

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 668 045**

51 Int. Cl.:

**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: **05.12.2013 PCT/US2013/073258**

87 Fecha y número de publicación internacional: **12.06.2014 WO14089269**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.12.2013 E 13811325 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.02.2018 EP 2928476**

54 Título: **Compuestos, composiciones y métodos que usan antagonistas de la E-selectina para la movilización de las células hematopoyéticas**

30 Prioridad:

**07.12.2012 US 201261734924 P**  
**14.03.2013 US 201361784206 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**16.05.2018**

73 Titular/es:

**GLYCOMIMETICS, INC. (100.0%)**  
**401 Professional Drive Suite 250**  
**Gaithersburg, MD 20879, US**

72 Inventor/es:

**MAGNANI, JOHN, L.**

74 Agente/Representante:

**SÁEZ MAESO, Ana**

ES 2 668 045 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, composiciones y métodos que usan antagonistas de la E-selectina para la movilización de las células hematopoyéticas

5

Antecedentes

Campo técnico

10

Los agentes y sus composiciones que se describen en la presente descripción son antagonistas de la E-selectina y pueden usarse como terapéuticos. Se describen los métodos para movilizar células de la médula ósea mediante el uso de los antagonistas de la E-selectina descritos en la presente descripción.

Descripción de la Técnica Relacionada

15

El trasplante autólogo de células madre hematopoyéticas (HSCT) es un enfoque terapéutico curativo potencialmente para diferentes enfermedades hematológicas y linfoides malignas. Las células madre hematopoyéticas (HSC) pueden recolectarse de la sangre o la médula ósea y usarse para repoblar la hematopoyesis. Estudios recientes demuestran las ventajas clínicas de volver a infundir células madre de sangre periférica movilizadas autólogas en comparación con las HSC de médula ósea (*ver, por ejemplo*, Lemoli y otros, *Haematologica* 93:321-324 (2008); Gratwohl y otros, *Blood* 100:2374-86 (2002)). La citocina, factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), ha sido el agente que se usa predominantemente en la clínica para la movilización de las HSC. Más recientemente, un antagonista del receptor 4 (CXCR4) de la quimiocina (motivo C-X-C), AMD3100 (llamado además plerixafor) se ha administrado solo o con G-CSF para este propósito.

20

25

No todos los pacientes tratados con G-CSF tienen una movilización exitosa de células madre de sangre periférica: hasta un 25% de pacientes con linfomas, mieloma múltiple o leucemia aguda, y en 10-20% de voluntarios normales, todos los que requieren aféresis extendidos (*ver, por ejemplo*, Pelus, *Curr. Opin. Hematol.* 15:285-92 (2008) y referencias citadas en el lugar). Se están realizando estudios para identificar agentes adicionales para usarse solos o en combinación con G-CSF para reducir el requisito de multidosis y mejorar la calidad de vida a largo plazo.

30

Por lo tanto, existe una necesidad en la técnica de identificar terapias altamente eficaces, no tóxicas y menos costosas útiles para movilizar las células madre de sangre periférica.

35

El documento de patente núm. WO 2012/061662 describe compuestos peptidomiméticos glicomiméticos que inhiben las E-selectinas y los receptores de quimiocina CXCR4, que son útiles para tratar el cáncer y las enfermedades inflamatorias, y para liberar células tales como células madre en sangre circulante y mejorar la retención de las células en la sangre. El documento de patente núm. WO 2013/096926 describe los antagonistas de la E-selectina que son útiles en los métodos para el tratamiento de cánceres, y el tratamiento y la prevención de la metástasis, la inhibición de la infiltración de las células cancerosas en la médula ósea, al reducir o inhibir la adhesión de las células cancerosas a las células endoteliales que incluyen las células en la médula ósea y la inhibición de la formación de trombos.

40

Breve descripción

45

Brevemente, en la presente descripción se proporcionan agentes que son antagonistas de la E-selectina, composiciones que comprenden los agentes y métodos para usar los agentes. Estos agentes son útiles para movilizar las células de la médula ósea, que incluyen las células hematopoyéticas, tales como, células madre hematopoyéticas y células progenitoras y glóbulos blancos, tales como granulocitos (que incluyen neutrófilos). En otras modalidades, las células son células tumorales tales como las células tumorales malignas o las células tumorales hematológicas. Los compuestos glicomiméticos que pueden usarse en estos métodos son antagonistas de la E-selectina como se describe en la presente descripción.

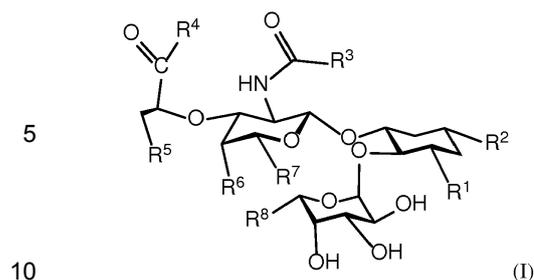
50

En una modalidad, la Modalidad I, una composición que comprende un excipiente aceptable farmacéuticamente y un compuesto, se proporciona para su uso en un método de movilizar células de la médula ósea en un sujeto. El compuesto (que es un compuesto glicomimético que es un antagonista de la E-selectina) tiene la siguiente fórmula (I):

55

60

65



o una sal aceptable farmacéuticamente, isómero, tautómero, hidrato o solvato de éste, en donde:

R<sup>1</sup> es C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alquilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alquenilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alquinilo, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> haloalquenilo o C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> haloalquinilo;

R<sup>2</sup> es una porción no glicomimética enlazadora, en donde la porción no glicomimética comprende polietilenglicol;

R<sup>3</sup> es C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alquilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alquenilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alquinilo, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> haloalquenilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> haloalquinilo o ciclopropilo;

R<sup>4</sup> es -OH o -NZ<sup>1</sup>Z<sup>2</sup> donde Z<sup>1</sup> y Z<sup>2</sup> son cada uno independientemente H, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alquilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alquenilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alquinilo, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> haloalquenilo o C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> haloalquinilo o en donde Z<sup>1</sup> y Z<sup>2</sup> se unen para formar un anillo;

R<sup>5</sup> es C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> cicloalquilo;

R<sup>6</sup> es -OH, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alquilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alquenilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alquinilo, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> haloalquenilo o C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> haloalquinilo;

R<sup>7</sup> es -CH<sub>2</sub>OH, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alquilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alquenilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alquinilo, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> haloalquenilo o C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> haloalquinilo; y

R<sup>8</sup> es C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alquilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alquenilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alquinilo, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> haloalquenilo o C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> haloalquinilo.

Modalidad 2: La composición de la Modalidad 1 para su uso, en donde, (a) al menos uno de R<sup>1</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> es C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo; (b) al menos uno de R<sup>3</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> es C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo; (c) al menos dos de R<sup>1</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> son C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo; (d) R<sup>2</sup> es una porción no glicomimética enlazadora; o (e) al menos uno de R<sup>1</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> es C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo, y R<sup>2</sup> es una porción no glicomimética enlazadora.

Modalidad 3: La composición de la Modalidad 1 o la Modalidad 2 para su uso, en donde, cada C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo se selecciona independientemente de -CH<sub>2</sub>X, CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CH<sub>2</sub>X, CHX<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CHX<sub>2</sub>, -CX<sub>3</sub> y -CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CX<sub>3</sub>, en donde, m es 0-6 y X es F, Cl, Br o I. Modalidad 4: La composición de la Modalidad 3 para su uso, en donde, al menos una X es F. Modalidad 5: La composición de la Modalidad 3 para su uso, en donde, al menos un C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo es -CH<sub>2</sub>X, -CHX<sub>2</sub> o -CX<sub>3</sub>. Modalidad 6: La composición de la Modalidad 5 para su uso, en donde, al menos X es F.

Modalidad 7: La composición de cualquiera de las Modalidades 1-3 para su uso, en donde R<sup>4</sup> es -OH o -NZ<sup>1</sup>Z<sup>2</sup> en donde Z<sup>1</sup> y Z<sup>2</sup> son cada C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alquilo. Modalidad 8: La composición de la Modalidad 7 para su uso, en donde, Z<sup>1</sup> y Z<sup>2</sup> son cada-CH<sub>3</sub>.

Modalidad 9: La composición de cualquiera de las Modalidades 1-8 para su uso, en donde, R<sup>7</sup> es -CH<sub>2</sub>OH, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alquilo, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo. Modalidad 10: La composición de la Modalidad 9 para su uso, en donde, R<sup>7</sup> es -CH<sub>2</sub>OH o -CHF<sub>2</sub>.

Modalidad 11: La composición de cualquiera de las Modalidades 1-10 para su uso, en donde, R<sup>3</sup> es C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alquilo, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo, o ciclopropilo. Modalidad 12: La composición de la Modalidad 11 para su uso, en donde, R<sup>3</sup> es metilo o trifluorometilo.

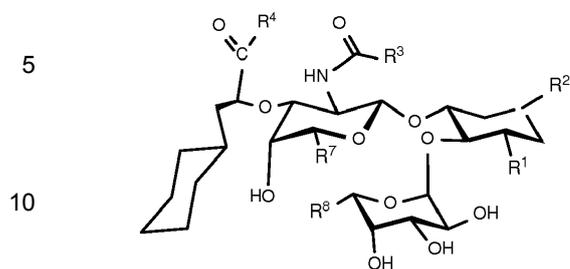
Modalidad 13: La composición de cualquiera de las Modalidades 1-12 para su uso, en donde, R<sup>8</sup> es C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alquilo, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo. Modalidad 14: La composición de la Modalidad 13 para su uso, en donde, R<sup>8</sup> es metilo o trifluorometilo.

Modalidad 15: La composición de cualquiera de las Modalidades 1-14 para su uso, en donde, R<sup>6</sup> es -OH.

Modalidad 16: La composición de cualquiera de las Modalidades 1-15 para su uso, en donde R<sup>5</sup> es ciclohexilo.

Modalidad 17: La composición de cualquiera de las Modalidades 1-16 para su uso, en donde, R<sup>1</sup> es C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alquilo o C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo. Modalidad 18: La composición de la Modalidad 17 para su uso, en donde, R<sup>1</sup> es etilo o -CHF<sub>2</sub>.

Modalidad 19: La composición de cualquiera de las Modalidades 1-18 para su uso, en donde, el compuesto de fórmula (I) tiene una estructura de la fórmula (Ia):



(Ia)

20 en donde R<sup>1</sup> es C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alquilo o C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo;  
 R<sup>2</sup> es una porción no glicomimética enlazadora, en donde la porción no glicomimética comprende polietilenglicol;  
 R<sup>3</sup> es C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alquilo, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo, o ciclopropilo;  
 R<sup>4</sup> es -OH o -NZ<sup>1</sup>Z<sup>2</sup> donde Z<sup>1</sup> y Z<sup>2</sup> son cada uno independientemente H o C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alquilo;  
 R<sup>7</sup> es -CH<sub>2</sub>OH, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alquilo, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo, y  
 25 R<sup>8</sup> es C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alquilo o C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo. Modalidad 20: La composición de la Modalidad 19 para su uso, en donde, halo es F.

Modalidad 21: La composición de la Modalidad 19 o la Modalidad 20 para su uso, en donde, R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>F, -CHF<sub>2</sub>, -CF<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>F, -CH<sub>2</sub>CHF<sub>2</sub>, o -CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>.

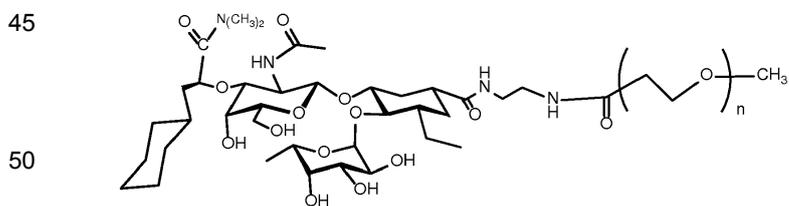
30 Modalidad 22: La composición de cualquiera de las Modalidades 19-21 para su uso, en donde, R<sup>3</sup> es -CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>F, -CHF<sub>2</sub>, o -CF<sub>3</sub>.

Modalidad 23: La composición de cualquiera de las Modalidades 19-22 para su uso, en donde R<sup>4</sup> es -OH o -N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.

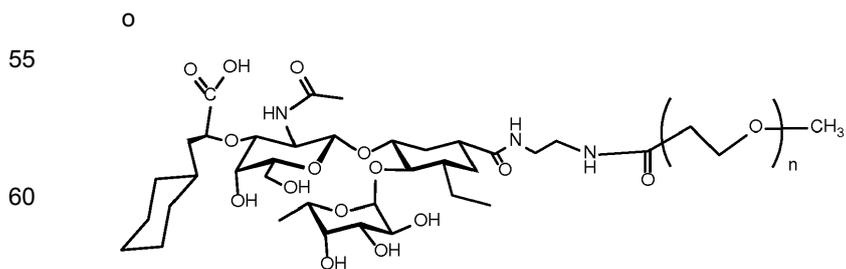
35 Modalidad 24: La composición de cualquiera de las Modalidades 19-23 para su uso, en donde R<sup>7</sup> es -CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>F, -CHF<sub>2</sub>, o -CF<sub>3</sub>.

Modalidad 25: La composición de cualquiera de las Modalidades 19-24 para su uso, en donde, R<sup>8</sup> es -CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>F, -CHF<sub>2</sub>, o -CF<sub>3</sub>.

40 Modalidad 26: La composición de cualquiera de las Modalidades 1-25 para su uso, en donde, R<sup>2</sup> es una porción no glicomimética enlazadora, y en donde, la porción no glicomimética comprende polietilenglicol, y en donde, el compuesto de la fórmula (I) tiene una de las fórmulas (Ib) o (Ic) descritas en la presente descripción.



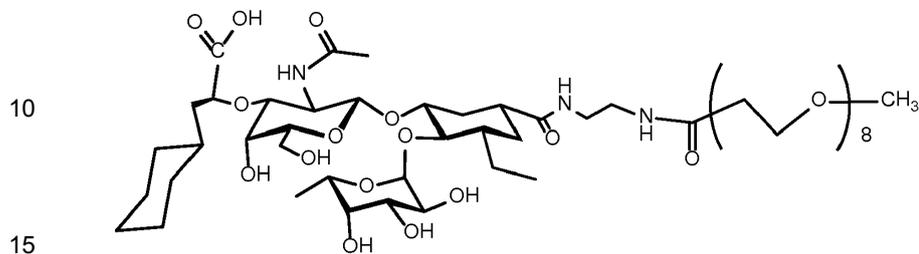
(Ib)



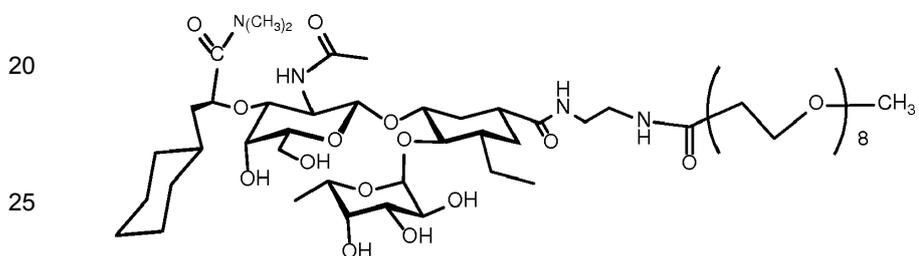
(Ic)

en donde n es 1 a 100. Modalidad 27: La composición de la Modalidad 26 para su uso, en donde, n es 4, 8, 12, 16, 20, 24, o 28.

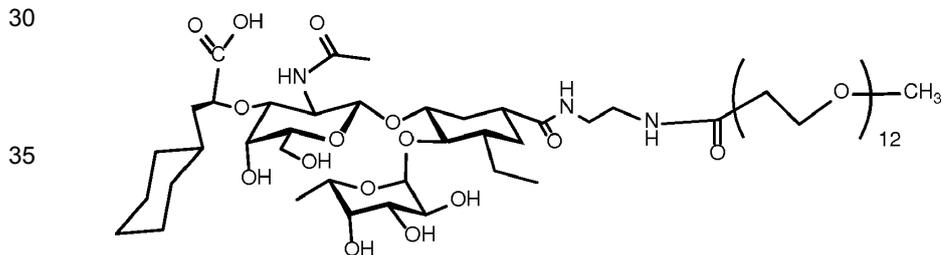
5 Modalidad 28 y Modalidad 29: La composición de la Modalidad 26 o la Modalidad 27 para su uso, en donde, el compuesto tiene una de las fórmulas:



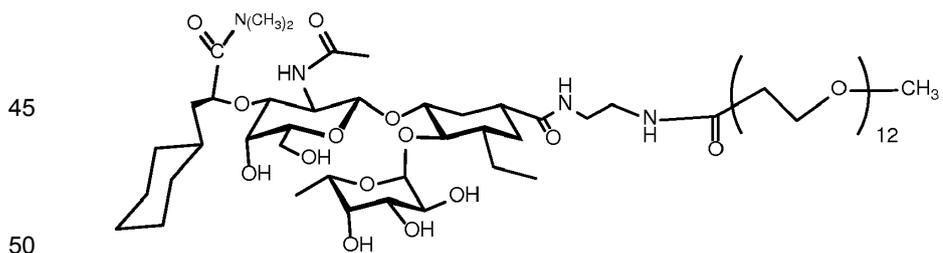
o



o



o;

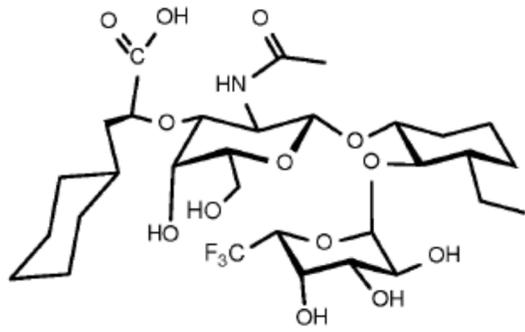


55 Modalidad 30: La composición de la Modalidad 1 o la Modalidad 19 para su uso, en donde, el compuesto de la fórmula (I) tiene una de las fórmulas: (Id), (Ie), (If), (Ig), (Ih), (Ii), (Ij), o (Ik) descritas en la presente descripción.

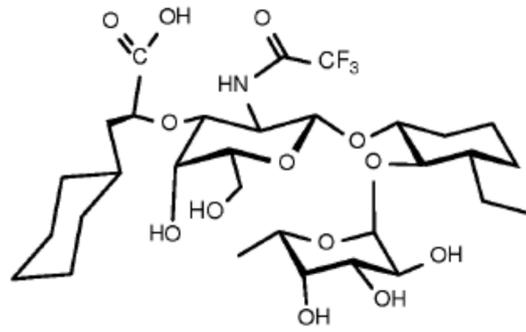
60 Modalidad 31: La composición de la Modalidad 1 para su uso, en donde, el compuesto de fórmula (I) tiene una de las fórmulas específicas, que se describen en la presente descripción. Ejemplos de tales compuestos incluyen los siguientes:

60

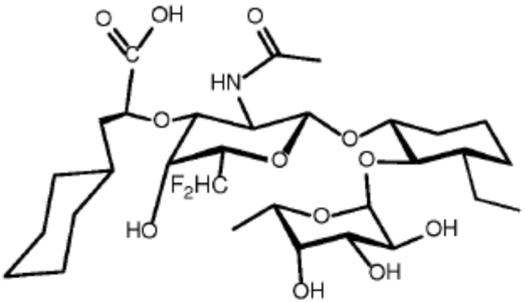
65



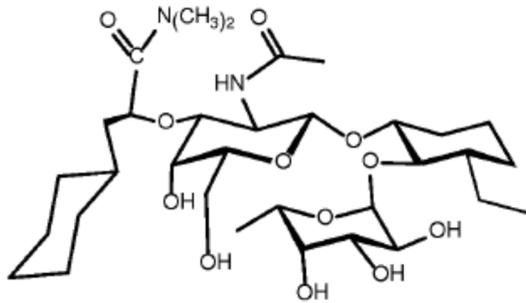
;



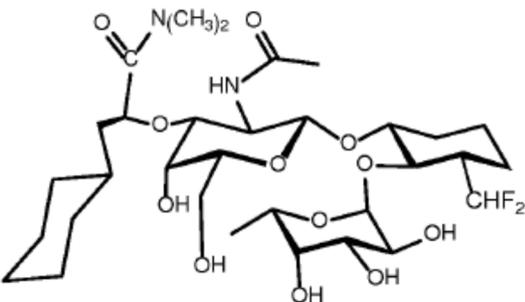
;



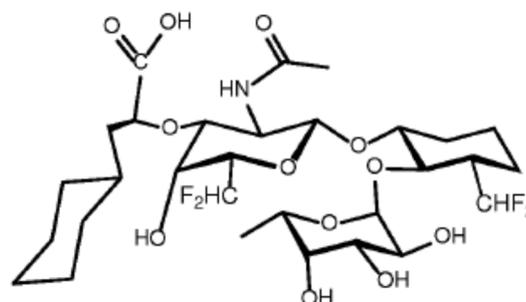
;



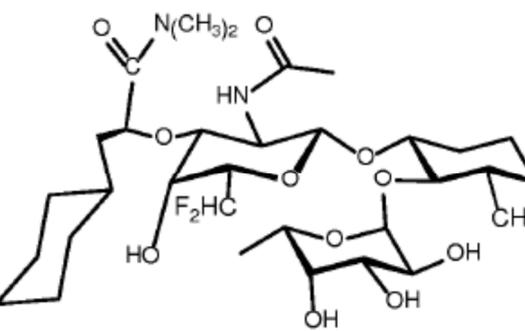
;



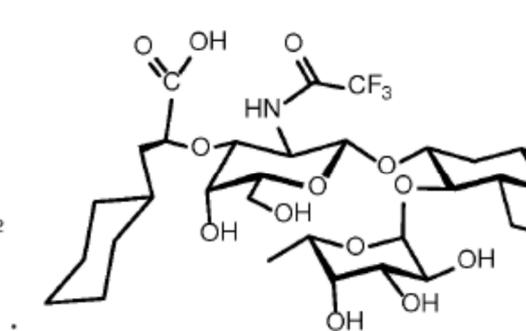
;



;

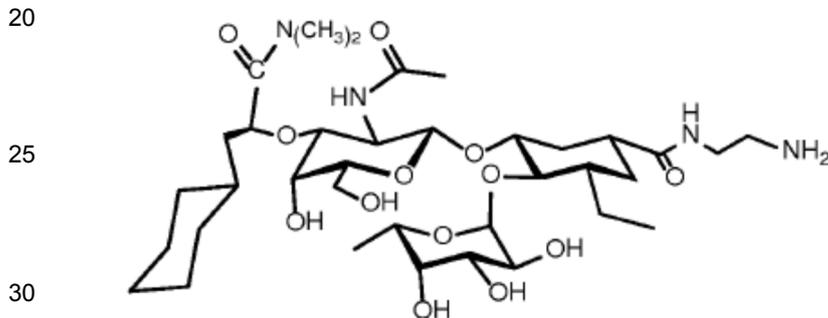
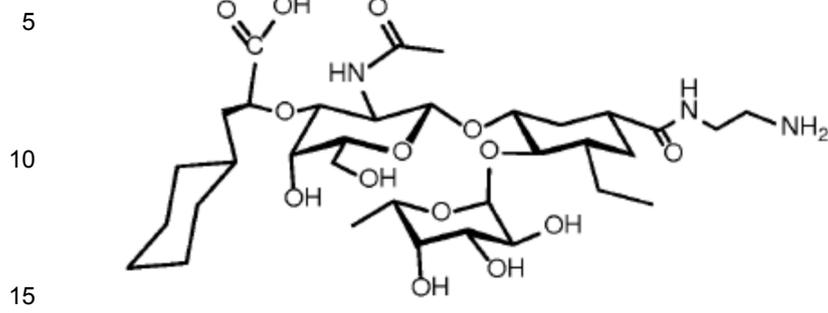


;

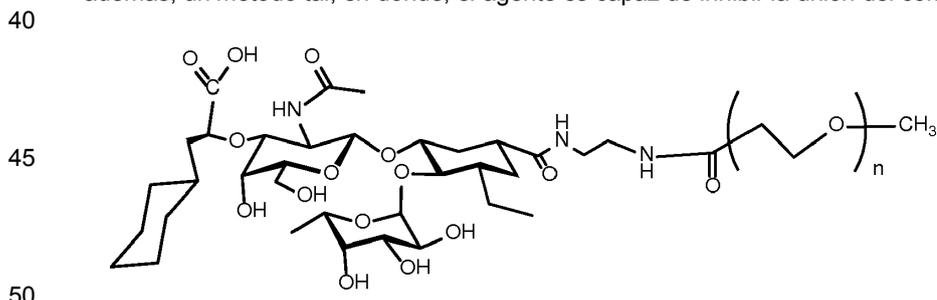


;

o



35 En la presente descripción se describe, además, un método para movilizar células de la médula ósea en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica que comprende un excipiente aceptable farmacéuticamente y un agente capaz de inhibir competitivamente la unión del compuesto como se definió en una de las Modalidades 1-31 a la E-selectina, en donde, el agente es un anticuerpo, polipéptido, péptido o aptámero. Se describe, además, un método tal, en donde, el agente es capaz de inhibir la unión del compuesto que tiene la siguiente estructura:



en donde  $n = 1-100$ . Se describe, además, un método de este tipo, en donde,  $n = 4, 8, 12, 16, 20, 24, \text{ o } 28$ .

55 Modalidad 32: La composición de cualquiera de las Modalidades 1-31 para su uso, en donde, las células son células hematopoyéticas. Modalidad 33: La composición de la Modalidad 32 para su uso, en donde, las células hematopoyéticas son células madre hematopoyéticas y células progenitoras hematopoyéticas. Modalidad 34: La composición de la Modalidad 32 para su uso, en donde, las células hematopoyéticas son glóbulos blancos maduros.

60 Modalidad 35: La composición de cualquiera de las Modalidades 1-31 para su uso, en donde, las células son células tumorales. Modalidad 36: La composición de la Modalidad 35 para su uso, en donde, las células tumorales son células tumorales hematológicas. Modalidad 37: La composición de la Modalidad 35 para su uso, en donde, las células tumorales son células malignas.

65 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

5 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

10 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.

15 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.

20 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 de inclusión "y/o" a menos que el contenido 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".

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

#### Breve descripción de las figuras

40 La Figura 1A-1D es un diagrama que ilustra la síntesis de una modalidad (compuesto 25) de los compuestos que tienen la fórmula I que se proporciona en la presente descripción.  
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.  
Las Figuras 3A-3D presentan un escaneo del espectro de NMR del Compuesto 25.

45 } La Figura 4 ilustra la movilización de neutrófilos por un antagonista ilustrativo de E-selectina, Compuesto 25. Los grupos de animales recibieron el Compuesto 25 a dosis de 20 mg/kg (Compuesto 25 (20)), 40 mg/kg (Compuesto 25 (40)), o 60 mg/kg (Compuesto 25 (40)). Otro grupo de animales recibió 3 mg/kg de plerixafor (AMD-3100). Se enumeraron los neutrófilos (K/ $\mu$ l) en muestras de sangre tomadas a las 2, 3 y 6 horas después de la dosificación.  
Las Figuras 5A-5E muestran la actividad de la movilización del Compuesto 25 en ratones CD-1 después de una dosis única de 20, 40 o 60 mg/kg del compuesto inyectado por vía intravenosa. La actividad de movilización del Compuesto 25 se comparó con AMD3100 dosificado a 3 mg/kg y con controles no tratados. Se recolectó sangre de los animales a las 2, 3 y 6 horas después de la dosificación y se analizaron los niveles de glóbulos blancos totales (WBC) (Figura 5A), neutrófilos (Figura 5B), eosinófilos (Figura 5C), linfocitos (Figura 5D), monocitos (Figura 5E).

#### 55 Descripción detallada

60 En la presente descripción se proporciona una composición para su uso en un método para movilizar células de la médula ósea, que incluyen células hematopoyéticas, tales como células madre hematopoyéticas y células progenitoras hematopoyéticas y leucocitos (*por ejemplo*, granulocitos (que incluyen los neutrófilos), macrófagos, etc.). Los métodos para movilizar células descritos en la presente descripción son útiles además para movilizar células tumorales (*por ejemplo*, células tumorales hematopoyéticas, células malignas) de la médula ósea. Estos métodos incluyen administrar compuestos que son antagonistas de la E-selectina, que incluyen compuestos glicomiméticos descritos en la presente descripción, que inhiben la interacción de la E-selectina con sialil Le<sup>a</sup> sLe<sup>a</sup> o sialil Le<sup>x</sup> (sLe<sup>x</sup>). Los agentes que se proporcionan, además, son anticuerpos, polipéptidos, péptidos y aptámeros que se unen al sitio de unión o cerca de este sobre la E-selectina en el que se unen los compuestos (*es decir*, un anticuerpo, polipéptido, péptido o aptámero

como se describe en la presente descripción, que es capaz de competir con los compuestos para inhibir la interacción de la E-selectina con sialil Le<sup>a</sup> (sLe<sup>a</sup>) o sialil Le<sup>x</sup> (sLe<sup>x</sup>).

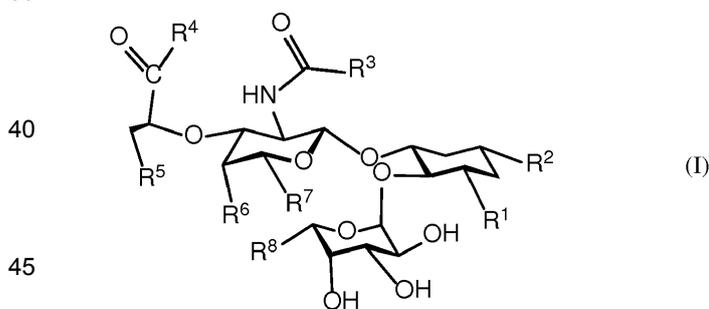
5 La E-selectina es una molécula de adhesión que se expresa en las células endoteliales y se une a secuencias de carbohidratos específicas (sialil Le<sup>x</sup> y sialil Le<sup>a</sup>) que se encuentran en las superficies de células unidas opuestas. El endotelio en la mayor parte de la vasculatura normal no expresa la E-selectina hasta la estimulación de la síntesis de proteínas por mediadores inflamatorios. Después de aproximadamente tres horas de síntesis proteica *de novo*, la E-selectina se expresa como resultado de una respuesta inflamatoria. Por el contrario, la E-selectina se expresa constitutivamente en la médula ósea por las células endoteliales que recubren los vasos sanguíneos. Aquí, se piensa, sin desear estar sujeto a la teoría, que el tallo hematopoyético y las células progenitoras residen en el nicho de la vasculatura de la médula ósea uniéndose a las moléculas de adhesión, que incluyen la E-selectina. La evidencia reciente sugiere además que la E-selectina desempeña un papel en la activación de estas células, que causa la proliferación celular e inicia la diferenciación.

15 En esta descripción, se proporcionan antagonistas de la E-selectina que movilizan células, que incluyen las células hematopoyéticas, de la médula ósea. Los antagonistas de este tipo pueden incluir, pero no se limitan a moléculas pequeñas, anticuerpos, aptámeros, péptidos y glicoproteínas. Las células madre derivadas de células movilizadas de la médula ósea de cada uno de los donantes autólogos y alogénicos tienen un amplio intervalo de usos terapéuticos. Debido a la edad, la enfermedad y ciertas afecciones genéticas, algunos individuos no responden bien a los métodos actuales de movilización de células madre, como el uso del Plerixafor (AMD-3100) y/o G-CSF. En una modalidad, se proporciona un método para movilizar células madre por inhibición de la E-selectina, una proteína de adhesión principal en la vasculatura de la médula ósea. Este método puede comprender usar el antagonista de la E-selectina solo o en combinación con otros agentes que se usan actualmente para movilizar células madre hematopoyéticas. En la presente descripción se describen antagonistas específicos de molécula pequeña de la E-selectina que movilizan células hematopoyéticas y que, por lo tanto, son útiles para estos métodos y otros métodos.

#### Agentes

30 Los antagonistas de la 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.

35 En una modalidad, el antagonista de la E-selectina es un compuesto glicomimético que tiene la siguiente fórmula (I):



50 una sal aceptable farmacéuticamente (*es decir*, sal fisiológicamente adecuada), isómero, tautómero, hidrato o solvato de ésta. La fórmula I comprende R<sup>1</sup> a R<sup>8</sup> que representan posiciones en el compuesto en el que un sustituyente (*por ejemplo*, R<sup>8</sup>) o una porción de un sustituyente (*por ejemplo*, R<sup>3</sup>) puede variarse de acuerdo con las elecciones proporcionadas en la presente descripción.

55 En una modalidad, R<sup>1</sup> es C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alquilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alquenilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>alquinilo, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> haloalquenilo o C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> haloalquinilo;

R<sup>2</sup> es una porción no glicomimética enlazadora, *es decir*, un enlazador unido a una porción no glicomimética), en donde, la porción no glicomimética comprende polietilenglicol;

R<sup>3</sup> es C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alquilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alquenilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alquinilo, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>haloalquenilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> haloalquinilo o ciclopropilo;

60 R<sup>4</sup> es -OH o -NZ<sup>1</sup>Z<sup>2</sup> donde Z<sup>1</sup> y Z<sup>2</sup> son cada uno independientemente H, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>alquilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alquenilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alquinilo, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> haloalquenilo o C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> haloalquinilo o, en donde, Z<sup>1</sup> y Z<sup>2</sup> se unen para formar un anillo;

R<sup>5</sup> es C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> cicloalquilo;

R<sup>6</sup> es -OH, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alquilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alquenilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alquinilo, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> haloalquenilo o C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> haloalquinilo;

65 R<sup>7</sup> es -CH<sub>2</sub>OH, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alquilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alquenilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alquinilo, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>haloalquilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> haloalquenilo o C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> haloalquinilo;

y

R<sup>8</sup> es C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alquilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alqueniilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alquinilo, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>haloalqueniilo o C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> haloalquinilo.

5 En algunas modalidades, el compuesto de la fórmula (I) se selecciona de compuestos en donde (a) al menos uno de R<sup>1</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> es C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo; (b) al menos uno de R<sup>3</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> es C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo; (c) al menos dos de R<sup>1</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> son C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo; (d) R<sup>2</sup> es una porción no glicomimética enlazadora; o (e) al menos uno de R<sup>1</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> es C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo, y R<sup>2</sup> es una porción no glicomimética enlazadora.

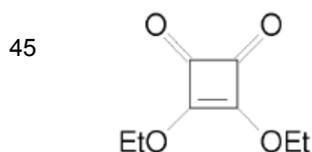
10 En una modalidad particular, el compuesto de la fórmula (I) C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>haloalquilo se selecciona de -CH<sub>2</sub>X, -CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CH<sub>2</sub>X, -CHX<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CHX<sub>2</sub>, -CX<sub>3</sub> y -CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CX<sub>3</sub>, en donde, m es 0-6 y X es F, Cl, Br o I. En esta modalidad el carbono terminal se sustituye con uno o más radicales halo. En modalidades específicas, X es F. Cuando dos o más radicales halo están presentes, cada uno se selecciona independientemente. El número de grupos de metileno representados por "m" es "0-6" que incluye 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 y todos los intervalos entre y que incluyen 0 a 6. En ciertas modalidades, al menos uno C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo es CH<sub>2</sub>X, -CHX<sub>2</sub>, o -CX<sub>3</sub>. En ciertas modalidades más específicas, X es F.

En una modalidad el compuesto de la fórmula (I), R<sup>1</sup> es C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>alquilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alqueniilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alquinilo, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> haloalqueniilo o C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> haloalquinilo. En ciertas modalidades el compuesto de la fórmula I, R<sup>1</sup> es C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alquilo o C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo. En modalidades con mayor particularidad, R<sup>1</sup> es C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> alquilo o C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> haloalquilo. En una modalidad con mayor especificidad, R<sup>1</sup> es metil (-CH<sub>3</sub>), etil (-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), o -CF<sub>3</sub> o -CHF<sub>2</sub> En otra modalidad, R<sup>1</sup> es etilo (-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>) o -CHF<sub>2</sub>

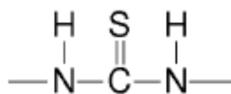
25 R<sup>2</sup> es una porción (M) no glicomimética enlazadora (L), en donde, la porción no glicomimética comprende el polietilenglicol (PEG). En una modalidad particular, R<sup>2</sup> es una porción no glicomimética enlazadora (L) (se indica además como porción no glicomimética (L) o -L-M), en donde la porción no glicomimética es el polietilenglicol. En ciertas modalidades, cuando R<sup>2</sup> comprende una porción no glicomimética enlazadora descrito en la presente, en donde, estas porciones proporcionan características ventajosas o mejoradas tales como biodisponibilidad mejorada; farmacocinética deseada; estabilidad mejorada, y similares, al compuesto y no son inmunogénicas.

30 R<sup>2</sup> puede unirse a la porción glicomimética de los compuestos de fórmula (I) (o fórmula la como se describe más abajo) ya sea directamente o mediante un enlazador (L). Los enlazadores son bien conocidos por un experto en la técnica. En modalidades particulares, el enlazador que une la porción glicomimética de fórmula I a una porción no glicomimética (M) es -C(=O)NH(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>NHC(=O)-; en modalidades más específicas, el enlazador es -C(=O)NH(CH<sub>2</sub>)NHC(=O)-, o el enlazador es -C(=O)NH(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>NHC(=O)-. En otras modalidades, el enlazador es -C(=O)NH(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>NHC(=O)(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>; en modalidades más específicas, el enlazador es -C(=O)NH(CH<sub>2</sub>)NHC(=O)-CH<sub>2</sub>, o el enlazador es -C(=O)NH(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>NHC(=O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>. Los enlazadores incluyen además los enlazadores denominados en la técnica de la "química click" (ver, por ejemplo, Brik y otros, Chem. Bio. Chem. 2003, 4, 1246; Helms y otros, J. Am. Chem. Soc. 2004, 126, 15020; Lober y otros, Org. Lett. 2003, 5, 1753; Moses y otros, Chem. Soc. Rev 2007, 36, 1249-1262).

40 Otros enlazadores ilustrativos se describen en la publicación de la solicitud internacional núm. WO 2007/028050. A modo de ejemplo adicional, los enlazadores incluyen los siguientes.



50 Ácido escuárico



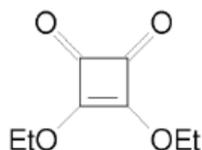
Tiourea

55 glicol (PEG), tiazolilo, y cromeniilo. En una modalidad particular, R<sup>2</sup>es una porción no glicomimética (M), enlazador de la porción (L) no glicomimética (indicado además como porción L no glicomimética o L M), en donde la porción no glicomimética es el polietilenglicol. En una modalidad particular, R<sup>2</sup> es -C(=O)NH(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>. En ciertas modalidades, cuando R<sup>3</sup> comprende una porción no glicomimética o una porción no glicomimética enlazadora descrita en la presente descripción, en donde estas porciones proporcionan características ventajosas o mejoradas tales como biodisponibilidad potenciada; farmacocinética deseada: estabilidad mejorada, y similares, al compuesto y no son inmunogénicas. Otras porciones no glicomiméticas ilustrativas descritas en la presente descripción incluyen heteroarilos de tiazolilo y cromeniilo, por ejemplo 4-metiltiazolilo y 7-hidroxi-2H-cromen-2-on-ilo. En algunas modalidades R<sup>2</sup> es H.

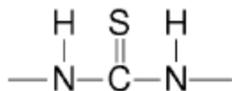
65 R<sup>2</sup> puede unirse a la porción glicomimética de los compuestos de fórmula (I) (o fórmula la como se describe más abajo) ya sea directamente o mediante un enlazador (L). Los enlazadores son bien conocidos por un experto en la técnica. En modalidades particulares, el enlazador que une la porción glicomimética de fórmula I a una porción no glicomimética (M) es -C(=O)NH(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>NHC(=O)-; en modalidades más específicas, el enlazador es -C(=O)NH(CH<sub>2</sub>)NHC(=O)-, o el

enlazador es  $-C(=O)NH(CH_2)_2NHC(=O)-$ . En otras modalidades, el enlazador es  $-C(=O)NH(CH_2)_{1-4}NHC(=O)(CH_2)_{1-4}$ ; en modalidades más específicas, el enlazador es  $-C(=O)NH(CH_2)NHC(=O)-CH_2-$ , o el enlazador es  $-C(=O)NH(CH_2)_2NHC(=O)-(CH_2)_2-$ . Los enlazadores incluyen además los enlazadores denominados en la técnica enlazadores de la "química click" (ver, por ejemplo, Brik y otros, Chem. Bio. Chem. 2003, 4, 1246; Helms y otros, J. Am. Chem. Soc. 2004, 126, 15020; Lober y otros, Org. Lett. 2003, 5, 1753; Moses y otros, Chem. Soc. Rev 2007, 36, 1249-1262).

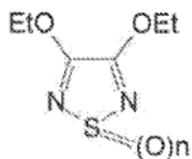
Otros enlazadores ilustrativos se describen en la publicación de la solicitud internacional núm. WO 2007/028050. A modo de ejemplo adicional, los enlazadores incluyen los siguientes.



Ácido escuárico



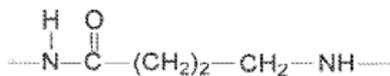
Tiourea



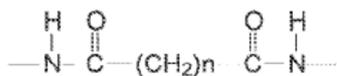
Óxido de ditiadiazol



Acilación a través de tiofurano

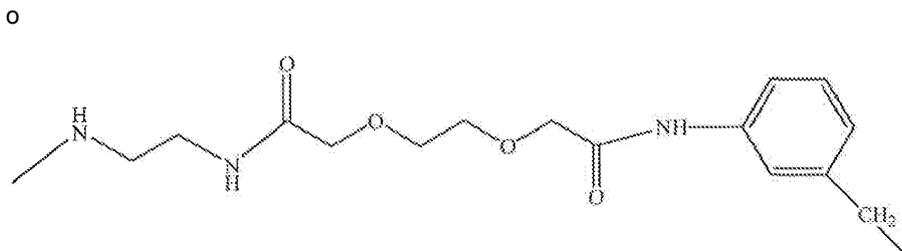
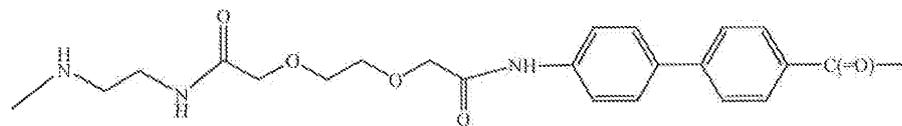


N-Pentenilación y aminación reductora



Acoplamiento a través del reactivo NHS bifuncional

Aun en otras modalidades, el enlazador es



En otra modalidad, el enlazador es  $-C(=O)-NH-(CH_2)_2-NH-$ ;  $-CH_2-NH-CH_2-$ , o es  $-C(=O)-NH-CH_2-$ .

En una modalidad del compuesto de fórmula (I),  $R^3$  es  $C_1-C_8$ alquilo,  $C_2-C_8$  alquenoilo,  $C_2-C_8$  alquinilo,  $C_1-C_8$  haloalquilo,  $C_2-C_8$  haloalquenoilo,  $C_2-C_8$  haloalquinilo o ciclopropilo. En otras ciertas modalidades del compuesto de fórmula I,  $R^3$  es  $C_1-C_8$  alquilo o  $C_1-C_8$  haloalquilo o ciclopropilo. En otras modalidades particulares,  $R^3$  es  $C_1-C_3$  alquilo o  $C_1-$

C<sub>3</sub>haloalquilo. En otras modalidades específicas, R<sup>3</sup> es -CH<sub>3</sub> (metilo) o -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub> (etilo) o -CF<sub>3</sub> o -CHF<sub>2</sub>. Aun en otras modalidades, R<sup>3</sup> es metilo o trifluorometilo.

5 En una modalidad del compuesto de fórmula (I), R<sup>4</sup> es -OH, o -NZ<sup>1</sup>Z<sup>2</sup>, donde - Z<sup>1</sup> y Z<sup>2</sup> son cada una independientemente H, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alquilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>alquenilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alquinilo, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> haloalquenoilo o C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>haloalquinilo o en donde Z<sup>1</sup> y Z<sup>2</sup> se unen para formar un anillo. Cuando Z<sup>1</sup> y Z<sup>2</sup> se unen para formar un anillo, el anillo es un anillo heterocíclico en donde el heteroátomo es N. En una modalidad específica, R<sup>4</sup> es -OH o -NZ<sup>1</sup>Z<sup>2</sup> en donde Z<sup>1</sup> y Z<sup>2</sup> son cada una H o C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alquilo. En una modalidad más específica, Z<sup>1</sup> y Z<sup>2</sup> son cada una -CH<sub>3</sub> y -NZ<sup>1</sup>Z<sup>2</sup> es -N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.

10 En una modalidad del compuesto de fórmula (I), R<sup>5</sup> es C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>cicloalquilo (es decir, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo o ciclooctilo). En otra modalidad, R<sup>5</sup> es C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> cicloalquilo (es decir, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo o ciclohexilo). En una modalidad particular del compuesto de fórmula I, R<sup>5</sup> es ciclohexilo.

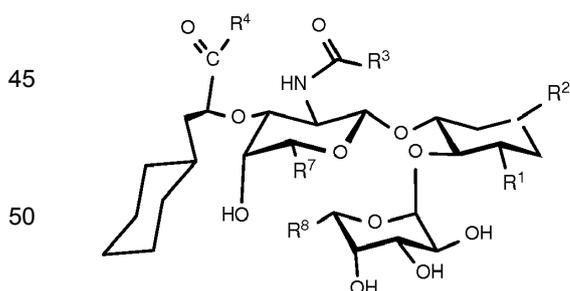
15 En una modalidad del compuesto de fórmula (I), R<sup>6</sup> es -OH, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alquilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alquenoilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alquinilo, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>haloalquenoilo o C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> haloalquinilo. En otras modalidades particulares del compuesto de fórmula 1, R<sup>6</sup> es -OH.

20 En una modalidad del compuesto de fórmula (I), R<sup>7</sup> es -CH<sub>2</sub>OH, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alquilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alquenoilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alquinilo, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> haloalquenoilo o C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> haloalquinilo. Aun en otra modalidad específica del compuesto de fórmula I, R<sup>7</sup> es -CH<sub>2</sub>OH, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alquilo, o C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>haloalquilo. En otras modalidades particulares, R<sup>7</sup> es -CH<sub>2</sub>OH o -CH<sub>3</sub>. En otra modalidad específica, R<sup>7</sup> es C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> haloalquilo. En una modalidad más específica, R<sup>7</sup> es -CH<sub>2</sub>F, -CHF<sub>2</sub> o -CF<sub>3</sub>. En otra modalidad específica, R<sup>7</sup> es -CH<sub>2</sub>OH o -CHF<sub>2</sub>.

25 En una modalidad del compuesto de fórmula (I), R<sup>8</sup> es C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>alquilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alquenoilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alquinilo, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> haloalquenoilo o C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> haloalquinilo. En otra modalidad particular del compuesto de fórmula I, R<sup>8</sup> es C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alquilo o C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo. En otras modalidades particulares, R<sup>8</sup> es C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> alquilo o C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> haloalquilo. En una modalidad más particular, R<sup>8</sup> es metilo (-CH<sub>3</sub>), -CH<sub>2</sub>F, -CHF<sub>2</sub> o trifluorometilo (-CF<sub>3</sub>). En otra modalidad particular, R<sup>8</sup> es metilo o trifluorometilo (-CF<sub>3</sub>).

30 En una modalidad particular del compuesto de fórmula I, al menos uno o al menos dos de R<sup>1</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> es C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo. En otras ciertas modalidades, al menos uno de R<sup>3</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> es C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>haloalquilo. En otras modalidades particulares. R<sup>2</sup> es una porción no glicomimética (M) enlazadora (L) como se define en la presente descripción; aún en otras modalidades particulares, R<sup>2</sup> es una porción no glicomimética (M) enlazadora (L) y al menos uno de R<sup>1</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> es C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo. Cuando dos o más de R<sup>1</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> son C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo, los haloalquilos se seleccionan independientemente, es decir, pueden ser iguales o diferentes o ambos (si al menos tres están presentes). Puede mejorarse la biodisponibilidad oral de un compuesto y/o aumentar la semivida del compuesto cuando al menos uno o más de R<sup>1</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> es C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo y cuando R<sup>2</sup> comprende una porción no glicomimética (-L-M) enlazadora (L).

40 En otra modalidad del compuesto de fórmula (I) proporcionado en la presente descripción, R<sup>5</sup> es ciclohexilo y R<sup>6</sup> es -OH y el compuesto de fórmula (I) tiene la siguiente fórmula (Ia):



55 o una sal farmacéuticamente aceptable (es decir, sal fisiológicamente adecuada), isómero, tautómero, hidrato o solvato de esta,

en donde R<sup>1</sup> es C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alquilo o C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo;  
 R<sup>2</sup> es una porción no glicomimética enlazadora en donde la porción no glicomimética comprende polietilenglicol;  
 60 R<sup>3</sup> es C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alquilo, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo, o ciclopropilo;  
 R<sup>4</sup> es -OH o -NZ<sup>1</sup>Z<sup>2</sup> donde Z<sup>1</sup> y Z<sup>2</sup> son cada uno independientemente H o C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alquilo;  
 R<sup>7</sup> es -CH<sub>2</sub>OH, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alquilo, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo, y  
 R<sup>8</sup> es C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alquilo o C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo.

65 En ciertas modalidades, halo es F.

En otras modalidades particulares, R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>X, -CHF<sub>2</sub>, -CF<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>F, -CH<sub>2</sub>CHF<sub>2</sub>, o -CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>.

En otras modalidades, R<sup>3</sup> es -CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>X, -CHF<sub>2</sub>, o -CF<sub>3</sub>.

5 En aun otra modalidad particular, R<sup>4</sup> es -OH o -N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.

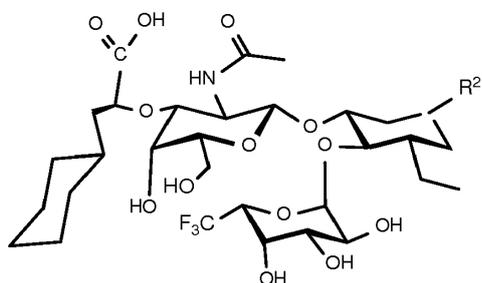
En otras modalidades, R<sup>7</sup> es -CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>X, o -CF<sub>2</sub>, o -CF<sub>3</sub>.

En otra modalidad específica, R<sup>8</sup> es -CH<sub>3</sub>, -CHF<sub>2</sub>X, -CHF<sub>2</sub>, o -CF<sub>3</sub>.

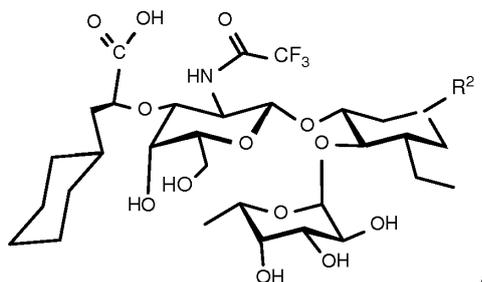
10

En ciertas modalidades particulares, se proporcionan compuestos ilustrativos de fórmula (I), en donde R<sup>1</sup> es etilo, CF<sub>3</sub>, o -CHF<sub>2</sub>; R<sup>3</sup> es metilo o -CF<sub>3</sub>; R<sup>4</sup> es -OH o -N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>; R<sup>5</sup> es ciclohexilo; R<sup>6</sup> es -OH; R<sup>7</sup> es -CH<sub>2</sub>-OH, -CHF<sub>2</sub>, o CF<sub>3</sub>; R<sup>8</sup> es metilo, -CF<sub>3</sub>, o -CHF<sub>2</sub>; y R<sup>2</sup> es una porción no glicomimética (M) enlazadora (L) como se describió anteriormente para un compuesto de fórmula I. Los ejemplos descritos en la presente descripción tienen una de las siguientes fórmulas

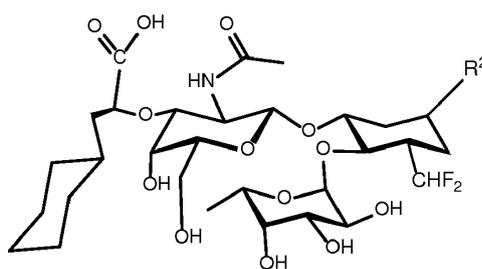
15



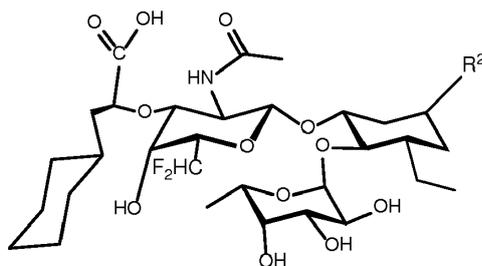
(Id);



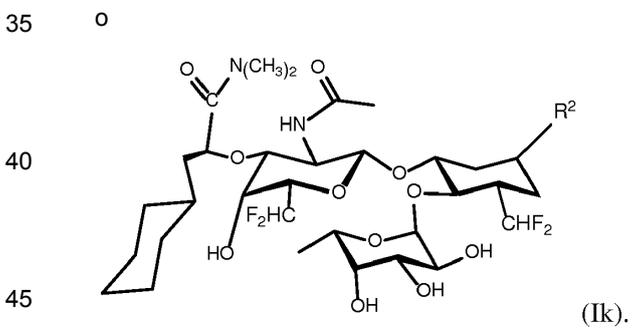
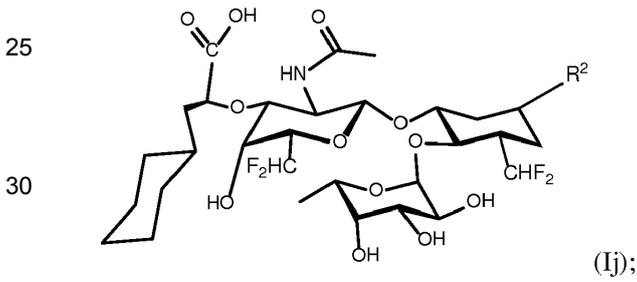
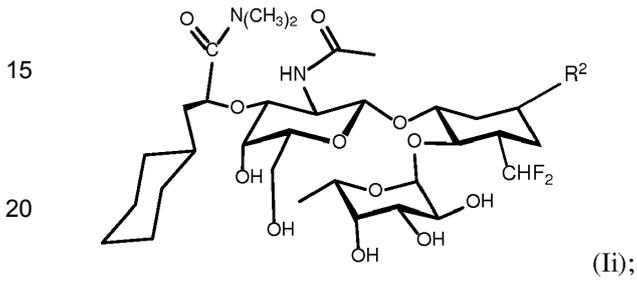
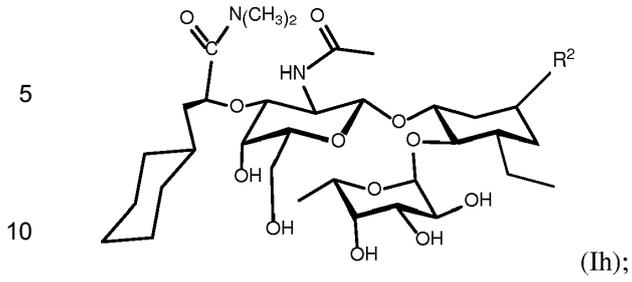
(Ie);



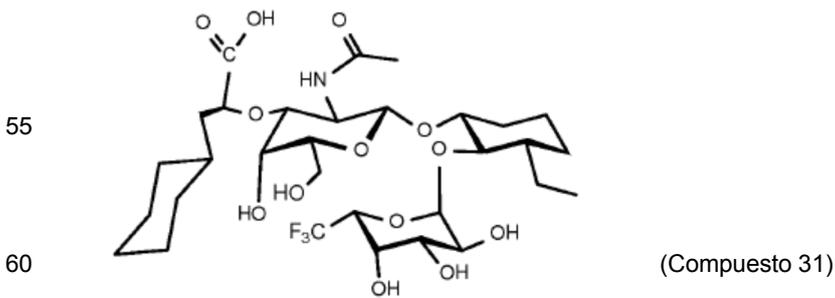
(If);



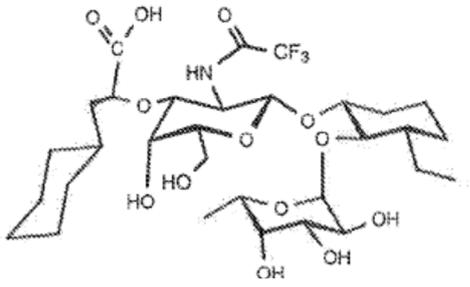
(Ig);



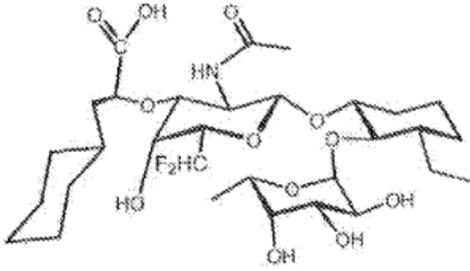
Se describen además en la presente descripción los compuestos en donde R<sup>2</sup> es H, -C(=O)NH(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, o -C(=O)OCH<sub>3</sub> (descrito además como -COOCH<sub>3</sub>), y los compuestos ilustrativos tienen una de las siguientes fórmulas.



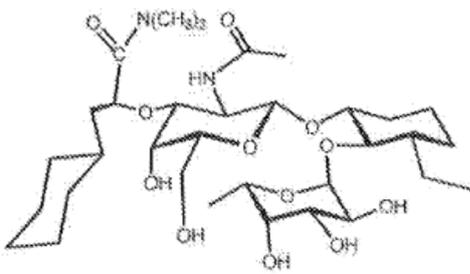
65



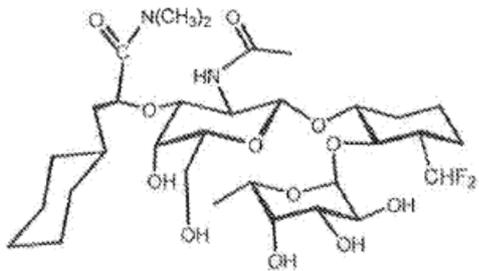
(compuesto 32)



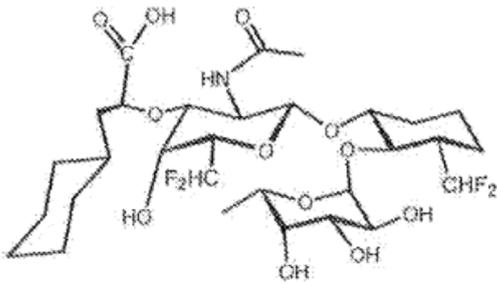
(Compuesto 33)



(Compuesto 40)

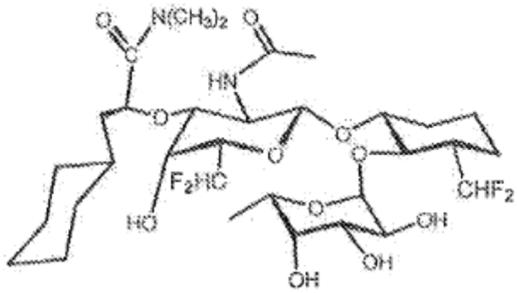


(Compuesto 41);



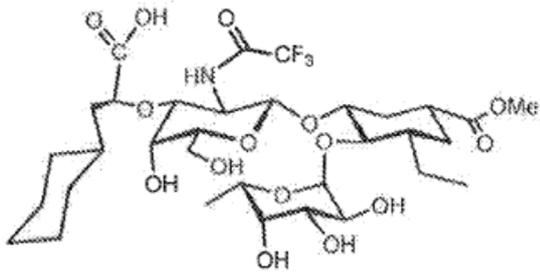
(Compuesto 36)

5



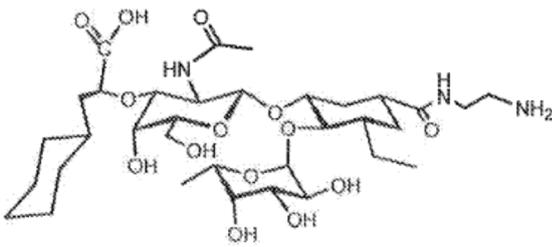
(Compuesto 42);

15



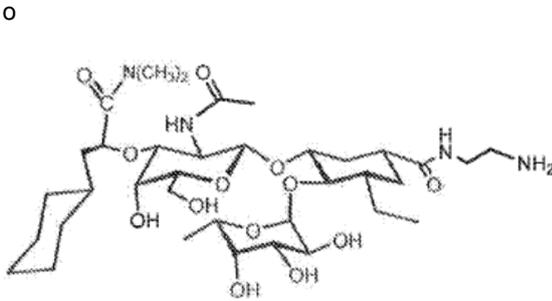
(Compuesto 27);

25



(Compuesto 23);

35

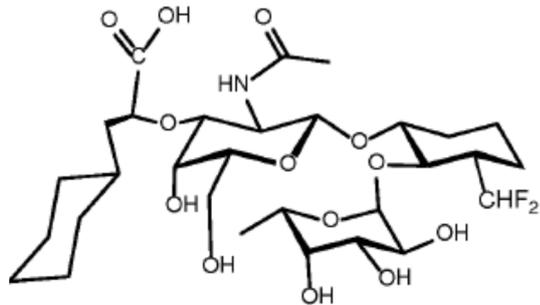


(Compuesto 43);

45

Se describen además en la presente descripción los siguientes compuestos de fórmulas (I):

50



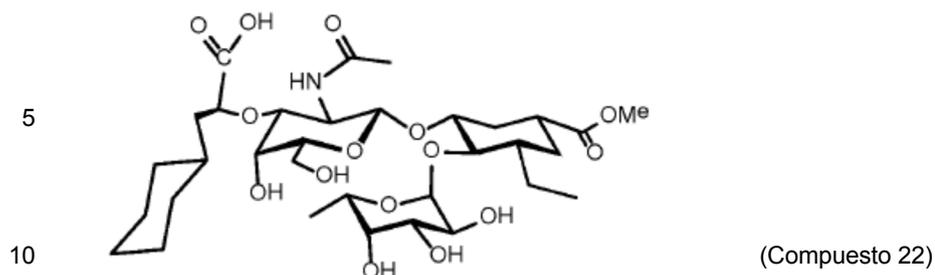
55

60

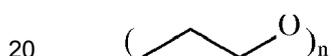
(Compuesto 30);

65

y

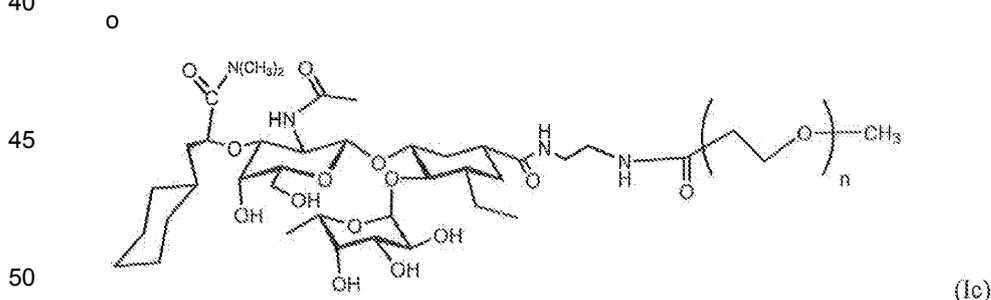
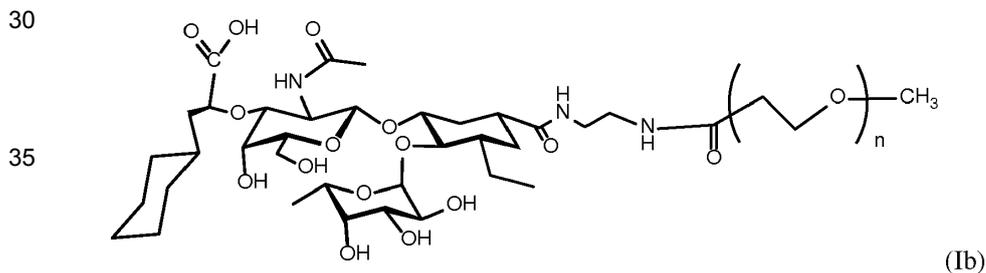


15 En una modalidad particular del compuesto de fórmula I y fórmula Ia, R<sup>2</sup> comprende una porción no glicomimética que es un polietilenglicol (PEG). PEG es un polímero de unidades repetitivas de óxido de etileno. La longitud y, así, el peso molecular varía en dependencia de cuántas unidades repetitivas estén presentes. Las unidades de óxido de etileno se abrevian en la presente descripción como



25 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 modalidades particulares, n es 4, 8, 12, 16, 20, 24, o 28.

En modalidades particulares, PEG es la porción no glicomimética (M) y el enlazador (L) es -C(=O)NH(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>NHC(=O)- para proporcionar uno de los siguientes compuestos que tienen fórmula (Ib) o (Ic):

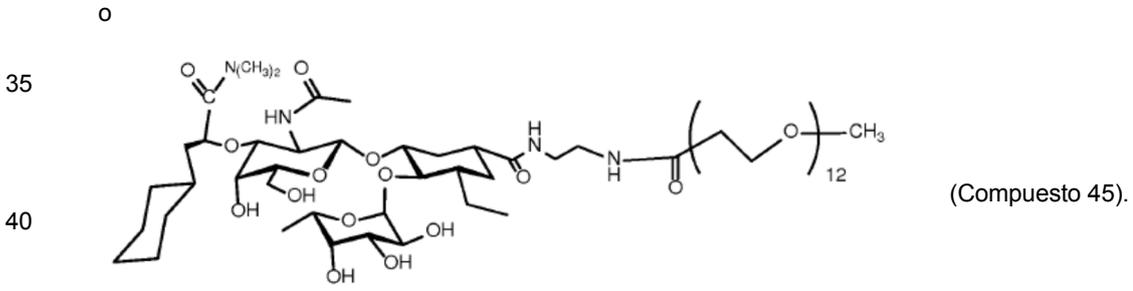
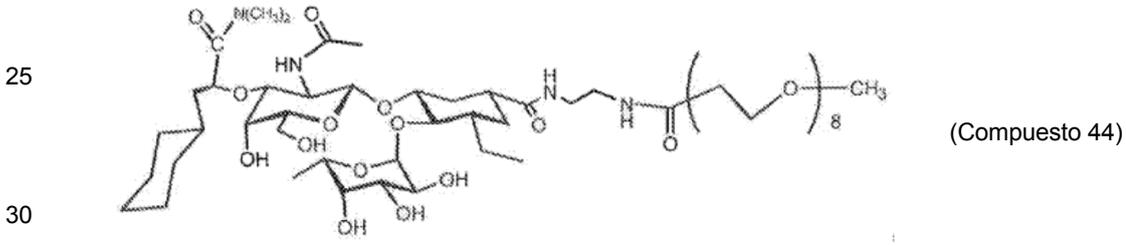
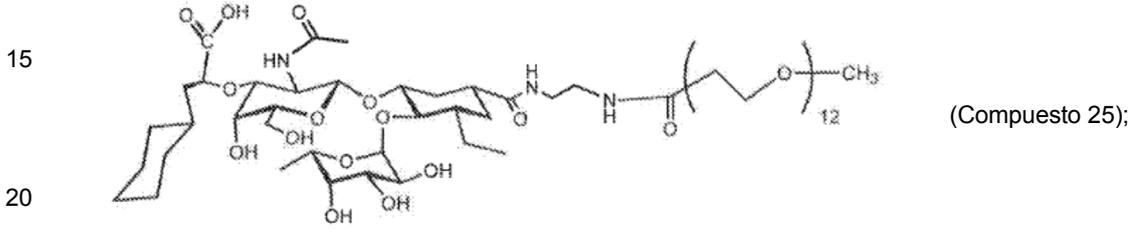
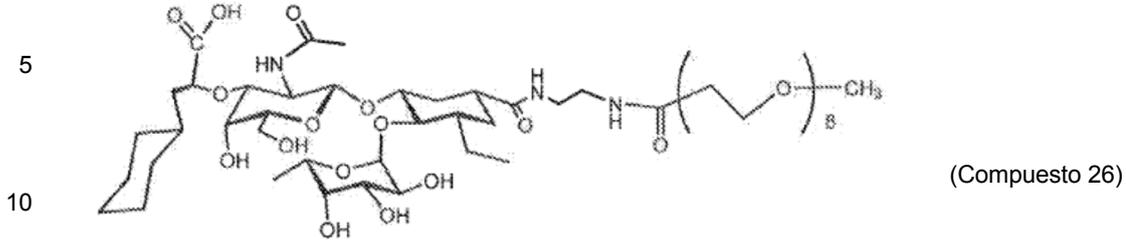


55 en donde n es 1 a 100. En modalidades particulares, n es 4, 8, 12, 16, 20, 4, o 28.

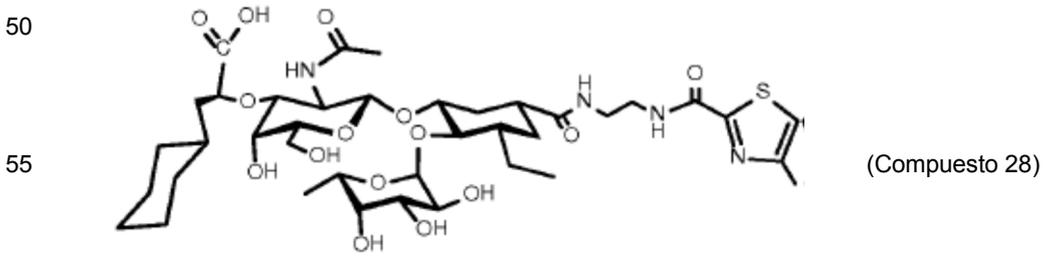
En otras modalidades particulares cuando M es PEG, el compuesto de fórmula (I) tiene una de las fórmulas:

60

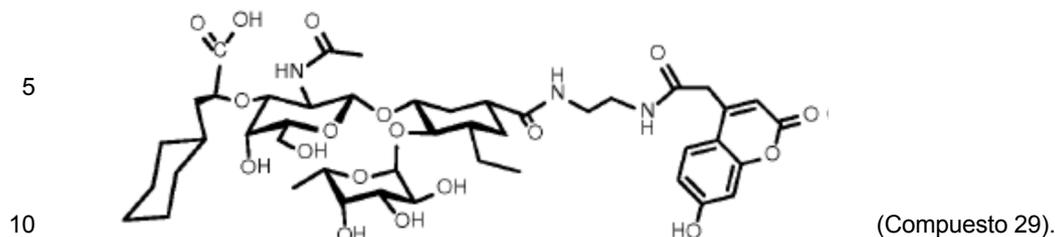
65



45 En otros compuestos descritos en la presente descripción, R<sup>2</sup> es una porción no glicomimética (M) enlazadora, y la porción no glicomimética es tiazolilo o cromenilo, por ejemplo, 4-metiltiazolilo o 7-hidroxi-2H-cromen-2-on-ilo y el compuesto de fórmula (I) tiene una de las fórmulas siguientes:



60  
65



15 Los compuestos de fórmula I incluyen todos los isómeros, sales fisiológicamente aceptables (*es decir*, sales farmacéuticamente aceptables), hidratos, solvatos, polimorfos, metabolitos y profármacos de cualquiera de estos. Los isómeros son estereoisómeros (*por ejemplo*, enantiómeros y racematos) y tautómeros.

20 Además, se proporcionan en la presente descripción composiciones farmacéuticas que comprenden uno o más de los compuestos de fórmula (I), subestructuras (*por ejemplo*, fórmula (Ia), (Ib), (Ic), (Id), (Ie), (If), (Ig), (Ih), (Ii), y (Ik)) y estructuras específicas de estos, y un excipiente farmacéuticamente aceptable. Una composición de fórmula (I) o una composición farmacéutica que comprende el compuesto que puede usarse en los métodos descritos en la presente descripción. Como se discute detalladamente en la presente, se proporcionan métodos para movilizar células, incluyendo células hematopoyéticas (*por ejemplo*, células madre hematopoyéticas, células progenitoras hematopoyéticas) leucocitos tales como neutrófilos, monocitos, linfocitos, eosinófilos y basófilos, y células tumorales de la médula ósea en un sujeto que comprende administrar al sujeto un compuesto de fórmula (I), subestructuras y estructuras específicas o una composición farmacéutica que comprende un excipiente farmacéuticamente aceptable y cualquier uno o más de estos compuestos que tienen la estructura de fórmula I.

### 30 Definiciones

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.

35 Como se usa en la presente descripción, un "C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alquilo," "C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> alquilo," "C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilo" o "C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> alquilo," se refiere a un sustituyente alcano con uno a ocho, de uno a seis, de uno a cuatro, o de uno a tres átomos de carbono, respectivamente, y pueden ser de cadena lineal, ramificada o cíclica (*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 "C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo" se refiere a un C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> 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 "C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alquenilo" o "C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub> alquenilo" 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, ramificada o cíclica (cicloalquenilo). Los ejemplos son similares a los ejemplos "C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alquilo" excepto que el alquenilo tiene al menos un doble enlace carbono-carbono. Un "C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> haloalquenilo" se refiere a un C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alquenilo 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 "C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alquinilo" o "C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub> alquinilo" se refiere a un 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, ramificada o cíclica (*por ejemplo*, cicloalquinilo). Los ejemplos son similares a los ejemplos "C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alquilo" excepto que el alquinilo tiene al menos un triple enlace carbono-carbono. Un "C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> haloalquinilo" se refiere a un "C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alquinilo" 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).

55 Una porción no glicomimética (M) es una porción que confiere una o más propiedades ventajosas sobre el compuesto que mejora la eficacia y el uso del compuesto *in vivo*. Los ejemplos de tales propiedades incluyen una solubilidad en agua aumentada, inmunogenicidad disminuida, estabilidad mejorada y 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 "Ariilo" 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 ariilo puede ser un sistema de anillo monocíclico, bicíclico, tricíclico o tetracíclico, que puede incluir sistemas de anillo fusionados o puenteados. Los radicales ariilo incluyen, pero no se limitan a, radicales ariilo derivados de los sistemas de anillos hidrocarbonados de aceantrileno, acenaftileno, acefenantrileno, antraceno, azuleno, benceno, criseno, fluoranteno, fluoreno, as-indaceno, s-indaceno, indano, indeno,

naftaleno, fenaleno, fenantreno, pleiadeno, 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.

5 "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.

10 "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.

25 "Heterociclilalquilo" 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 heterociclilalquilo de 6 miembros se refiere a un heterociclilalquilo, 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 heterocicloalquilo puede estar opcionalmente sustituido.

35 "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, 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.

50 "Heterociclilalquilo" 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.

60 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, se pretende que se incluyan, además, 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 incluyan "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 se describe en la presente descripción. Los profármacos típicamente se transforman rápidamente *in vivo* para producir el compuesto original descrito en la presente descripción, por ejemplo, mediante hidrólisis en la 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, "Prodrugs 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 cualquiera de los portadores unidos covalentemente que libere el compuesto activo como se describe en la presente descripción *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.

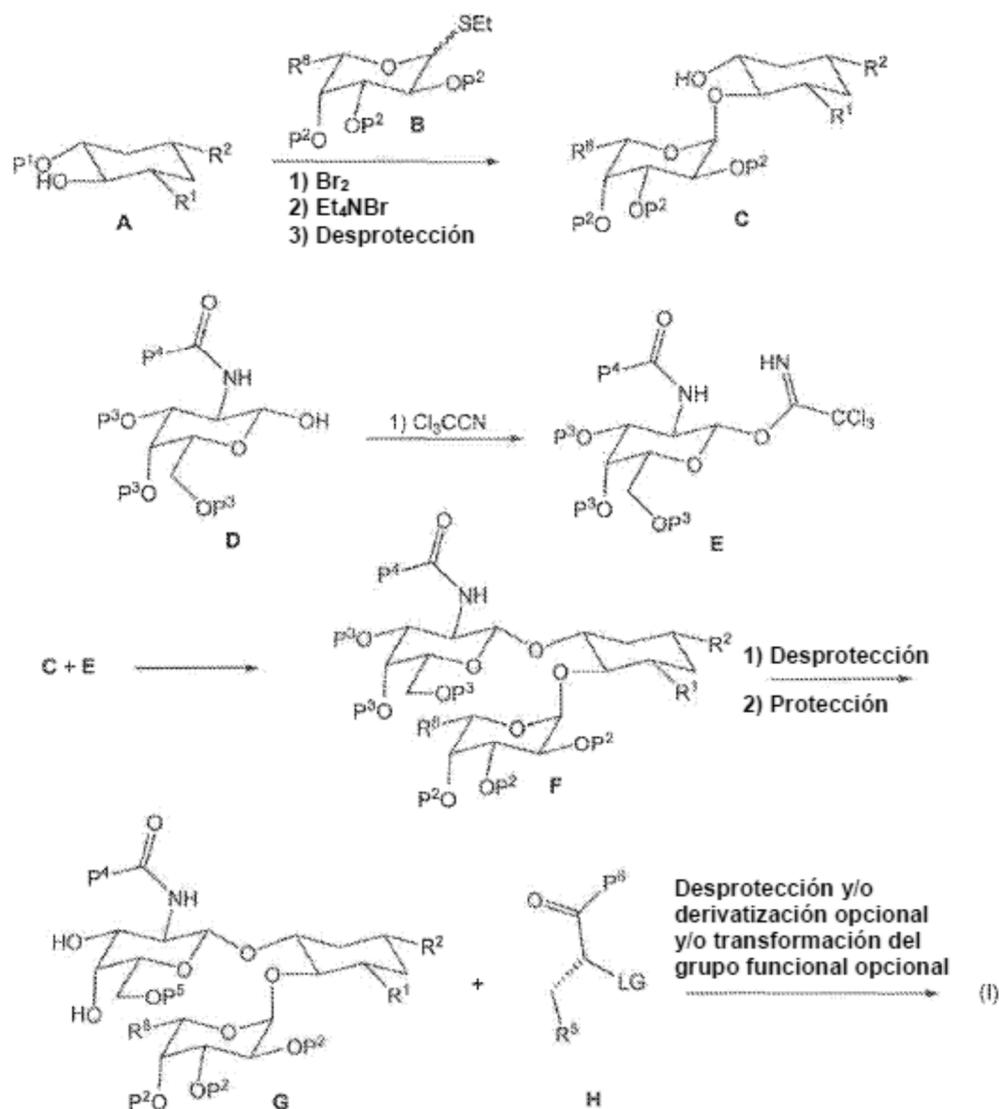
#### 55 Procedimientos de síntesis de compuestos

La síntesis de los compuestos de fórmula I (y subestructuras, y compuestos específicos) puede realizarse como se describe en la presente descripción, 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 diagramas de esquemas de síntesis para compuestos ilustrativos descritos en la presente descripción.

65

En general, los compuestos de fórmula (I) pueden prepararse de acuerdo con el siguiente Esquema de Reacción General 1:

Esquema de Reacción General 1



Con referencia al Esquema 1 de Reacción General, los compuestos de estructura A, en donde R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son como se definieron para la fórmula (I), o son porciones que pueden convertirse sintéticamente a R<sup>1</sup> o R<sup>2</sup>, y P<sup>1</sup> es un grupo protector adecuado, puede adquirirse de fuentes comerciales o prepararse de acuerdo con los métodos conocidos en la técnica. Similarmente, los compuestos de estructura B, en donde R<sup>8</sup> se definió para la fórmula (I), o es una porción que pueden convertirse sintéticamente a R<sup>8</sup>, y P<sup>2</sup> es un grupo protector adecuado, puede adquirirse de fuentes comerciales o prepararse de acuerdo con los métodos conocidos en la técnica. La reacción de A con B, bajo condiciones apropiadas (*por ejemplo*, bromo seguido de bromuro de tetraetilamonio) y la posterior eliminación selectiva de P<sup>1</sup> produce compuestos de estructura C.

En un esquema paralelo, el compuesto D, en donde P<sup>3</sup> es un grupo protector adecuado y P<sup>4</sup> es un grupo protector adecuado o una porción que puede manipularse sintéticamente para obtener R<sup>3</sup> (como se definió para la fórmula (I)), puede adquirirse o prepararse de acuerdo con las técnicas conocidas. La reacción de D con un agente activante adecuado (*por ejemplo*, Cl<sub>3</sub>CCN) produce el compuesto activado E. Otros medios adecuados para activar los 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 P<sup>3</sup>, seguida de protección selectiva produce compuestos de estructura **G**, en donde P<sup>5</sup> es un grupo protector adecuado. La reacción de **G** con **H**, en donde P<sup>6</sup> es un grupo protector adecuado o una porción que puede manipularse sintéticamente para obtener R<sup>4</sup> (como se define para la fórmula (I)), R<sup>5</sup> 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, P<sup>4</sup>, puede ser un grupo aliloxi que puede transformarse para obtener una alquilamida (por ejemplo, metilo). En otros ejemplos, R<sup>1</sup> 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 R<sup>6</sup> y/o R<sup>7</sup>. 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, bencil, y similares. Los grupos protectores adecuados para amino, amidino y guanidino incluyen *t*-butoxicarbonilo, benciloxicarbonilo 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 se describe en la presente descripción. 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, que están disponibles 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, D.C., 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. (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).

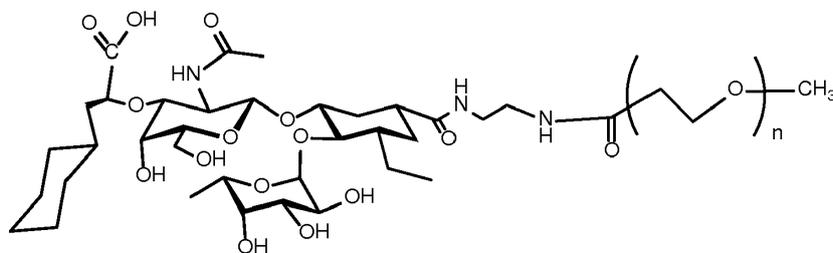
Los métodos conocidos por los expertos en la técnica pueden identificarse a través de diversos libros de referencia, artículos y bases de datos. Libros de referencia y tratados adecuados que detallan la síntesis de reactivos útiles en la preparación de compuestos de la presente descripción, o proporcionan 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.

#### Antagonistas de la E-selectina no Glicomiméticos

Como se indicó anteriormente, además de los compuestos de fórmula I descritos en la presente descripción, se describen otros agentes que se unen en o cerca del sitio de unión en E-selectina a la que se unen los compuestos. Por lo tanto, los agentes incluyen aquellos que son capaces de competir con un compuesto de fórmula I para inhibir 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 mediante el uso de un compuesto descrito en la presente descripción como un inhibidor competitivo. Alternativamente, por ejemplo, la porción de E-selectina que se une al compuesto 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.

En la presente descripción se describe un método para movilizar células, por ejemplo, células hematopoyéticas (*por ejemplo*, células madre hematopoyéticas, células progenitoras hematopoyéticas, leucocitos tales como neutrófilos) o células tumorales (*por ejemplo*, células tumorales hematopoyéticas o células malignas) en un sujeto que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica que comprende un excipiente farmacéuticamente aceptable y un agente que es capaz de inhibir competitivamente la unión de un compuesto de fórmula (I) a E-selectina, en donde el agente es un anticuerpo, polipéptido, péptido o aptámero. En ciertos métodos específicos, el agente es capaz de inhibir competitivamente la unión de un compuesto a E-selectina en donde el compuesto tiene la siguiente estructura:



en donde  $n = 1-100$ . En modalidades particulares,  $n = 8, 12, 16, 20, 24, \text{ o } 28$ .

Anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de estos.

Además, se describen en la presente descripción agentes, que pueden ser un anticuerpo, polipéptido, péptido o aptámero que son antagonistas de la E-selectina y pueden ser útiles para los métodos y usos descritos en la presente descripción. Tales agentes se unen a E-selectina 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.

Un agente incluye un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno de este, que se une específicamente a E-selectina. Como se describe en la presente descripción, el epítipo al que se une a dicho anticuerpo comprende aminoácidos en o cerca del sitio de unión en E-selectina a la que se une un compuesto como se proporciona en la presente descripción. El epítipo al que se une dicho anticuerpo puede incluir uno o más aminoácidos contiguos con los residuos a los que se une un compuesto como se proporciona en la presente descripción y/o puede incluir uno o más residuos de aminoácidos que no son contiguos pero que interactúan con el compuesto.

Como se usa en la presente descripción, se dice que un anticuerpo es "inmuno-específico", "específico para" o "se une específicamente" a un antígeno de interés si reacciona a un nivel detectable con el antígeno. Las afinidades de los anticuerpos y los fragmentos de unión al antígeno de este pueden determinarse fácilmente mediante el uso de técnicas convencionales, por ejemplo, las descritas por Scatchard y otros. (Ann. N.Y. Acad. Sci. USA 51:660 (1949)) y por resonancia de plasmón superficial (SPR) (*ver, por ejemplo*, Wolff y otros, Cancer Res. 53:2560-2565 (1993)). Las propiedades de unión de un anticuerpo a un antígeno generalmente pueden determinarse y evaluarse mediante el uso de métodos de inmunodetección que incluyen, por ejemplo, un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA), inmunoprecipitación, inmunotransferencia, contraelectroforesis, radioinmunoensayos, ensayos de membrana de transferencia puntual, ensayos de inhibición o competición y similares, que pueden realizarse fácilmente los expertos en la técnica (*ver, por ejemplo* las patentes de los Estados Unidos núms. 4,376,110 y 4,486,530; Harlow y otros, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory (1988)).

Estos anticuerpos específicos pueden ser policlonales o monoclonales, preparados mediante la inmunización de animales y el posterior aislamiento del anticuerpo, o clonados a partir de células B específicas de acuerdo con los métodos y técnicas rutinariamente practicados en la técnica y descritos en la presente descripción. Una región variable o una o más regiones determinantes de complementariedad (CDR) pueden identificarse y aislarse a partir de las bibliotecas de fragmentos o péptidos de unión a antígenos. Un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno de este, puede ser genéticamente modificado y/o producido por vía recombinante.

Un anticuerpo puede pertenecer a cualquier clase de inmunoglobulina. Puede obtenerse o derivarse de un animal, por ejemplo, ave de corral (*por ejemplo*, gallina) y mamíferos, que incluyen pero no se limitan a un ratón, rata, hámster, conejo u otro roedor, una vaca, un caballo, oveja, cabra, camello, humano u otro primate. El anticuerpo puede ser un anticuerpo internalizador. Los anticuerpos pueden prepararse generalmente por cualquiera de una variedad de técnicas conocidas por los expertos en la técnica y que se describen en la presente descripción. *Ver, por ejemplo*, Harlow y otros, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory (1988); Peterson, ILAR J. 46:314-19 (2005); Kohler y Milstein (Nature, 256:495-97 (1976); Eur. J. Immunol. 6:511-19 (1975); Coligan y otros (eds.), Current Protocols in Immunology, 1:2.5.1-2.6.7 (John Wiley & Sons 1991)).

Los anticuerpos monoclonales anti-E-selectina humana pueden generarse por cualquiera de las numerosas técnicas con las que los expertos en la técnica serán familiares (*ver, por ejemplo*, la patente de los Estados Unidos núm. 4,464,456; Lonberg y otros, Nature 368:856 (1994); la patente de los Estados Unidos núm. 5,877,397; Bruggemann y otros, Curr. Opin Biotechnol. 8:455-58 (1997); Jakobovits y otros, Ann. N. Y. Acad. Sci. 764:525-35 (1995)); (el documento de patente núm. WO 92/02551; la patente de los Estados Unidos núm. 5,627,052; Babcook y otros, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:7843-48 (1996); u otros procedimientos conocidos en la técnica). Pueden generarse además anticuerpos quiméricos, específicos para la porción de E-selectina de interés, que incluyen anticuerpos quiméricos humanizados. *Ver, por ejemplo*, Morrison y otros, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-55 (1984); Shin y otros, Methods Enzymol. 178:459-76 (1989)). Las estrategias para diseñar anticuerpos humanizados se practican rutinariamente en la técnica (*ver, por ejemplo*, Jones y otros, Nature 321:532-25 (1986); Riechmann y otros, Nature 332:323-27 (1988); Padlan y otros, FASEB 9:133-39 (1995); Chothia y otros, Nature, 342:377-83 (1989); Bajorath y otros, Ther. Immunol. 2:95-103 (1995)).

Para usos particulares, pueden desearse fragmentos de anticuerpos que se unen a antígenos. Los fragmentos de anticuerpos, F(ab')<sub>2</sub>, Fab, Fab', Fv, y Fd, pueden obtenerse, por ejemplo, mediante hidrólisis proteolítica del anticuerpo (*Ver, por ejemplo*, Weir, Handbook of Experimental Immunology, Blackwell Scientific, Boston (1986)), o pueden prepararse sintéticamente o por modificación genética. Los fragmentos de anticuerpo incluyen moléculas polipeptídicas de cadena simple recombinantes en las que las regiones variables ligera y pesada están conectadas por un enlazador peptídico (proteínas scFv) y unidades de reconocimiento mínimas (comprende al menos una CDR) que consta de residuos de aminoácidos que imitan a la región hipervariable. Los métodos y técnicas para preparar y aislar fragmentos de anticuerpos se describen en la técnica (*ver, por ejemplo*, Larrick y otros, Methods: A Companion to Methods in Enzymology 2:106, (1991); Courtenay-Luck, in Monoclonal Antibodies: Production, Engineering and Clinical Application, Ritter y otros (eds.), pág. 166 (Cambridge University Press 1995); y Ward y otros, in Monoclonal Antibodies: Principles and Applications, Birch y otros, (eds.), pág. 137 (Wiley-Liss, Inc. 1995); solicitud de patente internacional núms. PCT/US91/08694 y PCT/US91/04666; Scott y otros, Science 249:386 (1990); Devlin y otros, Science 249:404 (1990); Cwirla y otros, Science 276: 1696-99 (1997); patente de los Estados Unidos núm. 5,223,409, patente de los Estados Unidos núm. 5,733,731, patente de los Estados Unidos núm. 5,498,530, patente de los Estados Unidos núm. 5,432,018; patente de los Estados Unidos núm. 5,338,665, patente de los Estados Unidos núm. 5,922,545; publicación de la solicitud internacional núms. WO 96/40987 y WO 98/15833).

Los anticuerpos pueden identificarse y aislarse también de bibliotecas de fagos de inmunoglobulinas humanas, de conejo, de ratón o de pollo. Los anticuerpos aislados de especies no humanas o bibliotecas de inmunoglobulinas no humanas pueden modificarse por ingeniería genética para "humanizar" el anticuerpo o fragmento de este. *Ver, por ejemplo*, Winter y otros, Annu. Rev. Immunol. 12:433-55 (1994); Burton y otros, Adv. Immunol. 57:191-280 (1994); patente de los Estados Unidos núm. 5,223,409; Huse y otros, Science 246:1275-81 (1989); Kang y otros, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:4363-66 (1991); Hoogenboom y otros, J. Molec. Biol. 227:381-388 (1992); patente de los Estados Unidos núm. 6,703,015).

Un agente que es un antagonista de E-selectina incluye además un polipéptido de fusión péptido-región constante de inmunoglobulina (Ig), que incluye un polipéptido de fusión péptido-IgFc. El péptido puede ser cualquier molécula de origen natural o preparada de forma recombinante. Un polipéptido de fusión péptido-región constante de Ig, tal como un polipéptido de fusión péptido-IgFc (además referido en la técnica como un pepticuerpo (*ver, por ejemplo*, patente de los Estados Unidos núm. 6,660,843)), comprende un péptido o polipéptido biológicamente activo capaz de alterar la función de unión de sLe<sup>a</sup> o sLe<sup>x</sup> de E-selectina que se fusiona en marco con una porción, al menos un dominio de región constante (*por ejemplo*, CH1, CH2, CH3, y/o CH4). Se proporcionan secuencias relacionadas con anticuerpos en Kabat y otros. (en Sequences of Proteins of Immunological Interest, 4ta Edición. (Departamento de Salud y Servicios Humanos de Estados Unidos, Oficina de Imprenta del Gobierno, 1991).

#### Péptidos y peptidomiméticos

La interacción entre E-selectina y sLe<sup>a</sup> o sLe<sup>x</sup> 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<sup>4</sup> daltons, menor de 10<sup>3</sup> daltons, o menor de 10<sup>2</sup> daltons.

#### 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. A modo de ejemplo, los modelos animales de ratón se usan en la técnica para determinar la movilización de células, que incluyen células hematopoyéticas, tales como células madre hematopoyéticas y células progenitoras hematopoyéticas, glóbulos blancos maduros o células tumorales. El número de células hematopoyéticas a lo largo del tiempo puede determinarse fácilmente mediante el uso de análisis y ensayos macroscópicos (*por ejemplo*, inmunoensayos para detectar marcadores particulares presentes en diferentes tipos de células hematopoyéticas). 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. Los expertos 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 la 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<sup>a</sup> o sLe<sup>x</sup>. El ensayo de inhibición puede ser un ensayo de unión competitiva, que permite la determinación de los valores de IC<sub>50</sub>. 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<sup>a</sup> que comprende un grupo reportero bajo condiciones y durante un tiempo suficiente para permitir que sLe<sup>a</sup> se una a la E-selectina inmovilizada; lavar la E-selectina inmovilizada; y detectar la cantidad de sLe<sup>a</sup> enlazada a E-selectina inmovilizada. Las variaciones de tales etapas pueden ser completadas de manera fácil y rutinaria por un experto en la técnica.

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.

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.

#### 10 Métodos para movilizar células de la médula ósea

Los agentes antagonistas de la E-selectina descritos en la presente descripción, que incluyen glicomiméticos, anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de estos, polipéptidos, péptidos y aptámeros pueden ser útiles en métodos para movilizar células desde la médula ósea a la vasculatura y tejidos periféricos. Como se analiza en la presente descripción, en ciertas modalidades, los agentes antagonistas de la E-selectina son útiles para movilizar células hematopoyéticas, que incluyen células madre hematopoyéticas y células progenitoras hematopoyéticas. Como se describe en la presente descripción, los compuestos de E-selectina actúan como agentes de movilización de tipos de células sanguíneas normales. En consecuencia, en otras modalidades, los agentes se usan en métodos para movilizar glóbulos blancos maduros (que además pueden denominarse leucocitos en la presente descripción), tales como granulocitos (*por ejemplo*, neutrófilos, eosinófilos, basófilos), linfocitos y monocitos de la médula ósea u otros compartimentos de células inmunes tales como el bazo y el hígado. Además se proporcionan métodos para usar los compuestos glicomiméticos descritos en la presente descripción para movilizar células tumorales de la médula ósea. Las células tumorales pueden ser células malignas (*por ejemplo*, células tumorales que son células cancerosas metastásicas, o células tumorales altamente invasivas) en cánceres. Estas células tumorales pueden ser de origen hematopoyético o pueden ser células malignas de otro origen que residen en el hueso. Las células tumorales hematopoyéticas incluyen, a modo de ejemplo no limitante, células AML y células de mieloma múltiple. El uso de los compuestos glicomiméticos descritos en la presente descripción puede facilitar la movilización de células tumorales desde los nichos de endotelio protector y así hacer que las células tumorales sean más susceptibles a fármacos quimioterapéuticos estándar u otros tratamientos contra el cáncer. En ciertas modalidades, los antagonistas de la E-selectina descritos en la presente descripción son, por lo tanto, útiles para tratar neoplasias hematológicas y enfermedad metastásica, particularmente en combinación o como una terapia adjunta con quimioterapia y/o radioterapia.

En ciertas modalidades, los antagonistas de la E-selectina descritos en la presente descripción son útiles para movilizar células hematopoyéticas, tales como células madre hematopoyéticas y células progenitoras y leucocitos (que incluyen granulocitos tales como neutrófilos), que se recolectan (*es decir*, se cosechan, se obtienen) del sujeto que recibe el antagonista de E-selectina y en un momento posterior se administran de nuevo al mismo sujeto (donante autólogo) o se administran a un sujeto diferente (donador alogénico). El reemplazo de células madre hematopoyéticas y el trasplante de células madre hematopoyéticas se han usado con éxito para tratar una serie de enfermedades (que incluyen los cánceres) como se describe en la presente descripción y en la técnica. A modo de ejemplo, la terapia de reemplazo de células madre o el trasplante sigue a la mieloablación de un sujeto, tal como ocurre con la administración de dosis altas de quimioterapia y/o radioterapia. Convenientemente, un donante alogénico comparte suficientes antígenos HLA con el receptor/sujeto para minimizar el riesgo de enfermedad del huésped frente al injerto en el receptor (*es decir*, el sujeto que recibe el trasplante de células madre hematopoyéticas). La obtención de las células hematopoyéticas del sujeto donante (autólogo o alogénico) se realiza por aféresis o leucoféresis. La tipificación de HLA de un posible donante y el receptor y la aféresis o leucoféresis son métodos que se practican habitualmente en la técnica clínica.

A modo de ejemplo no limitativo, pueden usarse células madre hematopoyéticas autólogas o alogénicas y células progenitoras para tratar un sujeto receptor que tiene ciertos cánceres, tales como linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin o mieloma múltiple. Pueden usarse células madre hematopoyéticas alogénicas y células progenitoras para tratar un sujeto receptor que tiene leucemias agudas (*por ejemplo*, AML, ALL); leucemia linfocítica crónica (CLL); amegacariocitosis/trombocitopenia congénita; anemia aplásica/anemia refractaria; linfocitosis eritrofagocítica familiar; síndrome mielodisplásico/otros trastornos mielodisplásicos; osteopetrosis; hemoglobinuria paroxística nocturna; y el síndrome de Wiskott-aldrich, por ejemplo. Los usos ilustrativos de células madre hematopoyéticas autólogas y células progenitoras incluyen tratar a un sujeto receptor que tiene amiloidosis; tumores de células germinales (*por ejemplo*, cáncer testicular); o un tumor sólido. Los trasplantes alogénicos de células madre hematopoyéticas además se han investigado para su uso en el tratamiento de tumores sólidos (*ver, por ejemplo*, Ueno y otros, Blood 102:3829-36 (2003)).

En otras modalidades de los métodos descritos en la presente descripción, el sujeto no es un donante de células hematopoyéticas periféricas, pero tiene una enfermedad, trastorno o afección para la cual la movilización de células hematopoyéticas en el sujeto proporcionará un beneficio clínico. Dicho de otra manera, aunque esta situación clínica es similar al reemplazo de células hematopoyéticas autólogas, las células hematopoyéticas movilizadas no se eliminan y se devuelven al mismo sujeto en un momento posterior como ocurre, por ejemplo, con un sujeto que recibe terapia de mieloablación. En consecuencia, se proporcionan composiciones para su uso en métodos de movilización de células hematopoyéticas, tales como células madre hematopoyéticas y células progenitoras y leucocitos (que incluyen

granulocitos, tales como neutrófilos), administrando un antagonista de E-selectina descrito en la presente descripción. La movilización de células madre hematopoyéticas y células progenitoras puede ser útil para tratar una afección inflamatoria o para la reparación de tejidos o la curación de heridas. Ver, *por ejemplo*, Mimeault y otros, Clin. Pharmacol. Therapeutics 82:252-64 (2007)).

5 En otras modalidades, los compuestos descritos en la presente descripción son útiles para métodos de movilización de leucocitos hematopoyéticos (glóbulos blancos) en un sujeto, cuyos métodos pueden usarse en el tratamiento de enfermedades, trastornos y afecciones para los cuales un aumento en el número de glóbulos blancos, tales como neutrófilos, eosinófilos, linfocitos, monocitos, basófilos, proporcionarán un beneficio clínico. Por ejemplo, para pacientes con cáncer, los antagonistas de la E-selectina descritos en la presente descripción son beneficiosos para estimular la producción de neutrófilos para compensar los déficits hematopoyéticos que resultan de la quimioterapia o la radioterapia. Otras enfermedades, trastornos y afecciones a tratar incluyen enfermedades infecciosas y afecciones relacionadas, tales como la sepsis. Cuando el sujeto al que se le administra al menos un inhibidor de E-selectina es un donante, pueden recolectarse neutrófilos para su administración a un sujeto receptor que tiene una función hematopoyética reducida, función inmune reducida, recuento de neutrófilos reducido, movilización de neutrófilos reducida, neutropenia crónica grave, leucopenia, trombocitopenia, anemia y síndrome de inmunodeficiencia adquirida. La movilización de glóbulos blancos maduros puede ser útil en sujetos para mejorar o aumentar la reparación tisular, y para minimizar o prevenir la lesión vascular y el daño tisular, por ejemplo después de un trasplante de hígado, infarto de miocardio o isquemia de las extremidades. Ver, *por ejemplo*, Pelus, Curr. Opin. Hematol. 15:285-92 (2008); Lemoli y otros, Haematologica 93:321-24 (2008).

Un antagonista de E-selectina descrito en la presente descripción (*por ejemplo*, los compuestos de fórmula I) puede usarse en combinación con uno o más de otros agentes que movilizan células hematopoyéticas. Dichos agentes incluyen, por ejemplo, G-CSF; AMD3100 u otros antagonistas de CXCR4; GRO- $\beta$  (CXCL2) y una forma truncada 4-amino N-terminal (SB-251353); análogos peptídicos de IL-8SDF-1 $\alpha$ , CTCE-0021 y CTCE-0214; y el análogo de SDF1, Met-SDF-1 $\beta$  (Ver, *por ejemplo*, Pelus, *más arriba* y referencias citadas en la presente descripción). Los compuestos glicomiméticos de fórmula I descritos en la presente descripción tienen baja toxicidad; a modo de ejemplo, el compuesto 25 se tolera en ratones a una dosis de 1000 mg/kg. Por lo tanto, combinar un compuesto de fórmula I con otros agentes movilizantes usados en la técnica puede permitir la administración de una dosis inferior de G-CSF o AMD3100, por ejemplo, que la requerida en ausencia de un compuesto de fórmula I. El régimen terapéutico apropiado para administrar un antagonista de E-selectina en combinación con otro agente o agentes de movilización puede determinarse fácilmente por una persona experta en la técnica clínica.

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).

55 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.

La eficacia de un compuesto, agente o composición farmacéutica descrita en la presente descripción para tratar o prevenir una enfermedad o trastorno o afección, 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.

5 La movilización de células hematopoyéticas puede controlarse usando métodos y técnicas practicados rutinariamente en la técnica por la persona experta. Por ejemplo, la determinación del conteo total de glóbulos blancos y el recuento diferencial de glóbulos blancos son procedimientos de laboratorio clínico de rutina. Las células madre hematopoyéticas pueden identificarse identificando la presencia o ausencia de ciertos marcadores de superficie celular (*ver, por ejemplo*, Baum y otros, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:2804-2808 (1992)). Por ejemplo, la presencia y el nivel de células madre hematopoyéticas pueden determinarse por métodos que detectan la presencia de CD34 en la superficie de las células (es decir, células CD34<sup>+</sup>).

Composiciones farmacéuticas y métodos para usar composiciones farmacéuticas

15 Además se proporcionan en la presente descripción composiciones farmacéuticas que comprenden uno o más de los agentes antagonistas de la E-selectina descritos en la presente descripción, tales como uno o más de los compuestos glicomiméticos de fórmula I, subestructuras de fórmula Ia, y estructuras específicas de estos, descritos en la presente descripción. Los anticuerpos aislados 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 su uso en medicamentos y terapéuticos para movilizar células hematopoyéticas (que incluyen células madre hematopoyéticas y células progenitoras) y para tratamiento o tratamiento preventivo (o profiláctico) (*por ejemplo*, reduciendo la probabilidad de que ocurra o de la exacerbación de una enfermedad, o de uno o más síntomas de la enfermedad) de una enfermedad o trastorno para el cual es beneficiosa la movilización de células hematopoyéticas o para la cual es beneficioso recibir un trasplante o reemplazo de células hematopoyéticas. Los métodos y excipientes descritos en la presente descripción son ilustrativos y no son de ninguna manera limitantes.

30 En formas de dosificación farmacéutica, uno o más de los compuestos glicomiméticos de fórmula 1, 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.

35 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 antagonista de E-selectina descrito en la presente descripción) 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 se describe en la presente descripción, 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 se describen en la presente descripción. 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.

55 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.

65 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

5 el régimen de tratamiento proporciona la(s) composición(es) farmacéutica(s) como se describe en la presente descripción 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).

10 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.

15 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.

30 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.

40 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.

50 Para formulaciones orales, al menos uno de los agentes antagonistas de la 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.

60 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.

65

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 mediante la mezcla 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 la E-selectina 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); Lenneräs 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); Kijjavainen 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.

## EJEMPLOS

### Ejemplo 1

#### Síntesis del inhibidor de E-selectina

Los compuestos glicomiméticos ilustrativos de fórmula I 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.

Síntesis del compuesto 2: El Compuesto 1 (60 g) se suspendió en H<sub>2</sub>O (800 ml) y se enfrió a 0°C. Se añadió NaHCO<sub>3</sub> (120 g) sólido en porciones con agitación y después se añadió con agitación una solución de KI (474,3 g) e I<sub>2</sub> (127 g) en H<sub>2</sub>O (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 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 500 ml). La capa orgánica se lavó con una solución de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (2 x 500 ml) y después las capas acuosas combinadas se extrajeron con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2x300 ml). Se combinaron capas orgánicas (2100 ml) y se lavaron con H<sub>2</sub>O (1 x 500 ml) fría y salmuera fría (1 x 500 ml). La capa orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 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.

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 H<sub>2</sub>O (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 (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtraron y se concentraron hasta sequedad para dar el compuesto 3 (58 g). Pureza: >95% por TLC.

Síntesis del compuesto 4: A una solución del compuesto 3 (58 g) en MeOH (800 ml) se añadió NaHCO<sub>3</sub> (47 g) con agitación. La mezcla de reacción se agitó bajo 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 H<sub>2</sub>O. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml). Las capas orgánicas combinadas (600 ml) se lavaron con HCl 0,5 M (200 ml), H<sub>2</sub>O (100 ml), y salmuera (100 ml), se secaron (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtraron y se concentraron hasta sequedad. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO<sub>2</sub>, Hexanos-EtOAc 3:1→3:2) para dar el compuesto 4 (54 g). Pureza: >95% por TLC.

Síntesis del compuesto 5: El compuesto 4 (31 g) 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).

Síntesis del compuesto 6: El Compuesto 5 (13,5 g) se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (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 NaHCO<sub>3</sub> (200 ml), salmuera (150 ml). La capa orgánica se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró, y se concentró hasta sequedad. El residuo se purificó mediante el sistema CombiFlash® (SiO<sub>2</sub>) usando disolvente EtOAc-Hexanos (0-15%) para dar el compuesto 6 (18 g). Pureza >95% por TLC.

Síntesis del compuesto 7: El Compuesto 6 (12g) se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (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 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (300 ml) y se lavó con una solución saturada fría de NaHCO<sub>3</sub> (3 x 400 ml), salmuera (fría), se secó, se filtró y se concentró hasta sequedad. El residuo se purificó mediante el sistema CombiFlash® (SiO<sub>2</sub>) usando EtOAc-Hexanos (0→30%) para dar el 7 (9g). Pureza: >95% por TLC.

Síntesis del compuesto 8: Toda la operación de esta etapa se realizó en atmósfera de argón. Se secó 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 BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O (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 mezcla de reacción se agitó a -78°C durante 5 h. Se añadieron MeOH (7 ml) y Et<sub>3</sub>N (3 ml) y la mezcla se concentró hasta sequedad. El residuo se disolvió en EtOAc (200ml) y se lavó con solución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (2x100 ml), salmuera (100 ml), se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y se concentró hasta sequedad. El residuo se purificó mediante el sistema CombiFlash® (SiO<sub>2</sub>) usando disolvente EtOAc-Hexanos (0→5%) para dar el compuesto 8 (2,5 g).

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 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (45 ml) y se añadió DMF (45 ml). La solución se agitó bajo argón a temperatura ambiente y se añadieron tamices moleculares (3 g, 4 Å, en polvo y secados en llama). Se añadió Et<sub>3</sub>NBr (3,3 g, 15,7 mmol, 2,2 equivalentes, se secó a 200°C durante 2 h) y la agitación continuó durante 1 h a temperatura ambiente bajo argón.

El Compuesto 9 (5,13 g, 10 mmol, 1,42 equivalentes) se coevaporó con tolueno (3 x20 ml), se secó al vacío y se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (45 ml). La mezcla de reacción se colocó en un baño de hielo y se agitó durante 10 minutos. A esta solución se añadió Br<sub>2</sub> (0,8 ml, 15 mmol, 1,5 equivalentes) gota a gota con agitación en el baño de hielo. La 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 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100 ml) y se transfirió a un embudo de decantación. La capa orgánica se lavó con salmuera fría (2 x 75 ml), se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y se concentró hasta sequedad, se coevaporó con tolueno (3 x 50 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 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100 ml) y se transfirió a un embudo de decantación, se lavó con salmuera fría (2 x 75 ml), se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 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 Et<sub>3</sub>N (7 ml) seguido de cloroformiato 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 Ac<sub>2</sub>O (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 recolectaron y se concentraron hasta sequedad para dar el Compuesto 12 (10,2 g).

5 Síntesis del compuesto 13: El Compuesto 12 (7,5 g) se disolvió en DMF (140 ml) al que se añadió NH<sub>4</sub>OAc (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 (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y se concentró hasta sequedad. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO<sub>2</sub>, Hexanos-EtOAc 2:1 → 1:2) para dar el Compuesto 13 (6g).

10 Síntesis del Compuesto 14: El compuesto 13 (6 g) se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50 ml) a lo que se añadió CCl<sub>3</sub>CN (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).

15 Síntesis del Compuesto 15: El compuesto 10 (2 g) y el compuesto 14 (2,1 g) se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (40 ml). A esta solución se añadieron tamices moleculares (4 Å, 0,8 g) y se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. La solución después se enfrió a 0°C y se añadió BF<sub>3</sub>Et<sub>2</sub>O (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 Et<sub>3</sub>N (0,5 ml) y el disolvente se evaporó. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice) para dar el compuesto 15 (1,8 g).

20 Síntesis del compuesto 16: El compuesto 15 (1,7 g) se trató con NaOMe 0,01 N en MeOH (10ml) durante 2 h y se neutralizó con resina IR-120 (H<sup>+</sup>), se filtró y se concentró hasta sequedad para dar el Compuesto 16 (1,25 g).

25 Síntesis del Compuesto 17: A una solución del compuesto 16 (1,2 g) en CH<sub>3</sub>CN (30 ml) se añadió Et<sub>3</sub>N (0,28 ml) y se enfrió a 0°C. A esta solución se añadió BzCN (0,35 mg en 10 ml de CH<sub>3</sub>CN) 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).

30 Síntesis del compuesto 19: El compuesto 17 (0,9 g) se disolvió en MeOH (12 ml). A esta solución se añadió Bu<sub>2</sub>SnO (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 (0,8 g).

35 Síntesis del compuesto 20: El compuesto 19 (0,7 g) se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 ml). A esta solución se añadió Pd(Ph)<sub>4</sub> (0,14 g), Bu<sub>3</sub>SnH (0,15 ml), y Ac<sub>2</sub>O (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).

40 Síntesis del Compuesto 21: A una solución del compuesto 20 (0,45 g) en dioxano-H<sub>2</sub>O-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).

45 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 TR-120 (H<sup>+</sup>), se filtró y el filtrado se concentró hasta sequedad para dar el compuesto 22 (0,21 g).

50 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).

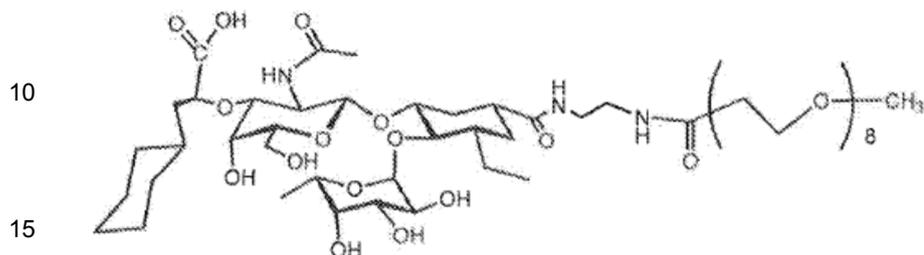
55 Síntesis del Compuesto 25: Se disolvió el Compuesto 23 (200 mg) en 2 mL de DMF a los que se añadió Et<sub>3</sub>N (0,1ml). A esta solución se añadió MePEG<sub>12</sub>NHS (206 mg) (compuesto 24). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. El residuo sólido se lavó con EtOAc (3x4 ml). El residuo sólido se disolvió en H<sub>2</sub>O (2ml) y el pH de la solución resultante se ajustó a 7,4 por adición de NaOH. La mezcla de reacción se purificó por cromatografía de fase inversa (cartuchos Waters Sep-pak C18) usando MeOH-H<sub>2</sub>O (0-50%) como un eluente. Las fracciones que contenían el producto se combinaron, se concentraron a sequedad y se liofilizaron para dar el compuesto 25 (280 mg). Ver la Figura 1D.

60 <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, D<sub>2</sub>O): δ 4,94 (d, J = 4,0Hz, 1H), 4,81 (dd, J = 6,8Hz, J = 3,2Hz, 1H), 4,43 (d, J = 8,4Hz, 1H), 3,90 (br t, J = 9,2H, 1H), 3,81-3,78 (m, 3H), 3,75-3,71 (m, 2H), 3,70-3,67 (m, 2H), 3,65-3,58 (m, 46H), 3,54-3,52 (m, 2H), 3,48 (br t, J = 6,0Hz, 1H), 3,36 (br d, J = 9,6Hz, 1H), 3,29 (s, 3H), 3,27-3,18 (m, 5H), 2,43 (t, J = 6,0Hz, 2H), 2,25 (bt, J = 12,4Hz, 1H), 2,08-2,05 (m, 1H), 1,97 (s, 3H), 1,79-1,76 (m, 2H), 1,68-1,21 (m, 11H), 1,19-1,04 (m, 8H), 0,86-0,76 (m, 5H); LC-MS Calculado para C<sub>60</sub>H<sub>108</sub>NaN<sub>3</sub>O<sub>27</sub> [1326,7 (M<sup>+</sup>), 1348,7 (M<sup>+</sup>+Na)]. Una imagen del espectro NMR se presenta en las Figuras 3A-3D.

65

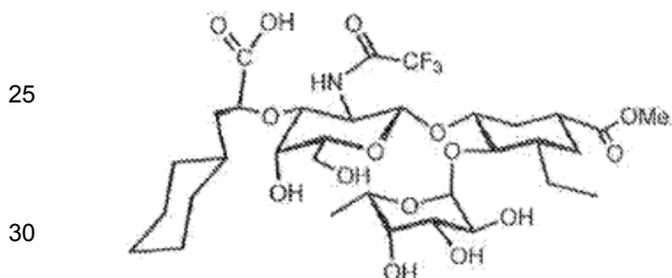
Síntesis del compuesto 26: El compuesto 26 se sintetizó como se describió para el compuesto 25 (ver la Figura 1D), excepto que el reactivo PEG tuvo una n de 8 (es decir, 8 unidades de repetición de PEG) en lugar de 12 como para la síntesis del compuesto 25.

5 Compuesto 26:



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

20 Compuesto 27:

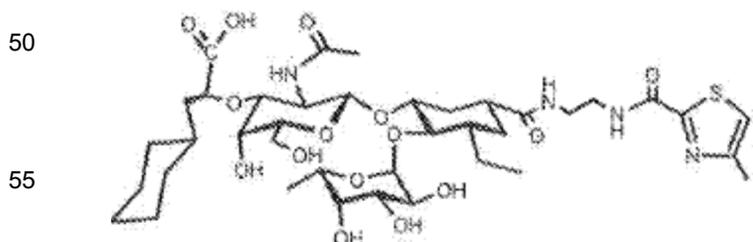


35 Síntesis del Compuesto 27A: El compuesto 19 (0,05 g) se disolvió en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 ml). A esta solución se añadió  $\text{Pd}[(\text{Ph}_3\text{P})_4]$  (5 mg),  $\text{Bu}_3\text{SnH}$  (0,0011 ml), y  $(\text{CF}_3\text{CO})_2\text{O}$  (0,0015 ml) con agitación a temperatura ambiente. 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 (0,030 g).

40 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<sup>+</sup>), se filtró y el disolvente se evaporó. El residuo se purificó por HPLC de fase reversa (C18) para dar el compuesto 27 (7 mg).

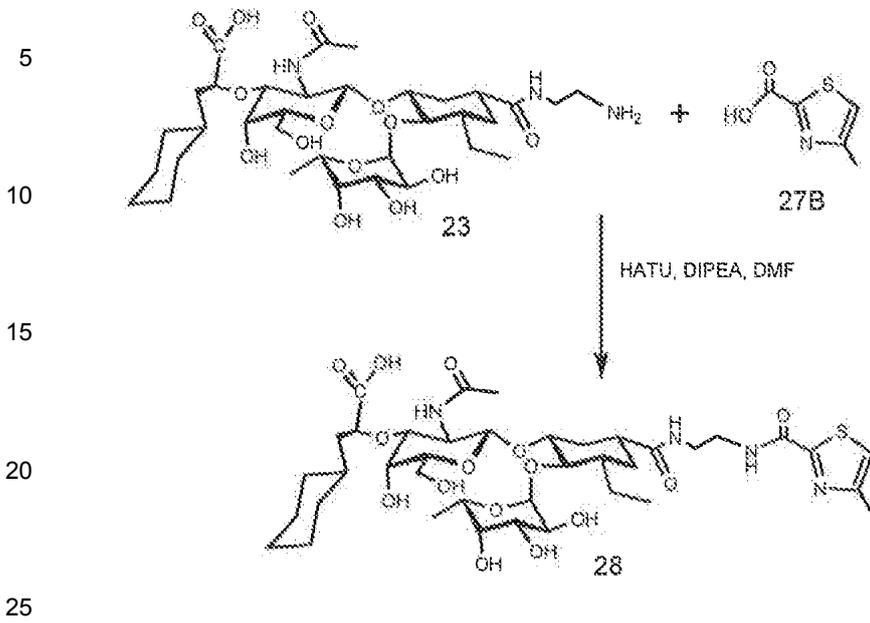
45 Síntesis del Compuesto 28:

Compuesto 28:



60 Esquema de síntesis para el Compuesto 28:

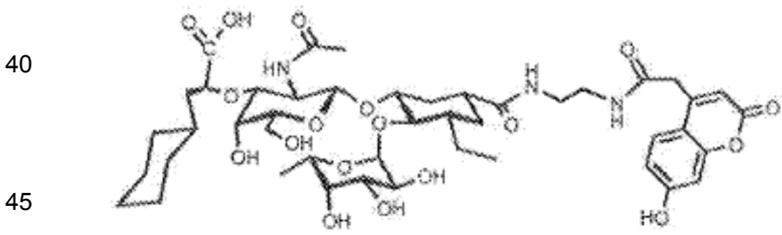
65



30 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 1hora. El disolvente se evaporó y el residuo se purificó por HPLC (C18) para dar el compuesto 28 (17 mg).

35 Síntesis del compuesto 29:

Compuesto 29:

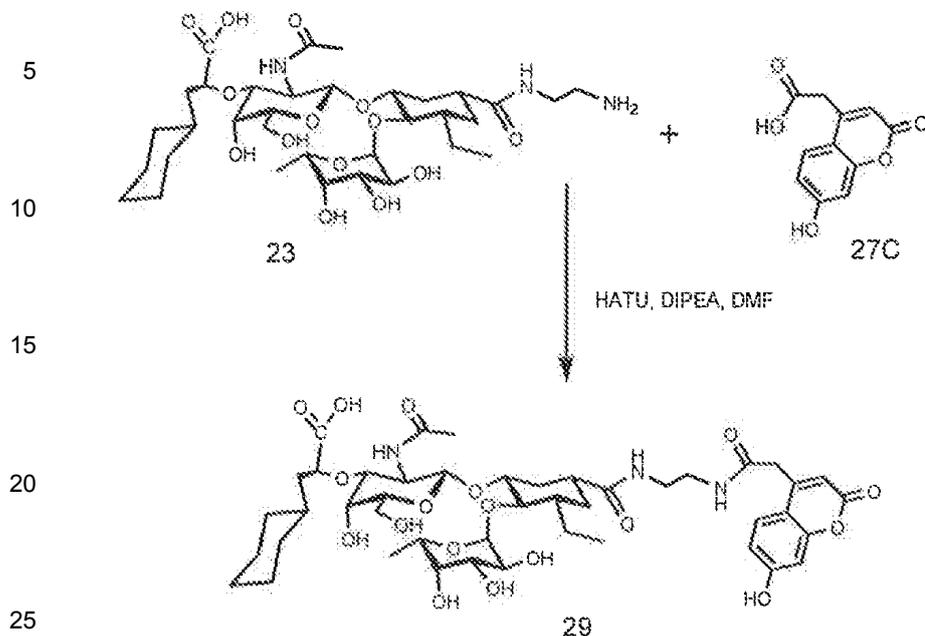


50 Esquema de síntesis para el compuesto 29:

55

60

65



30 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).

Ejemplo 2

35 Actividad de E-selectina - ensayo de unión

40 El ensayo de inhibición para tamizar y caracterizar los antagonistas glicomiméticos de E-selectina es un ensayo de unión competitiva, lo 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 poliácridamida sLe<sup>a</sup> biotinilada con estreptavidina/peroxidasa de rábano picante y se incubó durante 2 horas a temperatura ambiente.

45 Para determinar la cantidad de sLe<sup>a</sup> 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 H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, y se determinó la absorbancia de la luz a una longitud de onda de 450 nm. Se determinó la concentración del compuesto de prueba requerido para inhibir la unión en un 50% y se reportó como el valor de  $IC_{50}$  para cada antagonista glicomimético de E-selectina como se muestra en la tabla más abajo. En la siguiente tabla se proporcionan los valores de  $IC_{50}$  de los compuestos ilustrativos descritos en la presente descripción.

Actividad antagonista de E-Selectina de los compuestos glicomiméticos

55

60

65

Compuesto	$IC_{50}$ (μM)
22	<4,0
27	<4,0
29	<4,0
25	<4,0
28	<4,0
77*	4.33
*Ver Ejemplo 6	

Además de reportar el valor de IC<sub>50</sub> absoluto medido anteriormente, los valores de IC<sub>50</sub> relativos (rIC<sub>50</sub>) se determinan mediante una relación de la IC<sub>50</sub> 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 R<sup>3</sup> del compuesto 22 con un grupo trimetilfluoro (-CF<sub>3</sub>) no alteró significativamente la actividad antagonista de la 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 4

- 10 Movilización de células hematopoyéticas por un antagonista de e-selectina

Este ejemplo describe la movilización de células madre hematopoyéticas por un antagonista de E-selectina ilustrativos. Grupos de ratones (16 ratones por grupo) recibieron una dosis única de 20, 40 o 60 mg/kg del Compuesto 25 o 3 mg/kg de plerixafor (además llamado AMD-3100), que es un antagonista de CXCR4. Estos compuestos se administraron una vez por vía intravenosa. Un grupo de control de 8 animales recibió solo vehículo. Se tomaron muestras de sangre a las 2, 3 y 6 horas después de la dosificación y se analizaron los hemogramas completos (CBC), se enumeraron los neutrófilos (K/μl) (*es decir*, 1000 por microlitro) en cada muestra en cada intervalo de tiempo. Los datos se presentan en la Figura 4. La administración del Compuesto 25 resultó un número aumentado de neutrófilos en la sangre (*es decir*, movilización). La movilización de neutrófilos observada en animales que recibieron el Compuesto 25 exhibió una cinética y un nivel de aumento similares a los observados en animales que recibieron AMD-3100.

#### Ejemplo 5

- 25 Movilización de células hematopoyéticas por un antagonista de E-selectina

En otro experimento, se examinó la capacidad de un antagonista de la adhesión tal como el Compuesto 25 para liberar células sanguíneas normales de compartimentos inmunes tales como el bazo, la médula ósea y el hígado. La actividad de movilización del Compuesto 25 se controló mediante el examen del nivel de subtipos celulares hematológicos adicionales en la circulación poco después de la dosificación.

La actividad de movilización del Compuesto 25 se examinó en una cohorte de ratones CD-1 después de una dosis única de 20, 40 o 60 mg/kg inyectada por vía intravenosa. La actividad de movilización del Compuesto 25 se comparó con AMD3100 dosificado a 3 mg/kg y con controles no tratados. Se recolectó sangre de los animales a las 2, 3 y 6 horas después de la dosificación y se analizaron los niveles de células sanguíneas (WBC, linfocitos, monocitos, eosinófilos y neutrófilos) mediante métodos de análisis diferencial de CBC estándar.

Todos los niveles de dosis del Compuesto 25 aumentaron el nivel de WBC total, linfocitos, monocitos, eosinófilos y neutrófilos en circulación con la movilización máxima que ocurre a las 3 horas para la mayoría de los tipos de células. El nivel y el momento de la movilización de WBC por parte de AMD3100 fueron generalmente equivalentes a los provocados por el Compuesto 25 (Figura 5).

#### Ejemplo 6

- 45 Potencia de los antagonistas de la E-selectina

El Compuesto 25 se evaluó por su capacidad para inhibir la unión de un control interno glicomimético de E-selectina, Compuesto 77 a E-selectina inmovilizada en un ensayo basado en ELISA. Este ensayo de inhibición es un ensayo de unión competitiva, que permite la determinación de valores de IC<sub>50</sub> (*ver además* Ejemplo 2). En resumen, la quimera E-selectina/Ig se inmovilizó mediante incubación a 37°C en placas de microtitulación de 96 pocillos. Para reducir la unión no específica, se añadió albúmina de suero bovino a cada pocillo y se incubó a temperatura ambiente durante 2 horas. Las placas se lavaron y se añadieron diluciones en serie de los compuestos de prueba a los pocillos en presencia de reactivos capaces de detectar los inmunocomplejos unidos (conjugados de poliacrilamida SLea, biotinilada con estreptavidina/peroxidasa de rábano picante). Para determinar la cantidad de reactivo sLea unida a E-selectina inmovilizada después del lavado, se añadió el sustrato de peroxidasa, 3, 3', 5,5' tetrametilbenzidina (TMB). Después de 10 minutos, la reacción enzimática se detuvo mediante la adición de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, y se determinó la absorbancia de la luz a una longitud de onda de 450 nm. Se determinó la concentración del compuesto de prueba requerido para inhibir la unión en un 50% y se reportó como el valor de IC<sub>50</sub> para cada antagonista glicomimético de selectina E. Además de reportar el valor de IC<sub>50</sub> absoluto medido anteriormente, los valores de IC<sub>50</sub> relativos se determinaron mediante una relación de IC<sub>50</sub> medida para el compuesto de prueba con la de un control interno (referencia) establecido para cada ensayo. El Compuesto 25 se midió frente al control interno, Compuesto 77.

El compuesto 25 con una IC<sub>50</sub> promedio de 2,4 μM mostró una inhibición competitiva de E-selectina a concentraciones esencialmente más bajas que el compuesto de referencia, el Compuesto 77, que tenía una IC<sub>50</sub> promedio de 4,33 μM. El Compuesto 25 inhibe de forma selectiva y potente la unión de E-selectina.

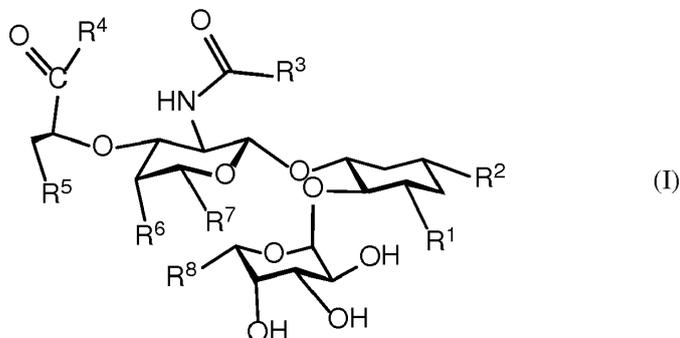
Las diversas modalidades descritas anteriormente pueden combinarse para proporcionar modalidades adicionales. Los aspectos de las modalidades pueden modificarse, si es necesario, para emplear conceptos de las diversas patentes, aplicaciones y publicaciones para proporcionar aún otras modalidades.

5 Estos y otros cambios pueden realizarse en las modalidades a la luz de la descripción detallada anteriormente. En general, en las siguientes reivindicaciones, los términos usados no deben interpretarse que limitan las reivindicaciones a las modalidades específicas descritas en la especificación y las reivindicaciones, sino que deben interpretarse que incluyen todas las posibles modalidades junto con el alcance completo de equivalentes a los que tales reivindicaciones tienen derecho. En consecuencia, las reivindicaciones no están limitadas por la descripción.

10

Reivindicaciones

1. Una composición que comprende un excipiente farmacéuticamente aceptable y un compuesto que tiene una estructura de fórmula (I):



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

R<sup>1</sup> es C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alquilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alquenilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alquinilo, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> haloalquenilo o C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> haloalquinilo;

R<sup>2</sup> es una porción no glicomimética enlazadora, en donde la porción no glicomimética comprende polietilenglicol;

R<sup>3</sup> es C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alquilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alquenilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alquinilo, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> haloalquenilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> haloalquinilo o ciclopropilo;

R<sup>4</sup> es -OH o -NZ<sup>1</sup>Z<sup>2</sup> donde Z<sup>1</sup> y Z<sup>2</sup> son cada uno independientemente H, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alquilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alquenilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alquinilo, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> haloalquenilo o C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> haloalquinilo o en donde Z<sup>1</sup> y Z<sup>2</sup> se unen para formar un anillo;

R<sup>5</sup> es C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> cicloalquilo;

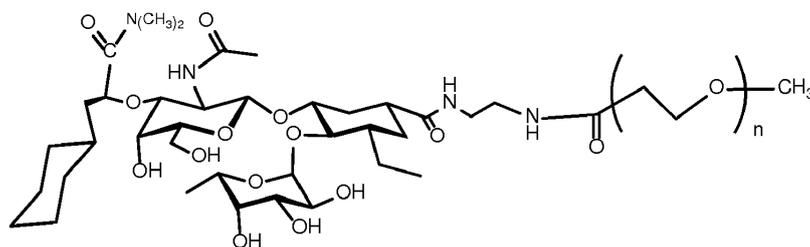
R<sup>6</sup> es -OH, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alquilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alquenilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alquinilo, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> haloalquenilo o C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> haloalquinilo;

R<sup>7</sup> es -CH<sub>2</sub>OH, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alquilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alquenilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alquinilo, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> haloalquenilo o C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> haloalquinilo; y

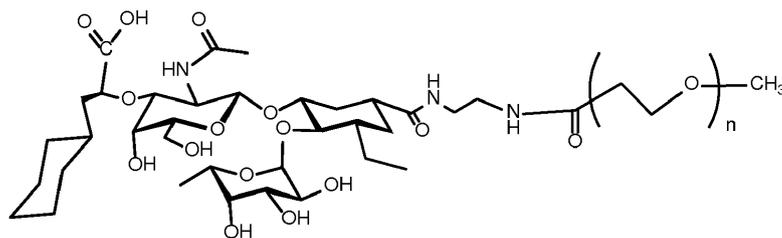
R<sup>8</sup> es C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alquilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alquenilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alquinilo, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> haloalquilo, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> haloalquenilo o C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> haloalquinilo

para su uso en un método para movilizar células de la médula ósea en un sujeto.

2. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 en donde el compuesto de la fórmula (I) tiene la fórmula:



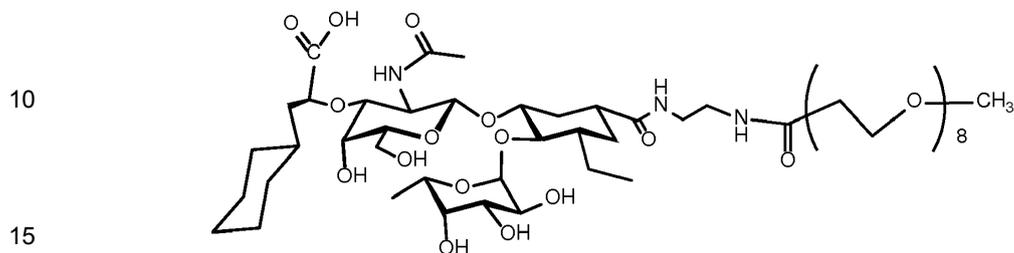
o



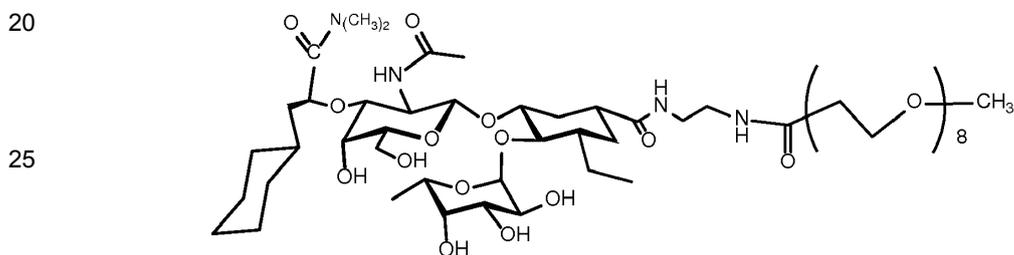
en donde n es 1 a 100.

3. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 2, en donde n es 4, 8, 12, 16, 20, 24 o 28.

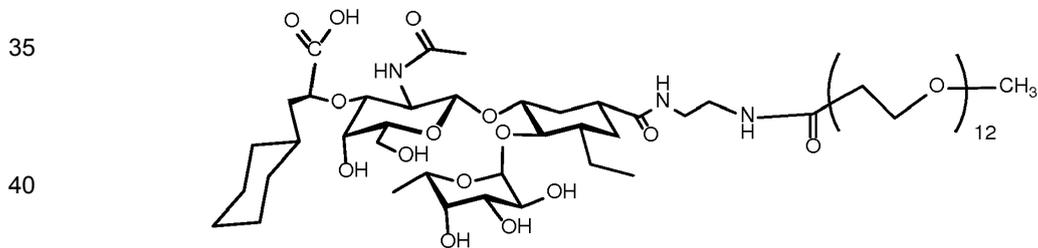
5 4. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el compuesto tiene la fórmula:



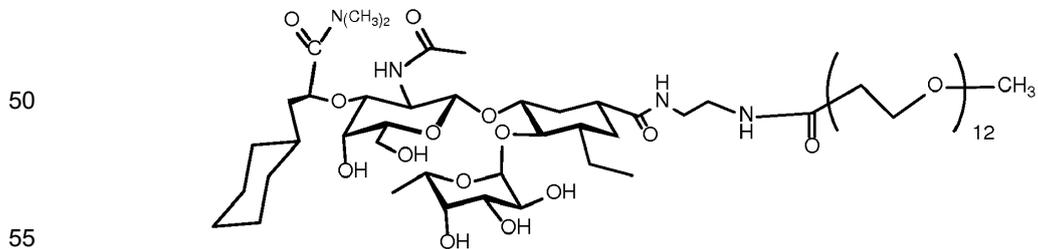
5. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el compuesto tiene la fórmula:



6. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el compuesto tiene la fórmula:



45 7. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el compuesto tiene la fórmula:



60 8. La composición para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde las células son células hematopoyéticas.

9. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 8, en donde las células hematopoyéticas son células madre hematopoyéticas y células progenitoras hematopoyéticas.

65

10. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 8, en donde las células hematopoyéticas son glóbulos blancos maduros.
- 5 11. La composición para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde las células son células tumorales.
12. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 11, en donde las células tumorales son células tumorales hematológicas.
- 10 13. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 11, en donde las células tumorales son células malignas.

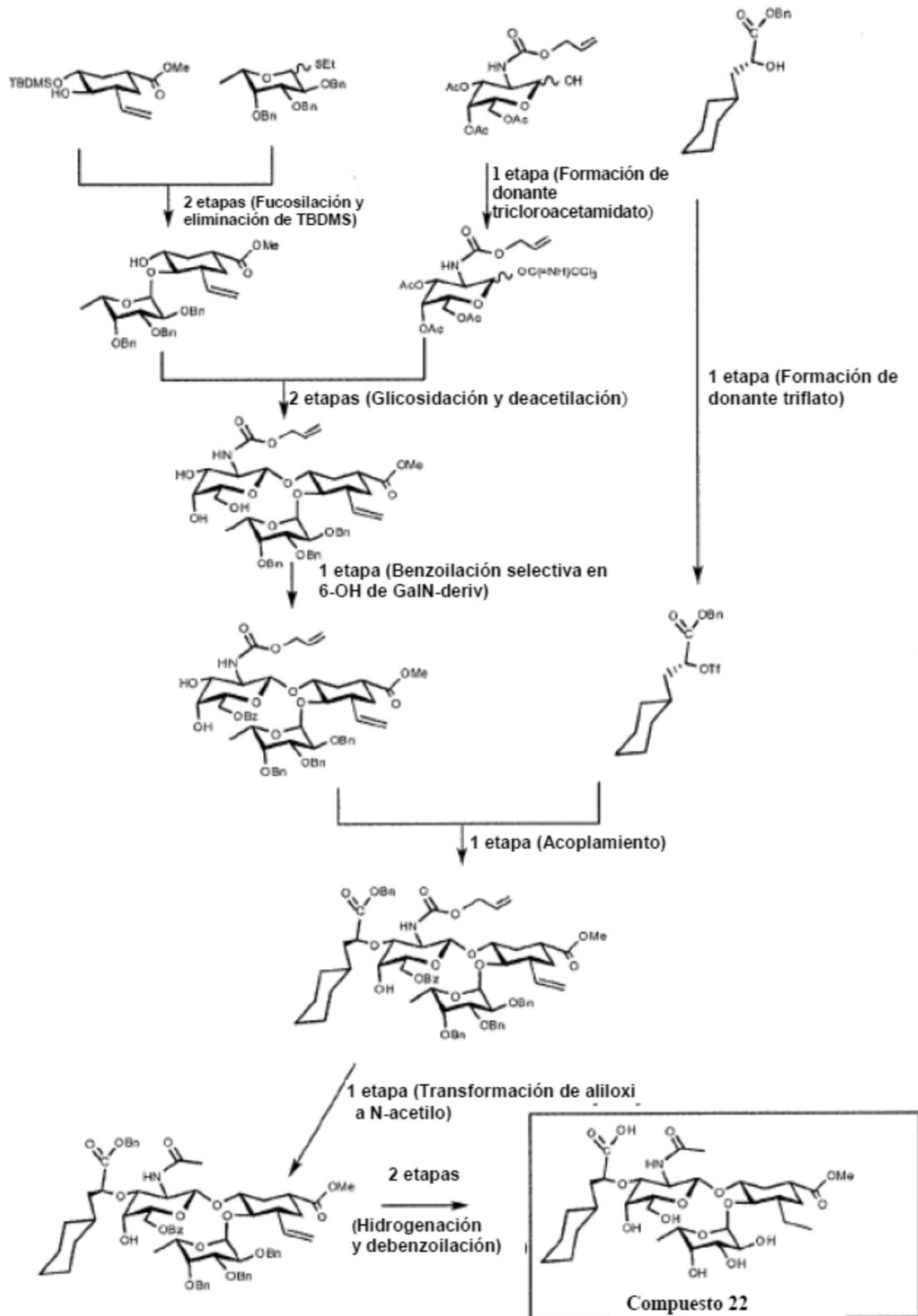
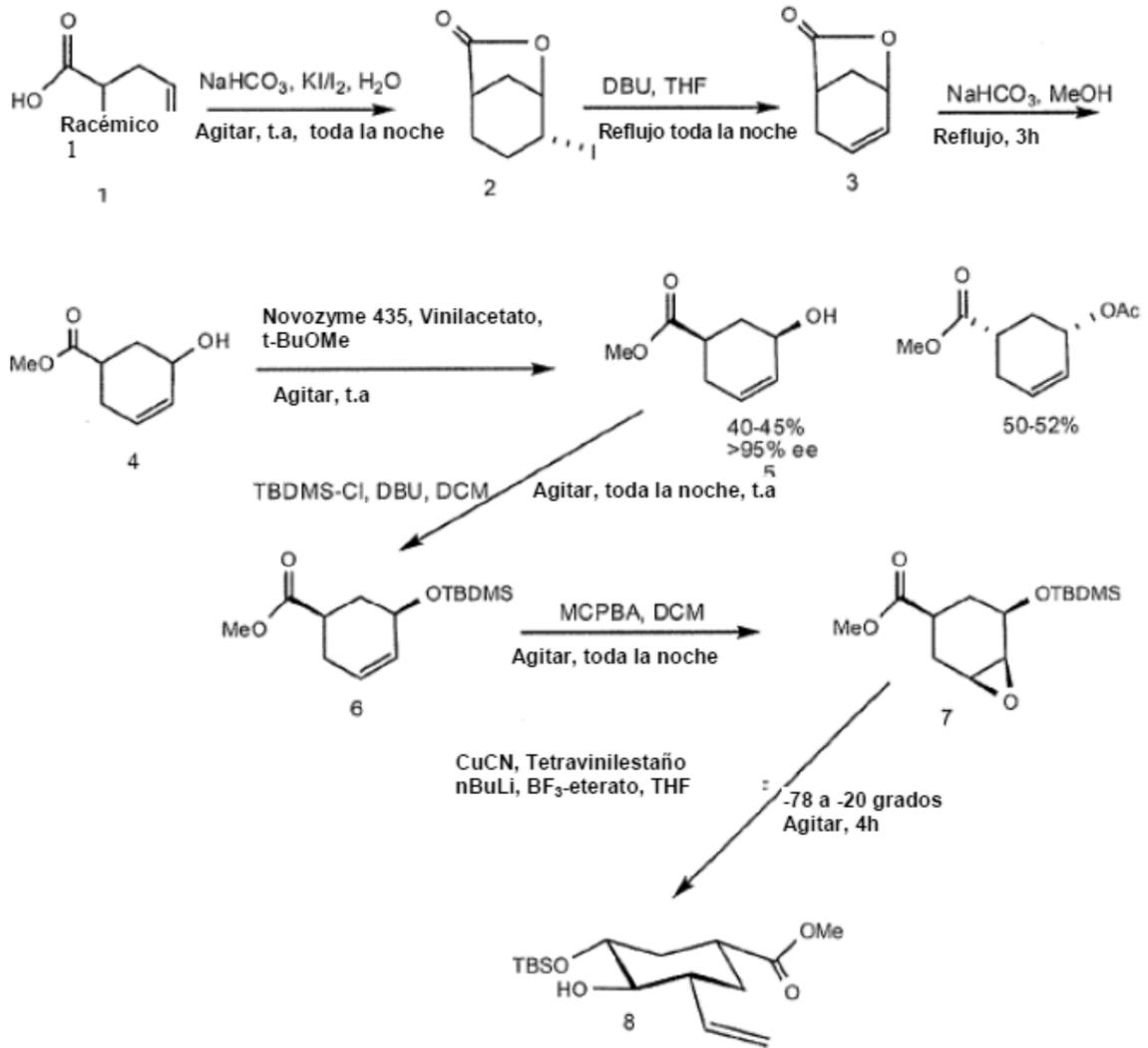


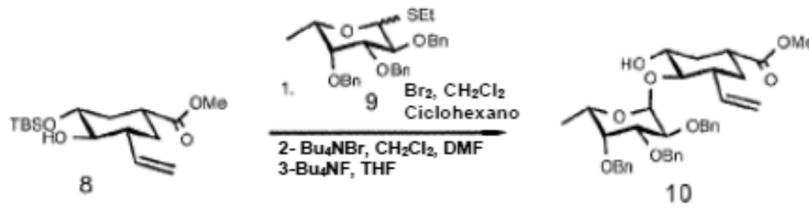
Figura 1A

**Síntesis del compuesto 8**

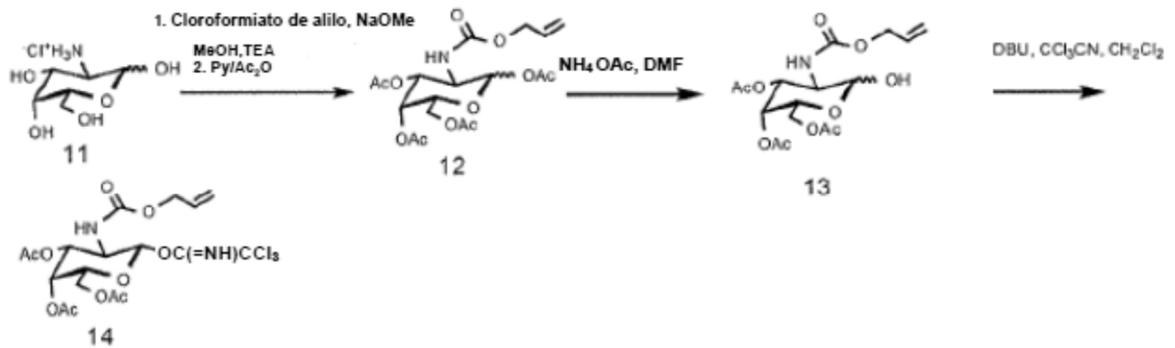


**Figura 1B**

**Síntesis del compuesto 10**



**Síntesis del compuesto 14**



**Síntesis del compuesto 20**

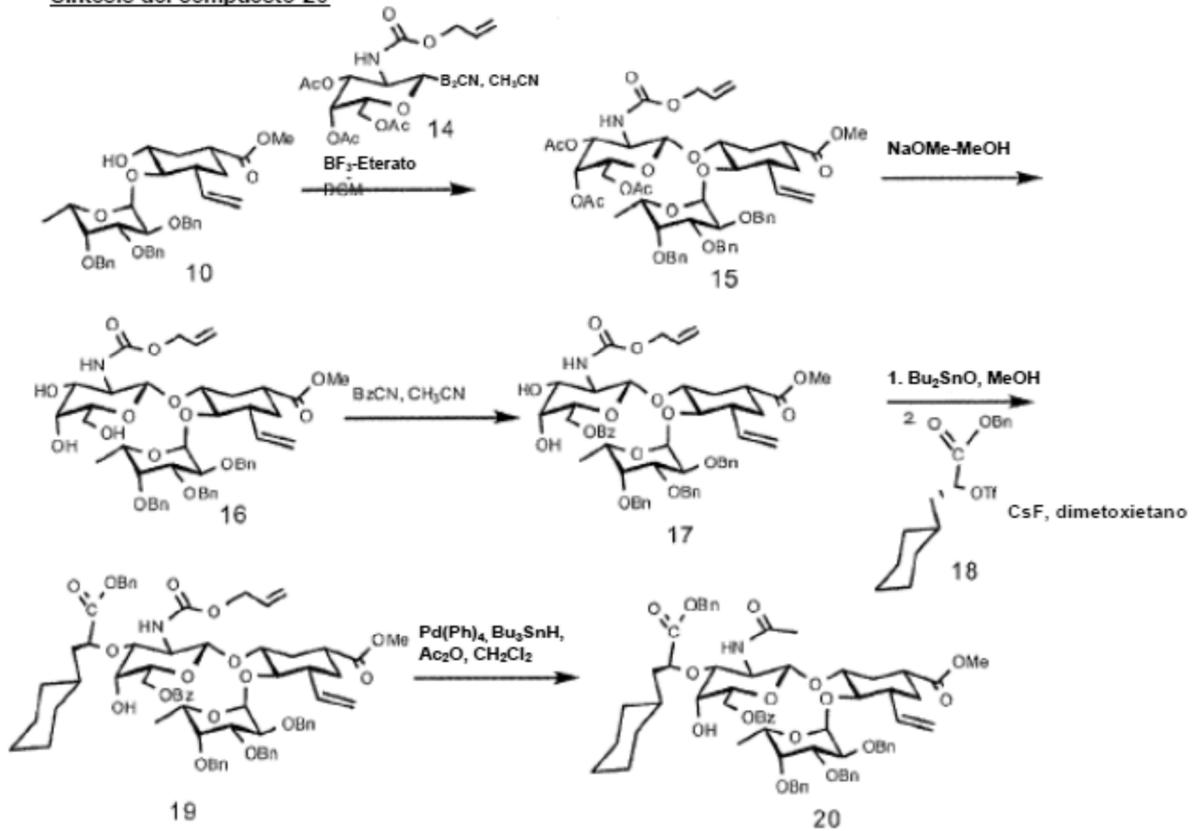


Figura 1C



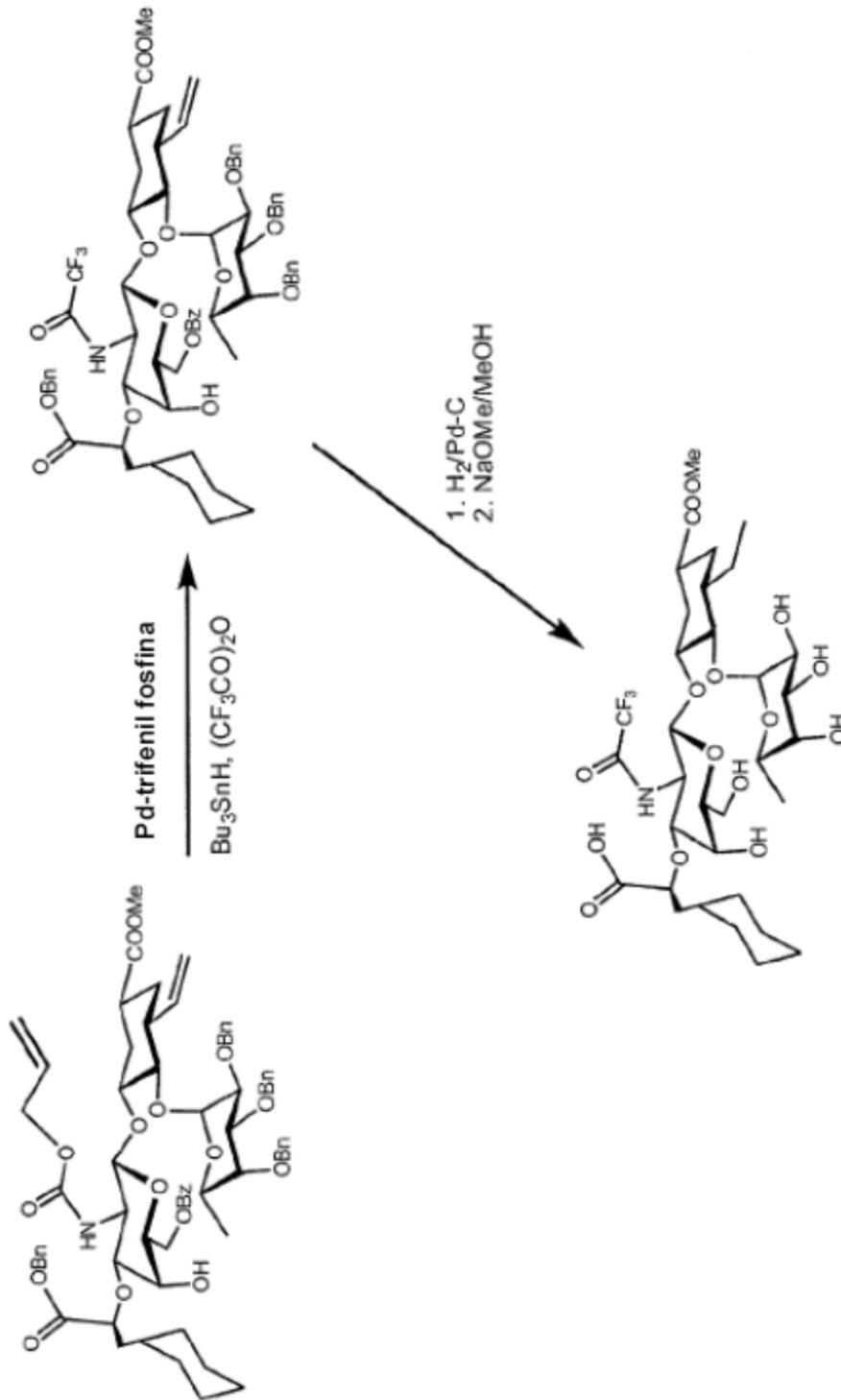


Figura 2

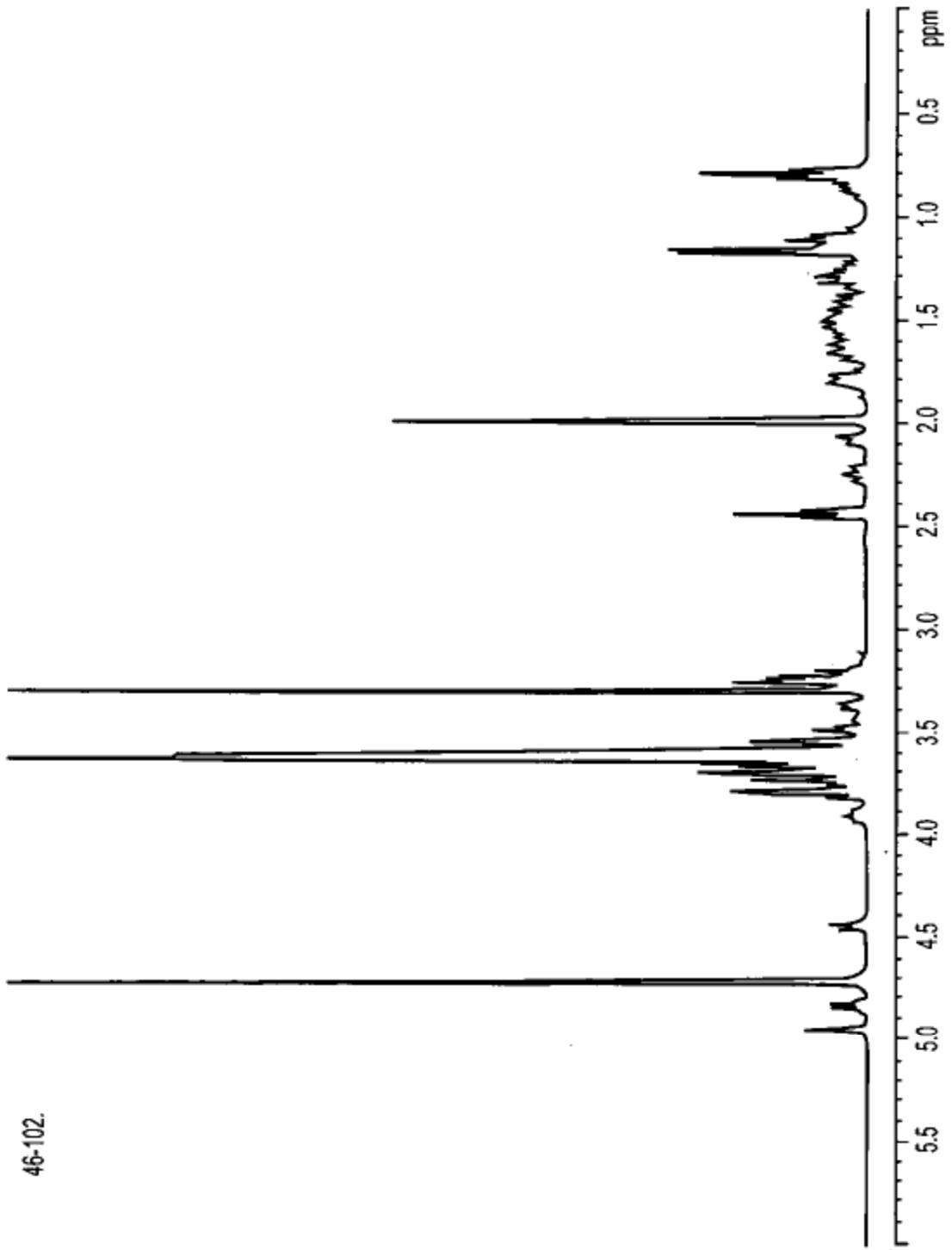


Figura 3A

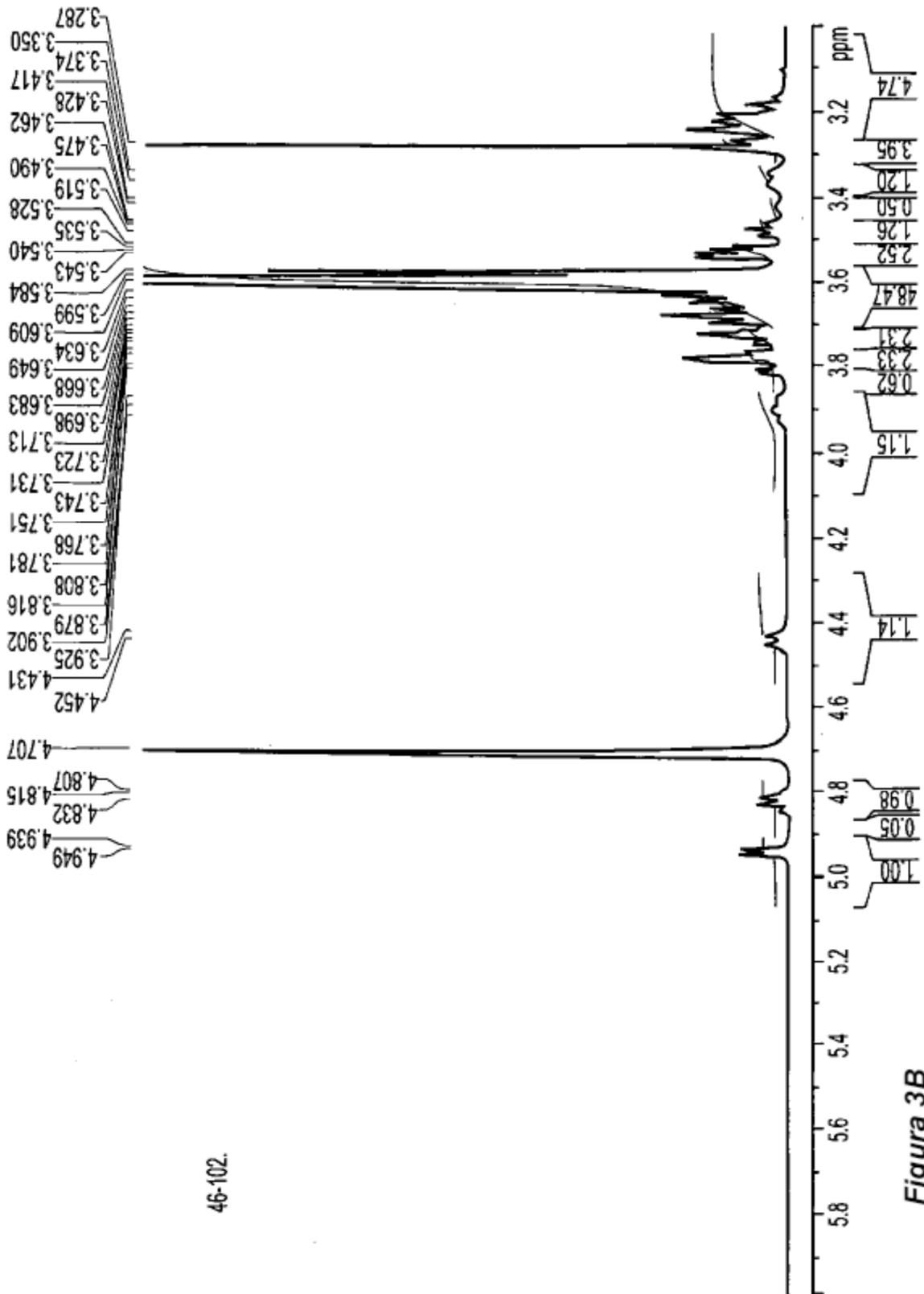


Figura 3B

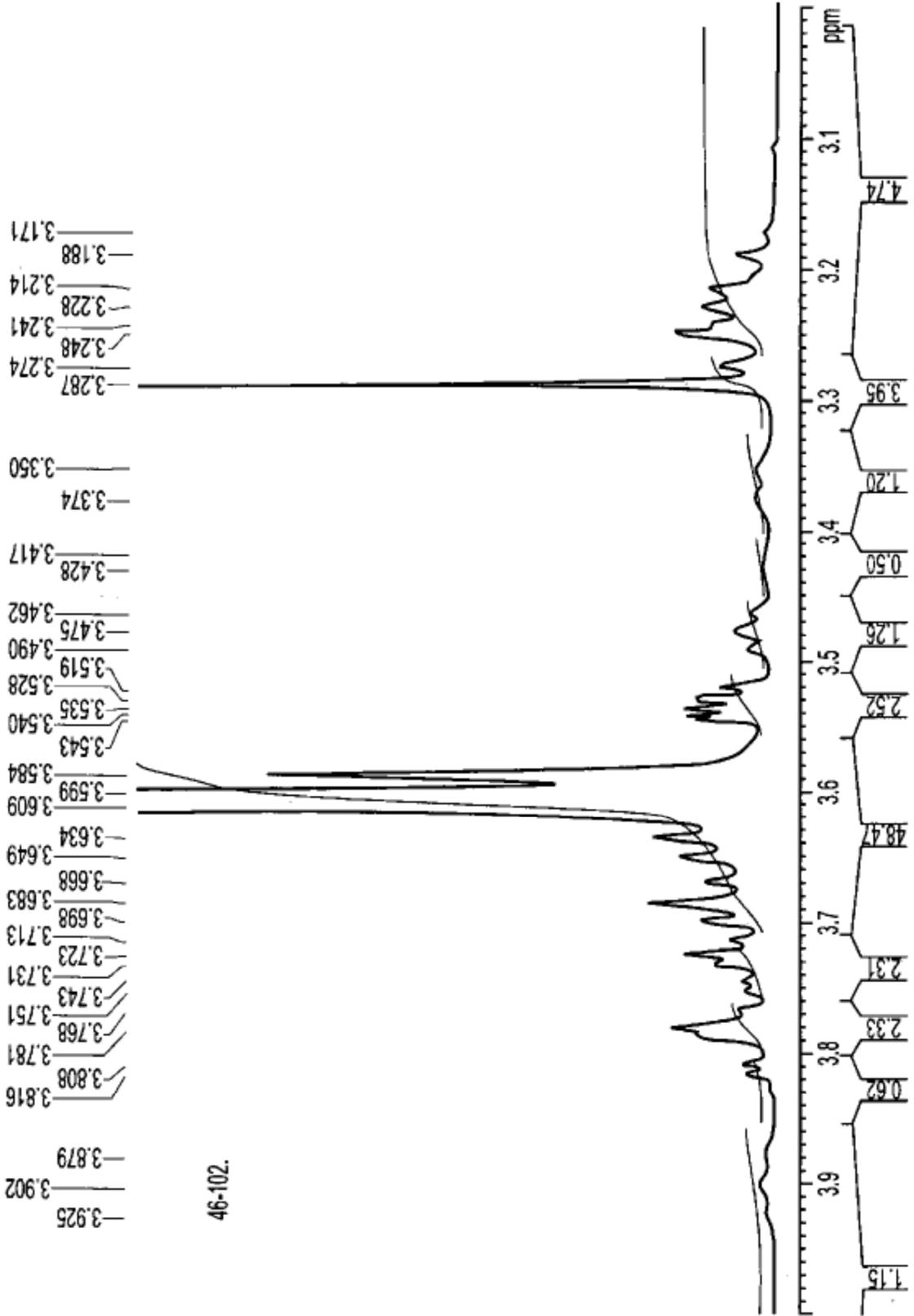
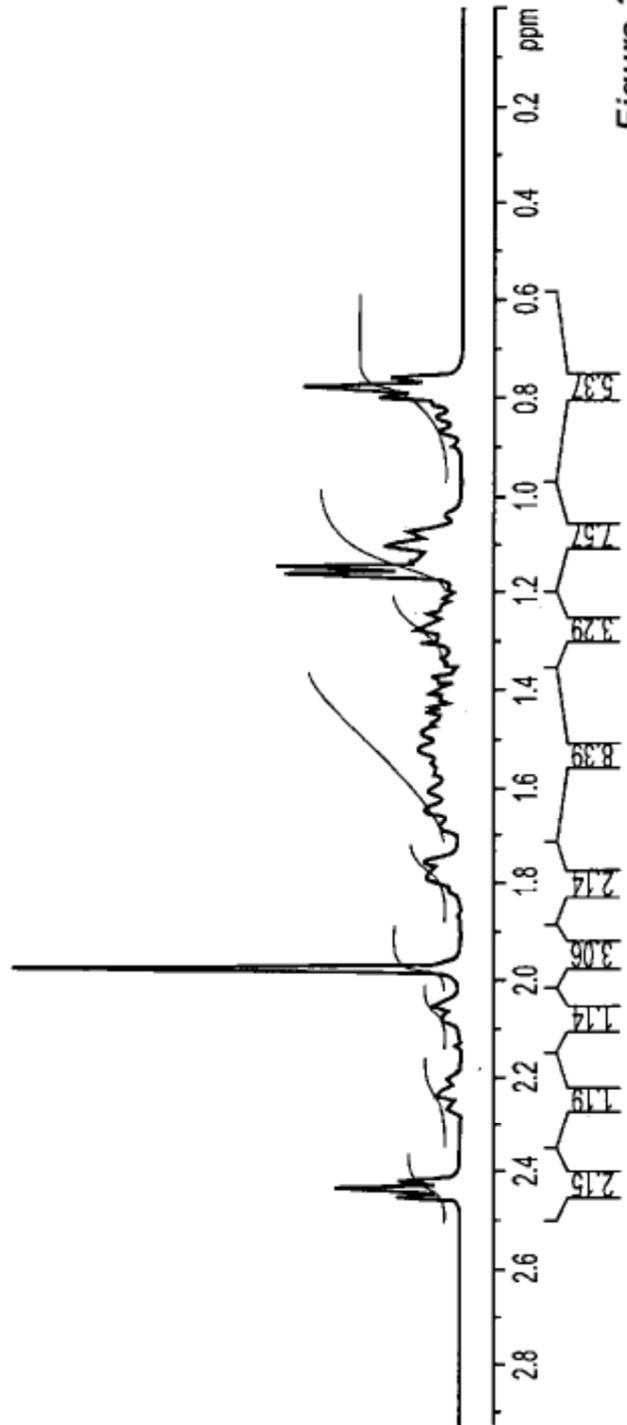


Figura 3C



46-102.



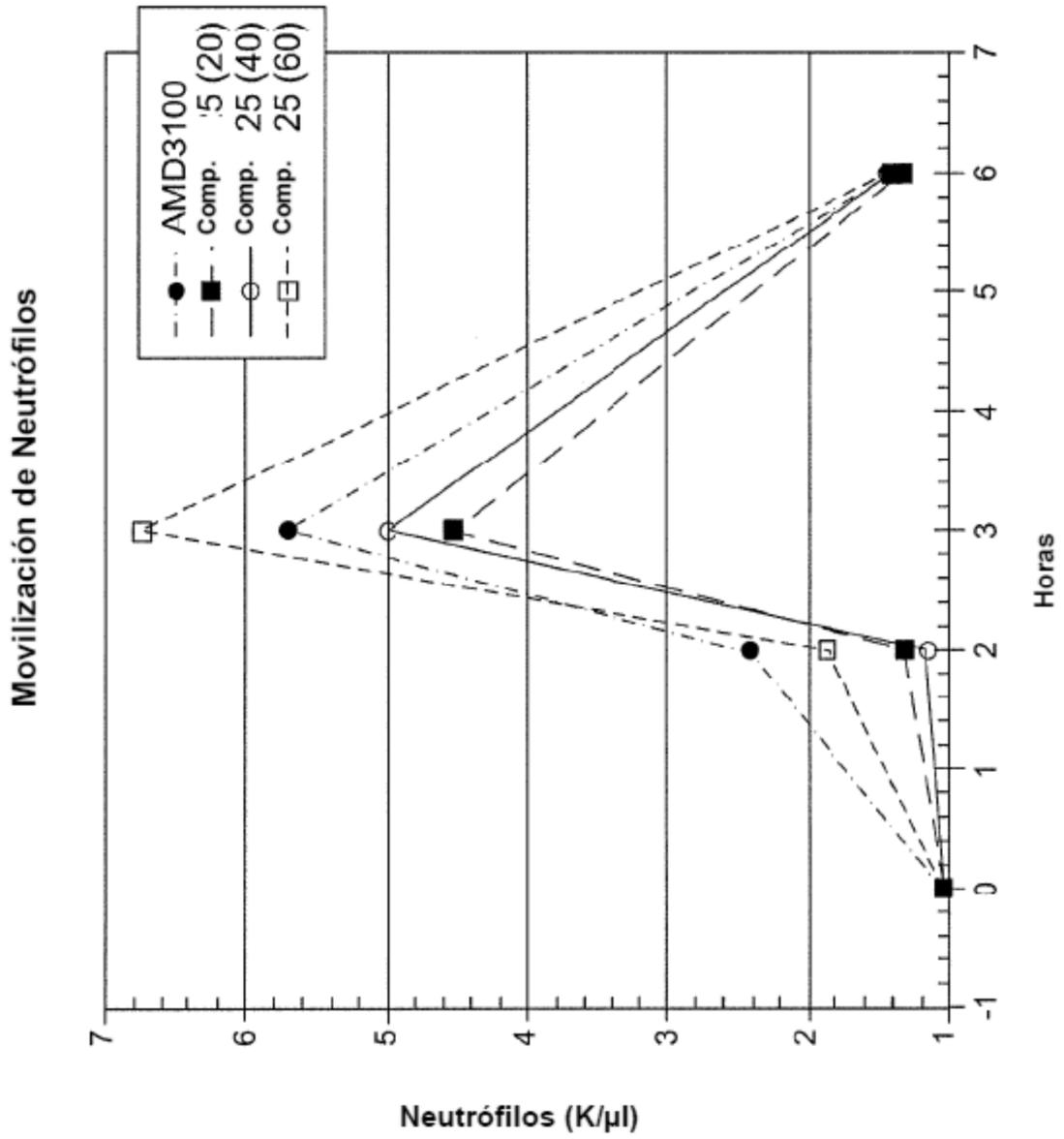


Figura 4

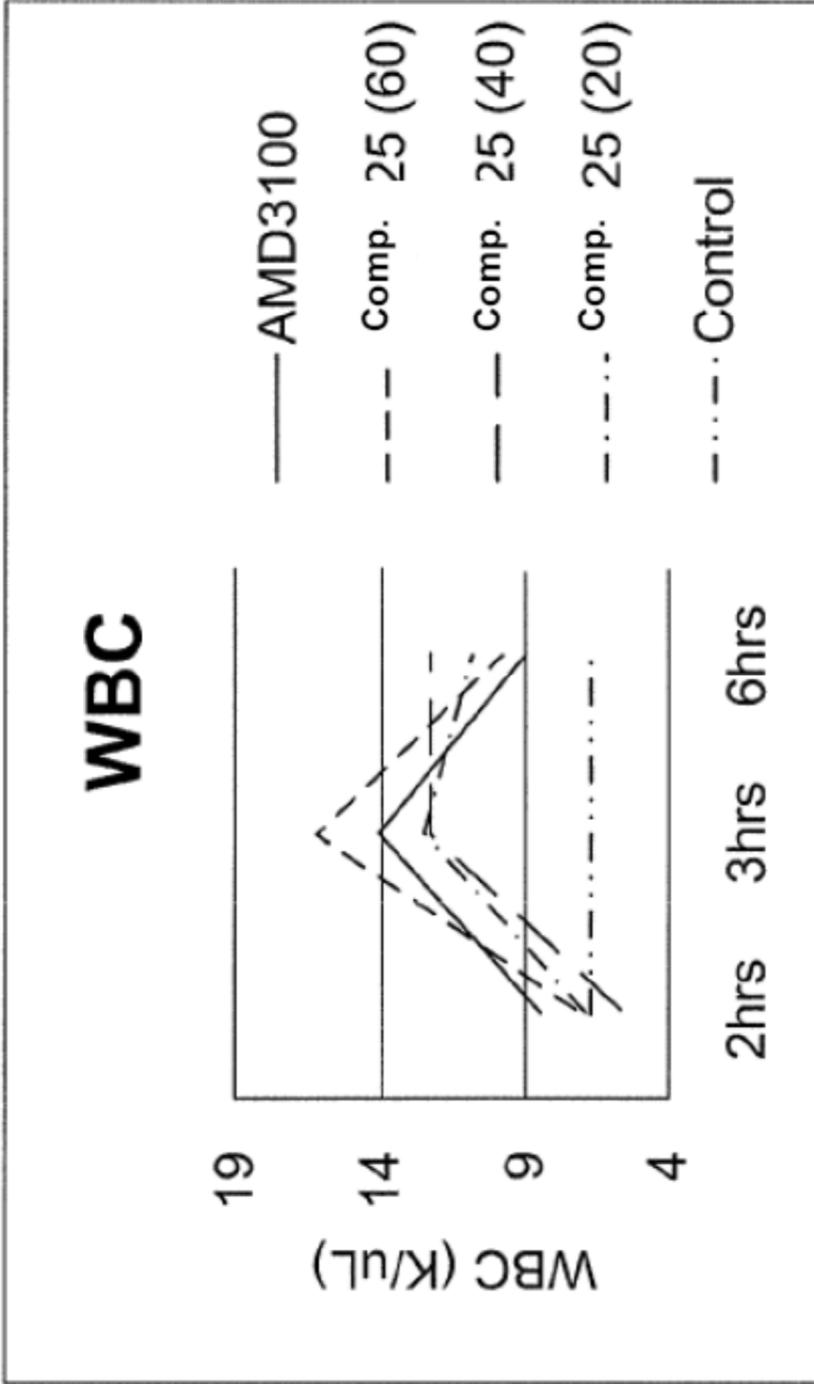


Figura 5A

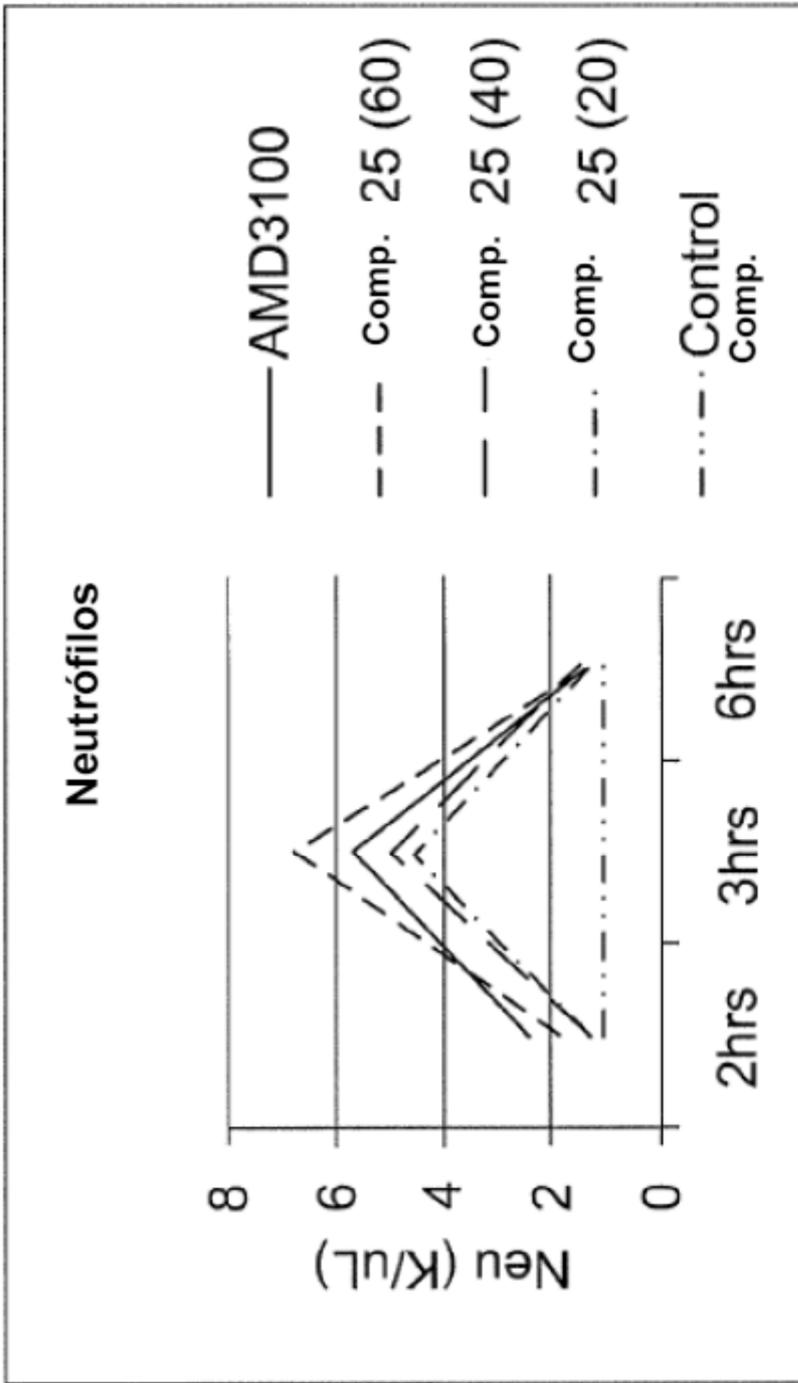


Figura 5B

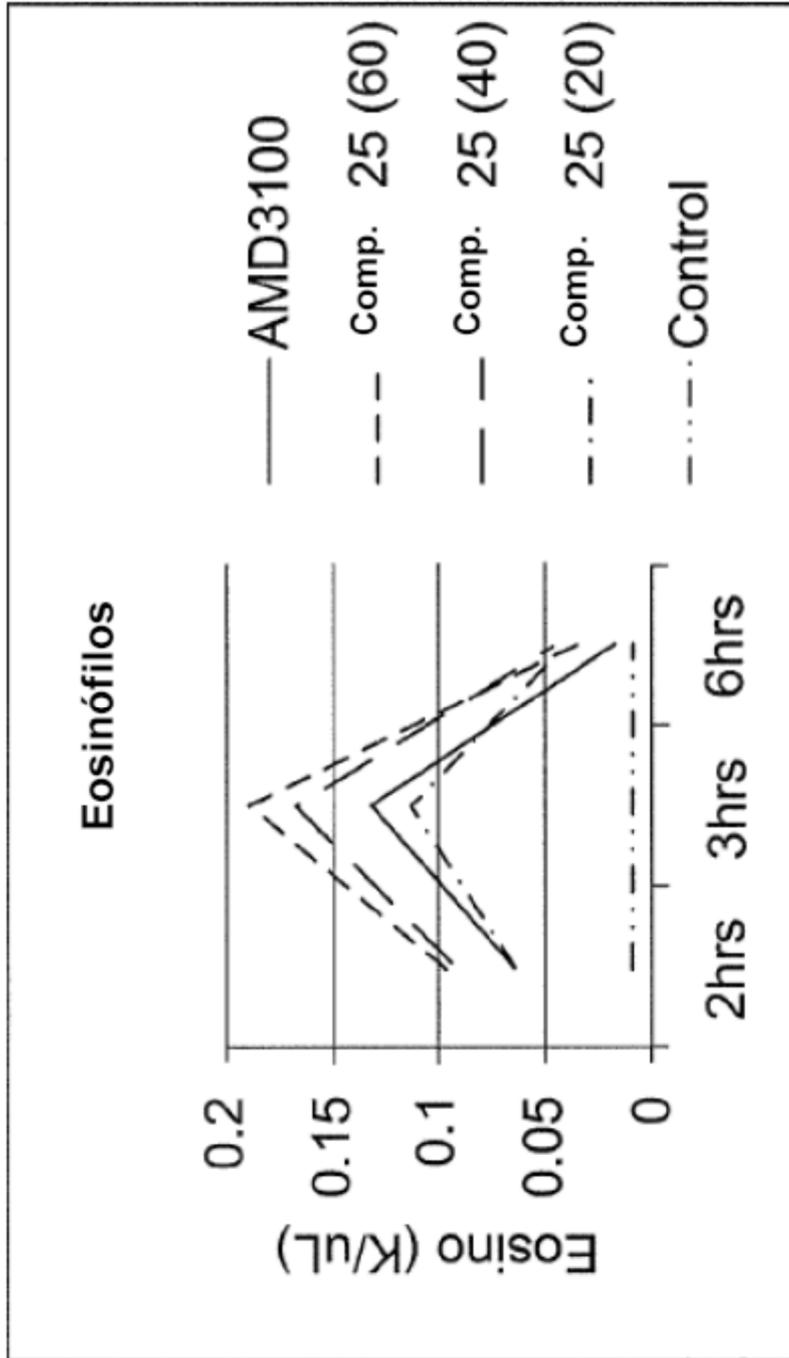


Figura 5C

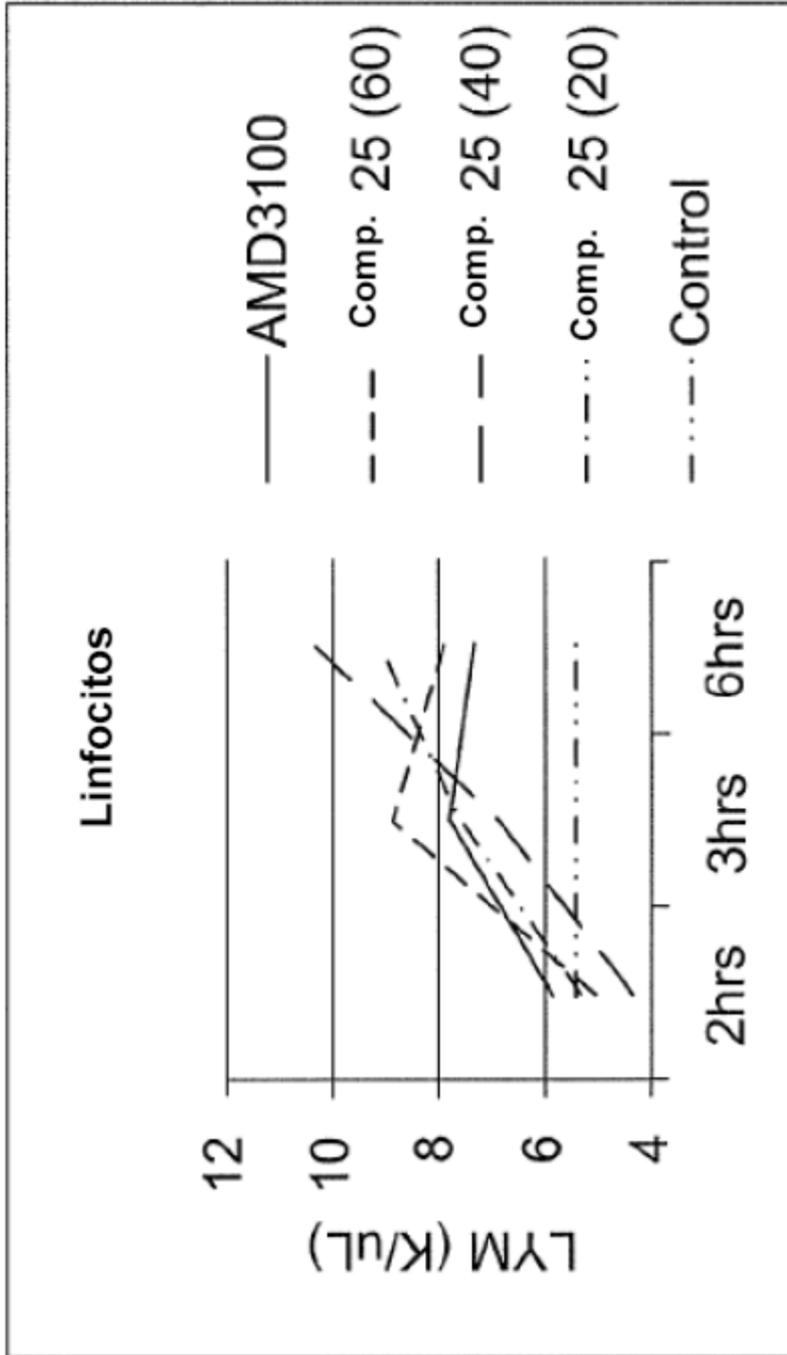


Figura 5D

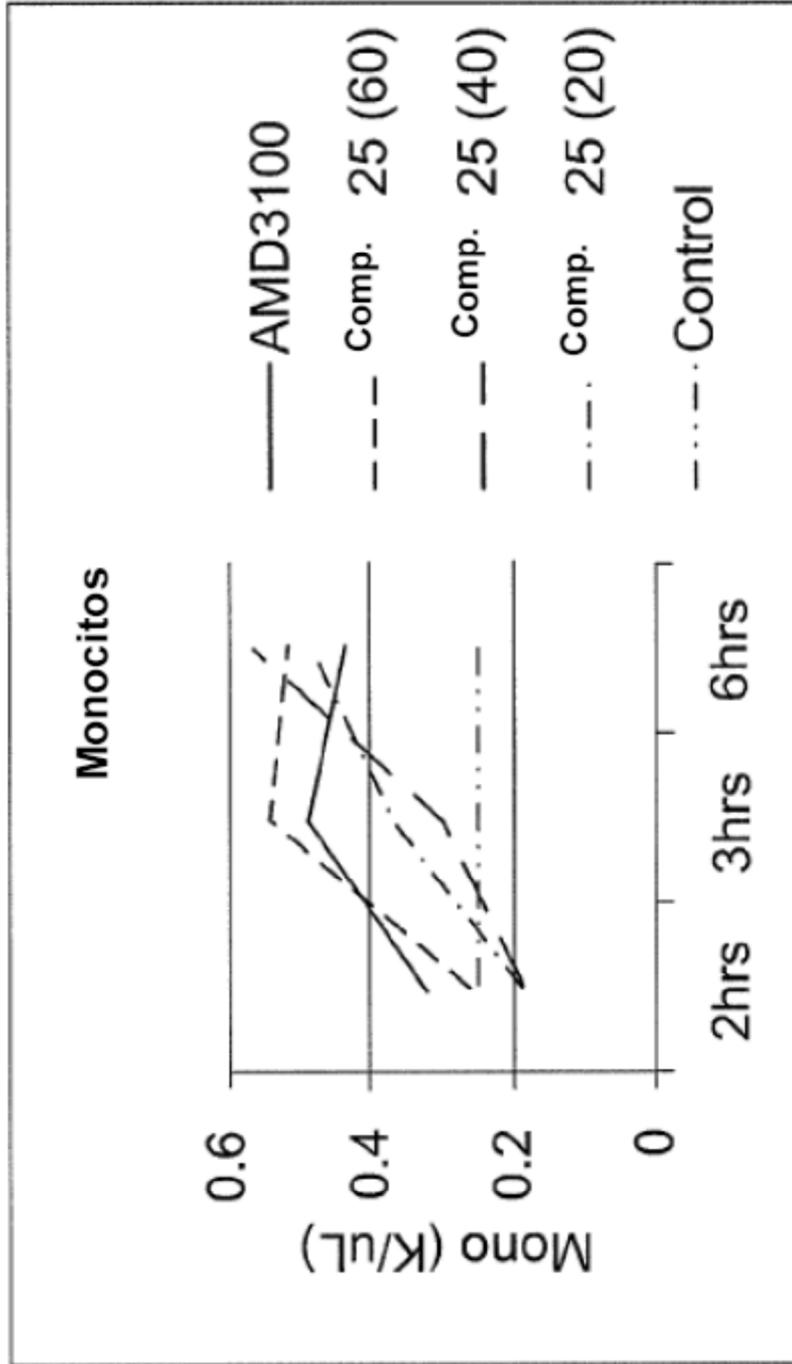


Figura 5E