurones, conejos), lagomorfos, puercos (*por ejemplo*, cerdos, cerdos en miniatura), equinos, caninos, felinos, bovinos y otros animales domésticos, de granja y zoológico.

5 La eficacia de un compuesto, agente o composición farmacéutica descrita en la presente descripción para tratar o prevenir una enfermedad o trastorno o afección descrita en la presente descripción, y determinar y ajustar un régimen de dosificación apropiado (*por ejemplo*, ajustar la cantidad de compuesto por dosis y/o número de dosis y frecuencia de dosificación), puede fácilmente determinarse por un experto en las técnicas médicas y clínicas. Uno o cualquier combinación de métodos de diagnóstico, que incluyen el examen físico, la evaluación y el control de los síntomas clínicos, y la realización de pruebas y métodos analíticos descritos en la presente descripción, pueden usarse para controlar el estado de salud del sujeto.

15 Como en la presente descripción se describe, con respecto al tratamiento de un sujeto (*es decir*, un individuo) que tiene cáncer o que está en riesgo de desarrollar cáncer, al menos uno (*es decir*, uno o más) de los agentes descritos anteriormente (*por ejemplo*, compuestos de fórmula (I)) pueden administrarse en combinación con al menos un (*es decir*, uno o más) agentes anticancerosos adicionales. La quimioterapia puede comprender uno o más agentes quimioterapéuticos. Por ejemplo, pueden usarse agentes de quimioterapia, agentes radioterapéuticos, inhibidores de fosfoinositida-3 quinasa (PI3K) e inhibidores de VEGF en combinación con un agente descrito en la presente descripción. Los ejemplos de inhibidores de PI3K incluyen el compuesto nombrado por Exelixis como "XL499." Los ejemplos de inhibidores de VEGF incluyen el compuesto llamado "cabo" (anteriormente conocido como XL184). Muchos otros productos quimioterapéuticos son pequeñas moléculas orgánicas. Como entiende un experto en la técnica, la quimioterapia además puede referirse a una combinación de dos o más moléculas quimioterapéuticas que se administran coordinadamente y que puede denominarse quimioterapia de combinación. Numerosos fármacos quimioterapéuticos se usan en la técnica oncológica e incluyen, por ejemplo, agentes alquilantes; antimetabolitos; antraciclinas, alcaloides de plantas; e inhibidores de topoisomerasa.

30 Un antagonista de E-selectina, tal como un compuesto glicomimético de fórmula (I) puede funcionar independientemente del agente anticancerígeno, o puede funcionar en coordinación con el agente anticancerígeno, *por ejemplo*, potenciando la eficacia del agente anticancerígeno o viceversa. Pueden proporcionarse métodos para tratar cánceres que comprenden administrar los antagonistas de E-selectina descritos en la presente descripción (que incluyen los compuestos glicomiméticos de fórmula I). El cáncer puede ser un tumor sólido o un tumor líquido. El antagonista de E-selectina puede usarse en combinación con quimioterapia, radiación o tanto con quimioterapia como con radiación. El antagonista de E-selectina puede administrarse con uno o más ciclos (*es decir*, uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis o más ciclos) de quimioterapia o radioterapia cuando se administran ciclos múltiples de quimioterapia o radioterapia a un sujeto para el tratamiento de un cáncer. El antagonista de E-selectina puede potenciar la eficacia de los agentes quimioterapéuticos o la radioterapia.

40 En otra modalidad, se proporcionan en la presente descripción métodos para potenciar (*es decir*, potenciar, promover, mejorar la probabilidad de, potenciar de manera estadísticamente o biológicamente significativa) o mantener la supervivencia de las células madre hematopoyéticas (HSC) en un sujeto que se trata con o se tratará con un(os) fármaco(s) quimioterapéutico(s) o terapia radioactiva, respectivamente, que comprenden administrar uno o más de los compuestos glicomiméticos del antagonista de E-selectina descritos en la presente descripción. En ciertas modalidades, el sujeto recibe o recibirá tanto quimioterapia como radioterapia. Además, se proporciona en la presente descripción un método para reducir (*es decir*, reducir, inhibir, disminuir de una manera estadísticamente o biológicamente significativa) la quimiosensibilidad o radiosensibilidad de las células madre hematopoyéticas (HSC) a los fármacos quimioterapéuticos o la terapia radiactiva, respectivamente, en un sujeto. Debido a que ciclos repetidos de quimioterapia y radioterapia frecuentemente disminuyen la capacidad de las HSC para recuperar y reponer la médula ósea, los compuestos glicomiméticos descritos en la presente descripción pueden ser útiles para los sujetos que recibirán más de un ciclo, como al menos dos, tres, cuatro o más ciclos, de quimioterapia o radioterapia o una combinación de quimioterapia y radioterapia. El antagonista de E-selectina puede por lo tanto administrarse con uno o más de cada uno de los ciclos de quimioterapia o radioterapia (o combinación) que se administran al sujeto. Las HSC residen en la médula ósea y generan las células que se necesitan para reponer el sistema inmune y la sangre. Anatómicamente, la médula ósea comprende un nicho vascular adyacente a los senos endoteliales óseos (*ver, por ejemplo*, Kiel y otros, *Cell* 121:1109-21 (2005); Sugiyama y otros, *Immunity* 25:977-88 (2006); Mendez-Ferrer y otros, *Nature* 466:829-34 (2010); Butler y otros, *Cell Stem Cell* 6:251-64 (2010)). Un estudio reciente describe que la E-selectina promueve la proliferación de HSC y es un componente importante del nicho vascular (*ver, por ejemplo*, Winkler y otros, *Nature Medicine* publicado en línea el 21 de octubre de 2012; doi:10.1038/nm.2969; *ver además, por ejemplo*, la solicitud internacional de patente publicación Núm. 2007/028050). La delección o inhibición de la E-selectina potenció la supervivencia de HSC en ratones que se trataron con los agentes quimioterapéuticos o radioterapia y aceleró la recuperación de neutrófilos en sangre (*ver, por ejemplo*, Winkler y otros, *más arriba*).

65 Un agente descrito en la presente descripción (*es decir*, un antagonista de E-selectina, tal como un compuesto glicomimético de fórmula (I)) puede funcionar independientemente del agente anticancerígeno, o puede funcionar en coordinación con el agente anticancerígeno, *por ejemplo*, potenciando la eficacia del agente anticancerígeno o viceversa. Además, la administración de uno o más de los agentes antagonistas de E-selectina descritos en la presente

- descripción puede ser junto con una o más terapias diferentes, *por ejemplo*, para reducir los efectos tóxicos de la terapia. Por ejemplo, puede administrarse al menos un (*es decir*, uno o más) agentes paliativos para contrarrestar (al menos en parte) un efecto secundario de la terapia (*por ejemplo*, terapia anticancerosa). Los agentes (químicos o biológicos) que promueven la recuperación, o contrarrestan los efectos secundarios de la administración de antibióticos o corticosteroides, son ejemplos de tales agentes paliativos. Al menos un agente descrito en la presente descripción puede administrarse antes, después o al mismo tiempo con la administración de al menos un agente anticancerígeno adicional o al menos un agente paliativo para reducir un efecto secundario de la terapia. Cuando la administración es concurrente, la combinación puede administrarse de un solo contenedor o dos (o más) contenedores separados.
- 5 Las células cancerosas (además denominadas en la presente descripción células tumorales) que pueden prevenirse (*es decir*, inhibirse, ralentizarse) de la metástasis, pueden destruirse, pueden prevenirse que se adhieran a una célula endotelial o inhibirse de la médula ósea infiltrante incluyen células de tumores sólidos y tumores líquidos (que incluyen tumores malignos hematológicos). Ejemplos de tumores sólidos en la presente descripción se describen e incluyen
- 10 cáncer colorrectal, cáncer de hígado, cáncer gástrico, cáncer de pulmón, cáncer de cerebro, cáncer de riñón, cáncer de vejiga, cáncer de tiroides, cáncer de próstata, cáncer de ovario, cáncer de cuello uterino, cáncer de útero, cáncer de endometrio, melanoma, cáncer de mama y cáncer de páncreas. Los tumores líquidos se producen en la sangre, la médula ósea y los ganglios linfáticos e incluyen leucemia (*por ejemplo*, AML, ALL, CLL, y CML), linfoma (*por ejemplo*, linfoma de Hodgkin y linfoma no Hodgkin) y mieloma (*por ejemplo*, mieloma múltiple). Como se usa en la presente descripción, el término células cancerosas incluye células madre maduras, progenitoras y cancerosas.
- 15
- 20 Los huesos son un lugar común para que el cáncer se infiltre una vez que sale de la ubicación del tumor primario. Una vez que el cáncer reside en el hueso, con frecuencia es una causa de dolor para el individuo. Además, si el hueso particular afectado es una fuente para la producción de células sanguíneas en la médula ósea, el individuo puede desarrollar una variedad de trastornos relacionados con las células sanguíneas. El cáncer de mama y de próstata son
- 25 ejemplos de tumores sólidos que migran a los huesos. La leucemia mielógena aguda (AML) y el mieloma múltiple (MM) son ejemplos de tumores líquidos que migran a los huesos. Las células cancerosas que migran al hueso generalmente migrarán a la región endosteal de la médula ósea. Una vez que las células cancerosas se han infiltrado en la médula, las células se vuelven inactivas y se protegen de la quimioterapia. Los compuestos de la presente invención bloquean la infiltración de células cancerosas diseminadas en la médula ósea. Una variedad de individuos puede beneficiarse del
- 30 tratamiento con los compuestos. Ejemplos de tales individuos incluyen individuos con un tipo de cáncer que tiene una propensión a migrar al hueso donde el tumor todavía se ubica o el tumor se disemina pero aún no ha infiltrado el hueso, o donde individuos con dicho tipo de cáncer están en remisión.
- 35 La población de pacientes con cáncer que es más probable que responda al tratamiento que usa los agentes (*por ejemplo*, compuestos de fórmula (I)) descritos en la presente descripción puede identificarse basándose en el mecanismo de acción de E-selectina. Es decir, pueden seleccionarse pacientes que expresan una E-selectina altamente activa como se determina por el polimorfismo genético para E-selectina de S128R (Alessandro y otros, *Int. J. Cancer* 121:528-535, 2007). Además, los pacientes para el tratamiento por los agentes descritos en la presente descripción pueden además seleccionarse basándose en la expresión elevada de los ligandos de unión a selectina E (sialil Le^a y sialil Le^x) determinados por anticuerpos dirigidos contra antígenos asociados al cáncer CA-19-9 (Zheng y otros, *World J. Gastroenterol.* 7:431-434, 2001) y CD65. Además, los anticuerpos HECA-452 y FH-6 que reconocen ligandos de E-selectina similares a carbohidratos además pueden usarse en un ensayo de diagnóstico para seleccionar la población de pacientes con cáncer con mayor probabilidad de responder a este tratamiento.
- 40
- 45 En otras modalidades, se proporcionan métodos para tratar o prevenir (*es decir*, reducir la probabilidad de aparición) la trombosis en un sujeto (*es decir*, individuo, paciente) que lo necesita. El sujeto puede tener un trombo o puede estar en riesgo de desarrollar un trombo. Un antagonista de E-selectina descrito en la presente descripción (que incluye un compuesto de fórmula (I)) puede inhibir o prevenir (*es decir*, reducir la probabilidad de aparición) la formación de un trombo. El antagonista de E-selectina puede inhibir la formación lenta o retardada de un trombo o disminuir el tamaño o la integridad de un trombo formado. Aunque este método es aplicable a individuos que lo necesitan en general, los
- 50 métodos son especialmente ventajosos para tales individuos que además están en riesgo de hemorragia. Por ejemplo, este método es útil y ventajoso en una amplia variedad de situaciones en las que el riesgo de hemorragia es significativo y se contraindica el uso de agentes antitrombóticos con propiedades anticoagulantes (tales como la heparina LMW). Incluso cuando el uso de un agente antitrombótico con propiedades anticoagulantes no se cree que se contraindique, este método proporciona un beneficio si ocurre hemorragia. Los antagonistas de E-selectina usados en el método son
- 55 agentes que inhiben la interacción de E-selectina con sialil Le^a(sLe^a) o sialil Le^x (sLe^x), pero a diferencia de los agentes, tales como heparina, no retrasan significativamente la coagulación.
- 60 La activación mediada por selectina de leucocitos promueve la formación de micropartículas procoagulantes ricas en factor tisular (*ver, por ejemplo*, Wakefield y otros, *Thrombosis Res.* 123:S3. 5-40 (2009)). Tanto las selectinas E como P se expresan en el endotelio después de la lesión o la activación de la pared del vaso sanguíneo. Muchos reportes se han centrado en el papel de la P-selectina en la trombosis, en parte debido a la disponibilidad de inhibidores para P-selectina (*ver, por ejemplo*, Lopez y otros, *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program* 439-56 (2004)); sin embargo, varios estudios concluyen que la E-selectina tiene un papel dominante. Sin deseos de limitados por la teoría en particular, la formación de VTE se impulsa por la respuesta inflamatoria, y las selectinas funcionan en eventos
- 65 tempranos de trombosis.

Actualmente, se usan varios medicamentos para el tratamiento de la trombosis. Los fármacos ilustrativos incluyen aquellos que suprimen la agregación plaquetaria (agentes terapéuticos antiplaquetarios), por ejemplo, aspirina, ticlopidina, ácido eicosapentaenoico (EPA), dipiridamol e hidrocloreto de dazep. Un terapéutico antiplaquetario tal como la aspirina suprime la formación de trombos en el sitio dañado del vaso sanguíneo mediante la supresión del desarrollo de la coagulación sanguínea desencadenada por la agregación plaquetaria. Sin embargo, debido a que las plaquetas además previenen la hemorragia del vaso sanguíneo, la supresión excesiva de las plaquetas puede resultar en una menor eficacia de las plaquetas para prevenir la hemorragia.

Los anticoagulantes usados para el tratamiento o la prevención de la trombosis actúan mediante la supresión de un factor de coagulación sanguínea e incluyen warfarina, heparina, heparina de bajo peso molecular y argatroban. Los anticoagulantes son útiles para prevenir la formación de coágulos de fibrina intravasculares, mientras que los fibrinolíticos (*por ejemplo*, activadores de plasminógeno) son útiles para la disolución de coágulos de fibrina. Puede ocurrir una hemorragia incontrolada después de la administración a largo plazo de grandes dosis de un anticoagulante o fibrinolítico. Cuando se usa heparina, las complicaciones incluyen resistencia a heparina, hemorragia, trombocitopenia inducida por heparina y osteoporosis.

La E-selectina, en particular, desempeña un papel dominante en la formación de trombos, que se determinó en modelos animales y mediante el estudio de los seres humanos que tienen un polimorfismo genético (Ser128Arg) de E-selectina. En los estudios en humanos, se reporta un polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) S128R (serina a arginina en la posición 128) en el gen de E-selectina que se sobrerrepresenta en los pacientes con aterosclerosis, reestenosis, enfermedad coronaria, infarto de miocardio y cáncer colorrectal con mal pronóstico (Myers y otros, *J. Surg. Res.* 108:212-21 (2002)). E-selectina S128R es una variante genética que es más activa que la E-selectina normal (*es decir*, silvestre). Las células que expresan E-selectina S128R muestran una mayor adhesión y se adhieren a una variedad más amplia de tipos de células (Yoshida y otros, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 23:783-88 (2003)). De acuerdo con las publicaciones y un tamizaje del Consorcio de funcionalidades glicómicas, la E-selectina S128R se une a los mismos carbohidratos (sialil Le^a y sialil Le^x) como la E-selectina silvestre, aunque se potencia su actividad de unión en otros ensayos *in vitro* y quizás más promiscuos.

En un estudio sobre los efectos de la E-selectina S128R sobre el tromboembolismo venoso (VTE), se observaron 585 pacientes prospectivamente después del primer VTE por recidiva después de la interrupción del tratamiento (*ver, por ejemplo*, Jilma y otros, *Arch. Intern. Med.* 166:1655-59 (2006)). Los pacientes con E-selectina S128R mostraron un aumento significativo en el desarrollo de otro trombo después de suspender el tratamiento anticoagulante en comparación con los pacientes con E-selectina silvestre.

En una modalidad, la trombosis es un tromboembolismo venoso (VTE). El VTE causa trombosis venosa profunda y embolia pulmonar. La heparina de bajo peso molecular (LMW) es el tratamiento principal actual para la prevención y el tratamiento del VTE. Existen muchas circunstancias, sin embargo, en que el uso de la heparina LMW se contraíndica. Los pacientes sometidos a cirugía, los pacientes con trombocitopenia, los pacientes con antecedentes de accidente cerebrovascular y muchos pacientes con cáncer son solo algunos ejemplos en los que se debe evitar el uso de heparina debido al riesgo de hemorragia.

Como se evidencia en la presente descripción, la administración de un compuesto de fórmula I inhibió significativamente el VTE en un modelo de tratamiento *in vivo* de formación de trombos bajo flujo sanguíneo continuo sin un riesgo aumentado de hemorragia. Los efectos del compuesto en este modelo de tratamiento son comparables con el estándar de cuidado que usa heparina LMW. Sin embargo, la heparina LMW es un anticoagulante conocido y retrasa la coagulación durante cuatro veces más que los tiempos de hemorragia del control. Como se describe además en la presente descripción, el compuesto de fórmula I solo retrasa levemente la coagulación y es una mejora significativa en la reducción del tiempo de hemorragia sobre la heparina LMW. Como consecuencia, los agentes descritos en la presente descripción pueden ser útiles cuando el riesgo de hemorragia no es significativo, pero además pueden ser útiles en una amplia variedad de situaciones cuando el riesgo de hemorragia es significativo, y particularmente cuando se contraíndica el uso de agentes antitrombóticos con propiedades anticoagulantes (tal como la heparina LMW).

Al menos uno (*es decir*, uno o más) de los agentes descritos anteriormente (*es decir*, un antagonista de E-selectina, tal como un compuesto glicomimético de fórmula (I)) puede administrarse en combinación con al menos un (*es decir*, uno o más) agente antitrombótico adicional. Un agente descrito en la presente descripción (*es decir*, un antagonista de E-selectina) puede funcionar independientemente del agente antitrombótico, o puede funcionar en coordinación con el agente antitrombótico. Además, la administración de uno o más de los agentes descritos en la presente descripción puede ser junto con una o más terapias diferentes, por ejemplo, para reducir las toxicidades de la terapia. Por ejemplo, puede administrarse al menos un agente paliativo para contrarrestar (al menos en parte) un efecto secundario de la terapia. Los agentes (químicos o biológicos) que promueven la recuperación, o contrarrestan los efectos secundarios de la administración de antibióticos o corticosteroides, son ejemplos de tales agentes paliativos. Al menos un agente descrito en la presente descripción puede administrarse antes, después o al mismo tiempo con la administración de al menos un agente antitrombótico adicional o al menos un agente paliativo para reducir un efecto secundario de la terapia. Cuando la administración es concurrente, la combinación puede administrarse de un solo contenedor o dos (o más) contenedores separados.

Una amplia variedad de individuos son candidatos para el tratamiento como en la presente descripción se describe. La formación de trombos puede ocurrir en bebés, niños, adolescentes y adultos. Un individuo puede tener una predisposición hereditaria a la trombosis. La trombosis puede iniciarse, por ejemplo, debido a una afección médica (tal como cáncer o embarazo), un procedimiento médico (tal como una cirugía) o una condición del medio (tal como inmovilidad prolongada). Otros individuos en riesgo de formación de trombos incluyen aquellos que se han presentado previamente con un trombo.

En modalidades particulares de los métodos descritos en la presente descripción, el sujeto es un animal humano o no humano. Un sujeto que necesita los tratamientos descritos en la presente descripción puede exhibir síntomas o secuelas de enfermedad, trastorno o afección de trombosis descritos en la presente descripción o puede estar en riesgo de desarrollar la enfermedad, trastorno o afección. Los animales no humanos que pueden tratarse incluyen mamíferos, por ejemplo, primates no humanos (*por ejemplo*, mono, chimpancé, gorila y similares), roedores (*por ejemplo*, ratas, ratones, jerbos, hámsters, hurones, conejos), lagomorfos, puercos (*por ejemplo*, cerdos, cerdos en miniatura), equinos, caninos, felinos, bovinos y otros animales domésticos, de granja y zoológico.

La eficacia de un compuesto, agente o composición farmacéutica descrita en la presente descripción para tratar o prevenir una enfermedad o trastorno o afección descrita en la presente descripción, y determinar y ajustar un régimen de dosificación apropiado (*por ejemplo*, ajustar la cantidad de compuesto por dosis y/o número de dosis y frecuencia de dosificación), puede fácilmente determinarse por un experto en las técnicas médicas y clínicas. Uno o cualquier combinación de métodos de diagnóstico, que incluyen el examen físico, la evaluación y el control de los síntomas clínicos, y la realización de pruebas y métodos analíticos descritos en la presente descripción, pueden usarse para controlar el estado de salud del sujeto.

25 Métodos para caracterizar los agentes terapéuticos

La caracterización de al menos una actividad biológica de un agente terapéutico descrito en la presente descripción puede determinarse realizando uno o más estudios in vitro e in vivo rutinariamente practicados en la técnica y descritos en la presente descripción o en la técnica. Los ensayos in vitro incluyen, sin limitación, ensayos de unión, inmunoensayos, ensayos de unión competitiva y ensayos de actividad basados en células. Además pueden realizarse estudios en modelos animales, que son típicamente estudios de animales roedores descritos en la técnica o desarrollados o adaptados rutinariamente por un experto en la técnica para caracterizar un agente, que incluye determinar la eficacia, in vivo. Los modelos animales de primates no humanos pueden usarse en estudios preclínicos que preceden a los estudios clínicos; sin embargo, estos modelos animales no se emplean típicamente de la misma manera rutinaria que los estudios en animales de roedores diseñados para evaluar la eficacia u otras características de un agente terapéutico. Las personas con experiencia en la técnica del diseño y ejecución de estudios en modelos animales además pueden determinar fácilmente los grupos de control apropiados para incluir con los estudios, así como determinar los análisis o análisis estadísticos apropiados para evaluar los datos.

Puede usarse un ensayo de inhibición para detectar antagonistas de E-selectina. Por ejemplo, puede realizarse un ensayo para caracterizar la capacidad de un compuesto u otro agente descrito en la presente descripción para inhibir (es decir, reducir, bloquear, disminuir o prevenir de una manera estadísticamente o biológicamente significativa) la interacción de E-selectina con sLe^a o sLe^x. El ensayo de inhibición puede ser un ensayo de unión competitiva, que permite la determinación de valores de IC₅₀. A modo de ejemplo, el método comprende inmovilizar la quimera E-selectina/Ig sobre una matriz (*por ejemplo*, una placa de múltiples pocillos, que se elabora típicamente a partir de un polímero, tal como poliestireno; un tubo de ensayo, y similares); añadir una composición para reducir la unión no específica (*por ejemplo*, una composición que comprende leche en polvo sin grasa o albúmina de suero bovino u otro tampón de bloqueo rutinariamente usado por una persona experta en la técnica); poner en contacto la E-selectina inmovilizada con el agente candidato en presencia de sLe^a que comprende un grupo reportero bajo condiciones y durante un tiempo suficiente para permitir que sLe^a se una a la E-selectina inmovilizada; lavar la E-selectina inmovilizada; y detectar la cantidad de sLe^a enlazada a E-selectina inmovilizada. Las variaciones de tales etapas pueden ser completadas de manera fácil y rutinaria por un experto en la técnica.

Una persona experta en la técnica además está familiarizada con los ensayos y modelos animales para evaluar si un antagonista de E-selectina está libre de propiedades anticoagulantes significativas. Por ejemplo, un ensayo que determina el tiempo requerido para formar un coágulo puede usarse para detectar o caracterizar la capacidad de un antagonista de E-selectina para retrasar significativamente la coagulación, en donde es deseable un agente que exhibe reducción, ausencia o falta de capacidad para retrasar la coagulación. A modo de ejemplo, los tiempos de hemorragia pueden evaluarse en roedores a los que se les inyecta un antagonista de E-selectina de prueba o un control, y los tiempos de hemorragia se registran después de cortar una vena de la cola y sumergir la cola en solución salina isotónica.

Las condiciones para un ensayo particular incluyen temperatura, tampones (que incluyen sales, cationes, medios) y otros componentes que mantienen la integridad de cualquier célula usada en el ensayo y el compuesto, lo que será familiar para un experto en la técnica y/o que pueda determinarse fácilmente. Un experto en la técnica además aprecia

fácilmente que pueden diseñarse e incluirse controles apropiados cuando se realizan los métodos in vitro y los métodos in vivo descritos en la presente descripción.

5 La fuente de un agente que se caracteriza por uno o más ensayos y técnicas descritos en la presente descripción y en la técnica puede ser una muestra biológica que se obtiene de un sujeto que se ha tratado con el agente. Las células que pueden usarse en el ensayo además pueden proporcionarse en una muestra biológica. Una "muestra biológica" puede incluir una muestra de un sujeto, y puede ser una muestra de sangre (a partir de la cual puede prepararse suero o plasma), una muestra de biopsia, uno o más fluidos corporales (por ejemplo, lavado pulmonar, ascitis, lavados de mucosas, líquido sinovial, orina), médula ósea, ganglios linfáticos, explante de tejido, cultivo de órganos o cualquier otro tejido o preparación celular del sujeto o una fuente biológica. Una muestra biológica puede referirse además a una preparación de tejido o célula en la que se ha alterado la integridad morfológica o el estado físico, por ejemplo, por disección, disociación, solubilización, fraccionamiento, homogeneización, extracción bioquímica o química, pulverización, liofilización, sonicación, o cualquier otro medio para procesar una muestra derivada de un sujeto o fuente biológica. En ciertas modalidades, el sujeto o fuente biológica puede ser un animal humano o no humano, un cultivo celular primario (por ejemplo, células inmunes), o una línea celular adaptada al cultivo, que incluye, pero no se limita a, líneas celulares genéticamente modificadas que pueden contener secuencias de ácidos nucleicos recombinantes episomales o integradas cromosómicamente, líneas celulares inmortalizadas o inmortalizables, líneas celulares híbridas de células somáticas, líneas celulares diferenciadas o diferenciables, líneas celulares transformadas y similares.

20 Ejemplos de modelos animales en la presente descripción se describen y en la técnica para determinar la eficacia de un antagonista de E-selectina. Numerosos modelos animales de cáncer se practican rutinariamente en la técnica. A modo de ejemplos no limitativos, están disponibles modelos de ALL, mieloma múltiple, AML y modelos de cáncer de tumor sólido para determinar la eficacia de un antagonista de E-selectina. Típicamente, los animales se injertan con una línea celular tumoral (tal como, sin limitación, una línea celular tumoral de mieloma múltiple, pancreático, de mama, colon, ovario, ALL, AML) y se administra un agente de interés antes del injerto, durante el crecimiento tumoral y/o después de que se haya establecido un tumor. Numerosos análisis estadísticos están disponibles y son entendidos por una persona experta en la técnica y pueden aplicarse para comparar el efecto de un agente con uno o más controles apropiados.

30 Composiciones farmacéuticas y métodos para usar composiciones farmacéuticas

Además en la presente descripción se describen composiciones farmacéuticas que comprenden uno o más de los agentes antagonistas de E-selectina descritos en la presente descripción, tales como uno o más de los compuestos glicomiméticos de fórmula I (y subestructuras y estructuras específicas de estos) descritos en la presente descripción. Los compuestos, anticuerpos aislados y otros antagonistas de E-selectina descritos en la presente descripción además pueden prepararse para uso farmacéutico en un sujeto, que incluye un sujeto humano. Los compuestos descritos en la presente descripción pueden formularse en una composición farmacéutica para uso en el tratamiento o tratamiento preventivo (o profiláctico) (por ejemplo, al reducir la probabilidad de aparición o exacerbación de una enfermedad, o de uno o más síntomas de la enfermedad). Los métodos y excipientes descritos en la presente descripción son ilustrativos y no son de ninguna manera limitantes. Se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto como se reivindica y un portador farmacéuticamente aceptable.

45 En formas de dosificación farmacéutica, uno o más de los compuestos glicomiméticos de fórmula I, subestructuras y estructuras específicas descritas en la presente descripción pueden administrarse en forma de un derivado farmacéuticamente aceptable, tal como una sal, o además pueden usarse solo o en asociación apropiada, así como en combinación, con otros compuestos farmacéuticamente activos. A modo de ejemplo, como en la presente descripción se describe con respecto a los métodos de uso, un antagonista de E-selectina puede administrarse a un sujeto que además está recibiendo quimioterapia, radioterapia, una combinación o quimioterapia y radioterapia.

50 Una cantidad eficaz o cantidad terapéuticamente eficaz se refiere a una cantidad de un compuesto glicomimético o una composición que comprende uno o más compuestos; o uno o más anticuerpos aislados (u otro agente antagonista de selectina E) que cuando se administra a un sujeto, como una dosis única o como parte de una serie de dosis, es eficaz para producir un efecto terapéutico deseado. Las dosis óptimas generalmente pueden determinarse usando modelos experimentales y/o ensayos clínicos. El diseño y la ejecución de estudios preclínicos y clínicos para cada uno de los agentes terapéuticos (que incluyen cuando se administran para beneficio profiláctico) descritos en la presente descripción están dentro de la experiencia de un experto en la técnica relevante. La dosis óptima de un agente terapéutico puede depender de la masa corporal, el peso o el volumen sanguíneo del sujeto. En general, la cantidad de un compuesto descrito en la presente descripción, que está presente en una dosis, oscila de aproximadamente 0,01 µg a aproximadamente 1000 µg por kg de peso del huésped. En general, la cantidad de un polipéptido o péptido, o un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de este, como en la presente descripción se describe, presente en una dosis, además oscila de aproximadamente 0,01 µg a aproximadamente 1000 µg por kg de sujeto. Por lo general, se prefiere el uso de la dosis mínima que sea suficiente para proporcionar una terapia eficaz. Los sujetos pueden monitorizarse generalmente con respecto a la eficacia terapéutica usando ensayos adecuados para la enfermedad o afección que se trata o previene, cuyos ensayos serán familiares para los expertos en la técnica y en la presente descripción se describen. El nivel de un compuesto o polipéptido que se administra a un sujeto puede controlarse determinando el nivel del compuesto, péptido, anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de este, o polipéptido (o un metabolito de cualquiera de las moléculas mencionadas anteriormente) en un fluido biológico, por ejemplo, en la sangre,

fracción de sangre (por ejemplo, suero), y/o en la orina, y/u otra muestra biológica del sujeto. Cualquier método practicado en la técnica para detectar la molécula puede usarse para medir el nivel de la molécula durante el transcurso de un régimen terapéutico.

5 La dosis de un compuesto, péptido, anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, o polipéptido descrito en la presente descripción puede depender de la condición del sujeto, es decir, etapa de la enfermedad, gravedad de los síntomas causados por la enfermedad, estado general de salud, así como también la edad, el sexo y el peso, y otros factores aparentes para un experto en la técnica médica. De manera similar, la dosis del agente terapéutico para tratar una enfermedad o trastorno puede determinarse de acuerdo con los parámetros entendidos para un experto en la técnica médica.

15 Las composiciones farmacéuticas pueden administrarse de una manera apropiada a la enfermedad o trastorno que se trata según lo determinen las personas con experiencia ordinaria en las técnicas médicas. Se determinará una dosis apropiada y una duración y frecuencia de administración adecuadas mediante los factores que se analizan en la presente descripción, que incluyen la condición del paciente, el tipo y la gravedad de la enfermedad del paciente, la forma particular del ingrediente activo y el método de administración. En general, una dosis apropiada (o dosis eficaz) y el régimen de tratamiento proporciona la(s) composición(es) farmacéutica(s) como en la presente descripción se describe en una cantidad suficiente para proporcionar un beneficio terapéutico y/o profiláctico (por ejemplo, un resultado clínico mejorado, tal como remisiones completas o parciales, más frecuentes, o una mayor supervivencia libre de enfermedad y/o total, o una disminución de la gravedad de los síntomas u otro beneficio como se describió en detalle anteriormente).

25 Las composiciones farmacéuticas descritas en la presente descripción pueden administrarse a un sujeto que lo necesite mediante una cualquiera de varias rutas que entregan eficazmente una cantidad eficaz del compuesto. Tales vías administrativas incluyen, por ejemplo, administración tópica, oral, nasal, intratecal, enteral, bucal, sublingual, transdérmica, rectal, vaginal, intraocular, subconjuntival, sublingual o parenteral, que incluyen inyección o infusión subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraesternal, intracavernosa, intrameatal o intrauretral. Las composiciones administradas por estas vías de administración y otras se describen en mayor detalle en la presente descripción.

30 Una composición farmacéutica puede ser una solución, suspensión o emulsión acuosa estéril o no acuosa estéril, que comprende adicionalmente un excipiente fisiológicamente aceptable (excipiente o portador farmacéuticamente aceptable o adecuado) (*es decir*, un material no tóxico que no interfiere con la actividad del ingrediente activo). Tales composiciones pueden estar en forma de un sólido, líquido o gas (aerosol). Alternativamente, las composiciones descritas en la presente descripción pueden formularse como un liofilizado, o los compuestos y polipéptidos o péptidos descritos en la presente descripción pueden encapsularse dentro de liposomas usando tecnología conocida en la técnica. Las composiciones farmacéuticas además pueden contener otros componentes, que pueden ser biológicamente activos o inactivos. Tales componentes incluyen, pero no se limitan a, tampones (*por ejemplo*, solución salina tamponada neutra o solución salina tamponada con fosfato), carbohidratos (*por ejemplo*, glucosa, manosa, sacarosa o dextranos), manitol, proteínas, polipéptidos o aminoácidos tales como glicina, antioxidantes, agentes quelantes tales como EDTA o glutatión, estabilizadores, colorantes, agentes aromatizantes y agentes de suspensión y/o conservantes.

45 Cualquier excipiente o portador adecuado conocido por los expertos en la técnica para su uso en composiciones farmacéuticas puede emplearse en las composiciones descritas en la presente descripción. Los excipientes para uso terapéutico son bien conocidos y se describen, por ejemplo, en Remington: *The Science and Practice of Pharmacy* (Gennaro, 21ra Ed. Mack Pub. Co., Easton, PA (2005)). En general, el tipo de excipiente se selecciona basado en el modo de administración, así como de la composición química del (de los) ingrediente(s) activo(s). Las composiciones farmacéuticas pueden formularse para cualquier forma de administración apropiada, que incluyen, por ejemplo, administración tópica, oral, nasal, intratecal, enteral, bucal, sublingual, transdérmica, rectal, vaginal, intraocular, subconjuntival, sublingual o parenteral, que incluyen la inyección o infusión subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraesternal, intracavernosa, intrameatal o intrauretral. Para la administración parenteral, el portador preferentemente comprende agua, solución salina, alcohol, una grasa, una cera o un tampón. Para la administración oral, pueden emplearse cualquiera de los excipientes anteriores o un excipiente o portador sólido, tal como manitol, lactosa, almidón, estearato de magnesio, sacarina sódica, talco, celulosa, caolín, glicerina, dextrinas de almidón, alginato de sodio, carboximetilcelulosa, etilcelulosa, glucosa, sacarosa y/o carbonato de magnesio.

55 Una composición farmacéutica (*por ejemplo*, para administración oral o suministro por inyección) puede estar en forma de un líquido. Una composición farmacéutica líquida puede incluir, por ejemplo, uno o más de los siguientes: un diluyente estéril tal como agua para inyección, solución salina, preferentemente solución salina fisiológica, solución de Ringer, cloruro de sodio isotónico, aceites fijos que pueden servir como disolvente o medio de suspensión, polietilenglicoles, glicerina, propilenglicol u otros disolventes; agentes antibacterianos; antioxidantes; agentes quelantes; tampones y agentes para el ajuste de la tonicidad, como el cloruro de sodio o la dextrosa. Una preparación parenteral puede encerrarse en ampollas, jeringas desechables o viales de dosis múltiples hechos de vidrio o plástico. Se prefiere el uso de solución salina fisiológica, y una composición farmacéutica inyectable es preferentemente estéril.

65 Para formulaciones orales, al menos uno de los agentes antagonistas de E-selectina descritos en la presente

descripción puede usarse solo o en combinación con aditivos apropiados para hacer tabletas, polvos, gránulos o cápsulas, por ejemplo, con uno o más aditivos convencionales, disgregantes, lubricantes, y si se desea, diluyentes, agentes tamponantes, agentes humectantes, conservantes, agentes colorantes y agentes saborizantes. Las composiciones pueden formularse para incluir un agente tamponante que proporciona protección del ingrediente activo desde un pH bajo del entorno gástrico y/o un recubrimiento entérico. Una composición puede formularse para administración oral con un agente saborizante, *por ejemplo*, en una formulación líquida, sólida o semisólida y/o con un recubrimiento entérico.

Las formulaciones orales pueden proporcionarse como cápsulas de gelatina, que pueden contener el compuesto activo o biológico junto con los portadores en polvo. Pueden usarse portadores y diluyentes similares para hacer tabletas comprimidas. Las tabletas y las cápsulas pueden fabricarse como productos de liberación sostenida para proporcionar la liberación continua de los ingredientes activos durante un período de tiempo. Las tabletas comprimidas pueden recubrirse con azúcar o recubrirse con una película para enmascarar cualquier sabor desagradable y proteger la tableta de la atmósfera, o recubrirse entéricamente para una desintegración selectiva en el tracto gastrointestinal.

Una composición farmacéutica puede formularse para liberación sostenida o lenta. Tales composiciones pueden prepararse generalmente usando tecnología bien conocida y administrarse mediante, por ejemplo, implantación oral, rectal o subcutánea, o mediante implantación en el sitio objetivo deseado. Las formulaciones de liberación sostenida pueden contener el principio terapéutico activo disperso en una matriz del portador y/o contenido dentro de un depósito rodeado por una membrana de control de la velocidad. Los excipientes para su uso dentro de tales formulaciones son biocompatibles y además pueden ser biodegradables; preferentemente la formulación proporciona un nivel relativamente constante de liberación de componente activo. La cantidad de compuesto activo contenido dentro de una formulación de liberación sostenida depende del sitio de implantación, la velocidad y la duración esperada de la liberación y la naturaleza de la afección que se trata o previene.

Las composiciones farmacéuticas descritas en la presente descripción pueden formularse como supositorios mezclando con una variedad de bases tales como bases emulsionantes o bases solubles en agua. Las composiciones farmacéuticas pueden prepararse como formulaciones de aerosol que se administran por inhalación. Las composiciones pueden formularse en propulsores presurizados aceptables tales como diclorodifluorometano, propano, nitrógeno y similares.

Uno o más de los agentes antagonistas de selectina E descritos en la presente descripción pueden administrarse por vía tópica (*por ejemplo*, mediante administración transdérmica). Las formulaciones tópicas pueden estar en forma de un parche transdérmico, ungüento, pasta, loción, crema, gel y similares. Las formulaciones tópicas pueden incluir uno o más de un agente penetrante o potenciador (además llamado potenciador de la permeación), espesante, diluyente, emulsionante, coadyuvante de dispersión o aglutinante. Los potenciadores de la penetración físicos incluyen, por ejemplo, técnicas electroforéticas tales como iontoforesis, uso de ultrasonidos (o "fonoforesis") y similares. Los potenciadores de la penetración químicos son agentes administrados ya sea antes, con o inmediatamente después de la administración de la terapia, que aumentan la permeabilidad de la piel, particularmente la capa córnea, para proporcionar una mayor penetración del fármaco a través de la piel. Se describen potenciadores de la penetración químicos y físicos adicionales en, por ejemplo, *Transdermal Delivery of Drugs*, A. F. Kydonieus (ED) 1987 CRL Press; *Percutaneous Penetration Enhancers*, eds. Smith y otros. (CRC Press, 1995); Lennerås y otros, *J. Pharm. Pharmacol.* 54:499-508 (2002); Karande y otros, *Pharm. Res.* 19:655-60 (2002); Vaddi y otros, *Int. J. Pharm.* 91:1639-51 (2002); Ventura y otros, *J. Drug Target* 9:379-93 (2001); Shokri y otros, *Int. J. Pharm.* 228(1-2):99-107 (2001); Suzuki y otros, *Biol. Pharm. Bull.* 24:698-700 (2001); Alberti y otros, *J. Control Release* 71:319-27 (2001); Goldstein y otros, *Urology* 57:301-5 (2001); Kijavainen y otros, *Eur. J. Pharm. Sci.* 10:97-102 (2000); y Tenjarla y otros, *Int. J. Pharm.* 192:147-58 (1999).

Se proporcionan kits con dosis unitarias de uno o más de los compuestos, polipéptidos, péptidos, aptámeros, anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de estos descritos en la presente descripción, usualmente en dosis orales o inyectables. Tales kits pueden incluir un contenedor que contiene la dosis unitaria, un prospecto informativo que describe el uso y los beneficios concurrentes del terapéutico en el tratamiento del estado patológico de interés, y opcionalmente un aparato o dispositivo para el suministro de la composición.

55 EJEMPLOS

Ejemplo 1

Síntesis del inhibidor de e-selectina

Los compuestos glicomiméticos ilustrativos se sintetizaron como se describe en este Ejemplo y como se muestra en los esquemas de síntesis ilustrativos que se exponen en las Figuras 1-2. Los compuestos que no entran dentro del alcance de las reivindicaciones se consideran ejemplos de referencia.

65 Síntesis del compuesto 2: El Compuesto 1 (60 g) se suspendió en H₂O (800 ml) y se enfrió a 0°C. Se añadió NaHCO₃ (120 g) sólido en porciones con agitación y después se añadió con agitación una solución de KI (474,3 g) e

5 I₂ (127 g) en H₂O (800 ml). La mezcla de reacción se agitó a la temperatura ambiente durante toda la noche en la oscuridad. La mezcla de reacción se extrajo después con CH₂Cl₂ (3 x 500 ml). La capa orgánica se lavó con una solución de Na₂S₂O₃ y (2x500 ml) después las capas acuosas combinadas se extrajeron con CH₂Cl₂ (2x300 ml). Se combinaron capas orgánicas (2100 ml) y se lavaron con H₂O (1x500 ml) fría y salmuera fría (1 x 500 ml). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró hasta sequedad para dar el compuesto 2 en forma de cristales de color amarillo claro (119 g). Pureza: >95% por TLC.

10 Síntesis del Compuesto 3: A una solución del compuesto 2 (119 g) en THF (1600 ml) se añadió DBU (119 ml) con agitación a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se calentó a reflujo suavemente durante toda la noche con agitación. Algunas formas precipitadas y TLC mostraron que no dejaron material de partida. La mezcla de reacción se concentró hasta sequedad y se disolvió en EtOAc (300 ml), se lavó con HCl 0,5 M (200 ml) hasta pH 2-3 del lavado acuoso, y después la capa orgánica se lavó adicionalmente con H₂O (200 ml). Se combinaron las capas acuosas y se extrajeron con EtOAc (3x200 ml) para producir una segunda capa orgánica. Las capas orgánicas combinadas (900 ml) se lavaron con salmuera, se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron hasta sequedad para dar el compuesto 3 15 (58 g). Pureza: >95% por TLC.

20 Síntesis del Compuesto 4: A una solución del compuesto 3 (58 g) en MeOH (800 ml) se añadió NaHCO₃ (47 g) con agitación. La mezcla de reacción se agitó a reflujo suave durante 3 h, se enfrió a temperatura ambiente, se filtró y se concentró hasta sequedad. El residuo se disolvió en EtOAc (300 ml) y se lavó con H₂O. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3x100 ml). Las capas orgánicas combinadas (600 ml) se lavaron con HCl 0,5 M (200 ml), H₂O (100 ml), y salmuera (100 ml), se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron hasta sequedad. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, Hexanos-EtOAc 3:1→3:2) para dar el compuesto 4 (54g). Pureza: >95% por TLC.

25 Síntesis del compuesto 5: El compuesto 4 (31g) se disolvió en tBuOMe (620 ml) y se añadió acetato de vinilo (166 ml) con agitación vigorosa. Se añadió Novozyme 435 (1,4 g) y se continuó la agitación vigorosa durante 5,5 h. La mezcla de reacción se filtró y almacenó a -20°C. Después de 12-18 horas, se añadió otro lote de resina Novozyme 435 (1,4 g) y se agitó vigorosamente durante 8 h. La resina se filtró y se concentró hasta sequedad. El residuo oleoso se purificó mediante el sistema CombiFlash® (sílice) usando 0 → 50% de EtOAc/Hexanos para dar el compuesto 5 (13,0 g).

30 Síntesis del Compuesto 6: El Compuesto 5 (13,5 g) se disolvió en CH₂Cl₂ (300 ml) bajo argón y se añadió TBDMS-Cl (26,4 g) con agitación a temperatura ambiente bajo argón. Se añadió DBU (32,4 ml) y se continuó agitando durante toda la noche a temperatura ambiente bajo argón. Se añadió MeOH (30 ml) y se lavó con una solución saturada fría de NaHCO₃ (200 ml), salmuera (150 ml). La capa orgánica se secó (Na₂SO₄), se filtró, y se concentró hasta sequedad. El residuo se purificó mediante el sistema CombiFlash® (SiO₂) usando disolvente EtOAc-Hexanos (0-15%) para dar el 35 compuesto 6 (18 g). Pureza >95% por TLC.

40 Síntesis del Compuesto 7: El Compuesto 6 (12g) se disolvió en CH₂Cl₂ (400 ml) y se enfrió a 0°C. Se añadió ácido m-cloroperbenzoico (77%, 19 g) y la solución se agitó durante algunas horas durante las cuales la temperatura de la mezcla de reacción alcanzó la temperatura ambiente. La agitación se continuó durante toda la noche a temperatura ambiente. Se añadió CH₂Cl₂ (300 ml) y se lavó con una solución saturada fría de NaHCO₃ (3x400 ml), salmuera (fría), se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró hasta sequedad. El residuo se purificó mediante el sistema CombiFlash® (SiO₂) usando EtOAc-Hexanos (0→30%) para dar el 7 (9g). Pureza: >95% por TLC.

45 Síntesis del Compuesto 8: Toda la operación de esta etapa se realizó en atmósfera de argón. Se secaron CuCN (9,42 g) a 160°C bajo vacío durante 40 min, se enfrió a temperatura ambiente y se suspendió en THF (80 ml). La mezcla se enfrió a -78°C. Durante este tiempo, tetravinilestano (12 ml) y n-BuLi en hexano (2,5 M, 100 ml) se hicieron reaccionar durante 30 minutos a 0°C en THF (30 ml). Esta solución se añadió a la mezcla de CuCN en THF, y la mezcla resultante se agitó durante 30 min. a -20°C. La mezcla se enfrió después a -78°C y se le añadió una solución de BF₃.Et₂O (6 ml) en THF (20 ml). La mezcla se agitó durante 20 min. a -78 ° C. Se añadió el compuesto 7 (5 g) en THF (40 ml) y la 50 mezcla de reacción se agitó a -78°C durante 5 h. Se añadieron MeOH (7 ml) y Et₃N (3 ml) y la mezcla se concentró hasta sequedad. El residuo se disolvió en EtOAc (200 ml) y se lavó con una solución saturada de NaHCO₃ (2x100 ml), salmuera (100 ml), se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró hasta sequedad. El residuo se purificó mediante el sistema CombiFlash® (SiO₂) usando disolvente EtOAc-Hexanos (0→5%) para dar el compuesto 8 (2,5 g).

55 Síntesis del Compuesto 10: El Compuesto 8 (2,25 g, 7 mmol) se disolvió en tolueno (7 ml) y el disolvente se evaporó. El proceso se repitió dos veces y finalmente se secó al vacío durante 15 minutos. El residuo se disolvió en CH₂Cl₂ (45 ml) y se añadió DMF (45 ml). La solución se agitó en atmósfera de argón a temperatura ambiente y se añadieron tamices moleculares (3 g, 4Å, en polvo y secados en llama). Se añadió Et₃NBr (3,3 g, 15,7 mmol, 2,2 equivalentes, se secó a 200°C durante 2 h) y la agitación durante 1 h a temperatura ambiente bajo argón.

60 El Compuesto 9 (5,13 g, 10 mmol, 1,42 equivalentes) se evaporó conjuntamente con tolueno (3x20 ml), se secó al vacío y se disolvió en CH₂Cl₂ (45 ml). La mezcla de reacción se colocó en un baño de hielo y se agitó durante 10 minutos. A esta solución se añadió Br₂ (0,8 ml, 15 mmol, 1,5 equivalentes) gota a gota con agitación en el baño de hielo. La 65 agitación se continuó durante 40 minutos a la misma temperatura. Se retiró el baño de hielo y se añadió ciclohexano (2,1 ml) lentamente con agitación después de 10 minutos. La mezcla de reacción se agitó durante 10 minutos y se añadió lentamente a la mezcla de reacción anterior con agitación a temperatura ambiente bajo argón. Se continuó la

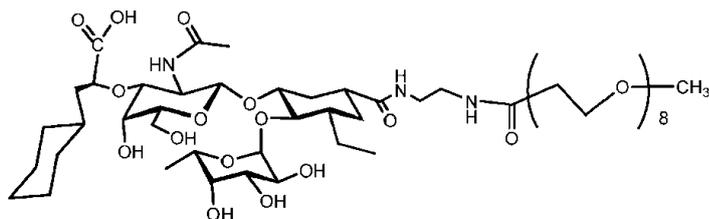
- agitación durante 17 h y después se añadió piridina (4 ml), se filtró y el filtrado se concentró hasta sequedad. El residuo se disolvió en CH₂Cl₂ (100 ml) y se transfirió a un embudo de decantación. La capa orgánica se lavó con salmuera fría (2x75 ml), se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró hasta sequedad, se coevaporó con tolueno (3x50 ml) y se secó a vacío. El residuo se disolvió en THF (8 ml) y se añadió una solución de TBAF (1 M en THF, 10 ml, 10 mmol, 1,42 equivalentes) con agitación a temperatura ambiente. Se continuó la agitación durante 15 h y el disolvente se evaporó. El residuo se disolvió en CH₂Cl₂ (100 ml) y se transfirió a un embudo de decantación, se lavó con salmuera fría (2x75 ml), se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró hasta sequedad. El residuo se purificó por cromatografía en columna (Hexanos-acetato de etilo desde 100% de hexanos hasta 70% de hexanos en EtOAc) para dar el compuesto 10 (1,6 g, 2,59 mmol, 37% global en dos etapas). TLC: EtOAc 5% en hexanos y EtOAc 33% en hexanos.
- Síntesis del Compuesto 12: El compuesto 11 comercialmente disponible (10 g) se secó durante toda la noche a vacío durante toda la noche y se añadió a una solución de NaOMe (5 M, 10 ml) en MeOH (200 ml) con agitación a temperatura ambiente bajo argón. Se continuó la agitación durante toda la noche a temperatura ambiente de argón, y se añadió Et₃N (7 ml) seguido de cloroforniato de alilo (3,5 ml) gota a gota. Se continuó agitando durante 6 h a temperatura ambiente bajo argón. La mezcla de reacción se concentró hasta sequedad y se disolvió en piridina (100 ml). Se añadió Ac₂O (50 ml) a temperatura ambiente bajo argón y se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. La mezcla de reacción se concentró hasta sequedad y se purificó por cromatografía en columna en un sistema CombiFlash® usando EtOAc-Hexanos (0-100%). Las fracciones deseadas se recogieron y se concentraron hasta sequedad para dar el Compuesto 12 (10,2 g).
- Síntesis del Compuesto 13: El Compuesto 12 (7,5 g) se disolvió en DMF (140 ml) al que se añadió NH₄OAc (4,05 g) con agitación. Se continuó agitando durante toda la noche a temperatura ambiente bajo argón. Al otro día la mezcla de reacción se agitó bajo argón a 50°C durante 8 h. La mezcla de reacción se concentró hasta sequedad y el residuo se disolvió en EtOAc (150 ml), se lavó con salmuera (100 ml), se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró hasta sequedad. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, Hexanos-EtOAc 2:1 → 1:2) para dar el Compuesto 13 (6g).
- Síntesis del Compuesto 14: El compuesto 13 (6 g) se disolvió en CH₂Cl₂ (50 ml) a lo que se añadió CCl₃CN (6 ml) y DBU (0,5 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 0,5 h, el disolvente se evaporó y el residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice) para dar el Compuesto 14 (4,5 g).
- Síntesis del Compuesto 15: El compuesto 10 (2g) y el compuesto 14 (2,1 g) se disolvió en CH₂Cl₂ (40 ml). A esta solución se añadieron tamices moleculares (4Å, 0,8 g) y se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. La solución después se enfrió a 0°C y se añadió BF₃Et₂O (0,25 ml disuelto en 5 ml) con agitación a 0°C. La mezcla de reacción se agitó a 0°C durante 2 h. Se añadió Et₃N (0,5 ml) y el disolvente se evaporó. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice) para dar el compuesto 15 (1,8g).
- Síntesis del compuesto 16: El compuesto 15 (1,7 g) se trató con 0,01N NaOMe en MeOH (10ml) durante 2h y se neutralizó con resina IR-120 (H⁺), se filtró y se concentró hasta sequedad para dar el Compuesto 16 (1,25 g).
- Síntesis del Compuesto 17: A una solución del compuesto 16 (1,2 g) en CH₃CN (30 ml) se añadió Et₃N (0,28 ml) y se enfrió a 0°C. A esta solución se añadió BzCN (0,35 mg en 10 ml de CH₃CN) gota a gota durante 20 minutos a 0°C. La mezcla de reacción se agitó durante 1 h a 0°C y se concentró hasta sequedad. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice) para dar el compuesto 17 (0,95 g).
- Síntesis del compuesto 19: El compuesto 17 (0,9 g) se disolvió en MeOH (12 ml). A esta solución se añadió Bu₂SnO (0,4 g) y la mezcla se reflujo durante 2 h. El disolvente se evaporó y el disolvente residual se coevaporó con tolueno 3 veces. El residuo se disolvió en dimetoxietano (15 ml). A esta solución se añadió CsF (0,8 g) y el compuesto 18 (2,1 g, sintetizado como se describió previamente, *J. Med. Chem.* 42:4909, 1999). La mezcla de reacción se agitó durante toda la noche a temperatura ambiente, y el disolvente se evaporó. El residuo se purificó por cromatografía en columna para dar el compuesto 19 (0,8g).
- Síntesis del compuesto 20: El compuesto 19 (0,7g) se disolvió en CH₂Cl₂ (20 ml). A esta solución se añadió Pd(Ph)₄ (0,14 g), Bu₃SnH (0,15 ml), y Ac₂O (0,3 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. El disolvente se evaporó y el residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice) para dar el compuesto 20 (0,5 g).
- Síntesis del Compuesto 21: A una solución del compuesto 20 (0,45 g) en dioxano-H₂O-AcOH (10:2:1, 2,6 ml) se añadió Pd-C 10% (0,15 g), y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente bajo presión positiva (20 psi) de hidrógeno durante 5 h. El sólido se filtró, y el filtrado se concentró hasta sequedad. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice) para dar el compuesto 21 (0,3 g).
- Síntesis del Compuesto 22: El compuesto 21 (0,28 g) se trató con NaOMe 0,025 N en MeOH (5 ml) durante 4 h, se neutralizó con resina IR-120 (H⁺), se filtró y el filtrado se concentró hasta sequedad para dar el compuesto 22 (0,21 g).
- Síntesis del Compuesto 23: El compuesto 22 (0,18 g) se disolvió en etilendiamina (2 ml) y se agitó a 80°C durante 8 h. El disolvente se evaporó y el residuo se purificó usando cartuchos Sep-Pak C18 para dar el compuesto 23 (0,15 g).

Síntesis del Compuesto 25: El compuesto 23 (200 mg) se disolvió en 1 mL de DMF. A esta solución se añadió el compuesto 24 comercialmente disponible (400 mg). Se añadió trietilamina (100 μ L) gota a gota a la mezcla de reactivos de la reacción para ajustar el pH a 10. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Después de la evaporación hasta sequedad, el residuo se purificó por HPLC para proporcionar el compuesto 25 (200 mg). Ver la Figura 1D.

Síntesis del compuesto 45: El compuesto 25 (300 mg) se disolvió en 3 mL de DMF. Se añadieron diisopropiletilamina (60 μ L) y HATU (131 mg) a temperatura ambiente. Después de agitar durante 5 minutos, se añadió dimetilamina (2,3 ml, solución 2 M en THF) gota a gota. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla de reacción se concentró hasta sequedad *al vacío*. El residuo se disolvió en agua y se cargó en un cartucho C-18 de 10 g. La elución con agua seguido de 1/1 de agua/MeOH proporcionó el compuesto 45 (100mg). m/z calculado para $C_{62}H_{114}N_4O_{26}$ = 1330,8. Encontrado = 1353,6 (M+Na). 1H NMR 400MHz (D_2O , ajustado a 4,80ppm) δ 0,87 (t, J = 7,6Hz, 3H), 0,94-0,99 (m, 2H), 1,20-1,25 (m, 4H), 1,25 (d, J = 6,4Hz, 3H), 1,26-1,45 (m, 4H), 1,52-1,73 (m, 6H), 1,79-1,88 (m, 3H), 2,00 (s, 3H), 2,11-2,19 (br d, 1H), 2,33 (tt, J = 12,4Hz, J = 3,2Hz, 1H), 2,53 (t, J = 6,4Hz, 2H), 2,95 (s, 3H), 3,06 (s, 3H), 3,28 (t, J = 12,5Hz, 1H), 3,31-3,38 (m, 8H), 3,51-3,54 (m, 2H), 3,61 (dd, J = 8,0Hz, J = 0,8Hz, 1H), 3,63 (dd, J = 8,0Hz, J = 2,0Hz, 1H), 3,70 (s, 44H), 3,73-3,76 (m, 1H), 3,78 (t, J = 6,0Hz, 1H), 3,81-3,82 (m, 1H), 3,88 (dd, J = 8,0Hz, J = 3,6Hz, 1H), 3,99 (bs, 1H), 4,54 (dd, J = 8,8Hz, J = 2,0Hz, 2H), 4,91 (q, J = 6,8Hz, 1H), 5,04 (d, J = 3,6Hz, 1H).

Síntesis del Compuesto 26: El compuesto 26 se sintetizó como se describió para el compuesto 25 (ver la Figura 1D), excepto que el reactivo PEG tuvo una n de 8 (es decir, 8 unidades de repetición de PEG) en lugar de 12 como para la síntesis del compuesto 25.

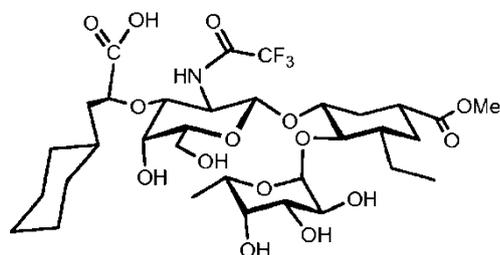
Compuesto 26:



m/z calculado para $C_{52}H_{93}N_3O_{23}$ = 1127,6. Encontrado = 1151,6 (M+Na). 1H NMR 600MHz (D_2O , ajustado a 4,67ppm) δ 0,71(t, J = 7,2Hz, 3H), 0,76 (br quin, J = 12,0Hz, 2H), 0,99-1,06 (m, 4H), 1,08 (d, J = 6,6Hz, 3H), 1,15-1,19 (br quin, J = 6,6Hz, 1H), 1,21-1,25 (m, 2H), 1,39-1,48 (m, 5H), 1,50-1,60 (m, 3H), 1,70 (br d, J = 10,2Hz, 2H), 1,91 (s, 3H), 1,99 (m, 1H), 2,16 (br t, J = 12,6Hz, 1H), 2,36 (t, J = 6Hz, 2H), 3,11-3,15 (m, 2H), 3,18 (t, J = 9,6Hz, 3H), 3,22 (s, 3H), 3,38 (dd, J = 7,8Hz, J = 4,2Hz, 2H), 3,46 (dd, J = 4,2Hz, 1H), 3,47 (s, 1H), 3,52-3,55 (m 27H), 3,56-3,59 (m, 3H), 3,61-3,64 (m, 3H), 3,65 (d, J = 3,6Hz, 1H), 3,72 (dd, J = 10,2Hz, J = 3,0Hz, 1H), 3,80 (d, J = 2,4Hz, 1H), 3,85 (br s, 1H), 3,94 (dd, J = 9,6Hz, J = 3,6Hz, 1H), 4,36 (br s, 1H), 4,77 (q, J = 6,6Hz, 1H), 4,88 (d, J = 4,2Hz, 1H).

Síntesis del Compuesto 27: El compuesto 27 se sintetizó como se describió en la Figura 2.

Compuesto 27:



Síntesis del Compuesto 27A: El compuesto 19 (0,05g) se disolvió en CH_2Cl_2 (10 ml). A esta solución se añadió $Pd[(Ph_3P)_4]$ (5 mg), Bu_3SnH (0,0011 ml), y $(CF_3CO)_2O$ (0,0015 ml) con agitación a temperatura ambiente. Se continuó agitando durante 30 minutos a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se evaporó hasta sequedad bajo presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice) para dar el compuesto 27A (0,030g).

El compuesto 27A (0,025 g) se sometió a hidrogenación con Pd-C al 10% exactamente de la misma manera que se describió para el compuesto 21 y el disolvente se evaporó después de filtrar el catalizador. El residuo se trató con NaOMe en MeOH como se describió para el compuesto 22, se neutralizó con resina IR-120 (H+), se filtró y el disolvente

se evaporó. El residuo se purificó por HPLC de fase reversa (C18) para dar el compuesto 27 (7 mg). m/z calculado para $C_{33}H_{52}F_3NO_{15}$ = 759,3. Encontrado = 782,3 (M+Na).

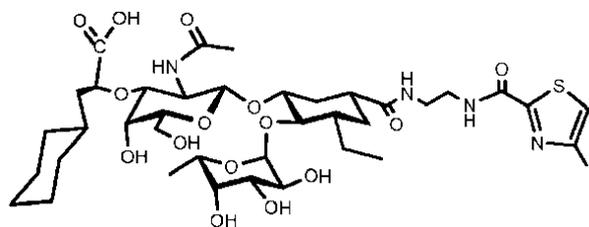
Síntesis del Compuesto 28:

5

Compuesto 28:

10

15



Esquema de síntesis para el Compuesto 28:

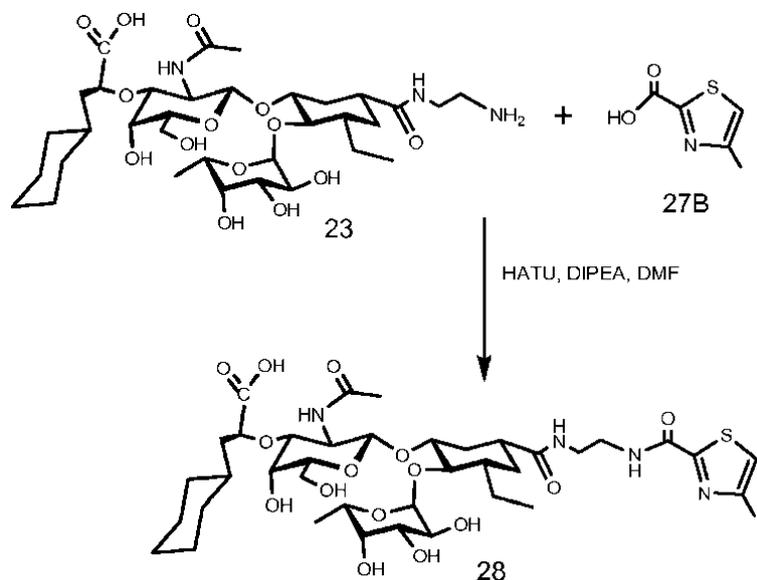
20

25

30

35

40



Síntesis del Compuesto 28: El compuesto 27B disponible comercialmente (0,014 g) se disolvió en DMF (1 ml). A esta solución se añadió DIPEA (0,00175 ml) y HATU (0,038 g) y la mezcla de reacción se agitó durante 2 minutos a temperatura ambiente. El Compuesto 23 se añadió (0,035g) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. El disolvente se evaporó y el residuo se purificó por HPLC (C18) para dar el compuesto 28 (17 mg).

45

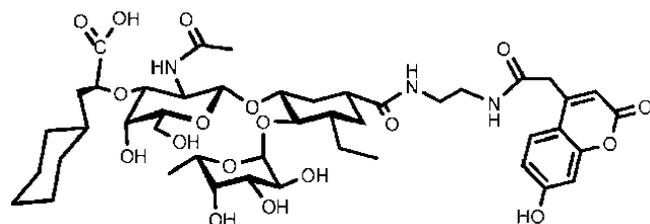
Síntesis del compuesto 29:

50

Compuesto 29:

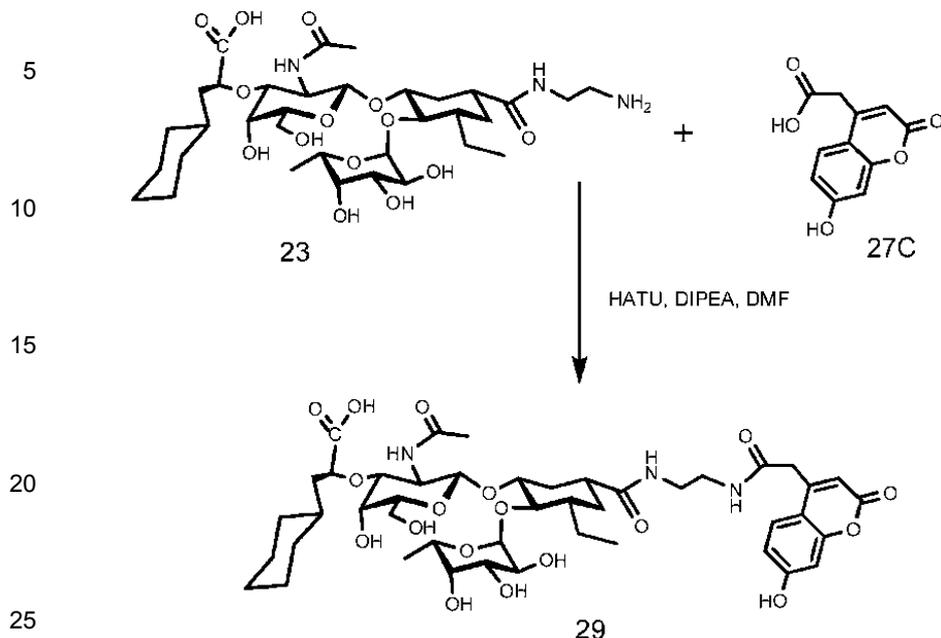
55

60



65

Esquema de síntesis para el compuesto 29:



El compuesto 27C disponible comercialmente (0,021 g) se hizo reaccionar con el compuesto 23 (0,035 g) exactamente de la misma manera que se describió para el compuesto 28 y se purificó por HPLC (C18) para dar el compuesto 29 (0,020 g).

30

Ejemplo 2

Actividad de E-selectina - ensayo de unión

35

El ensayo de inhibición para tamizar y caracterizar los antagonistas glicomiméticos de E-selectina es un ensayo de unión competitiva, que permite la determinación de los valores de IC_{50} . Se inmovilizó la quimera de E-selectina/Ig en placas de microtitulación de 96 pocillos por incubación a 37°C durante 2 horas. Para reducir la unión no específica, se añadió albúmina de suero bovino a cada pocillo y se incubó a temperatura ambiente durante 2 horas. La placa se lavó y se añadieron diluciones en serie de los compuestos de prueba a los pocillos en presencia de conjugados de poli(acrilamida sLe^a biotinilada con estreptavidina/peroxidasa de rábano picante y se incubaron durante 2 horas a temperatura ambiente.

40

Para determinar la cantidad de sLe^a unida a E-selectina inmovilizada después del lavado, se añadió el sustrato de peroxidasa, 3,3',5,5' tetrametilbenzidina (TMB). Después de 3 minutos, la reacción enzimática se detuvo mediante la adición de H₃PO₄, y se determinó la absorbancia de la luz a una longitud de onda de 450 nm. Se determinó la concentración del compuesto de ensayo requerido para inhibir la unión en un 50% y se reportó como el valor de IC_{50} para cada antagonista de selectina E glicomimética como se muestra en la tabla más abajo.

45

En la siguiente tabla se proporcionan los valores de IC_{50} para los compuestos ilustrativos descritos en la presente descripción.

50

Actividad antagonista de E-Selectina de los compuestos glicomiméticos

55

Compuesto	IC_{50} (μ M)
22	<4,0
27	<4,0
29	<4,0
25	<4,0
28	<4,0
45	<4,0

60

65

Además de reportar el valor de IC₅₀ absoluto medido anteriormente, los valores de IC₅₀ relativos (rIC₅₀) se determinan mediante una relación de la IC₅₀ medida para el compuesto de prueba con la de un control interno (referencia) establecido para cada ensayo.

- 5 La sustitución del grupo metilo en la posición R³ del compuesto 22 con un grupo trimetilfluoro (-CF₃) no alteró significativamente la actividad antagonista de E-selectina del compuesto 22; sin embargo, la sustitución aumentó la hidrofobicidad de la molécula, mejorando de ese modo la biodisponibilidad del compuesto glicomimético.

Ejemplo 3

10

Efectos del tratamiento con un antagonista específico de E-selectina (compuesto 25) en un modelo animal de leucemia.

15 El ligando de E-selectina HCELL (ligando E-/L-selectina de células hematopoyéticas) se expresa por las células madre hematopoyéticas normales (Merzaban y otros, *Blood* 118(7):1774-83 (2011)) como una glicofoma funcional de CD44. La expresión de CD44 de alto nivel (99%± 1,4%) además se ha observado por blastos de 55 pacientes con leucemia mieloide aguda (AML) (*es decir*, blastos de AML) y por supuestas células madre leucémicas CD34⁺CD38⁻CD123⁺ (las LSC) (99,8 % ± 0,6%). La intensidad de fluorescencia media (MFI) para la expresión de CD44 por blastos de AML fue de uno a dos registros más altos que el MFI para otros 16 receptores de adhesión. La mayoría de los blastos de pacientes con AML además expresan un ligando de E-selectina por citometría de flujo: > 75 % de 22 muestras de blastos primarias seleccionadas exhiben ≥10% de unión de proteína quimérica E selectina-IgG con una media de 22,7% ± 0,17% SD, intervalo 1,8 a 66,2%. El ligando se identificó como HCELL por inmunoprecipitación de CD44 a partir de membranas celulares de AML, seguido de tinción con el anticuerpo HECA 452 que reconoce un dominio de trisacárido funcional compartido por Le^ay sialil Le^x y se conoce que se une a E-selectina. HECA 452 detectó la glicofoma funcional de CD44 conocida como HCELL, un ligando principal para la E-selectina, y además se identificó el receptor de referencia de linfocito humano CLA (antígeno de linfocito cutáneo).

20 HECA 452 marcó 5 de 6 poblaciones de blastos de leucemia de pacientes, con una expresión media del 59,0% ± 24,8%. El anticuerpo HECA 452 marcó las LSC CD34⁺CD38⁻CD123⁺ además de blastos leucémicos con un porcentaje de expresión más alto en la mayoría de los casos para las LSC que la correspondiente población de blastos no fraccionada. HECA 452 además marcó 94% de células AML humanas que se habían injertado en serie en animales NODscid IL2Rgc^{-/-} cumpliendo la definición funcional de las LSC (células repobladoras de scid), lo que sugiere que HCELL puede enriquecerse en las LSC. Se observó un cambio en la morfología de los blastos de AML cuando las células se unieron al plástico recubierto con E-selectina. Los blastos de AML se alargaron y se volvieron más cuboidales y menos reflectantes a diferencia de las células no adherentes, que permanecieron redondas y refráctiles. Los blastos de AML parecen unirse a los extremos alargados de las células endoteliales en forma de huso. El compuesto 25 (concentración 20 μM) inhibió la adhesión de células de AML humanas primarias a E-selectina en un promedio de 45,0% ± 9,1% de SD de muestras de todos los pacientes. Para un paciente, por ejemplo, el por ciento de inhibición con el Compuesto 25 en comparación con el control medio fue 33,4%± 15,3% SD, p = 0,00018.

30 La adhesión a E-selectina no confirió resistencia a la quimioterapia mediada por adhesión a daunorrubicina o citarabina observada con adhesión al péptido de fibronectina recombinante o VCAM-1 (*ver* Becker y otros, *Blood* 113(4):866-74 (2009)). Demostramos que un compuesto glicomimético doble inhibidor de E-selectina y CXCR4 (*ver* publicación de solicitud de patente de los Estados Unidos núm. 2010/0279965) movilizó AML humana injertada en ratones NODscid IL2Rgc^{-/-} (*ver* Chien y otros, Resumen 579, en la Sociedad Americana de Hematología, 53^a Reunión y Exposición Anual de ASH, San Diego, CA; 10-13 de diciembre de 2011; *Blood*, Volumen 118, Tema 21) para un grado mayor que el observado con el inhibidor CXCR4 plerixafor (*ver* Chien y otros Resumen 1432, en la Sociedad Americana de Hematología, 53 Reunión y Exposición Anual de ASH, San Diego, CA; 10-13 de diciembre de 2011) solo (3-4 veces contra aproximadamente 2 veces). El Compuesto 25 antagonista de E-selectina (40 mg/kg) movilizó tanto células humanas como murinas en ratones de xenoinjerto inmunodeficientes injertados con AML humana. Se observó un aumento de 2 veces en WBC (p=0,00067) y un aumento de 2 veces en células de AML humanas (p=0,14) a las 3 h.

35 En otro experimento, los ratones se injertaron con blastos de AML humanos y se trataron con el Compuesto 25 en combinación con daunorrubicina y citarabina (araC) o con daunorrubicina y citarabina solamente. Cuando las células AML comprendieron aproximadamente el 10% de las células en la sangre, se trataron los ratones. Se administró el Compuesto 25 en los Días 1, 2 y 3, grupos de animales (cuatro por grupo) a 40 mg/kg dos veces al día. El día 1, tres horas después del primer tratamiento de los animales con el compuesto 25, se administraron daunorrubicina (3 mg/kg) y araC (300 mg/kg). En los días 2 y 3, tres horas después de la primera dosis de Compuesto 25, solo se administró araC (300 mg/kg). El Compuesto 25 y los fármacos quimioterapéuticos se administraron por vía intraperitoneal. Un segundo grupo de ratones recibió daunorrubicina y araC solamente. La carga tumoral se midió en la médula ósea, la sangre y el bazo.

40 La combinación del Compuesto 25 con los dos agentes quimioterapéuticos resultó en un mayor agotamiento de la AML humana de la médula ósea (22% como muchas células AML) y bazo (31% como muchas células AML) que la observada con daunorrubicina y citarabina en ausencia del Compuesto 25. Sin estar sujeto a ninguna teoría particular, la residencia de la AML humana en el nicho vascular de la médula ósea puede implicar a la E-selectina, y la migración de blastos de AML puede implicar interacciones con el endotelio vascular a través de la E-selectina. *Ver* además Chien

65

y otros, Póster 4092 en la Sociedad Americana de Hematología, 54ta Reunión y Exposición Anual de ASH, Atlanta, GA del 8-11 de diciembre de 2012; Blood, Volume 120, Issue 21.

Ejemplo 4

Efectos del tratamiento con un antagonista específico de e-selectina en un modelo animal de leucemia linfoblástica aguda (all)

Se determina la eficacia de un antagonista de E-selectina en un modelo animal de ALL. Los experimentos se diseñan de acuerdo con los métodos rutinariamente practicados en la técnica con respecto a la elección de una línea celular de ALL, número de animales por grupo, programa de dosificación y administración de los grupos de prueba y controles, y métodos analíticos estadísticos. Por ejemplo, las células de ALL Nalm-6 se etiquetan con proteína fluorescente verde (GFP) o DiD (un colorante fluorescente de carbocianina) y después se injertan en ratones (1×10^6 células por ratón). Aproximadamente una semana después de la administración de las células etiquetadas a los animales, los grupos de ratones (6 por grupo) se tratan de la siguiente manera. Grupo 1 (Control) recibe solamente el vehículo (PBS). Cada animal en el Grupo 2 recibe un antagonista de E-selectina (*por ejemplo*, Compuesto 25 (40 mg/kg)) diariamente los días 1, 2, y 3. Los animales en el Grupo 3 reciben un fármaco quimioterapéutico (*por ejemplo*, doxorubicina (DOX) (2 mg/kg)) diariamente los días 1, 2 y 3 (denominada Dosis 1). Los ratones del Grupo 4 reciben cada uno el Compuesto 25 (40 mg/kg) tres horas antes de la administración de DOX (2 mg/kg) una vez al día los días 1, 2 y 3. El Grupo 5 recibe DOX a una dosis de 3 mg/kg al día los días 1, 2 y 3 (llamada Dosis 2). En el Grupo 6, cada animal recibe el Compuesto 25 (40 mg/kg) tres horas antes de la administración de DOX (3 mg/kg) una vez al día los días 1, 2 y 3. Los ratones se observan durante hasta dos meses. La supervivencia, las células leucémicas circulantes y la carga leucémica en la médula ósea se determinan durante el período de observación. El número de células leucémicas circulantes se determina por citometría de flujo in vivo. La microscopía intravital se realiza para determinar la carga leucémica en la médula ósea.

Ejemplo 5

Efectos del tratamiento con un antagonista específico de e-selectina en un modelo animal de cáncer de páncreas

Se determina la eficacia de un antagonista de E-selectina en un modelo animal de cáncer de páncreas. El páncreas de ratones nu/nu atímicos machos (4-6 semanas de edad) se inyecta ortotópicamente con células de cáncer de páncreas S2.013. Seis grupos de animales (*por ejemplo*, 15 ratones por grupo) reciben los siguientes tratamientos comenzando aproximadamente 7 días después de la inyección de las células de cáncer de páncreas. Alternativamente, los animales reciben tratamientos cuando los tumores pequeños son perceptibles. Grupo 1 (Control) recibe solamente el vehículo (PBS). El grupo 2 recibe gemcitabina dos veces a la semana (2/semana) durante cuatro semanas. El Grupo 3 recibe un antagonista de E-selectina (*por ejemplo*, el Compuesto 25 (40 mg/kg)) dos veces al día (BID) durante cuatro semanas. El Grupo 4 recibe el Compuesto 25 (40 mg/kg) una vez al día (qD) durante cuatro semanas. El Grupo 5 recibe gemcitabina en combinación con el Compuesto 25 BID. El Grupo 6 recibe gemcitabina (dosificada dos veces al día durante cuatro semanas) en combinación con el Compuesto 25, que se administra una vez al día. La carga del tumor se determina por ultrasonido o por imágenes con 2-desoxiglucosa (2DG). Los animales se sacrifican aproximadamente 4 semanas después del tratamiento.

Ejemplo 6

Efectos del tratamiento con un antagonista específico de e-selectina (compuesto 25) en un modelo animal de tromboembolismo venoso (vte)

Modelo animal

La mayoría de los modelos animales de tromboembolismo venoso no prueban los compuestos bajo flujo sanguíneo continuo, sino que más bien inducen trombosis mediante ligadura o cateterización con balón. Se desarrolló un modelo clínicamente más relevante en el que la lesión se induce transitoriamente en presencia de flujo sanguíneo continuo y exposición a niveles sanguíneos normales de compuesto de prueba circulante (*ver, por ejemplo*, Diaz y otros, Thromb. Haemot. 104: 366-375 (2010)). Se implanta un microelectrodo en la vena cava inferior y se aplica una corriente de 250 uAmps durante 15 minutos. La disfunción endotelial típica encontrada en la enfermedad venosa se demostró mediante microscopía electrónica, inmunohistoquímica, recuentos de células inflamatorias y biomarcadores de trombosis. La imagen de ultrasonido detectó además la formación de trombos en tiempo real bajo flujo sanguíneo (*ver, por ejemplo*, Diaz y otros, *más arriba*).

Ratones C57BL/6J machos se sometieron a un modelo electrolítico de vena cava inferior (IVC) para producir una trombosis no oclusiva mediante estimulación eléctrica (250 μ Amp). Los animales se dividieron en grupos profilácticos o de tratamiento. Ambos grupos incluyeron lo siguiente: animales sin trombosis (TC, sin cirugía o fármaco), simulación día 2 (aguja dentro de la IVC y sin corriente o fármaco), CTR día 2 (sin tratamiento: corriente y sin fármaco), Compuesto 25 día 2 (10 mg/kg IP BID) y heparina de bajo peso molecular (LMWH) (LOVENOX®, 6 mg/kg por vía subcutánea una vez al día). Los animales se dividieron en grupos profilácticos o de tratamiento. Los ratones en el grupo profiláctico se

dosificaron un día antes de la inducción de trombo a lo largo de todo el día 1. Los animales en los grupos de tratamiento recibieron la primera dosis del fármaco después de la inducción del trombo en el día 1. Los ratones se sacrificaron 2 días después de la trombosis para la extracción de tejido y la recolección de sangre para las siguientes evaluaciones: peso del trombo; recuentos de células inflamatorias de la pared venosa por campo de alta potencia; histología del trombo de la pared venosa; y recuentos de células polimorfonucleares (PMN) intratrombos. Un grupo separado de ratones recibió la administración IV de compuestos para la evaluación del tiempo de hemorragia de la cola (segundos).

Se indujo el trombo en la vena cava inferior de los ratones como se describió anteriormente en el modelo electrolítico de la vena cava inferior (EIM). Después de la lesión, el antagonista específico de la E-selectina, se administró el compuesto 25 (Ejemplo 1), como un tratamiento dos veces al día a 10 mg/kg. Otro cohorte de ratones recibió heparina de bajo peso molecular (heparina LMW) (Lovenox, una vez al día, 6 mg/ml). Como se hizo notar anteriormente, en el segundo día después de la inducción del trombo, se extrajo y se pesó la vena cava inferior. No se implantaron electrodos en los ratones de control. Se implantaron electrodos pero ningún amperaje se suministró en la vena cava inferior de ratones del cohorte de simulación. Como se muestra en la Figura 4, el tratamiento con el Compuesto 25 a 10 mg/kg después de la lesión, disminuyó significativamente la formación de trombos venosos (Compuesto 25 vs. sin tratamiento, $P = 0,0271$) al igual que la heparina LMW (heparina LMW vs. sin tratamiento, $P = 0,0203$). Todos los ratones pretratados profilácticamente con el Compuesto 25 o las LMWH siguieron el mismo patrón de disminución del peso del trombo, 2 días después de la lesión ($P < 0,05$).

Ejemplo 7

Efecto del compuesto 25 en el tiempo requerido para formar un coágulo

Para comparar las propiedades anticoagulantes de la heparina LMW (LMWH) y el Compuesto 25 (ver el Ejemplo 1), se evaluaron los tiempos de hemorragia en los ratones. Se inyectaron los compuestos de prueba en los ratones a través de la vena del pene y después de 5 minutos se cortó la vena de la cola con un bisturí. La cola se colocó después en un tubo de solución salina isotónica y se registró el tiempo necesario para coagular la herida.

La heparina LMW es un anticoagulante conocido. Como se muestra en la Figura 5, la heparina LMW retrasó la coagulación 4 veces más que los tiempos de sangrado del control, mientras que el compuesto 25 retrasó ligeramente la coagulación. La LMWH a dosis de 6 mg/kg elevó significativamente los tiempos de hemorragia de la cola en los ratones vs. los controles (341 ± 27 , 491 ± 60 vs. 82 ± 6 segundos, $P < 0,01$). El compuesto 25 (10 mg/kg, IV) tuvo tiempos de hemorragia de la cola significativamente más bajos en comparación con una dosis de LMWH IV (6 mg/kg, $P < 0,01$). El compuesto 25 es una mejoría significativa en la reducción del tiempo de la hemorragia sobre la heparina LMW.

Morfometría e histología de la pared venosa: Después de la lesión, los ratones que se trataron con el compuesto 25, redujeron significativamente la extravasación de monocitos en la pared venosa en comparación con los controles ($P < 0,05$). Cuando los animales se trataron con el compuesto 25 o LMWH de forma profiláctica (es decir, antes de la lesión), se observó una disminución significativa de la extravasación de PMN en la pared venosa 2 días después de la trombosis ($P = 0,027$ y $P = 0,007$ respectivamente). Similar patrón de extravasación de monocitos en la pared venosa se mantuvo durante la profilaxis con el compuesto 25 y LMWH en el mismo intervalo de tiempo ($P < 0,01$).

Recuentos de PMN intratrombo: El compuesto 25 administrado como terapia profiláctica disminuyó significativamente los recuentos de células intratrombos frente al animal control ($14,5 \pm 3,7$ vs. $37,4 \pm 4,7$ PMN/HPF, $P = 0,009$), y estos animales tuvieron una menor carga de trombo venoso. Solamente los ratones que recibieron la terapia con el compuesto 25 tuvieron, visualmente, más canales vasculares intratrombos en comparación con los animales de control y los que recibieron terapia con LMWH.

Las diversas modalidades descritas anteriormente pueden combinarse para proporcionar modalidades adicionales. Los aspectos de las modalidades pueden modificarse, si es necesario, para emplear los conceptos de las diversas patentes, solicitudes y publicaciones para proporcionar aun otras modalidades.

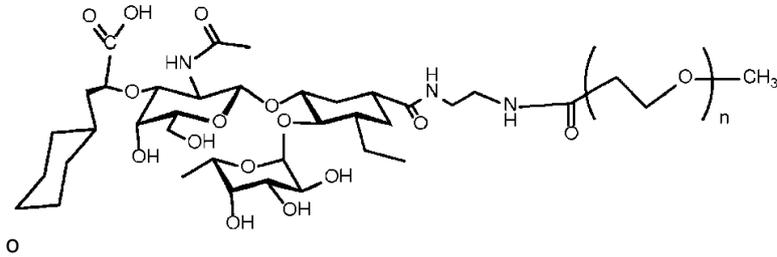
Estos y otros cambios pueden realizarse en las modalidades a la luz de la descripción detallada con anterioridad.

Reivindicaciones

1. Un compuesto que tiene la fórmula:

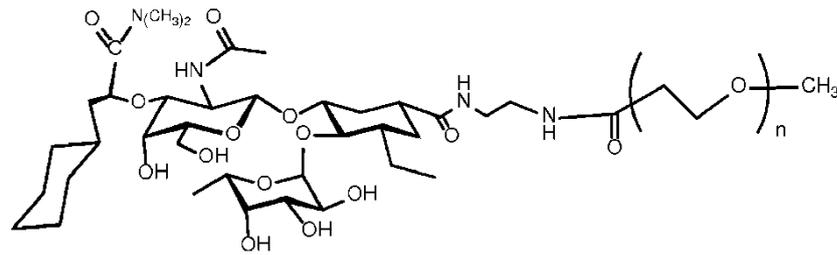
5

10



15

20



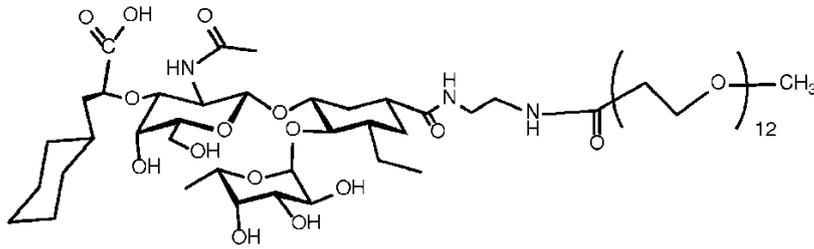
25

o una sal, estereoisómero, tautómero, hidrato o solvato de este farmacéuticamente aceptable caracterizado porque n es 4, 8, 12, 16, 20, 24 o 28.

2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 que tiene la fórmula:

30

35

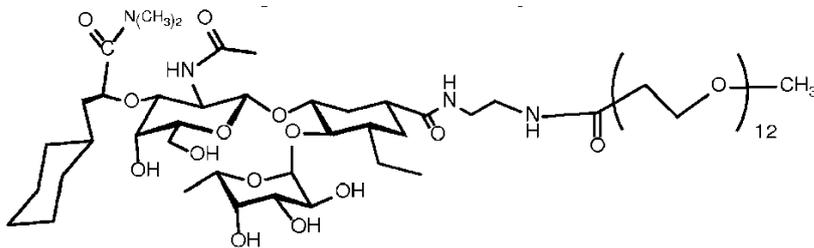


40

3. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 que tiene la fórmula:

45

50



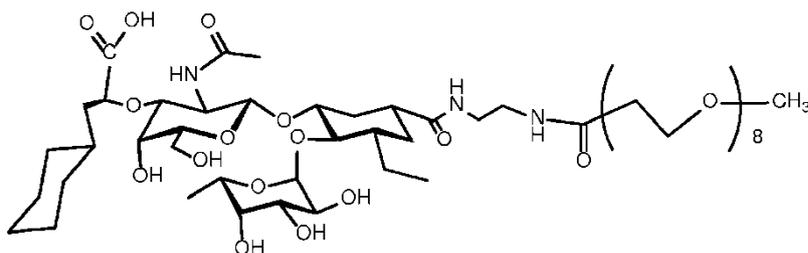
55

4. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 que tiene la fórmula:

60

65

5
10



5. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 15 6. Un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-4 o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 5 para su uso en un método para tratar o prevenir la metástasis de las células cancerosas.
- 20 7. Un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-4 o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 5 para su uso en un método para tratar cáncer, en donde dicho método comprende usar dicho compuesto o composición en combinación con la quimioterapia o la radioterapia o ambas, quimioterapia y radioterapia.
- 25 8. Un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 5 para su uso en un método para tratar o prevenir la trombosis.
9. Un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-4 o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 5 para su uso en un método para inhibir la infiltración de las células cancerosas en la médula ósea.
- 30 10. Un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-4 o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 5 para su uso en un método para inhibir la adhesión de una célula tumoral que expresa un ligando de E-selectina a una célula endotelial que expresa E-selectina.
- 35 11. El compuesto o composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 10, en donde la célula endotelial está presente en la médula ósea.
12. Un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-4 o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 5 para su uso en un método para mejorar la supervivencia de las células madre hematopoyéticas en un sujeto.
- 40 13. El compuesto o composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 12, en donde el sujeto recibió o recibirá quimioterapia o radioterapia o ambas, quimioterapia y radioterapia.

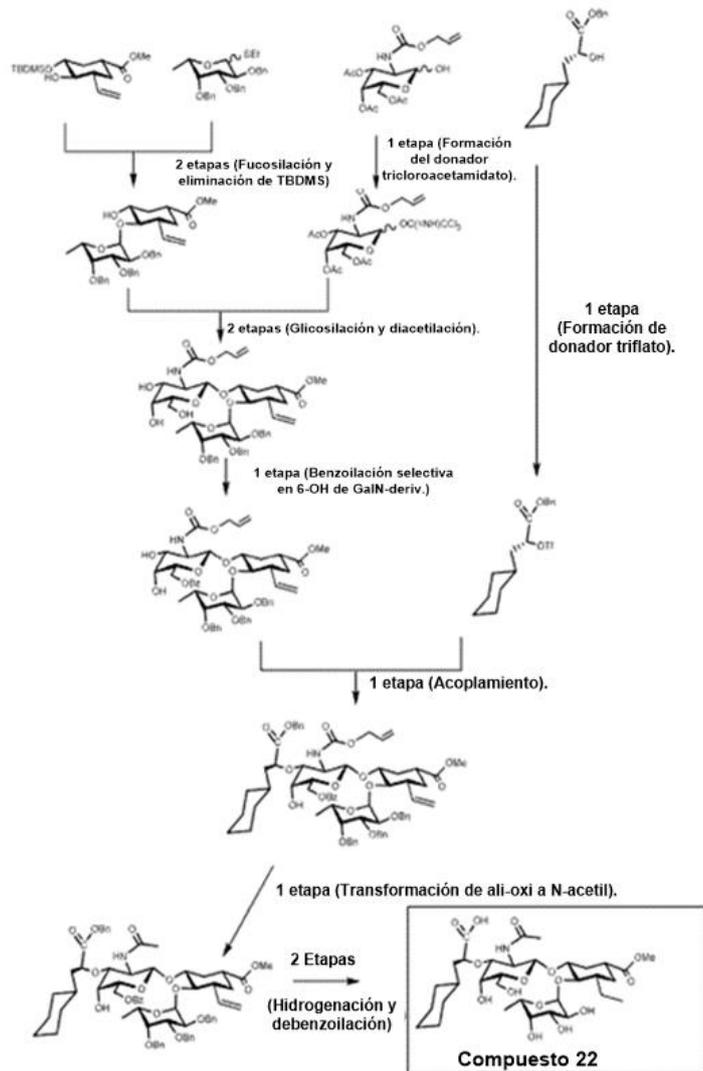
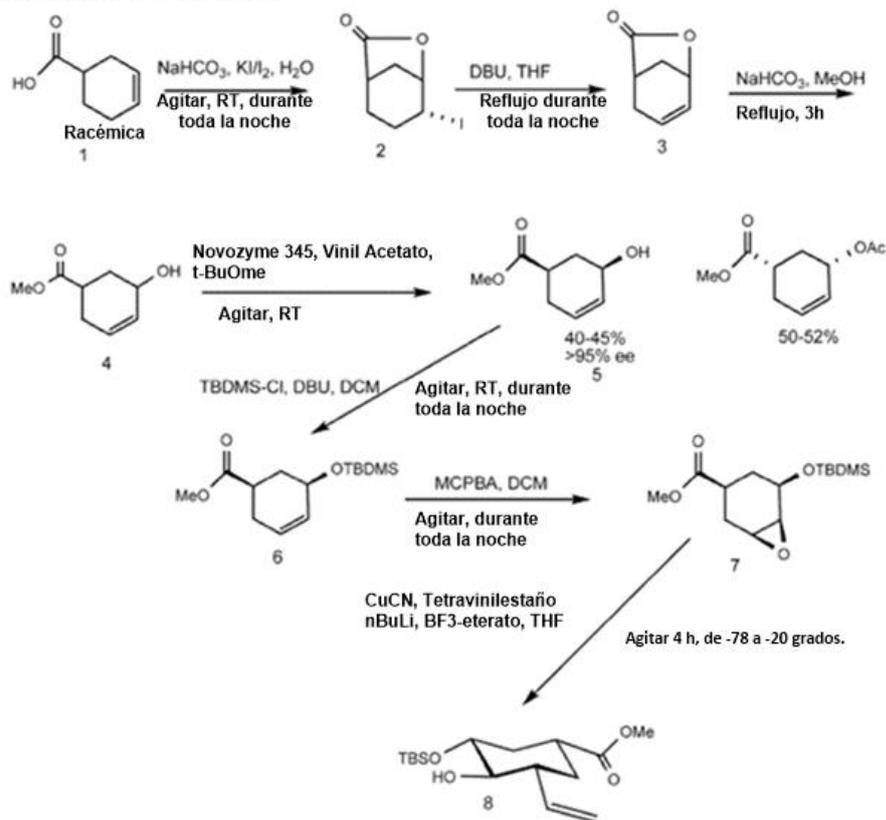
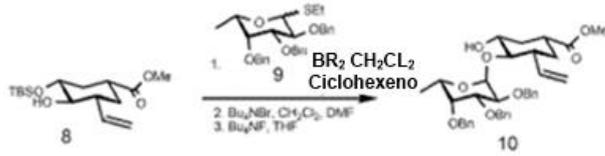


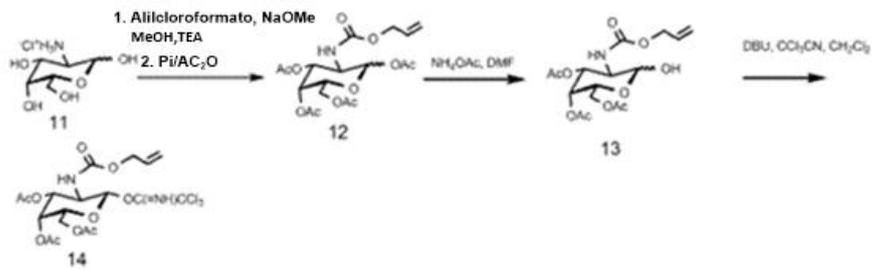
FIGURA 1A

Síntesis del compuesto 8**FIGURA 1B**

Síntesis del compuesto 10



Síntesis del compuesto 14



Síntesis del compuesto 20

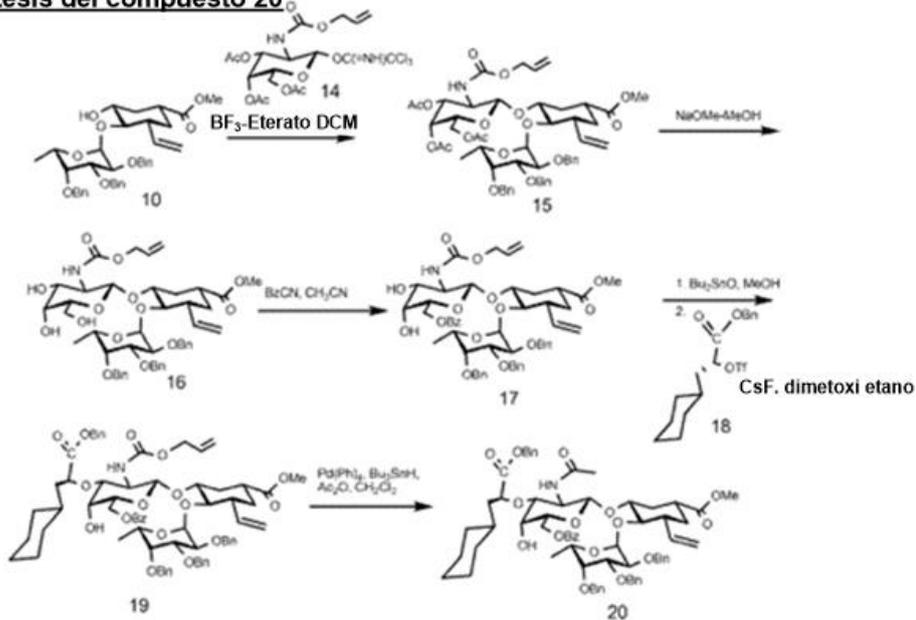
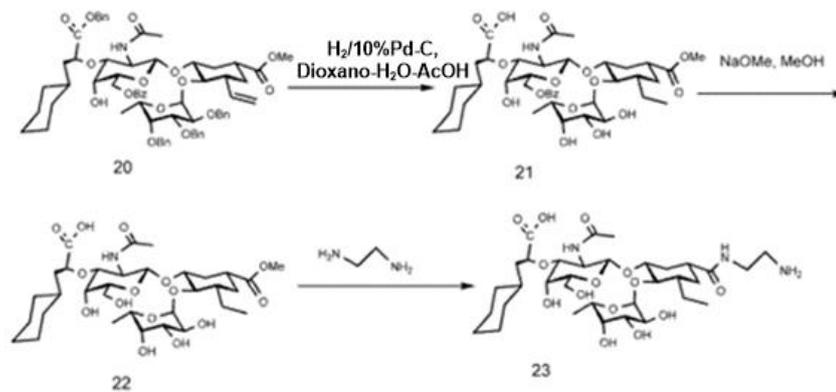
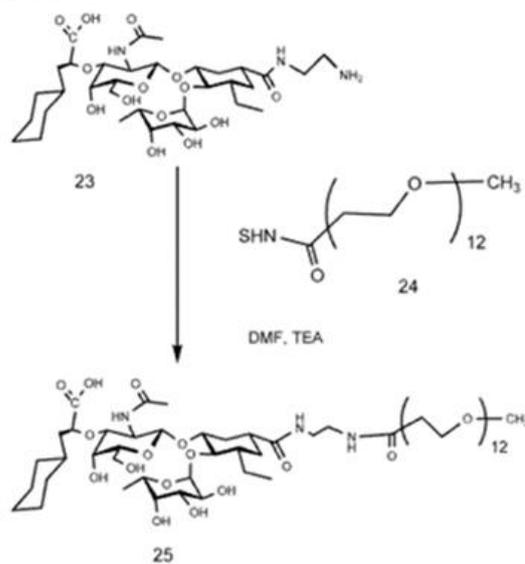


FIGURA 1C

Síntesis del compuesto 23**Síntesis del compuesto 25****FIGURA 1D**

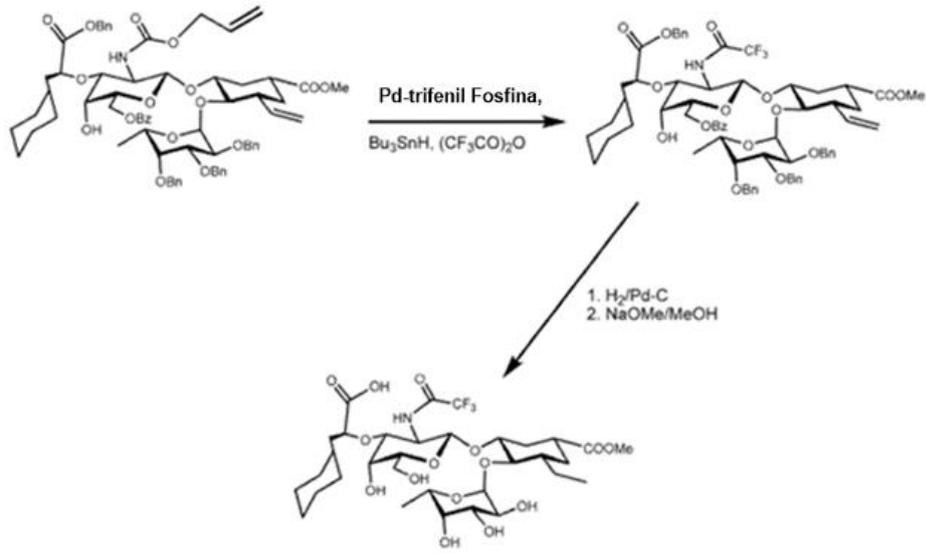


FIGURA 2

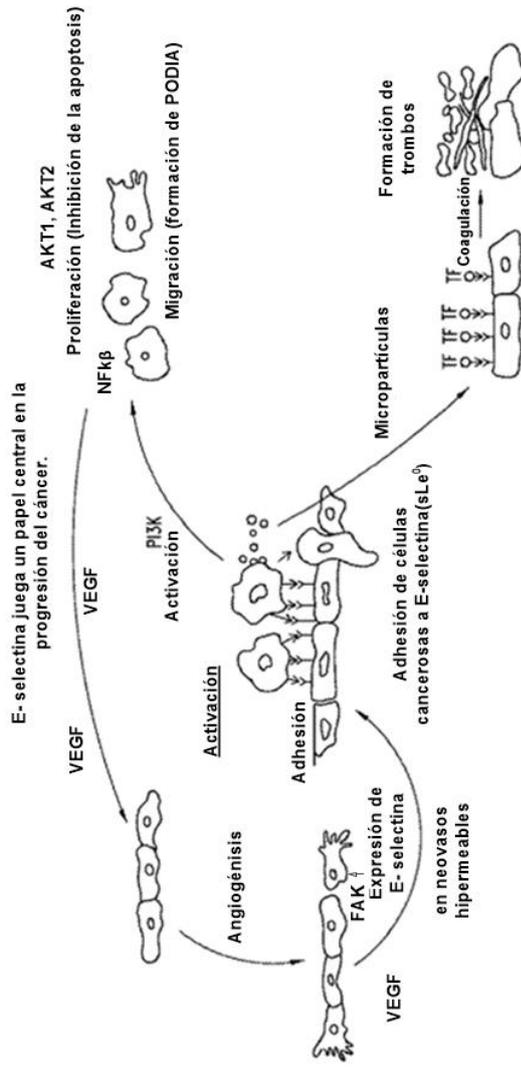


FIGURA 3

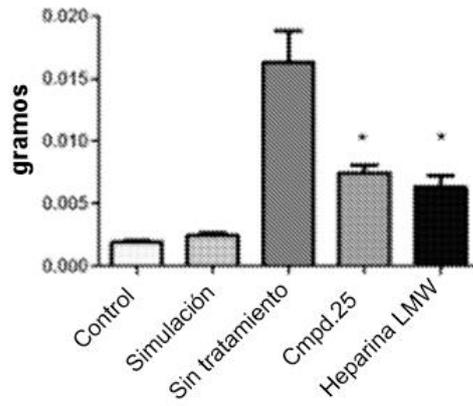


FIGURA 4

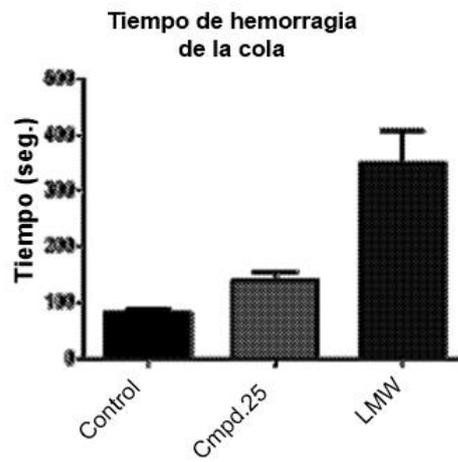


FIGURA 5