

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 711 622**

51 Int. Cl.:

A61K 31/7042 (2006.01) **A61P 35/00** (2006.01)

A61K 31/7012 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

A61K 31/70 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

C07K 16/00 (2006.01)

C07K 16/18 (2006.01)

A61K 31/7004 (2006.01)

A61K 31/7024 (2006.01)

A61K 31/706 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.08.2011 PCT/US2011/046857**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.02.2012 WO12019165**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.08.2011 E 11815404 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.11.2018 EP 2608796**

54 Título: **Inhibición de la fucosilación in vivo usando análogos de fucosa**

30 Prioridad:

05.08.2010 US 371116 P

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

06.05.2019

73 Titular/es:

**SEATTLE GENETICS, INC. (100.0%)
21823 30th Drive, S.E.
Bothell, WA 98021, US**

72 Inventor/es:

**SENER, PETER;
ALLEY, STEPHEN y
BENJAMIN, DENNIS**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 711 622 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

Inhibición de la fucosilación *in vivo* usando análogos de fucosa

Antecedentes de la invención

5 L-fucosa, también denominada como 6-desoxi-L-galactosa, es un monosacárido que es un componente de algunos glicanos y glicolípidos unidos a N o a O en animales. (Véase Becker y Lowe, *Glycobiology* 13:41R-51R (2003).) La fucosa se añade típicamente como modificación en el extremo de los glicanos, incluidos los glicanos unidos a antígenos del grupo sanguíneo, selectinas y anticuerpos. La fucosa se puede unir a los glicanos mediante enlaces $\alpha(1,2)$, $\alpha(1,3)$, $\alpha(1,4)$ y $\alpha(1,6)$ mediante fucosiltransferasas específicas. Los enlaces $\alpha(1,2)$ -fucosa están típicamente asociados con los antígenos del grupo sanguíneo H. Los enlaces $\alpha(1,3)$ -fucosa y $\alpha(1,4)$ -fucosa están asociados con la modificación de los antígenos Lewis^X. Los enlaces $\alpha(1,6)$ -fucosa están asociados con moléculas GlcNAc unidas a N, tales como los de los anticuerpos.

10 May JA Jr, y Sartorelli AC., *J Med Chem.* agosto de 1979; 22(8):971-6 describe la síntesis de varios derivados de 6-desoxi-L-galactosa 6-sustituida (L-fucosa) como antimetabolitos potenciales de L-fucosa. Los efectos citotóxicos de estos compuestos se evaluaron sobre células de leucemia P388 en cultura. Los análogos de L-fucosa que mostraron la inhibición del crecimiento más potente fueron los ésteres de sulfonilo, derivados de bromo y yodo.

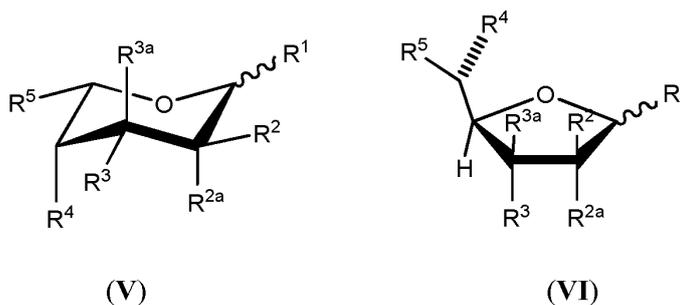
15 Zeidler R y col., *J. Enzyme Inhibition*, 1997;11(4):265-273 desvela la inhibición *in vitro* de L-fucoquinasa de hígado de rata mediante análogos de L-fucosa.

20 Se cree que la fucosilación desempeña un papel en el desarrollo de los mamíferos. Los ratones homocigóticos para una mutación dirigida sobre el gen FX muestra anomalías pleiotrópicas que incluyen un fenotipo letal. También se ha notificado una recuperación reducida de los cruces heterocigóticos. (Becker y col., *Mammalian Genome* 14:130-139 (2003).) Se ha propuesto que la fucosilación de proteínas anómalas está asociada con enfermedades humanas, incluida la regulación positiva de sialil Lewis^X y sialil Lewis^Y en cánceres. Estos glicanos son ligandos de moléculas E-selectina y P-selectina. Se ha especulado que los aumentos en sialil Lewis^X y sialil Lewis^Y glicanos en células cancerosas aumenta la metástasis debido a la interacción entre E-selectinas y P-selectinas en el endotelio. También se ha observado un aumento en los glicanos fucosilados en pacientes con artritis reumatoide. En la actualidad, sin embargo, no hay enfoques terapéuticos autorizados dirigidos a los niveles de fucosilación de proteínas.

Sumario de la invención

30 Los usos médicos de la Invención descrita en el presente documento son parcialmente una premisa de los resultados inesperados presentados en los Ejemplos, mostrando que los animales a los que se ha administrado un análogo de fucosa tienen una fucosilación reducida de proteínas. La fucosilación de los anticuerpos y otras proteínas se pueden modular usando los análogos de fucosa descritos en el presente documento.

En un aspecto, la presente invención proporciona un análogo de fucosa seleccionado del grupo que consiste en la siguiente fórmula (V) o (VI):

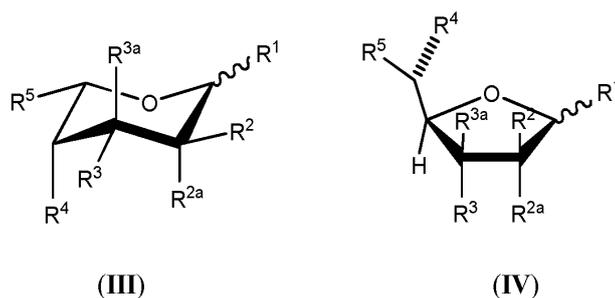


35 o una de sus sales o solvatos biológicamente aceptables, en la que cada fórmula (V) o (VI) puede ser un anómero alfa o beta o la correspondiente forma de aldosa; en las que

40 cada uno de R¹, R³ y R⁴ se seleccionan independientemente del grupo que consiste de -OH, -OC(O)H, -OC(O)(alquilo C₁-C₁₀), -OC(O)alqueno C₂-C₁₀, -OC(O)alquino C₂-C₁₀, -OC(O)arilo, -OC(O)heterociclo, -OC(O)alqueno C₁-C₁₀ (arilo), -OC(O)alqueno C₂-C₁₀ (arilo), -OC(O)alqueno C₂-C₁₀ (arilo), -OC(O)alqueno C₁-C₁₀ (heterociclo), -OC(O)alqueno C₂-C₁₀ (heterociclo), -OC(O)alqueno C₂-C₁₀ (heterociclo), -OCH₂OC(O) alquilo, -OCH₂OC(O)O alquilo, -OCH₂OC(O) arilo, -OCH₂OC(O)O arilo, -OC(O)CH₂O(CH₂CH₂O)_nCH₃, -OC(O)CH₂CH₂O(CH₂CH₂O)_nCH₃, -O-tri-alquilsililo C₁-C₃, -Oalquilo C₁-C₁₀, en la que cada n es un número entero que se selecciona independientemente entre 0-5;

R² es F, R^{2a} y R^{3a} son cada uno H, y R⁵ es -CH₃; para su uso en el tratamiento o la profilaxia del cáncer.

45 En una realización, el análogo de fucosa se selecciona del grupo que consiste en una de las siguientes fórmulas (III) o (IV):



- o una de sus sales o solvatos biológicamente aceptables, en la que cada fórmula (III) o (IV) puede ser un anómero alfa o beta o la correspondiente forma de aldosa; en las que cada uno de R¹, R³ y R⁴ se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste de OH y -OC(O)alquilo C₁-C₁₀; R² es F, R^{2a} y R^{3a} son cada uno H, y R⁵ es -CH₃.
- En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento o profilaxia del cáncer, que comprende una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de un análogo de fucosa que tiene la fórmula III, IV, V o VI como se han definido anteriormente; y uno o más ingredientes farmacéuticamente compatibles.
- Los animales, tales como mamíferos, que reciben un análogo de fucosa (que tiene la fórmula III, IV, V o VI como se han definido anteriormente) producen proteínas, tales como proteínas de la superficie celular, que tienen una fucosilación reducida. La reducción de la fucosilación es con respecto a los animales no tratados con los análogos de fucosa que tiene la fórmula III, IV, V o VI, como se ha definido anteriormente, respectivamente.
- Los animales que reciben un análogo de fucosa (que tiene la fórmula III, IV, V o VI como se define anteriormente) producen anticuerpos y derivados de anticuerpos que tienen una fucosilación reducida del núcleo (es decir, fucosilación reducida de N-acetilglucosamina del complejo de cadenas de azúcar unidas a N-glicósidos unidas a la región Fc mediante la N-acetilglucosamina del extremo reductor de las cadenas de azúcar). La reducción en la fucosilación del núcleo es respecto a los animales no tratados con los análogos de fucosa que tienen la fórmula III, IV, V o VI, como se ha definido anteriormente, respectivamente.
- También se abarcan en el presente documento composiciones farmacéuticas para su uso en el tratamiento o la profilaxia del cáncer que contiene análogos de fucosa y formulados para su administración a un animal diana. Los análogos de fucosa se pueden formular para su administración a un animal para inhibir o reducir la fucosilación *in vivo*.
- Estos y otros aspectos de la presente invención se pueden entender mejor por referencia a la siguiente descripción detallada, ejemplos de las realizaciones específicas, y las figuras adjuntas.

Breve descripción de los dibujos

- La **Figura 1** muestran los resultados de administrar análogos de fucosa (mediante inyección ip) sobre la fucosilación de anticuerpos. Las transferencias puntuales se muestran en el panel izquierdo y el gráfico se muestra en el panel derecho. Los niveles de carga de proteína en las transferencias puntuales (superior izquierda) y la bioluminiscencia específica de fucosa (inferior izquierda) para los patrones de anticuerpo cAC10 (transferencias puntuales en la parte inferior, rectángulo discontinuo más a la izquierda) y columnas correspondientes de la transferencia puntual superior), control sin tratar (transferencia puntual inferior, segundo rectángulo discontinuo de la izquierda y la correspondiente columna de la transferencia puntual superior), y alquiniil fucosa (SGD-1887; transferencia puntual inferior, rectángulo discontinuo del centro y correspondiente columna de la transferencia puntual superior), peracetato de alquiniil fucosa (SGD-1890; transferencia puntual inferior, segundo rectángulo discontinuo de la derecha y la correspondiente columna de la transferencia puntual superior), y 2-fluorofucosa (SGD-2083; transferencia puntual inferior, rectángulo discontinuo más a la derecha, y correspondiente columna de la transferencia puntual superior). Después de corregir según los niveles de carga, el % de fucosilación se muestra en el gráfico de la derecha.
- La **Figura 2** muestra los efectos de la fucosilación del núcleo del anticuerpo sobre la administración de análogos de fucosa mediante agua de bebida. Los gráficos muestran el % de fucosilación de los anticuerpos tal como se determina mediante cromatografía de gases (CG): los paneles A y B muestran niveles de fucosilación de los anticuerpos contra KLH (Abs) aislados de los grupos tratados mientras que los paneles C y D muestran los niveles de fucosilación de los anticuerpos IgG (no específicos de KLH) restantes. Los paneles A y C muestran el porcentaje de fucosilación de cada animal determinado usando una curva patrón de anticuerpo purificado (0-100 % de fucosilación). Los paneles B y D muestran el nivel de fucosilación de los grupos tratados como porcentaje de los valores promedio del grupo de control sin tratar.
- La **Figura 3** muestra los efectos de la fucosilación del núcleo del anticuerpo sobre la administración de análogos de fucosa mediante agua de bebida. En esta figura, se muestran los niveles de fucosilación de los anticuerpos no

específicos para KLH. Las transferencias puntuales de los niveles de carga de proteína (izquierda superior) y la bioluminiscencia específica de fucosa (izquierda inferior) se muestran para los patrones de cAC10 (transferencias puntuales superiores e inferiores, rectángulo más a la izquierda), control sin tratar (transferencias puntuales superiores e inferiores, rectángulo segundo desde la izquierda (superior) y derecho), y 2-fluorofucosa (transferencias puntuales superiores e inferiores, rectángulos segundos desde la izquierda (inferior) y desde la derecha (superior e inferior)). Después de corregir según los niveles de carga, el % de fucosilación se muestra en el gráfico de la derecha.

La **Figura 4** muestra el efecto de diferentes dosis de 2-fluorofucosa, administrada mediante agua de bebida, sobre la fucosilación del núcleo de los anticuerpos. Las transferencias de puntos muestran de niveles de carga de proteínas (izquierda) y bioluminiscencia específica de fucosa (centro) para el control sin tratar y SGD-2083 1, 10, y 100 mM (como se indica). El % de fucosilación comparado con el sin tratar se muestra en el gráfico de la derecha.

La **Figura 5** muestra los efectos de administrar 2-fluorofucosa) sobre los glóbulos blancos y los neutrófilos en circulación. Panel A. Las muestras de sangre se recogieron de ratones individuales, y el recuento de glóbulos blancos se determinó por recuento en un hemocitómetro, usando la solución de Turk para exclusión de glóbulos rojos. Panel B. Para determinar el recuento de neutrófilos, se determinó el porcentaje de glóbulos blancos que eran Gr-1 + mediante citometría de flujo, y se aplicaron a recuentos de células total determinado en (A). Panel C. Se recogió de los ratones individuales un conjunto de ganglios linfáticos, se prepararon suspensiones monocelulares, y las células se contaron en un hemocitómetro. Los símbolos representan los ratones individuales (n=3 por grupo; rombos, sin tratar; cuadrados, 2-fluorofucosa 1 mM (SGD-2083); triángulos, 2-fluorofucosa 10 mM; círculos, 2-fluorofucosa 100 mM).

La **Figura 6** muestra los efectos de la administración de 2-fluorofucosa sobre la unión de E-selectina a los neutrófilos. Panel A. Un ejemplo de identificación de neutrófilos mediante citometría de flujo. Las células se clasificaron mediante dispersión hacia delante y lateral para incluir glóbulos blancos vivos y posteriormente se aplicaron al histograma que representa gráficamente la tinción de Gr-1 para identificar los neutrófilos. Las células positivas se clasificaron, el porcentaje de células positivas determinado (usando para el recuento de células en la **Figura 5B**), y la clasificación se aplicó al histograma en (B). Panel B. Los ejemplos de la unión de E-selectina a los neutrófilos procedentes de un animal sin tratar (izquierda) y de un animal tratado con 2-fluorofucosa administrada por vía oral (SGD-2083) a 100 mM (derecha). Los histogramas en gris mostraron la unión a E-selectina, y las líneas discontinuas muestran la unión del reactivo secundario en solitario. La intensidad de la fluorescencia media geométrica se determinó para la unión a E-selectina. Panel C. La intensidad de la fluorescencia media geométrica de la unión a E-selectina se determinó para cada animal como en (B) y se comparó entre grupos (n=3, por grupo; las barras de error representan la desviación estándar).

La **Figura 7** muestra los efectos sobre la fucosilación de proteínas para líneas de células cultivadas con algunos análogos de fucosa. Se examinaron las líneas de células LS174T, OC-3, Ramos HL-60cy y Caki-1.

La **Figura 8** muestra los efectos de administración de análogos de fucosa a modelos de xenoinjerto de cáncer en ratón. Los resultados de modelos de xenoinjerto de cáncer en ratón con líneas de células LS174T, OC-3, Ramos HL-60 y Caki-1 (pretratadas con 2-fluorofucosa (SGD-2083)), se muestran en los paneles A-E, respectivamente. Los resultados de un modelo de xenoinjerto en ratón con líneas de células LS174T sin tratar se muestran en el panel F.

La **Figura 9** muestran el diseño del estudio (panel A) y los resultados (panel B) de un modelo de vacuna tumoral basado en la preinmunización con células de linfoma murino A20, seguido por un estímulo con células A20 vivas con o sin la administración de un análogo de fucosa, (2-fluorofucosa).

Descripción detallada de la invención

Definiciones

El término "anticuerpo" se refiere a (a) polipéptidos de inmunoglobulina y partes inmunológicamente activas de polipéptidos de inmunoglobulina, es decir, polipéptidos de la familia de las inmunoglobulinas, o fragmentos de las mismas, que contienen uno o más sitios de unión a antígeno que se une inmuno-específicamente a un antígeno específico y que tiene un dominio Fc que comprende un complejo de una o varias cadenas de azúcar unidas a N-glicósido, o (b) derivados conservativamente sustituidos de dichos polipéptidos de inmunoglobulina o fragmentos que se unen inmuno-específicamente al antígeno. Los anticuerpos se describen de manera general en, por ejemplo, Harlow & Lane, Anticuerpos: A Laboratory Manual (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1988).

Un "derivado de anticuerpo" significa un anticuerpo, tal como se ha definido anteriormente (incluido un fragmento de anticuerpo) o dominio Fc o región de un anticuerpo que comprende un complejo de una cadena de azúcar unida N-glicósido, que se ha modificado mediante la unión covalente de una molécula heteróloga tal como, por ejemplo, mediante la unión de un polipéptido heterólogo (por ejemplo, un dominio de unión a ligando de proteína heteróloga), o mediante glicosilación (diferente de la fucosilación del núcleo), deglicosilación (diferente de la fucosilación no del núcleo), acetilación, fosforilación u otra modificación no habitualmente asociada con el anticuerpo o dominio o región

Fc.

La expresión "anticuerpo monoclonal" se refiere a un anticuerpo que procede de un clon monocelular, que incluye cualquier clon de célula eucariota o procariota, o clon de fago, y no depende del procedimiento por el cual se ha producido. Por tanto, el término "anticuerpo monoclonal", no se limita a los anticuerpos producidos mediante la tecnología de hibridoma.

La expresión "región Fc" se refiere a la región constante de un anticuerpo, por ejemplo, un dominio C_H1-bisagra-C_H2-C_H3, que tiene opcionalmente un dominio C_H4, o un derivado del mismo sustituido de forma conservativa.

La expresión "dominio Fc" se refiere a la región constante dominio de un anticuerpo, por ejemplo, un dominio C_H1, bisagra, C_H2, C_H3 o C_H4, o un derivado de dicho dominio Fc sustituido de forma conservativa.

Un "antígeno" es una molécula a la que se une específicamente un anticuerpo o derivado de anticuerpo.

Las expresiones "unión específica" y "se une específicamente" significan que el anticuerpo o el derivado de anticuerpo, de una forma muy selectiva, con su correspondiente antígeno diana y no con la inmensidad de otros antígenos. Normalmente, el anticuerpo o derivado de anticuerpo se une con una afinidad de al menos 1×10^{-7} M, y preferentemente de 10^{-8} M a 10^{-9} M, 10^{-10} M, 10^{-11} M, o 10^{-12} M y se une a un antígeno predeterminado con una afinidad que es al menos dos veces mayor que su afinidad por la unión a un antígeno no específico (por ejemplo, BSA, caseína) diferente del antígeno predeterminado o una antígeno estrechamente relacionado.

Los términos "inhibir" o "inhibición de" significa reducir en una cantidad mensurable, o evitar completamente.

Como se usa en el presente documento, "peracetato de alquiniifucosa" se refiere a cualquiera o todas las formas de alquiniil fucosa (5-etinilarabinosa) con grupos acetato en las posiciones R¹⁻⁴ (véase la fórmula I y II, más abajo), incluido el tetraacetato de 6-etinil-tetrahidro-2H-piran-2,3,4,5-tetraol, incluidos los isómeros (2S,3S,4R,5R,6S) y (2R,3S,4R,5R,6S) y el tetraacetato de 5-((S)-1-hidroxiprop-2-iril)-tetrahidrofuran-2,3,4-triilol, incluidos los isómeros (2S,3S,4R,5R) y (2R,3S,4R,5R), y la forma aldosa, salvo que el contexto indique otra cosa. Las expresiones "triacetato de alquiniifucosa", "diacetato de alquiniifucosa" y "monoacetato de alquiniifucosa" se refiere a las formas de tricetato, diacetato y monoacetato de alquiniifucosa indicados, respectivamente.

Salvo que el contexto indique otra cosa, el término "alquilo" se refiere a un hidrocarburo saturado no sustituido lineal o ramificado que tiene de 1 a 20 átomos de carbono (y todas las combinaciones y subcombinaciones de intervalos y números específicos de átomos de carbono en el mismo), salvo que se especifique otra cosa. Se prefiere un grupo alquilo de 1 a 3, 1 a 8 o 1 a 10 átomos de carbono. Ejemplos de grupos alquilo son metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, iso-butilo, sec-butilo, *terc*-butilo, n-pentilo, 2-pentilo, 3-pentilo, 2-metil-2-butilo, n-hexilo, n-heptilo, n-octilo, n-nonilo, n-decilo, 3-metil-2-butilo, 3-metil-1-butilo, 2-metil-1-butilo, 1-hexilo, 2-hexilo, 3-hexilo, 2-metil-2-pentilo, 3-metil-2-pentilo, 4-metil-2-pentilo, 3-metil-3-pentilo, 2-metil-3-pentilo, 2,3-dimetil-2-butilo, y 3,3-dimetil-2-butilo.

Los grupos alquilo, por sí mismos o como parte de otro sustituyente, cuando están sustituidos, pueden estar sustituidos por uno o varios grupos, preferentemente de 1 a 3 grupos (y cualesquiera sustituyentes adicionales seleccionados entre halógeno), incluidos, aunque no de forma limitativa: halógeno, -O-(alquilo C₁-C₈), -O-(alqueno C₂-C₈), -O-(alquiniil C₂-C₈), arilo, -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)NH₂, -C(O)NHR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -SR', -SO₃R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, =O, -NH₂, -NH(R'), -N(R')₂ y -CN; donde cada R' se selecciona independientemente entre -H, -alquilo C₁-C₈, -alqueno C₂-C₈, -alquiniil C₂-C₈, arilo.

Salvo que el contexto indique otra cosa, los términos "alqueno" y "alquiniil" se refieren a cadenas de carbono no sustituidas u opcionalmente sustituidas (donde se indica) lineales y ramificadas que tienen de 2 a 20 átomos de carbono (y todas las combinaciones y subcombinaciones de intervalos y números específicos de átomos de carbono en el mismo), donde se prefieren de 2 a 3, de 2 a 4, de 2 a 8 o de 2 a 10 átomos de carbono. Una cadena de alqueno tiene al menos un doble enlace en la cadena y una cadena de alquiniil tiene un triple enlace en la cadena. Los ejemplos de grupos alqueno incluyen, aunque no de forma limitativa, etileno o vinilo, alilo, -1-butenilo, -2-butenilo, -isobutenilo, -1-pentenilo, -2-pentenilo, 3-metil-1-butenilo, -2 metil-2 butenilo, y -2,3 dimetil 2 butenilo. Los ejemplos de grupos alquiniil incluyen, aunque no de forma limitativa, acetilénico, propargilo, acetilenilo, propinilo, -1-butenilo, -2-butenilo, -1 pentinilo, -2 pentinilo, y -3 metil-1-butenilo.

Los grupos alqueno y alquiniil, por sí mismos o como parte de otro sustituyente, cuando están sustituidos, pueden estar sustituidos por uno o varios grupos, preferentemente de 1 a 3 grupos (y cualesquiera sustituyentes adicionales seleccionados entre halógeno), incluidos, aunque no de forma limitativa: halógeno, -O-(alquilo C₁-C₈), -O-(alqueno C₂-C₈), -O-(alquiniil C₂-C₈), -arilo, -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)NH₂, -C(O)NHR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -SR', -SO₃R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, =O, -NH₂, -NH(R'), -N(R')₂ y -CN; donde cada R' se selecciona de forma independiente entre H, -alquilo C₁-C₈, -alqueno C₂-C, -alquiniil C₂-C₈, arilo.

Salvo que el contexto indique otra cosa, el término "alqueno" se refiere a un radical hidrocarburo saturado no sustituido ramificado o no ramificado cadena lineal que radical tiene de 1 a 20 átomos de carbono (y todas las combinaciones y subcombinaciones de intervalos y números específicos de átomos de carbono en el mismo), siendo preferido de 1 a 8 o de 1 a 10 átomos de carbono y que tiene dos centros de radicales monovalentes derivados

mediante la eliminación de dos átomos de hidrógeno de los mismos o dos átomos de carbono diferentes de un alcano original. Los alquilenos típicos incluyen, aunque no de forma limitativa, metileno, etileno, propileno, butileno, pentileno, hexileno, heptileno, octileno, nonileno, decaleno, 1,4-ciclohexileno, y similares.

5 Los grupos alquileo, por sí mismos o como parte de otro sustituyente, cuando están sustituidos, pueden estar sustituidos por uno o varios grupos, preferentemente de 1 a 3 grupos (y cualesquiera sustituyentes adicionales seleccionados entre halógeno), incluidos, aunque no de forma limitativa: halógeno, -O-(alquilo C₁-C₈), -O-(alqueno C₂-C₈), -O-(alquino C₂-C₈), -arilo, -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)NH₂, -C(O)NHR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -SR', -SO₃R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, =O, -NH₂, -NH(R'), -N(R')₂ y -CN; donde cada R' se selecciona de forma independiente entre H, -alquilo C₁-C₈, -alqueno C₂-C₈, -alquino C₂-C₈, o -arilo.

10 "Alquileo" se refiere a un radical hidrocarburo insaturado, de cadena lineal o ramificada o cíclico de un grupo alqueno (como se ha descrito anteriormente), y que tiene dos centros radicales monovalentes derivados mediante la retirada de dos átomos de hidrógeno del mismo átomo de carbono o de dos átomos de carbono diferentes de un alqueno precursor. Un grupo "alquileo" puede estar no sustituido u opcionalmente sustituido (donde se indica), como se ha descrito anteriormente para grupos alqueno. En algunas realizaciones, un grupo "alquileo" no está
15 sustituido.

"Alquino" se refiere a un radical hidrocarburo insaturado de cadena lineal o ramificada o cíclica de un grupo alquino, y que tiene dos centros radicales monovalentes derivados mediante la retirada de dos átomos de hidrógeno del mismo átomo de carbono o de dos átomos de carbono diferentes de un alquino precursor. Un grupo "alquino" puede estar no sustituido u opcionalmente sustituido (donde se indica), como se ha descrito
20 anteriormente para grupos alquino. En algunas realizaciones, un grupo "alquino" no está sustituido.

Salvo que el contexto indique otra cosa, el término "arilo" se refiere a un radical hidrocarburo aromático monovalente sustituido o no sustituido de 6-20 átomos de hidrógeno (y todas las combinaciones y subcombinaciones de intervalos y números específicos de átomos de carbono en el mismo) derivado por la eliminación de un átomo de hidrógeno de un único átomo de carbono del sistema de anillo aromático precursor. Algunos grupos arilo se
25 representan en las estructuras ilustrativas como "Ar". Entre los grupos arilo típicos se incluyen, aunque no de forma limitativa, radicales derivados de benceno, benceno sustituido, fenilo, naftaleno, antraceno, bifenilo y similares.

Un grupo arilo, por sí mismo o como parte de otro sustituyente, puede estar opcionalmente sustituido con uno o más, preferentemente de 1 a 5, o incluso de 1 a 2 grupos que incluyen, aunque no de forma limitativa: halógeno, -alquilo C₁-C₈, -alqueno C₂-C₈, -alquino C₂-C₈, -O-(alquilo C₁-C₈), -O-(alqueno C₂-C₈), -O-(alquino C₂-C₈), -arilo, -C(O)R',
30 -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)NH₂, -C(O)NHR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -SR', -SO₃R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, -NO₂, -NH₂, -NH(R'), -N(R')₂ y -CN; donde cada R' se selecciona de forma independiente entre H, -alquilo C₁-C₈, -alqueno C₂-C₈, -alquino C₂-C₈, arilo.

Salvo que el contexto indique otra cosa, el término "heterociclo" se refiere a un sistema de anillo monocíclico sustituido o no sustituido que tiene de 3 a 7, o de 3 a 10, átomos en el anillo (también denominados como elementos
35 del anillo) en el que al menos un átomo del anillo es un heteroátomo seleccionado entre N, O, P, o S (y todas las combinaciones y subcombinaciones de intervalos específicos y números específicos de átomos de carbono y heteroátomos en el mismo). El heterociclo puede tener de 1 a 4 heteroátomos del anillo seleccionados independientemente entre N, O, P, o S. Uno o más de los átomos de N, C o S del heterociclo pueden estar oxidados. Un heterociclo monocíclico puede tener preferentemente de 3 a 7 elementos del anillo (por ejemplo, de 2 a 6 átomos
40 de carbono y de 1 a 3 heteroátomos seleccionados de N, O, P, o S). El anillo que incluye el heteroátomo puede ser aromático o no aromático. Salvo que se indique otra cosa, el heterociclo está unido a su grupo colgante por cualquier heteroátomo o átomo de carbono que dé como resultado una estructura estable.

Los heterociclos se describen en Paquette, "Principles of Modern Heterocyclic Chemistry" (W.A. Benjamin, Nueva York, 1968), particularmente los Capítulos 1, 3, 4, 6, 7, y 9; "The Chemistry of Heterocyclic Compounds, A series of
45 Monographs" (John Wiley & Sons, Nueva York, 1950 hasta la actualidad), particularmente los Volúmenes 13, 14, 16, 19 y 28; y J. MA. Chem. Soc. 82:5566 (1960). Los ejemplos de grupos "heterociclo" incluyen a modo de ejemplo y no de limitación piridilo, dihidropiridilo, tetrahidropiridilo (piperidilo), tiazolilo, pirimidinilo, furanilo, tienilo, pirrolilo, pirazolilo, imidazolilo, tetrazolilo, fucosilo, aziridinilo, azetidínilo, oxiranilo, oxetanilo, y tetrahidrofuranilo.

Un grupo heterocíclico, por sí mismo o como parte de otro sustituyente, cuando están sustituidos, pueden estar
50 sustituidos por uno o varios grupos, preferentemente 1 a 2 grupos, incluidos, aunque no de forma limitativa: -alquilo C₁-C₈, -alqueno C₂-C₈, -alquino C₂-C₈, halógeno, -O-(alquilo C₁-C₈), -O-(alqueno C₂-C₈), -O-(alquino C₂-C₈), -arilo, -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)NH₂, -C(O)NHR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -SR', -SO₃R', -S(O)₂R', S(O)R', -OH, -NH₂, -NH(R'), -N(R')₂ y -CN; donde cada R' se selecciona de forma independiente entre H, -alquilo C₁-C₈, -alqueno C₂-C₈, -alquino C₂-C₈, o -arilo.

55 A modo de ejemplo y no de limitación, los heterociclos unidos por carbono pueden estar unidos en las siguientes posiciones: posición 2, 3, 4, 5, o 6 de una piridinina; posición 3, 4, 5 o 6 de una piridazina; posición 2, 4, 5 o 6 de una pirimidina; posición 2, 3, 5 o 6 de una pirazina; posición 2, 3, 4 o 5 de un furano, tetrahidrofurano, tiofurano, tiofeno, pirrol o tetrahidropirrol; posición 2, 4 o 5 de un oxazol, imidazol o tiazol; posición 3, 4 o 5 de un isoxazol, pirazol, o

isotiazol; posición 2 o 3 de una aziridina; posición 2, 3 o 4 de una azetidina. Los heterociclos unidos a carbono ilustrativos pueden incluir 2-piridilo, 3-piridilo, 4-piridilo, 5-piridilo, 6-piridilo, 3-piridazinilo, 4-piridazinilo, 5-piridazinilo, 6-piridazinilo, 2-pirimidinilo, 4-pirimidinilo, 5-pirimidinilo, 6-pirimidinilo, 2-pirazinilo, 3-pirazinilo, 5-pirazinilo, 6-pirazinilo, 2-tiazolilo, 4-tiazolilo, o 5-tiazolilo.

5 A modo de ejemplo y no de limitación, los heterociclos unidos a un átomo de nitrógeno están unidos en la posición 1 de una aziridina, azetidina, pirrol, pirrolidina, 2-pirrolina, 3-pirrolina, imidazol, imidazolidina, 2-imidazolina, 3-imidazolina, pirazol, pirazolina, 2-pirazolina, 3-pirazolina, piperidina, piperazina, indol, indolina, o 1H-indazol; posición 2 de un isoindol, o isoindolina; y la posición 4 de una morfolina. De forma aún más típica, los heterociclos unidos a un átomo de nitrógeno incluyen 1-aziridilo, 1-azetidilo, 1-pirrolilo, 1-imidazolilo, 1-pirazolilo, y 1-piperidinilo.

10 Salvo que se indique otra cosa, el término "carbociclo", se refiere a un sistema de anillo monocíclico sustituido o no sustituido, saturado o insaturado no aromático que tiene de 3 a 6 átomos en el anillo (y todas las combinaciones y subcombinaciones de intervalos y números específicos de átomos de carbono en el mismo) en el que todos los átomos del anillo son átomos de carbono.

15 Los grupos carbociclo, por sí mismo o como parte de otro sustituyente, cuando están sustituidos, pueden estar sustituidos con, por ejemplo, uno o más grupos, preferentemente 1 o 2 grupos (y cualesquiera sustituyentes adicionales seleccionados entre halógeno), incluidos, aunque no de forma limitativa: halógeno, alquilo C₁-C₈, -alquenilo C₂-C₈, -alquinilo C₂-C₈, -O-(alquilo C₁-C₈), -O-(alquenilo C₂-C₈), -O-(alquilil C₂-C₈), arilo, -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)NH₂, -C(O)NHR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -SR', -SO₃R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, =O, -NH₂, -NH(R'), -N(R')₂ y -CN; donde cada R' se selecciona independientemente entre H, -alquilo C₁-C₈, -alquenilo C₂-C₈, -alquinilo C₂-C₈, arilo.

20 Los ejemplos de sustituyentes carbociclos monocíclicos incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, 1-ciclopent-1-enilo, 1-ciclopent-2-enilo, 1-ciclopent-3-enilo, ciclohexilo, 1-ciclohex-1-enilo, 1-ciclohex-2-enilo, 1-ciclohex-3-enilo, cicloheptilo, ciclooctilo, -1,3-ciclohexadienilo, -1,4-ciclohexadienilo, -1,3-cicloheptadienilo, -1,3,5-cicloheptatrienilo, y -ciclooctadienilo.

25 Cuando cualquier variable aparece más de una vez en cualquier componente o en cualquier fórmula, su definición en cada ocurrencia es independiente de su definición en cada una de las demás. Solo se permiten las combinaciones de sustituyentes y/o variables cuando dichas combinaciones den como resultado compuestos estables.

30 Salvo que el contexto indique otra cosa, un guión (-) designa el punto de unión a la molécula colgante. En consecuencia, el término "-(alquilen C₁-C₁₀)arilo" o "-alquilen C₁-C₁₀(arilo)" se refiere a un radical alquilenilo C₁-C₁₀ tal como se define en el presente documento, en el que el radical alquilenilo está unido a la molécula colgante en cualquiera de los átomos de carbono del radical alquilenilo y que un átomo de hidrógeno unido al átomo de carbono del radical alquilenilo está sustituido con un radical arilo tal como se define en el presente documento.

35 Cuando un grupo particular está "sustituido", dicho grupo puede tener uno o más sustituyentes, preferentemente de uno a cinco sustituyentes, más preferentemente de uno a tres sustituyentes, lo más preferido de uno a dos sustituyentes, seleccionados independientemente entre la lista de sustituyentes. El grupo puede tener, sin embargo, de una forma general, cualquier número de sustituyentes seleccionados entre halógeno.

40 Se pretende que la definición de cualquier sustituyente o variable en un sitio particular de una molécula sea independiente de sus definiciones en cualquier otro sitio de la molécula. Se entiende que el experto en la materia puede seleccionar los sustituyentes y los patrones de sustitución en los compuestos de la presente invención para proporcionar compuestos que sean activos y químicamente estables, y que se puedan sintetizar fácilmente por técnicas conocidas en la materia, así como por los procedimientos definidos en el presente documento.

45 La expresión "farmacéuticamente aceptable" significa autorizado por un organismo regulador de un gobierno federal o nacional o relacionado en la U.S. Pharmacopeia u otra farmacopea reconocida generalmente para su uso en animales y, más especialmente, en seres humanos. La expresión "ingrediente farmacéuticamente compatible" se refiere a cualquier diluyente, adyuvante, excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable con el que se administra el compuesto.

50 "Grupos electroatrayentes pequeños" se refiere a cualquier sustituyente que tenga mayor electronegatividad en el sitio de unión del sustituyente que, por ejemplo, un átomo de hidrógeno o un grupo hidroxilo con respecto al sustituyente presente en la fucosa en dicho sitio. En general, el grupo electroatrayente pequeño tiene 10 átomos o menos (diferentes a hidrógeno) e incluye grupos tales como nitro; ciano y cianoalquilo (por ejemplo, -CH₂CH₂CN); halógenos; acetileno u otros alquinos o haloalquinos (por ejemplo, -C≡CCF₃); alquenos o haloalquenos; alenos; ácidos carboxílicos, éster, amidas y formas sustituidas con halo de los mismos; ácidos sulfónico y fosfónico, ésteres y amidas, y formas sustituidas con halo de los mismos; grupos haloalquilo (por ejemplo, -CF₃, -CHF₂, -CH₂CF₃), grupos acilo y halohacilo (por ejemplo, -C(O)CH₃ y -C(O)CF₃); alquilsulfonilo y haloalquilsulfonilo (por ejemplo, -S(O)₂alquilo y -S(O)₂haloalquilo); ariloxi (por ejemplo, fenoxi y fenoxi sustituido); aralquilo (por ejemplo, benciloxi y benciloxi sustituido); y oxiranos. Los grupos electroatrayentes pequeños preferidos son los que tienen 8, 7 o 6 o menos átomos (diferentes al hidrógeno).

el que el lado del extremo no reductor en la estructura del núcleo tiene cero, una o más ramas de galactosa-N-acetilglucosamina (también denominada como "gal-GlcNAc") y el lado del acetilglucosamina de Gal-GlcNAc tiene opcionalmente además una estructura tal como un ácido siálico, que bisecta la N-acetilglucosamina o similar, pero excluye cadenas con un alto componente de manosa.

- 5 De acuerdo con los presentes usos médicos, típicamente solamente una pequeña cantidad de fucosa se incorpora a una o varias cadenas de azúcar (por ejemplo, un glicano o complejo de una cadena de azúcar unida a N-glicósidos) tras administrar un análogo de fucosa. Por ejemplo, en diversas realizaciones, menos de aproximadamente un 60 %, menos de aproximadamente un 50 %, menos de aproximadamente un 40 %, menos de aproximadamente un 30 %, menos de aproximadamente un 20 %, menos de aproximadamente un 15 %, menos de aproximadamente un 10 %, menos de aproximadamente un 5 %, o menos de aproximadamente un 1 % de los anticuerpos en el suero del animal (por ejemplo, un mamífero, tal como un ser humano) tienen el núcleo fucosilado, en comparación con un animal que no recibe el análogo de fucosa.
- 10 En algunas realizaciones, prácticamente ninguno (es decir, menos del 0,5 %) de los anticuerpos en el suero de un animal no tienen el núcleo fucosilado, en comparación con un animal que no recibe el análogo de fucosa.
- 15 En algunas realizaciones, la fucosilación de la proteína se reduce en aproximadamente un 60 %, en aproximadamente un 50 %, en aproximadamente un 40 %, en aproximadamente un 30 %, en aproximadamente un 20 %, en aproximadamente un 15 %, en aproximadamente un 10 %, en aproximadamente un 5 %, o en aproximadamente un 1 % para las proteínas de la superficie celular en el animal (por ejemplo, un mamífero, tal como un ser humano) están fucosiladas, en comparación con un animal que no recibe el análogo de fucosa.
- 20 En algunas realizaciones, la fucosilación de la proteína mediante el enlace $\alpha(1,2)$ se reduce en aproximadamente un 60 %, en aproximadamente un 50 %, en aproximadamente un 40 %, en aproximadamente un 30 %, en aproximadamente un 20 %, en aproximadamente un 15 %, en aproximadamente un 10 %, en aproximadamente un 5 %, o en aproximadamente un 1 % para las proteínas de la superficie celular en el animal (por ejemplo, un mamífero, tal como un ser humano) están fucosiladas, en comparación con un animal que no recibe el análogo de fucosa.
- 25 En algunas realizaciones, la fucosilación de la proteína mediante el enlace $\alpha(1,3)$ se reduce en aproximadamente un 60 %, en aproximadamente un 50 %, en aproximadamente un 40 %, en aproximadamente un 30 %, en aproximadamente un 20 %, en aproximadamente un 15 %, en aproximadamente un 10 %, en aproximadamente un 5 %, o en aproximadamente un 1 % para las proteínas de la superficie celular en el animal (por ejemplo, un mamífero, tal como un ser humano) están fucosiladas, en comparación con un animal que no recibe el análogo de fucosa.
- 30 En algunas realizaciones, la fucosilación de la proteína mediante el enlace $\alpha(1,4)$ se reduce en aproximadamente un 60 %, en aproximadamente un 50 %, en aproximadamente un 40 %, en aproximadamente un 30 %, en aproximadamente un 20 %, en aproximadamente un 15 %, en aproximadamente un 10 %, en aproximadamente un 5 %, o en aproximadamente un 1 % para las proteínas de la superficie celular en el animal (por ejemplo, un mamífero, tal como un ser humano) están fucosiladas, en comparación con un animal que no recibe el análogo de fucosa.
- 35 En algunas realizaciones, la fucosilación de la proteína mediante el enlace $\alpha(1,6)$ se reduce en aproximadamente un 60 %, en aproximadamente un 50 %, en aproximadamente un 40 %, en aproximadamente un 30 %, en aproximadamente un 20 %, en aproximadamente un 15 %, en aproximadamente un 10 %, en aproximadamente un 5 %, o en aproximadamente un 1 % para las proteínas de la superficie celular en el animal (por ejemplo, un mamífero, tal como un ser humano) están fucosiladas, en comparación con un animal que no recibe el análogo de fucosa.
- 40 En algunas realizaciones, la fucosilación de los glóbulos blancos en el suero del animal (por ejemplo, un mamífero, tal como un ser humano) se reduce en al menos aproximadamente un 60 %, al menos aproximadamente un 50 %, al menos aproximadamente un 40 %, al menos aproximadamente un 30 %, al menos aproximadamente un 20 %, al menos aproximadamente un 15 %, al menos aproximadamente un 10 % de identidad, o al menos aproximadamente un 5 %, en comparación con un animal que no recibe el análogo de fucosa.
- 45 En algunas realizaciones, la fucosilación mediante enlaces $\alpha(1,3)$ de los glóbulos blancos en el suero del animal (por ejemplo, un mamífero, tal como un ser humano) se reduce en al menos aproximadamente un 60 %, al menos aproximadamente un 50 %, al menos aproximadamente un 40 %, al menos aproximadamente un 30 %, al menos aproximadamente un 20 %, al menos aproximadamente un 15 %, al menos aproximadamente un 10 % de identidad, o al menos aproximadamente un 5 %, en comparación con un animal que no recibe el análogo de fucosa.
- 50 En algunas realizaciones, la fucosilación mediante enlaces $\alpha(1,4)$ de los glóbulos blancos en el suero del animal (por ejemplo, un mamífero, tal como un ser humano) se reduce en al menos aproximadamente un 60 %, al menos aproximadamente un 50 %, al menos aproximadamente un 40 %, al menos aproximadamente un 30 %, al menos aproximadamente un 20 %, al menos aproximadamente un 15 %, al menos aproximadamente un 10 % de identidad, o al menos aproximadamente un 5 %, en comparación con un animal que no recibe el análogo de fucosa.
- 55 En algunas realizaciones, la fucosilación de los anticuerpos en el suero del animal (por ejemplo, un mamífero, tal como un ser humano) se reduce en al menos aproximadamente un 60 %, al menos aproximadamente un 50 %, al menos aproximadamente un 40 %, al menos aproximadamente un 30 %, al menos aproximadamente un 20 %, al menos aproximadamente un 15 %, al menos aproximadamente un 10 % de identidad, o al menos aproximadamente un 5 %, en comparación con un animal que no recibe el análogo de fucosa.
- 60 En algunas realizaciones, la fucosilación de los anticuerpos en el suero del animal (por ejemplo, un mamífero, tal como un ser humano) se reduce en al menos aproximadamente un 60 %, al menos aproximadamente un 50 %, al menos aproximadamente un 40 %, al menos aproximadamente un 30 %, al menos aproximadamente un 20 %, al menos aproximadamente un 15 %, al menos aproximadamente un 10 % de identidad, o al menos aproximadamente un 5 %, en comparación con un animal que no recibe el análogo de fucosa.

En ciertas realizaciones, solamente una cantidad poco importante de un análogo de fucosa (o un metabolito o producto del análogo de fucosa) se incorpora a los glicanos (por ejemplo, al complejo de una cadena de azúcar unida a N-glicósido(s)) del anticuerpo, derivado de anticuerpo u otros glicanos de proteínas. Por ejemplo, en diversas realizaciones, menos de aproximadamente un 60 %, menos de aproximadamente un 40 %, menos de aproximadamente un 30 %, menos de aproximadamente un 20 %, menos de aproximadamente un 15 %, menos de aproximadamente un 10 %, menos de aproximadamente un 5 %, o menos de aproximadamente un 1 % del análogo de fucosa (o un metabolito o producto del análogo de fucosa) se incorpora a los glicanos de los anticuerpos en el suero del animal, en comparación con un animal que no recibe el análogo de fucosa. En algunas realizaciones, menos de aproximadamente un 60 %, menos de aproximadamente un 40 %, menos de aproximadamente un 30 %, menos de aproximadamente un 20 %, menos de aproximadamente un 15 %, menos de aproximadamente un 10 %, menos de aproximadamente un 5 %, o menos de aproximadamente un 1 % del análogo de fucosa (o un metabolito o producto del análogo de fucosa) se incorpora a los glicanos de las proteínas de las células superficiales del animal, en comparación con un animal que no recibe el análogo de fucosa.

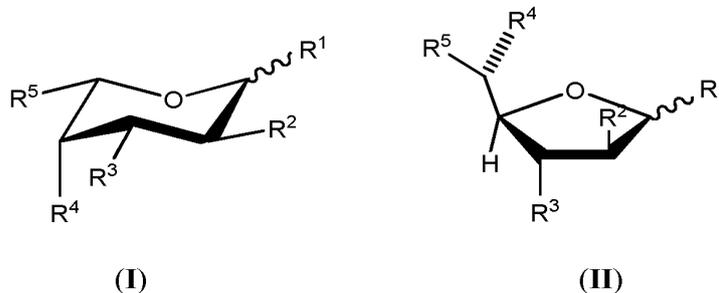
En algunas realizaciones, menos de aproximadamente un 60 %, menos de aproximadamente un 40 %, menos de aproximadamente un 30 %, menos de aproximadamente un 20 %, menos de aproximadamente un 15 %, menos de aproximadamente un 10 %, menos de aproximadamente un 5 %, o menos de aproximadamente un 1 % del análogo de fucosa (o un metabolito o producto del análogo de fucosa) se incorpora a los glicanos de los glóbulos rojos en el suero del animal, en comparación con un animal que no recibe el análogo de fucosa.

Análogos de fucosa

Los análogos de fucosa adecuados para usos médicos de la presente invención (identificados anteriormente como Fórmula III, IV, V y VI) son los que se pueden administrar con seguridad a un mamífero en una cantidad eficaz para inhibir la fucosilación del núcleo en un complejo de una cadena de azúcar unida a N-glicósidos de los anticuerpos o derivados de anticuerpos. Los análogos de fucosa se describen en la solicitud de patente estadounidense publicada con número 2009-0317869 que reduce la incorporación de fucosa en el complejo de una cadena de azúcar unida a N-glicósidos de anticuerpos o derivados de anticuerpos producidos por células hospedadoras *in vitro*. El análogo de fucosa se puede proporcionar a un sujeto animal (por ejemplo, un mamífero, por vía parental, oral, u otro modo de administración adecuado. También se desvelan en el presente documento, aunque no se reivindican, los análogos de fucosa de Fórmula I y II, identificados a continuación.

En algunas realizaciones, un análogo de fucosa (o un metabolito intracelular o un producto del análogo de fucosa) inhibe una o varias enzimas en la ruta de rescate de la fucosa. (Tal como se usa en el presente documento, un metabolito intracelular puede ser, por ejemplo, un análogo modificado con GDP o un análogo parcialmente desesterificado. Un producto puede ser, por ejemplo, un producto completa o parcialmente desesterificado). Por ejemplo, un análogo de fucosa (o un metabolito intracelular o un producto del análogo de fucosa) puede inhibir la actividad de fucosinasa o de la GDP-fucosa-pirofosforilasa. En algunas realizaciones, un análogo de fucosa (o un metabolito intracelular o un producto del análogo de fucosa) inhibe la fucosiltransferasa (tal como la 1,2-fucosiltransferasa, 1,3-fucosiltransferasa, 1,4-fucosiltransferasa, o 1,6-fucosiltransferasa (por ejemplo, la proteína FUT8)). En algunas realizaciones, un análogo de fucosa (o un metabolito intracelular o un producto del análogo de fucosa) puede inhibir la actividad de una enzima en la ruta sintética de la fucosa nueva. Por ejemplo, un análogo de fucosa (o un metabolito intracelular o un producto del análogo de fucosa) puede inhibir la actividad de GDP-manosa-4,6-deshidratasa o/o GDP-fucosa sintetasa. En algunas realizaciones, un análogo de fucosa (o un metabolito intracelular o un producto del análogo de fucosa) puede inhibir un transportador de fucosa (por ejemplo, el transportador de GDP-fucosa.

Se desvela en el presente documento un análogo de fucosa que tiene la siguiente fórmula (I) o (II):



o una sal o solvato biológicamente aceptable del análogo, en la que cada fórmula (I) o (II) puede ser un anómero alfa o beta o la correspondiente forma de aldosa. En las fórmulas anteriores, cada R¹-R⁴ se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en -OH, -OC(O)H, -OC(O)(alquilo C₁-C₁₀), -OC(O)alqueno C₂-C₁₀, -OC(O)alquino C₂-C₁₀, -OC(O)arilo, -OC(O)heterociclo, -OC(O)alqueno C₁-C₁₀ (arilo), -OC(O)alqueno C₂-C₁₀ (arilo), -OC(O)alqueno C₂-C₁₀ (arilo), -OC(O)alqueno C₁-C₁₀ (heterociclo), -OC(O)alqueno C₂-C₁₀ (heterociclo), -OC(O)alqueno C₂-C₁₀ (heterociclo), -OC(O)CH₂O(CH₂CH₂O)_nCH₃, -

5 OC(O)CH₂CH₂O(CH₂CH₂O)_nCH₃, -O-trialquil C₁-C₃ sililo, -Oalquilo C₁-C₁₀, -OCH₂OC(O) alquilo, -OCH₂OC(O) alqueniilo, -OCH₂OC(O) alquinilo, -OCH₂OC(O) arilo, -OCH₂OC(O) heterociclo, -OCH₂OC(O)O alquilo, -OCH₂OC(O)O alqueniilo, -OCH₂OC(O)O alquinilo, -OCH₂OC(O)O arilo y -OCH₂OC(O)O heterociclo, en la que cada n es un número entero que se selecciona independientemente entre 0-5; y R⁵ se selecciona entre el grupo que consiste de -C≡CH, -C≡CCH₃, -CH₂C≡CH, -C(O)OCH₃, -CH(OAc)CH₃, -CN, -CH₂CN, -CH₂X (en la que X es F, Br, Cl o I), -CHX₂ (en la que cada X es F, Br o Cl) y metoxirano.

10 En algunas divulgaciones, el análogo de fucosa tiene la fórmula (I) o (II), en la que: cada R¹-R⁴ se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en -OH, -OC(O)H, -OC(O)(alquilo C₁-C₁₀), -OC(O)arilo, -OC(O)heterociclo, -OC(O)alquilenilo C₁-C₁₀ (arilo), -OC(O)alquilenilo C₁-C₁₀ (heterociclo), -OC(O)CH₂O(CH₂CH₂O)_nCH₃, -OC(O)CH₂CH₂O(CH₂CH₂O)_nCH₃, -O-tri-C₁-C₃ sililo, -Oalquilo C₁-C₁₀, -OCH₂OC(O) alquilo, -OCH₂OC(O)O alquilo, -OCH₂OC(O) arilo, y -OCH₂OC(O)O arilo, en la que cada n es un número entero que se selecciona independientemente entre 0-5; y R⁵ se selecciona entre el grupo que consiste de -C≡CH, -C≡CCH₃, -CH₂C≡CH, -C(O)OCH₃, -CH(OAc)CH₃, -CN, -CH₂CN, -CH₂X (en la que X es F, Br, Cl o I), -CHX₂ (en la que cada X es F, Br o Cl), y metoxirano.

15 En algunas divulgaciones, el análogo de fucosa tiene la fórmula (I) o (II), en el que cada R¹-R⁴ se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en -OH, -OC(O)H, -OC(O)(alquilo C₁-C₁₀), -OC(O)alqueniilo C₂-C₁₀, -OC(O)alquinilo C₂-C₁₀, -OC(O)arilo, -OC(O)heterociclo, -OC(O)alquilenilo C₁-C₁₀ (arilo), -OC(O)alquilenilo C₂-C₁₀ (arilo), -OC(O)alquilenilo C₂-C₁₀ (arilo), -OC(O)alquilenilo C₁-C₁₀ (heterociclo), -OC(O)alquilenilo C₂-C₁₀ (heterociclo), y -OC(O)alquilenilo C₂-C₁₀ (heterociclo); y R⁵ se selecciona entre el grupo que consiste de -C≡CH, -C≡CCH₃, -CH₂C≡CH, -C(O)OCH₃, -CH(OAc)CH₃, -CN, -CH₂CN, -CH₂X (en la que X es F, Br, Cl o I), -CHX₂ (en la que cada X es F, Br o Cl), y metoxirano.

20 En algunas divulgaciones, el análogo de fucosa tiene la fórmula (I) o (II), en las que cada R¹-R⁴ se selecciona independientemente entre el grupo que consiste de -O-tri-C₁-C₃ sililo y -Oalquilo C₁-C₁₀; y R⁵ se selecciona entre el grupo que consiste de -C≡CH, -C≡CCH₃, -CH₂C≡CH, -C(O)OCH₃, -CH(OAc)CH₃, -CN, -CH₂CN, -CH₂X (en la que X es Br, Cl o I), y metoxirano.

25 En algunas divulgaciones, el análogo de fucosa tiene la fórmula (I) o (II), en la que cada uno de R¹-R⁴ se selecciona independientemente entre el grupo que consiste de -OCH₂OC(O) alquilo, -OCH₂OC(O) alqueniilo, -OCH₂OC(O) alquinilo, -OCH₂OC(O) arilo, -OCH₂OC(O) heterociclo, -OCH₂OC(O)O alquilo, -OCH₂OC(O)O alqueniilo, -OCH₂OC(O)O alquinilo, -OCH₂OC(O)O arilo, y -OCH₂OC(O)O heterociclo; y R⁵ se selecciona entre el grupo que consiste de -C≡CH, -C≡CCH₃, -CH₂C≡CH, -C(O)OCH₃, -CH(OAc)CH₃, -CN, -CH₂CN, -CH₂X (en la que X es F, Br, Cl o I), -CHX₂ (en la que cada X es F, Br o Cl), y metoxirano.

30 En algunas divulgaciones, el análogo de fucosa tiene la fórmula (I) o (II), en el que cada R¹-R⁴ se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en -OH, -OC(O)H, -OC(O)(alquilo C₁-C₁₀), -OC(O)alqueniilo C₂-C₁₀, -OC(O)alquinilo C₂-C₁₀, -OC(O)arilo, -OC(O)heterociclo, -OC(O)alquilenilo C₁-C₁₀ (arilo), -OC(O)alquilenilo C₂-C₁₀ (arilo), -OC(O)alquilenilo C₂-C₁₀ (arilo), -OC(O)alquilenilo C₁-C₁₀ (heterociclo), -OC(O)alquilenilo C₂-C₁₀ (heterociclo), y -OC(O)alquilenilo C₂-C₁₀ (heterociclo); y R⁵ se selecciona entre el grupo que consiste de -C≡CH, -C≡CCH₃, -CH₂C≡CH, -C(O)OCH₃, -CH(OAc)CH₃, -CN, -CH₂CN, y metoxirano.

35 En algunas divulgaciones, el análogo de fucosa tiene la fórmula (I) o (II), en el que cada R¹-R⁴ se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en -OH, -OC(O)H, -OC(O)(alquilo C₁-C₁₀), -OC(O)alqueniilo C₂-C₁₀, -OC(O)alquinilo C₂-C₁₀, -OC(O)arilo, -OC(O)heterociclo, -OC(O)alquilenilo C₁-C₁₀ (arilo), -OC(O)alquilenilo C₂-C₁₀ (arilo), -OC(O)alquilenilo C₂-C₁₀ (arilo), -OC(O)alquilenilo C₁-C₁₀ (heterociclo), -OC(O)alquilenilo C₂-C₁₀ (heterociclo), y -OC(O)alquilenilo C₂-C₁₀ (heterociclo); y R⁵ se selecciona entre el grupo que consiste en -CH₂F, -CH₂I, -CH₂Br, y -CH₂Cl.

40 En algunas divulgaciones, el análogo de fucosa tiene la fórmula (I) o (II), en el que cada R¹-R⁴ se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en -OH, -OC(O)H, -OC(O)(alquilo C₁-C₁₀), -OC(O)alqueniilo C₂-C₁₀, -OC(O)alquinilo C₂-C₁₀, -OC(O)arilo, -OC(O)heterociclo, -OC(O)alquilenilo C₁-C₁₀ (arilo), -OC(O)alquilenilo C₂-C₁₀ (arilo), -OC(O)alquilenilo C₂-C₁₀ (arilo), -OC(O)alquilenilo C₁-C₁₀ (heterociclo), -OC(O)alquilenilo C₂-C₁₀ (heterociclo), y -OC(O)alquilenilo C₂-C₁₀ (heterociclo); y R⁵ se selecciona entre el grupo que consiste en -CHF₂, -CHBr₂, y -CHCl₂.

45 En algunas divulgaciones, el análogo de fucosa tiene la fórmula (I) o (II), en el que cada R¹-R⁴ se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en -OH, -OC(O)H, -OC(O)(alquilo C₁-C₁₀), -OC(O)alqueniilo C₂-C₁₀, -OC(O)alquinilo C₂-C₁₀, -OC(O)arilo, -OC(O)heterociclo, -OC(O)alquilenilo C₁-C₁₀ (arilo), -OC(O)alquilenilo C₂-C₁₀ (arilo), -OC(O)alquilenilo C₂-C₁₀ (arilo), -OC(O)alquilenilo C₁-C₁₀ (heterociclo), -OC(O)alquilenilo C₂-C₁₀ (heterociclo), y -OC(O)alquilenilo C₂-C₁₀ (heterociclo); y R⁵ se selecciona entre el grupo que consiste de -C≡CH, -C≡CCH₃ y -CH₂C≡CH.

50 En algunas divulgaciones, el análogo de fucosa tiene la fórmula (I) o (II), en el que cada R¹-R⁴ se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en -OH, -OC(O)H, -OC(O)(alquilo C₁-C₁₀), -OC(O)alqueniilo C₂-C₁₀, -OC(O)alquinilo C₂-C₁₀, -OC(O)arilo, -OC(O)heterociclo, -OC(O)alquilenilo C₁-C₁₀ (arilo), -OC(O)alquilenilo C₂-C₁₀

(arilo), -OC(O)alquinileno C₂-C₁₀ (arilo), -OC(O)alquileno C₁-C₁₀ (heterociclo), -OC(O)alquenileno C₂-C₁₀ (heterociclo), y -OC(O)alquileno C₂-C₁₀ (heterociclo); y R⁵ se selecciona entre el grupo que consiste de -C≡CH, -C≡CCH₃, -(CH₂)_n(CN) (donde n= 0 o 1) y -CO(O)CH₃.

5 En algunas divulgaciones, el análogo de fucosa tiene la fórmula (I) o (II), en el que cada R¹-R⁴ se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en -OH, -OC(O)H, -OC(O)(alquilo C₁-C₁₀), -OC(O)alquenilo C₂-C₁₀, -OC(O)alquinilo C₂-C₁₀, -OC(O)arilo, -OC(O)heterociclo, -OC(O)alquileno C₁-C₁₀ (arilo), -OC(O)alquenileno C₂-C₁₀ (arilo), -OC(O)alquinileno C₂-C₁₀ (arilo), -OC(O)alquileno C₁-C₁₀ (heterociclo), -OC(O)alquenileno C₂-C₁₀ (heterociclo), y -OC(O)alquileno C₂-C₁₀ (heterociclo); y R⁵ se selecciona entre el grupo que consiste de -C≡CH, -C≡CCH₃, -CH₂CN y -CO(O)CH₃.

10 En algunas divulgaciones, el análogo de fucosa tiene la fórmula (I) o (II), en el que cada R¹-R⁴ se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en -OH, -OC(O)H, -OC(O)(alquilo C₁-C₁₀), -OC(O)alquenilo C₂-C₁₀, -OC(O)alquinilo C₂-C₁₀, -OC(O)arilo, -OC(O)heterociclo, -OC(O)alquileno C₁-C₁₀ (arilo), -OC(O)alquenileno C₂-C₁₀ (arilo), -OC(O)alquinileno C₂-C₁₀ (arilo), -OC(O)alquileno C₁-C₁₀ (heterociclo), -OC(O)alquenileno C₂-C₁₀ (heterociclo), y -OC(O)alquileno C₂-C₁₀ (heterociclo); y R⁵ se selecciona entre el grupo que consiste de -C≡CH, -C≡CCH₃, -CH(OAc)CH₃, -CH₂CN, y -CO(O)CH₃.

En algunas divulgaciones, el análogo de fucosa tiene la fórmula (I) o (II), en las que R⁵ es como se define en el presente documento, y cada uno de R¹-R⁴ es hidroxilo o -OC(O)alquilo C₁-C₁₀.

En algunas divulgaciones, el análogo de fucosa tiene la fórmula (I) o (II), en las que R⁵ es como se define en el presente documento, y cada uno de R¹-R⁴ es hidroxilo o -OAc.

20 En algunas divulgaciones, el análogo de fucosa tiene la fórmula (I) o (II), en las que cada uno de R¹-R⁴ se selecciona independientemente entre el grupo que consiste de -OH, y -OC(O)alquilo C₁-C₁₀; y R⁵ se selecciona entre el grupo que consiste de -C≡CH, -C≡CCH₃, -CH(OAc)CH₃, -CH₂CN, -CO(O)CH₃, -CH₂F y -CHF₂.

25 En algunas divulgaciones, el análogo de fucosa tiene la fórmula (I) o (II), en la que cada uno de R¹-R⁴ se selecciona independientemente entre el grupo que consiste de -OH, y -OAc; y R⁵ se selecciona entre el grupo que consiste de -C≡CH, -C≡CCH₃, -CH(OAc)CH₃, -CH₂CN, -CO(O)CH₃, -CH₂F y -CHF₂.

En algunas divulgaciones, el análogo de fucosa tiene la fórmula (I) o (II), en las que cada uno de R¹-R⁴ se selecciona independientemente entre el grupo que consiste de -OH, y -OC(O)alquilo C₁-C₁₀; y R⁵ se selecciona entre el grupo que consiste de -C=CH, -CH₂F y -CHF₂.

30 En algunas divulgaciones, el análogo de fucosa tiene la fórmula (I) o (II), en la que cada uno de R¹-R⁴ se selecciona independientemente entre el grupo que consiste de -OH, y -OAc; y R⁵ se selecciona entre el grupo que consiste de -C≡CH, -CH₂F y -CHF₂.

En algunas divulgaciones, el análogo de fucosa tiene la fórmula (I) o (II), en las que cada uno de R¹-R⁴ se selecciona independientemente entre el grupo que consiste de -OH, y -OC(O)alquilo C₁-C₁₀; y R⁵ es -C≡CH.

35 En algunas divulgaciones, el análogo de fucosa tiene la fórmula (I) o (II), en la que cada uno de R¹-R⁴ se selecciona independientemente entre el grupo que consiste de -OH, y -OAc; y R⁵ es -C≡CH.

En algunas divulgaciones, el análogo de fucosa tiene la fórmula (I) o (II), en las que cada uno de R¹-R⁴ se selecciona independientemente entre el grupo que consiste de -OH, y -OC(O)alquilo C₁-C₁₀; y R⁵ es -CHF₂.

En algunas divulgaciones, el análogo de fucosa tiene la fórmula (I) o (II), en la que cada uno de R¹-R⁴ se selecciona independientemente entre el grupo que consiste de -OH, y -OAc; y R⁵ es -CHF₂.

40 En algunas divulgaciones, el análogo de fucosa tiene la fórmula (I) o (II), en la que cada uno de R¹-R⁴ es -OH o un éster seleccionado entre el grupo que consiste de -OC(O)H, -OC(O)(alquilo C₁-C₁₀), -OC(O)alquenilo C₂-C₁₀, -OC(O)alquinilo C₂-C₁₀, -OC(O)arilo, -OC(O)heterociclo, -OC(O)alquileno C₁-C₁₀ (arilo), -OC(O)alquenileno C₂-C₁₀ (arilo), -OC(O)alquinileno C₂-C₁₀ (arilo), -OC(O)alquileno C₁-C₁₀ (heterociclo), -OC(O)alquenileno C₂-C₁₀ (heterociclo), -OC(O)alquinileno C₂-C₁₀ (heterociclo), -OC(O)CH₂O(CH₂CH₂O)_nCH₃ (donde n es 0-5), y -OC(O)CH₂CH₂O(CH₂CH₂O)_nCH₃ (donde n es 0-5); y R⁵ se selecciona entre el grupo que consiste de -C≡CH, -C≡CCH₃, -CH₂C≡CH, -C(O)OCH₃, -CH(OAc)CH₃, -CN, -CH₂CN, -CH₂X (en la que X es F, Br, Cl o I), -CHX₂ (en la que cada X es F, Br o Cl), y metoxirano.

45 En algunas divulgaciones, el análogo de fucosa tiene la fórmula (I) o (II), en las que cada uno de R¹-R⁴ se selecciona independientemente entre el grupo que consiste de -OH, y -OC(O)alquilo C₁-C₁₀; y R⁵ es -CH₂X (en la que X es F, Br, Cl o I).

En algunas divulgaciones, el análogo de fucosa tiene la fórmula (I) o (II), en la que cada uno de R¹-R⁴ se selecciona independientemente entre el grupo que consiste de -OH, y -OAc; y R⁵ es -CH₂X (en la que X es F, Br, Cl o I).

En algunas divulgaciones, el análogo de fucosa tiene la fórmula (I) o (II), en las que cada uno de R¹-R⁴ se selecciona

independientemente entre el grupo que consiste de -OH, y -OC(O)alquilo C₁-C₁₀; y R⁵ es -CH₂Br.

En algunas divulgaciones, el análogo de fucosa tiene la fórmula (I) o (II), en la que cada uno de R¹-R⁴ se selecciona independientemente entre el grupo que consiste de -OH, y -OAc; y R⁵ es -CH₂Br.

5 En algunas divulgaciones, el análogo de fucosa tiene un peso molecular de menos de 2000 daltons. En algunas divulgaciones, el análogo de fucosa tiene un peso molecular de menos de 1000 daltons.

En algunas divulgaciones, R⁵ no está sustituido.

En algunas divulgaciones, cada uno de R¹-R⁴ no está sustituido.

En algunas divulgaciones, R⁵ no es una cetona (-C(O)alquilo).

En algunas divulgaciones, R⁵ no es -CH(CH₃)OAc.

10 En algunas divulgaciones, R⁵ no es -CH(CH₃)OAc, cuando cada uno de R¹-R⁴ es -OAc.

En algunas divulgaciones, R⁵ no es -C≡CH.

En algunas divulgaciones, R⁵ no es -C≡CH, cuando cualquiera de R¹-R⁴ es -OAc.

En algunas divulgaciones, R⁵ no es -C≡CH, cuando cualquiera de R¹-R⁴ es -OC(O)alquilo.

En algunas divulgaciones, R⁵ no es -C≡CH, cuando cada uno de R¹-R⁴ es -OC(O)alquilo.

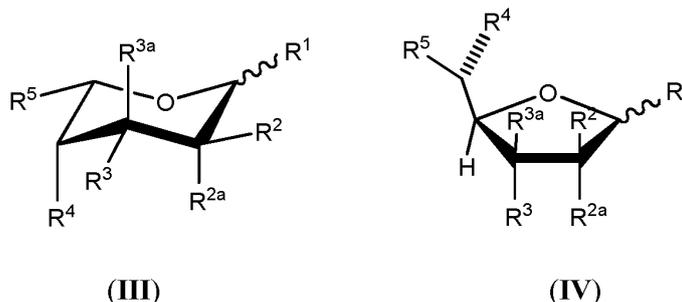
15 En algunas divulgaciones, R⁵ no es -C≡CH₃ cuando cada uno de R¹-R⁴ es OH.

En algunas divulgaciones, el análogo de fucosa es peracetato de alquiniifucosa. En algunas divulgaciones, el análogo de fucosa es triacetato de alquiniifucosa. En algunas divulgaciones, el análogo de fucosa es diacetato de alquiniifucosa. En algunas divulgaciones, el análogo de fucosa es una mezcla de peracetato de alquiniifucosa, triacetato de alquiniifucosa y diacetato de alquiniifucosa.

20 En algunas divulgaciones, el análogo de fucosa es una mezcla de peracetato de alquiniifucosa, triacetato de alquiniifucosa, diacetato de alquiniifucosa y monoacetato de alquiniifucosa.

En cualquiera de las diferentes divulgaciones, el análogo de fucosa no es fucosa. En algunas divulgaciones, el análogo de fucosa no es peracetato de alquiniifucosa. En algunas divulgaciones, el análogo de fucosa no es galactosa ni L-galactosa.

25 En algunas realizaciones, el análogo de fucosa tiene la siguiente fórmula (III) o (IV):



o una de sus sales o solvatos biológicamente aceptables, en la que cada fórmula (III) o (IV) puede ser un anómero alfa o beta o la correspondiente forma de aldosa; y en la que, cada uno de R¹, R³ y R⁴ se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste de OH y -OC(O)alquilo C₁-C₁₀; R² es F, R^{2a} y R^{3a} son cada uno H, y R⁵ es -CH₃.

30

También se desvela en el presente documento análogos de fucosa que tienen la fórmula (III) o (IV), en la que cada uno de R¹-R⁴ se selecciona independientemente entre el grupo que consiste de flúor, cloro, -OH, -OC(O)H, -OC(O)(alquilo C₁-C₁₀), -OC(O)alqueno C₂-C₁₀, -OC(O)alquino C₂-C₁₀, -OC(O)arilo, -OC(O)heterociclo, -OC(O)alqueno C₁-C₁₀ (arilo), -OC(O)alqueno C₂-C₁₀ (arilo), -OC(O)alquino C₂-C₁₀ (arilo), -OC(O)alqueno C₁-C₁₀ (heterociclo), -OC(O)alqueno C₂-C₁₀ (heterociclo), -OC(O)alquino C₂-C₁₀ (heterociclo), -OCH₂OC(O)alquilo, -OCH₂OC(O)arilo, -OCH₂OC(O)arilo, -OC(O)CH₂O(CH₂CH₂)_nCH₃, -OC(O)CH₂CH₂O(CH₂CH₂)_nCH₃, -O-trialquilo-C₁-C₃ sililo y -Oalquilo C₁-C₁₀, en la que cada n es un número entero que se selecciona independientemente entre 0-5; y

35

cada uno de R^{2a} y R^{3a} se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en H, F y Cl;

40 R⁵ seleccionado entre el grupo que consiste de -CH₃, -CHF₂, -CH=C=CH₂, -C≡CH, -C≡CCH₃, -CH₂C≡CH, -

C(O)OCH₃, -CH(OAc)CH₃, -CN, -CH₂CN, -CH₂X (en la que X es F, Br, Cl o I), y metoxirano; en la que cuando R⁵ es diferente de -CH=C=CH₂, -CH₂F o -CHF₂, al menos uno de R¹, R², R³, R^{2a} y R^{3a} es flúor o cloro.

En algunas divulgaciones de las fórmulas (III) o (IV), R¹ es F.

5 En algunas divulgaciones de las fórmulas (III) o (IV), R² es F.

En algunas divulgaciones de las fórmulas (III) o (IV), R³ es F.

En algunas divulgaciones de las fórmulas (III) o (IV), R¹ y R² son cada uno F.

En algunas divulgaciones de las fórmulas (III) o (IV), R² y R^{2a} son cada uno F.

10 En algunas divulgaciones de las fórmulas (III) o (IV), R¹, cada uno de R³ y R⁴ se selecciona independientemente entre -OH y -OC(O)alquilo C₁-C₁₀; R² es F; y R⁵ es -CH₃.

En algunas divulgaciones de las fórmulas (III) o (IV), R¹, cada uno de R³ y R⁴ se selecciona independientemente entre -OH y -OAc; R² es F; y R⁵ es -CH₃.

[ELIMINADO].

15 En algunas realizaciones de las fórmulas (III) o (IV), R¹, cada uno de R³ y R⁴ se selecciona independientemente entre -OH y -OAc; R² es F; R^{2a} y R^{3a} son cada uno H; y R⁵ es -CH₃.

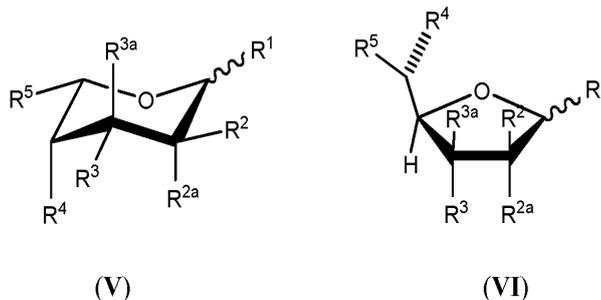
En algunas divulgaciones de las fórmulas (III) o (IV), R¹, R², cada uno de R³ y R⁴ se selecciona independientemente entre -OH y -OC(O)alquilo C₁-C₁₀; R^{2a} y R^{3a} son cada uno H; y R⁵ es -CHF₂.

En algunas divulgaciones de las fórmulas (III) o (IV), R¹, R², cada uno de R³ y R⁴ se selecciona independientemente entre -OH y -OAc; R^{2a} y R^{3a} son cada uno H; y R⁵ es -CHF₂.

20 En algunas divulgaciones de las fórmulas (III) o (IV), R¹, R², cada uno de R³ y R⁴ se selecciona independientemente entre -OH y -OC(O)alquilo C₁-C₁₀; R^{2a} y R^{3a} son cada uno H; y R⁵ es -CH₂F.

En algunas divulgaciones de las fórmulas (III) o (IV), R¹, R², cada uno de R³ y R⁴ se selecciona independientemente entre -OH y -OAc; R^{2a} y R^{3a} son cada uno H; y R⁵ es -CH₂F.

También se desvela en el presente documento un análogo de fucosa que tiene la siguiente fórmula (V) o (VI):



25 o una de sus sales o solvatos biológicamente aceptables, en la que cada fórmula (V) o (VI) puede ser un anómero alfa o beta o la correspondiente forma de aldosa; y en la que,

30 cada uno de R¹, R², R^{2a}, R³, R^{3a} y R⁴ se seleccionan independientemente del grupo que consiste de -OH, -OC(O)H, -OC(O)(alquilo C₁-C₁₀), -OC(O)alqueno C₂-C₁₀, -OC(O)alquino C₂-C₁₀, -OC(O)arilo, -OC(O)heterociclo, -OC(O)alqueno C₁-C₁₀ (arilo), -OC(O)alqueno C₂-C₁₀ (arilo), -OC(O)alquino C₂-C₁₀ (arilo), -OC(O)alqueno C₁-C₁₀ (heterociclo), -OC(O)alqueno C₂-C₁₀ (heterociclo), -OC(O)alquino C₂-C₁₀ (heterociclo), -OCH₂OC(O) alquilo, -OCH₂OC(O) arilo, -OCH₂OC(O) arilo, -OC(O)CH₂O(CH₂CH₂O)_nCH₃, -OC(O)CH₂CH₂O(CH₂CH₂O)_nCH₃, -O-tri-alquilsililo C₁-C₃, -Oalquilo C₁-C₁₀, y un grupo electroatrayente pequeño, en la que cada n es un número entero que se selecciona independientemente entre 0-5;

35 R⁵ es un miembro seleccionado entre el grupo que consiste de -CH₃, -CHX₂, -CH₂X, -CH(X')-alquilo C₁-C₄ no sustituido o sustituido con halógeno, -CH(X')-alqueno C₂-C₄ no sustituido o sustituido con halógeno, -CH(X')-alquino C₂-C₄ no sustituido o sustituido con halógeno, -C(CH₃)=C(R¹²)(R¹³), -C(R¹⁴)=C=C(R¹⁵)(R¹⁶), -carbociclo C₃ no sustituido o sustituido con metilo o halógeno, -CH(X')-carbociclo C₃ no sustituido o sustituido con metilo o halógeno, heterociclo C₃ no sustituido o sustituido con metilo o halógeno, -CH(X')-heterociclo C₃ no sustituido o sustituido con metilo o halógeno, -CH₂N₃, -CH₂CH₂N₃, y benciloximetilo, o

R⁵ es un grupo electroatrayente pequeño; en la que R¹⁰ es hidrógeno o alquilo C₁-C₃ no sustituido o sustituido con halógeno; R¹¹ es alquilo C₁-C₃ no sustituido o sustituido con halógeno; R¹² es hidrógeno, halógeno o alquilo C₁-C₃ no sustituido o sustituido con halógeno; R¹³ es hidrógeno, o alquilo C₁-C₃ no sustituido o sustituido con halógeno; R¹⁴ es hidrógeno o metilo; R¹⁵ y R¹⁶ se seleccionan independientemente de hidrógeno, metilo y halógeno; X es halógeno; X' es halógeno o hidrógeno; y

además, cada uno de R¹, R², R^{2a}, R³ y R^{3a} son opcionalmente hidrógeno; opcionalmente dos R¹, R², R^{2a}, R³ y R^{3a} sobre átomos de carbono adyacentes se combinan par formar un doble enlace entre dichos átomos de carbono adyacentes; y

con la condición de que al menos uno de R¹, R², R^{2a}, R³, R^{3a}, R⁴ y R⁵ sea un grupo electroatrayente pequeño, o R⁵ comprende un átomo de halógeno, sitio de insaturación, carbociclo, heterociclo o azida, salvo cuando (i) R² y R^{2a} son ambos hidrógeno, (ii) R³ y R^{3a} son ambos hidrógeno, (iii) R¹ es hidrógeno, (iv) está presente un doble enlace entre dichos átomos de carbono adyacentes, o (v) R⁵ es benciloximetilo; y

en el que la proteína, el anticuerpo o el derivado de anticuerpo producido *in vivo* tiene una fucosilación reducida comparado con la proteína, anticuerpo o derivado de anticuerpo producido *in vivo* en ausencia del análogo de fucosa.

En algunas divulgaciones de las fórmulas (V) y (VI), R^{2a} y R^{3a} son cada uno hidrógeno.

En algunas divulgaciones de las fórmulas (V) y (VI), R⁵ seleccionado entre el grupo que consiste de -CH₃, -CH₂CH₃, -CH₂C≡CH, -CH=CHCH₃, -ciclopropilo, -oxirano, -oxirano sustituido con metilo, -CH₂F, -CH₂Cl, -CH₂Br, -CH₂I, -CHF₂, -CH=C=CH₂, -CH₂N₃ y -CH₂CH₂N₃.

En algunas divulgaciones de las fórmulas (V) y (VI), el grupo electroatrayente pequeño se selecciona entre flúor, cloro, bromo, -CHF₂, -CH=C=CH₂, -C≡CH, -C≡CCH₃, -CH₂C≡CH, -CO₂H, -C(O)-Oalquilo C₁-C₄, -CH(OAc)CH₃, -CN, -CH₂CN, -CH₂X (en la que X es Br, Cl o I), y metoxirano.

En algunas divulgaciones de las fórmulas (V) y (VI), R⁵ seleccionado entre el grupo que consiste de -CH₃, -C≡CH, -CH₂F, -CH₂Br, y -CHF₂. En algunas realizaciones adicionales, cada uno de R¹, R², R^{2a}, R³, R^{3a} y R⁴ se seleccionan independientemente del grupo que consiste de -OH, -OC(O)H, y -OC(O)alquilo C₁-C₁₀.

En algunas divulgaciones de las fórmulas (V) y (VI), el grupo electroatrayente pequeño se selecciona entre flúor, cloro, bromo, -CHF₂, -CH=C=CH₂, -C≡CH, -C≡CCH₃, -CH₂C≡CH, -CO₂H, -C(O)-Oalquilo C₁-C₄, -CH(OAc)CH₃, -CN, -CH₂CN, -CH₂X (en la que X es Br, Cl o I), y metoxirano.

En algunas divulgaciones de las fórmulas (V) y (VI), al menos dos de R¹, R², R^{2a}, R³, R^{3a} y R⁴ se seleccionan independientemente entre grupos electroatrayentes pequeños.

[ELIMINADO].

Composiciones farmacéuticas

Los análogos de fucosa de las fórmulas III, IV, V y VI de acuerdo con la invención (a partir de ahora en el presente documento 'análogos de fucosa') se pueden formular para aplicaciones terapéuticas. Los análogos de fucosa se pueden formular como composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad eficaz terapéutica o profilácticamente del análogo de fucosa y uno o más ingredientes farmacéuticamente compatibles (aceptables). Por ejemplo, una composición farmacéutica o no farmacéutica incluye típicamente uno o más transportadores (por ejemplo, líquidos estériles, tales como agua y aceites, incluidos aquellos cuyo origen es petróleo, o de origen animal, vegetal o sintético, tales como aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo y similares). El agua es un transportador más típico cuando la composición farmacéutica se administra por vía intravenosa. Las disoluciones salinas y las disoluciones acuosas de dextrosa y glicerol también se pueden emplear como transportadores líquidos, especialmente para soluciones inyectables. Los excipientes adecuados incluyen, por ejemplo, aminoácidos, almidón, glucosa, lactosa, sacarosa, gelatina, malta, arroz, harina, creta, gel de sílice, estearato de sodio, monoestearato de glicerol, talco, cloruro de sodio, leche desnatada en polvo, glicerol, propileno, glicol, agua, etanol y similares. La composición, si se desea, también puede contener cantidades menores de agentes humectantes o emulsionantes, o agentes tamponantes del pH. Estas composiciones pueden tener la forma de soluciones, suspensiones, emulsiones, comprimidos, píldoras, cápsulas, polvos, formulaciones de liberación sostenida y similares. Otros ejemplos de transportadores farmacéuticos adecuados se describen en "Remington's Pharmaceutical Sciences" de E.W. Martin. Dichas composiciones contendrán típicamente una cantidad terapéuticamente eficaz del análogo de fucosa, típicamente en forma purificada, junto con una cantidad adecuada de vehículo para proporcionar la forma de administración adecuada al paciente. La formulación se adecua al modo de administración.

Las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento pueden estar en cualquier forma que permita que la composición se administre a un animal (por ejemplo, un mamífero). Las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento pueden estar en cualquier forma que permita que la composición se administre a

un mamífero. Las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento pueden estar en cualquier forma que permita que la composición se administre a un ser humano.

Las composiciones pueden estar en la forma de un sólido o un líquido. Las vías de administración típicas incluyen, sin limitación, oral, parenteral, sublingual, y ocular. La administración parenteral incluye inyecciones subcutáneas, intravenosa, intramuscular, inyección intraesternal, o técnicas de infusión. Preferentemente, las composiciones se administran por vía parenteral u oral. Estas composiciones farmacéuticas se pueden formular para que permitan que un análogo de fucosa esté biodisponible tras la administración de la composición a un animal. Las composiciones también pueden tener la forma de una o más dosis unitarias, donde por ejemplo, un comprimido puede ser un dosis unitaria individual, y un recipiente de un análogo de fucosa en forma sólida puede contener una pluralidad de dosis unitarias.

Los materiales utilizados en la preparación de las composiciones farmacéuticas pueden no ser tóxicos en las cantidades utilizadas. Será evidente para una persona normalmente experta en la materia que la dosificación óptima del principio o principios activos en la composición farmacéutica dependerá de una variedad de factores. Los factores relevantes incluyen, sin limitación, el tipo de animal (por ejemplo, ser humano), la forma concreta del análogo de fucosa, la forma de administración, la composición utilizada, y la gravedad de la enfermedad o de la dolencia que se está tratando.

El transportador o vehículo farmacéuticamente aceptable puede estar en forma de partículas, de forma que las composiciones están, por ejemplo, en forma de comprimidos o polvo. El uno o más transportadores pueden ser líquidos, siendo las composiciones, por ejemplo, un jarabe oral o un líquido inyectable.

Cuando se pretenden para la administración oral, la composición está preferentemente en forma sólida o líquida, donde las formas semisólidas, semilíquidas, en suspensión y de gel están incluidas entre las formas consideradas en el presente documento como sólidas o líquidas.

Como composición sólida para su administración oral, la composición se puede formular en forma de polvo, gránulo, comprimido preparado por compresión, píldora, cápsula, goma de mascar, oblea o forma similar. Dicha composición sólida contiene de forma típica uno o más diluyentes inertes. Además, pueden estar presentes uno o más de los siguientes: aglutinantes tales como carboximetilcelulosa, etilcelulosa, celulosa microcristalina, o gelatina; excipientes tales como almidón, lactosa o dextrinas, agentes disgregantes tales como ácido algínico, alginato de sodio, Primogel, almidón de maíz y similares; lubricantes tales como estearato de magnesio o Sterotex; agentes deslizantes tales como dióxido de silicio coloidal; agentes edulcorantes tales como sacarosa o sacarina, un agente aromatizante tal como menta piperita, salicilato de mentilo o aroma a naranja, y un agente colorante.

Cuando la composición está en forma de una cápsula, por ejemplo, una cápsula de gelatina, puede contener, además de los materiales del tipo anterior, un transportador líquido tal como polietilenglicol, ciclodextrina o un aceite graso.

La composición puede estar en la forma de o un líquido, por ejemplo, un elixir, jarabe, solución, emulsión o suspensión. El líquido puede ser útil para la administración oral o para su administración mediante inyección. Cuando se pretenden para la administración oral, una composición puede comprender uno o más de un agente edulcorante, conservantes, tinte/colorante y un potenciador del sabor. En una composición para su administración mediante inyección (como se ha descrito anteriormente), se puede incluir también uno o más de un tensioactivo, conservante, agente humectante, agente dispersante, agente de suspensión, tampón, estabilizante y agente isotónico.

Las composiciones líquidas, ya sean disoluciones, suspensiones u otra forma similar, también pueden incluir uno o más de lo siguiente: diluyentes estériles tales como agua para inyección, suero salino, preferente suero salino fisiológico, solución de Ringer, cloruro de sodio isotónico, aceites fijos, tales como monoglicéridos o diglicéridos sintéticos que pueden servir como disolvente o medio de suspensión, polietilenglicoles, glicerina, ciclodextrina, propilenglicol u otros disolventes; agentes antibacterianos tales como alcohol bencílico o metil parabeno; antioxidantes tales como ácido ascórbico o bisulfito de sodio; agentes quelantes tales como ácido etilendiaminotetraacético; tampones como acetatos, citratos o fosfatos y agentes para el ajuste de la tonicidad tales como cloruro de sodio o dextrosa. La solución salina fisiológica es un adyuvante preferido. Una composición inyectable es, preferentemente, estéril.

Como se ha mencionado anteriormente, la cantidad del análogo de fucosa que es eficaz para el tratamiento de un trastorno o dolencia concreto dependerá de la naturaleza del trastorno o dolencia, y se puede determinar mediante técnicas clínicas normalizadas. Además, se pueden utilizar de manera opcional ensayos *in vitro* o *in vivo* para ayudar a identificar los intervalos de dosificación óptimos. La dosis precisa que se empleará en las composiciones dependerá también de la ruta de administración, y la gravedad de la enfermedad o trastorno, y deberá decidirse de acuerdo con el criterio del especialista a cargo del tratamiento y de las circunstancias del paciente.

Las composiciones comprenden una cantidad eficaz de un análogo de fucosa de tal manera que se obtenga una dosificación adecuada. Normalmente, esta cantidad es al menos aproximadamente un 0,01 % de un análogo de fucosa en peso de la composición. Cuando se pretenden para la administración oral, esta cantidad puede variarse

para comprender de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 80 % en peso de la composición. Las composiciones orales preferidas pueden comprender de aproximadamente 4 % a aproximadamente 50 % del análogo de fucosa en peso de la composición. Las composiciones preferidas de la presente invención se preparan de forma que la dosis unitaria parenteral contenga de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente un 2 % en peso del análogo de fucosa.

Para administración intravenosa, la composición puede comprender de aproximadamente 1 a aproximadamente 250 mg de un análogo de fucosa por kg de peso corporal del animal. En algunas realizaciones, la cantidad administrada estará comprendida en el intervalo de aproximadamente 1 a aproximadamente 25 mg/kg de peso corporal del análogo de fucosa. Preferentemente, la cantidad administrada estará comprendida en el intervalo de aproximadamente 4 a aproximadamente 25 mg/kg de peso corporal del análogo de fucosa.

En general, la dosificación del análogo de fucosa administrado a un animal estar entre aproximadamente 0,1 mg/kg y aproximadamente 250 mg/kg de peso corporal del animal. Preferentemente, la dosificación administrada a un animal está comprendida entre aproximadamente 0,1 mg/kg y aproximadamente 20 mg/kg del peso corporal del animal, más preferentemente de aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 10 mg/kg del peso corporal del animal.

Las composiciones comprenden una cantidad eficaz de un análogo de fucosa de tal manera que se obtenga una dosificación adecuada. Normalmente, esta cantidad es al menos aproximadamente un 0,01 % de un análogo de fucosa en peso de la composición. Cuando se pretenden para la administración oral, esta cantidad puede variarse para comprender de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 80 % en peso de la composición. Las composiciones orales preferidas pueden comprender de aproximadamente 4 % a aproximadamente 50 % del análogo de fucosa en peso de la composición. Las composiciones preferidas de la presente invención se preparan de forma que la dosis unitaria parenteral contenga de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente un 2 % en peso del análogo de fucosa.

Para administración intravenosa, la composición puede comprender de aproximadamente 1 a aproximadamente 250 mg de un análogo de fucosa por kg de peso corporal del animal. En algunas realizaciones, la cantidad administrada estará comprendida en el intervalo de aproximadamente 1 a aproximadamente 25 mg/kg de peso corporal del análogo de fucosa. Preferentemente, la cantidad administrada estará comprendida en el intervalo de aproximadamente 4 a aproximadamente 25 mg/kg de peso corporal del análogo de fucosa.

En general, un análogo de fucosa o una composición farmacéutica del mismo se puede administrar con un calendario diario, semanal, quincenal o mensual, de acuerdo con el efecto deseado. Un análogo de fucosa o una composición farmacéutica del mismo se pueden administrar durante de aproximadamente 1 a 5, de aproximadamente 1 a aproximadamente 10, de aproximadamente 1 a aproximadamente 15, o más ciclos, en el que cada ciclo tiene un mes de duración. Las dosis dentro de cada ciclo se pueden administrar diariamente, en días alternos, dos veces a la semana, semanalmente, quincenalmente, una vez cada tres semanas o mensualmente. Un ciclo puede incluir opcionalmente un periodo de reposo, durante el cual la fucosilación de las proteínas (por ejemplo, anticuerpos u otras proteínas) aumenta. Como alternativa, se puede incluir un periodo de reposo entre ciclos. Dicho periodo de reposo puede permitir la restauración de la fucosilación de proteínas implicadas en funciones esenciales.

El modo de administración preferido de un análogo de fucosa, o una composición farmacéutica del mismo, se deja a juicio del especialista, y dependerá, en parte, del sitio de la dolencia médica (tal como el sitio del cáncer o enfermedad autoinmunitaria). En una realización, el análogo de fucosa o sus composiciones se administran por vía parenteral. En otra realización, el análogo de fucosa o sus composiciones se administran por vía oral.

En realizaciones específicas, puede ser deseable administrar uno o más análogos de fucosa o composiciones localmente en el área en necesidad de tratamiento. Esto se puede conseguir, por ejemplo, y no a modo de limitación, por infusión local durante una cirugía; aplicación tópica; mediante inyección; o mediante un implante, siendo el implante un material poroso, no poroso, o material gelatinoso, incluyendo membranas, tales como membranas sialásticas, o fibras. En una realización, la administración puede ser mediante inyección directa en el sitio (o sitio anterior) de un cáncer, tumor o tejido neoplásico o preneoplásico.

En otra realización, la administración puede ser mediante inyección directa en el sitio (o sitio anterior) de una manifestación de una enfermedad autoinmunitaria.

En otra realización, el análogo de fucosa se puede administrar en una vesícula, en particular, un liposoma (véase Langer, Science 249:1527-1533 (1990); Treat y col., en LIPOSOMES IN THE THERAPY OF INFECTIOUS DISEASE AND CANCER, Lopez-Berestein y Fidler (eds.), Liss, Nueva York, págs. 353-365 (1989); Lopez-Berestein, *ibid.*, págs. 317-327; véase generalmente *ibid.*).

En otra realización más, el análogo de fucosa o sus composiciones se puede administrar en un sistema de liberación controlada. En una realización, se puede usar una bomba (véase Langer, citado anteriormente; Sefton, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201 (1987); Buchwald y col., Surgery 88:507 (1980); Saudek y col., N. Engl. J. Med. 321:574 (1989)). En otra realización, se pueden usar materiales poliméricos (véase MEDICAL APPLICATIONS OF CONTROLLED RELEASE, Langer y Wise (eds.), CRC Pres., Boca Raton, Fla. (1974); CONTROLLED DRUG BIOAVAILABILITY, DRUG PRODUCT DESIGN AND PERFORMANCE, Smolen y Ball (eds.), Wiley, Nueva York

(1984); Ranger y Peppas, J. *Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem.* 23:61 (1983); véase también Levy y col., *Science* 228:190 (1985); During y col., *Ann. Neurol.* 25:351 (1989); Howard y col., *J. Neurosurg.* 71:105 (1989)). Se pueden utilizar otros sistemas de liberación controlada descritos en la revisión de Langer (*Science* 249:1527-1533 (1990)).

- 5 El término "transportador" se refiere a un diluyente, adyuvante o excipiente, con el que se administra un análogo de fucosa. Dichos transportadores farmacéuticos pueden ser líquidos, tales como agua y aceites, incluidos aquellos cuyo origen es petróleo, o de origen animal, vegetal o sintético, tales como aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo y similares. Los transportadores pueden ser suero salino, goma arábiga, gelatina, pasta de almidón, talco, queratina, sílice coloidal, urea, y similares. Además, también se pueden usar agentes auxiliares, estabilizantes, espesantes, lubricantes y colorantes. En una realización, cuando se administra a un animal, el análogo de fucosas o composiciones y transportadores farmacéuticamente aceptables son estériles. El agua es un transportador preferido cuando los análogos de fucosa se administran por vía intravenosa. Las disoluciones salinas y las disoluciones acuosas de dextrosa y glicerol también se pueden emplear como transportadores líquidos, especialmente para soluciones inyectables. Los transportadores farmacéuticos adecuados también incluyen excipientes tales como almidón, glucosa, lactosa, sacarosa, gelatina, malta, arroz, harina, creta, gel de sílice, estearato de sodio, monoestearato de glicerol, talco, cloruro de sodio, leche desnatada en polvo, glicerol, propileno, glicol, agua, etanol y similares. Las presentes composiciones, si se desea, también puede contener cantidades menores de agentes humectantes o emulsionantes, o agentes tamponantes del pH.

20 **Procedimientos terapéuticos que utilizan análogos de fucosa para reducir la fucosilación de anticuerpos y otras proteínas *in Vivo***

Los análogos de fucosa de las fórmulas III, IV, V y VI de acuerdo con la invención (a partir de ahora en el presente documento 'los análogos de fucosa') se proporcionan en el presente documento son útiles para tratar el cáncer, en un animal.

Tratamiento del cáncer

- 25 Los análogos de fucosa son útiles para tratar el cáncer en pacientes. La administración de un análogo de fucosa a un animal (por ejemplo, un mamífero, tal como un ser humano) que lo necesita puede dar como resultado la inhibición de la multiplicación de una o varias células tumorales o cancerosas, o el tratamiento de un cáncer en un animal (por ejemplo, un paciente humano). Los análogos de fucosa se pueden usar de acuerdo con ello en una variedad de escenarios para el tratamiento de cánceres en animales.
- 30 Los análogos de fucosa también son útiles para potenciar *in vivo* la producción de anticuerpos que carecen de fucosilación del núcleo. Que aumenta la proporción de dichos anticuerpos contra dianas cancerosas en un paciente puede dar como resultado la inhibición de la multiplicación de una o varias células tumorales o cancerosas, o tratamiento del cáncer en un animal (por ejemplo, un paciente humano). Los análogos de fucosa se pueden usar de acuerdo con ello en una variedad de escenarios para el tratamiento de cánceres en animales.
- 35 Los tipos particulares de cánceres que se pueden tratar con los análogos de fucosa incluyen, tumores sólidos y neoplasias hematológicas malignas. Dichos cánceres incluyen, aunque no de forma limitativa: (1) tumores sólidos, incluidos, aunque no de forma limitativa, fibrosarcoma, mixosarcoma, liposarcoma, condrosarcoma, sarcoma osteogénico, cordoma, angiosarcoma, endoteliosarcoma, linfangiosarcoma, linfoangioendoteliosarcoma, sinovioma, mesotelioma, tumor de Ewing, leiomiomasarcoma, rhabdomiosarcoma, cáncer de colon, cáncer colorrectal, cáncer de riñón, cáncer de páncreas, cáncer de hueso, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de próstata, cáncer de esófago, cáncer de estómago, cáncer oral, cáncer nasal, cáncer de garganta, carcinoma de células escamosas, carcinoma de células basales, adenocarcinoma, carcinoma de glándulas sudoríparas, carcinoma de glándula sebácea, carcinoma papilar, adenocarcinomas papilares, cistoadenocarcinoma, carcinoma medular, carcinoma broncogénico, carcinoma de células renales, hepatoma carcinoma del conducto biliar, coriocarcinoma, seminoma, carcinoma embrionario, tumor de Wilm, cáncer de cuello de útero, cáncer de útero, cáncer testicular, carcinoma de pulmón microcítico, carcinoma de vejiga, cáncer broncopulmonar, carcinoma epitelial, glioma, glioblastoma, astrocitoma multiforme, meduloblastoma, craneofaringioma, ependimoma, pinealoma, hemangioblastoma, neuroma acústico, oligodendroglioma, meningioma, cáncer de piel, melanoma, neuroblastoma, y retinoblastoma; (2) cánceres de la sangre, incluidos, aunque no de forma limitativa, leucemia linfoblástica aguda "LLA", leucemia linfoblástica aguda de linfocitos B, leucemia linfoblástica aguda de linfocitos T, leucemia mielógena aguda "AML", leucemia promielocítica aguda "APL", leucemia monoblástica aguda, leucemia eritroleucémica aguda, leucemia megacarioblástica aguda, leucemia mielomonocítica aguda, leucemia no linfocítica aguda, leucemia aguda no diferenciada, leucemia mielocítica crónica "CML", leucemia linfocítica crónica "CLL", leucemia de células pilosas, mieloma múltiple, leucemias aguda y crónica, por ejemplo, leucemias mielógenas linfoblásticas y linfocíticas mielocíticas, y (3) linfomas tales como la enfermedad de Hodgkin, linfoma no de Hodgkin, mieloma múltiple, macroglobulinemia de Waldenstrom, Enfermedad de la cadena pesada, y policitemia vera.

Tratamiento multimodal para el cáncer

El cáncer, incluido, aunque no de forma limitativa, un tumor, una metástasis, o cualquier enfermedad o trastorno

caracterizado por un crecimiento celular incontrolado, se puede tratar o prevenir mediante la administración de un análogo de fucosa o cualquier de las fórmulas III, IV, V o VI de acuerdo con la invención, tal como se ha proporcionado anteriormente, a un animal (por ejemplo, un mamífero, tal como un ser humano) que lo necesita. En algunas realizaciones, la invención proporciona análogos de fucosa para su uso en el tratamiento o prevención del cáncer, que comprende administrar a un animal que lo necesita una cantidad eficaz de un análogo de fucosa u opcionalmente un agente quimioterapéutico. En una realización, el agente quimioterapéutico es uno para el que no se ha encontrado que el tratamiento del cáncer sea refractario. En otra realización, el agente quimioterapéutico es uno para el que se ha descubierto que, como tratamiento contra el cáncer, genera resistencia. Los análogos de fucosa se pueden administrar a un animal que también se puede someter a la cirugía como tratamiento contra el cáncer.

En una realización, el tratamiento adicional es radioterapia.

En una realización específica, el análogo de fucosa se administra concurrentemente con el agente quimioterapéutico o con radioterapia. En otra realización específica, el agente quimioterapéutico o radioterapia se administra antes o después de la administración de un análogo de fucosa, preferentemente al menos una hora, cinco horas, 12 horas, un día, una semana, dos semanas, tres semanas, un mes, o varios meses (por ejemplo, de hasta tres meses), antes o después de la administración de otro análogo de fucosa.

Se puede administrar un agente quimioterapéutico durante una serie de sesiones, y puede ser uno cualquiera de una combinación de agentes quimioterapéuticos proporcionados en el presente documento. Con respecto a la radiación, se puede usar cualquier protocolo de radioterapia dependiendo del tipo de cáncer a tratar. Por ejemplo, pero no de forma excluyente, se administra la radiación de rayos x; en particular, la megatensión de alta energía (radiación con energía mayor de un 1 MeV) se puede usar para tumores profundos, y la radiación e haces de electrones y la radiación x en ortotensión se puede usar para cánceres de piel. Los radioisótopos que emiten rayos gama, tales como los isótopos radiactivos de radio, cobalto, y otros elementos, también se pueden administrar.

Adicionalmente, la invención proporciona análogos de fucosa para su uso en el tratamiento del cáncer como alternativa a la quimioterapia o radioterapia, cuando la quimioterapia o radioterapia han demostrado ser, o se ha comprobado, demasiado tóxicas, por ejemplo, da como resultado efectos secundarios inaceptables o insoportables, para el sujeto que se está tratando. En animal en tratamiento, opcionalmente, puede tratarse con otro tratamiento del cáncer como la cirugía, radioterapia o quimioterapia, dependiendo de qué tratamiento se considera aceptable o soportable.

30 *Tratamiento multifármaco para el cáncer*

La presente invención proporciona análogos de fucosa para su uso en el tratamiento del cáncer, que comprende administrar a un animal que lo necesita una cantidad eficaz de análogos de fucosa y un agente terapéutico, que es un agente contra el cáncer. Los agentes antineoplásicos adecuados incluyen, aunque no de forma limitativa, metotrexato, taxol, L-asparaginasa, mercaptopurina, tioguanina, hidroxurea, citarabina, ciclofosfamida, ifosfamida, nitrosoureas, cisplatino, carboplatino, mitomicina, dacarbazina, procarbina, topotecano, mostazas nitrogenadas, citoxano, etopósido, 5-fluorouracilo, BCNU, irinotecano, una camptotecina, bleomicina, doxorubicina, idarubicina, daunorubicina, dactinomicina, plicamicina, mitoxantrona, asparaginasa, vinblastina, vincristina, vinorelbina, paclitaxel, y docetaxel. En una realización preferida, el agente antineoplásico incluye, aunque de forma no limitativa: agentes alquilantes, mostazas de nitrógeno (ciclofosfamida, ifosfamida, trofosfamida, clorambucilo), nitrosoureas (carmustina (BCNU), lomustina (CCNU), alquilariilsulfonato (busulfano, treosulfano), triazenos (dacarbazina), compuestos que contienen platino (cisplatino, oxaliplatino, carboplatino), alcaloides vegetales (alcaloides de la vinca - vincristina, Vinblastina, Vindesina, Vinorelbina), taxoides (paclitaxel, Docetaxol), inhibidores de la topoisomerasa del ADN, Epipodofilinas (etopósido, tenipósido, Topotecano, 9-aminocamptotecina, camptotecina), crisnatol, mitomicinas (Mitomicina C); antimetabolitos tales como antifolatos: inhibidoras de DHFR: metotrexato, trimetrexato; inhibidores de la IMP deshidrogenasa: ácido micofenólico, tiazofurina, ribavirina, EICAR; inhibidores de la ribonucleótido reductasa: hidroxurea deferoxamina; análogos de pirimidina: análogos de uracilo: 5-fluorouracilo, floxuridina, doxifluridina, ratitrexed; análogos de citosina: citarabina (araC), arabinósido de citosina, fludarabina; análogos de purina: mercaptopurina, tioguanina; terapias hormonales: antagonistas del receptor: antiestrógenos: Tamoxifeno, Raloxifeno, megestrol; agonistas de LHRH: goscrclin, acetato de leuprolida; antiandrógenos: flutamida, bicalutamida; retinoides/deltoides: análogos de vitamina D3: EB 1089, CB 1093, KH 1060; Terapias fotodinámicas: vertoporfina (BPDMA), Ftalocianina, Fotosensibilizador Pc4, demetoxi-hipocrelina A (2BA-2-DMHA); Citoquinas: interferón alfa, interferón gamma; factor de necrosis tumoral: Otros: inhibidores de la isoprenilación: lovastatina; neurotoxinas dopaminérgicas: ion 1-metil-4-fenilpiridinio; inhibidores del ciclo celular: estaurosporina; actinomicinas: Actinomicina D, Dactinomicina; bleomicinas: bleomicina A2, bleomicina B2, peplomicina; antraciclinas: daunorubicina, doxorubicina (adriamicina), idarubicina, epirubicina, pirarrubicina, zorrubicina, Mitoxantrona; inhibidores de MDR: verapamilo; e inhibidores de la Ca²⁺ ATPasa: tapsigargina.

Terapia adyuvante para el cáncer

Los análogos de fucosa se pueden usar como adyuvante, combinados con una vacuna contra el cáncer. La expresión "vacuna contra el cáncer" tal como se usa en el presente documento significa un compuesto que daña

selectivamente las células tumorales induciendo y/o potenciando una respuesta inmunitaria específica contra las células tumorales. Una vacuna del cáncer puede ser, por ejemplo, un medicamento que comprende un péptido, polipéptido o proteína de un TAA o TSA, y composiciones farmacéuticas que contienen un péptido, polipéptido o proteína de un TAA o TSA. Como se usa en el presente documento, TSA se refiere a un "antígeno específico de tumor" y TAA se refiere a un antígeno asociado a un tumor. Los TSA son moléculas únicas para células cancerosas. Las TAA son moléculas compartidas, pero que se expresan de forma diferente, en células cancerosas y en células normales.

La dosificación de la vacunas contra el cáncer se puede determinar con modificaciones adecuadas de acuerdo con la extensión de la estimulación de una respuesta inmune contra la vacuna. En general, está comprendida entre 0,01 y 100 mg/día/adulto humano, o preferentemente, entre 0,1 y 10 mg/día/adulto humano como principio activo. La vacuna del cáncer se puede administrar desde una vez cada pocos días a cada pocos meses. La administración se puede llevar a cabo de acuerdo con procedimientos bien conocidos para la administración de un péptido, polipéptido o proteína para uso médico, tal como la administración por vía subcutánea, intravenosa, o intramuscular. Para inducir y/o potenciar la respuesta inmunitaria durante la administración, se puede usar el péptido, polipéptido o proteína, en la presencia o ausencia de un adyuvante adecuado, con o sin la unión a un transportador. El transportador no está limitado, siempre que no ejerza ningún efecto perjudicial por sí mismo sobre el organismo humano y pueda potenciar la antigenicidad; celulosa, aminoácidos poliméricos, albúmina, y similares, se pueden proporcionar como ejemplos de transportadores. Los adyuvantes pueden ser aquellos usados de una forma general para la inoculación de vacunas peptídicas, y un adyuvante incompleto de Freund (FIA), adyuvante de aluminio (ALUM), vacuna contra Bordetella pertussis, aceite mineral, y similares, se pueden proporcionar como ejemplos. Además, la formulación se puede seleccionar de forma adecuada aplicando un procedimiento adecuado bien conocido para formular un péptido, polipéptido o proteína.

Por otra parte, también se puede obtener un efecto de vacuna contra el cáncer eficaz también se puede recoger una fracción de células mononucleares de sangre periférica de un paciente, incubándolos con el péptido, polipéptido o proteína de la presente invención, y posteriormente devolviendo la fracción de células mononucleares en las que se observó la inducción de CTL y/o la activación de CTL, en la sangre del paciente. Un análogo de fucosa se puede administrar simultáneamente durante o después de la readministración de las células mononucleares. Las condiciones de cultivo, tales como la concentración de células mononucleares, concentración el péptido, polipéptido o proteínas, tiempo de cultivo, y similar, se puede determinar por estudios de repetición simples. Una sustancia que tiene una capacidad de potenciar el crecimiento de linfocitos, tales como interleuquina-2, se puede añadir durante el cultivo.

Tratamiento de enfermedades autoinmunitarias

También se desvelan en el presente documento análogos de fucosa útiles para modular una enfermedad autoinmunitaria o para el tratamiento de una enfermedad autoinmunitaria, tal como para disminuir los síntomas y/o la respuesta autoinmunitaria. Los análogos de fucosa se pueden usar de acuerdo con ello en una variedad de escenarios para el tratamiento de una enfermedad autoinmunitaria en un animal.

En una divulgación, los análogos de fucosa regulan por defecto o modulan por defecto un anticuerpo autoinmunitario asociado con una enfermedad autoinmunitaria en particular.

Los tipos concretos de enfermedades autoinmunitarias que se pueden tratar con los análogos de fucosa incluyen, aunque no de forma limitativa, trastornos relacionados con linfocitos Th2 (por ejemplo, dermatitis atópica, asma atópica, rinoconjuntivitis, rinitis alérgica, síndrome de Omenn, esclerosis sistémica, o enfermedad de injerto frente a hospedador); trastornos relacionados con linfocitos Th1 (por ejemplo, artritis reumatoide, esclerosis múltiple, psoriasis, síndrome de Sjogren, tiroiditis de Hashimoto, enfermedad de Graves, cirrosis biliar primaria, granulomatosis de Wegener, y tuberculosis); trastornos relacionados con linfocitos B activados (por ejemplo, lupus eritematoso sistémico, síndrome de Goodpasture, artritis reumatoide y diabetes tipo I); y los desvelados a continuación.

Hepatitis crónica activa, Enfermedad de Addison, Alveolitis alérgica, Reacción alérgica, Rinitis alérgica, Síndrome de Alport, Anafilaxia, Espondilitis anquilosante, Síndrome anti-fosfolípidos, Artritis, Ascariasis, Aspergilosis, Alergia atópica, Dermatitis atópica, Rinitis atópica, Enfermedad de Behçet, Pulmón de Bird-Fancier, Asma bronquial, Síndrome de Caplan, Cardiomiopatía, Enfermedad celíaca, Enfermedad de Chagas, Glomerulonefritis crónica, Síndrome de Cogan, Enfermedad por crioaglutininas, Infección por rubeola congénita, Síndrome CREST, Enfermedad de Crohn, Crioglobulinemia, Síndrome de Cushing, Dermatomiostitis, Lupus discoide, Síndrome de Dressler, Síndrome de Eaton-Lambert, Infección por Ecovirus, Encefalomiелitis, Oftalmopatía endocrina, Infección por el virus Epstein-Barr Virus, Náuseas equinas, Eritematososis, Síndrome de Evan, Síndrome de Felty, Fibromialgia, Ciclitis de Fuch, Atrofia gástrica, Alergia gastrointestinal, Arteritis de células gigantes, Glomerulonefritis, Síndrome de Goodpasture, Enfermedad de injerto contra hospedador, Enfermedad de Grave, Enfermedad de Guillain-Barre, Tiroiditis de Hashimoto, Anemia hemolítica, Henocho-Schonlein, Púrpura idiopática, Atrofia de Suprarrenales, Fibrosis pulmonar idiopática, Nefropatía de IgA, Enfermedad inflamatoria del intestino, Diabetes mellitus insulino-dependiente, artritis juvenil, Diabetes mellitus juvenil, Síndrome de Lambert-Eaton, Laminitis, Liqueen plano, Hepatitis lupoides, Linfopenia por Lupus, Enfermedad de Menière, Enfermedad del tejido conectivo mixto, la esclerosis múltiple, Miastenia grave, Anemia perniciosa, Síndromes poliglandulares, Demencia presenil, Agammaglobulinemia primaria,

5 Cirrosis biliar primaria, Psoriasis, Artritis psoriática, Fenómeno de Raynauds, Aborto recurrente, Síndrome de Reiter, Fiebre reumática, artritis reumatoide, Síndrome de Sampter, Esquistosomiasis, Síndrome de Schmidt, escleroderma, Síndrome de Shulman, Síndrome de Sjorgen, Síndrome de Stiff-Man, Oftalmia simpática, Lupus sistémico eritematoso, Arteritis de Takayasu, Arteritis temporal, Tiroiditis, Trombocitopenia, Tirotoxicosis, Necrosis epidérmica crónica de Tipo B, Diabetes mellitus de Tipo I resistente a la insulina, Colitis ulcerosa, Uveítis, Vitiligo, Macroglobulemia de Waldenstrom, y Granulomatosis de Wegener.

Tratamiento multifármaco de enfermedades autoinmunitaria

10 Se desvelan también en el presente documento procedimientos para tratar una enfermedad autoinmunitaria, que comprende administrar a un animal (por ejemplo, un mamífero) que lo necesita una cantidad eficaz de un análogo de fucosa y opcionalmente un agente terapéutico conocido para el tratamiento de una enfermedad autoinmunitaria. En una divulgación, el agente de la enfermedad autoinmunitaria incluye, aunque no se limita a ciclosporina, ciclosporina A, micofenilato, mofetilo, sirolimus, tacrolimus, enanercept, prednisona, azatioprina, metotrexato, ciclofosfamida, prednisona, ácido aminocaproico, cloroquina, hidroxiclороquina, hidrocortisona, dexametasona, clorambucilo, DHEA, danazol, bromocriptina, meloxicam o infliximab.

15 *Tratamiento de enfermedades infecciosas*

También se desvelan en el presente documento análogos de fucosa útiles para potenciar una respuesta inmunitaria que da como resultado un aumento en la destrucción o la inhibición de la multiplicación de una célula que produce una enfermedad infecciosa o para tratar una enfermedad infecciosa. Los análogos de fucosa se pueden usar de acuerdo con ello en una variedad de escenarios para el tratamiento de una enfermedad infecciosa en un animal.

20 En una divulgación, los análogos de fucosa potencian una respuesta inmunitaria, dando como resultado la destrucción o la inhibición o el aumento de la destrucción o de la inhibición, de la multiplicación de células que producen una enfermedad infecciosa concreta.

Los tipos concretos de enfermedades infecciosas que se pueden tratar con los análogos de fucosa incluyen, aunque no de forma limitativa, (1) Enfermedades bacterianas: Difteria, Tosferina, Bacteremia oculta, Infección del tracto urinario, Gastroenteritis, Celulitis, Epiglotitis, Traqueítis, Hipertrofia de adenoides, Absceso retrofaríngeo, Impétigo, Ectima, Neumonía, Endocarditis, Artritis séptica, Neumococo, Peritonitis, Bactermia, Meningitis, Meningitis purulenta aguda, Uretritis, Cervicitis, Proctitis, Faringitis, Salpingitis, Epididimitis, Gonorrea, Sífilis, Listeriosis, Antrax, Nocardiosis, Salmonella, Fiebre tifoidea, Disentería, Conjuntivitis, Sinusitis, Brucelosis, Tularemia, Cólera, Plaga bubónica, Tétanos, Enteritis necrosante, Actinomicosis, Infecciones anaerobias mixtas, Sífilis, Fiebre recurrente, Leptospirosis, Enfermedad de Lyme, Fiebre por mordedura de rata, Tuberculosis, Linfadenitis, Lepra, Clamidia, Neumonía por clamidia, Tracoma, Conjuntivitis por inclusión, Sistémica; (2) Enfermedades fúngicas: Histoplasmosis, Coccidioidomicosis, Blastomicosis, Esporotricosis, Criptococsis, Candidiasis sistémica, Aspergilosis, Mucormicosis, Micetoma, Cromomicosis; (3) Enfermedades rickettsiales: Tifus, Fiebre con manchas de las Montañas Rocosas, Erliquiosis, Rickettsiosis transmitida por la pulga oriental de la rata, viruela por Rickettsia, Fiebre Q, y Bartonelosis; (4) Enfermedades parasíticas: Malaria, Babesiosis, Enfermedad del sueño africana, Enfermedad de Chagas, Leishmaniosis, Fiebre Dum-Dum, Toxoplasmosis, Meningoencefalitis, Queratitis, Entamebiasis, giardiasis, Criptosporidiasis, Isosporiasis, Ciclosporiasis, Microsporidiosis, Ascariasis, Tricuriasis, Anquilostomiasis, Estrongiloidiasis, Larva Migrans ocular, Triquinosis, Dracunculiasis, Filariasis linfática, Loiasis, Oncocercosis, Dirofilariasis, Esquistosomiasis, Picadura de notonéctido, paragonimiasis, Clonorquiasis, Fascioliasis, Fasciolopsiasis, Opistorquiasis, Infección por cestodos, Hidatiasis, Enfermedad hidatídica alveolar; (5) Enfermedades víricas: Sarampión, Panencefalitis esclerosante subaguda, Resfriado común, paperas, Rubeola, Roseola, Eritema infeccioso, Viruela aviar, Infección por virus sincitial respiratorio, Laringotraqueobronquitis, Bronquiolititis, Mononucleosis infecciosa, poliomiélitis, Herpangina, Fiebre aftosa humana, Enfermedad de Bornholm, Herpes genital, Verrugas genitales, Meningitis aséptica, Miocarditis, Pericarditis, Gastroenteritis, Síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), Síndrome de Reye, Síndrome de Kawasaki, Gripe, Bronquitis, Neumonía atípica, Síndrome paragripal, Fiebre faringoconjuntival aguda, Queratoconjuntivitis epidémica, Virus del herpes simplex 1 (VHS-1), Virus del herpes simplex 2 (VHS-2), Herpes zóster, Infección por citomegalovirus, Rabia, Leucoencefalopatía multifocal progresiva, Kuru, Insomnio familiar fatal, Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, Enfermedad de Gerstmann-Straussler-Scheinker, Paraparesis espástica tropical, Encefalitis equina occidental, Encefalitis de California, Encefalitis de St. Louis, Fiebre amarilla, Dengue, coriomeningitis linfocítica, Fiebre de Lassa, Fiebre hemorrágica, Hantvirus, Síndrome pulmonar, Infecciones por el virus Marburg, Infecciones por el virus del Ébola, y virus de la varicela.

Tratamiento multifármaco de enfermedades infecciosas

55 Se desvelan también en el presente documento procedimientos para tratar una enfermedad infecciosa, que comprende administrar a un animal (por ejemplo, un mamífero) que lo necesita un análogo de fucosa y opcionalmente un agente terapéutico que es un agente contra enfermedades infecciosas. En una divulgación, el agente contra enfermedades infecciosas es, aunque no de forma limitativa: (1) Agentes antibacterianos: Antibióticos de β -lactama: Penicilina G, Penicilina V, Cloxacilina, Dicloxacilina, Meticilina, Nafcilina, Oxacilina, Ampicilina, Amoxicilina, Bacampicilina, Azlocilina, Carbenicilina, Mezlocilina, Piperacilina, Ticarcilina; Aminoglicósidos:

Amikacina, Gentamicina, Kanamicina, Neomicina, Netilmicina, Estreptomina, Tobramicina; Macrólidos: Azitromicina, Claritromicina, Eritromicina, Lincomicina, Clindamicina; Tetraciclinas: Demeclociclina, Doxiciclina, Minociclina, Oxitetraciclina, Tetraciclina; Quinolonas: Cinoxacina, Ácido nalidíxico, Fluoroquinolonas: Ciprofloxacina, Enoxacina, Grepafloxacina, Levofloxacina, Lomefloxacina, Norfloxacina, Ofloxacina, Esparfloxacina, Trovafloxacina; Polipéptidos: Bacitracina, Colistina, Polimixina B; Sulfonamidas: Sulfisoxazol, Sulfametoxazol, Sulfadiazina, Sulfametiazol, Sulfacetamida; Miscelánea de agentes antibacterianos: Trimetoprim, Sulfametazol, Cloranfenicol, Vancomicina, Metronidazol, Quinupristin, Dalfopristin, Rifampina, Espectinomina, Nitrofurantoína; Agentes antiviricos: Agentes antiviricos generales: Idoxuradina, Vidarabina, Trifluridina, Aciclovir, Fanciclovir, Penciclovir, Valaciclovir, Ganciclovir, Foscarnet, ribavirina, Amantadina, Rimantadina, Cidofovir; Oligonucleótidos de sentido contrario; Inmunoglobulinas; Inteferones; Fármacos para la infección por VIH: Zidovudina, Didanosina, Zalcitabina, Estavudina, Lamivudina, Nevirapina, Delavirdina, Saquinavir, Ritonavir, Indinavir y Nelfinavir.

Otros agentes terapéuticos

Los presentes usos médicos de la presente invención pueden comprender además la administración de un análogo de fucosa y un agente terapéutico o sales farmacéuticamente aceptables o disolventes de los mismos. El análogo de fucosa y el agente terapéutico pueden actuar de forma aditiva o, más preferentemente, sinérgica. En una realización preferida, una composición que comprende un análogo de fucosa se administra al mismo tiempo que la administración de uno o más agentes terapéuticos, que puede ser parte de la misma composición o estar en una composición diferente a la que comprende el análogo de fucosa. En otra realización, un análogo de fucosa se administra antes de o después de la administración del uno o más agentes terapéuticos.

En los presentes usos médicos para el tratamiento del cáncer, el agente terapéutico también puede ser un agente antiemético. Los agentes antieméticos adecuados incluyen, aunque no de forma limitativa, metoclopramida, domperidona, proclorperazina, prometazina, clorpromazina, trimetobenzamida, ondansetrón, granisetron, hidroxizina, acetileuucina, monoetanolamina, alizaprida, azasetron, benzquinamida, bietanautina, bromoprida, buclizina, cleboprida, ciclizina, dimenhidrinato, difenidol, dolasetron, meclizina, metalatal, metopimazina, nabilona, oxipemidilo, pipamazina, escopolamina, sulpiride, tetrahidrocannabinoles, tietilperazina, tioproperazina y tropisetron.

En otra realización, el agente terapéutico puede ser un factor estimulador de colonias hematopoyéticas. Los factores estimuladores de colonias hematopoyéticas incluyen, aunque no de forma limitativa, filgrastima, sargramostim, molgramostim y eritropoyetina alfa.

En otra realización adicional, el agente terapéutico puede ser un agente analgésico opioideo o no opioideo. Los agentes analgésicos opioideos adecuados incluyen, aunque no de forma limitativa, morfina, heroína, hidromorfona, hidrocodona, oximorfona, oxicodona, metopón, apomorfina, normorfina, etorfina, buprenorfina, meperidina, lopermida, anileridina, etoheptazina, piminidina, betaprodina, difenoxilato, fentanilo, sufentanilo, alfentanilo, remifentanilo, levofranol, dextrometorano, fenazocina, pentazocina, ciclazocina, metadona, isometadona y propoxifeno. Los agentes analgésicos no opioideos adecuados incluyen, aunque no de forma limitativa, aspirina, celecoxib, rofecoxib, diclofinac, diflusinal, etodolaco, fenoprofeno, flurbiprofeno, ibuprofeno, ketoprofeno, indometacina, ketorolaco, meclofenamato, ácido mefenámico, nabumetona, naproxeno, piroxicam y sulindaco.

La invención se describe con más detalla en los ejemplos siguientes, no previstos para limitar el ámbito de la invención.

Ejemplos

Los ejemplos relativos a los análogos de fucosa diferentes a los abarcados por las reivindicaciones adjuntas son ejemplos de referencia.

Ejemplo 1: Producción *in vivo* de anticuerpos no fucosilados

Procedimientos:

Ratones BALB/c hembra se inmunizaron con hemocianina de lapa californiana (KLH), 30-60 días antes de comenzar este estudio. Para el primer estudio, los ratones se dosificaron ip con 150 mg/kg de alquinil fucosa (SGD-1887), peracetato de alquinil fucosa (SGD-1890), 2-fluorofucosa (SGD-2083), o triacetato de 2-fluorofucosa (SGD-2084) diariamente durante 7 días, o quedaron sin tratamiento. En el día 2, los ratones también se reforzaron con KLH. El día después de la administración ip, los ratones se exanguinaron y se obtuvo el suero. Para el segundo estudio, se administró a los ratones 2-fluorofucosa (SGD-2083) 100 mM en su agua de bebida, o se les proporcionó agua sin tratar durante 7 días, se reforzaron con KLH, y se continuó con 2-fluorofucosa 100 mM en el agua de bebida o agua sin tratar durante 7 días más antes de la exanguinación final. A continuación se obtuvo el suero. Ninguno de los ratones falleció en ninguno de los estudios. Para ambos estudios, el suero se pasó a una columna de afinidad contra KLH comercial para obtener anticuerpos policlonales específicos de KLH. El flujo a través de la columna de afinidad contra KLH comercial se hizo pasar por una columna de proteína A comercial para obtener los anticuerpos restantes.

Transferencia de puntos: 0,5 µg de cada uno de los anticuerpos procedentes de animales tratados y sin tratar, así como los patrones de anticuerpo cAC10 que tienen cantidades conocidas de fucosilación del núcleo (0 a 100 % de

fucosa), se transfirieron sobre membranas de nitrocelulosa. Los niveles de proteínas se visualizaron mediante tinción de Ponceau. La transferencia se sondeó con una lectina biotinilada específica de L-fucosa de *Aspergillus oryzae* (AOL) (que se une a anticuerpos fucosilados) y revelado con estreptavidina HRP y ECL. Las señales de carga en gel (visible) y de fucosa (bioluminiscencia) se midieron con una cámara Alpha Innotech y se cuantificó con el programa informático de la máquina.

Cromatografía de gases (GC): 40 µg de cada uno de los anticuerpos de los animales tratados y sin tratar que se dializaron contra agua, se sometieron a metanolisis en HCl metanólico. Las muestras de control del anticuerpo cAC10 con 0 al 100 % de fucosa se trataron análogamente. Los metilglicósidos resultantes se derivatizaron mediante trimetilsililación de los alcoholes de monosacáridos utilizando un cóctel comercialmente disponible, Tri-Sil. Los resultantes metilglicósidos de trimetilsililo se examinaron en un cromatógrafo de gases Hewlett Packard con detección mediante ionización de llama usando un gradiente de temperatura en una columna Agilent J&W DB-1. Los picos relevantes se identificaron por su tiempo de retención en comparación con los patrones de azúcar derivatizados en paralelo con las muestras de Ab. Los picos se integraron con el programa informático GC. Las relaciones de área de los picos de fucosa/manosa se usaron para determinar el estado de fucosilación de los anticuerpos.

Resultados:

Estudio 1: La Figura 1 muestra la inmunotransferencia (lado izquierdo) de los anticuerpos que no se unen a KLH, pero se recuperaron de la columna de proteína A. Los resultados se muestran para los patrones de cAC10 (transferencia puntual inferior, rectángulo discontinuo más a la izquierda y correspondientes columnas de la transferencia puntual superior), control sin tratar (transferencia puntual inferior, segundo rectángulo discontinuo de la izquierda y la correspondiente columna de la transferencia puntual superior), y alquiniil fucosa (SGD-1887; transferencia puntual inferior, rectángulo discontinuo del centro y correspondiente columna de la transferencia puntual superior), peracetato de alquiniil fucosa (SGD-1890, transferencia puntual inferior, segundo rectángulo discontinuo de la derecha y la correspondiente columna de la transferencia puntual superior), y 2-fluorofucosa (SGD-2083; transferencia puntual inferior, rectángulo discontinuo más a la derecha, y correspondiente columna de la transferencia puntual superior). Tras normalizar por el nivel superior, el porcentaje de fucosilación también se muestra en el gráfico de la derecha. En promedio, los niveles de fucosilación de los anticuerpos se redujeron en aproximadamente un tercio, en comparación con los controles no tratados.

La Figura 2 muestra los niveles de fucosilación tanto de los anticuerpos contra KLH (paneles A y B) y las restantes moléculas de IgG en suero procedentes de los grupos tratados (paneles C y D). Los niveles de fucosilación se muestran tanto como porcentajes de fucosilación basándose en los patrones de anticuerpo de cAC10 (paneles A y C) y el valor promedio para los grupos tratados como porcentaje de los valores promedios para el grupo de control sin tratar (paneles B y D). En promedio, los niveles de fucosilación de los anticuerpos contra KLH se redujeron en aproximadamente un tercio por el tratamiento con res de los análogos de fucosa. Los restantes anticuerpos recogidos también mostraron una reducción en la fucosilación del núcleo de aproximadamente un cuarto. En este estudio, los niveles de anticuerpo globales (específicos y no específicos de KLH) aumentaron en los ratones después de la exposición a KLH. Como resultado, la mayoría de anticuerpos se sintetizaron ex novo durante los periodos de tratamiento. Estas observaciones indicaron que los anticuerpos de nueva producción pueden presentar una fucosilación reducida del núcleo después de la administración de un análogo de fucosa.

Estudio 2: En este estudio, se exploró el efecto de la administración oral de análogos de fucosa. La Figura 3 muestra los resultados del tratamiento de los ratones por administración oral de los análogos de fucosa. Los niveles de fucosilación de los anticuerpos examinados fueron los de los anticuerpos que no se unen a KLH, pero se recuperaron de la columna de proteína A. Se muestran los resultados para los patrones de cAC10 (transferencia puntual superior e inferior, triángulo de más a la izquierda), control sin tratar (transferencias puntuales superiores e inferiores, rectángulo segundo desde la izquierda (superior) y derecho), y 2-fluorofucosa (transferencias puntuales superiores e inferiores, rectángulos segundos desde la izquierda (inferior) y desde la derecha (superior e inferior)). Tras normalizar por el nivel superior, el porcentaje de fucosilación también se muestra en el gráfico de la derecha. Los niveles de fucosilación del núcleo de los anticuerpos para los animales tratados casi quedaron eliminados: en promedio, los niveles de fucosilación fueron del 7 % para los animales tratados y del 81 % para los animales no tratados. Estas observaciones indican que la administración oral de análogos de fucosa es un medio eficaz para disminuir los niveles de fucosilación del anticuerpo.

Ejemplo 2: Actividad de análogos de fucosa *in vitro* en cultivo celular

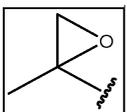
Los análogos de fucosa se evaluaron por su efecto sobre la fucosilación del núcleo de los anticuerpos a concentraciones de 50 µM y 1 mM generalmente como se describe en la solicitud de patente estadounidense publicada con número 2009-0317869. En resumen, el protocolo fue el siguiente: Una línea de células CHO DG44 productora de un anticuerpo monoclonal humanizado de IgG1 contra CD70, h1F6 (véase la publicación de patente internacional 06/113909) se cultivó a $7,5 \times 10^5$ células por ml en 2 ml de medio de cultivo CHO a 37°, CO₂ al 5 % y agitación a 100 RPM en una placa de cultivo de tejido de 6 pocillos. Los medios se suplementaron con factor de crecimiento de tipo insulina (IGF), penicilina, estreptomina y cualquiera de 1 mM o 50 µM del análogo de fucosa. En el día 5 después de la inoculación, el cultivo se centrifugó a 13000 RPM durante 5 minutos para aglomerar las

células; a continuación, los anticuerpos se purificaron a partir del sobrenadante.

La purificación de los anticuerpos se llevó a cabo mediante la aplicación de los medios condicionados a la resina de proteínas A con solución salina tamponada con fosfato (PBS), pH 7,4. Tras lavar la resina con 20 volúmenes de lecho de columna con IX PBS, los anticuerpos se eluyeron con 5 volúmenes de lecho de columna de tampones de elución con Immunopure IgG (Pierce Biotechnology, Rockford, IL). Se añadió un volumen del 10 % de Tris 1 M pH 8,0 para neutralizar la fracción eluida. Los resultados se muestran en las siguientes tablas.

5

Tabla 1

Nombre (Nombre químico)	R ⁵	R ¹ -R ⁴	Inhibición a 50 μM	Inhibición a 1 μM
Alquinilfucosa (5-etinilarabinosa)	-C≡CH	-OH	>80 %	ND
Peracetato de alquinilfucosa Tetraacetato de alquinilfucosa (tetraacetato de 5-etinilarabinosa)	-C≡CH	-OAc	>80 %	>80 %
tetraacetato de 5-propinil fucosa (tetraacetato de 5-propinilarabinosa)	-C≡CCH ₃	-OAc	50 %	>80 %
tetraacetato de propargilfucosa ((tetraacetato de 3S,4R,5R,6S)-6- (prop-2-inil)-tetrahidro-2H-piran- 2,3,4,5-tetrailo)	-CH ₂ C≡CH	-OAc	~ 10 %	~ 10- 20 %
Peracetil galactosa (pentaacetato de galactosa)	-OAc	-OAc	~ 0 %	~ 0 %
tetraacetato de 5-vinilfucosa (tetraacetato de 5-etinilarabinosa)	-CHCH ₂	-OAc	~ 0 %	~ 4 %
tetraacetato de 6-cianofucosa (tetraacetato de 6-cianofucosa)	-CH ₂ CN	-OAc	30 %	>80 %
tetraacetato de 5-cianofucosa (forma piranosa) (tetraacetato de (tetraacetato de 5-cianoarabinopiranosa)	-CN	-OAc	20 %	ND
tetraacetato de 5-cianofucosa (forma furanosa) (tetraacetato de 5-cianoarabinofuranosa)	-CN	-OAc	5-10 %	ND
tetraacetato de 5-metil éster fucosa (tetraacetato de (5-carboximetil arabinosa)	-C(O)OCH ₃	-OAc	30 %	>80 %
5-(CH(OAc)CH ₃) peracetilfucosa (pentaacetato de 6-metilgalactosa)	-CH(OAc)CH ₃	-OAc	~ 0 %	40 %
tetraacetato de 5-metiloxiran-arabinosa (tetraacetato de (3S,4R, 5S,6R)-6-((S)- 2-metiloxiran-2-il)-tetrahidro-2H-piran- 2,3,4,5-tetrailo)		-OAc	~ 0 %	~ 35- 40 %
tetraacetato de 6-yodo-fucosa (tetraacetato de (6-yodofucosa)	-CH ₂ I	-OAc	3 %	30 %
tetraacetato de 6-cloro-fucosa (tetraacetato de 6-clorofucosa)	-CH ₂ Cl	-OAc	20 %	20-30 %
tetraacetato de 6-bromo-fucosa (tetraacetato de (6-bromofucosa)	-CH ₂ Br	-OAc	50 %	80 %
Tetrapropanonato de alquinilfucosa (tetrapropanonato de 5-etinilarabinosa)	-C≡CH	-OC(O)CH ₂ - CH ₃	>80 %	>80 %
Tetra-n-hexanoato de alquinilfucosa (tetrahexanoato de 5-etinilarabinosa)	-C≡CH	-OC(O)(CH ₂) ₄ - CH ₃	>80 %	>80 %
Tetraquis(trimetilacetato) de alquinilfucosa (tetra(trimetilacetato) de 5-etinilfucosa)	-C≡CH	- OC(O)C(CH ₃) ₃	20 %	60 %

(continuación)

Tetraquis(trimetilacetato) de alquinilfucosa (tetra(trimetilacetato) de 5-etinilfucosa)	-C≡CH	- OC(O)C(CH ₃) ₃	5 %	10 %
1,2,3-(Trimetilacetato de alquinilfucosa) (1,2,3-(trimetilacetato) de 5-etinilarabinosa)	-C≡CH	- OC(O)C(CH ₃) ₃ y -OH	-0 %	ND
di(Trimetilacetato de alquinilfucosa) (1,3-(trimetilacetato) de 5-etinilfucosa)	-C≡CH	- OC(O)C(CH ₃) ₃ y -OH	>80 %	ND
Pernicotinato de alquinilfucosa	-C≡CH	-C(O)-3-piridilo	>80 %	>80 %
Perisonicotinato de alquinilfucosa	-C≡CH	-C(O)-4-piridilo	>80 %	>80 %
Alquinilfucosa per-PEG éster	-C≡CH	-C(O)- (CH ₂ CH ₂ O) ₂ - OCH ₃	>80 %	>80 %
1-metil-2,3,4-triacetil alquinilfucosa	-C≡CH	R ¹ =OCH ₃ R ² , R ³ , R ⁴ =OAc	68 %	>80 %
Perisobutanoato de alquinilfucosa	-C≡CH	- OC(O)CH(CH ₃) ₂	>80 %	>80 %

"ND" significa no detectado debido a una baja producción de anticuerpos o una inhibición del crecimiento celular en la presencia del análogo de fucosa.

Tabla 2

Nombre (Nombre químico)	R ⁵	R ¹	R ² /R ^{2a}	R ³ /R ^{3a}	Inhibición a 50 μM	Inhibición a 1 μM
Diacetato de 2-desoxi-2-fluorofucosa (R ⁴ = OAc)	-CH ₃	-OH	-F/-H	-OAc/-H	> 80 %	> 80 %
Triacetato de 2-desoxi-2-clorofucosa (R ⁴ = OAc)	-CH ₃	-OAc	-Cl/-H	-OAc/-H	17 %	> 80 %
Aleno (R ⁴ = OAc)	-CH=C=CH ₂	-OAc	-OAc/-H	-OAc/-H	23 %	34 %
2-desoxi-2-fluorofucosa (R ⁴ = OH)	-CH ₃	-OH	-F/-H	-OH/-H	> 80 %	> 80 %
Peracetato 2-desoxi-2-fluorofucosa (R ⁴ = OAc)	-CH ₃	-OAc	-F/-H	-OAc/-H	> 80 %	> 80 %
Peracetato de 1,2-difluoro-1,2-didesoxi (R ⁴ = OAc)	-CH ₃	-F	-F/-H	-OAc/-H	> 80 %	> 80 %
tetraacetato de 6,6-difluorofucosa (R ⁴ = OAc)	-CHF ₂	-OAc	-OAc/-H	-OAc/-H	> 80 %	> 80 %
triacetato de 2-desoxi-2,2-difluorofucopiranososa (alfa) (R ⁴ = OAc)	-CH ₃	-OAc	-F/-F	-OAc/-H	0	64 %
Triacetato de 2-desoxi-2,2-difluorofucopiranososa (beta) (R ⁴ = OAc)	-CH ₃	-OAc	-F/-F	-OAc/-H	0	75 %
Triacetato de 6-metil-tetrahidro-2H-piran-2,4,5-triilo (R ⁴ = OAc)	-CH ₃	-OAc	-H/-H	-OAc/-H	0	36 %
Peracetato de 5-Benciloxifucosa (R ⁴ = OAc)	-CH ₂ OCH ₂ Ph	-OAc	-OAc/-H	-OAc/-H	0	75 %

"ND" es no detectado debido a una baja producción de anticuerpos o una inhibición del crecimiento celular en la presencia del análogo de fucosa.

Algunos otros análogos de fucosa se sometieron a ensayo para determinar su capacidad para incorporarse a los anticuerpos. Los análogos de fucosa se analizaron a concentraciones de 50 μM y 1 mM usando la metodología que se ha descrito anteriormente. Los resultados se muestran en la siguiente tabla.

5

Tabla 3

Nombre (Nombre químico)	R ⁵	R ¹ -R ⁴	% Incorporación
Propargilfucosa o tetraacetato de (3S,4R,5R)-6-(prop-2-inil)tetrahidro-2H-piran-2,3,4,5-tetraol		-OAc	80 % (1 mM)
peracetato de 5-(Z)-propenilfucosa		-OAc	~ 30 %
Isopropenil peracetilfucosa o tetraacetato de (3S,4R,5R,6S)-6-(prop-1-en-2-il)-tetrahidro-2H-piran-2,3,4,5-tetraol		-OAc	> 80 % (1 mM y 50 uM)
5-etilfucosa o (3S,4R,5S,6S)-6-etil-tetrahidro-2H-piran-2,3,4,5-tetraol	-CH ₂ CH ₃	-OH	> 80 % (1 mM y 50 uM)
peracetato de 5-etilfucosa o tetraacetato de (3S,4R,5S,6S)-6-etil-tetrahidro-2H-piran-2,3,4,5-tetraol	-CH ₂ CH ₃	-OAc	> 90 % (1 mM y 50 uM)
5-ciclopropilfucosa o (3S,4R,5S,6S)-6-ciclopropiltetrahidro-2H-piran-2,3,4,5-tetraol		-OH	~ 80 %
peracetato de 5-ciclopropilfucosa o tetraacetato de (3S,4R,5R,6S)-6-ciclopropiltetrahidro-2H-piran-2,3,4,5-tetraol		-OAc	~ 80 %
tetraacetato de 5-propiloxiarabinosa o tetraacetato de (3S,4R,5S,6R)-6-((S)-2-metiloxiran-2-il)tetrahidro-2H-piran-2,3,4,5-tetraol		-OAc	~ 60 %
Fluorometilfucosa o tetraacetato de (3S,4R,5S)-6-(fluorometil) tetrahidro-2H-piran-2,3,4,5-tetraol	-CH ₂ F	-OAc	> 90 % (1 mM y 50 uM)
5-clorometilperacetilfucosa o tetraacetato de (3S,4R,5S)-6-(clorometil)tetrahidro-2H-piran-2,3,4,5-tetraol	-CH ₂ Cl	-OAc	~ 80 %
5-bromometilperacetilfucosa o tetraacetato de (3S,4R,5S)-6-(bromometil)tetrahidro-2H-piran-2,3,4,5-tetraol	-CH ₂ Br	-OAc	~ 50 % (50 uM; 20 % a 1 mM)
5-yodometil-peracetilfucosa o tetraacetato de (3S,4R,5S)-6-(yodometil) tetrahidro-2H-piran-2,3,4,5-tetraol	-CH ₂ I	-OAc	~ 30 %
Azido peracetilfucosa o tetraacetato de (3S,4R,5R)-6-(azidometil)tetrahidro-2H-piran-2,3,4,5-tetraol	-CH ₂ N ₃	-OAc	60 %
tetraacetato de 5-(2-azidoetil) arabinosa o tetraacetato de (3S,4R,5R,6S)-6-(2-azidoetil)tetrahidro-2H-piran-2,3,4,5-tetraol	-CH ₂ CH ₂ N ₃	-OAc	20 %
	-CH=C=CH ₂	-OAc	~ 30 %
Isopropil peracetilfucosa o tetraacetato de (3S,4R,5R,6S)-6-isopropiltetrahidro-2H-piran-2,3,4,5-tetraol	Isopropilo	-OAc	No detectado

Estos ensayo identificaron compuestos candidatos para la inhibición de la fucosilación del núcleo de anticuerpos en mamíferos.

Ejemplo 3: Producción de anticuerpos no fucosilados *in vivo* tras administración oral

- 5 En este estudio, se estudiaron adicionalmente los efectos de la administración oral del análogo de fucosa 2-fluorofucosa (SGD-2083). Ratones BALB/c hembra recibieron 2-fluorofucosa 1, 10 y 100 mM en su agua de bebida durante 14 días. Los ratones se inmunizaron con TiterMAX Classic y recibieron 2-fluorofucosa 1, 10 y 100 mM en su agua de bebida durante 7 días más. A continuación, los ratones se exanguinaron y se obtuvo el suero. Los anticuerpos endógenos se purificaron haciendo pasar el suero por una columna de proteína A.
- 10 Los anticuerpos recogidos se evaluaron para determinar los niveles de fucosilación mediante transferencia de puntos de la siguiente forma. Los anticuerpos procedentes de animales tratados y sin tratar (0,5 µg de cada), así como de los patrones de cAC10 con fucosa de 0 al 100 % (solamente en el estudio 1), se transfirieron sobre membranas de nitrocelulosa. Los niveles de proteínas se visualizaron con Ponceau S. La inmunotransferencia se sondeó con lectina

AOL biotinilada y se reveló con estreptavidina HRP y ECL (como se ha descrito anteriormente). Las señales de carga en gel (visible) y de fucosa (bioluminiscencia) se midieron con una cámara Alpha Innotech y se cuantificó con el programa informático de la máquina.

Resultados:

- 5 Se observó una disminución dependiente de la dosis en los niveles de fucosilación de los anticuerpos para la tres concentraciones de 2-fluorofucosa (SGD-2083). En referencia a la **Figura 4**, los niveles de fucosilación de los anticuerpos fueron mayores en el control no tratado y en los grupos tratados con 2-fluorofucosa 1 mM (paneles izquierdo y central, dos rectángulos superiores). Los anticuerpos procedentes de la concentración intermedia de 2-fluorofucosa quedaron casi tan agotados de fucosa como los de la concentración elevada de 100 mM de 2-fluorofucosa. Estos resultados confirman que la administración de 2-fluorofucosa a ratones puede inhibir la fucosilación del núcleo de los anticuerpos.

Ejemplo 4: Efectos de los análogos de fucosa sobre células humanas

15 Se investigó la capacidad de diferentes análogos de fucosa para inhibir la fucosilación de los anticuerpos de IgG producidos por células de mieloma humano, así como la fucosilación de las proteínas de superficie en líneas de células de cánceres humanos. En un primer estudio, se investigó la capacidad de los análogos de fucosa para inhibir la fucosilación de IgG producida en la líneas de células LP-1, una las líneas de células de mieloma múltiple humano. Los anticuerpos producidos, y encontrados, en el medio de cultivo de, células LP-1 no tratadas, se confirmaron como del tipo IgG mediante transferencia Western, usando para la detección un anticuerpo dirigido contra IgG humana (no se muestran los datos). Esto se llevó a cabo haciendo crecer 20 ml de células LP-1 en un matraz de cultivo de tejidos T-75 (250.000 células/ml) durante 5 días a 37 °C en una atmósfera humidificada de CO₂ al 5 % en medio de cultivo de tejido con IgG agotada (RPMI 90 % con FBS inactivado térmicamente con IgG al 10 %). La recogida de las células fue por centrifugación (200 x g, 4 °C, 5 min), y el medio de cultivo se recogió. El medio se filtró a través de un filtro de 0,22 µm y a continuación se incubó con 1 ml de una suspensión de resina de proteína A al 50 % MabSelect™ en PBS a 4 °C con rotación durante la noche para capturar la IgG. La suspensión de resina se dejó sedimentar y la mayoría del medio se eliminó. La suspensión de resina se transfirió con -0,5 ml de medio a dos copas de centrifugación de acetato de celulosa, y se centrifugó a 5000 x g durante 1 min. El lecho de resina se lavó seguidamente 3 veces con 0,5 ml de PBS. La IgG se eluyó con 700 µl de tampón de elución Pierce IgG (en 52 µl de tampón Tris 9 M, pH 9,5 para ajustar el pH después de la elución). La elución resultante se transfirió a un concentrador centrífugo con un corte de 10.000 MW y la muestra se concentró a aproximadamente 20 µl. 1 µl de la muestra concentrada se cargó en un gel de SDS poliacrilamida para la separación, seguida de transferencia sobre membranas de nitrocelulosa. La tinción de la transferencia para determinar la proteína total fue mediante Ponceau S y para la identificación del isotipo, mediante un anticuerpo dirigido contra IgG humana. La tinción de proteína total mostró bandas consistentes con pesos moleculares para las cadenas pesada y ligera de la IgG y la tinción con el anticuerpo dirigido contra la IgG humana mostrará reacción con la banda de proteína consistente con el peso molecular de la cadena pesada, tal como se esperaba.

40 La fucosilación de anticuerpo también se puede determinar usando una lectina específica de L-fucosa biotinilada de *Aspergillus oryzae* (AOL), que se une específicamente a la fucosa con enlace α-1,6 del anticuerpo. Este procedimiento de detección de la fucosa funciona para ambas transferencias de proteína que bien se han separado mediante SDS-PAGE o bien para la proteína que se ha aplicado a la nitrocelulosa sin separación. La señal de fluorescencia generada usando el conjugado de AOL-biotina con unión a estreptavidina-HRP y detección con ECL se puede cuantificar usando un sistema Alpha Innotech FlourChem® Q. La IgG aislada del cultivo de LP-1 mostró una señal dependiente de AOL en la banda correspondiente al MW de la cadena pesada, como se esperaba (no se muestran los datos). Los análogos de 2-fluorofucosa (SGD-2083) y peracetato de 2-fluorofucosa (SGD-2084) no inhibieron la fucosilación del anticuerpo, pero peracetato de alquilil fucosa (SGD-1890) lo hizo.

45 Para evaluar adicionalmente las actividades de los diferentes análogos de fucosa, se analizaron 48 análogos de fucosa diferentes, así como otros inhibidores de la glicosilación para determinar su capacidad para alterar la fucosilación de la IgG generada por LP-1. Las células LP-1 (250.000 células/ml, 3 ml por compuesto en placas de 6 pocillos) se incubaron con 100 µM de cada análogo de fucosa durante 5 días a 37 °C con una atmósfera humidificada de CO₂ al 5 % en medio de cultivo de tejido con IgG agotada (RPMI al 90 % con FBS inactivado térmicamente con IgG al 10 %). La IgG se aisló como se ha descrito anteriormente usando solamente 0,5 ml de suspensión de proteína A MabSelect™ y una copa de centrifugación por muestra con elución en 400 µl de tampón de elución de IgG en 25 µl de tampón Tris 9 M, pH 9. Los eluatos se concentraron a 10-20 µl por muestra, y 2 µl de cada eluato concentrado se distribuyó sobre una membrana de nitrocelulosa y se tiñó con Ponceau S para estimar y ajustar la carga de muestra para tinción con AOL. A partir de esta estimación de la proteína total en cada muestra, aproximadamente 0,5 µg de cada muestra se distribuyó sobre la membrana, se secó con aire, y se tiñó con Ponceau S. Se capturó una imagen de esta membrana teñida con un sistema Alpha Innotech FlourChem® Q. A continuación la membrana se bloquearon con albúmina de suero bovino (BSA) al 5 % en solución salina tamponada con Tris (TBS) durante 1 h, se lavaron con TBST (TBS con Triton) 3 veces y después se incubó con 5 µg/ml de AOL biotinilada durante 1 h. La membrana se volvió a lavar con TBST de nuevo 3 veces, seguido por incubación con estreptavidina-HRP durante 30 min y lavado final con TBST 3 veces. La señal bioluminiscente se reveló usando reactivos de quimioluminiscencia (ECL) y se analizó usando un sistema Alpha Innotech FlourChem® Q y el

programa informático Alphaview®. Los resultados se muestran en la siguiente tabla. Para algunos análogos, se analizaron múltiples muestras, como se indica en la tabla.

Tabla 4

Denominación molécula	Número SGD	% del valor de control de la IgG fucosilada
alquinilfucosa	1887	3
peracetato de alquinilfucosa	1890	0; 0,08; 2
tetraacetato de 5-vinilfucosa	1922	2
tetraacetato de 5-cianometilfucosa	1924	96
L-galactono-1,4-lactona	1931	81
Metil α-L-fucopiranosido	1932	87
tetraacetato de 5-propinilfucosa	1937	315
peracetato de 5-(Z)-propenilfucosa	1944	72
6-propargilamino fucosa	1950	40
tetraacetato de 5-metil ester fucosa	1959	94
castanospermina	1960	300
tetraacetato de 5-metilvetofucosa	1964	5
tetraacetato de 6-bromofucosa	1969	1
tetraacetato de 5-isopropilfucosa	1977	79
Kifunensina	1978	0,44; 2
tetraacetato de propargilfucosa	1987	38
tetraacetato de 6-fluorofucosa	1988	15
tetraacetato de 5-etilfucosa	1989	11
tetraacetato de 5-carboxamidofucosa	1995	79
tetraacetato de 6-alquino-6-acetoxifucosa	2004	29
tetrapropionato de alquinilfucosa	2010	1,5
tetrahexanoato de alquinilfucosa	2012	67
tetraacetato de 5-epoxifucosa	2020	5
pentaacetato de 6-tiogalactosa	2025	44
triacetato de 1-metilfucosa	2039	1
tetraisobutanoato de alquinilfucosa	2043	34
tetraacetato de 6-formilfucosa	2045	70
tetraacetato de 6'-6-difluorofucosa	2046	2
tetranicotinato de alquinilfucosa	2047	50
tetraacetato de benviloxifucosa	2048	114
alquinilfucosa tetra PEG éster	2057	64
tetraisonicotinato de alquinilfucosa	2058	34
triacetato de 1-metil alquinilfucosa	2059	89
tetraacetato de 6-carboximetil éster fucosa	2061	71
6-ceto-6-etilfucosa tetraacetato	2067	3
tetraacetato de 5-(2-cianoetil)arabinosa	2070	51
pentaacetato de D-galactosa	2074	118
diacetato de 1,2-didesoxi-1,2-deshidrofucosa	2080	159
triacetato de 1-desoxifucosa	2081	70
diacetato 1,2-difluorofucosa	2082	87
2-fluoro-2-desoxifucosa	2083	66
tetraacetato de 2-fluoro-2-desoxifucosa	2084	52
tetraacetato de 6-alenofucosa	2097	45
tetraacetato de 2-cloro-2-desoxifucosa	2099	146

(continuación)

triacetato de 2-desoxifucosa	2108	104
tetraacetato de 3-tiofucosa	2112	64
6-desoxi-L-talosa	2113	93
triacetato de 4-desoxifucosa	2134	49

Se seleccionaron tres análogos de fucosa para un análisis completo por SDS-PAGE/transferencia Western, para mostrar qué cambios en la señal de fucosa sobre la cadena pesada se pueden detectar mediante esta técnica. Los tres análogos seleccionados se usaron a una concentración de 50 μ M. Estos análisis compararon la actividad de la 2-fluorofucosa (SGD-2083), peracetato de 2-fluorofucosa (SGD-2084), y peracetato de alquiniil fucosa (SGD-1890) con anticuerpos procedentes de células no tratadas. El uso de peracetato de alquiniilfucosa produjo IgG que no mostraban reactividad con la AOL biotinilada, confirmando que los cambios en la señal de AOL se pueden detectar por este procedimiento, mientras que 2-fluorofucosa (SGD-2083) y peracetato de 2-fluorofucosa (SGD-2084) no mostraron cambios aparentes en la señal de AOL. Estos resultados son generalmente coherentes con los resultados de estos compuestos mostrados en la Tabla 4.

Muchos de los análogos de fucosa analizados en la Tabla 4 parecieron disminuir la fucosilación de los anticuerpos producidos por las células de mieloma humano. Las transferencias de puntos de los compuestos mostraron que 10 de ellos eran potencialmente fuertes inhibidores de la fucosilación de la IgG en células humanas, usando la disminución en la señal AOL como una indicación de la inhibición. Estos análogos de fucosa son peracetato de alquiniil fucosa (SGD-1890), tetrapropionato de alquiniilfucosa (SGD-2010), triacetato de 1-metilfucosa (SGD-2039), tetraacetato de 5-etilfucosa (SGD-1989), tetraacetato de 6-fluorofucosa (SGD-1988), tetraacetato de 6-bromofucosa (SGD-1969), tetraacetato de 6'-difluorofucosa (SGD-2046), tetraacetato de 6-ceto-6-etilfucosa (SGD-2067), tetraacetato de 5-epoxifucosa (SGD-2020), y tetraacetato de 5-metilvetofucosa (SGD-1964).

Para definir adicionalmente los resultados de la transferencia de puntos con AOL, las muestras de las IgG producidas por las células tratadas con los siguiente análogos de fucosa (que proporcionaron disminuciones de moderadas a intensas en la señal de AOL) se aislaron y se examinaron mediante la reducción de PLRP-MS para comprobar el estado de fucosilación usando el MW de la cadena pesada: peracetato de alquiniilfucosa; tetraacetato de 5-vinilfucosa; tetraacetato de 5-metilcetofucosa; tetraacetato de 6-bromofucosa; tetraacetato de 6-fluorofucosa; tetraacetato de 5-etilfucosa; tetraacetato de 5-epoxifucosa; tetraacetato de 6'-difluorofucosa; tetraacetato de 6-ceto-6-etilfucosa; y peracetato de 2-fluorofucosa.

Muestras de 40 ml de células LP-1 (250.000 células/ml) se trataron con 100 μ M de un análogo de fucosa durante 5 días, como se ha descrito anteriormente, y las IgG se purificaron como se ha descrito usando una resina de proteína A. Los rendimientos se estimaron mediante espectroscopía UV suponiendo un coeficiente de extinción de 1,4 UA/(mg/ml). Siete de los diez compuestos proporcionaron suficiente IgG para realizar el análisis (el uso de SGD-2067, SGD-1964, y SGD-2020 produjo <10 μ g de IgG, probablemente debido a la toxicidad de los análogos de las células). Las restantes IgG se redujeron con DTT 10 mM a 37 °C durante 15 min y se separaron sobre PLRP seguido por análisis de EM usando un espectrómetro de masas QTOF. Los picos de la cadena pesada resultantes se examinaron y se compararon con la IgG generada por las células sin tratar.

En la Tabla 5 se muestran los resultados de la espectrometría de masas (a continuación). Las señales de espectrometría de masas se evaluaron por comparación de la altura de picos de la cadena pesada con la cadena pesada menos la fucosa y la cadena pesada menos la fucosa más la masa del análogo de fucosa (que se produciría si hubiera incorporación del análogo en el carbohidrato del anticuerpo). Cuatro de los diez compuestos analizados eran inhibidores totales o parciales de la 1,6-fucosilación del anticuerpo. El peracetato de alquiniil fucosa (SGD-1890) proporcionó una inhibición completa, mientras que el peracetato de 2-fluorofucosa (SGD-2084) fue el siguiente mejor con un 70 % de inhibición, seguido del tetraacetato de 6'-difluorofucosa (SGD-2046) y el tetraacetato de 6-bromofucosa (SGD-1969) con -33 y 20 % de inhibición mezclada con la incorporación del análogo en el carbohidrato.

Tabla 5.

Resultados de PLRP-MS vs. transferencia de puntos para la IgG generada por LP-1		
Número SGD	PLRP/MS (inhibición o incorporación)	resultados de la transferencia de puntos, (% de señal de fucosa del control)
Sin tratar	Control	100
SGD-1890	Inhibidor total	~ 1
SGD-1922	Incorporador total	2
SGD-1964	No determinado	5

(continuación)

SGD-1969	Incorporador parcial e inhibidor de fucosa al 20 %	1
SGD-1988	Incorporador total	15
SGD-1989	Totalmente incorporado	11
SGD-2020	No determinado	5
SGD-2046	Incorporador parcial e inhibidor de fucosa al 33 %	2
SGD-2067	No determinado	3
SGD-2084	Inhibidor al 70 %	52

Ejemplo 5: Efectos de los análogos de fucosa sobre la fucosilación de proteínas

5 Los efectos de los cuatro inhibidores de parciales a totales, peracetato de alquiniil fucosa (SGD-1890), peracetato de 2-fluorofucosa (SGD-2084), tetraacetato de 6'6-difluorofucosa (SGD-2046), y tetraacetato de 6-bromofucosa (SGD-1969), sobre la fucosilación de proteínas de la superficie celular se sometió a ensayo en células de cáncer humano mediante la incubación de cinco líneas de células de cánceres de origen humano (Caki-1, OC-3, Ramos, LS174t, y HL60cy). Se usaron 100 µM de cada inhibidor en condiciones de cultivo convencionales durante aproximadamente 1-2 semanas con cambios regulares de medio de cultivo que incluía inhibidor nuevo. Después del período de incubación, las células se analizaron mediante FACS usando cuatro reactivos de detección diferentes: Aglutinina A de *Lens culinaris* biotilada (LCA), anticuerpo dirigido contra Lewis^x (anti-SSEA1), un anticuerpo dirigido contra Lewis^y (cBR96), y una proteína de fusión P-selectina/CD62P/Fc recombinante humana. El procedimiento implicó el lavado de las células con tampón FACS (PBS + albúmina de suero bovino al 10 % + azida de sodio al 0,02 %) 3 veces, seguido por incubación con el reactivo de detección primario durante 1 h a 4 °C, seguido por 3 lavados con tampón FACS y después incubación con el reactivo de detección secundario durante 1 h a 4 °C. Finalmente, las células se lavaron con tampón FACS 3 veces y se resuspendieron en tampón FACS y se examinaron usando un instrumento FACS BD. El reactivo LCA reconoce secuencias que contienen restos manosa con enlace α y su afinidad está notablemente potenciada por restos fucosa con enlace α unidos a la porción de N-acetilquitobiosa del oligosacárido del núcleo. La proteína, de fusión de P-selectina detecta el ligando P-selectina presente sobre la superficie de las células, una interacción que implica al epítipo sialil Lewis^x presente en el ligando P-selectina.

10

15

20 Todas las líneas de células examinadas mostraron tinción con el reactivo LCA, que reconoce secuencias que contienen restos de manosa con enlace α, cuya afinidad está notablemente potenciada por restos de fucosa con enlace α unidos a la porción de N-acetilquitobiosa del oligosacárido del núcleo. La detección LCA de este epítipo del azúcar disminuyó después del tratamiento de las células con todos los inhibidores (100 µM). Esto sugiere que la presencia global de fucosa sobre la superficie celular se ve afectada por el tratamiento con los seis análogos de fucosa examinados.

25

La **Figura 7** muestra los resultados de estos estudios. Para Lewis^x, de las líneas de células examinadas, solamente LS 1745t y HL60cy sin tratar mostraron una detección significativa de Lewis^x sobre la superficie de las células (tinción con anti-SSEA1) (**Figura 7A**). La detección con anti-SSEA1 de esta estructura disminuyó significativamente después del tratamiento de las células con todos los análogos de fucosa (100 µM).

30 Para Lewis^y, de las líneas de células examinadas, solamente LS1745t y HL60cy sin tratar mostraron una detección significativa de Lewis Y sobre la superficie de las células (tinción con cBR96) (**Figura 7B**). La detección con cBR96 de esta estructura disminuyó significativamente después del tratamiento de las células con todos los análogos de fucosa (100 µM).

35 Para P-selectina, de las líneas de células examinadas, solamente HL60cy sin tratar mostró una detección significativa del ligando P-selectina sobre la superficie de las células. La detección de este ligando disminuyó en cierta medida después del tratamiento de las células con todos los análogos de fucosa, salvo para el peracetato de alquiniilfucosa (SGD-1890) (100 µM) (**Figura 7C**). Las células Ramos sin tratar mostraron poco ligando P-selectina; sin embargo, después del tratamiento con los análogos de fucosa, la señal de este ligando aumentó. Esto es inusual, y no se había observado con el tratamiento anterior de estas células con 2-fluorofucosa (SGD-2083) o alquiniilfucosa (SGD-1887).

40

Los resultados sugieren que el tratamiento con estos análogos de fucosa pueden alterar la presencia de fucosa sobre la superficie de las células de una forma general y, también de forma específica, la fucosilación de las modificaciones Lewis X y Lewis Y sobre la superficie de la célula y el sialil LewisX presente en el ligando P-selectina.

Ejemplo 6: Leucocitosis y disminución de la unión de E-selectina después de la dosificación oral de 2-fluorofucosa

45 Los efectos de un análogo de fucosa sobre la leucocitosis y la unión a E-selectina se estudiaron en ratones. Ratones Balb/c hembra recibieron 2-fluorofucosa (SGD-2083) por vía oral en el agua de bebida o se dejaron sin tratamiento.

Se extrajo sangre de los ratones antes de la dosificación, y después semanalmente durante tres semanas para evaluar el número de células en circulación y su capacidad para unirse a E-selectina. En un estudio, 2-fluorofucosa se formuló a 1 mM, 10 mM o 100 mM en el agua de bebida (n=3 por grupo). El día 14, los ratones se trataron con el adyuvante TiterMAX® Classic (Sigma) para estimular la producción de anticuerpos policlonales no específicos de antígeno mediante los linfocitos B, y permanecieron con el agua de bebida que contenía 2-fluorofucosa hasta el día 21. En un segundo estudio, los ratones recibieron 2-fluorofucosa por vía oral formulada a 10 mM y 100 mM en el agua de bebida durante tres semanas, con exclusión de cualquier otro tratamiento (n=6). En el día 21, una combinación de ganglios linfáticos (axilar, braquial, de la superficie inguinal, y mesentérico) de cada uno de los tres animales se evaluó además de la sangre. Los ganglios linfáticos se homogeneizaron en suspensiones monocelulares, y la cantidad total de células se determinó por recuento en un hemocitómetro, usando Trypan Blue par la exclusión de células muertas. Para determinar la cantidad total de glóbulos blancos/ μ l sangre, muestras de sangre de animales individuales se contaron en un hemocitómetro, usando solución de Turk (violeta de genciana al 0,01 % en ácido acético al 3 %) para excluir los glóbulos rojos (RBC). Los RBC se eliminaron del resto de la sangre mediante lisis osmótica para realizar análisis de citometría de flujo. Las células se incubaron con anticuerpos dirigidos contra Gr-1-FITC (BD Biosciences) para identificar neutrófilos, y una proteína de fusión selectina-E-Fc recombinante humana (R&D Systems). Las células se lavaron, y posteriormente se incubaron con un anticuerpo secundario de cabra marcado con PE dirigido contra IgG-Fc (Jackson Immunoresearch) para detectar la E-selectina unida. Las muestras se recogieron en un citómetro de flujo FACSCalibur y se analizaron con el programa informático Cell Quest. Se determinó el porcentaje de células Gr-1+, y la cantidad absoluta de neutrófilos se calculó usando el número total de glóbulos blancos derivada del recuento con el hemocitómetro. Además, las muestras de flujo se clasificaron según células Gr-1+ para evaluar la unión de E-selectina a neutrófilos mediante análisis de histograma. La media geométrica de la señal fluorescente de E-selectina se determinó a partir del histograma.

Resultados

Los resultados de las **Figuras 5A y 5B** muestran que la administración oral de 2-fluorofucosa (SGD-2083) dio como resultado un aumento de glóbulos blancos y neutrófilos en circulación, de una manera dependiente de la dosis. 2-fluorofucosa administrada a 1 mM tuvo muy poco efecto, mientras que se observó un efecto creciente con dosis crecientes de 10 mM y 100 mM de 2-fluorofucosa. Los datos mostrados en las **Figuras 5A y 5B** son del primer estudio, día 14. Se obtuvieron resultados similares para los días 7 y 21 en el primer estudio, así como para los días 7, 14, y 21 en el segundo estudio (no se muestran los datos). Los ganglios linfáticos también se evaluaron el día 21 del segundo estudio, y la **Figura 5C** muestra que la administración oral de 2-fluorofucosa da como resultado una notable disminución de la celularidad en los ganglios linfáticos. El efecto fue más acusado a 100 mM en comparación con 10 mM.

La administración oral de 2-fluorofucosa también da como resultado una disminución en la unión de E-selectina a los neutrófilos (**Figura 6**). Los efectos de los análogos de fucosa también fue dependiente de la dosis, donde 1 mM tuvo poco efecto, y 10 mM y 100 mM tuvieron efectos crecientes (**Figuras 5B y 5C**).

Los aumentos observados en los glóbulos blancos y neutrófilos en circulación (leucocitosis) es consistente con una inhibición de la unión de E-selectina a neutrófilos. E-selectina media la extravasación de los glóbulos blancos hacia la periferia y los ganglios linfáticos, y la inhibición de la unión de E-selectina (mediante la inhibición de la fucosilación) también reduciría la extravasación y daría como resultado la acumulación de glóbulos blancos en la sangre. Estos resultados sugieren que los análogos de fucosa que inhiben la fucosilación de proteínas y en particular, la fucosilación de E-selectina, pueden actuar para inhibir la auto inmunidad.

Ejemplo 7: Inhibición del crecimiento tumoral mediante la administración de análogos de fucosa

Estudio 1

Líneas celulares de procedencia humana se evaluaron para determinar su susceptibilidad al análogo de fucosa 2-fluorofucosa *in vitro*. Las líneas de células fueron: LS174T adenocarcinoma de colon, OC-3 adenocarcinoma de colon, HL-60 leucemia mielógena aguda, Ramos Linfoma de Burkitt, y Caki-1 carcinoma de células renales. Las líneas de células se cultivaron en presencia de 2-fluorofucosa (SGD-2083) 100 μ M en medio de cultivo, alquiniifucosa (SGD-1887) 100 μ M en medio de cultivo, o medio de cultivo de control (sin análogos de fucosa) durante dos semanas. Los medios de crecimiento fueron MEM Eagle con FBS al 10 % (LS174T), 50:50 F12 y RPMI con FBS al 10 % (OC-3), RPMI con FBS al 10 % (HL-60), IMDM con FBS al 10 % (Ramos), y McCoy con FBS al 10 % (OC-3). Las células se evaluaron para determinar la fucosilación de la superficie celular mediante FACS usando el anticuerpo cBR96 para detectar LewisY, anticuerpo SSEA-1 para detectar LewisX, ligando P-selectina para detectar P-selectina, y lectina AOL para detectar el nivel de fucosilación general.

Resultados:

Los resultados de la evaluación por FACS revelaron niveles variables de proteínas de la superficie celular fucosiladas sobre las diferentes líneas de células (no se muestran los datos). 2-fluorofucosa (SGD-2083) fue en general un mejor inhibidor de la fucosilación de proteínas que la alquiniifucosa (SGD-1887).

Estudio 2

Para evaluar adicionalmente la actividad de estos análogos de fucosa, se realizaron estudios adicionales *in vivo* usando células tumorales que se habían tratado previamente por cultivo en presencia de un análogo de fucosa, o usando células tumorales sin tratar. Las células tumorales se implantaron en 10 ratones por grupo de la siguiente forma. Para las líneas de células LS174T, OC-3, y Caki-1, 5×10^5 células en Matrigel al 25 % se implantaron de forma subcutánea en ratones atímicos hembra. Para las líneas de células HL-60 y Ramos, 5×10^6 células se implantaron de forma subcutánea en ratones SCID hembra. Para los ratones con implante de células tumorales sin tratar, los ratones recibieron agua de bebida normal. Para los ratones con implante de células tumorales pretratadas con 2-fluorofucosa (SGD-2083), los ratones recibieron agua de bebida suplementada con 2-fluorofucosa (SGD-2083) 20 mM. Para los ratones con implante de células tumorales pretratadas con alquiniifucosa (SGD-1887), los ratones recibieron agua de bebida normal. Los ratones no bebieron agua que contenía alquiniifucosa.

Después de 3 semanas de recibir agua de bebida que contenía 2-fluorofucosa, los ratones volvieron al agua de bebida normal, salvo los ratones con tumores Caki-1. Estos últimos ratones volvieron al agua de bebida normal durante una semana. Tras la semana de recibir agua normal, los ratones se aleatorizaron a dos grupos de 5 ratones cada uno para recibir agua de bebida suplementada con 2-fluorofucosa 20 mM o bien agua de bebida normal. Los ratones se sacrificaron cuando los tumores alcanzaron aproximadamente 1000 mm^3 .

En referencia a la **Figura 8A-E**, se observó inhibición del crecimiento tumoral *in vivo* para las células LS174T, OC-3, y Caki-1 tratadas con 2-fluorofucosa (SGD-2083). No se observaron cambios en el crecimiento tumoral para las células HL-60 y Ramos. Para Caki-1, no se observó inhibición del crecimiento tumoral durante el primer periodo de tratamiento, pero se observó una vez que los ratones volvieron al tratamiento con 2-fluorofucosa. Para el resto de líneas de células, la inhibición del crecimiento tumoral pareció comenzar cuando el tamaño del tumor había alcanzado aproximadamente 150 mm^3 . Los tumores Caki-1 de crecimiento lento no alcanzaron este punto hasta el segundo periodo de tratamiento con 2-fluorofucosa (SGD-2083). Estos resultados indican que el tratamiento con análogos de fucosa puede inhibir el crecimiento tumoral.

Estudio 3

En un tercer estudio, las células tumorales se implantaron sin tratamiento anterior con un análogo de fucosa. Células de adenocarcinoma de colon LS174T (5×10^5 células en Matrigel al 25 %) se implantaron de forma subcutánea en ratones atímicos hembra. Los ratones recibieron 2-fluorofucosa (SGD-2083) 50 mM en su agua de bebida desde 7 días antes del implante hasta 21 días después del implante, o recibieron agua de bebida normal.

Resultados

En referencia a la **Figura 8F**, los ratones que recibieron 2-fluorofucosa (SGD-2083) 50 mM en su agua de bebida mostraron una notable inhibición del crecimiento tumoral, consiguiendo un tamaño del tumor promedio de 110 mm^3 versus 734 mm^3 para los ratones que recibieron agua de bebida normal. En su conjunto, estos resultados sugieren que la administración de un análogo de fucosa puede inhibir el crecimiento tumoral.

Ejemplo 8: Modelo de vacuna tumoral

Ratones Balb/c hembra se inmunizaron mediante implante subcutáneo de 1 millón de células de linfoma murino A20 (destruidas mediante irradiación) en el día -21 y día -7. Otro grupo de ratones no recibió ninguna inmunización. En el día 0, todos los ratones se inocularon iv con 1,5 o 5 millones de células A20 vivas. En los días -14 y +21, los ratones recibieron 2-fluorofucosa (SGD-2083) 50 mM en su agua de bebida o recibieron agua de bebida normal. Los 8 grupos de tratamiento fueron los siguientes:

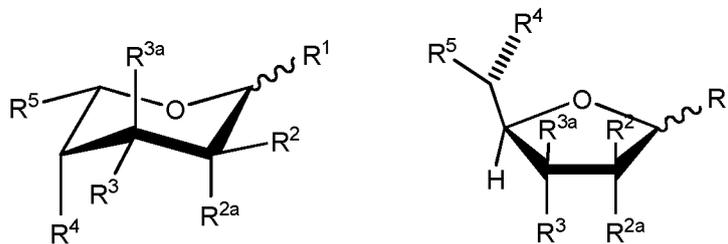
1. Sin inmunización, 1,5 millones de células A20 vivas, agua de bebida normal
2. Sin inmunización, 5 millones de células A20 vivas, agua de bebida normal
3. Sin inmunización, 1,5 millones de células A20 vivas, SGD-2083 50 mM en su agua de bebida
4. Sin inmunización, 5 millones de células A20 vivas, SGD-2083 50 mM en su agua de bebida
5. Inmunizados, 1,5 millones de células A20 vivas, agua de bebida normal
6. Inmunizados, 5 millones de células A20 vivas, agua de bebida normal
7. Inmunizados, 1,5 millones de células A20 vivas, SGD-2083 50 mM en su agua de bebida
8. Inmunizados, 5 millones de células A20 vivas, SGD-2083 50 mM en su agua de bebida

Resultados

En referencia a la **Figura 9A**, se muestra el diseño del estudio. En referencia a la **Figura 9B**, los ratones que no recibieron ninguna inmunización sucumbieron al estímulo con células A20 vivas en los días 22-35. Los ratones que recibieron 2-fluorofucosa (SGD-2083) sobrevivieron unos pocos días más que los que recibieron agua de bebida normal. Dos ratones inmunizados con 5 millones de células A20 destruidas y que recibieron agua de bebida normal sucumbieron al estímulo con células A20 vivas. Todos los ratones que recibieron inmunización y 2-fluorofucosa (SGD-2083) en su agua de bebida seguían vivos en el momento de recogida de datos.

REIVINDICACIONES

1. Un análogo de fucosa seleccionado del grupo que consiste en una de las siguientes fórmulas (V) o (VI):



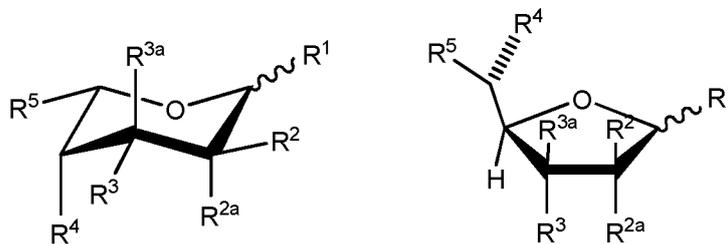
(V)

(VI)

5 o una de sus sales o solvatos biológicamente aceptables, en la que cada fórmula (V) o (VI) puede ser un anómero alfa o beta o la correspondiente forma de aldosa; en las que

10 cada uno de R^1 , R^3 y R^4 se seleccionan independientemente del grupo que consiste de -OH, -OC(O)H, -OC(O)alquilo C_1-C_{10} , -OC(O)alqueno C_2-C_{10} , -OC(O)alquino C_2-C_{10} , -OC(O)arilo, -OC(O)heterociclo, -OC(O)alqueno C_1-C_{10} (arilo), -OC(O)alqueno C_2-C_{10} (arilo), -OC(O)alquino C_2-C_{10} (arilo), -OC(O)alqueno C_1-C_{10} (heterociclo), -OC(O)alqueno C_2-C_{10} (heterociclo), -OC(O)alquino C_2-C_{10} (heterociclo), -OCH₂OC(O)alquilo, -OCH₂OC(O)Oalquilo, -OCH₂OC(O)arilo, -OCH₂OC(O)Oarilo, -OC(O)CH₂O(CH₂CH₂O)_nCH₃, -OC(O)CH₂CH₂O(CH₂CH₂O)_nCH₃, -O-tri-alquilsililo C_1-C_3 , -Oalquilo C_1-C_{10} , en la que cada n es un número entero que se selecciona independientemente entre 0-5; R^2 es F, R^{2a} y R^{3a} son cada uno H, y R^5 es -CH₃; para su uso en el tratamiento o la profilaxia del cáncer.

15 2. El análogo de fucosa para su uso en el tratamiento o la profilaxia del cáncer de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el análogo de fucosa se selecciona del grupo que consiste en una de las siguientes fórmulas (III) o (IV):



(III)

(IV)

o una de sus sales o solvatos biológicamente aceptables, en la que cada fórmula (III) o (IV) puede ser un anómero alfa o beta o la correspondiente forma de aldosa; en las que

20 cada uno de R^1 , R^3 y R^4 se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste de OH y -OC(O)alquilo C_1-C_{10} ; R^2 es F, R^{2a} y R^{3a} son cada uno H, y R^5 es -CH₃.

3. El análogo de fucosa para su uso en el tratamiento o la profilaxia del cáncer de acuerdo con la reivindicación 1, en la que cada uno de R^1 , R^3 y R^4 se selecciona independientemente entre -OH y -OAc.

4. El análogo de fucosa para su uso en el tratamiento o la profilaxia del cáncer de acuerdo con la reivindicación 1 en el que dicho análogo de fucosa es 2-desoxi-2-fluorofucosa.

25 5. El análogo de fucosa para su uso en el tratamiento o la profilaxia del cáncer de acuerdo con la reivindicación 1 en el que dicho análogo es peracetato de 2-desoxi-2-fluorofucosa.

6. El análogo de fucosa para su uso en el tratamiento o profilaxia del cáncer de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores formulado para su administración oral a un mamífero.

30 7. El análogo de fucosa para su uso en el tratamiento o profilaxia del cáncer de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores formulado para su administración oral a un ser humano.

8. El análogo de fucosa para su uso en el tratamiento o profilaxia del cáncer de acuerdo con la reivindicación 1 en el que el tratamiento o la profilaxia del cáncer comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz del análogo de fucosa y un agente quimioterapéutico.

9. El análogo de fucosa para su uso en el tratamiento o la profilaxia del cáncer de acuerdo con la reivindicación 8, en el que el agente quimioterapéutico se selecciona del grupo que consiste en agentes alquilantes, mostazas de nitrógeno (ciclofosfamida, ifosfamida, trofosfamida, clorambucilo), nitrosoureas (carmustina (BCNU), lomustina (CCNU), alquilarilsulfonato (busulfano, treosulfano), triazenos (dacarbazina), compuestos que contienen platino (cisplatino, oxaliplatino, carboplatino), alcaloides vegetales (alcaloides de la vinca - vincristina, Vinblastina, Vindesina, Vinorelbina), taxoides (paclitaxel, Docetaxol), inhibidores de la topoisomerasa del ADN, Epipodofilinas (etopósido, tenipósido, Topotecano, 9-aminocamptotecina, camptotecina), crisnatol, mitomicinas (Mitomicina C); antimetabolitos tales como antifolatos: inhibidores de DHFR: metotrexato, trimetrexato; inhibidores de la IMP deshidrogenasa: ácido micofenólico, tiazofurina, ribavirina, EICAR; inhibidores de la ribonucleótido reductasa: hidroxiaurea, deferoxamina; análogos de pirimidina: análogos de uracilo: 5-fluorouracilo, floxuridina, doxifluridina, ratitrexed; análogos de citosina: citarabina (araC), arabinósido de citosina, fludarabina; análogos de purina: mercaptopurina, tioguanina; terapias hormonales: antagonistas del receptor: antiestrógenos: Tamoxifeno, Raloxifeno, megestrol; agonistas de LHRH: goserclín, acetato de leuprolida; antiandrógenos: flutamida, bicalutamida; retinoides/deltoides: análogos de vitamina D3: EB 1089, CB 1093, KH 1060; Terapias fotodinámicas: vertoporfina (BPD-MA), Ftalocianina, Fotosensibilizador Pc4, demetoxi-hipocrelina A (2BA-2-DMHA); Citoquinas: interferón alfa, interferón gamma; factor de necrosis tumoral: Otros: inhibidores de la isoprenilación: lovastatina; neurotoxinas dopaminérgicas: ion 1-metil-4-fenilpiridinio; inhibidores del ciclo celular: estaurosporina; actinomicinas: Actinomicina D, Dactinomicina; bleomicinas: bleomicina A2, bleomicina B2, peplomicina; antraciclinas: daunorrubicina, doxorubicina (adriamicina), idarrubicina, epirubicina, pirarrubicina, zorrubicina, Mitoxantrona; inhibidores de MDR: verapamilo; e inhibidores de la Ca²⁺ ATPasa: taspigargina; taxol, L-asparaginasa, procarbizina, citoxano, irinotecano, plicamicina.

10. El análogo de fucosa para su uso en el tratamiento o la profilaxia del cáncer de acuerdo con la reivindicación 8, en el que el agente quimioterapéutico es un taxoide.

11. El análogo de fucosa para su uso en el tratamiento o profilaxia del cáncer de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el cáncer es fibrosarcoma, mixosarcoma, liposarcoma, condrosarcoma, sarcoma osteogénico, cordoma, angiosarcoma, endoteliosarcoma, linfangiosarcoma, linfoangioendoteliosarcoma, sinovioma, mesotelioma, tumor de Ewing, leiomiomasarcoma, rhabdomyosarcoma, cáncer de colon, cáncer colorrectal, cáncer de riñón, cáncer de páncreas, cáncer de hueso, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de próstata, cáncer de esófago, cáncer de estómago, cáncer oral, cáncer nasal, cáncer de garganta, carcinoma de células escamosas, carcinoma de células basales, adenocarcinoma, carcinoma de glándulas sudoríparas, carcinoma de glándula sebácea, carcinoma papilar, adenocarcinomas papilares, cistoadenocarcinoma, carcinoma medular, carcinoma broncogénico, carcinoma de células renales, hepatoma carcinoma del conducto biliar, coriocarcinoma, seminoma, carcinoma embrionario, tumor de Wilm, cáncer de cuello de útero, cáncer de útero, cáncer testicular, carcinoma de pulmón microcítico, carcinoma de vejiga, cáncer broncopulmonar, carcinoma epitelial, glioma, glioblastoma, astrocitoma multiforme, meduloblastoma, craneofaringioma, ependimoma, pinealoma, hemangioblastoma, neuroma acústico, oligodendroglioma, meningioma, cáncer de piel, melanoma, neuroblastoma, retinoblastoma, leucemia linfoblástica aguda "LLA", leucemia linfoblástica aguda de linfocitos B, leucemia linfoblástica aguda de linfocitos T, leucemia mielógena aguda "AML", leucemia promielocítica aguda "APL", leucemia monoblástica aguda, leucemia eritroleucémica aguda, leucemia megacarioblástica aguda, leucemia mielomonocítica aguda, leucemia no linfocítica aguda, leucemia aguda no diferenciada, leucemia mielocítica crónica "CML", leucemia linfocítica crónica "CLL", leucemia de células pilosas, mieloma múltiple, leucemias aguda y crónica (por ejemplo, leucemia linfoblástica mielógena y leucemia linfocítica mielocítica), enfermedad de Hodgkin, linfoma no de Hodgkin, mieloma múltiple, macroglobulinemia de Waldenström, Enfermedad de la cadena pesada, o policitemia vera.

12. El análogo de fucosa para su uso en el tratamiento o profilaxia del cáncer de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el cáncer es cáncer de mama, cáncer de pulmón, o carcinoma de células renales.

13. El análogo de fucosa para su uso en el tratamiento o profilaxia del cáncer de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores en el que el análogo de fucosa actúa para reducir la fucosilación de los glóbulos blancos en el suero del mamífero en al menos aproximadamente un 20 %.

14. El análogo de fucosa para su uso en el tratamiento o profilaxia del cáncer de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores en el que el análogo de fucosa actúa para reducir la fucosilación de los glóbulos blancos en el suero del mamífero en al menos aproximadamente un 50 %.

15. El análogo de fucosa para su uso en el tratamiento o profilaxia del cáncer de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores en el que el análogo de fucosa actúa para reducir la fucosilación de los glóbulos blancos en el suero del mamífero en al menos aproximadamente un 60 %.

16. El análogo de fucosa para su uso en el tratamiento o profilaxia del cáncer de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores en el que el análogo de fucosa actúa para reducir la fucosilación de las proteínas en al menos un 10 % para las proteínas de la superficie celular en el mamífero.

17. El análogo de fucosa para su uso en el tratamiento o profilaxia del cáncer de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores en el que el análogo de fucosa actúa para reducir la fucosilación de las proteínas en aproximadamente un 20 % para las proteínas de la superficie celular en el mamífero.
- 5 18. El análogo de fucosa para su uso en el tratamiento o profilaxia del cáncer de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores en el que el análogo de fucosa actúa para reducir la fucosilación de las proteínas en aproximadamente un 30 % para las proteínas de la superficie celular en el mamífero.
19. El análogo de fucosa para su uso en el tratamiento o profilaxia del cáncer de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores en el que el análogo de fucosa actúa para reducir la fucosilación de las proteínas en aproximadamente un 40 % para las proteínas de la superficie celular en el mamífero.
- 10 20. El análogo de fucosa para su uso en el tratamiento o profilaxia del cáncer de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores en el que el análogo de fucosa actúa para reducir la fucosilación de las proteínas en aproximadamente un 50 % para las proteínas de la superficie celular en el mamífero.
- 15 21. El análogo de fucosa para su uso en el tratamiento o profilaxia del cáncer de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores en el que el análogo de fucosa actúa para reducir la fucosilación de las proteínas en aproximadamente un 60 % para las proteínas de la superficie celular en el mamífero.
22. Una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento o la profilaxia del cáncer que comprende una cantidad eficaz terapéutica o profiláctica de un análogo de fucosa como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 21 y uno o más ingredientes farmacéuticamente compatibles.
- 20 23. La composición farmacéutica para su uso en el tratamiento o la profilaxia del cáncer de acuerdo con la reivindicación 22 formulada para su administración oral a un ser humano.

FIGURA 1

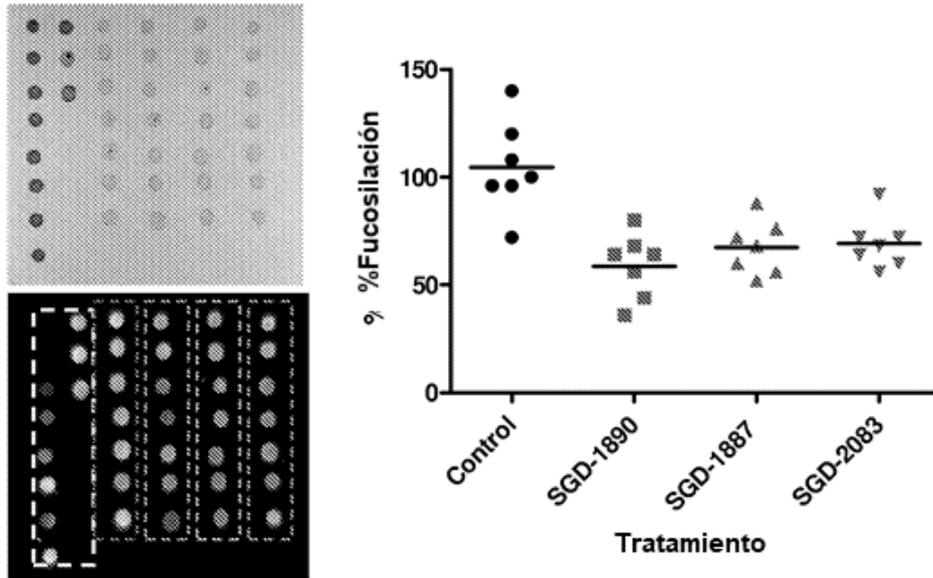


FIGURE 2

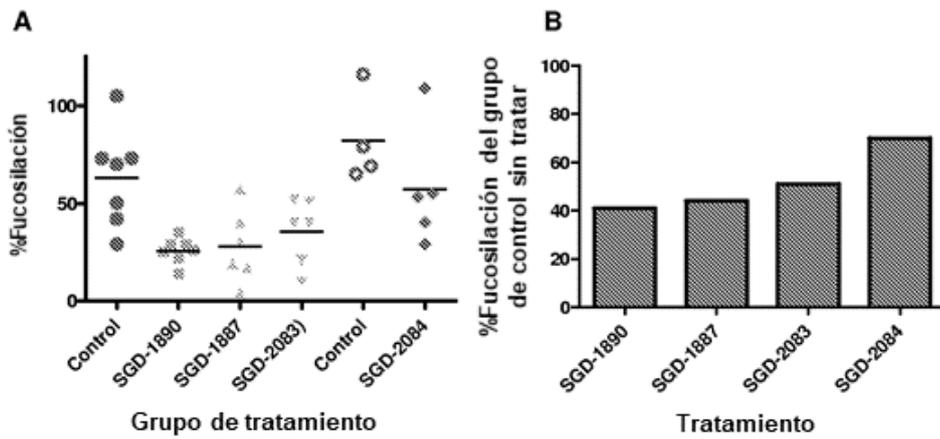


FIGURA 2

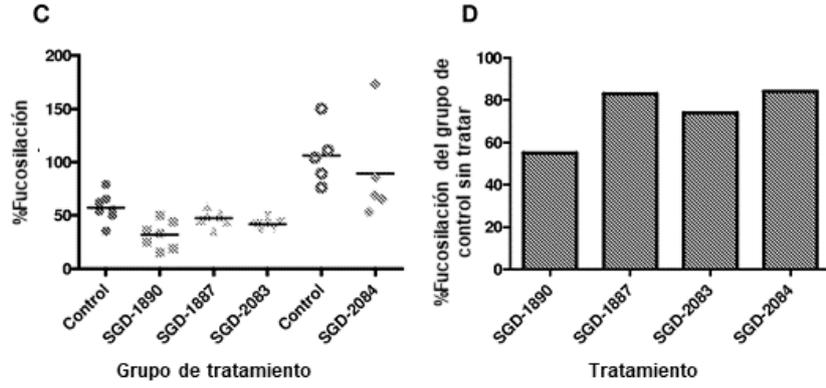


FIGURA 3

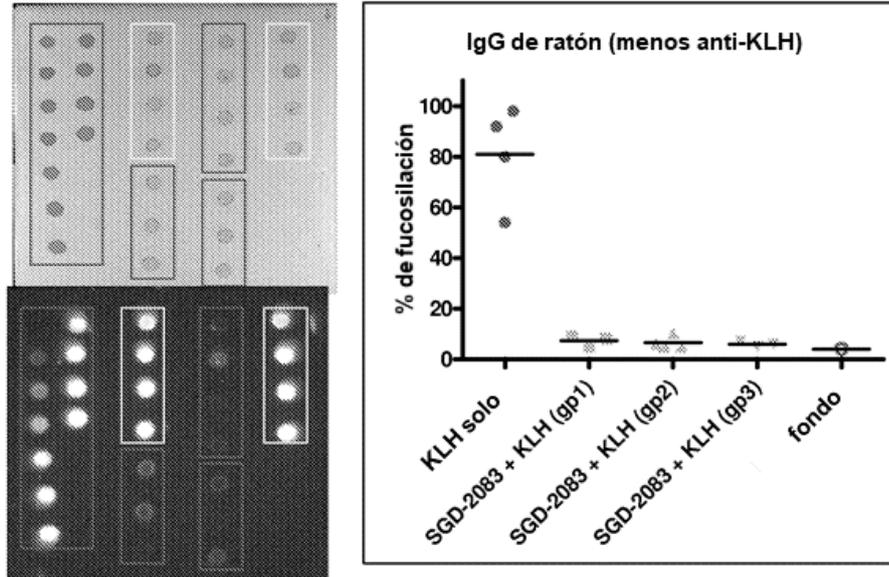


FIGURA 4

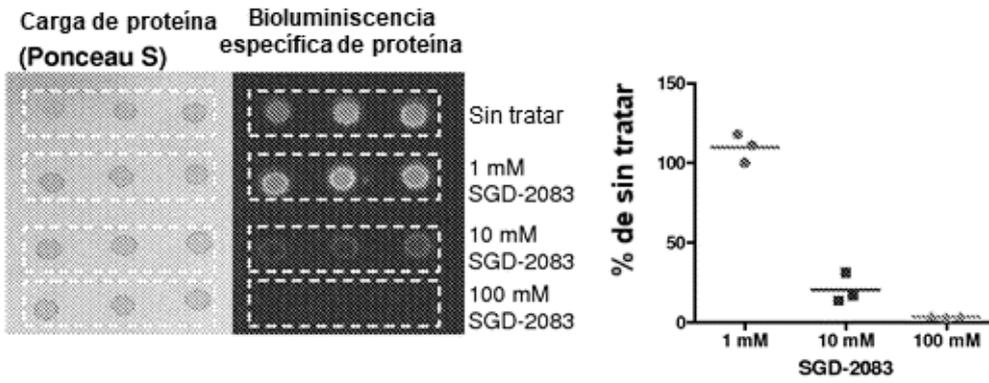


FIGURA 5

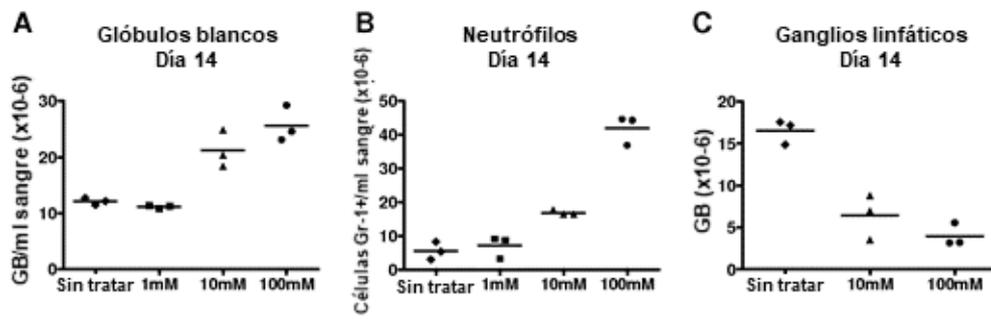


FIGURA 6

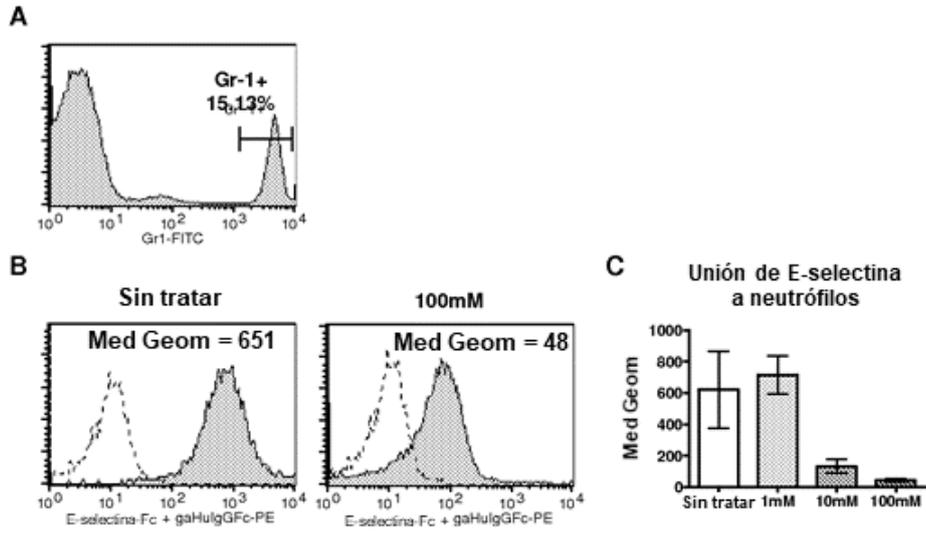


FIGURA 7

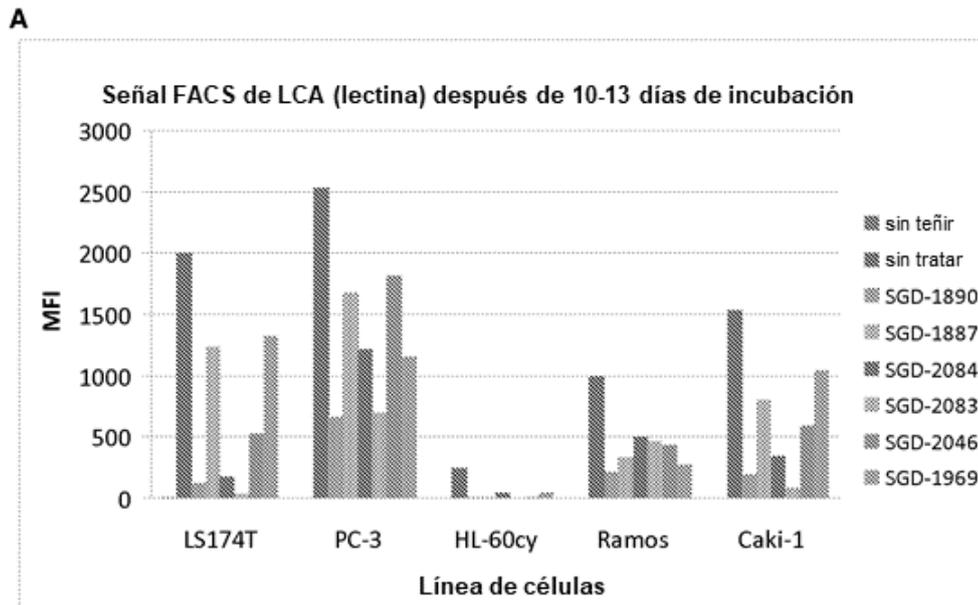
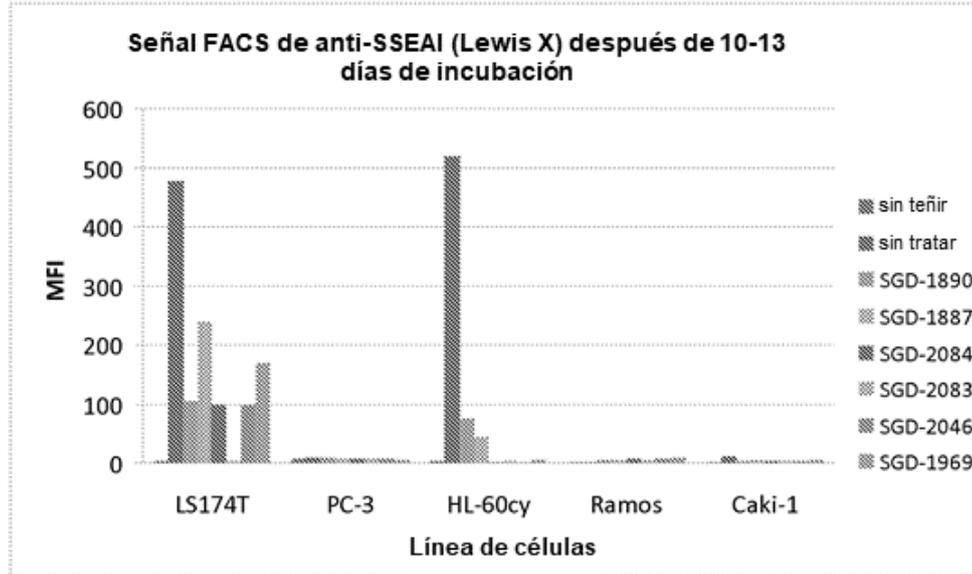


FIGURA 7

B



C

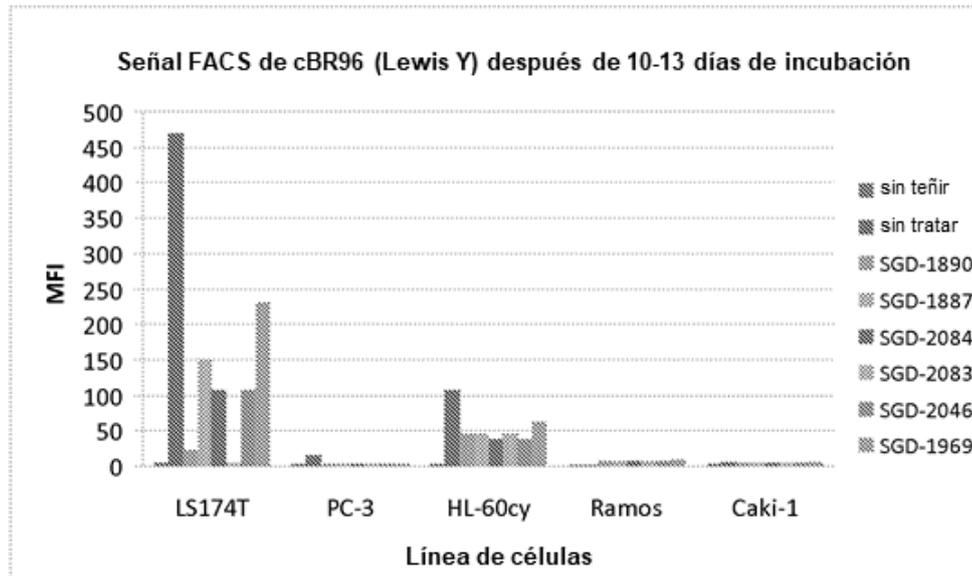


FIGURA 7

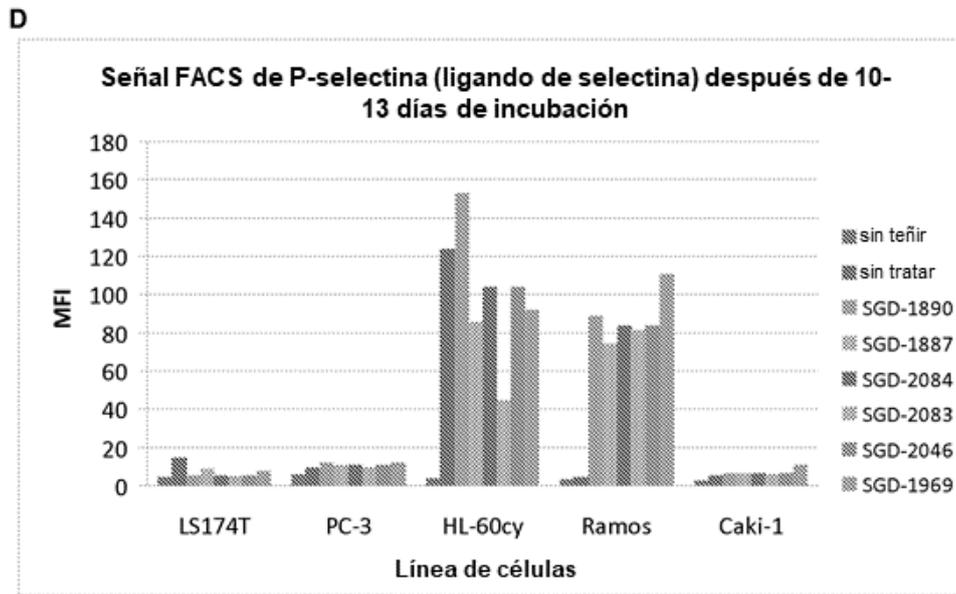


FIGURA 8

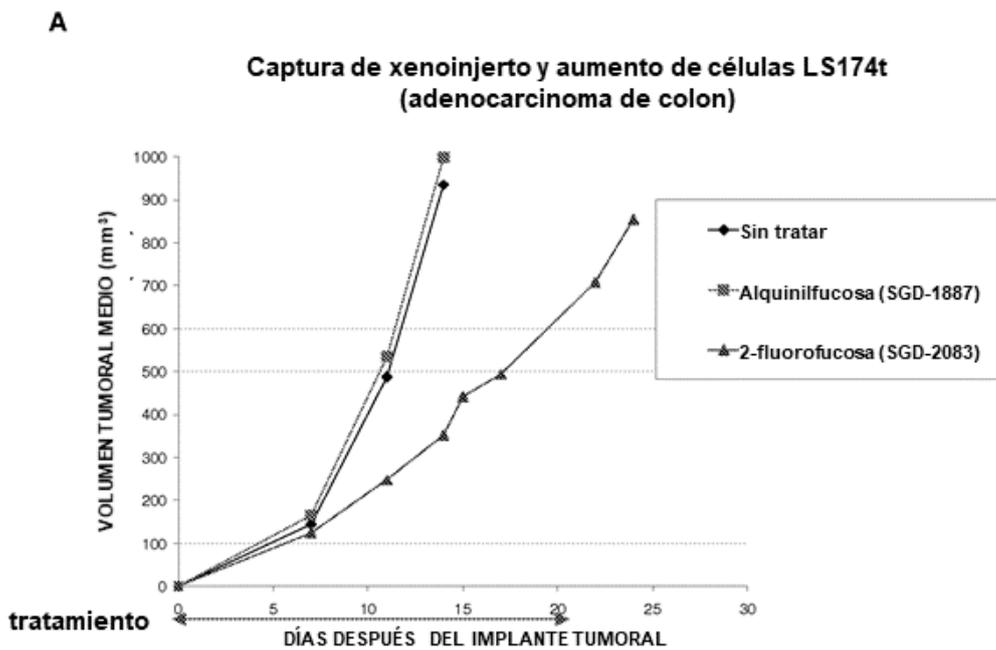
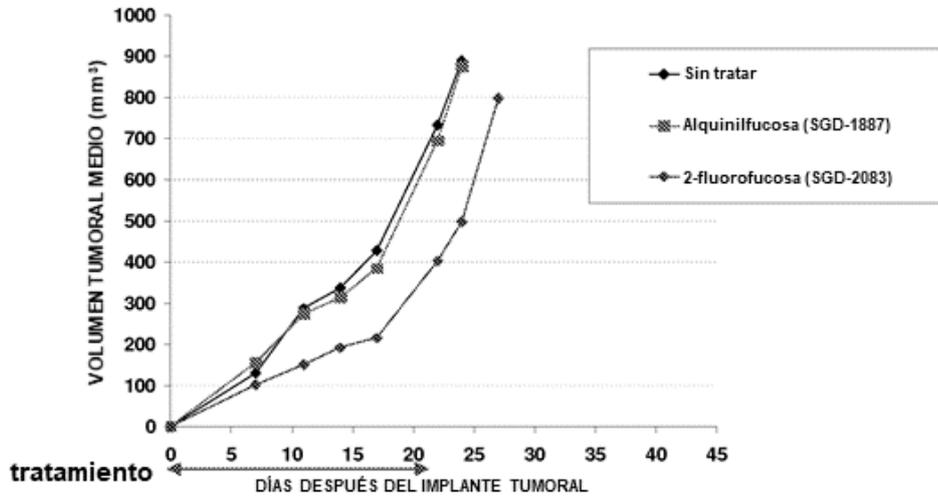


FIGURA 8

B

Captura de xenoinjerto y aumento de células PC3-dsmz (adenocarcinoma de próstata)



C

Captura de xenoinjerto y aumento de células HL60 (AML)

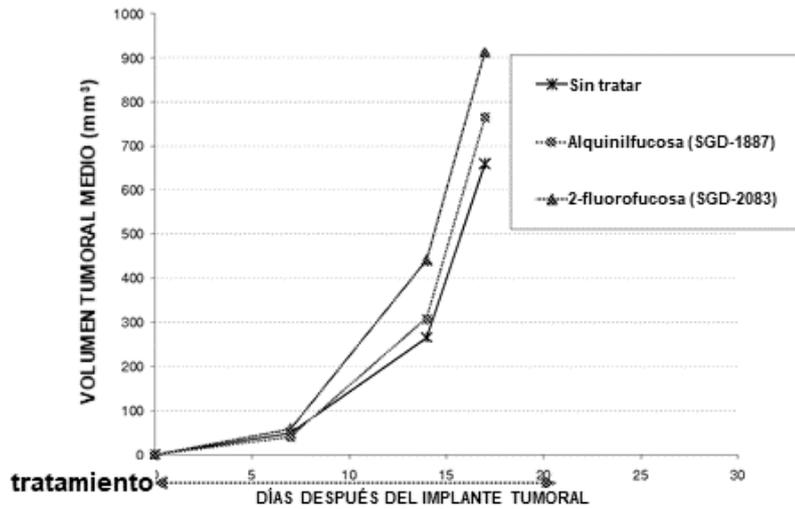
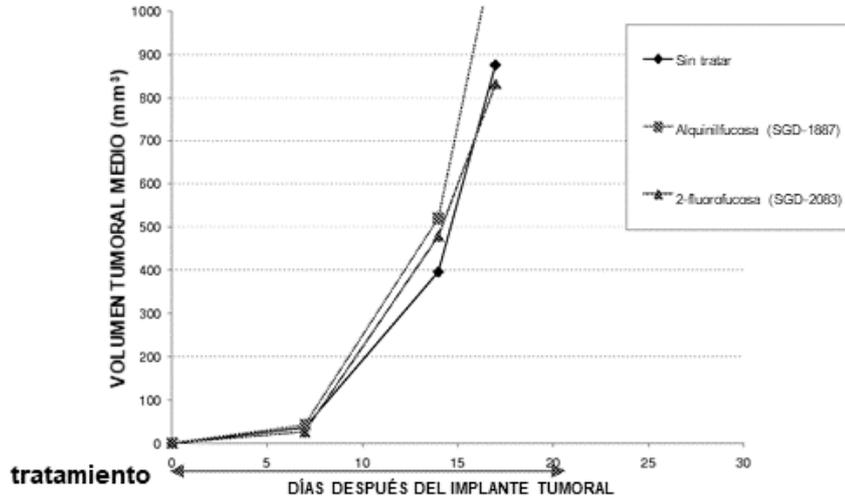


FIGURA 8

D

Captura de xenoinjerto y aumento de células Ramos (linfoma de Burkett)



E

Captura de xenoinjerto y aumento de células CaKi 1 (carcinoma de células renales)

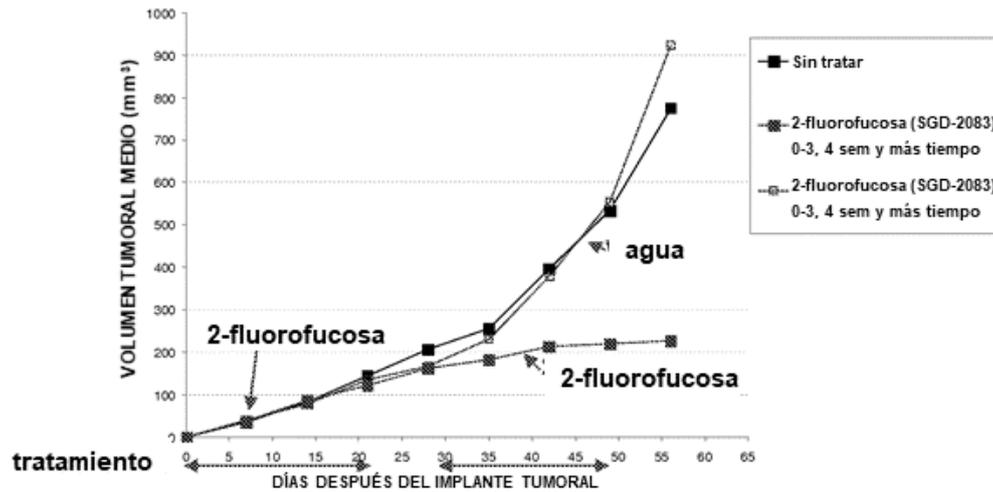


FIGURA 8

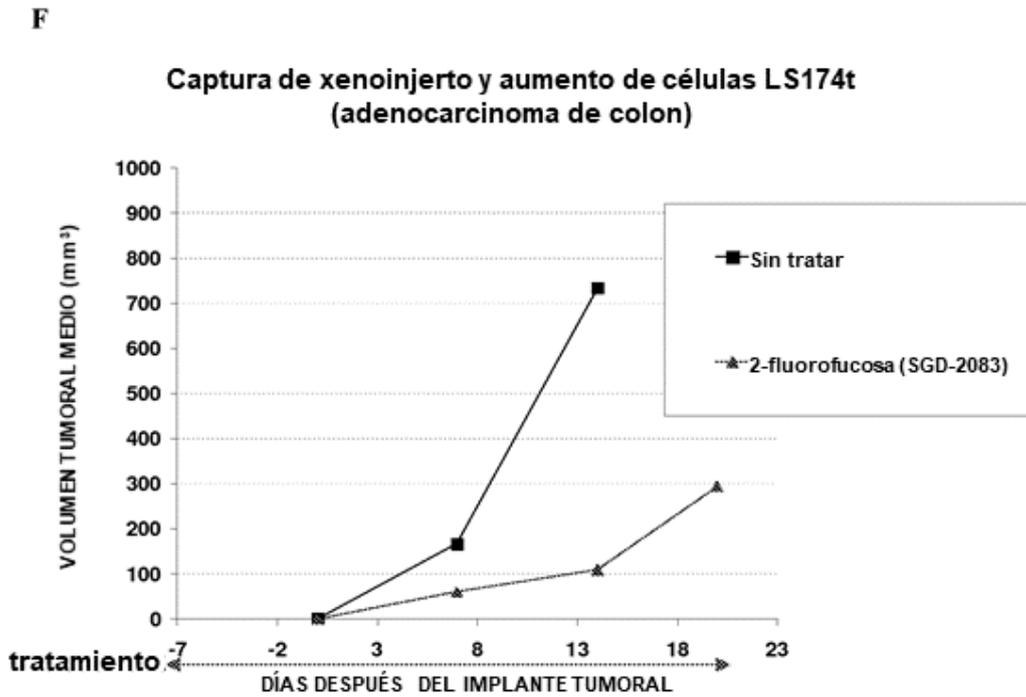


FIGURE 9

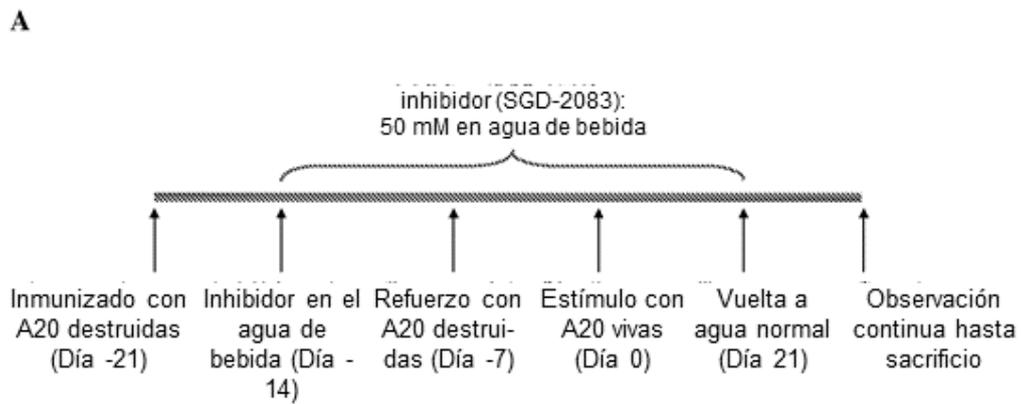


FIGURA 9

B

