

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 754 549**

51 Int. Cl.:

**C07H 15/207** (2006.01)

**C07H 15/26** (2006.01)

**A61K 31/7034** (2006.01)

**A61P 29/00** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

**A61P 35/04** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **01.12.2015 PCT/US2015/063191**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.06.2016 WO16089872**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.12.2015 E 15865762 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.07.2019 EP 3227310**

54 Título: **Inhibidores heterobifuncionales de E-selectinas y receptores de quimioquinas CXCR4**

30 Prioridad:

**03.12.2014 US 201462087085 P**

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

**20.04.2020**

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**MAGNANI, JOHN L.;  
SARKAR, ARUN K. y  
PETERSON, JOHN M.**

74 Agente/Representante:

**SALVÀ FERRER, Joan**

ES 2 754 549 T3

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

**DESCRIPCIÓN**

Inhibidores heterobifuncionales de E-selectinas y receptores de quimioquinas CXCR4

**5 CAMPO DE LA INVENCION**

Los compuestos, composiciones y procedimientos para tratar el cáncer y enfermedades inflamatorias y para aumentar la retención de las células después de la liberación en la sangre circulante se dan a conocer en el presente documento. Por ejemplo, se describen compuestos y composiciones heterobifuncionales que inhiben E-selectinas y receptores de quimioquinas CXCR4, y usos de los mismos.

**ANTECEDENTES DE LA INVENCION**

Un conjunto de cánceres son tratables antes de que el cáncer se haya movido más allá del sitio primario. Sin embargo, una vez que el cáncer se ha diseminado más allá del sitio primario, las opciones de tratamiento pueden ser limitadas y las estadísticas de supervivencia pueden disminuir drásticamente. Los huesos son un lugar común para que el cáncer se infiltre una vez deja la localización del tumor primario. El cáncer de mama y el cáncer de próstata son ejemplos de cánceres que migran a los huesos. Incluso las células leucémicas que surgen en el torrente sanguíneo pueden dirigirse a la médula ósea. Una vez que el cáncer reside en el hueso, puede causar dolor en un individuo. Además, una vez en la médula ósea, las células cancerosas pueden también llegar a ser resistentes a la quimioterapia. Además, si el hueso en particular afectado produce células sanguíneas en la médula ósea, el individuo puede desarrollar una variedad de trastornos relacionados con células sanguíneas. Por lo tanto, puede ser deseable evitar que las células cancerosas abandonen el sitio primario y/o evitar la extravasación de las células cancerosas del torrente sanguíneo y la infiltración en otros tejidos. La retención de las células cancerosas en el torrente sanguíneo hace que las células sean más susceptibles al tratamiento, tal como la quimioterapia.

Algunos cánceres se originan, todo o en parte, en el hueso. Para tales tipos de cáncer, puede ser deseable desplazar las células cancerosas desde la médula al torrente sanguíneo y/o evitar que esas células (así como las células cancerosas que ya están en el torrente sanguíneo) se desplacen al hueso o de otro modo salgan de la circulación sanguínea. La retención de las células cancerosas en el torrente sanguíneo (o la desplazamiento de las células cancerosas en el torrente sanguíneo y después la retención en el mismo) hace que las células sean más susceptibles a tratamiento, tal como la quimioterapia.

Las células madre hematopoyéticas (HSC) también residen en la médula ósea y son una fuente de material para la terapia celular. HSC se adhieren al estroma en la médula ósea y con el fin de recogerse se deben romper estas adherencias y desplazarse fuera de la médula ósea. Pueden ser deseables agentes mejorados para aumentar el número de HSC disponibles para la recogida. Tales HSC pueden ser útiles para el injerto.

Por consiguiente, existe una necesidad en la técnica para el tratamiento de cánceres que pueden abandonar el sitio primario y cánceres que se originan, todo o en parte, en el hueso, y para procedimientos mejorados para ayudar en la preparación de células madre de grado terapéutico. La presente descripción puede cumplir una o más de estas necesidades y/o puede proporcionar otras ventajas.

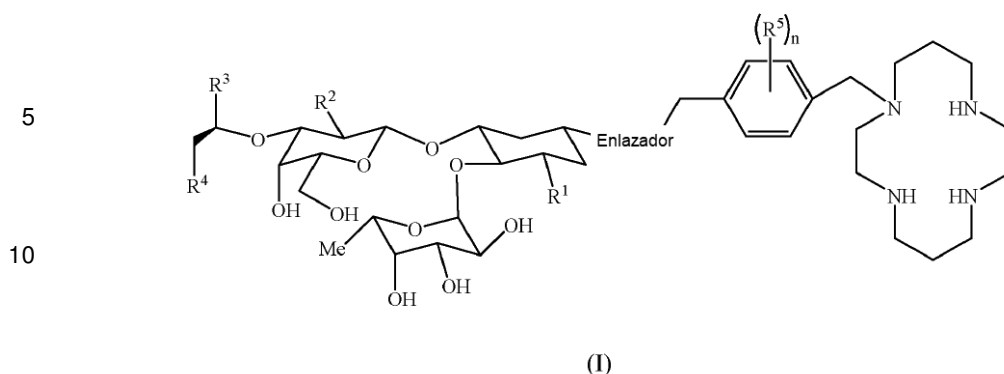
El documento WO 2010/126888 describe compuestos heterobifuncionales donde un inhibidor de la E-selectina se une a un inhibidor del receptor de quimioquinas CXCR4. El documento WO 00/66112 describe derivados de ciclam sustituidos y su uso como antagonistas del receptor CXCR4. El documento US 2011/245265 describe antagonistas de CXCR4. El documento WO 2013/096926 describe antagonistas de E-selectina. El documento WO 2012/061662 describe compuestos glucomiméticos-peptidomiméticos que inhiben E-selectinas y receptores de quimioquinas CXCR4.

**CARACTERÍSTICAS DE LA INVENCION**

En pocas palabras, se dan a conocer compuestos, composiciones y procedimientos para el tratamiento de enfermedades y para la mejora de procedimientos en los que una E-selectina y un receptor de quimioquinas CXCR4 pueden jugar un papel. Los compuestos descritos en este documento son heterobifuncionales, en el que un inhibidor de la E-selectina se une a un inhibidor del receptor de quimioquinas CXCR4. Los compuestos se pueden usar para tratar el cáncer en el que las células cancerosas pueden abandonar el sitio primario, para el tratamiento de una enfermedad inflamatoria en la que la adhesión o migración de las células se produce en la enfermedad, y/o para liberar las células, tales como células madre (por ejemplo, células progenitoras de la médula ósea) en la sangre circulante y aumentar la retención de las células en la sangre (por ejemplo, para desplazar las células fuera de la médula ósea y mantener las células en el torrente sanguíneo periférico).

Se dan a conocer inhibidores heterobifuncionales de fórmula (I):

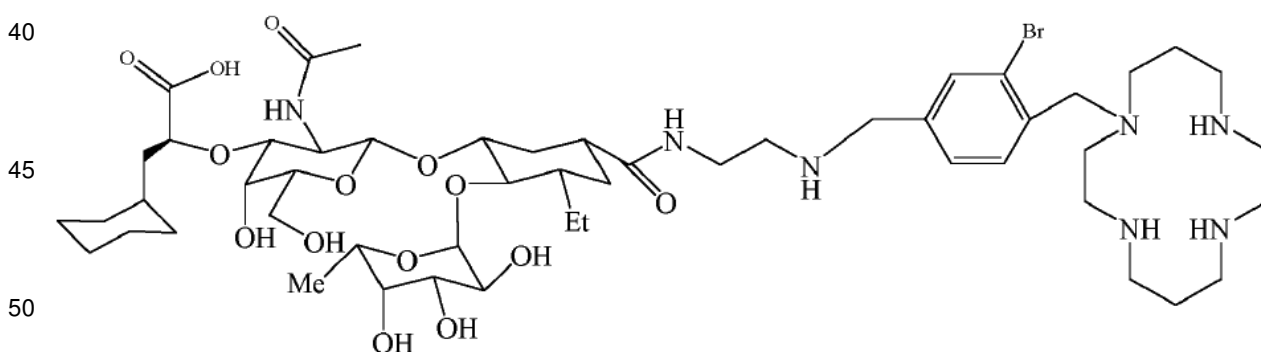
65



15 profármacos de fórmula (I), y sales farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores, en los que  
 R<sup>1</sup> se selecciona entre H, grupos alquilo C<sub>1-8</sub>, alquenoilo C<sub>2-8</sub>, alquinilo C<sub>2-8</sub>, haloalquilo C<sub>1-8</sub>, haloalquenoilo C<sub>2-8</sub> y  
 haloalquinilo C<sub>2-8</sub>;  
 R<sup>2</sup> se selecciona entre grupos -OH, -NH<sub>2</sub>, -OC(=O)Y<sup>1</sup>, -NHC(=O)Y<sup>1</sup> y -NHC(=O)NHY<sup>1</sup>, en los que Y<sup>1</sup> se selecciona  
 20 entre grupos alquilo C<sub>1-8</sub>, alquenoilo C<sub>2-8</sub>, alquinilo C<sub>2-8</sub>, haloalquilo C<sub>1-8</sub>, haloalquenoilo C<sub>2-8</sub>, haloalquinilo C<sub>2-8</sub>, arilo C<sub>6-18</sub>  
 y heteroarilo C<sub>1-13</sub>;  
 R<sup>3</sup> se selecciona entre grupos -CN, -CH<sub>2</sub>CN y -C(=O)Y<sup>2</sup>, en el que Y<sup>2</sup> se selecciona entre grupos alquilo C<sub>1-8</sub>,  
 alquenoilo C<sub>2-8</sub>, alquinilo C<sub>2-8</sub>, -OZ<sup>1</sup>, -NHOH, -NHOCH<sub>3</sub>, -NHCHN y -NZ<sup>1</sup>Z<sup>2</sup>s, en los que Z<sup>1</sup> y Z<sup>2</sup>, que pueden ser  
 idénticos o diferentes, se seleccionan independientemente entre H, grupos alquilo C<sub>1-8</sub>, alquenoilo C<sub>2-8</sub>, alquinilo C<sub>2-8</sub>,  
 25 haloalquilo C<sub>1-8</sub>, haloalquenoilo C<sub>2-8</sub> y haloalquinilo C<sub>2-8</sub>, en los que Z<sup>1</sup> y Z<sup>2</sup> pueden unirse para formar un anillo;  
 R<sup>4</sup> se selecciona entre grupos cicloalquilo C<sub>3-8</sub>;  
 R<sup>5</sup> se selecciona independientemente entre H, grupos halo, alquilo C<sub>1-8</sub>, alquenoilo C<sub>2-8</sub>, alquinilo C<sub>2-8</sub>, haloalquilo C<sub>1-8</sub>,  
 haloalquenoilo C<sub>2-8</sub> y haloalquinilo C<sub>2-8</sub>, con la condición de que al menos un R<sup>5</sup> no es H;  
 n se selecciona entre los números enteros que varían de 1 a 4; y  
 30 L se selecciona entre los grupos de enlace.

Tal como se usa en el presente documento, "compuesto de Fórmula (I)" incluye inhibidores heterobifuncionales de  
 fórmula (I), sales farmacéuticamente aceptables de los inhibidores heterobifuncionales de fórmula (I), profármacos  
 de inhibidores heterobifuncionales de fórmula (I) y sales farmacéuticamente aceptables de profármacos de  
 35 inhibidores heterobifuncionales de fórmula (I).

Por consiguiente, la presente invención proporciona al menos un compuesto de fórmula (I) que se elige entre



55 y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Se presentan composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un compuesto de Fórmula (I) y,  
 opcionalmente, al menos un ingrediente farmacéuticamente aceptable adicional.

60 Un compuesto de Fórmula (I) y/o una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto de Fórmula  
 (I) se puede utilizar para la preparación y/o fabricación de un medicamento para usar en el tratamiento de al menos  
 una de las enfermedades, trastornos y afecciones descritos en este documento.

Se describe un procedimiento para el tratamiento y/o prevención de al menos un cáncer en el que las células  
 65 cancerosas pueden abandonar el sitio primario, comprendiendo el procedimiento administrar a un sujeto en  
 necesidad del mismo una cantidad eficaz de al menos un compuesto de Fórmula (I) y/o una composición

farmacéutica que comprende al menos un compuesto de Fórmula (I) y, opcionalmente, al menos un ingrediente farmacéuticamente aceptable adicional.

5 Se describe un procedimiento para el tratamiento y/o prevención de al menos un cáncer en el que se desea desplazar las células cancerosas desde un sitio en el torrente sanguíneo y/o retener las células cancerosas en el torrente sanguíneo, comprendiendo el procedimiento administrar a un sujeto en necesidad del mismo una cantidad eficaz de al menos un compuesto de Fórmula (I) y/o una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto de Fórmula (I) y, opcionalmente, al menos un ingrediente farmacéuticamente aceptable adicional.

10 Al menos un compuesto de Fórmula (I) y/o una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto de Fórmula (I) pueden usarse en procedimientos descritos en este documento para el tratamiento y/o prevención de la metástasis tumoral. La metástasis tumoral puede surgir a partir del cáncer de páncreas. La metástasis tumoral puede surgir a partir del cáncer de próstata. La metástasis tumoral puede surgir a partir del cáncer de mama. Al menos un agente de quimioterapia adicional, tal como gemcitabina, se puede administrar al individuo.

20 Se describe un procedimiento para la liberación de células en la sangre circulante y el aumento de la retención de las células en la sangre que comprende administrar a un sujeto en necesidad del mismo una cantidad eficaz de al menos un compuesto de Fórmula (I) y/o una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto de Fórmula (I) y opcionalmente al menos un ingrediente farmacéuticamente aceptable adicional. El procedimiento puede incluir además la recogida de las células liberadas. La recogida de las células liberadas puede utilizar aféresis. Las células liberadas pueden ser células madre (por ejemplo, células progenitoras de la médula ósea). Se puede administrar G-CSF al individuo.

25 Se describe un procedimiento para el tratamiento y/o prevención de una enfermedad inflamatoria en el que la adhesión y/o migración de las células se produce en las enfermedades que comprenden administrar a un sujeto en necesidad del mismo una cantidad eficaz de al menos un compuesto de Fórmula (I) y/o una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto de Fórmula (I) y, opcionalmente, al menos un ingrediente farmacéuticamente aceptable adicional.

30 En la siguiente descripción, ciertos detalles específicos se exponen con el fin de proporcionar una comprensión completa de diversas realizaciones. Sin embargo, un experto en la técnica entenderá que las realizaciones descritas pueden ponerse en práctica sin estos detalles. En otros casos, no se han mostrado o descrito en detalle estructuras bien conocidas para evitar tapar innecesariamente las descripciones de las realizaciones. Estas y otras realizaciones serán evidentes tras la referencia a la siguiente descripción detallada y dibujos adjuntos.

#### BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

40 La Figura 1 (Fig. 1A y Fig. 1B) es un diagrama que ilustra la síntesis del compuesto 9 y el compuesto 16 heterobifuncionales.

La Figura 2 muestra el espectro de RMN de  $^1\text{H}$  a 400 MHz del Compuesto 9

La Figura 3 muestra el espectro de RMN de  $^1\text{H}$  a 600 MHz del Compuesto 16

La Figura 4 representa los resultados de la inhibición del ensayo de quimiotaxis inducida por SDF-1 por los compuestos heterobifuncionales 9 y 16.

45 La Figura 5 (Fig. 5A y la Fig. 5B) representa los resultados de un ensayo de E-selectina en el que los compuestos heterobifuncionales 9 y 16 se utilizan como inhibidor.

La Figura 6 representa los resultados de un ensayo de CXCR4 por el compuesto heterobifuncional 9.

La Figura 7 representa los resultados de un ensayo de migración linfática y endotelial vacular hacia fibroblastos asociados a tumores por el compuesto heterobifuncional 9.

50 La figura 8 representa los resultados de un ensayo de unión de células PDAC a monocapas linfáticas por el compuesto heterobifuncional 9.

La Figura 9 representa los resultados de un ensayo de tumor intratibial por el compuesto heterobifuncional 9.

#### DESCRIPCIÓN DETALLADA

55 En el presente documento se dan a conocer compuestos, composiciones y procedimientos para tratar enfermedades en las que una E-selectina y un receptor de quimioquinas CXCR4 desempeñan un papel, y para aumentar la retención de las células después de la liberación en la sangre circulante. Los compuestos tienen una variedad de usos *in vitro* e *in vivo*.

60 Los inhibidores de E-selectina se conocen en la técnica. Algunos inhibidores de E-selectina son específicos sólo para E-selectina. Otros inhibidores de E-selectina tienen la capacidad de inhibir no sólo la E-selectina, sino, además P-selectina o L-selectina o ambos P-selectina y L-selectina. Ejemplos de inhibidores de E-selectina (específicos para E-selectina o en cualquier caso) se describen en la Patente de Estados Unidos Nº 7.060.685; publicación de la Solicitud de Estados Unidos Nº US-2007-0054870; publicación de la Solicitud de Estados Unidos Nº US-2008-0161546; y las referencias citadas en cualquiera de estos documentos de patente o solicitudes publicadas. Esos

ejemplos son moléculas orgánicas pequeñas. Otros inhibidores de E-selectina conocidos se basan en aminoácidos, tales como anticuerpos. Por ejemplo, el anticuerpo monoclonal humanizado CDP850 es un inhibidor de la E-selectina.

- 5 Los inhibidores del receptor de quimioquinas CXCR4 son conocidos en la técnica. Tales inhibidores típicamente impedirán la unión del factor 1 derivado de estroma (SDF-1) a un receptor CXCR4. Los ejemplos de inhibidores de receptor de quimioquinas CXCR4 son AMD-3100 (Hendrix et al, Antimicrob Agents Chemother 44: 1667-1673, 2000); ALX40-4C (Doranz et al, AIDS Research and Human Retrovirus 17: 475-486, 2001); y T134 (Arakaki et al, J. Virol., 73: 1719-1723, 1999). Estos ejemplos incluyen una molécula orgánica pequeña y moléculas basadas en aminoácidos, tales como el péptido T22. AMD-3100 es un biciclám. Cada uno de los dos anillos de ciclám está unido al mismo anillo de fenilo (cada anillo de ciclám es para con respecto al otro) a través de un grupo metileno.

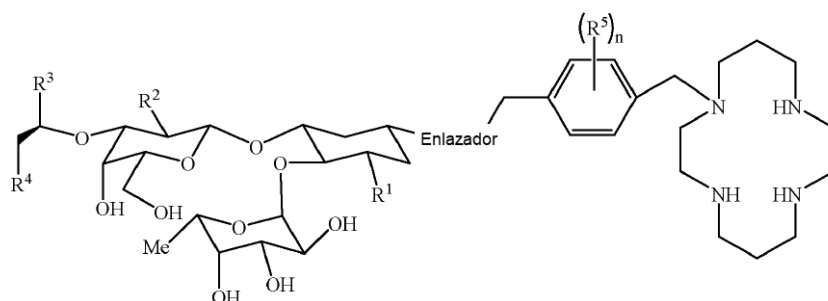
Los compuestos heterobifuncionales para la inhibición de E-selectina y el receptor de quimioquinas CXCR4 que comprende inhibidor de E-selectina-enlazador-inhibidor del receptor de quimioquinas CXCR4 son conocidos en la técnica. Ejemplos se describen, por ejemplo, en la patente de Estados Unidos N° 8.410.066.

En el presente documento se describen inhibidores heterobifuncionales de Fórmula (I):

20

25

30



(I)

35 profármacos de fórmula (I), y sales farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores, en los que R<sup>1</sup> se selecciona entre H, grupos alquilo C<sub>1-8</sub>, alquenilo C<sub>2-8</sub>, alquinilo C<sub>2-8</sub>, haloalquilo C<sub>1-8</sub>, haloalquenilo C<sub>2-8</sub> y haloalquinilo C<sub>2-8</sub>;

R<sup>2</sup> se selecciona entre grupos -OH, -NH<sub>2</sub>, -OC(=O)Y<sup>1</sup>, -NHC(=O)Y<sup>1</sup> y -NHC(=O)NHY<sup>1</sup>, en los que Y<sup>1</sup> se selecciona entre grupos alquilo C<sub>1-8</sub>, alquenilo C<sub>2-8</sub>, alquinilo C<sub>2-8</sub>, haloalquilo C<sub>1-8</sub>, haloalquenilo C<sub>2-8</sub>, haloalquinilo C<sub>2-8</sub>, arilo C<sub>6-18</sub> y heteroarilo C<sub>1-13</sub>;

40 R<sup>3</sup> se selecciona entre grupos -CN, -CH<sub>2</sub>CN y -C(=O)Y<sup>2</sup>, en el que Y<sup>2</sup> se selecciona entre grupos alquilo C<sub>1-8</sub>, alquenilo C<sub>2-8</sub>, alquinilo C<sub>2-8</sub>, -OZ<sup>1</sup>, -NHOH, -NHOCH<sub>3</sub>, -NHCN y -NZ<sup>1</sup>Z<sup>2</sup>, en los que Z<sup>1</sup> y Z<sup>2</sup>, que pueden ser idénticos o diferentes, se seleccionan independientemente entre H, grupos alquilo C<sub>1-8</sub>, alquenilo C<sub>2-8</sub>, alquinilo C<sub>2-8</sub>, haloalquilo C<sub>1-8</sub>, haloalquenilo C<sub>2-8</sub> y haloalquinilo C<sub>2-8</sub>, en los que Z<sup>1</sup> y Z<sup>2</sup> pueden unirse para formar un anillo;

45 R<sup>4</sup> se selecciona entre grupos cicloalquilo C<sub>3-8</sub>;

R<sup>5</sup> se selecciona independientemente entre H, grupos halo, alquilo C<sub>1-8</sub>, alquenilo C<sub>2-8</sub>, alquinilo C<sub>2-8</sub>, haloalquilo C<sub>1-8</sub>, haloalquenilo C<sub>2-8</sub> y haloalquinilo C<sub>2-8</sub>, con la condición de que al menos un R<sup>5</sup> no es H;

n se selecciona entre los números enteros que varían de 1 a 4; y

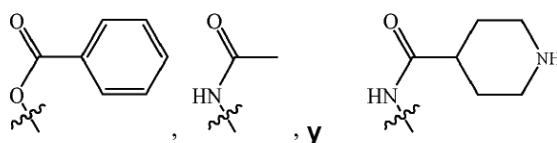
L se selecciona entre los grupos de enlace.

50

R<sup>1</sup> puede seleccionarse entre H, grupos alquilo C<sub>1-4</sub> y haloalquilo C<sub>1-4</sub>. R<sup>1</sup> puede seleccionarse entre H, metilo, etilo, -CH<sub>2</sub>F, -CHF<sub>2</sub>, -CF<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>F, -CH<sub>2</sub>CHF<sub>2</sub> y -CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>. R<sup>1</sup> puede ser H. R<sup>1</sup> puede seleccionarse entre metilo y etilo. R<sup>1</sup> puede ser metilo. R<sup>1</sup> puede ser etilo.

55 R<sup>2</sup> puede seleccionarse entre grupos -OC(=O)Y<sup>1</sup> y -NHC(=O)Y<sup>1</sup>, en los que Y<sup>1</sup> se elige entre grupos alquilo C<sub>1-8</sub>, haloalquilo C<sub>1-8</sub>, arilo C<sub>6-18</sub> y heteroarilo C<sub>1-13</sub>. R<sup>2</sup> puede seleccionarse entre

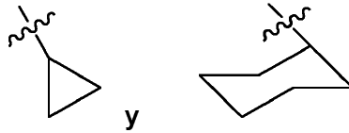
60



R<sup>3</sup> puede ser -C(=O)Y<sup>2</sup>, en el que Y<sup>2</sup> se selecciona entre grupos -OZ<sup>1</sup> y -NZ<sup>1</sup>Z<sup>2</sup>, en los que Z<sup>1</sup> y Z<sup>2</sup>, que pueden ser idénticos o diferentes, se seleccionan independientemente entre H, alquilo C<sub>1-8</sub> y haloalquilo C<sub>1-8</sub>, en los que Z<sup>1</sup> y Z<sup>2</sup> pueden unirse entre sí para formar un anillo. R<sup>3</sup> puede ser -C(=O)OH.

5 R<sup>4</sup> puede seleccionarse entre grupos ciclopropilo y ciclohexilo. R<sup>4</sup> se puede seleccionar entre

10



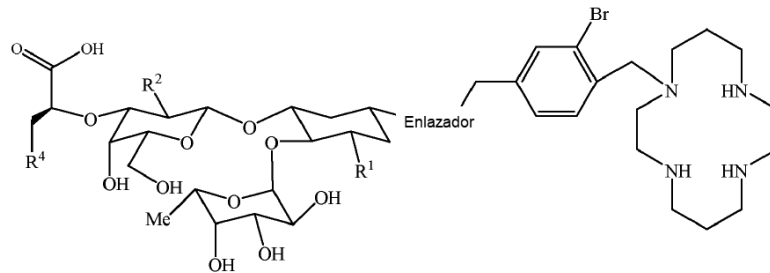
15 Cada R<sup>5</sup> puede seleccionarse independientemente entre H, halo, grupos alquilo C<sub>1-8</sub> y haloalquilo C<sub>1-8</sub>, con la condición de que al menos un R<sup>5</sup> no es H. Al menos un R<sup>5</sup> puede ser halo. Al menos un R<sup>5</sup> puede ser fluoro. Al menos un R<sup>5</sup> puede ser cloro. Al menos un R<sup>5</sup> puede ser bromo. Al menos un R<sup>5</sup> puede ser yodo.

20 En algunos casos, n es 2. En algunos casos, n es 2 y R<sup>5</sup> es halo. En algunos casos, n es 2 y R<sup>5</sup> es bromo. En algunos casos, n es 1. En algunos casos, n es 1 y R<sup>5</sup> es halo. En algunos casos, n es 1 y R<sup>5</sup> es bromo.

20

El compuesto descrito se puede seleccionar entre compuestos de Fórmula (Ia):

25



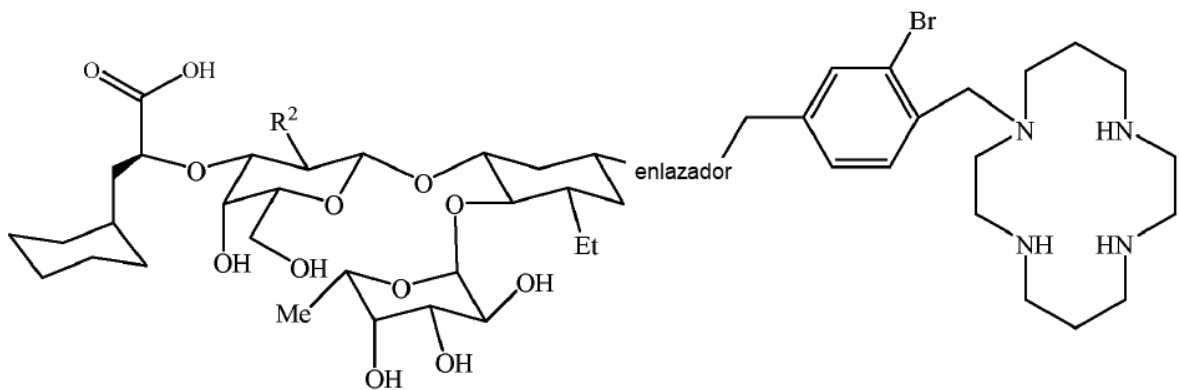
30

(Ia)

35

El compuesto descrito se puede seleccionar entre compuestos de las fórmulas siguientes:

40



45

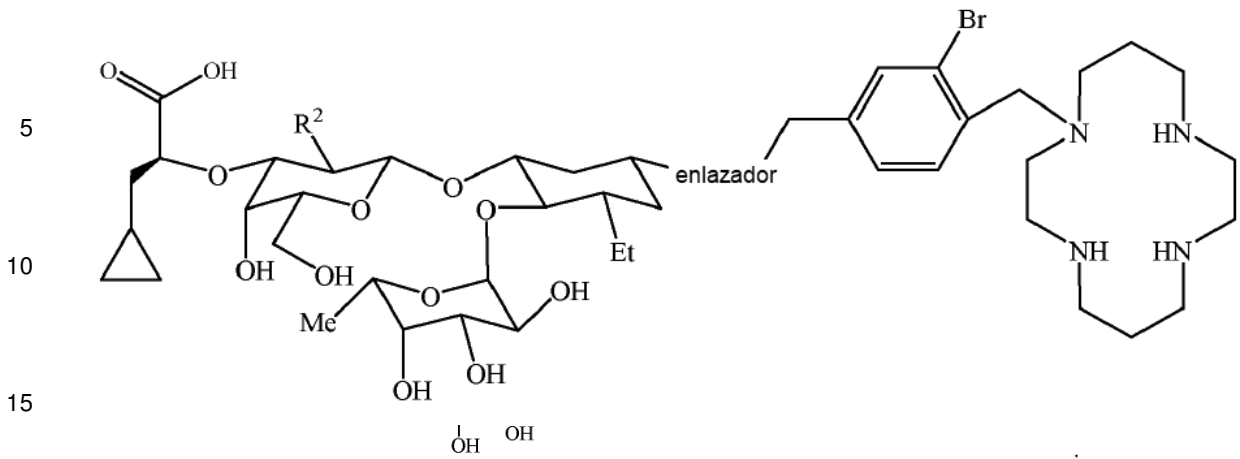
50

y

55

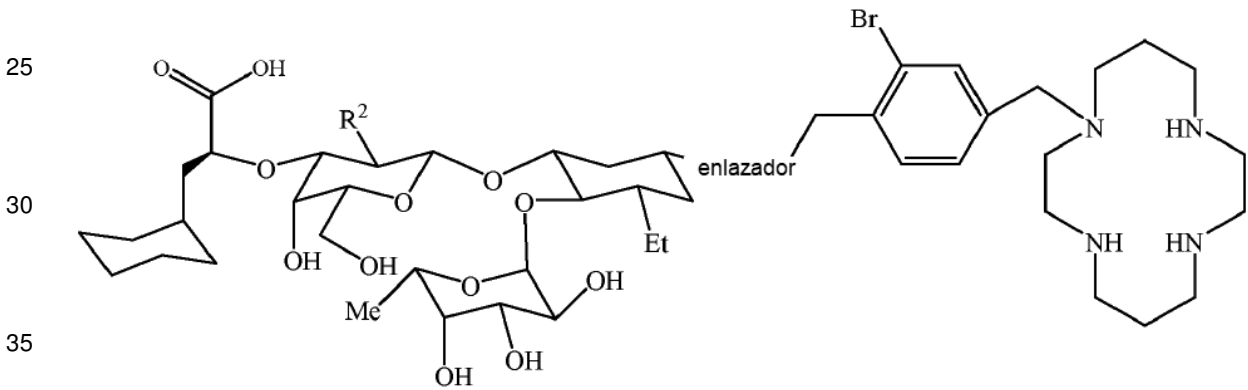
60

65

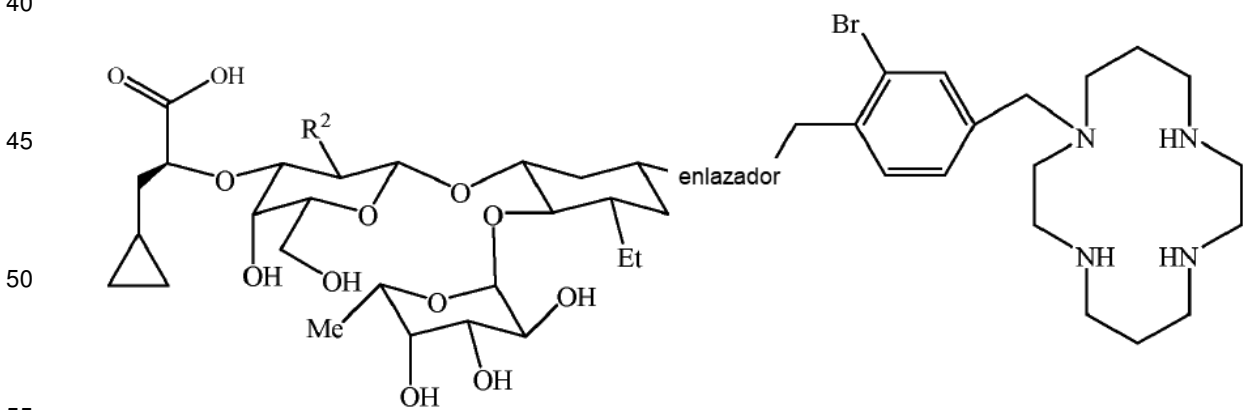


(Ib)

El compuesto descrito se puede seleccionar entre compuestos de las fórmulas siguientes:



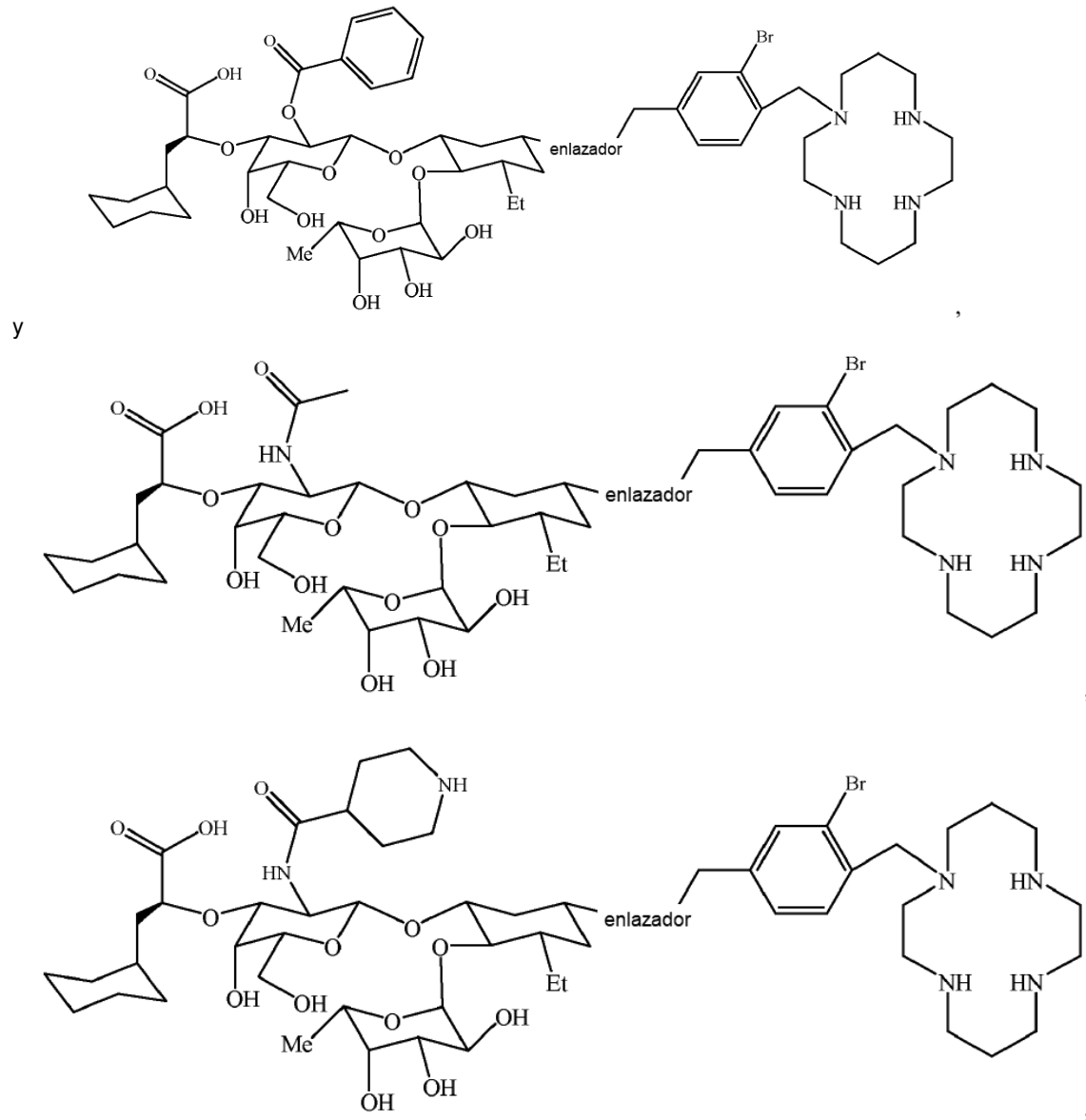
y



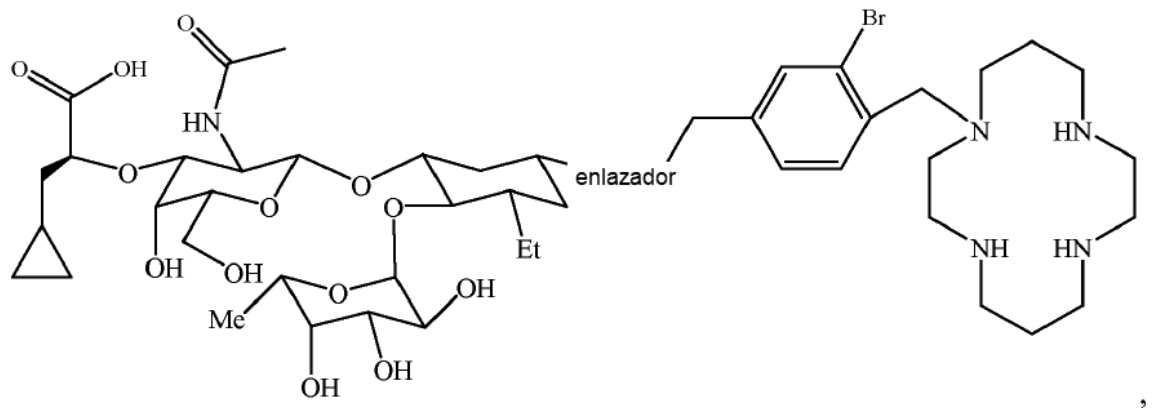
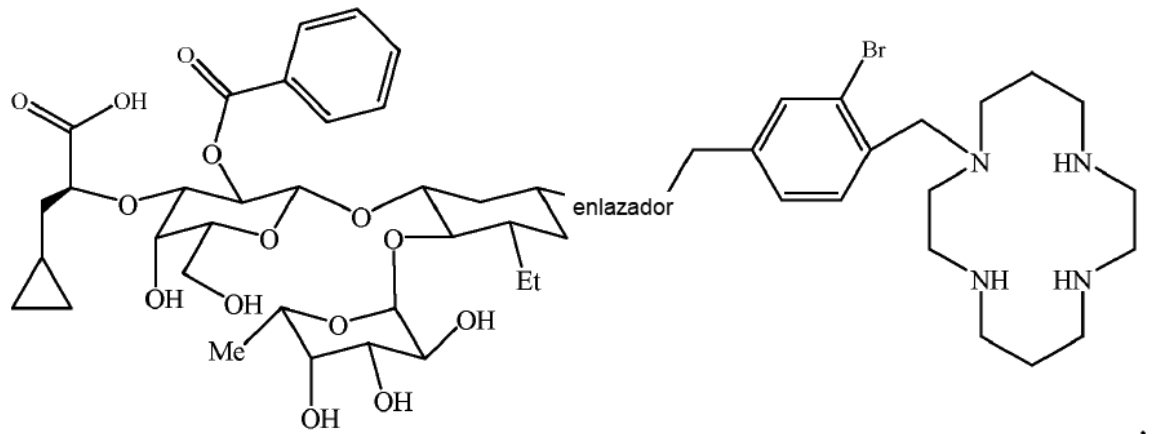
El compuesto descrito se puede seleccionar entre compuestos de las fórmulas siguientes:

60

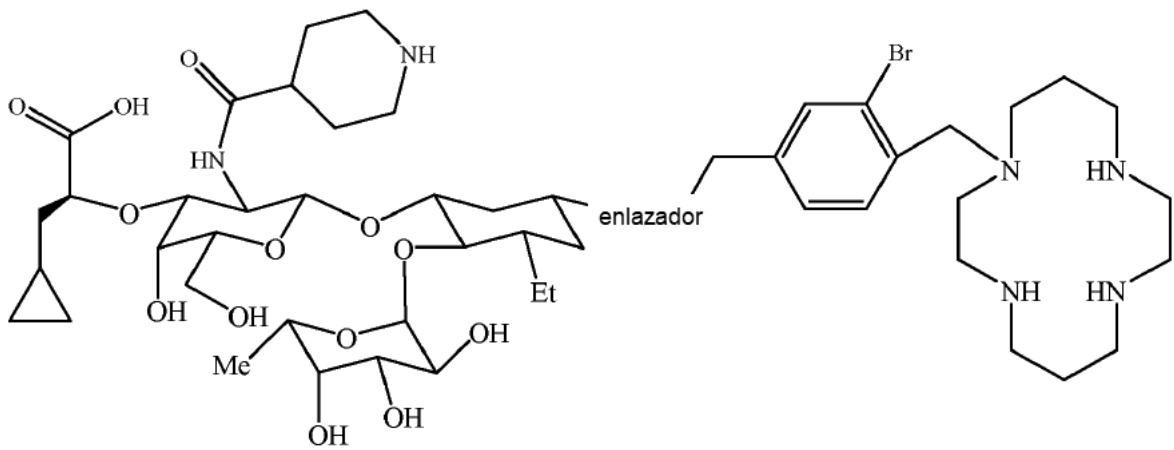
65



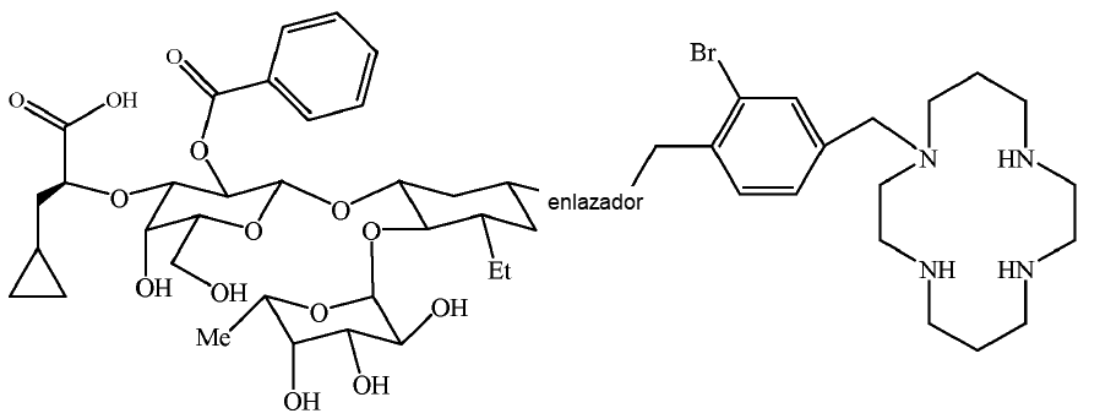
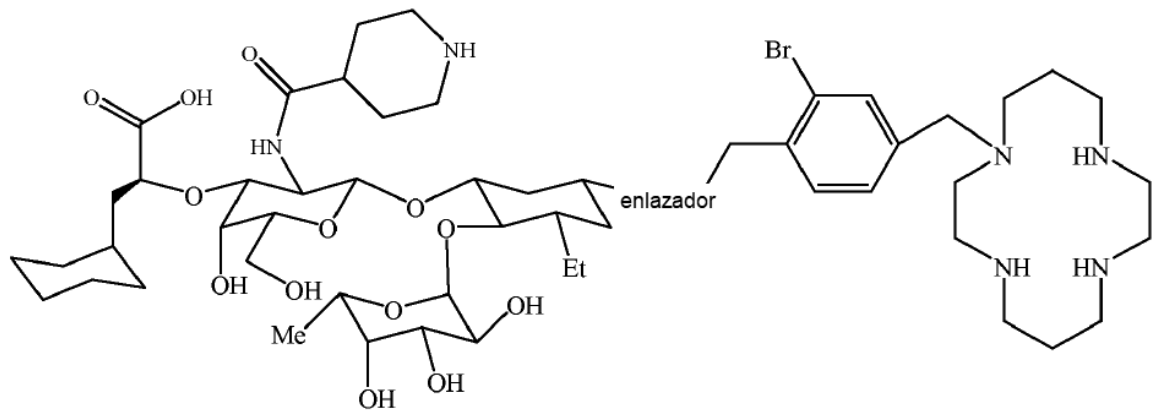
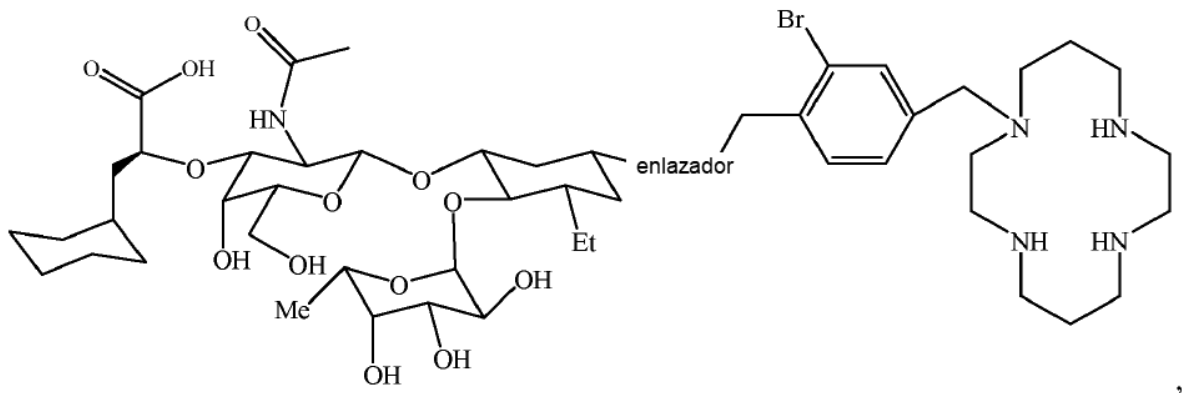
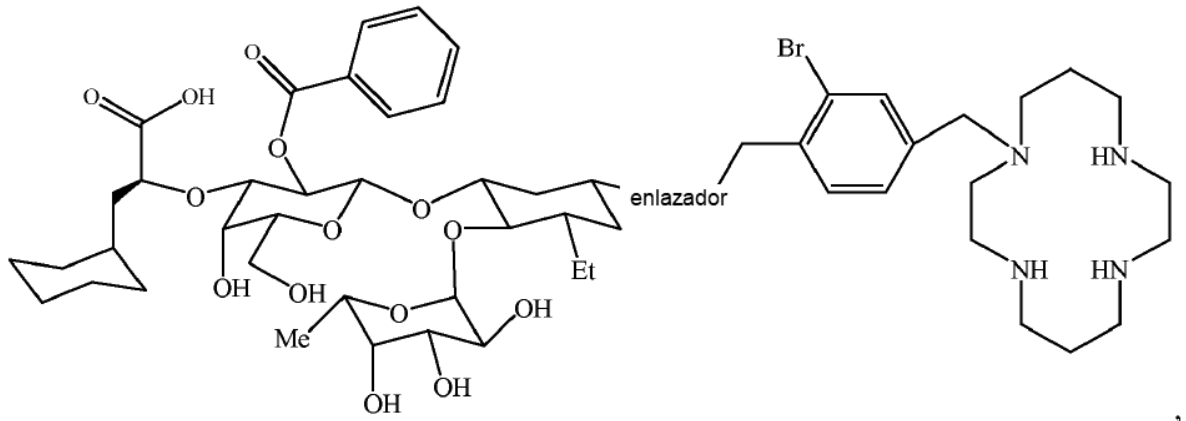




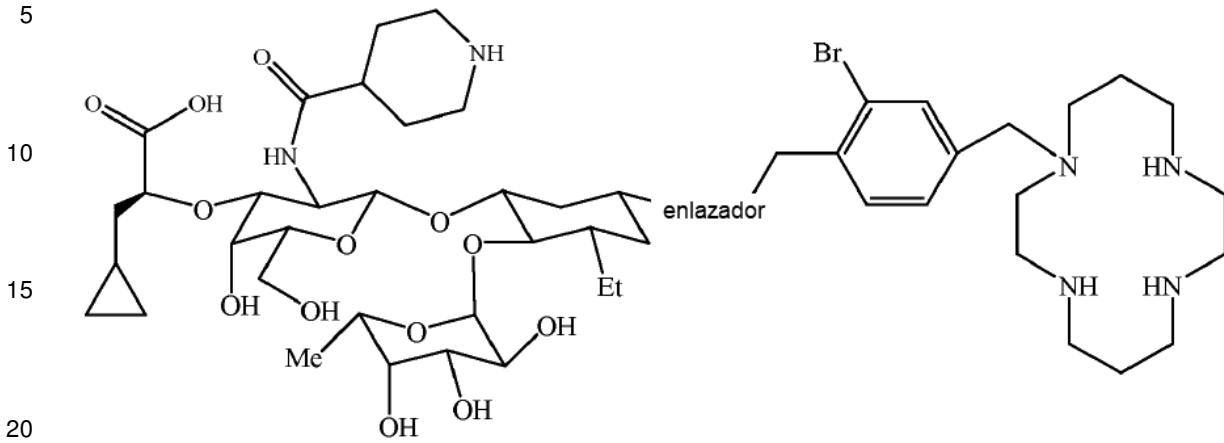
y



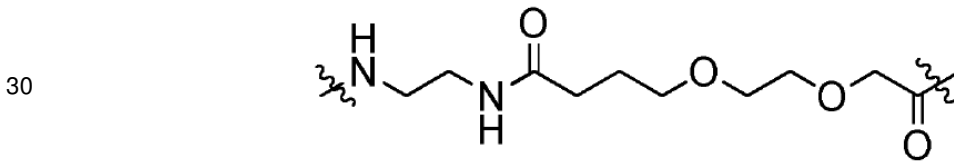
El compuesto descrito se puede seleccionar entre compuestos de las fórmulas siguientes:



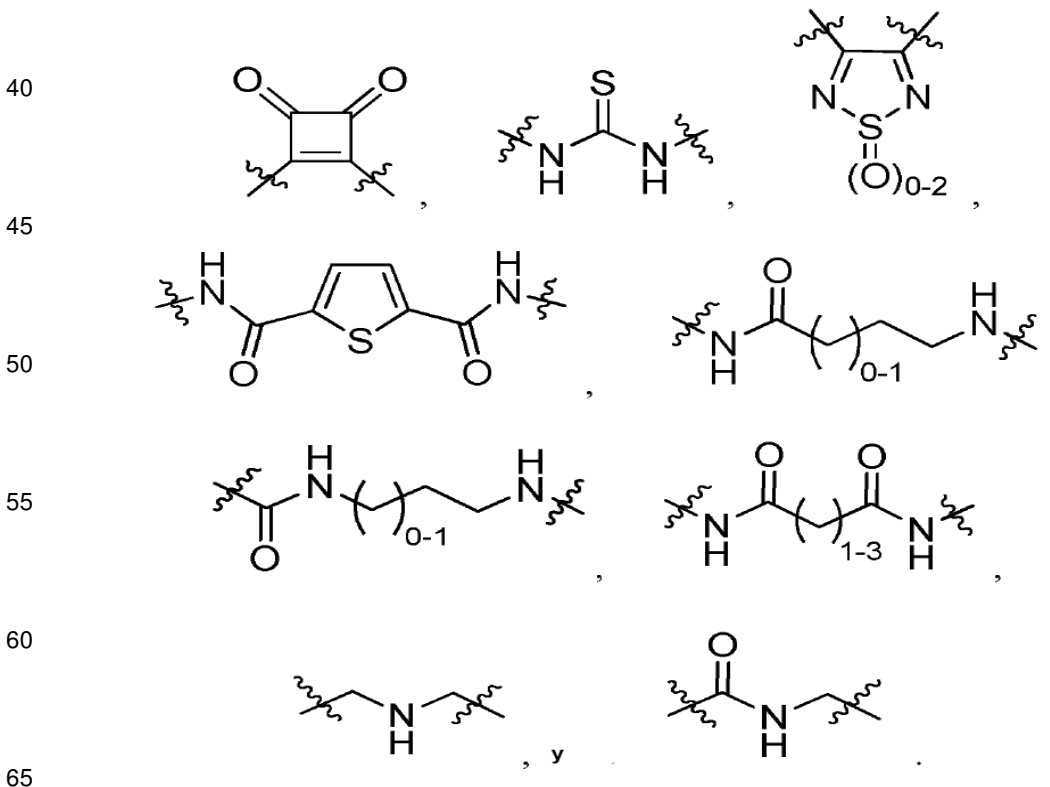
y



Los grupos de enlace pueden seleccionarse entre grupos que comprenden grupos espaciadores, tales como, por ejemplo,  $-(CH_2)_p-$  y  $-O(CH_2)_p-$ , en donde p se selecciona entre números enteros que van de 1 a 20. Otros ejemplos no limitantes de grupos espaciadores incluyen grupos carbonilo y grupos que contienen carbonilo, tales como, por ejemplo, grupos amida. Un ejemplo no limitante de un grupo espaciador es

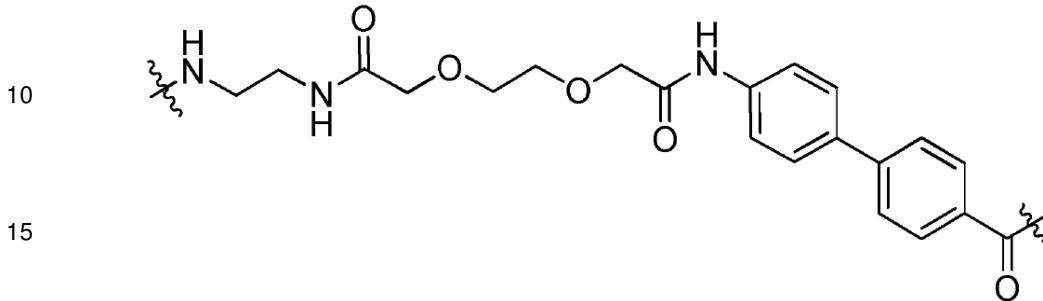


35 En algunos compuestos descritos, el grupo enlazador se selecciona entre

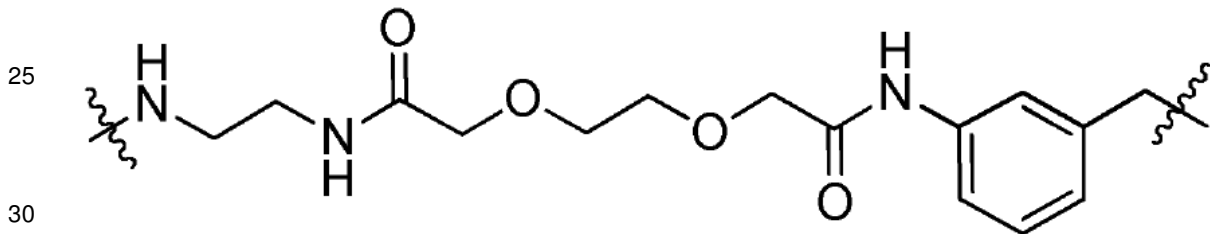


Otros grupos enlazadores, tales como, por ejemplo, polietilenglicoles (PEGs) y  $-C(=O)-NH-(CH_2)_p-C(=O)-NH-$ , en donde p se selecciona entre números enteros que van de 1 a 20, serán familiares para los expertos en la técnica y/o aquellos en posesión de la presente descripción.

5 En algunos compuestos descritos, el grupo enlazador es

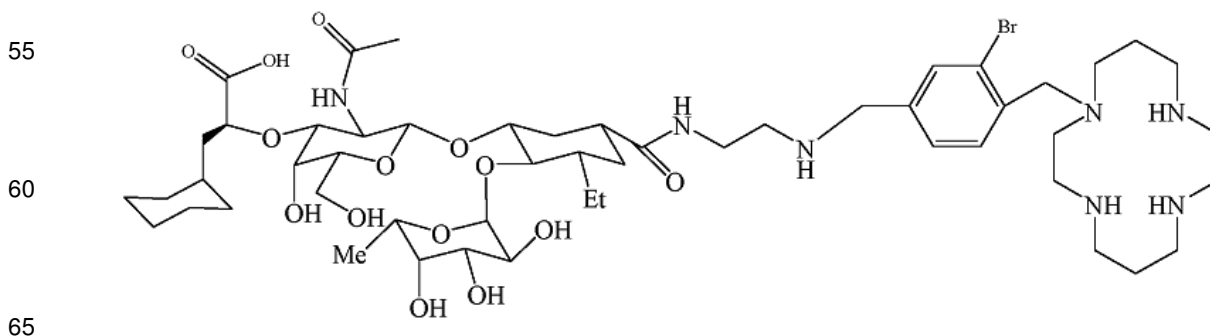
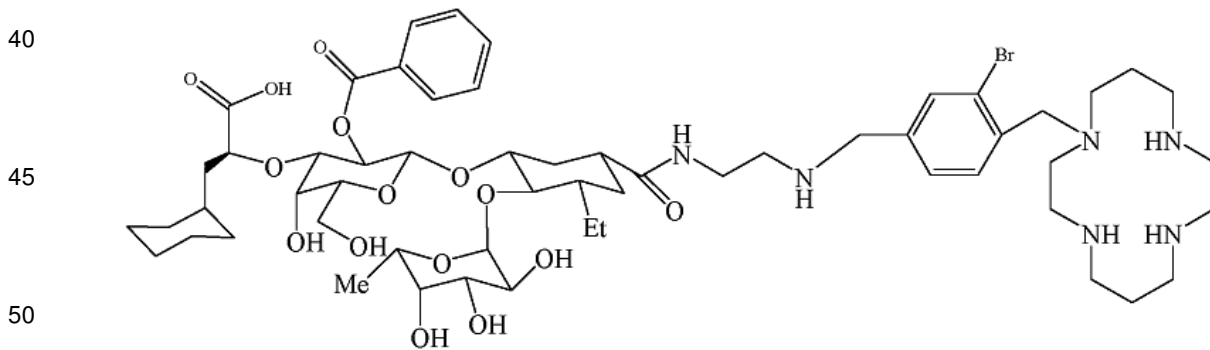


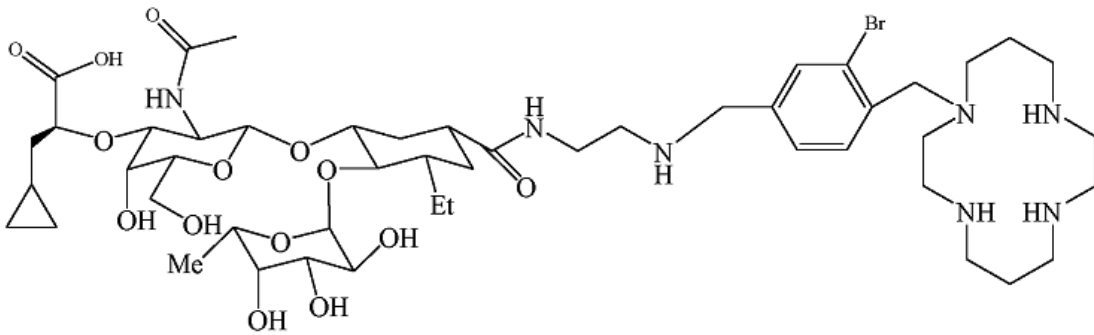
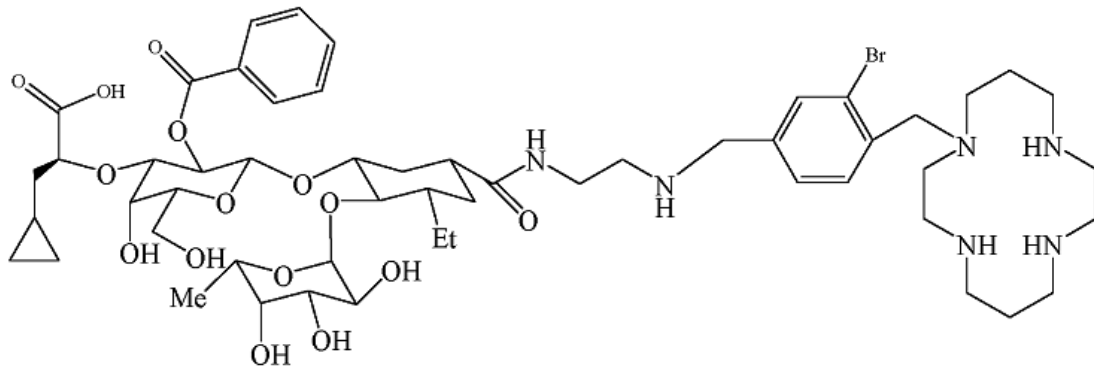
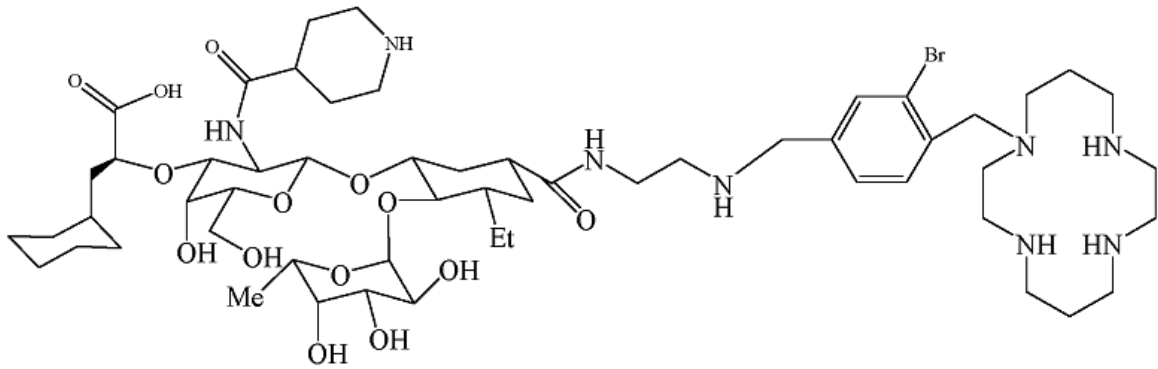
20 En algunos compuestos descritos, el grupo enlazador es



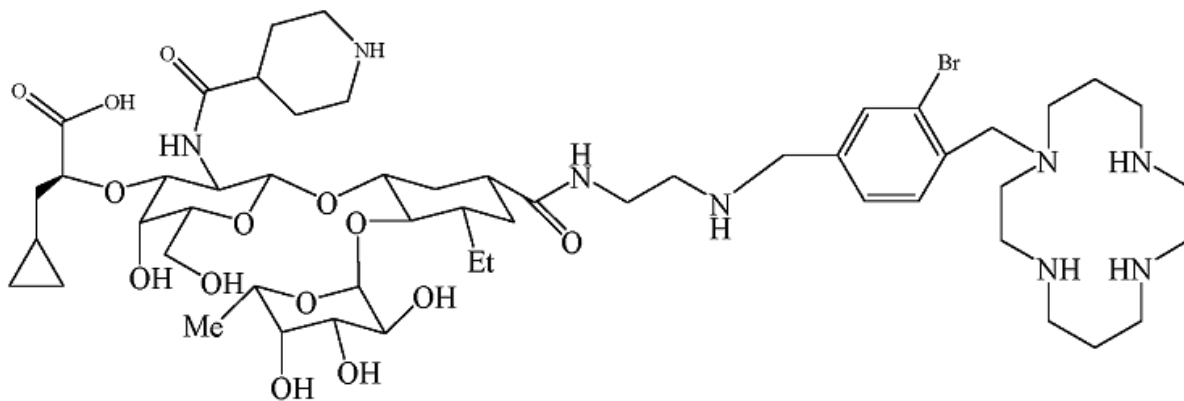
En algunos compuestos descritos, el grupo enlazador se selecciona entre  $-C(=O)NH(CH_2)_2NH-$ ,  $-CH_2NHCH_2-$  y  $-C(=O)NHCH_2-$ . En algunos compuestos descritos, el grupo enlazador es  $-C(=O)NH(CH_2)_2NH-$ .

El compuesto descrito se puede seleccionar entre compuestos de las fórmulas siguientes:

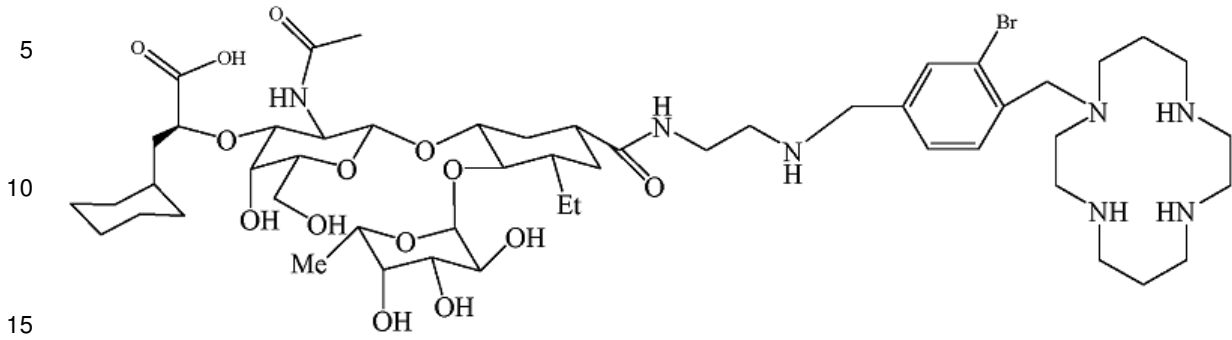




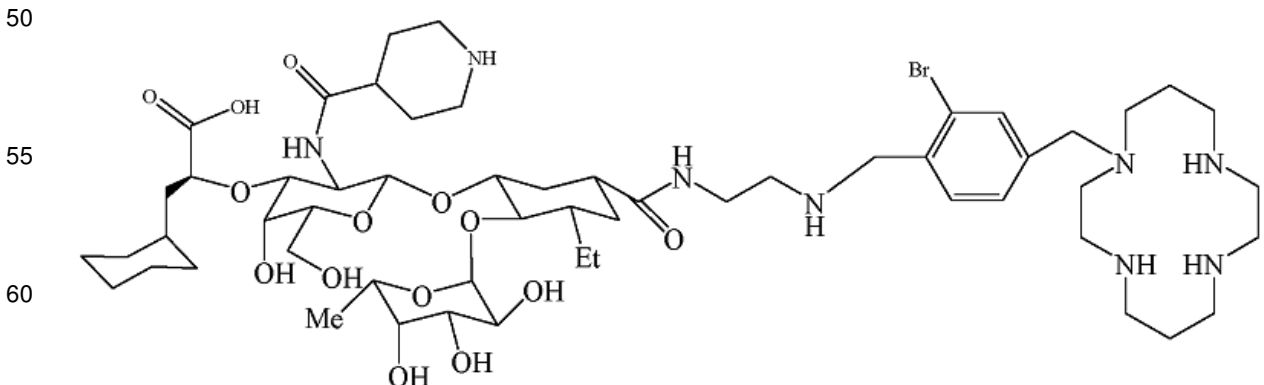
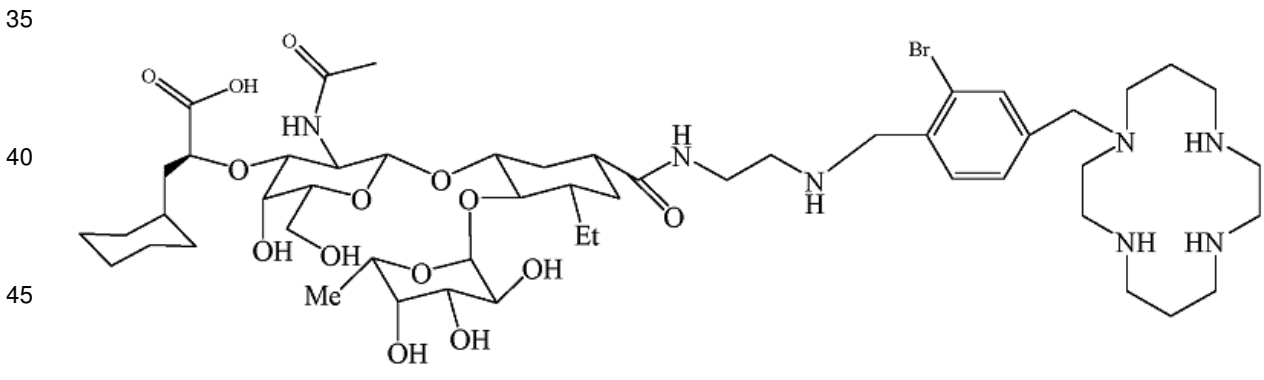
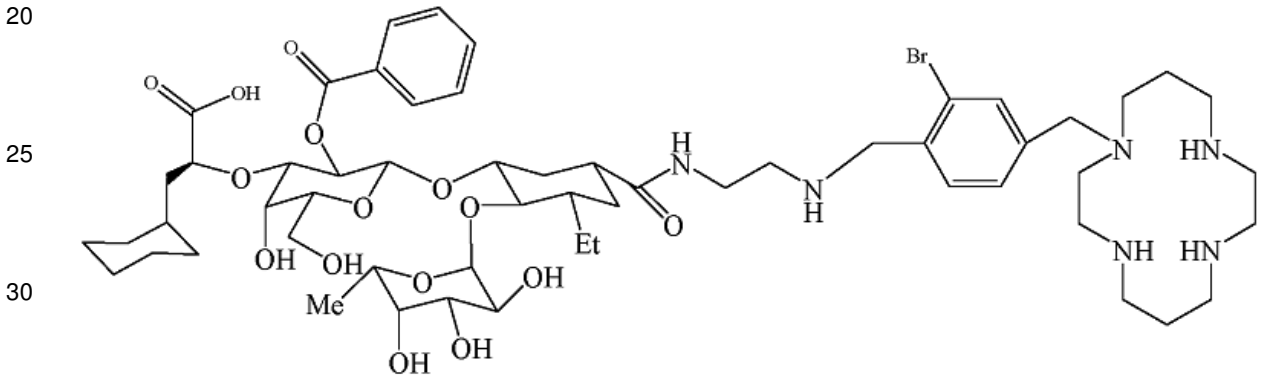
y



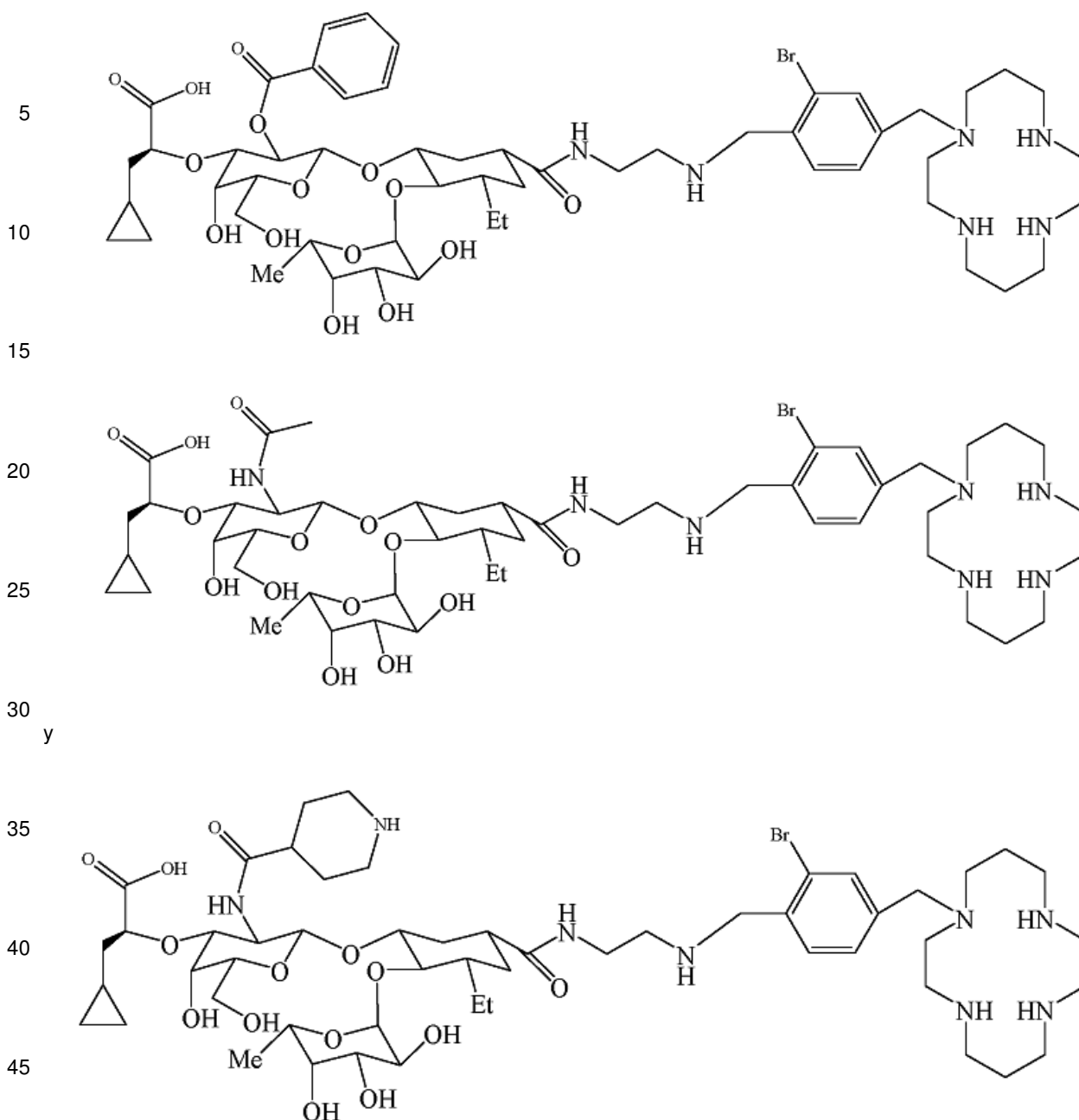
Un compuesto de la invención tiene la fórmula



El compuesto descrito se puede seleccionar entre compuestos de las fórmulas siguientes:



65



50 También se describen composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un compuesto de Fórmula (I). Tales composiciones farmacéuticas se describen en mayor detalle en este documento. Estos compuestos y composiciones se pueden utilizar en los procedimientos descritos en el presente documento.

Al menos un compuesto de Fórmula (I) y/o una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto de Fórmula (I) pueden usarse en procedimientos descritos en este documento para el tratamiento y/o prevención de un cáncer en el que las células cancerosas pueden abandonar el sitio primario. Un sitio primario puede ser, por ejemplo, tejido sólido (por ejemplo, de mama, de próstata, o de páncreas) o el torrente sanguíneo.

Además del cáncer de mama, cáncer de próstata, y cáncer de páncreas, otros ejemplos de enfermedades infiltrantes incluyen cáncer de pulmón y melanoma, así como los tumores malignos hematológicos (por ejemplo, leucemias y mielomas). Tal como se utiliza en el presente documento, el término "tratamiento" (incluyendo variaciones tales como "tratar") incluye la enfermedad o una complicación asociada con la enfermedad. Por ejemplo, una complicación asociada con el cáncer puede no haberse presentado en un individuo con la enfermedad, y un compuesto se puede administrar para prevenir la presentación de la complicación en el individuo. Las complicaciones asociadas con un cáncer en el que las células cancerosas pueden abandonar el sitio primario incluyen, por ejemplo, metástasis e infiltración de las células cancerosas a otros tejidos. Por ejemplo, las células de

leucemia mielógena aguda (AML) y de mieloma múltiple (MM) migran a la región endóstica de la médula ósea, donde las células se vuelven quiescentes y están protegidas de la apoptosis inducida por quimioterapia. La administración de un compuesto descrito en este documento puede evitar la adhesión o migración de células cancerosas. Dicha prevención puede resultar en la fabricación de células cancerosas más susceptibles a tratamiento con quimioterapia. La administración de un compuesto descrito en el presente documento en el contexto de la prevención puede ser a un individuo que está en riesgo de aparición de un cáncer, por primera vez, o para la recurrencia de un cáncer. Por ejemplo, mientras que un cáncer de cerebro, tal como glioblastoma multiforme, se trata típicamente con otro tipo de terapia (tal como radiación o quimioterapia) para la primera aparición, dicha terapia generalmente no es eficaz para prevenir la recurrencia.

10

Al menos un compuesto de Fórmula (I) y/o una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto de Fórmula (I) pueden usarse en procedimientos descritos en este documento para el tratamiento y/o prevención de un cáncer en el que se desean desplazar células cancerosas desde un sitio en el torrente sanguíneo y conservar las células cancerosas en el torrente sanguíneo.

15

Los ejemplos de cánceres para tal tratamiento incluyen leucemias y mielomas (por ejemplo, AML y MM). El desplazamiento de las células cancerosas en el torrente sanguíneo desde un sitio y la retención de las células en el mismo pueden resultar en la fabricación de células cancerosas más susceptibles a tratamiento con quimioterapia. Un ejemplo de un sitio desde el que se desplazan las células cancerosas es el hueso. Las células cancerosas pueden, por ejemplo, estar en circulación y a continuación dirigirse hacia los huesos. Una vez en el hueso, las células cancerosas están protegidas de la quimioterapia. Un compuesto descrito en este documento puede usarse, por ejemplo, para desplazar las células de cáncer desde el hueso en el torrente sanguíneo y evitar que las células cancerosas se dirijan al hueso, reteniendo de este modo las células cancerosas en el torrente sanguíneo. La administración de un compuesto descrito en el presente documento en el contexto de la prevención puede ser a un individuo que está en riesgo de aparición de un cáncer por primera vez, o para la recurrencia de un cáncer. Por ejemplo, mientras que un cáncer de cerebro, tal como glioblastoma multiforme, se trata típicamente con otro tipo de terapia (tal como radiación o quimioterapia) para la primera aparición, dicha terapia generalmente no es eficaz para prevenir la recurrencia.

30 Al menos un compuesto de Fórmula (I) y/o una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto de Fórmula (I) se pueden utilizar en procedimientos para liberar células (tales como células madre hematopoyéticas) en la sangre circulante y la mejora de la retención de las células en la sangre.

Un uso del procedimiento es, por ejemplo, para la recogida de células madre. Pueden ser necesarias células madre, por ejemplo, después de tratamiento de quimioterapia de alta dosis. Muchas quimioterapias suprimen la médula ósea que altera la producción de ciertos componentes de la sangre en un individuo. Como resultado, el individuo puede desarrollar una variedad de trastornos relacionados con células sanguíneas y la continuación de la quimioterapia puede verse comprometida. Un compuesto descrito en el presente documento puede usarse, por ejemplo, para liberar células madre en la sangre circulante y aumentar la retención de las células madre en la sangre. El procedimiento puede incluir una etapa adicional de recolección de células que se liberan. Por ejemplo, las células madre liberadas pueden ser recogidas. Una variedad de técnicas son conocidas en la técnica para la recolección de células. Por ejemplo, se puede utilizar la aféresis. Un ejemplo de una célula madre es una célula madre de médula ósea. La liberación de tales células de la médula ósea en la sangre circulante y la retención en la misma tiene una variedad de usos. Por ejemplo, las células progenitoras de médula ósea desplazadas pueden ser recogidas de la sangre. Un uso de este tipo de células recogidas es obtener células progenitoras de médula ósea sanas de un individuo antes del tratamiento del individuo de tal manera que la médula ósea se suprime. Después del tratamiento, el individuo puede recibir un trasplante de médula ósea utilizando las células progenitoras de médula ósea recogidas antes del tratamiento. Esto es útil, por ejemplo, cuando un individuo necesita ser sometido a un protocolo de quimioterapia que suprimirá la médula ósea.

50

Puede ser deseable tratar adicionalmente un individuo con al menos un (es decir, uno o más) factor estimulante de colonias. Dicho factor puede administrarse, por ejemplo, antes o simultáneamente con la administración de al menos uno de los compuestos anteriormente descritos. Cuando la administración es simultánea, la combinación se puede administrar desde un único recipiente o dos (o más) recipientes separados. Un ejemplo de un factor estimulante de colonias adecuado es factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF). G-CSF induce que la médula ósea crezca y produzca más células madre. Un compuesto descrito en el presente documento ayuda a la liberación de células madre en la sangre circulante. Las células madre producidas en la médula ósea y liberadas en la sangre circulante, como resultado de la combinación de la administración (por separado o en conjunto) de un compuesto descrito en este documento y G-CSF, se pueden recoger, tal como se describe anteriormente. Dichas células madre recogidas pueden, por ejemplo, administrarse al individuo después de la quimioterapia. Las células madre vuelven a la médula ósea y producen células sanguíneas. La aplicación de un compuesto descrito en este documento para el desplazamiento y la recogida de las células progenitoras de médula ósea sana a partir de médula ósea tratadas con G-CSF proporciona células útiles, por ejemplo, para el trasplante de médula ósea.

65 Al menos un compuesto de Fórmula (I) y/o una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto de Fórmula (I) pueden usarse en procedimientos descritos en este documento para el tratamiento y/o prevención de



la metástasis tumoral. La metástasis tumoral puede surgir a partir de cáncer de páncreas. La metástasis tumoral puede surgir a partir de cáncer de próstata. La metástasis tumoral puede surgir a partir de cáncer de páncreas. La metástasis tumoral puede surgir a partir de cáncer de mama. Al menos un agente de quimioterapia adicional, tal como gemcitabina, se puede administrar al individuo.

5

Al menos un compuesto de Fórmula (I) y/o una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto de Fórmula (I) pueden usarse en procedimientos para el tratamiento y/o prevención de una enfermedad inflamatoria en la que se producen la adhesión o migración de las células en la enfermedad.

10 Los ejemplos de enfermedades inflamatorias incluyen trastornos inflamatorios de la piel, tales como dermatitis atópica y psoriasis. El tratamiento puede reducir (total o parcialmente) la enfermedad o una complicación asociada con la misma, tal como dolor. El tratamiento puede usarse conjuntamente con una o más otras terapias para dicha enfermedad inflamatoria o una complicación asociada con la misma.

15 Un compuesto de Fórmula (I) y/o una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto de Fórmula (I) se pueden usar para el tratamiento de al menos una de las enfermedades, trastornos y afecciones descritas en este documento o para la preparación o fabricación de un medicamento para usar en el tratamiento de al menos una de las enfermedades, trastornos y/o afecciones descritas en este documento. Cada uno de estos procedimientos y usos se describen en mayor detalle.

20

### Definiciones

Siempre que un término en la memoria descriptiva se identifica como un intervalo (por ejemplo, alquilo C<sub>1-4</sub>), el intervalo da a conocer de forma independiente e incluye cada elemento del intervalo. Como ejemplo no limitativo, 25 alquilos C<sub>1-4</sub> incluye, independientemente, alquilos C<sub>1</sub>, alquilos C<sub>2</sub>, alquilos C<sub>3</sub> y alquilos C<sub>4</sub>.

El término "al menos uno" se refiere a uno o más, tal como uno, dos, etc. Por ejemplo, el término "al menos un alquilo C<sub>1-4</sub>" se refiere a uno o más grupos alquilo C<sub>1-4</sub>, tales como un grupo alquilo C<sub>1-4</sub>, dos grupos alquilo C<sub>1-4</sub>, etc.

30 El término "alquilo" incluye grupos de hidrocarburos primarios, secundarios y terciarios, saturado lineal, ramificado y cíclico (también identificado como cicloalquilo). Los ejemplos no limitantes de grupos alquilo incluyen metilo, etilo, propilo, isopropilo, ciclopropilo, butilo, sec-butilo, isobutilo, terc-butilo, ciclobutilo, 1-metilbutilo, 1,1-dimetilpropilo, pentilo, ciclopentilo, isopentilo, neopentilo, ciclopentilo, hexilo, isohexilo y ciclohexilo. A menos que se indique otra cosa específicamente en la memoria descriptiva, un grupo alquilo que puede estar opcionalmente sustituido.

35

El término "alqueno" incluye grupos de hidrocarburos lineales, ramificados y cíclicos que comprenden al menos un doble enlace. El doble enlace de un grupo alqueno puede ser conjugado o sin conjugar con otro grupo insaturado. Los ejemplos no limitantes de grupos alqueno incluyen vinilo, alilo, butenilo, pentenilo, hexenilo, butadienilo, pentadienilo, hexadienilo, 2-etilhexenilo y ciclopent-1-en-1-ilo. A menos que se indique otra cosa específicamente en la memoria descriptiva, un grupo alqueno que puede estar opcionalmente sustituido.

40

El término "alquino" incluye grupos hidrocarburos lineales y ramificados que comprenden al menos un triple enlace. El enlace triple de un grupo alquino puede ser no conjugado o conjugado con otro grupo insaturado. Los ejemplos no limitantes de grupos alquino incluyen etinilo, propinilo, butinilo, pentinilo y hexinilo. A menos que se 45 indique otra cosa específicamente en la memoria descriptiva, un grupo alquino puede estar opcionalmente sustituido.

El término "arilo" incluye un grupo de sistema de anillo de hidrocarburo que comprende de 6 a 18 átomos de carbono en el anillo y al menos un anillo aromático. El grupo arilo puede ser un sistema de anillo monocíclico, bicíclico, 50 tricíclico o tetracíclico, que puede incluir sistemas de anillos condensados o puenteados. Ejemplos de grupos arilo no limitantes incluyen grupos arilo derivados de aceantrileno, acenaftileno, acefenantrileno, antraceno, azuleno, benceno, criseno, fluoranteno, fluoreno, as-indaceno, s-indaceno, indano, indeno, naftaleno, fenaleno, fenantreno, pleiadenilo, pireno y trifenileno. A menos que se indique otra cosa específicamente en la memoria descriptiva, un grupo arilo puede estar opcionalmente sustituido.

55

El término "arilalquilo" o "aralquilo" incluye grupos arilo, tal como se describe en la presente memoria, anclado al resto molecular de origen a través de un grupo alquilo, tal como se define en el presente documento. Los ejemplos no limitantes de un grupo arilalquilo o aralquilo incluyen bencilo, fenetilo y difenilmetilo. A menos que se indique otra cosa específicamente en la memoria descriptiva, un grupo arilalquilo o aralquilo puede estar 60 opcionalmente sustituido.

60

El término "cicloalquilo" o "anillo carbocíclico" incluye grupo hidrocarburo monocíclico o policíclico saturado, que puede incluir sistemas de anillos condensados o puenteados. Los ejemplos no limitantes de un grupo cicloalquilo incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, adamantilo y norbornilo. A menos 65 que se indique otra cosa específicamente en la memoria descriptiva, un grupo cicloalquilo puede estar opcionalmente sustituido.

El término "antagonista de la selectina E" incluye inhibidores de la E-selectina solamente, así como inhibidores de la E-selectina y, P-selectina o L-selectina, e inhibidores de la E-selectina, P-selectina y L-selectina.

5 El término "condensado" incluye cualquier estructura de anillo descrito en la presente memoria que está condensada a una estructura de anillo existente. Cuando el anillo condensado es un anillo heterociclilo o un anillo heteroarilo, cualquier átomo de carbono en la estructura de anillo existente que se convierte en parte del anillo heterociclilo condensado o el anillo heteroarilo condensado puede estar sustituido con un átomo de nitrógeno.

10 El término "halo" o "halógeno" incluye flúor, cloro, bromo y yodo.

El término "haloalquilo" incluye grupos alquilo, tal como se define en el presente documento, sustituidos por al menos un halógeno, tal como se define en el presente documento. Los ejemplos no limitantes incluyen trifluorometilo, difluorometilo, triclorometilo, 2,2,2-trifluoroetilo, 1,2-difluoroetilo, 3-bromo-2-fluoropropilo y 1,2-

15 dibromoetilo. Un "fluoroalquilo" es un haloalquilo que está sustituido con al menos un grupo fluoro. A menos que se indique otra cosa específicamente en la memoria descriptiva, un grupo haloalquilo puede estar opcionalmente sustituido.

El término "haloalqueno" incluye grupos alqueno, tal como se define en el presente documento, sustituidos por al menos un halógeno, tal como se define en el presente documento. Los ejemplos no limitantes incluyen fluoroetenilo, 1,2-difluoroetenilo, 3-bromo-2-fluoropropenilo y 1,2-dibromoetenilo. Un "fluoroalqueno" es un haloalqueno sustituido con al menos un grupo fluoro. A menos que se indique otra cosa específicamente en la memoria descriptiva, un grupo haloalqueno puede estar opcionalmente sustituido.

25 El término "haloalquino" incluye grupos alquino, tal como se define en el presente documento, sustituidos por al menos un halógeno, tal como se define en el presente documento. Los ejemplos no limitantes incluyen fluoroetinilo, 1,2-difluoroetinilo, 3-bromo-2-fluoropropinilo y 1,2-dibromoetinilo. Un "fluoroalquino" es un haloalquino sustituido con al menos un grupo fluoro. A menos que se indique otra cosa específicamente en la memoria descriptiva, un grupo haloalquino puede estar opcionalmente sustituido.

30 El término "heterociclilo" o "anillo heterocíclico" incluye grupos de anillos no aromáticos saturados o parcialmente insaturados de 3 a 18 miembros que comprenden de 2 a 12 átomos de carbono en el anillo y de 1 a 6 heteroátomos en el anillo elegidos cada uno independientemente de N, O, y S. A menos que se indique otra cosa específicamente en la memoria descriptiva, los grupos heterociclilo pueden ser un sistema anular monocíclico, bicíclico, tricíclico o tetracíclico, que puede incluir sistemas anulares condensados o puenteados; y los átomos de nitrógeno, carbono o azufre en el grupo heterociclilo pueden estar opcionalmente oxidados; el átomo de nitrógeno puede estar opcionalmente cuaternizado; y el grupo heterociclilo puede estar parcial o totalmente saturado. Los ejemplos no limitantes incluyen dioxolanilo, tienil [1,3]ditianilo, decahidroisoquinolilo, imidazolinilo, imidazolidinilo, isotiazolidinilo, isoxazolidinilo, morfolinilo, octahidroindolilo, octahidroisoindolilo, 2-oxopiperazinilo, 2-oxopiperidinilo, 2-

35 oxopirrolidinilo, oxazolidinilo, piperidinilo, piperazinilo, 4-piperidonilo, pirrolidinilo, pirazolidinilo, quinuclidinilo, tiazolidinilo, tetrahidrofurilo, tritiano, tetrahidropirano, tiomorfolinilo, tiamorfolinilo, 1-oxo-tiomorfolinilo, y 1,1-dioxo-tiomorfolinilo. A menos que se indique otra cosa específicamente en la memoria descriptiva, un grupo heterociclilo puede estar opcionalmente sustituido.

45 El término "heteroarilo" incluye grupos de anillo de 5 a 14 miembros que comprenden de 1 a 13 átomos de carbono en el anillo y de 1 a 6 heteroátomos en el anillo elegidos cada uno independientemente de N, O, y S, y al menos un anillo aromático. A menos que se indique otra cosa específicamente en la memoria descriptiva, el grupo heteroarilo puede ser un sistema anular monocíclico, bicíclico, tricíclico o tetracíclico, que pueden incluir sistemas anulares condensados o puenteados; y los átomos de nitrógeno, carbono o azufre en el radical heteroarilo pueden estar

50 opcionalmente oxidados; el átomo de nitrógeno puede estar opcionalmente cuaternizado. Los ejemplos no limitantes incluyen azepinilo, acridinilo, bencimidazolilo, benzotiazolilo, benzindolilo, benzodioxolilo, benzofuranilo, benzoxazolilo, benzotiazolilo, benzotiadiazolilo, benzo [b] [1,4] dioxepinilo, 1,4-benzodioxanilo, benzonaftofuranilo, benzoxazolilo, benzodioxolilo, benzodioxinilo, benzopirano, benzopiranonilo, benzofuranilo, benzofuranonilo, benzotienilo (benzotiofenilo), benzotriazolilo, benzo[4,6]imidazo[1,2-a]piridinilo, carbazolilo, cinolinilo, dibenzofuranilo,

55 dibenzotiofenilo, furanilo, furanonilo, isotiazolilo, imidazolilo, indazolilo, indolilo, indazolilo, isoindolilo, indolinilo, isoindolinilo, isoquinolilo, indolizínilo, isoxazolilo, naftiridinilo, oxadiazolilo, 2-oxoazepinilo, oxazolilo, oxiranilo, 1-oxidopiridinilo, 1-oxidopirimidinilo, 1-oxidopirazinilo, 1-oxidopiridazinilo, 1-fenil-1H-pirrolilo, fenazinilo, fenotiazinilo, fenoxazinilo, ftalazinilo, pteridinilo, purinilo, pirrolilo, pirazolilo, piridinilo, pirazinilo, pirimidinilo, piridazinilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, quinolinilo, quinuclidinilo, isoquinolinilo, tetrahidroquinolinilo, tiazolilo, tiadiazolilo,

60 triazolilo, tetrazolilo, triazinilo, y tiofenilo (es decir, tienilo). A menos que se indique otra cosa específicamente en la memoria descriptiva, un grupo heteroarilo puede estar opcionalmente sustituido.

El término "sales farmacéuticamente aceptables" incluye sales de adición de ácido y de base. Los ejemplos no limitantes de sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables incluyen cloruros, bromuros, sulfatos, nitratos, fosfatos, sulfonatos, metanosulfonatos, formiatos, tartratos, maleatos, citratos, benzoatos, salicilatos, y ascorbato. Los ejemplos no limitantes de sales de adición de bases farmacéuticamente aceptables incluyen sales

de sodio, potasio, litio, amonio (sustituido y no sustituido), calcio, magnesio, hierro, zinc, cobre, manganeso y aluminio. Las sales farmacéuticamente aceptables pueden, por ejemplo, obtenerse usando procedimientos estándar bien conocidos en el campo de los productos farmacéuticos.

5 El término "profármaco" incluye compuestos que se pueden transformar, por ejemplo, en condiciones fisiológicas o mediante solvolisis, en un compuesto biológicamente activo descrito en este documento. Por lo tanto, el término "profármaco" incluye precursores metabólicos de compuestos descritos en el presente documento que son farmacéuticamente aceptables. Una discusión de profármacos se puede encontrar, por ejemplo, en Higuchi, T., et al., "Pro-drugs as Novel Delivery Systems," ACS Symposium Series, Vol. 14, y en Bioreversible Carriers in Drug  
10 Design, ed. Edward B. Roche, American Pharmaceutical Association y Pergamon Press, 1987. El término "profármaco" también incluye portadores unidos covalentemente que liberan el compuesto o compuestos activos, tal como se describe en este documento, in vivo cuando dicho profármaco se administra a un sujeto. Los ejemplos no limitantes de profármacos incluyen ésteres y derivados amida de grupos funcionales hidroxilo, carboxilo, mercapto y amino en los compuestos descritos en el presente documento.

15 El término "sustituido" incluye la situación en la que, en cualquiera de los grupos anteriores, al menos un átomo de hidrógeno se sustituye por un átomo que no es hidrógeno, tal como, por ejemplo, un átomo de halógeno, tal como F, Cl, Br, y I; un átomo de oxígeno en grupos, tales como grupos hidroxilo, grupos alcoxi y grupos éster; un átomo de azufre en grupos, tales como grupos tiol, grupos tioalquilo, grupos sulfona, grupos sulfonilo y grupos sulfóxido; un  
20 átomo de nitrógeno en grupos, tales como aminas, amidas, alquilaminas, dialquilaminas, arilaminas, alquilarilaminas, diarilaminas, N-óxidos, imidas, y enaminas; un átomo de silicio en grupos, tales como grupos trialkilsililo, grupos dialquilarilsililo, grupos alquildiarilsililo, y grupos triarilsililo; y otros heteroátomos en diversos otros grupos. "Sustituido" incluye también la situación en la que, en cualquiera de los grupos anteriores, al menos un átomo de hidrógeno se reemplaza por un enlace de orden superior (por ejemplo, un doble o triple enlace) a un  
25 heteroátomo, tal como oxígeno en grupos oxo, carbonilo, carboxilo y éster; y nitrógeno en grupos, tales como iminas, oximas, hidrazonas y nitrilos.

El término "tioalquilo" incluye grupos  $-SR_a$  en los que  $R_a$  se selecciona entre grupos alquilo, alquenilo y alquinilo, tal como se define en el presente documento. A menos que se indique otra cosa específicamente en la memoria, un  
30 grupo tioalquilo puede estar opcionalmente sustituido.

La presente descripción incluye dentro de su alcance todos los posibles isómeros geométricos, por ejemplo, isómeros Z y E (isómeros cis y trans), de los compuestos, así como todos los posibles isómeros ópticos, por ejemplo diastereoisómeros y enantiómeros, de los compuestos. Además, la presente descripción incluye en su alcance tanto  
35 los isómeros individuales como cualquier mezclas de los mismos, por ejemplo, mezclas racémicas. Los isómeros individuales pueden obtenerse usando las formas isómeras correspondientes del material de partida o pueden separarse después de la preparación del compuesto final de acuerdo con procedimientos de separación convencionales. Para la separación de isómeros ópticos, por ejemplo, enantiómeros, de la mezcla de los mismos, se pueden usar procedimientos de separación convencionales, por ejemplo, cristalización fraccionada.

40 La presente descripción incluye en su alcance todos los tautómeros posibles. Además, la presente descripción incluye en su alcance tanto los tautómeros individuales como las mezclas de los mismos.

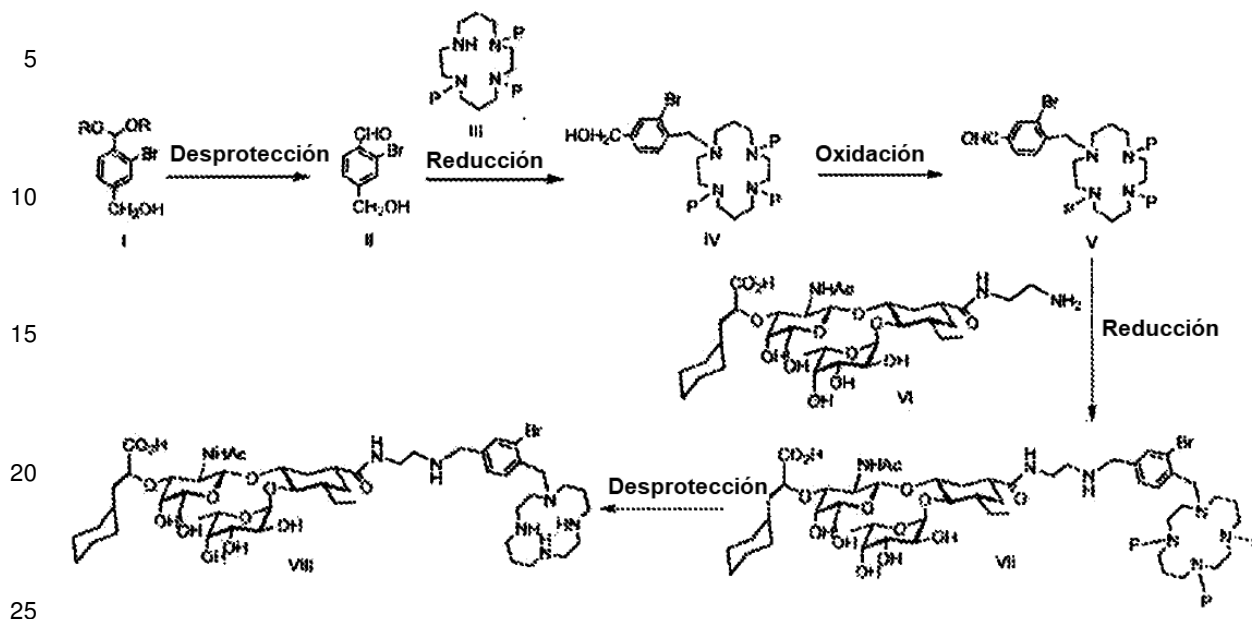
#### Procedimientos de síntesis del compuesto

45 Los compuestos de Fórmula (I) se pueden preparar de acuerdo con los esquemas de reacción generales I y II, a continuación. Se entiende que un experto en la técnica puede ser capaz de producir estos compuestos mediante procedimientos similares o mediante la combinación de otros procedimientos conocidos para un experto normal en la técnica. También se entiende que un experto en la técnica sería capaz de producir, de una manera similar, como se  
50 describe a continuación, otros compuestos de fórmula (I) no ilustrados específicamente en este documento mediante el uso de componentes de partida apropiados y la modificación de los parámetros de la síntesis, según sea necesario. En general, los componentes de partida pueden obtenerse de fuentes, tales como Sigma Aldrich, Lancaster Synthesis, Inc., Maybridge, Matrix Scientific, TCI y Fluorochem USA, etc. y/o sintetizarse de acuerdo con fuentes conocidas por los expertos en la técnica (véase, por ejemplo, Advanced Organic Chemistry: Reactions,  
55 Mechanisms, and Structure, 5ª edición (Wiley, diciembre de 2000)) y/o prepararse, tal como se describe en el presente documento.

#### Esquema general de reacción I

60

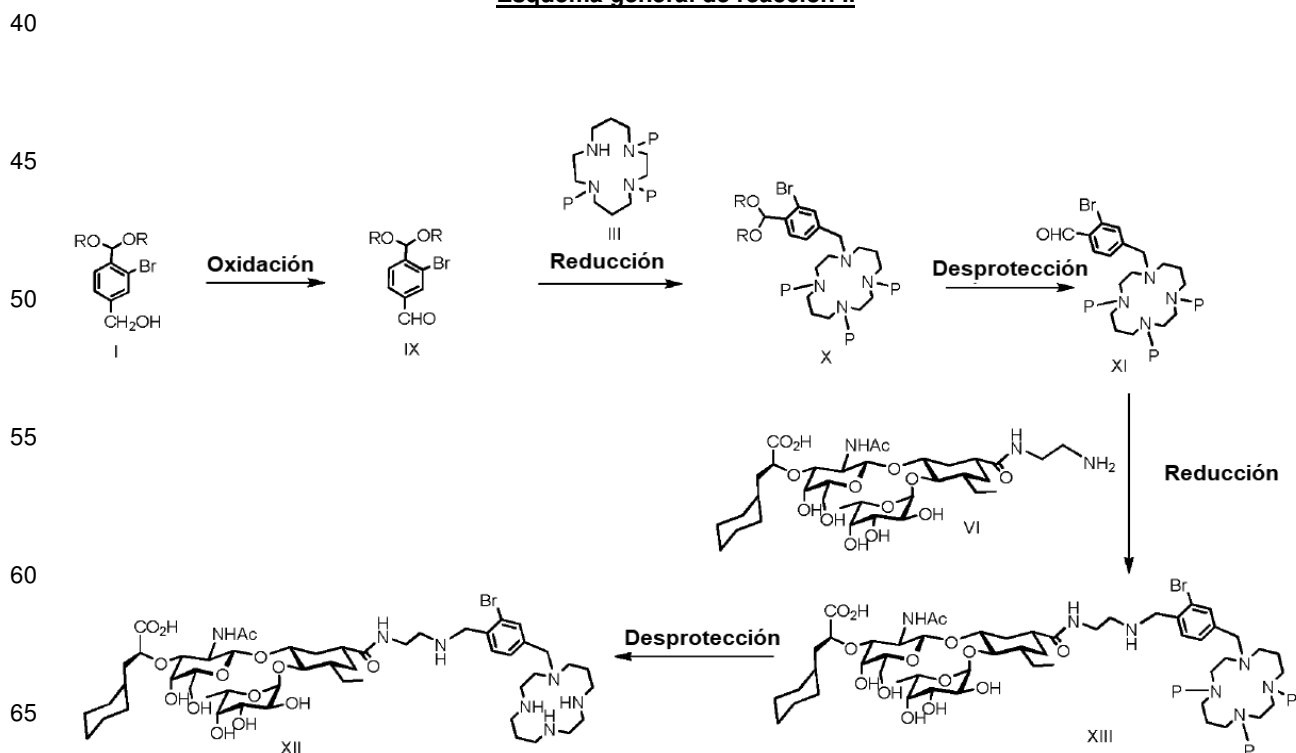
65



La desprotección del compuesto I proporciona hidroximetil aldehído bromado II. La aminación reductora con un ciclam adecuadamente triprotegido genera el compuesto IV. La oxidación proporciona el aldehído V que se puede acoplar al compuesto VI (WO 2013/096926) a través de aminación reductora. La desprotección a continuación proporciona un compuesto tal como se ha descrito.

Alternativamente, el bromuro regioisomérico puede prepararse de acuerdo con el Esquema II. La oxidación del compuesto I proporciona el aldehído IX. La aminación reductora con un ciclam adecuadamente triprotegido proporciona el intermedio X. La desprotección proporciona XI que se puede acoplar con el compuesto VI a través de una aminación reductora para proporcionar XIII. La desprotección a continuación proporciona un compuesto tal como se ha descrito.

**Esquema general de reacción II**



Los expertos en la técnica entenderán que, en los procesos descritos en el presente documento, los grupos funcionales de compuestos intermedios pueden necesitar ser protegidos por al menos un grupo protector adecuado. Los ejemplos no limitantes de tales grupos funcionales incluyen, grupos hidroxilo, grupos aldehído, grupos amino, grupos mercapto y grupos ácido carboxílico. Los ejemplos no limitantes de grupos protectores adecuados para grupos hidroxilo incluyen grupos trialkilsililo y diarilalkilsililo (por ejemplo, t-butildimetilsililo, t-butildifenilsililo o trimetilsililo), tetrahidropirano y bencilo. Los ejemplos no limitantes de grupos protectores adecuados para grupos aldehído incluyen 1,3-dioxanos y 1,3-dioxolanos. Los ejemplos no limitantes de grupos protectores adecuados para amino, amidino y guanidino incluyen grupos t-butoxicarbonilo, benciloxicarbonilo, aliloxicarbonilo y trifluoroacetilo. Ejemplos no limitantes de grupos protectores adecuados para mercapto incluyen -C(O)-R" (donde R" es alquilo, arilo o arilalquilo), p-metoxibencilo, y tritilo. Los ejemplos no limitantes de grupos protectores adecuados para ácido carboxílico incluyen ésteres de alquilo, arilo y arilalquilo. Los grupos protectores pueden añadirse o eliminarse de acuerdo con técnicas estándar, que son conocidas para un experto en la técnica y tal como se describe en el presente documento. El uso de grupos protectores, por ejemplo, se describe en detalle en Green, TW y PGM Wutz, *Protective Groups in Organic Synthesis* (1999), 3ª Ed., Wiley. Como entenderá un experto en la técnica, el grupo protector puede ser también una resina de polímero tal como una resina Wang, resina Rink o una resina de 2-clorotritilo-cloruro.

#### Procedimientos para la caracterización de compuestos heterobifuncionales

20 La actividad biológica de un compuesto heterobifuncional descrito en este documento puede determinarse, por ejemplo, mediante la realización de al menos un estudio *in vitro* y/o *in vivo* realizado de manera rutinaria en la técnica y que se describe en este documento o en la técnica. Los ensayos *in vitro* incluyen, sin limitación, ensayos de unión, inmunoensayos, ensayos de unión competitiva y ensayos de actividad basados en células.

25 Puede utilizarse un ensayo de inhibición para cribar antagonistas de E-selectina. Por ejemplo, puede realizarse un ensayo para caracterizar la capacidad de un compuesto descrito en este documento para inhibir (es decir, reducir, bloquear, disminuir o prevenir de una manera estadística o biológicamente significativa) la interacción de E-selectina con sLE<sup>a</sup> o sLE<sup>x</sup>. El ensayo de inhibición puede ser un ensayo de unión competitiva, que permite la determinación de los valores de IC<sub>50</sub>. A modo de ejemplo, puede inmoviliarse la quimera E-selectina/Ig sobre una matriz (por ejemplo, una placa de múltiples pocillos, que puede estar fabricado de un polímero, tal como poliestireno; un tubo de ensayo, y similares); se puede añadir una composición para reducir la unión no específica (por ejemplo, una composición que comprende leche desnatada en polvo o albúmina de suero bovino u otro tampón de bloqueo utilizado rutinariamente por una persona experta en la técnica); la E-selectina inmovilizada puede ponerse en contacto con el compuesto candidato en presencia de sLe<sup>a</sup> que comprende un grupo informador bajo condiciones y durante un tiempo suficiente para permitir que sLe<sup>a</sup> se una a E-selectina inmovilizada; la E-selectina inmovilizada se puede lavar; y se puede detectar la cantidad de sLe<sup>a</sup> unida a E-selectina inmovilizada. Las variaciones de tales etapas se pueden llevar a cabo fácilmente y de forma rutinaria por un experto en la técnica.

Se puede usar un ensayo de inhibición para cribar el antagonismo de la quimiotaxis mediada por CXCR4. Por ejemplo, puede realizarse un ensayo para medir la capacidad de un antagonista de CXCR4 glucomimético para inhibir la migración de las células CCRF-CEM, que expresan CXCR4 en sus superficies celulares, a través de una membrana hacia el ligando de CXCR4 CXCL12 (SDF-1 $\alpha$ ). A modo de ejemplo, las células CCRF-CEM son linfoblastos T humanos que expresan CXCR4 en la superficie celular. Las células se pueden marcar con 3  $\mu$ M de calceína AM para permitir la detección por fluorescencia. Las células pueden ser tratadas con un antagonista de CXCR4 y se colocan en la cámara superior de un inserto Transwell. Los transwell pueden colocarse en los pocillos de una placa de 24 pocillos que conteniendo cada pocillo 600  $\mu$ l de RPMI 1640 más FBS al 2% y 50 ng/ml de CXCL12 (SDF1 $\alpha$ ). Las células se dejan migrar a través de la membrana desde la cámara superior a la cámara inferior durante 3 horas a 37 °C en 5% de CO<sub>2</sub>. Los insertos transwell pueden ser extraídos de la placa de 24 pocillos y la fluorescencia en las cámaras inferiores se pueden medir usando un Molecular Devices FlexStation 3 con una longitud de onda de excitación de 485 nm y una longitud de onda de emisión de 538 nm.

Alternativamente, puede usarse un ensayo para medir la capacidad de un antagonista de CXCR4 glucomimético para inhibir la unión de CXCL12 (SDF-1 $\alpha$ ) a células CHO que han sido manipulados genéticamente para expresar CXCR4 en la superficie celular. Un experto en la técnica puede activar CXCR4 por la unión al ligando (CXCL12), causando que Gi se disocie del complejo de CXCR4. El CXCR4 activado se puede unir a la adenilil ciclasa, inactivándolo por lo tanto, lo que da lugar a niveles disminuidos de AMPc intracelular. El AMPc intracelular es generalmente bajo, por lo que la disminución de los bajos niveles de AMPc por un receptor acoplado a Gi será difícil de detectar. Se añade forskolina a las células CHO para activar directamente la adenilil ciclasa (sin pasar por todos los GPCR), elevando así el nivel de AMPc en la célula, de modo que una respuesta de Gi se puede observar fácilmente. La interacción de CXCL12 con CXCR4 disminuye el nivel intracelular de AMPc y la inhibición de la interacción de CXCL12 con CXCR4 por un antagonista de CXCR4 aumenta el nivel de AMPc intracelular, que se mide mediante luminiscencia.

Alternativamente, un experto en la técnica puede usar un ensayo para medir la capacidad de un antagonista de CXCR4 glucomimético para bloquear la unión de un anticuerpo anti-CXCR4 a células Jurkat, que expresan CXCR4 en la superficie celular. Las células Jurkat pueden tratarse con un antagonista de CXCR4 seguido de un anticuerpo

anti-CXCR4 conjugado con ficoeritrina. El anticuerpo se puede dejar unirse a las células durante 1 hora a 4 °C. Las células se pueden lavar y la unión del anticuerpo anti-CXCR4-PE a las células puede evaluarse mediante citometría de flujo.

- 5 Las condiciones para un ensayo particular incluyen la temperatura, tampones (incluyendo sales, cationes, medios), y otros componentes que mantienen la integridad de cualquier célula usada en el ensayo y el compuesto, que serán familiar para una persona experta en la técnica y/o que se pueden determinar fácilmente. Un experto en la técnica también entiende fácilmente que los controles apropiados se pueden diseñar y pueden incluir cuando se realizan los procedimientos in vitro y los procedimientos in vivo descritos en este documento.

10

La fuente de un compuesto que se caracteriza por al menos un ensayo y las técnicas descritas en este documento y en el estado de la técnica puede ser una muestra biológica que se obtiene de un sujeto que ha sido tratado con el compuesto. Las células que pueden utilizarse en el ensayo también se pueden proporcionar en una muestra biológica. Una "muestra biológica" puede incluir una muestra de un sujeto y puede ser una muestra de sangre (de la que se pueden preparar suero o plasma), una muestra de biopsia, uno o más fluidos corporales (por ejemplo, lavado pulmonar, ascitis, lavados de la mucosa, líquido sinovial, orina), médula ósea, ganglios linfáticos, explante de tejido, cultivo de órganos, o cualquier otra preparación de tejido o célula del sujeto o una fuente biológica. Una muestra biológica puede incluir además una preparación de tejido o células en la que la integridad morfológica o estado físico han sido alterados, por ejemplo, mediante disección, disociación, solubilización, fraccionamiento, homogenización, extracción bioquímica o química, pulverización, liofilización, tratamiento con ultrasonidos, o cualquier otro medio para el procesamiento de una muestra derivada de un sujeto o fuente biológica. El sujeto o fuente biológica puede ser un animal humano o no humano, un cultivo de células primarias (por ejemplo, células inmunes), o una línea celular adaptada a cultivo, incluyendo pero no limitado a, las líneas celulares modificadas genéticamente que pueden contener secuencias de ácido nucleico recombinante cromosómicamente integrado o episomal, líneas de células

15  
20  
25

inmortalizadas o inmortalizables, líneas celulares híbridas de células somáticas, líneas de células diferenciadas o diferenciables, líneas celulares transformadas, y similares.

Como se describe en el presente documento, los procedimientos para la caracterización de inhibidores heterobifuncionales incluyen estudios de modelos animales. Ejemplos de modelos animales no limitantes para los cánceres líquidos usados en la técnica incluyen mieloma múltiple (véase, por ejemplo, DeWeerd, Nature 480: S38-S39 (15 de diciembre de 2011) doi: 10.1038/480S38a; publicado en Internet el 14 diciembre de 2011; Mitsiades et al., Clin Cancer Res 2009 15: 1.210.021 (2009)); leucemia mieloide aguda (AML) (Zuber et al, Genes Dev 1 abril 2009; 23 (7): 877-889). Los modelos animales para la leucemia linfoblástica aguda (ALL) han sido utilizados por personas con experiencia en la técnica desde hace más de dos décadas. Numerosos modelos animales de ejemplo

30  
35

para cánceres de tumores sólidos son utilizados rutinariamente y son bien conocidos para las personas de experiencia ordinaria en la técnica.

Tal como se entiende por un experto en la técnica médica, los términos "tratar" y "tratamiento" incluyen el tratamiento médico de una enfermedad, trastorno o afección de un sujeto (es decir, paciente, individuo) (ver, por ejemplo, el Diccionario Médico de Stedman). En general, un régimen de dosis y tratamiento apropiados proporcionan al menos uno de los compuestos de la presente descripción en una cantidad suficiente para proporcionar un beneficio terapéutico y/o profiláctico. Para tanto el tratamiento terapéutico como para medidas profilácticas o preventivas, el beneficio terapéutico y/o profiláctico incluye, por ejemplo, un resultado clínico mejorado, en el que el objetivo es prevenir o ralentizar o retardar (disminuir) un cambio o trastorno fisiológico indeseado, o prevenir o

40  
45  
50  
55

ralentizar o retardar (disminuir) la expansión o la gravedad de dicho trastorno. Tal como se describe en el presente documento, los resultados clínicos beneficiosos o deseados del tratamiento de un sujeto incluyen, pero no se limitan a, la reducción, la disminución o el alivio de los síntomas que resultan de o están asociados con la enfermedad, afección o trastorno a tratar; disminución de la aparición de los síntomas; mejor calidad de vida; estado más largo libre de enfermedad (es decir, la disminución de la probabilidad o la propensión a que el sujeto presente síntomas sobre la base de los cuales se realiza un diagnóstico de una enfermedad); disminución de la extensión de la enfermedad; estado estabilizado (es decir, no empeoramiento) de la enfermedad; retraso o ralentización de la progresión de la enfermedad; mejora o paliación del estado de la enfermedad; y la remisión (ya sea parcial o total), ya sea detectable o no detectable; y/o la supervivencia general. "Tratamiento" puede incluir la prolongación de la supervivencia en comparación con la supervivencia esperada si un sujeto no recibiera el tratamiento. Los sujetos en

necesidad de tratamiento incluyen aquellos que ya tienen la enfermedad, afección o trastorno, así como sujetos propensos a tener o en riesgo de desarrollar la enfermedad, afección o trastorno, y aquellos en los que la enfermedad, afección o trastorno debe prevenirse (es decir, disminuir la probabilidad de aparición de la enfermedad, trastorno, o afección).

60 En algunos de los procedimientos descritos en el presente documento, el sujeto es un ser humano. En algunos de los procedimientos descritos en el presente documento, el sujeto es un animal no humano. Un sujeto en necesidad de tratamiento, tal como se describe en el presente documento, puede presentar al menos un síntoma o secuelas de la enfermedad, trastorno o afección descrita en el presente documento o puede estar en riesgo de desarrollar la enfermedad, trastorno, o afección. Los animales no humanos que se pueden tratar incluyen mamíferos, por ejemplo,

65

primates no humanos (por ejemplo, mono, chimpancé, gorila, y similares), roedores (por ejemplo, ratas, ratones,

jerbos, hámsters, hurones, conejos), lagomorfos, porcino (por ejemplo, cerdo, minicerdo), equino, canino, felino, bovino, y otros animales domésticos, de granja y de zoológico.

La eficacia de los compuestos de la presente descripción en el tratamiento y/o prevención de una enfermedad, trastorno o afección descrita en el presente documento puede determinarse fácilmente por un experto en las técnicas médicas y clínicas. Determinar y ajustar un régimen de dosificación apropiado (por ejemplo, el ajuste de la cantidad de compuesto por dosis y/o el número de dosis y frecuencia de dosificación) puede también se pueden realizar fácilmente por un experto en las técnicas médicas y clínicas. Se puede utilizar uno o cualquier combinación de los procedimientos de diagnóstico, incluyendo examen físico, evaluación y seguimiento de síntomas clínicos, y el resultado de las pruebas analíticas y los procedimientos descritos en el presente documento, para monitorizar el estado de salud del sujeto.

#### Composiciones farmacéuticas y procedimientos de uso de composiciones farmacéuticas

También se describen en el presente documento composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un compuesto de fórmula (I). La composición farmacéutica puede comprender además al menos un ingrediente farmacéuticamente aceptable adicional.

En formas de dosificación farmacéutica, uno cualquiera o más de los compuestos de la presente descripción se pueden administrar en forma de un derivado farmacéuticamente aceptable, tal como una sal, y/o también se pueden utilizar solos y/o en asociación apropiada, así como en combinación, con otros compuestos farmacéuticamente activos.

Una cantidad eficaz o cantidad terapéuticamente eficaz se refiere a una cantidad de un compuesto de la presente descripción o una composición que comprende al menos uno de dichos compuestos que, cuando se administra a un sujeto, ya sea como una dosis única o como parte de una serie de dosis, es eficaz para producir al menos un efecto terapéutico. Las dosis óptimas pueden determinarse generalmente usando modelos experimentales y/o ensayos clínicos. El diseño y ejecución de los estudios preclínicos y clínicos para cada uno de los agentes terapéuticos (incluyendo cuando se administran para el beneficio profiláctico) descritos en este documento, están dentro de la experiencia de un experto en la técnica relevante. La dosis óptima de un agente terapéutico puede depender de la masa corporal, el peso, y/o volumen de sangre del sujeto. En general, la cantidad de al menos un compuesto de Fórmula (I), tal como se describe en el presente documento, que está presente en una dosis, puede variar de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 1000 mg por kg de peso del sujeto. La dosis mínima que es suficiente para proporcionar una terapia eficaz puede utilizarse en algunos casos. Los sujetos pueden generalmente ser controlados por la eficacia terapéutica usando ensayos adecuados para la enfermedad o afección que se está tratando o previniendo, cuyos ensayos serán familiares para los que tienen conocimientos ordinarios en la técnica y se describen en este documento. El nivel de un compuesto que se administra a un sujeto se puede controlar mediante la determinación del nivel del compuesto (o un metabolito del compuesto) en un fluido biológico, por ejemplo, en la sangre, la fracción de sangre (por ejemplo, suero), y/o en la orina, y/u otra muestra biológica del sujeto. Cualquier procedimiento utilizado en la técnica para detectar el compuesto, o metabolito del mismo, se puede utilizar para medir el nivel del compuesto en el transcurso de un régimen terapéutico.

La dosis de un compuesto descrito en el presente documento puede depender de la afección del sujeto, es decir, la etapa de la enfermedad, la gravedad de los síntomas causados por la enfermedad, estado de salud general, así como la edad, el sexo y el peso, y otros factores evidentes para un experto en la técnica médica. De manera similar, la dosis del agente terapéutico para el tratamiento de una enfermedad o trastorno puede determinarse de acuerdo a los parámetros entendidos por un experto en la técnica médica.

Las composiciones farmacéuticas se pueden administrar de cualquier manera apropiada a la enfermedad o trastorno a tratar, tal como se determina por los expertos en las técnicas médicas. Una dosis apropiada y una duración y frecuencia de administración adecuados serán determinadas por dichos factores, tal como se discute en el presente documento, incluyendo la condición del paciente, el tipo y gravedad de la enfermedad del paciente, la forma particular del principio activo y el procedimiento de administración. En general, una dosis (o dosis eficaz) y régimen de tratamiento apropiados proporcionan la composición o composiciones farmacéuticas, tal como se describen en este documento, en una cantidad suficiente para proporcionar un beneficio terapéutico y/o profiláctico (por ejemplo, un mejor resultado clínico, tal como remisiones parciales o completas más frecuentes, o supervivencia global y/o libre de enfermedad más larga, o una disminución de la gravedad de los síntomas u otro beneficio, tal como se describe en detalle anteriormente).

Las composiciones farmacéuticas descritas en este documento pueden administrarse a un sujeto en necesidad del mismo mediante cualquiera de varias rutas que suministran de manera eficaz una cantidad eficaz del compuesto. Las vías de administración adecuadas no limitantes incluyen la administración tópica, oral, nasal, intratecal, enteral, bucal, sublingual, transdérmica, rectal, vaginal, intraocular, subconjuntival, sublingual, y parenteral, incluyendo inyección y/o infusión subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraesternal, intracavernosa, intrameatal e intrauretral.

La composición farmacéutica descrita en el presente documento pueden ser soluciones, suspensiones o emulsiones acuosas estériles o no acuosas estériles, y puede comprender adicionalmente al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable (es decir, un material no tóxico que no interfiere con la actividad del ingrediente activo). Tales composiciones pueden estar en forma de un sólido, líquido o gas (aerosol). Alternativamente, las composiciones descritas en este documento pueden formularse como un liofilizado, o los compuestos descritos en este documento pueden ser encapsulados dentro de liposomas usando tecnología conocida en la técnica. Las composiciones farmacéuticas pueden comprender además al menos un ingrediente farmacéuticamente aceptable adicional, que puede ser biológicamente activo o inactivo. Los ejemplos no limitantes de tales ingredientes incluyen tampones (por ejemplo, solución salina tamponada neutra o solución salina tamponada con fosfato), carbohidratos (por ejemplo, glucosa, manosa, sacarosa o dextranos), manitol, proteínas, polipéptidos, aminoácidos (por ejemplo, glicina), antioxidantes, agentes quelantes (por ejemplo, EDTA y glutatión), estabilizantes, colorantes, agentes aromatizantes, agentes de suspensión y conservantes.

En las composiciones descritas en este documento se puede utilizar cualquier excipiente o portador adecuado conocido por los expertos en la técnica para usar en composiciones farmacéuticas. Los excipientes para uso terapéutico son bien conocidos, y se describen, por ejemplo, en Remington: The Science and Practice of Pharmacy (Gennaro, 21 Ed Mack Pub Co., Easton, PA (2005)). En general, el tipo de excipiente se selecciona basándose en el modo de administración, así como en la composición química del principio o principios activos. Las composiciones farmacéuticas se pueden formular para el modo particular de administración. Para la administración parenteral, las composiciones farmacéuticas pueden comprender, además, agua, solución salina, alcoholes, grasas, ceras y tampones. Para la administración oral, las composiciones farmacéuticas pueden comprender, además, al menos un ingrediente seleccionado, por ejemplo, de cualquiera de los excipientes mencionados anteriormente, excipientes y portadores sólidos, tales como manitol, lactosa, almidón, estearato de magnesio, sacarina sódica, talco, celulosa, caolín, glicerina, dextrinas de almidón, alginato de sodio, carboximetilcelulosa, etilcelulosa, glucosa, sacarosa y carbonato de magnesio.

Las composiciones farmacéuticas (por ejemplo, para la administración oral o la administración por inyección) pueden estar en forma de un líquido. Una composición farmacéutica líquida puede incluir, por ejemplo, al menos uno los siguientes: un diluyente estéril, tal como agua para inyección, solución salina, preferiblemente solución salina fisiológica, solución de Ringer, cloruro sódico isotónico, aceites fijos que pueden servir como el medio disolvente o de suspensión, polietilenglicoles, glicerina, propilenglicol u otros disolventes; agentes antibacterianos; antioxidantes; agentes quelantes; tampones y agentes para el ajuste de la tonicidad, tales como cloruro de sodio o dextrosa. Una preparación parenteral puede incluirse en ampollas, jeringas desechables o viales de múltiples dosis hechos de vidrio o plástico. La composición farmacéutica puede comprender solución salina fisiológica. La composición farmacéutica puede ser una composición farmacéutica inyectable y la composición farmacéutica inyectable puede ser estéril.

Para las formulaciones orales, al menos uno de los compuestos de la presente descripción puede utilizarse solo o en combinación con al menos un aditivo adecuado para fabricar comprimidos, polvos, gránulos y/o cápsulas, por ejemplo, los seleccionados de entre los aditivos convencionales, disgregantes, lubricantes, diluyentes, agentes tamponantes, agentes humectantes, conservantes, agentes colorantes y agentes aromatizantes. Las composiciones farmacéuticas se pueden formular para incluir al menos un agente tamponante, que puede proporcionar protección del principio activo del pH bajo del entorno gástrico y/o un recubrimiento entérico. Una composición farmacéutica puede formularse para la administración oral con al menos un agente aromatizante, por ejemplo, en una formulación líquida, sólida o semi-sólida y/o con un recubrimiento entérico.

Las formulaciones orales pueden proporcionarse como cápsulas de gelatina, que pueden contener el compuesto activo o biológico junto con portadores en polvo. Portadores y diluyentes similares se pueden utilizar para fabricar comprimidos. Los comprimidos y cápsulas se pueden fabricar como productos de liberación sostenida para proporcionar una liberación continua de principios activos durante un periodo de tiempo. Los comprimidos pueden estar recubiertos de azúcar o de una película para enmascarar cualquier sabor desagradable y proteger el comprimido de la atmósfera, o con un recubrimiento entérico para la disgregación selectiva en el tracto gastrointestinal.

Una composición farmacéutica se puede formular para la liberación sostenida o lenta. Tales composiciones pueden prepararse generalmente usando tecnología bien conocida y administrarse, por ejemplo, mediante implantación oral, rectal o subcutánea, o mediante implantación en el sitio diana deseado. Las formulaciones de liberación sostenida pueden contener el agente terapéutico activo dispersado en una matriz portadora y/o contenido dentro de un depósito rodeado por una membrana controladora de la velocidad. Los excipientes para usar dentro de dichas formulaciones son biocompatibles, y también pueden ser biodegradables; preferiblemente la formulación proporciona un nivel relativamente constante de liberación del componente activo. La cantidad de agente terapéutico activo contenido dentro de una formulación de liberación sostenida depende del sitio de implantación, la velocidad y duración esperada de la liberación, y de la naturaleza de la afección a tratar o prevenir.

Las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento se pueden formular como supositorios mezclando con una variedad de bases, tales como bases emulsionantes o bases solubles en agua. Las



composiciones farmacéuticas pueden prepararse como formulaciones de aerosol para ser administradas vía inhalación. Las composiciones pueden formularse en propelentes presurizados aceptables, tales como diclorodifluorometano, propano, nitrógeno y similares.

- 5 Los compuestos de la presente descripción y las composiciones farmacéuticas que comprenden estos compuestos se pueden administrar por vía tópica (por ejemplo, mediante administración transdérmica). Las formulaciones tópicas pueden estar en forma de un parche transdérmico, pomada, pasta, loción, crema, gel y similares. Las formulaciones tópicas pueden incluir uno o más de un agente de penetración o potenciador (también llamado potenciador de la permeación), espesante, diluyente, emulsionante, ayudante de la dispersión o aglutinante. Los potenciadores de la penetración físicos incluyen, por ejemplo, técnicas electroforéticas, tales como iontoforesis, uso de ultrasonidos (o "fonoforesis") y similares. Los potenciadores de la penetración químicos son agentes administrados ya sea antes de, con, o inmediatamente después de la administración del agente terapéutico, que aumentan la permeabilidad de la piel, particularmente del estrato córneo, para proporcionar una mayor penetración del fármaco a través de la piel. Potenciadores de la penetración químicos y físicos adicionales se describen en, por ejemplo, *Transdermal Delivery of Drugs*, AF Kydonieus (ED) 1987 CRL Press; *Percutaneous Penetration Enhancers*, eds. Smith et al. (CRC Press, 1995); Lennerås et al., *J. Pharm. Pharmacol.* 54: 499-508 (2002); Karande et al., *Pharm. Res.* 19: 655-60 (2002); Vaddi et al., *Int. J. Pharm.* 91: 1639-1651 (2002); Ventura et al., *J. Drug Target.* 9: 379-93 (2001); Shokri et al., *Int. J. Pharm.* 228 (1-2): 99-107 (2001); Suzuki et al., *Biol. Pharm. Bull.* 24: 698-700 (2001); Alberti et al., *J. Control Release* 71: 319-27 (2001); Goldstein et al., *Urology.* 57: 301-5 (2001); Kijavainen et al., *Eur. J. Pharm. Sci.* 10: 97-102 (2000); y Tenjarla et al., *Int. J. Pharm.* 192: 147-58 (1999).

Se describen kits que comprenden dosis unitarias de al menos un compuesto de la presente descripción, por ejemplo, en dosis orales o inyectables. Dichos kits pueden incluir un recipiente que comprende la dosis unitaria, un prospecto de información que describe el uso y los beneficios concomitantes del agente terapéutico en el tratamiento de la afección patológica de interés, y/u, opcionalmente, un aparato o dispositivo para la liberación del al menos un compuesto o composición que comprende el mismo.

## EJEMPLOS

### 30 EJEMPLO 1

#### INHIBIDOR HETEROBIFUNCIONAL DE LA E-SELECTINA Y RECEPTOR DE QUIMIOQUINAS CXCR4 (COMPUESTOS 9 y 16)

- 35 Los compuestos heterobifuncionales de fórmula (I) de ejemplo se sintetizaron como se describe en los Ejemplos 1-2 y tal como se muestra en los esquemas de síntesis de ejemplo establecidos en la Figura 1.

Síntesis del Compuesto 2. Se disolvió el compuesto 1 (2,5 g, 8,3 mmol, Qian et al, *Nature Communications*, 2, 2011, 495) en dioxano (30 ml) y se añadió H<sub>2</sub>O (20 ml) lentamente con agitación a temperatura ambiente. La solución se enfrió hasta 0 °C (baño de hielo) y se añadió lentamente acción NaBH<sub>4</sub> (3 g, 79,3 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 64 °C durante 16 h. La mezcla de reacción se enfrió hasta 0 °C y se inactivó con HCl 5N. Una masa sólida precipitó de la solución que se separó por filtración. El filtrado se diluyó con EtOAc (125 ml) y se transfirió a un embudo de separación. Las fases se separaron. La fase orgánica se lavó con solución salina (100 ml), se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna usando hexanos-EtOAc como fase móvil para dar el compuesto 2 (1,8 g, 6,6 mmol, 79,3%).

Síntesis del compuesto 3: El compuesto 2 (1,7 g, 6,2 mmol) se disolvió en THF (32 ml) y se añadió con agitación a temperatura ambiente HCl 10 N (30 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4,5 h. La mezcla de reacción se diluyó con H<sub>2</sub>O (150 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x125 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con solución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (1x125ml) y salmuera (1x125ml), se secaron (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna usando hexanos y EtOAc como fase móvil para dar el compuesto 3 (1,22 g, 5,7 mmol, 91,7%).

Síntesis del compuesto 5: Se evaporaron conjuntamente una mezcla del compuesto 4 (3,7 g, 7,58 mmol, *Tetrahedron Letters*, 2003, 44, 2481-2483) y el compuesto 3 (2,05 g, 9,53 mmol) con tolueno (2 x 40 ml) y se mantuvieron bajo vacío durante 30 min. La mezcla se disolvió en 1,2-dicloroetano (40 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 30 min en atmósfera de argón, se añadió Na(OAc)<sub>3</sub>BH (3,2 g, 15 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente bajo argón. Se añadió agua (60 ml) seguido por CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (80 ml). La mezcla de reacción se transfirió a un embudo de decantación y se recogió la fase orgánica. La fase acuosa se lavó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 60 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron sucesivamente con una solución fría saturada de NaHCO<sub>3</sub> (80 ml) y salmuera (80 ml), se secaron (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna usando hexanos y EtOAc como fase móvil para dar el compuesto 5 (4,5 g, 6,54 mmol, 86,3%).

65 Síntesis del compuesto 6: Se disolvió el compuesto 5 (4,5 g, 6,54 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50 ml) en atmósfera de argón y se enfrió en un baño de hielo. Se añadió reactivo de Dess-Martin (3,6 g, 8,49 mmol) y la mezcla de reacción se agitó

durante 3 h en atmósfera de argón durante cuyo tiempo la mezcla de reacción alcanzó la temperatura ambiente lentamente. La mezcla de reacción se diluyó con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (40 ml) y se lavó con una solución saturada fría de  $\text{NaHCO}_3$  y salmuera fría. La fase orgánica se secó ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), se filtró y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna usando hexanos-EtOAc como fase móvil para dar el compuesto **5** (3,6 g, 5,25 mmol, 80,28%).

**Síntesis del compuesto 8:** Se evaporó conjuntamente una mezcla del compuesto **6** (3,5 g, 5.11 mmol) y el compuesto **7** (2,8 g, WO2013/096926) con MeOH (3 x 50 ml) y se secó bajo vacío. El residuo se disolvió en MeOH (50 ml) y se agitó en atmósfera de argón durante 1 hora a temperatura ambiente. Se añadió  $\text{Na}(\text{OAc})_3\text{BH}$  (3,6 g, 16,99 mmol) y la mezcla de reacción se agitó en atmósfera de argón durante 17 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró. El residuo sólido se suspendió en  $\text{CHCl}_3$  (100 ml), se añadió  $\text{H}_2\text{O}$  (250 ml) con agitación. La mezcla se agitó durante 10 min a temperatura ambiente, tiempo durante el cual precipitó el producto sólido. El producto sólido se recogió por filtración, se lavó con agua y se secó bajo vacío para dar el compuesto **8** (4,4 g, 3,14 mmol, 82,2% basado en el compuesto **6**).

**Síntesis del compuesto 9:** A una solución de compuesto **8** (4,2 g, 3 mmol) en MeOH (100 ml) se añadió una solución acuosa de NaOH 1 N (50 ml) con agitación a temperatura ambiente. La mezcla de reacción (pH 12,9) se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. El pH de la mezcla de reacción resultante se ajustó a 8,9 mediante la adición de AcOH (3 ml). El disolvente se evaporó y a continuación se liofilizó. La masa sólida se disolvió en  $\text{H}_2\text{O}$  (20 ml) y el pH de la solución se ajustó a 9,5 mediante la adición de solución de NaOH. La desalación se llevó a cabo mediante el uso de una columna C18 de preempaquetada Sep-Pak (2 x 10g) usando  $\text{H}_2\text{O}$  (150 ml cada columna), MeOH al 50% en  $\text{H}_2\text{O}$  (60 ml cada columna), MeOH al 70% en  $\text{H}_2\text{O}$  (100 ml cada columna) y MeOH al 80% en  $\text{H}_2\text{O}$  (50 ml cada columna). El compuesto deseado se eluyó en MeOH al 50-80% en  $\text{H}_2\text{O}$ . Se combinaron y se concentraron hasta  $\frac{1}{4}$  del volumen total. La solución resultante se liofilizó para dar el compuesto **8** (2,9 g, 2,6 mmol, 86,7%). m/z calculado para  $\text{C}_{52}\text{H}_{88}\text{BrN}_7\text{O}_{14}$  [M + H]: 1116,2; encontrado: 1116,4.

**Síntesis del compuesto 10:** A una solución del compuesto **2** (0,225 g, 0,73 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  se añadió Celite, seguido de clorocromato de piridinio (0,28 g, 1,3 mmol) con agitación a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h y se filtró a través de un lecho de sílice y celite. El filtrado se evaporó a sequedad y se purificó por cromatografía en columna para dar el compuesto **10** (0,2 g).

**Síntesis del compuesto 12:** A una suspensión de ciclam (5 g, 25 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anhidro (150 ml) se añadió una solución de dialildicarbonato (12 ml, d 0,991g/ml, 83,7 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (100 ml) gota a gota con agitación. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche, durante la cual la mezcla de reacción se volvió verde claro y dio una solución clara. El disolvente se eliminó y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna usando  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y MeOH como fase móvil para dar el compuesto **12** (10,5 g, 23,2 mmol, 92,9%). CCF:  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -MeOH (95:5).

**Síntesis del compuesto 13:** Una solución del compuesto **10** (0,19 g, 0,7 mmol) y el compuesto **12** (0,45 g, 1 mmol) en MeOH (1 ml y 0,5 ml de THF) se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. A esta solución se añadió  $\text{Na}(\text{OAc})_3\text{BH}$  (0,36 g, 1,6 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. La solución se diluyó con EtOAc y se lavó con  $\text{H}_2\text{O}$ . La fase orgánica se secó ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) se filtró y se concentró a sequedad. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para dar el compuesto **13** (0,2 g).

**Síntesis del compuesto 14:** A una solución del compuesto **13** (0,24 g, 0,34 mmol) en THF (7 ml) se añadió HCl concentrado (5 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 10 h. La mezcla de reacción se diluyó con  $\text{H}_2\text{O}$  (20 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 16ml). Las fases orgánicas combinadas se secaron ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para dar el compuesto **14** (0,15 g).

**Síntesis del compuesto 15:** Una mezcla del compuesto **7** (0,1 g, 0,14 mmol, WO2013/096926) y el compuesto **14** (0,15 g, 0,23 mmol) en MeOH (1,5 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 30 min, seguido de la adición de  $\text{Na}(\text{OAc})_3\text{BH}$  (0,096 g, 0,45 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se concentró y el residuo se suspendió en MeOH. El sólido resultante se extrajo por filtración y el filtrado se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para dar el compuesto **15** (35 mg).

**Síntesis del compuesto 16:** A una solución del compuesto **15** (0,028 g, 0,02 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 ml) se añadió AcOH (0,005 ml, 0,09 mmoles) seguido de  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  (0,003 g, 0,003 mmol) y  $\text{Bu}_3\text{SNH}$  (0,017 ml, 0,06 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. La mezcla de reacción se diluyó con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 ml) y se extrajo con  $\text{H}_2\text{O}$  (8 ml). La capa acuosa se liofilizó, se disolvió en  $\text{H}_2\text{O}$  y se purificó mediante columna C18 Sep-Pak. La fracción correspondiente al producto se concentró y se disolvió en  $\text{H}_2\text{O}$ . El pH de la solución se ajustó a 9,5 con una solución de NaOH y se liofilizó para dar el compuesto **16** (6,5 mg) en forma una sal de Na. m/z calculado para  $\text{C}_{52}\text{H}_{88}\text{BrN}_7\text{O}_{14}$  [M + H]: 1116,2; encontrado: 1116,6

65 EJEMPLO 2

## ENSAYO DE CXCR4 PARA EVALUAR LA INHIBICIÓN DE LA QUIMIOTAXIS INDUCIDA POR SDF-1

Se utilizó un ensayo de quimiotaxis para medir la capacidad de un antagonista de CXCR4 glucomimético para inhibir la migración de las células CCRF-CEM, que expresan CXCR4 en sus superficies celulares, a través de una membrana hacia el ligando de CXCR4 CXCL12 (SDF-1 $\alpha$ ). Las células CCRF-CEM son linfoblastos T humanos que expresan CXCR4 en la superficie celular. Las células se marcaron con 3  $\mu$ M de calceína AM durante 15 minutos a 37 °C para permitir la detección por fluorescencia. Posteriormente, las células se sedimentaron a 250 xg durante 10 minutos y se resuspendieron hasta una concentración final de aproximadamente 5 x 10<sup>5</sup> células por ml en medio RPMI 1640 suplementado con FBS al 2%. Típicamente, se mezclaron 200  $\mu$ l de células con 22  $\mu$ l de una concentración 10x del compuesto a ensayar y se colocó a temperatura ambiente durante 10 minutos. Se evaluaron las células tratadas por duplicado, por lo que 100  $\mu$ l de las células se colocaron en la cámara superior de cada uno de dos insertos transwell (número Costar 3421; poros de 5,0  $\mu$ m; insertos de 6,5 mm de diámetro). Los transwells se colocaron en los pocillos de una placa de 24 pocillos conteniendo cada pocillo 600  $\mu$ l de RPMI 1640 más FBS al 2% y 50 ng/ml de CXCL12. Los pocillos de control negativo no contenían CXCL12 en la cámara inferior. Las células se dejaron migrar a través de la membrana desde la cámara superior a la cámara inferior durante 3 horas a 37 °C en 5% de CO<sub>2</sub>. Los insertos transwell se extrajeron de la placa de 24 pocillos y se midió la fluorescencia en las cámaras inferiores usando un Molecular Devices FlexStation 3 con una longitud de onda de excitación de 485 nm y una longitud de onda de emisión de 538 nm. Véase la Figura 4.

## 20 EJEMPLO 3

## ENSAYO DE ACTIVIDAD-UNIÓN DE E-SELECTINA

El ensayo de inhibición para cribar y caracterizar los antagonistas de E-selectina es un ensayo de unión competitiva, a partir del cual se pueden determinar los valores de IC<sub>50</sub>. La quimera E-selectina/Ig se inmovilizó en placas de microtitulación de 96 pocillos mediante incubación a 37 °C durante 2 horas. Para reducir la unión no específica, se añadió albúmina de suero bovino a cada pocillo y se incubó a temperatura ambiente durante 2 horas. La placa se lavó y se añadieron diluciones en serie de los compuestos de ensayo a los pocillos en presencia de conjugados de poliacrilamida sLe<sup>a</sup> biotinilada con estreptavidina/peroxidasa de rábano picante y se incubó durante 2 horas a temperatura ambiente.

Para determinar la cantidad de sLe<sup>a</sup> unido a E-selectina inmovilizada después del lavado, se añadió sustrato de peroxidasa, 3,3',5,5'-tetrametilbencidina (TMB). Después de 3' minutos, la reacción enzimática se detuvo por la adición de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> y se determinó la absorbancia de luz a una longitud de onda de 450 nm. Se determinó la concentración del compuesto de ensayo requerida para inhibir la unión en un 50% y se expresa como el valor de IC<sub>50</sub> para cada antagonista de E-selectina, tal como se muestra en la siguiente tabla. Los valores de IC<sub>50</sub> para los compuestos de ejemplo descritos en este documento se proporcionan en la siguiente tabla. Véase la Figura 5.

**Actividad del antagonista de E-selectina de compuestos heterobifuncionales**

40

Compuesto	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	rIC <sub>50</sub>
Compuesto 9	1,49	0,60
Compuesto 16	1,08	0,23

## EJEMPLO 4

## ENSAYO DE CXCR4 – INHIBICIÓN DE AMP CÍCLICO

45

El ensayo de CXCR4-AMPC mide la capacidad de un antagonista de CXCR4 glucomimético de inhibir la unión de CXCL12 (SDF-1 $\alpha$ ) a células CHO que han sido manipuladas genéticamente para expresar CXCR4 en la superficie celular. Se pueden adquirir kits de ensayo de DiscoveRx (95-0081E2CP2M; cAMP Hunter eXpress CXCR4 CHO-K1). Se siguió el protocolo de respuesta del antagonista del receptor acoplado a Gi descrito en el manual de instrucciones del kit. Los GPCR, tales como CXCR4, se acoplan típicamente a una de las 3 proteínas G: Gs, Gi o Gq. En las células CHO suministradas con el kit, CXCR4 está acoplada a Gi. Después de la activación de CXCR4 por la unión al ligando (CXCL12), Gi se disocia del complejo de CXCR4, se activa y se une a la adenilil ciclase, inactivándolo por lo tanto, lo que da lugar a niveles disminuidos de AMPc intracelular. El AMPc intracelular es generalmente bajo, por lo que la disminución de los bajos niveles de AMPc por un receptor acoplado a Gi será difícil de detectar. Se añade forskolina a las células CHO para activar directamente la adenilil ciclase (sin pasar por todos los GPCRs), elevando así el nivel de AMPc en la célula, de modo que se puede observar fácilmente una respuesta Gi. La interacción de CXCL12 con CXCR4 disminuye el nivel intracelular de AMPc y la inhibición de la interacción de CXCL12 con CXCR4 por un antagonista de CXCR4 aumenta el nivel de AMPc intracelular, que se mide mediante luminiscencia. Véase la Figura 6.

60

## EJEMPLO 5

INHIBICIÓN DE LA MIGRACIÓN LINFÁTICA y VASCULAR ENDOTELIAL HACIA FIBROBLASTOS ASOCIADOS A TUMORES

Se sembraron  $8,0 \times 10^5$  13,34 fibroblastos, células tumorales S2.013 y células tumorales Colo357 en un T-25. Se incubaron durante la noche. Se cambió el medio a EBM-2 y se dejó que las células se acondicionaran al medio durante 24 horas. Se recogieron los medios y se filtraron para eliminar los residuos. Se añadieron 750  $\mu$ l de medio acondicionado a los pocillos inferiores de una placa de migración con cámara de Boyden (3 réplicas/tipo de célula/tratamiento). Especificaciones del sembrado: 24 pocillos; poros de 8,0  $\mu$ m. Se añadieron  $3,0 \times 10^4$  hLEC o HUVEC a los pocillos superiores de la cámara de Boyden diluidas en EBM-2 (500  $\mu$ l/inserto) libre de suero. Se añadieron 100  $\mu$ g/ml de compuesto 9 a los pocillos superiores. Se dejó que HLEC o HUVEC migraran durante la noche. Después de la migración, se lavaron los insertos y se extrajeron las células no migradas en la parte superior de la membrana con un Q-tip. Se fijaron y tiñeron las células migradas con un kit Diff-Quik. Se extrajeron las membranas de los insertos y se montaron en un portaobjetos. Se dibujaron los cuadrantes sobre las membranas y se tomaron imágenes de cada cuadrante. Se cuantificó el número de células endoteliales migratorias. Véase la Figura 7.

EJEMPLO 6

INHIBICIÓN DE LA UNIÓN DE CÉLULAS PDAC A MONOCAPAS LINFÁTICAS

Se sembraron  $4,5 \times 10^4$  hLEC en los pocillos de portaobjetos de cámaras de 8 pocillos. Se incubaron las células hasta conseguir una monocapa confluyente de células endoteliales. Se pretrataron las células endoteliales durante 2 horas con los tratamientos designados: medios de control, 100  $\mu$ g/ml de un antagonista específico de E-selectina, 10  $\mu$ g/ml del compuesto 9 o 100  $\mu$ g/ml del compuesto 9. Se tiñeron S2.013 o Colo357 con colorante CFDA-SE Cell Tracker. Tras el pretratamiento de las células endoteliales, se añadieron  $3,0 \times 10^4$  de células S2.013 o Colo357 diluidas en EBM-2 libre de suero a los pocillos junto con los tratamientos designados (400  $\mu$ l/pocillo; 3 réplicas pocillos/tratamiento). Se incubaron las células tumorales en la monocapa endotelial durante 1 hora. Después de la incubación de unión, se lavó cada pocillo 3 veces con PBS + FBS al 0,5% para eliminar las células no adherentes. Se fijaron con PFA al 4% y portaobjetos con cubreobjetos. Se tomaron imágenes de 5 lugares/pocillo a un aumento de 10X. Se cuantificó el número de células adherentes en cada imagen. Véase la Figura 8.

EJEMPLO 7

MODELO DE CÁNCER DE PRÓSTATA

Se inyectaron células PC3Luc transfectadas con luciferasa a  $2 \times 10^5$  células/10  $\mu$ l de medio libre de suero en la tibia proximal de ratones nu/un macho CD1 de 4 semanas de vida. El desarrollo de metástasis se controló mediante el uso de un sistema de rayos x en gabinetes Faxitron y la carga tumoral se evaluó mediante análisis de bioluminiscencia (ver abajo). El desarrollo de metástasis se controló mediante radiografía usando un sistema de rayos X en gabinetes Faxitron (Faxitron x-ray corp., Wheeling, IL, EE.UU.). Los análisis radiográficos se realizaron en los días 28, 35, 42 y 50 después de la inyección de células. No se realizó ningún análisis Faxitron después de los 50 días, ya que después de este tiempo el riesgo estimado de mortalidad relacionada con la anestesia de los ratones se incrementó significativamente. Sin embargo, con el fin de determinar tanto la incidencia acumulativa de las metástasis óseas como la supervivencia libre de enfermedad (DSF), también se repitieron los rayos X a la muerte de cada animal o en el animal que sobrevivió al final del seguimiento, que hemos definido que fue de 170 días, cuando se sacrificaron los animales. La carga de lesiones osteolíticas se evaluó mediante examen digital de la radiografía (ImageJ, un software de dominio público por Wayne Rasband, NIH, EE.UU.). Los animales se sacrificaron por inhalación de dióxido de carbono 170 días después de las inyecciones en el corazón, o antes si había signos tempranos de angustia grave. Todos los animales se sometieron a un examen post mortem preciso y se procesaron muestras de diversos órganos para análisis histológicos de rutina.

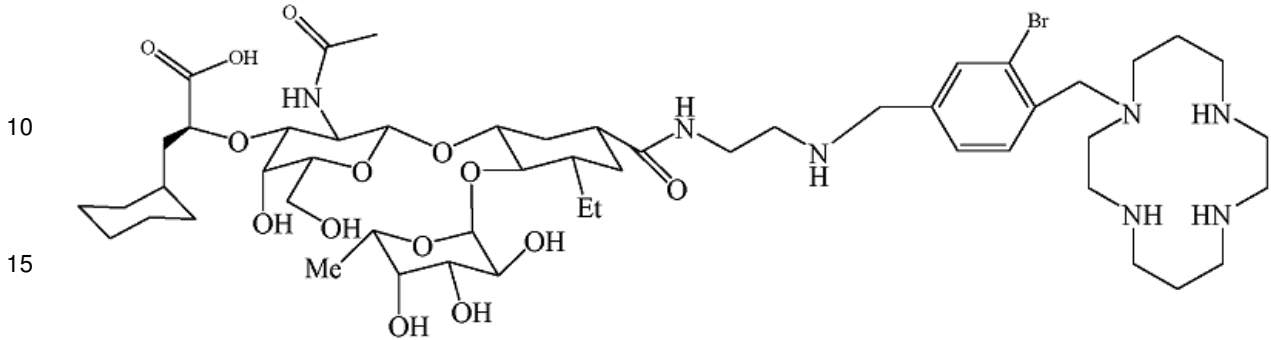
Para obtener imágenes de luminiscencia, los ratones recibieron 150 mg de luciferasa de luciérnaga (Synchem Ug y Co.KG, Felsberg-Altenburg, Alemania) por kg de peso corporal administrados por vía intraperitoneal. Después de la anestesia con una mezcla de ketamina/xilazina, los ratones se colocaron en una estación de formación de imágenes Hamamatsu (fotónica Hamamatsu, distribuidor italiano, Roma Italia). La bioluminiscencia generada por la reacción luciferina/luciferasa se utiliza para la cuantificación usando un software dedicado de Living Image en una escala visual de rojo (alta intensidad/número de células) a azul (baja intensidad/número de célula). Una imagen digital de animal en escala de grises fue adquirida seguido de adquisición y superposición de una imagen de pseudo-color que representa la distribución espacial de recuentos de fotones detectados que surgen de la luciferasa activa dentro del animal. La intensidad de señal se cuantificó como la suma de todos los fotones detectados dentro de la región de interés durante un tiempo de integración luminiscente de 1 minuto. La incidencia de tumores se puntuó en una escala dicotómica como positiva o negativa si los animales tenían al menos una lesión detectada en cualquiera de las regiones de húmeros o tibia/fémur. Véase la Figura 9.

65

REIVINDICACIONES

1. Al menos un compuesto seleccionado entre

5



10

15

y sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

20

2. Composición que comprende al menos un compuesto de la reivindicación 1 y al menos un ingrediente farmacéuticamente aceptable adicional.

3. Al menos un compuesto, según la reivindicación 1, para usar en un procedimiento de

25

- (a) tratar y/o prevenir un cáncer en el que las células cancerosas pueden abandonar el sitio primario;
- (b) tratar y/o prevenir un cáncer en el que se desea desplazar las células cancerosas desde un sitio al torrente sanguíneo y retener las células cancerosas en el torrente sanguíneo;
- (c) liberar células en la sangre circulante y aumentar la retención de las células en la sangre;
- (d) tratar y/o prevenir la metástasis del tumor; o

30

(e) tratar y/o prevenir una enfermedad inflamatoria en la que se produce la adhesión o migración de células en la enfermedad.

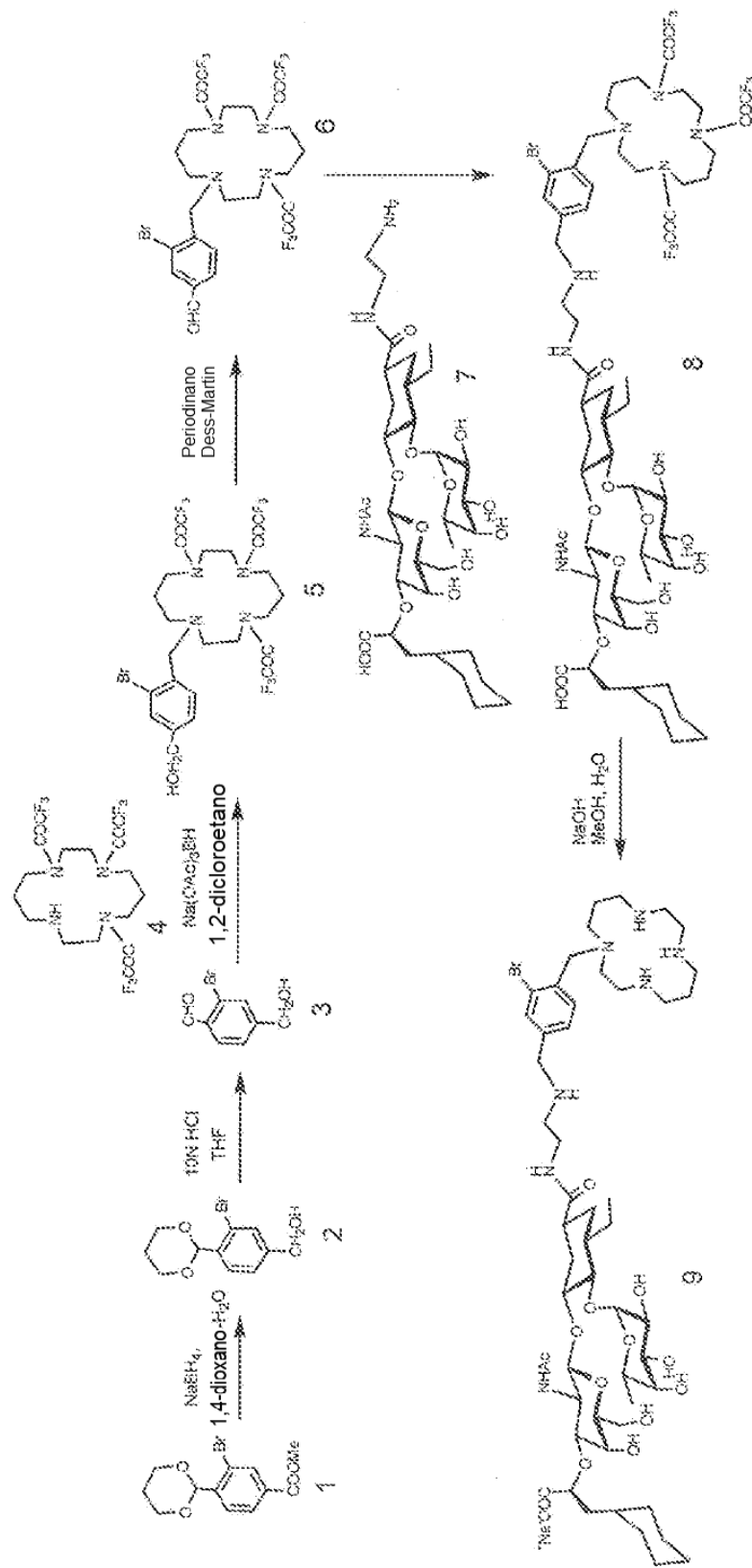


FIG. 1A

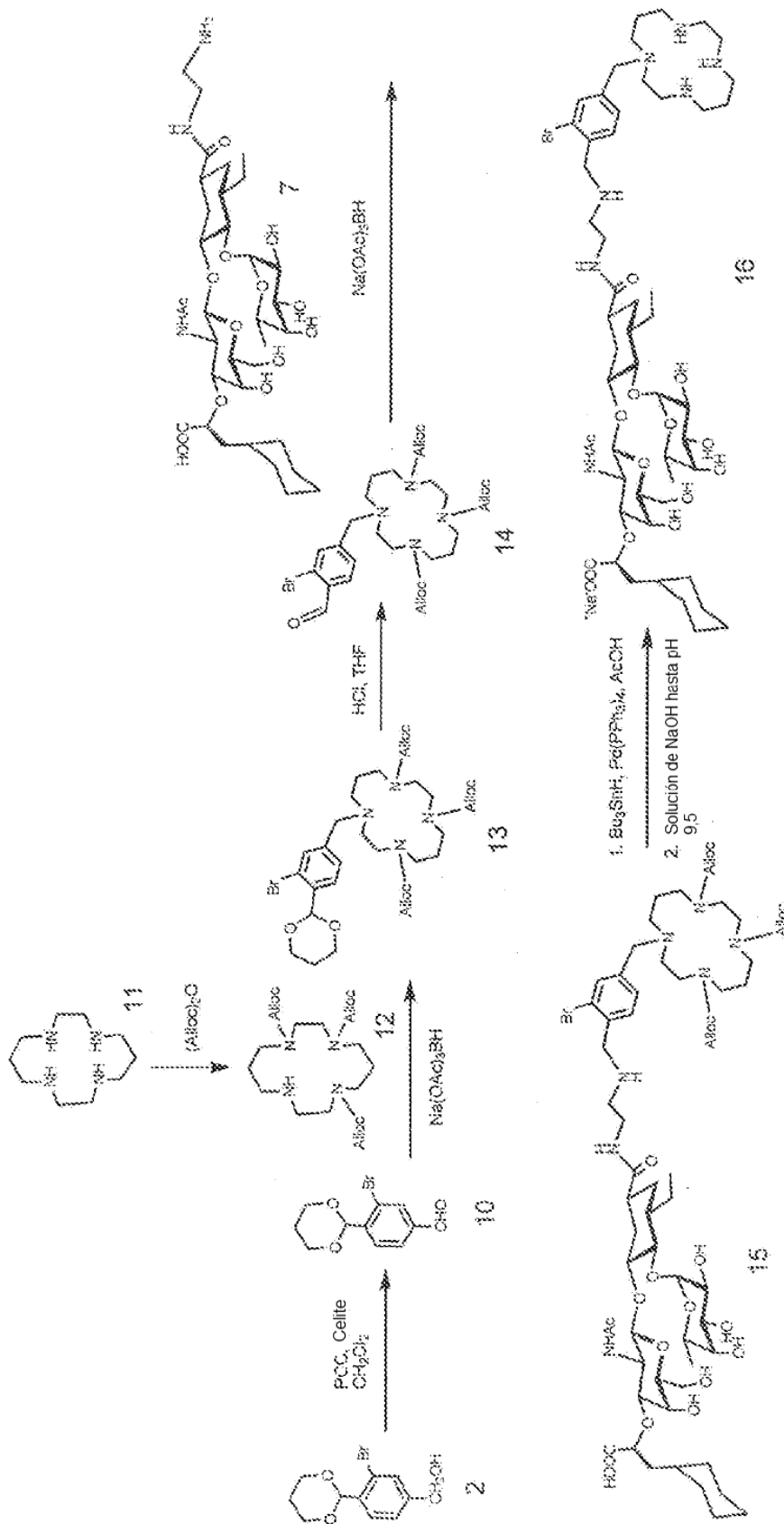
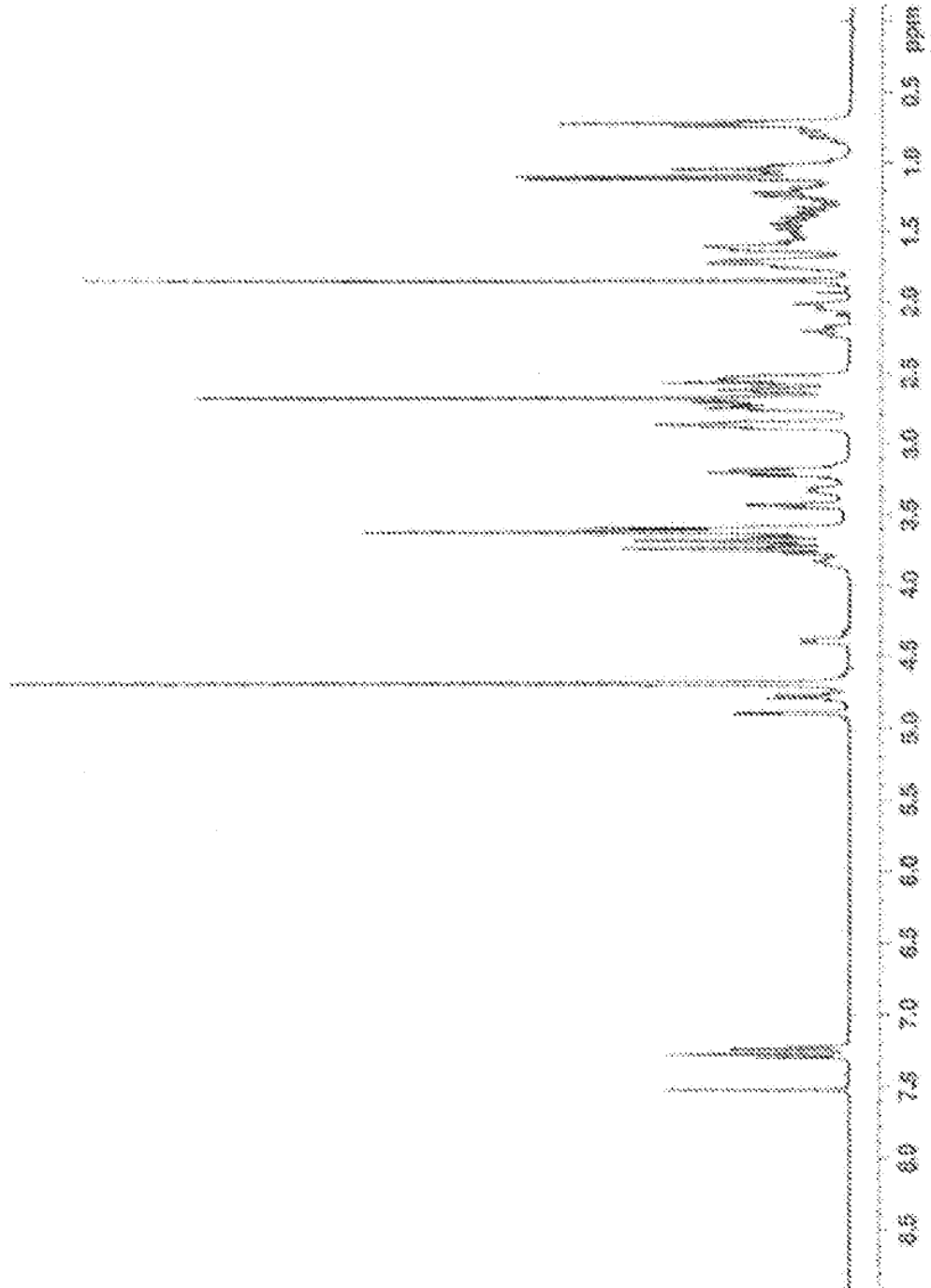


FIG. 1B



**FIG. 2**



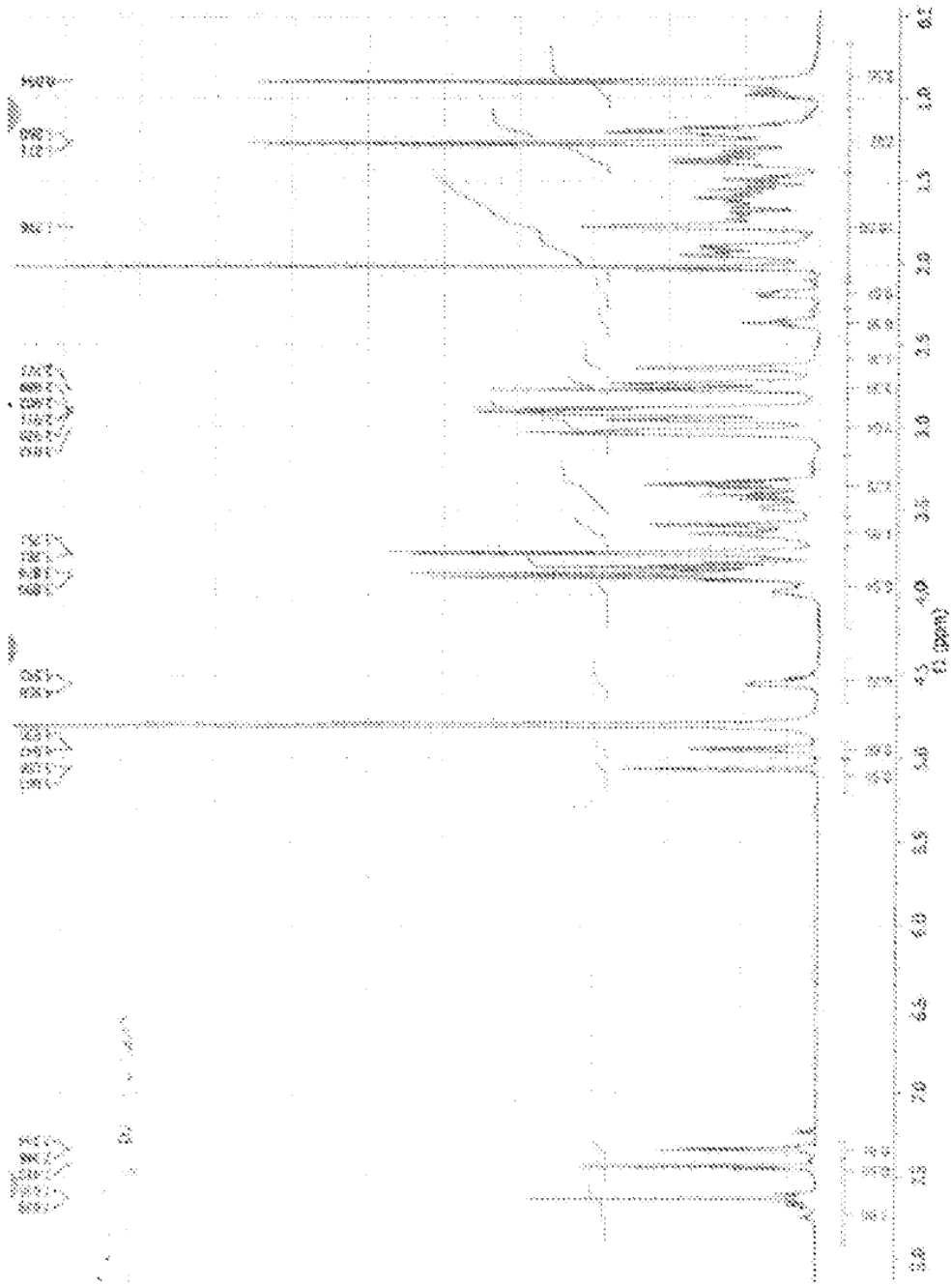
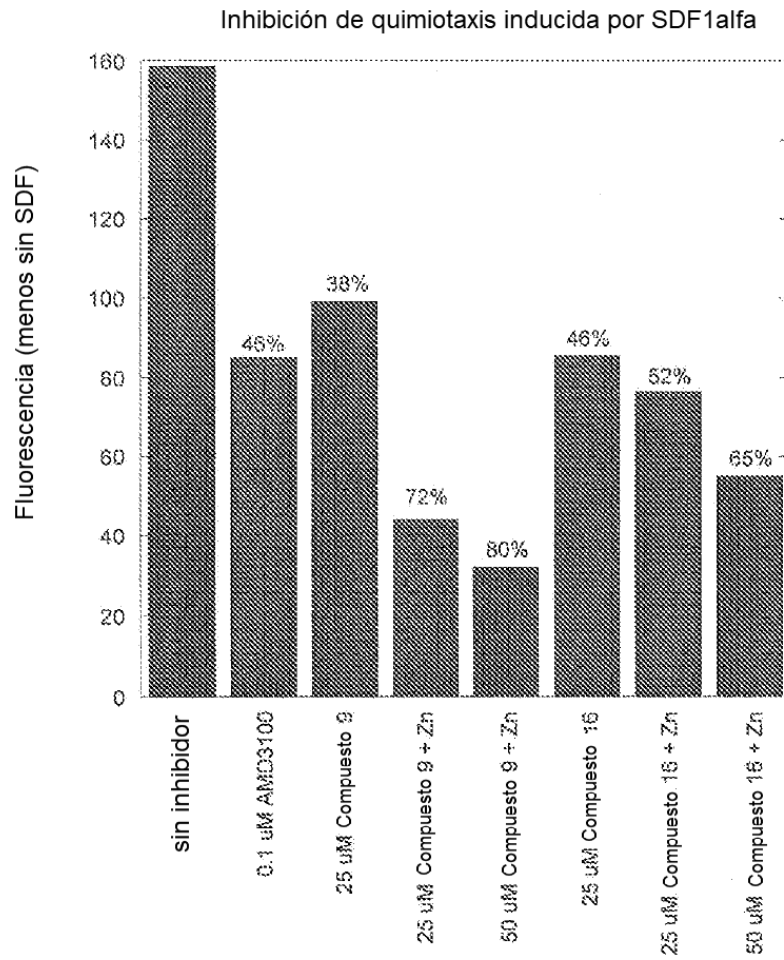


FIG. 3

Inhibición de quimiotaxis inducida por SDF-1 por los compuestos 9 y 16



Inhibición de E-selectina por el compuesto 9

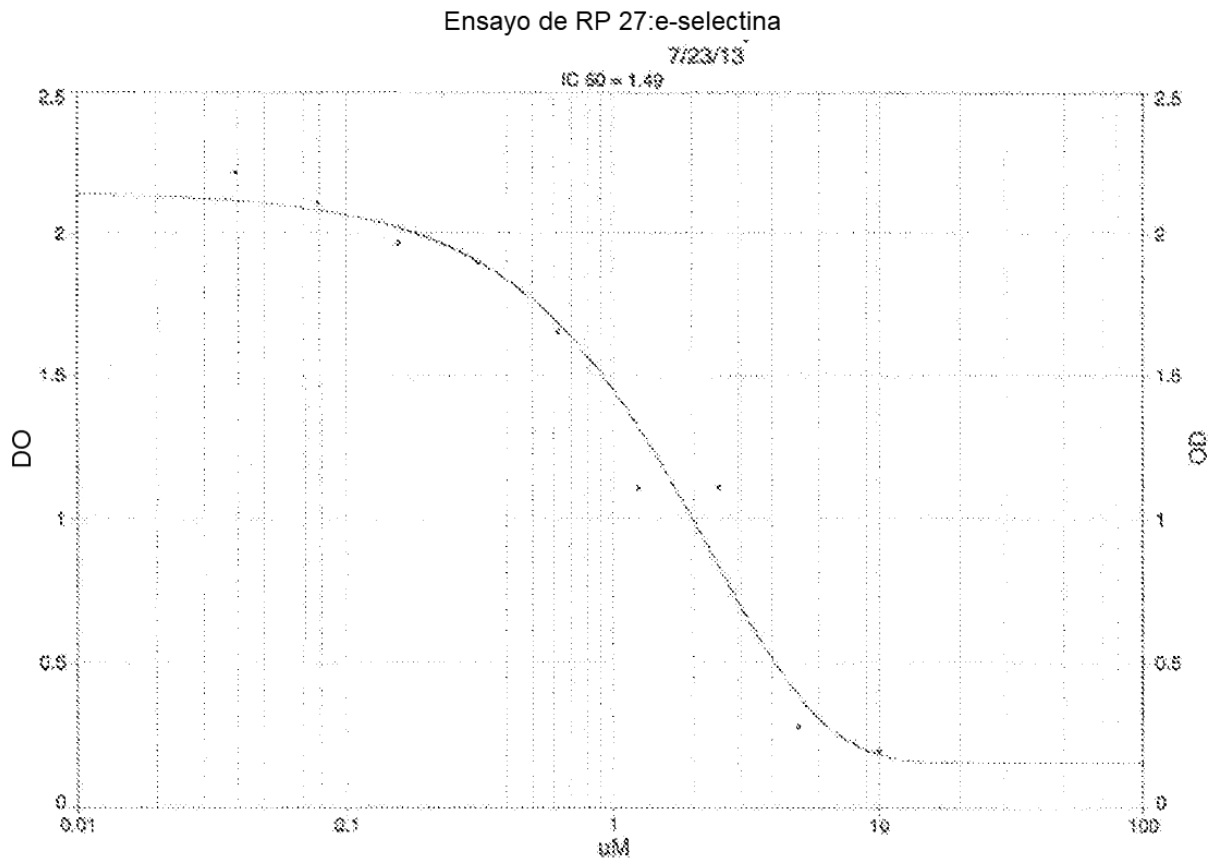
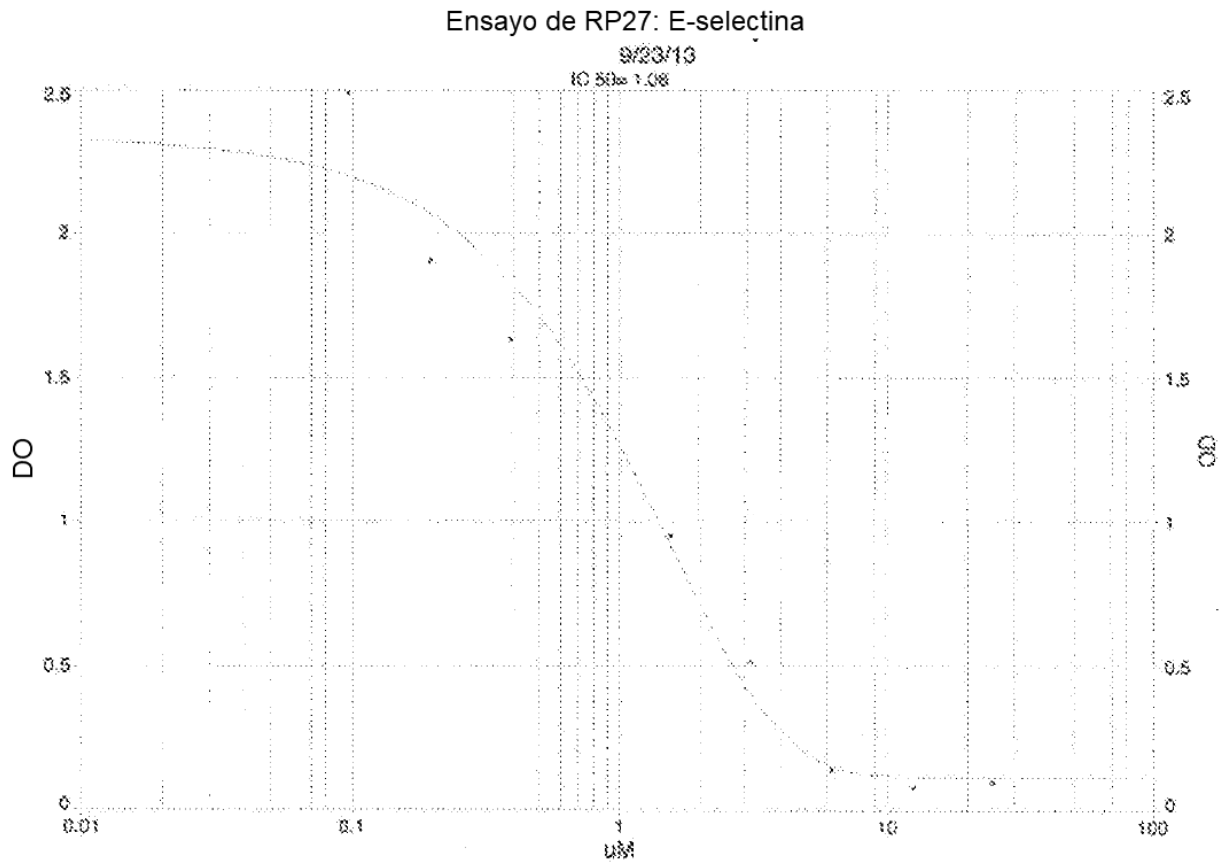


FIG. 5A

Inhibición de E-selectina por el compuesto 16



**FIG. 5B**

Ensayo de CXCR4-AMPc

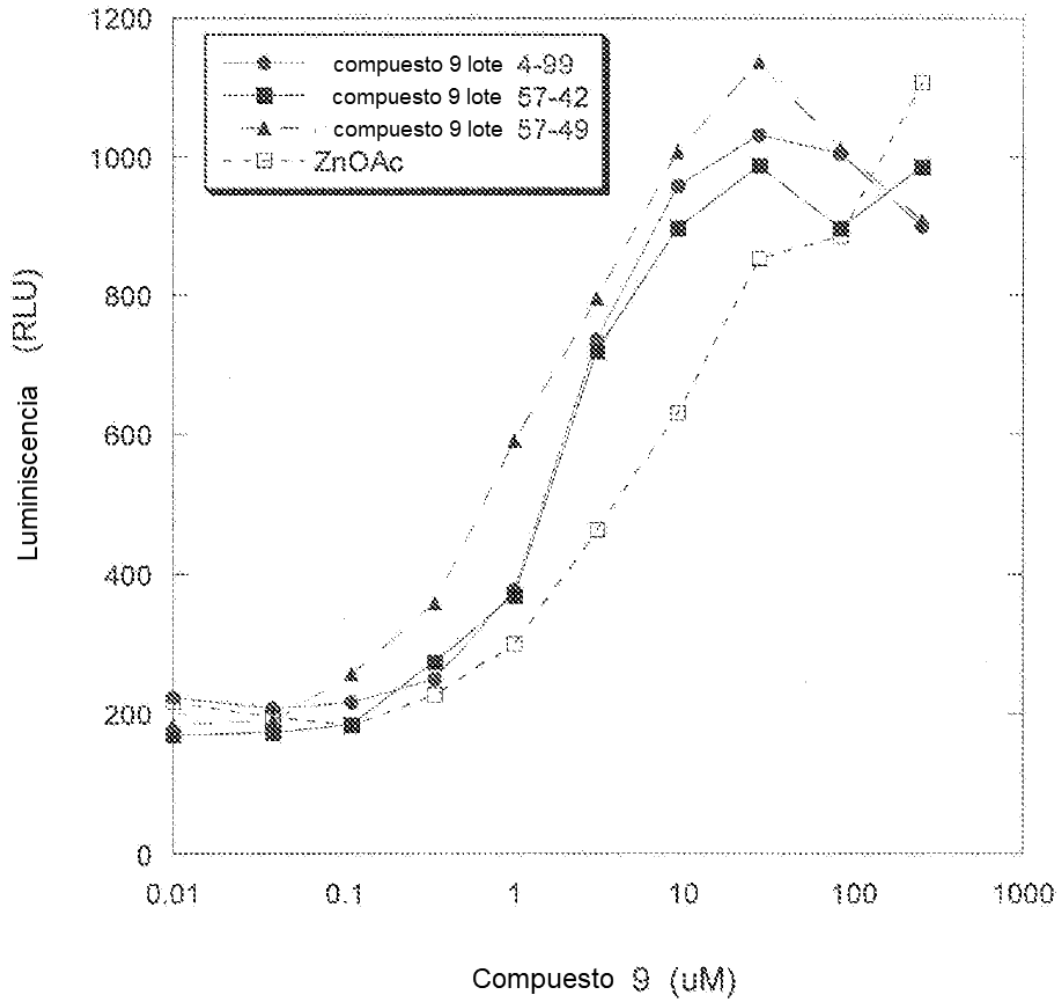


FIG. 6

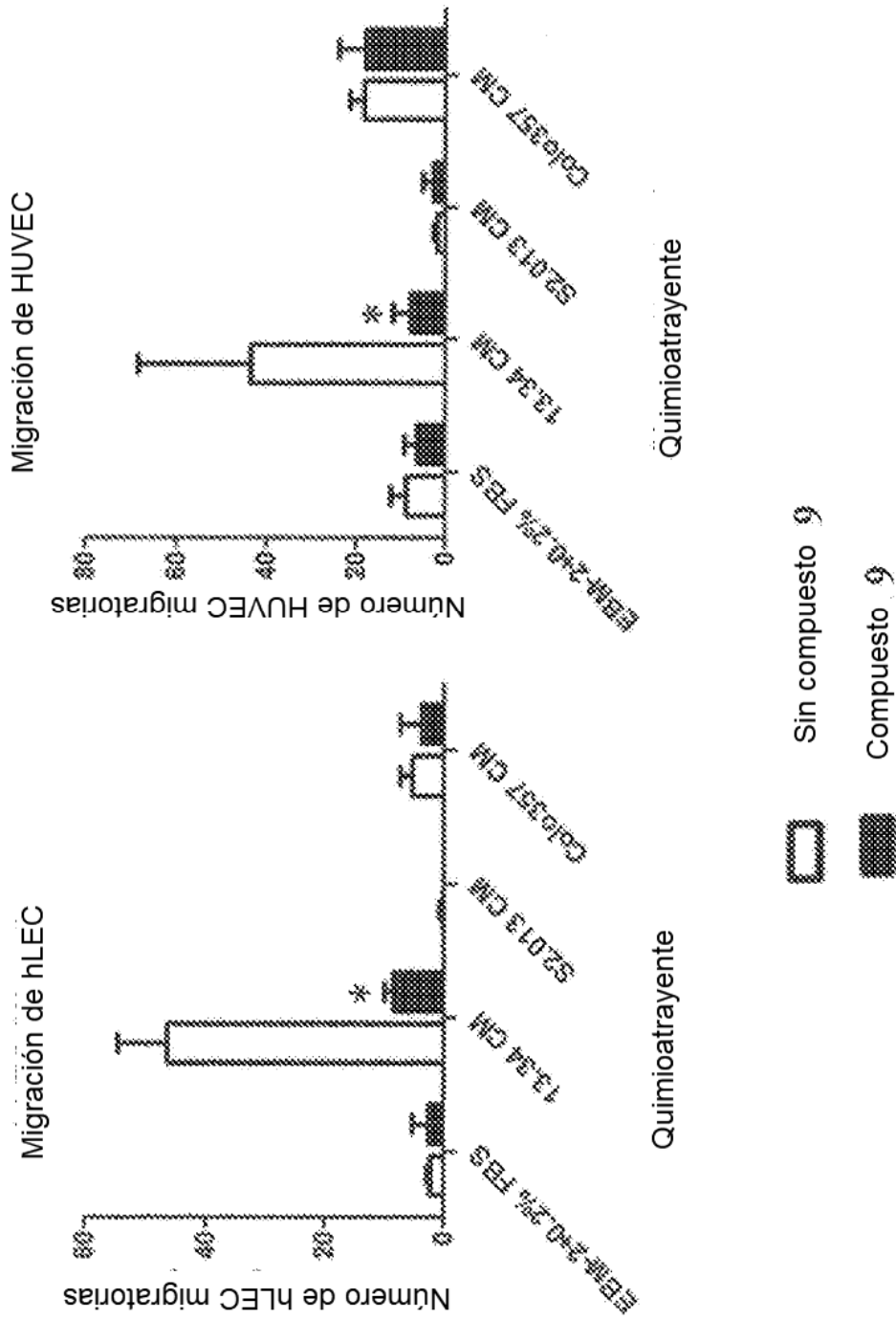
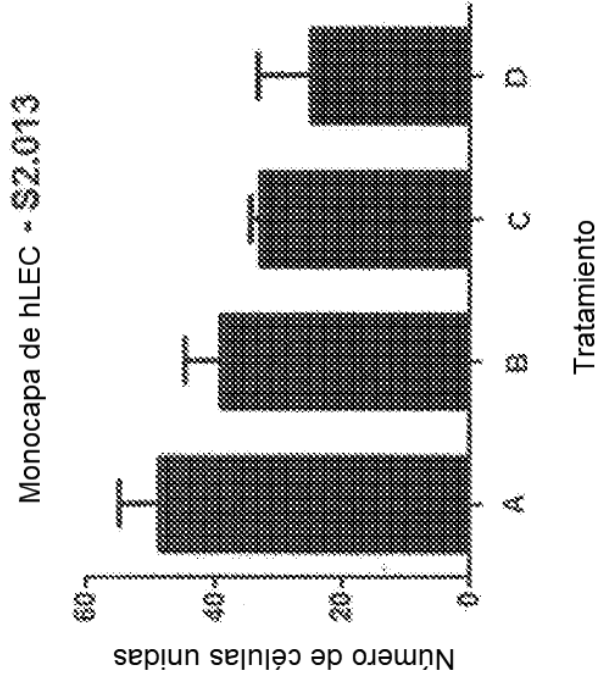
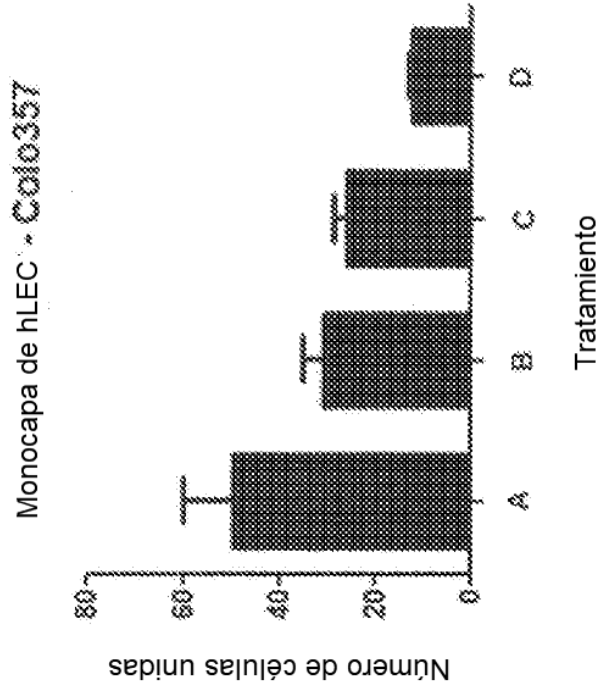


FIG. 7



- A: Control
- B: Antagonista específico de E-selectina (100 µg/ml)
- C: Compuesto 9 (10 µg/ml)
- D: Compuesto 9 (100 µg/ml)

FIG. 8

Datos a los 35 días después del tratamiento (5 días desde el fin de los tratamientos)

Tratamiento	Animales	Tibias	% tibias positivas	Area lítica (unidades líticas)
Vehículo	8	16	11/16 (69%)	9.71 +/- 1.37
Compuesto 9	8	16	6/16 (37,5%)	2.17 +/- 0.44
DTX	5	10	6/10 (60%)	6.04 +/- 0.81
Compuesto 9 + DTX	8	16	4/16 (25%)	1.17 +/- 0.15
Antagonista de E-selectina	8	16	8/16 (50%)	6.88 +/- 0.49
Antagonista de E-selectina + DTX	8	16	6/16 (37,5%)	4.97 +/- 1.03
AMD3100	5	10	5/10 (50%)	3.43 +/- 0.44
AMD + DTX	5	10	3/10 (30%)	1.32 +/- 0.64

FIG. 9