

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 784 873**

51 Int. Cl.:

**C07H 13/04** (2006.01)

**C07H 13/08** (2006.01)

**C07H 15/26** (2006.01)

**A61K 31/7042** (2006.01)

**A61K 31/7008** (2006.01)

**A61P 29/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.07.2015 PCT/EP2015/065313**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.01.2016 WO16005311**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.07.2015 E 15734170 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.03.2020 EP 3166956**

54 Título: **Novedoso inhibidor galactósido híbrido de galectinas**

30 Prioridad:

**09.07.2014 EP 14176421**

**18.07.2014 EP 14177599**

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

**01.10.2020**

73 Titular/es:

**GALECTO BIOTECH AB (100.0%)**

**Cobis, Ole Maaløes Vej 3**

**2200 Copenhagen, DK**

72 Inventor/es:

**LEFFLER, HAKON;**

**NILSSON, ULF;**

**ZETTERBERG, FREDRIK y**

**PETERSON, KRISTOFFER**

74 Agente/Representante:

**SÁEZ MAESO, Ana**

ES 2 784 873 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

Novedoso inhibidor galactósido híbrido de galectinas

Campo técnico

5 La presente invención se refiere a compuestos novedosos, el uso de dichos compuestos como medicamento y para la fabricación de un medicamento para tratar un trastorno relacionado con la unión de una galectina, tal como galectina 3 a un ligando en un mamífero, tal como un humano, en particular para el tratamiento de fibrosis pulmonar, tal como la fibrosis pulmonar idiopática en mamíferos. La invención también se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden dichos nuevos compuestos.

Estado de la técnica

10 Las galectinas son proteínas con un dominio característico de reconocimiento de carbohidratos (CRD) (Barondes et al., 1994; Leffler et al., 2004). Este es un dominio  $\beta$  sándwich fuertemente plegado de aproximadamente 130 aminoácidos (aproximadamente 15 kDa) con las dos características definitorias 1) un sitio de unión a  $\beta$ -galactosa y 2) suficiente similar en un motivo de secuencia de aproximadamente siete aminoácidos, la mayoría de los cuales (aproximadamente seis residuos) constituyen el sitio de unión a  $\beta$ -galactosa. Sin embargo, los sitios adyacentes al sitio de  $\beta$ -galactosa son necesarios para la unión estrecha de los sacáridos naturales y las diferentes preferencias de estos proporcionan a las galectinas una especificidad fina diferente para los sacáridos naturales.

La reciente finalización de las secuencias del genoma humano, de ratón y de rata revela aproximadamente 15 galectinas y proteínas similares a galectina en un genoma de mamífero con ligera variación entre especies (Leffler et al., 2004).

20 Las subunidades de galectina pueden contener uno o dos CRD dentro de una sola cadena peptídica. La primera categoría, las galectinas mono-CRD, puede ocurrir como monómeros o dímeros (dos tipos) en vertebrados. Las galectinas mejor estudiadas son la galectina1 dimérica y la galectina 3, que es un monómero en solución pero puede agregarse y volverse multimérico al encontrarse con ligandos (Leffler et al., 2004). Estas fueron las primeras galectinas descubiertas y abundan en muchos tejidos.

25 Ahora hay más de 3500 publicaciones sobre galectinas en PubMed, y la mayoría, como se mencionó anteriormente, sobre galectinas1 (> 900) y galectinas 3 (> 1600). Evidencia sólida sugiere roles para las galectinas por ejemplo en, inflamación y cáncer, y el desarrollo recientemente revisado en una publicación especial (Leffler (editor), 2004b).

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

Uso terapéutico potencial de los inhibidores de galectina 3

50 La galectina 3 se ha implicado en diversos fenómenos y, por lo tanto, los inhibidores pueden tener múltiples usos. Es fácil percibir esto como una falta de especificidad o falta de enfoque científico. Por lo tanto, la analogía con la aspirina y las ciclooxigenasas (COX-I y COX-II) es útil. Las COX producen el precursor de una amplia variedad de prostaglandinas y, por lo tanto, están involucradas en una amplia gama de mecanismos biológicos. Sus inhibidores, la aspirina y otros AINE (medicamentos antiinflamatorios no esteroideos) también tienen efectos amplios y diversos. A pesar de esto, estos inhibidores son muy útiles médicamente y tienen varias utilidades específicas diferentes.

55 Por lo tanto, si las galectinas, como las COX, son parte de algún mecanismo regulador biológico básico (aún desconocido), es probable que sean 'utilizadas por la naturaleza' para diferentes propósitos en diferentes contextos. No se espera que los inhibidores de galectina, como los AINE, eliminen todo el sistema, sino que inclinen un poco el

equilibrio.

#### Inhibición de la inflamación

El papel proinflamatorio de la galectina 3 está indicado por su inducción en células en sitios inflamatorios, una variedad de efectos sobre las células inmunes (por ejemplo, explosión oxidativa en neutrófilos y quimiotaxis en monocitos) y disminución de la respuesta inflamatoria, principalmente en neutrófilos y macrófagos, en ratones mutantes nulos (en Leffler (editor), 2004b). Además, los ratones con inactivación de Mac-2BP, un ligando de galectina 3, tienen respuestas inflamatorias incrementadas (Trahey et al., 1999). Es importante destacar que estudios recientes han identificado a la galectina 3 como un factor limitante clave en la diferenciación de macrófagos M2 y la activación de miofibroblastos, lo que influye en el desarrollo de la fibrosis (Mackinnon et al., 2008; Mackinnon et al., 2012).

La inflamación es una respuesta protectora del cuerpo a organismos invasores y lesiones tisulares. Sin embargo, si no está equilibrado, con frecuencia también es destructivo y ocurre como parte de la patología en muchas enfermedades. Debido a esto, existe un gran interés médico en la modulación farmacológica de la inflamación. Se espera que un inhibidor de galectina 3 proporcione una adición importante al arsenal disponible para esto.

#### Tratamiento de afecciones relacionadas con la fibrosis.

La idea de un posible papel de la galectina 3 en la fibrosis proviene de estudios celulares y *ex vivo* sobre diferenciación de macrófagos (Mackinnon et al., 2008), así como de estudios *in vivo* sobre diferenciación de macrófagos y activación de miofibroblastos (Mackinnon et al., 2012). Brevemente, la hipótesis es la siguiente: se ha demostrado que la galectina 3 prolonga la permanencia en la superficie de la célula y, por lo tanto, mejora la capacidad de respuesta del receptor de TGF- $\beta$  (Partridge et al., 2004), que a su vez regula la diferenciación alternativa de macrófagos en macrófagos M2 y activación de miofibroblastos.

Por lo tanto, como la galectina 3 es un buen candidato para ser un potenciador endógeno de la señalización de TGF- $\beta$  y la diferenciación alternativa de macrófagos y la activación de miofibroblastos, los inhibidores de galectina 3 pueden ser muy útiles en el tratamiento de la fibrosis y la remodelación adversa del tejido.

#### Tratamiento del cáncer

Una gran cantidad de estudios inmunohistoquímicos muestran una expresión cambiada de ciertas galectinas en el cáncer (van den Brule et al., Y Bidon et al., En Leffler (editor), 2004b) y, por ejemplo, la galectina 3 es ahora un marcador histoquímico establecido del cáncer de tiroides. La evidencia directa del papel de la galectina 3 en el cáncer proviene de modelos de ratones, principalmente por Raz et al., pero también de otros (en Leffler (editor), 2004b). En líneas celulares tumorales pareadas (con expresión disminuida o aumentada de galectina 3), la inducción de galectina 3 produce más tumores y metástasis y la supresión de galectina 3 produce menos tumores y metástasis. La galectina 3 se ha propuesto para mejorar el crecimiento tumoral al ser antiapoptótica, promover la angiogénesis o promover la metástasis al afectar la adhesión celular. De lo anterior está claro que los inhibidores de la galectina 3 podrían tener valiosos efectos anticancerígenos. De hecho, se ha informado que los sacáridos que, aunque no se ha demostrado que inhiben la galectina 3, tienen efectos anticancerígenos. En nuestro propio estudio, un fragmento de galectina 3 que contiene el CRD inhibió el cáncer de mama en un modelo de ratón al actuar como un inhibidor negativo dominante (John et al., 2003). Más recientemente, se ha demostrado que la inhibición de la galectina 3 con moléculas pequeñas realmente mejora en gran medida la sensibilidad de las células tumorales hacia la radiación y los fármacos proapoptóticos estándar en ensayos celulares y *ex vivo* (Lin et al., 2009), así como *in vivo* (Glinsky et al., 2009).

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

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

condiciones normales, la inhibición de ellas tendrá menos efectos secundarios no deseados.

#### Tratamiento de la angiogénesis

5 La señalización de los factores de crecimiento endotelial vascular (VEGF) a través del receptor 2 de VEGF (VEGFR-2) es la ruta angiogénica primaria. Se han publicado estudios que demuestran que tanto la galectina 1 (Gal-1) como la galectina 3 (Gal-3) son moduladores importantes para la vía de señalización de VEGF/VEGFR-2. También se ha publicado que se espera que un inhibidor de galectina, TDX, tenga eficacia contra la angiogénesis patológica (Chen 2012).

#### Inhibidores conocidos

##### Ligandos naturales

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

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

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

##### Especificidad de galectina

30 Los estudios de especificidad de galectina usando la inhibición por pequeños sacáridos naturales mencionados anteriormente indicaron que todas las galectinas se unían a lactosa, LacNAc y disacáridos relacionados, pero que la galectina 3 se unía a ciertos sacáridos más largos mucho mejor (Leffler y Barondes, 1986). Estos sacáridos más largos se caracterizaron por tener un residuo de azúcar adicional agregado a la posición C-3 de galactosa (por ejemplo, en lactosa o LacNAc) que unía un surco de unión extendido. La forma de este surco varía entre galectinas, lo que sugiere que las mismas extensiones no estarían unidas por las diferentes galectinas.

#### Inhibidores sintéticos

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

40 Las moléculas de racimo que tienen hasta cuatro fracciones de lactosa mostraron un fuerte efecto de multivalencia cuando se unieron a galectina 3, pero no a galectina 1 y galectina 5 (Vrasidas et al., 2003). Los glicoaglomerados basados en ciclodextrina con siete residuos de galactosa, lactosa o N-acetilactosamina también mostraron un fuerte efecto de multivalencia contra la galectina 3, pero menos contra las galectinas 1 y 7 (Andre et al., 2004). Los dendrímeros Starburst (Andre et al., 1999) y los glicopolímeros (Pohl et al., 1999; David et al., 2004), que se vuelven polivalentes en residuos de lactosa, se han descrito como inhibidores de galectina 3 con potencia marginalmente mejorada en comparación con lactosa. Los compuestos sintéticos mencionados anteriormente que se han identificado como ligandos de galectina 3 no son adecuados para su uso como componentes activos en composiciones farmacéuticas, porque son de naturaleza hidrófila y no se absorben fácilmente del tracto gastrointestinal después de la administración oral.

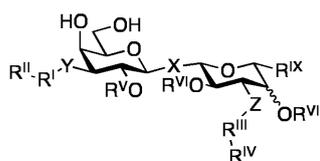
50 Los oligosacáridos, glicoaglomerados, glicodendrímeros y glicopolímeros naturales descritos anteriormente son demasiado polares y demasiado grandes para ser absorbidos y, en algunos casos, son lo suficientemente grandes como para producir respuestas inmunes en los pacientes. Además, son susceptibles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

Se sabe que el tioidigalactósido es un inhibidor sintético e hidrolíticamente estable, pero polar, aproximadamente tan

eficiente como la N-acetilactosamina (Leffler y Barondes, 1986). Se ha demostrado que los derivados de N-acetilactosamina que portan amidas aromáticas o bencil éteres sustituidos en C-3' son inhibidores altamente eficientes de galectina 3, con valores de IC<sub>50</sub> sin precedentes tan bajos como 4,8 µM, que es una mejora de 20 veces en comparación con el disacárido natural N-acetilactosamina (Sörme et al., 2002; Sörme et al., 2003b). Estos derivados son menos polares en general, debido a la presencia de fracciones amido aromáticos y, por lo tanto, son más adecuados como agentes para la inhibición de galectinas *in vivo*. Además, se ha demostrado que los galactósidos de triazolilo C3 son inhibidores tan potentes como las amidas C3 correspondientes de algunas galectinas. Por lo tanto, cualquier sustituyente de galactosa C3 adecuadamente estructurada puede conferir afinidad de galectina mejorada.

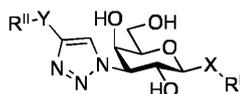
Sin embargo, los compuestos derivatizados de amido C3 y triazolilo C3 aún son susceptibles a la degradación hidrolítica *in vivo*, debido a la presencia de un enlace glicosídico en la galactosa y la fracción de sacárido de N-acetilactosamina y, aunque son potentes, pequeños inhibidores de la molécula de galectina 3, es deseable una mayor afinidad y estabilidad. En consecuencia, se han desarrollado inhibidores basados en la derivatización de 3,3'-amido o 3,3'-ditriazolilo de tiodigalactósido (Cumpstey et al., 2005b; Cumpstey et al., 2008; Salameh et al., 2010; los documentos WO/2005/113569 y US2007185041; WO/2005/113568, US 7.638.623 B2) que carecen de enlaces O-glicosídicos hidrolítica y enzimáticamente lábiles. Estos inhibidores también mostraron una afinidad superior por varias galectinas (hasta K<sub>d</sub> en el intervalo bajo de nM). Sin embargo, aunque muestran una gran afinidad por las galectinas, los tiodigalactósidos derivatizados de 3,3' todavía comprenden una desventaja en su síntesis de múltiples etapas que implica una reacción de doble inversión para alcanzar los bloques de construcción de galactosa derivatizadas de 3-N. Además, se ha comprobado que el reemplazo de un ciclohexano de un anillo de galactosa en tiodigalactósido imita el anillo de galactosa y, por lo tanto, proporciona inhibidores de galectina 1 y 3 con una eficacia cercana a la de los derivados de diamido y ditriazolil-tiodigalactósido (documento WO/2010/126435). El reemplazo de una unidad de D-galactopiranososa con un ciclohexano sustituido disminuye la polaridad y muy probablemente también la susceptibilidad metabólica, mejorando así las propiedades similares a las de los fármacos.

Algunos compuestos descritos anteriormente tienen las siguientes fórmulas generales



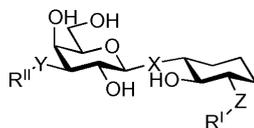
como se describe en el documento WO/2005/113568,

y



como se describe en el documento WO/2005/113569, en el que R<sup>I</sup> puede ser una D-galactosa,

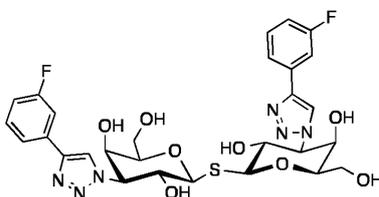
y



como se describe en el documento WO/2010/126435.

Por lo tanto, debido a los procesos de fabricación menos óptimos hacia la derivatización de galactosa 3-N (Z e Y son preferiblemente átomos de nitrógeno) que implican reacciones de doble inversión en un derivado complejo protegido de D-galactopiranososa de los compuestos del estado de la técnica, existe aún una necesidad considerable dentro de la técnica por inhibidores contra galectinas, en particular de galectina 1 y galectina 3.

En los documentos US20140099319 y WO2014067986 recientemente publicados se describe un compuesto de fórmula



que tiene flúor en la posición meta en ambos anillos de fenilo en relación con los anillos de triazol. Este compuesto (también conocido como Bis-(3-desoxi-3-(4-(3-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-β-D-galactopiranosil)sulfano) se ha demostrado que es un candidato prometedor a fármaco para la fibrosis pulmonar, y en particular es muy selectivo en galectina 3 con alta afinidad.

- 5 El documento WO2014/078655 describe métodos y kits que usan una composición farmacéutica para usar en la inhibición de la angiogénesis o fibrosis ocular que se proporcionan en el presente documento, de modo que la composición incluye un vehículo o diluyente farmacéuticamente adecuado y una cantidad de la composición inhibidora eficaz para inhibir la angiogénesis o la fibrosis inhibiendo la expresión y/o actividad de una proteína galectina o una porción de la misma.
- 10 J. Med. Chem 2013, 56, 1350-1354 describe la síntesis de derivados de tiodigalactósido que son inhibidores simétricos de galectina 1 y galectina 3.

El documento WO2013/110704 describe compuestos que portan fracciones metil cumarilo en las posiciones O3- y O3'- de tiodigalactósido 1 preparados a partir de derivados de 3-O-propargil-D-galactopiranosido fácilmente accesibles y que tienen un efecto como, por ejemplo, inhibidores de galectina.

15 Sumario de la invención

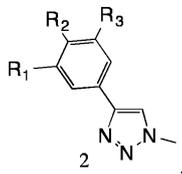
Los compuestos de la presente invención tienen una selectividad y afinidad muy altas por Gal-3, en particular tienen una alta selectividad sobre Gal-1, y se consideran candidatos a fármacos potentes. Varios de estos compuestos tienen buena solubilidad, lo cual es importante para preparar formulaciones farmacéuticas.

En un aspecto amplio, la presente invención se refiere a un compuesto de Fórmula (1)



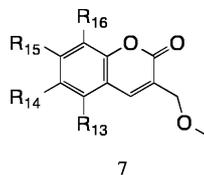
en la que

A se selecciona de



- en la que R<sub>1</sub>-R<sub>3</sub> se seleccionan independientemente de hidrógeno (H), flúor, metilo opcionalmente sustituido con un flúor (F) y OCH<sub>3</sub> opcionalmente sustituido con un F;

B se selecciona de

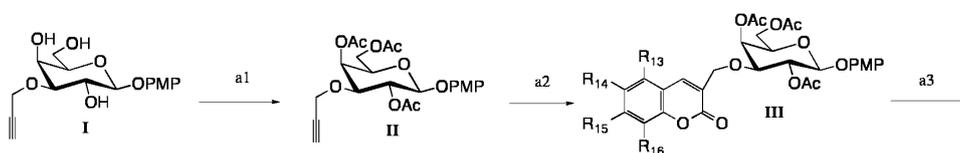


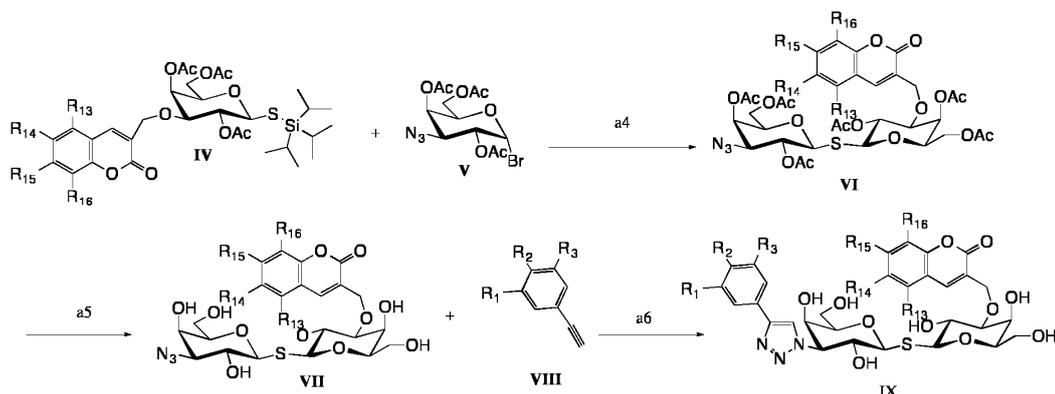
- en la que R<sub>13</sub>-R<sub>16</sub> se seleccionan independientemente de H, F, metilo opcionalmente sustituido con un F, y OCH<sub>3</sub> opcionalmente sustituido con un F; o

una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un compuesto de Fórmula (1) para uso como un medicamento.

A continuación, se describe un proceso de preparación de un compuesto de Fórmula 1 o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo que comprende las etapas a1-a6:





a1) se hace reaccionar un compuesto I con anhídrido acético y piridina en un disolvente inerte tal como piridina a temperatura ambiente para proporcionar un compuesto de Fórmula II;

5 a2) se hace reaccionar un compuesto II con el salicilaldehído correspondiente en presencia de p-toluensulfonilazida y CuI en un disolvente inerte, tal como THF, para producir un compuesto intermedio de sulfonimida, este compuesto intermedio se aísla usando tratamiento acuoso seguido de tratamiento con una base, tal como metóxido de sodio en un disolvente, tal como metanol, seguido de un tratamiento con Dowex para ajustar el pH a 7 seguido de la eliminación del disolvente para producir un compuesto intermedio de cumarina sin grupos acetoxi, y este compuesto intermedio se trata con anhídrido acético utilizando una base orgánica tal como piridina para producir el compuesto de Fórmula III;

10 a3) se hace reaccionar el compuesto de la Fórmula III con ZnBr y bromuro de acetilo en un disolvente inerte, tal como CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, y opcionalmente aislar el compuesto intermedio y lavar con NaHCO<sub>3</sub> acuoso, y hacer reaccionar adicionalmente con triisopropilsilanotiol en un disolvente inerte, tal como acetona, para proporcionar el compuesto de Fórmula IV;

15 a4) se hace reaccionar el compuesto de Fórmula IV con un compuesto de Fórmula V usando un reactivo, tal como fluoruro de tetrabutilamonio, en un disolvente inerte, tal como acetonitrilo, para proporcionar el compuesto de Fórmula VI;

a5) se hace reaccionar el compuesto de Fórmula VI con metóxido de sodio en metanol para proporcionar el compuesto de Fórmula VII;

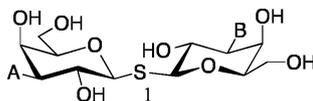
20 a6) se hace reaccionar el compuesto de Fórmula VII con un compuesto de Fórmula VIII en un disolvente inerte, tal como DMF, usando una base, tal como diisopropilamina, catalizada por CuI para proporcionar el compuesto de Fórmula IX.

En una realización, R<sub>1</sub>-R<sub>3</sub> se seleccionan independientemente de H o F, y en la que R<sub>13</sub>-R<sub>14</sub> son ambos F, y R<sub>15</sub>-R<sub>16</sub> son ambos H. En una realización adicional, R<sub>1</sub> es H, R<sub>2</sub> es H y R<sub>3</sub> es F .

25 En otra realización, R<sub>1</sub>-R<sub>3</sub> son F.

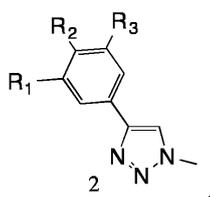
Descripción detallada de la invención

En un aspecto amplio, la presente invención se refiere a un compuesto de Fórmula (1)



en la que

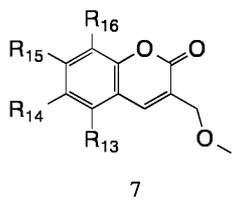
30 A se selecciona de



en la que R<sub>1</sub>-R<sub>3</sub> se seleccionan independientemente de hidrógeno (H), flúor, metilo opcionalmente sustituido con un

flúor (F) y OCH<sub>3</sub> opcionalmente sustituido con un F;

B se selecciona de



5 en la que R<sub>13</sub>-R<sub>16</sub> se seleccionan independientemente de H, F, metilo opcionalmente sustituido con un F, y OCH<sub>3</sub> opcionalmente sustituido con un F; o

una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 Los presentes inventores se han dado cuenta de que el compuesto de Fórmula (1) crea una afinidad de unión más fuerte a la galectina 3. Los compuestos de Fórmula (1) en la que A se selecciona de la Fórmula 2 y B se selecciona de la Fórmula 7 proporcionan compuestos con buena solubilidad y muy buena afinidad a Gal-3 y son selectivos sobre Gal-1.

En una realización adicional, A se selecciona de la Fórmula 2 y B se selecciona de la Fórmula 7, en las que R<sub>1</sub>-R<sub>3</sub> se seleccionan independientemente de H o F, y R<sub>13</sub>-R<sub>14</sub> son ambos F, y R<sub>15</sub>-R<sub>16</sub> son ambos H.

En otra realización adicional, A se selecciona de la Fórmula 2 y B se selecciona de la Fórmula 7, en las que R<sub>1</sub> es H, R<sub>2</sub> es H y R<sub>3</sub> es F, y R<sub>13</sub>-R<sub>14</sub> son ambos F, y R<sub>15</sub>-R<sub>16</sub> son ambos H.

15 En una realización adicional, A se selecciona de la Fórmula 2 y B se selecciona de la Fórmula 7, en las que R<sub>1</sub>-R<sub>3</sub> son todos F, y R<sub>13</sub>-R<sub>14</sub> son ambos F, y R<sub>15</sub>-R<sub>16</sub> son ambos H.

En otro aspecto adicional, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula 1 de la presente invención y opcionalmente un aditivo farmacéuticamente aceptable, tal como un vehículo o excipiente.

20 En otro aspecto, la presente invención se refiere a un compuesto de Fórmula 1 de la presente invención para usar en un método para tratar un trastorno relacionado con la unión de una galectina, tal como galectina 3 a un ligando en un mamífero, tal como un humano

25 En una realización, el trastorno se selecciona del grupo que consiste en inflamación; fibrosis, por ejemplo, fibrosis pulmonar o cualquier fibrosis de órganos sólidos, por ejemplo, fibrosis hepática, fibrosis renal, fibrosis oftalmológica y fibrosis del corazón; choque séptico; cáncer; enfermedades autoinmunes; trastornos metabólicos; enfermedad cardíaca; insuficiencia cardíaca; angiogénesis patológica, tal como la angiogénesis ocular o una enfermedad o afección asociada con la angiogénesis ocular, por ejemplo, neovascularización relacionada con el cáncer; y enfermedades oculares, tales como degeneración macular relacionada con la edad y la neovascularización corneal.

En una realización adicional, la presente invención se refiere a un compuesto, que se selecciona de

30 3'-Desoxi-3-O-[(5,6-difluoro-2-oxo-3-cromenil)metil]-3'-[4-(3-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il]-1,1'-sulfanodiil-di-β-D-galactopiranosido,

3'-Desoxi-3-O-[(5,6-difluoro-2-oxo-3-cromenil)metil]-3'-[4-(3,4,5-trifluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il]-1,1'-sulfanodiil-di-β-D-galactopiranosido.

35 Además, la persona experta comprenderá que los procesos descritos anteriormente y en el presente documento después de los grupos funcionales de compuestos intermedios pueden necesitar protección mediante un grupo protector.

40 Los grupos funcionales que es deseable proteger incluyen hidroxilo, amino y ácido carboxílico. Los grupos protectores adecuados para hidroxilo incluyen grupos alquilo opcionalmente sustituidos y/o insaturados (por ejemplo, metilo, alilo, bencilo o terc-butilo), grupos trialkilsililo o diarilalkilsililo (por ejemplo, t-butildimetilsililo, t-butildifenilsililo o trimetilsililo), AcO, TBS, TMS, PMB y tetrahidropiranilo. Los grupos protectores adecuados para el ácido carboxílico incluyen ésteres de alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) o bencilo. Los grupos protectores adecuados para amino incluyen t-butiloxicarbonilo, benciloxicarbonilo, 2-(trimetilsilil)-etoxi-metilo o 2-trimetilsililetoxicarbonilo (Teoc). Los grupos protectores adecuados para S incluyen S-C(=N)NH<sub>2</sub>, TIPS.

45 La protección y desprotección de los grupos funcionales puede tener lugar antes o después de cualquier reacción en los procesos mencionados anteriormente.

- Además, la persona experta apreciará que, para obtener compuestos de la invención en una alternativa, y en algunas ocasiones, de manera más conveniente, las etapas individuales del proceso mencionadas anteriormente en este documento pueden realizarse en un orden diferente, y/o las reacciones individuales se pueden realizar en una etapa diferente en la ruta global (es decir, se pueden agregar sustituyentes y/o transformaciones químicas realizadas en compuestos intermedios diferentes a los mencionados anteriormente en el presente documento junto con una reacción particular). Esto puede negar o hacer necesaria la necesidad de grupos protectores.
- En otra realización adicional, el compuesto de Fórmula (1) está en forma libre. En una realización, la forma libre es un anhidrato. En otra realización, la forma libre es un solvato, tal como un hidrato.
- En una realización adicional, el compuesto de Fórmula (1) es una forma cristalina. El experto en la materia puede realizar pruebas para encontrar polimorfos, y dichos polimorfos pretenden estar abarcados por el término "forma cristalina" como se usa en el presente documento.
- Cuando los compuestos y las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento se usan para el tratamiento anterior, se administra una cantidad terapéuticamente efectiva de al menos un compuesto a un mamífero que necesita dicho tratamiento.
- El término "alquilo C<sub>1-6</sub>" como se usa en el presente documento significa un grupo alquilo que contiene 1-6 átomos de carbono, tal como metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo o hexilo.
- El término "alquilo C<sub>3-6</sub> ramificado" como se usa en el presente documento significa un grupo alquilo ramificado que contiene 3-6 átomos de carbono, tal como isopropilo, isobutilo, terc-butilo, isopentilo, 3-metilbutilo, 2,2-dimetilpropilo, n-hexilo, 2-metilpentilo, 2,2-dimetilbutilo, 2,3-dimetilbutilo.
- El término "cicloalquilo C<sub>3-7</sub>" como se usa en el presente documento significa un grupo alquilo cíclico que contiene 3-7 átomos de carbono, tal como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo y 1-metilciclopropilo.
- El término "arilo", como se usa en el presente documento, significa un grupo de carbono aromático que contiene 6-16 átomos de carbono, y no hay heteroátomos en el sistema de anillos, que incluyen pero no se limitan a fenilo, naftilo, antraceno.
- El término "tratamiento" y "tratar" como se usa en el presente documento significa el manejo y cuidado de un paciente con el fin de combatir una afección, tal como una enfermedad o un trastorno. El término tiene la intención de incluir el espectro completo de tratamientos para una condición dada de la cual el paciente está sufriendo, tal como la administración del compuesto activo para aliviar los síntomas o complicaciones, para retrasar la progresión de la enfermedad, trastorno o condición, para aliviar o mitigar los síntomas y complicaciones, y/o curar o eliminar la enfermedad, trastorno o afección, así como prevenir la afección, en la que la prevención debe entenderse como el manejo y cuidado de un paciente con el fin de combatir la enfermedad, afección o trastorno e incluye la administración de los compuestos activos para prevenir la aparición de los síntomas o complicaciones. El tratamiento puede realizarse de forma aguda o crónica. El paciente a tratar es preferiblemente un mamífero; en particular un ser humano, pero también puede incluir animales, tales como perros, gatos, vacas, ovejas y cerdos.
- El término "una cantidad terapéuticamente efectiva" de un compuesto de Fórmula (1) de la presente invención como se usa en el presente documento significa una cantidad suficiente para curar, aliviar o detener parcialmente las manifestaciones clínicas de una enfermedad dada y sus complicaciones. Una cantidad adecuada para lograr esto se define como "cantidad terapéuticamente efectiva". Las cantidades efectivas para cada propósito dependerán de la gravedad de la enfermedad o lesión, así como del peso y el estado general del sujeto. Se entenderá que la determinación de una dosificación apropiada se puede lograr usando experimentación de rutina, construyendo una matriz de valores y probando diferentes puntos en la matriz, que está dentro de las habilidades ordinarias de un médico o veterinario capacitado.
- En otro aspecto adicional, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende el compuesto de Fórmula (1) y opcionalmente un aditivo farmacéuticamente aceptable, tal como un vehículo o un excipiente.
- Como se usa en el presente documento, "aditivo farmacéuticamente aceptable" pretende, sin limitación, incluir vehículos, excipientes, diluyentes, adyuvantes, colorantes, aromas, conservantes, etc., que la persona experta consideraría usar al formular un compuesto de la presente invención para hacer una composición farmacéutica
- Los adyuvantes, diluyentes, excipientes y/o vehículos que pueden usarse en la composición de la invención deben ser farmacéuticamente aceptables en el sentido de ser compatibles con el compuesto de Fórmula (1) y los demás ingredientes de la composición farmacéutica y no perjudiciales para el receptor del mismo. Se prefiere que las composiciones no contengan ningún material que pueda causar una reacción adversa, tal como una reacción alérgica. Los adyuvantes, diluyentes, excipientes y vehículos que pueden usarse en la composición farmacéutica de la invención son bien conocidos por una persona dentro de la técnica.
- Como se mencionó anteriormente, las composiciones y particularmente las composiciones farmacéuticas como se

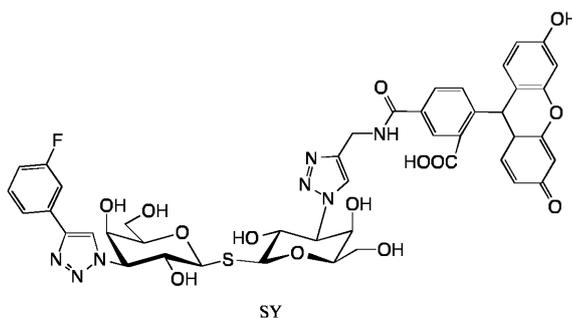
- describen en el presente documento pueden, además de los compuestos descritos en el presente documento, comprender además al menos un adyuvante, diluyente, excipiente y/o vehículo farmacéuticamente aceptable. En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas comprenden del 1 al 99% en peso de dicho al menos un adyuvante, diluyente, excipiente y/o vehículo farmacéuticamente aceptable y del 1 al 99% en peso de un compuesto como se describe en el presente documento. La cantidad combinada del ingrediente activo y del adyuvante, diluyente, excipiente y/o vehículo farmacéuticamente aceptable no puede constituir más del 100% en peso de la composición, particularmente la composición farmacéutica.
- En algunas realizaciones, solo se usa un compuesto como se describe en este documento para los fines discutidos anteriormente.
- En algunas realizaciones, dos o más del compuesto como se describe en el presente documento se usan en combinación para los fines discutidos anteriormente.
- La composición, particularmente la composición farmacéutica que comprende un compuesto expuesto en este documento, puede adaptarse para administración oral, intravenosa, tópica, intraperitoneal, nasal, bucal, sublingual o subcutánea, o para administración a través del tracto respiratorio en forma de, para ejemplo, un aerosol o un polvo fino suspendido en aire. Por lo tanto, la composición farmacéutica puede estar en forma de, por ejemplo, tabletas, cápsulas, polvos, nanopartículas, cristales, sustancias amorfas, soluciones, parches transdérmicos o supositorios.
- Se describen realizaciones adicionales del proceso en la sección experimental en el presente documento, y cada proceso individual, así como cada material de partida, constituyen realizaciones que pueden formar parte de realizaciones.
- Las realizaciones anteriores deben verse como referidas a cualquiera de los aspectos (tales como 'método para tratamiento', 'composición farmacéutica', 'compuesto para usar como medicamento' o 'compuesto para usar en un método') descritos en el presente documento, así como cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, a menos que se especifique que una realización se refiere a un cierto aspecto o aspectos de la presente invención.
- Todos los títulos y subtítulos se usan en este documento solo por conveniencia y no deben interpretarse como limitantes de la invención de ninguna manera.
- La invención abarca cualquier combinación de los elementos descritos anteriormente en todas las variaciones posibles de los mismos, a menos que se indique lo contrario en el presente documento o se contradiga claramente por el contexto.
- Los términos "un" y "uno, una" y "el, la" y referentes similares, tal como se usan en el contexto de la descripción de la invención, deben interpretarse para abarcar tanto el singular como el plural, a menos que se indique lo contrario en este documento o que el contexto lo contradiga claramente. Por ejemplo, cuando se dice "opcionalmente sustituido con un" significa "opcionalmente sustituido con uno o más".
- La mención de intervalos de valores en el presente documento solo pretende servir como un método abreviado de referirse individualmente a cada valor separado que cae dentro del intervalo, a menos que se indique lo contrario en el presente documento, y cada valor por separado se incorpora a la especificación como si fuera individualmente mencionado en el presente documento. A menos que se indique lo contrario, todos los valores exactos proporcionados en este documento son representativos de los valores aproximados correspondientes (por ejemplo, todos los ejemplos de valores exactos proporcionados con respecto a un factor o medición en particular pueden considerarse que también proporcionan una medición aproximada correspondiente, modificada por "aproximadamente" donde corresponda).
- Todos los métodos descritos en el presente documento pueden realizarse en cualquier orden adecuado a menos que se indique lo contrario en el presente documento o que el contexto lo contradiga claramente.
- El uso de todos y cada uno de los ejemplos, o ejemplo de expresión (por ejemplo, "tal como") proporcionado en este documento, pretende simplemente iluminar mejor la invención y no plantea una limitación en el alcance de la invención a menos que se indique lo contrario. Ninguna expresión en la memoria descriptiva debe interpretarse como que indica que cualquier elemento es esencial para la práctica de la invención a menos que se establezca explícitamente.
- La citación e incorporación de documentos de patente en este documento se realiza únicamente por conveniencia y no refleja ninguna opinión sobre la validez, patentabilidad y/o exigibilidad de dichos documentos de patente.
- La descripción en el presente documento de cualquier aspecto o realización de la invención usando términos tales como "que comprende", "que tiene", "que incluye" o "que contiene" con referencia a un elemento o elementos está destinado a proporcionar soporte para un aspecto similar o la realización de la invención que "consiste en", "consiste esencialmente en" o "comprende sustancialmente" ese elemento o elementos particulares, a menos que se indique lo contrario o se contradiga claramente por el contexto (por ejemplo, una composición descrita en el presente documento que comprende un elemento particular debe entenderse como que también describe una composición que consta de ese elemento, a menos que se indique lo contrario o se contradiga claramente por el contexto).

La presente invención se ilustra adicionalmente mediante los siguientes ejemplos que, sin embargo, no deben interpretarse como limitantes del alcance de la protección. Las características descritas en la descripción anterior y en los siguientes ejemplos pueden, tanto por separado como en cualquier combinación de las mismas, ser material para realizar la invención en diversas formas de la misma.

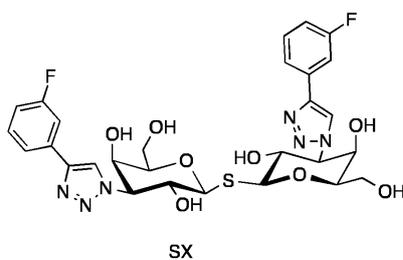
5 Sección experimental 1

Evaluación de valores de Kd

La afinidad de los compuestos S8a-c, S11, S16, S20a-b y S21 por las galectinas se determinó mediante un ensayo de anisotropía de fluorescencia en el que el compuesto se usó como un inhibidor de la interacción entre la galectina y una sonda de sacárido etiquetada con fluoresceína como lo describe Sörme, P., Kahl-Knutsson, B., Huflejt, M., Nilsson, UJ y Leffler H. (2004). Fluorescence polarization as an analytical tool to evaluate galectin-ligand interactions. Anal. Biochem. 334: 36-47, (Sörme et al., 2004) and Monovalent interactions of Galectin-1 By Salomonsson, Emma; Larumbe, Amaia; Tejler, Johan; Tullberg, Erik; Rydberg, Hanna; Sundin, Anders; Khabut, Areej; Frejd, Torbjorn; Lobsanov, Yuri D.; Rini, James M.; et al., From Biochemistry (2010), 49(44), 9518-9532, (Salomonsson et al., 2010). El ensayo se adaptó para poder medir la alta afinidad del presente compuesto por galectina 3 mediante el uso de una sonda (SY) construida para tener alta afinidad por galectina 3 con base en la estructura del 3,3'-didesoxi-3,3'-di-[4-(3-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il] -1,1'-sulfanodiiil-di-β-D-galactopiranosido, lo que hizo posible utilizar una baja concentración de galectina 3 (50 nM). Se incluyó albúmina 100 nM como vehículo para evitar la pérdida de proteínas a una concentración tan baja de galectina.



20 Se encontró que los compuestos de tipo S8a-c son menos activos hacia la galectina 1 en comparación con 3,3'-didesoxi-3,3'-di-[4-(3-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il]-1,1'-sulfanodiiil-di-β-D-galactopiranosido (estructura a continuación) y, en consecuencia, más selectivo hacia galectina 3.



25 Los valores de Kd para los compuestos 8a-c, S11, S16, S20a-b y S21 y el compuesto de referencia 3,3'-didesoxi-3,3'-di-[4-(3-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il]-1,1'-sulfanodiiil-di-β-D-galactopiranosido (SX)

Ejemplo	Galectina 1 Kd (μM)	Galectina 3 Kd (μM)
S8a	0,32	0,028
S8b	0,48	0,002
S8c	1,2	0,072
S11	0,077	0,001
S16	0,09	0,007
S20a	0,38	0,064
S20b	0,49	0,14

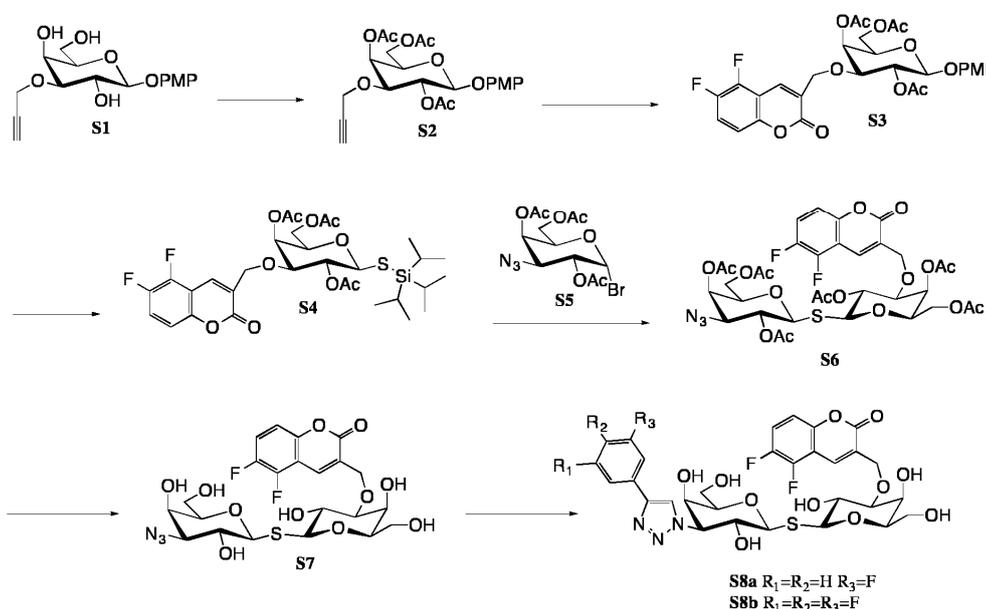
S21	0,066	0,003
SX	0,060	0,001

Síntesis de ejemplos.

Materiales y métodos

Los espectros de RMN se registraron en un espectrómetro Bruker Avance II de 400 MHz a temperatura ambiente. Los espectros de RMN de  $^1\text{H}$  se asignaron utilizando métodos bidimensionales (COSY). Los cambios químicos se dan en ppm campo abajo desde la señal para  $\text{Me}_4\text{Si}$ , con referencia a  $\text{CHCl}_3$  o  $\text{CD}_2\text{HOD}$  residual. El HRMS se determinó por infusión directa en un espectrómetro de masas Waters XEVO-G2 QTOF usando ionización por electroaspersión (ESI). Las reacciones se monitorizaron por TLC usando placas de gel de sílice con respaldo de aluminio (Merck 60F<sub>254</sub>) y se visualizaron usando luz UV y carbonizando con  $\text{H}_2\text{SO}_4$  etanólico (7%). La cromatografía en columna se realizó usando columnas de gel de sílice (40-60  $\mu\text{m}$ , 60 Å). Los disolventes se secaron almacenándolos sobre MS activado. Los reactivos fueron suministrados por Sigma-Aldrich y se usaron tal cual.

Ejemplos 1-3



Ejemplo 1

15 S8a) 3'-Desoxi-3-O-[(5,6-difluoro-2-oxo-3-cromenil)metil]-3'-[4-(3-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il]-1,1'-sulfanodil-di- $\beta$ -D-galactopiranosido

A una solución de S7 (90 mg, 0,16 mmol) y  $\text{CuI}$  (3 mg, 0,016 mmol) en DMF (8 mL) se le añadió 1-etinil-3-fluorobenceno (0,036 mL, 0,31 mmol) seguido de diisopropiletilamina (0,027 mL, 0,16 mmol). La suspensión resultante se agitó a temperatura ambiente durante 6 h seguido de 90 minutos a 50 °C para obtener la conversión completa del material de partida. La solución se evaporó sobre gel de sílice y se purificó con cromatografía instantánea. ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ : MeOH 19:1 >14:1) para obtener S8a (48 mg, 44 %). RMN de  $^1\text{H}$  (MeOD, 400 MHz)  $\delta$  8,52 (s, 1H), 8,39 (s, 1H), 7,66 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 7,60 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 7,53 - 7,42 (m, 2H), 7,20 (d, J = 9,4 Hz, 1H), 7,07 (td, J = 8,4, 2,3 Hz, 1H), 4,95 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 4,88 (dd, J = 10,7, 3,0 Hz, 1H), 4,77 (d, J = 9,9 Hz, 1H), 4,73 (dd, J = 15,4, 1,5 Hz, 1H), 4,63 (dd, J = 15,4, 1,5 Hz, 1H), 4,43 (t, J = 10,4 Hz, 1H), 4,22 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 4,13 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 3,97 (t, J = 9,6 Hz, 1H), 3,87 - 3,79 (m, 3H), 3,75 - 3,63 (m, 3H), 3,53 (dd, J = 9,2, 3,1 Hz, 1H).

HRMS calculado para  $[\text{C}_{30}\text{H}_{30}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_{11}\text{NaS}]^+$ , 720,1451; encontrado: 720,1443.

Ejemplo 2

S8b) 3'-Desoxi-3-O-[(5,6-difluoro-2-oxo-3-cromenil)metil]-3'-[4-(3,4,5-trifluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il]-1,1'-sulfano diil-di- $\beta$ -D-galactopiranosido

30 A una solución de S7 (26 mg, 0,045 mmol) y  $\text{CuI}$  (1 mg, 0,0045 mmol) en DMF (4 mL) se le añadió 3,4,5-trifluorofenilacetileno (0,009 mL, 0,090 mmol) seguido de diisopropiletilamina (0,008 mL, 0,045 mmol). La suspensión

resultante se agitó a 50°C durante 3 h. La solución se evaporó sobre gel de sílice y se purificó con cromatografía instantánea (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: MeOH 19:1 -> 14:1) para obtener S8b (15 mg, 45%).

5 RMN de <sup>1</sup>H (MeOD, 400 MHz) δ 8,55 (s, 1H), 8,38 (s, 1H), 7,63 (dd, J = 8,9, 6,6 Hz, 2H), 7,50 (q, J = 9,1 Hz, 1H), 7,20 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 4,94 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 4,88 (dd, J = 9,8, 3,0 Hz, 1H), 4,77 (d, J = 9,9 Hz, 1H), 4,73 (dd, J = 15,4, 1,5 Hz, 1H), 4,63 (dd, J = 15,4, 1,5 Hz, 1H), 4,40 (t, J = 9,6 Hz, 1H), 4,22 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 4,12 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 3,96 (t, J = 9,6 Hz, 1H), 3,86 - 3,79 (m, 3H), 3,75 - 3,67 (m, 2H), 3,64 (m, 1H), 3,53 (dd, J = 9,2, 3,1 Hz, 1H).

HRMS calculado para [C<sub>30</sub>H<sub>29</sub>F<sub>5</sub>N<sub>3</sub>O<sub>11</sub>S]<sup>+</sup>, 734,1443; encontrado: 734,1453.

Preparación de materiales de partida Ejemplos 1-2

S2) 2,4,6-Tri-O-acetil-3-O-propargil-β-D-galactopiranosido de 4-metoxifenilo

10 El compuesto S1 (1,45 g, 4,48 mmol) (L. Zhang, G. Wei, Y. Du, Carbohydr. Res., 2009, 344, 2083-2087) se disolvió en anhídrido acético (10 mL) y piridina (10 mL) y se agitó a ta (temperatura ambiente) dn (durante la noche). El disolvente se evaporó para obtener S2 (2,01 g, 99%) como un sólido blanco.

RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 6,96 (d, J = 9,1 Hz, 2H), 6,81 (d, J = 9,1 Hz, 2H), 5,44 (d, J = 2,5 Hz, 1H), 5,31 (dd, J =

15 10,0, 8,0 Hz, 1H), 4,91 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 4,20 (m, 2H), 3,95 (t, J = 6,5 Hz, 1H), 3,90 (dd, J = 10,0, 3,5 Hz, 1H), 3,77 (s, 3H), 2,17 (s, 3H), 2,12 (s, 3H), 2,08 (s, 3H).

HRMS calculado para [C<sub>22</sub>H<sub>26</sub>O<sub>10</sub>Na]<sup>+</sup>, 473,1424; encontrado: 473,1426.

S3) 2,4,6-Tri-O-acetil-3-O-[(5,6-difluoro-2-oxo-3-cromenil)metil]-β-D-galactopiranosido de 4-metoxifenilo

20 A una mezcla de S2 (1,23 g, 2,72 mmol), 5,6-difluorosalicilaldehído (860 mg, 5,44 mmol) y CuI (518 mg, 2,72 mmol) en THF (100 mL) se le agregó p-toluenosulfonil azida (1,34 g, 6,80 mmol) disuelta en THF (5 mL). La mezcla resultante se agitó durante 30 minutos antes de que se añadiera trietilamina (1,51 mL, 10,88 mmol) y la solución resultante se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. Después de la evaporación del disolvente, el residuo se diluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y se lavó con solución de NH<sub>4</sub>Cl acuosa saturada y salmuera. La fase orgánica se secó y se evaporó, después de lo cual el residuo obtenido se disolvió en MeOH (75 mL) y NaOMe (1 M, 25 mL). La solución resultante se agitó durante la noche. seguido de la adición de Dowex para ajustar el pH a 7 y se concentró la solución. El residuo obtenido se disolvió en anhídrido acético (10 mL) y piridina (10 mL) y se agitó a ta durante 5 h. La evaporación de los disolventes y la purificación por cromatografía en columna (heptano:EtOAc 3:1 -> 1:1) produjo S3 (1,35 g, 82%).

30 RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 7,91 (s, 1H), 7,33 (q, J = 9,4 Hz, 1H), 7,09 (d, J = 9,3 Hz, 1H), 6,96 (d, J = 9,1 Hz, 2H), 6,82 (d, J = 9,1 Hz, 2H), 5,57 (d, J = 2,5 Hz, 1H), 5,45 (dd, J = 10,0, 7,9 Hz, 1H), 4,90 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 4,67 (dd, J = 14,5, 1,5 Hz, 1H), 4,48 (dd, J = 14,5, 1,5 Hz, 1H), 4,28 - 4,18 (m, 2H), 3,97 (t, J = 6,4 Hz, 1H), 3,78 (s, 3H), 3,76 (dd, J = 10,1, 3,4 Hz, 1H), 2,20 (s, 3H), 2,12 (s, 3H), 2,08 (s, 3H).

S4) 2,4,6-Tri-O-acetil-3-O-[(5,6-difluoro-2-oxo-3-cromenil)metil]-1-tio-β-D-galactopiranosido de triisopropilsililo

35 Se disolvieron bromuro de zinc (25 mg, 0,11 mmol) y S3 (1,35 g, 2,23 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50 mL) y se añadió bromuro de acetilo (0,49 mL, 6,68 mmol), la solución se agitó durante 14 h a ta. La solución se diluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y se lavó tres veces con solución de NaHCO<sub>3</sub> acuosa saturada y tres veces con salmuera. La fase orgánica se secó y se evaporó. El residuo obtenido y K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (769 mg, 5,57 mmol) se disolvieron en acetona (40 mL) y se añadió triisopropilsilanotiol (0,60 mL, 2,78 mmol). La solución se agitó 18 h a ta seguido de evaporación del disolvente, se añadió CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y se lavó con agua. La fase orgánica se secó, se evaporó y el residuo se purificó con cromatografía instantánea (heptano:EtOAc 4:1 -> 1:1) para obtener S4 (566 mg, 38%).

40 RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 7,88 (s, 1H), 7,32 (q, J = 9,4 Hz, 1H), 7,08 (d, J = 7,3 Hz, 1H), 5,55 (d, J = 2,5 Hz, 1H), 5,25 (t, J = 9,7 Hz, 1H), 4,63 (m, 2H, H-1), 4,43 (dd, J = 14,5, 1,5 Hz, 1H), 4,14 (m, 2H), 3,82 (t, J = 6,3 Hz, 1H), 3,65 (dd, J = 9,7, 3,4 Hz, 1H), 2,17 (s, 3H), 2,10 (s, 3H), 2,06 (s, 3H), 1,27 (m, 3H), 1,13 (d, J = 6,4 Hz, 18H).

S6) 2,4,6-Tri-O-acetil-3-O-[(5,6-Difluoro-2-oxo-3-cromenil)metil]-2',4',6'-tri-O-acetil-3'-azido-3'-desoxi-1,1'-sulfano diil-di-β-D-galactopiranosido

45 Los compuestos S4 (537 mg, 0,80 mmol) y S5 (370 mg, 0,94 mmol) (TL Lowary, O. Hindsgaul, Carbohydr. Res., 1994, 251, 33-67) se disolvieron en acetonitrilo (30 mL) y se burbujeó nitrógeno gaseoso a través de la solución durante 10 minutos, después de lo cual se añadió fluoruro de tetrabutilamonio (0,84 mL, 1 M en THF, 0,84 mmol). Después de que se eliminó el disolvente durante 2,5 h, el residuo se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y se lavó con agua. La fase orgánica se secó, se evaporó y se purificó con cromatografía ultrarrápida (heptano:EtOAc 3:1 -> 1:2) para obtener S6 (652 mg, 98%).

50 RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 7,86 (s, 1H), 7,33 (q, J = 9,3 Hz, 1H), 7,09 (m, 1H), 5,58 (d, J = 3,1 Hz, 1H), 5,48 (d, J =

2,9 Hz, 1H), 5,21 (t, J = 10,1 Hz, 1H), 5,19 (t, J = 10,2 Hz, 1H), 4,81 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 4,79 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 4,64 (dd, J = 14,5, 1,5 Hz, 1H), 4,46 (dd, J = 14,3, 1,3 Hz, 1H), 4,23 - 4,11 (m, 4H), 3,86 (t, J = 6,3 Hz, 2H), 3,73 (dd, J = 9,6, 3,4 Hz, 1H), 3,66 (dd, J = 10,1, 3,4 Hz, 1H), 2,18 (s, 6H), 2,14 (s, 3H), 2,09 (s, 3H), 2,08 (s, 3H), 2,07 (s, 3H).

S7) 3'-Azido-3'-desoxi-3-O-[(5,6-Difluoro-2-oxo-3-cromenil)metil]-1,1'-sulfanodil-di-β-D-galactopiranosido

- 5 Se añadió NaOMe (1 M, 10 mL) a una solución agitada de S6 (525 mg, 0,63 mmol) en MeOH (15 mL) y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 mL). Después de agitar dn se ajustó el pH a 7 con Dowex y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en columna (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH 19:1 -> 9:1) para obtener S7 (195 mg, 53%).

HRMS calculado para [C<sub>22</sub>H<sub>25</sub>F<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O<sub>11</sub>NaS]<sup>+</sup>, 600,1076; encontrado: 600,1079.

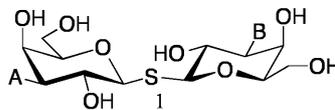
#### Referencias

- 10 Almkvist, J., Fäldt, J., Dahlgren, C., Leffler, H., y Karlsson, A. (2001) Lipopolysaccharide-induced gelatinase granule mobilization primes neutrophils for activation by galectin-3 and f-Met-Leu-Phe. *Infect. Immun.* Vol. 69: 832-837.
- Barondes, S. H., Cooper, D. N. W., Gitt, M. A., y Leffler, H. (1994). Galectins. Structure and function of a large family of animal lectins. *J. Biol. Chem.* 269: 20807-20810.
- 15 Blois, S.M., Ilarregui, J.M., Tometten, M., Garcia, M., Orsal, A.S., Cordo-Russo, R., Toscano, M.A., Bianco, G.A., Kobelt, P., Handjiski, B., et al. (2007). A pivotal role for galectin-1 in fetomaternal tolerance. *Nat Med* 13: 1450-1457.
- Chen, W.-S., Leffler H., Nilsson, U. J., Panjwani, N. (2012). Targeting Galectin-1 and Galectin-3 Attenuates VEGF-A-induced Angiogenesis; *Mol. Biol. Cell (suppl)*, Abstract No. 2695.
- 20 Cumpstey, I., Carlsson, S., Leffler, H. y Nilsson, U. J. (2005) Synthesis of a phenyl thio-β-D-galactopyranoside library from 1,5-difluoro-2,4-dinitrobenzene: discovery of efficient and selective monosaccharide inhibitors of galectin-7. *Org. Biomol. Chem.* 3: 1922-1932.
- Cumpstey, I., Sundin, A., Leffler, H. y Nilsson, U. J. (2005) C2-Symmetrical thiodigalactoside bis-benzamido derivatives as high-affinity inhibitors of galectin-3: Efficient lectin inhibition through double arginine-arene interactions. *Angew. Chem. Int. Ed.* 44: 5110-5112.
- 25 Cumpstey, I., Salomonsson, E., Sundin, A., Leffler, H. y Nilsson, U. J. (2008) Double affinity amplification of galectin-ligand interactions through arginine-arene interactions: Synthetic, thermodynamic, and computational studies with aromatic diamido-thiodigalactosides. *Chem. Eur. J.* 14: 4233-4245.
- Dam, T.K., y Brewer, C.F. (2008). Effects of clustered epitopes in multivalent ligand-receptor interactions. *Biochemistry* 47: 8470-8476.
- 30 Delacour, D., Greb, C., Koch, A., Salomonsson, E., Leffler, H., Le Bivic, A., y Jacob, R. (2007). Apical Sorting by Galectin-3-Dependent Glycoprotein Clustering. *Traffic* 8: 379-388.
- Delaine, T., Cumpstey, I., Ingrassia, L., Le Mercier, M., Okechukwu, P., Leffler, H., Kiss, R., y Nilsson, U.J. (2008). Galectin-Inhibitory Thiodigalactoside Ester Derivatives Have Anti-Migratory Effects in Cultured Lung and Prostate Cancer Cells. *J Med Chem* 51; 8109-8114.
- 35 Garner, O.B., y Baum, L.G. (2008). Galectin-glycan lattices regulate cell-surface glycoprotein organization and signalling. *Biochem Soc Trans* 36: 1472-1477.
- Giguere, D., Patnam, R., Bellefleur, M.-A., St.-Pierre, C., Sato, S., y Roy, R. (2006). Carbohydrate triazoles and isoxazoles as inhibitors of galectins-1 and -3. *Chem Commun*: 2379-2381.
- Glinsky, G.V., Price, J.E., Glinsky, V.V., Mossine, V.V., Kiriakova, G., y Metcalf, J.B. (1996). *Cancer Res* 56: 5319-5324.
- 40 Glinsky, V.V., Kiriakova, G., Glinskii, O.V., Mossine, V.V., Mawhinney, T.P., Turk, J.R., Glinskii, A.B., Huxley, V.H., Price, J.E., and Glinsky, G.V. (2009). Synthetic Galectin-3 Inhibitor Increases Metastatic Cancer Cell Sensitivity to Taxol-Induced Apoptosis In Vitro and In Vivo. *Neoplasia* 11; 901-909.
- Huflejt, M. E. y Leffler, H. (2004) Galectin-4 in normal tissues and cancer. *Glycoconj. J.* 20: 247-255.
- 45 Ingrassia et al. (2006) A Lactosylated Steroid Contributes *in Vivo* Therapeutic Benefits in Experimental Models of Mouse Lymphoma and Human Glioblastoma. *J. Med. Chem.* 49: 1800-1807.
- John, C. M., Leffler, H., Kahl-Knutsson, B., Svensson, I., y Jarvis, G. A. (2003) Truncated Galectin-3 Inhibits Tumor Growth and Metastasis in Orthotopic Nude Mouse Model of Human Breast Cancer. *Clin. Cancer Res.* 9: 2374-2383.
- Lau, K.S., y Dennis, J.W. (2008). N-Glycans in cancer progression. *Glycobiology* 18: 750-760.

- Lau, K.S., Partridge, E.A., Grigorian, A., Silvescu, C.I., Reinhold, V.N., Demetriou, M., y Dennis, J.W. (2007). Complex N-glycan number and degree of branching cooperate to regulate cell proliferation and differentiation. *Cell* 129: 123-134.
- 5 Leffler, H. y Barondes, S. H. (1986) Specificity of binding of three soluble rat lung lectins to substituted and unsubstituted mammalian beta-galactosides. *J. Biol. Chem.* 261:10119-10126.
- Leffler, H. *Galectins Structure and Function – A Synopsis in Mammalian Carbohydrate Recognition Systems* (Crocker, P. ed.) Springer Verlag, Heidelberg, 2001 páginas 57-83.
- Leffler, H., Carlsson, S., Hedlund, M., Qian, Y. y Poirier, F. (2004) Introduction to galectins. *Glycoconj. J.* 19: 433-440.
- Leffler, H., editor, (2004b) Special Issue on Galectins. *Glycoconj. J.* 19: 433-638.
- 10 Lin, C.-I., Whang, E.E., Donner, D.B., Jiang, X., Price, B.D., Carothers, A.M., Delaine, T., Leffler, H., Nilsson, U.J., Nose, V., et al. (2009). Galectin-3 Targeted Therapy with a Small Molecule Inhibitor Activates Apoptosis and Enhances Both Chemosensitivity and Radiosensitivity in Papillary Thyroid Cancer. *Mol Cancer Res* 7: 1655-1662.
- MacKinnon, A. C., Farnworth, S. L., Henderson, N. C., Hodgkinson, P. S., Kipari, T., Leffler, H., Nilsson, U. J., Haslett, C., Hughes, J., y Sethi T. (2008). Regulation of alternative macrophage activation by Galectin-3. *J. Immun.* 180; 2650-2658.
- 15 Mackinnon, A., Gibbons, M., Farnworth, S., Leffler, H., Nilsson, U. J., Delaine, T., Simpson, A., Forbes, S., Hirani, N., Gauldie, J., y Sethi T. (2012). Regulation of TGF- $\beta$ 1 driven lung fibrosis by Galectin-3. *Am. J. Resp. Crit. Care Med.*, in press.
- Massa, S. M., Cooper, D. N. W., Leffler, H., Barondes, S. H. (1993) L-29, an endogenous lectin, binds to glycoconjugate ligands with positive cooperativity. *Biochemistry* 32: 260-267.
- 20 Partridge, E.A., Le Roy, C., Di Guglielmo, G.M., Pawling, J., Cheung, P., Granovsky, M., Nabi, I.R., Wrana, J.L., y Dennis, J.W. (2004). Regulation of cytokine receptors by Golgi N-glycan processing and endocytosis. *Science* 306: 120-124.
- Perone, M.J., Bertera, S., Shufesky, W.J., Divito, S.J., Montecalvo, A., Mathers, A.R., Larregina, A.T., Pang, M., Seth, N., Wucherpfennig, K.W., et al. (2009). Suppression of autoimmune diabetes by soluble galectin-1. *J Immunol* 182: 2641-2653.
- 25 Pienta, K.J., Naik, H., Akhtar, A., Yamazaki, K., Reploge, T.S., Lehr, J., Donat, T.L., Tait, L., Hogan, V., y Raz, A. (1995). Inhibition of spontaneous metastasis in a rat prostate cancer model by oral administration of modified citrus pectin. *J Natl Cancer Inst* 87, 348-353.
- 30 Saegusa, J., Hsu, D.K., Chen, H.Y., Yu, L., Fermin, A., Fung, M.A., y Liu, F.T. (2009). Galectin-3 is critical for the development of the allergic inflammatory response in a mouse model of atopic dermatitis. *Am J Pathol* 174: 922-931.
- Salameh, B. A., Leffler, H. y Nilsson, U. J. (2005) *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 15: 3344-3346.
- Salameh, B.A., Cumpstey, I., Sundin, A., Leffler, H., y Nilsson, U.J. (2010). 1H-1,2,3-Triazol-1-yl thiodigalactoside derivatives as high affinity galectin-3 inhibitors. *Bioorg Med Chem* 18: 5367-5378.
- 35 Salomonsson, E., Larumbe, A., Tejler, J., Tullberg, E., Rydberg, H., Sundin, A., Khabut, A., Frejd, T., Lobsanov, Y.D., Rini, J.M., Nilsson, U.J., y Leffler, H (2010). Monovalent interactions of galectin-1. *Biochemistry* 49: 9518-9532.
- Sörme, P., Qian, Y., Nyholm, P.-G., Leffler, H., Nilsson, U. J. (2002) Low micromolar inhibitors of galectin-3 based on 3'-derivatization of N-acetyllactosamine. *ChemBioChem* 3: 183-189.
- 40 Sörme, P., Kahl-Knutsson, B., Wellmar, U., Nilsson, U. J., y Leffler H. (2003a) Fluorescence polarization to study galectin-ligand interactions. *Meth. Enzymol.* 362: 504-512.
- Sörme, P., Kahl-Knutsson, B., Wellmar, U., Magnusson, B.-G., Leffler H., y Nilsson, U. J. (2003b) Design and synthesis of galectin inhibitors. *Meth. Enzymol.* 363: 157-169.
- Sörme, P., Kahl-Knutsson, B., Huflejt, M., Nilsson, U. J., y Leffler H. (2004) Fluorescence polarization as an analytical tool to evaluate galectin-ligand interactions. *Anal. Biochem.* 334: 36-47.
- 45 Thijssen, V.L., Poirer, F., Baum, L.G., y Griffioen, A.W. (2007). Galectins in the tumor endothelium: opportunities for combined cancer therapy. *Blood* 110: 2819-2827.
- Toscano, M.A., Bianco, G.A., Ilarregui, J.M., Croci, D.O., Correale, J., Hernandez, J.D., Zwirner, N.W., Poirier, F., Riley, E.M., Baum, L.G., et al. (2007). Differential glycosylation of TH1, TH2 and TH-17 effector cells selectively regulates susceptibility to cell death. *Nat Immunol* 8: 825-834.

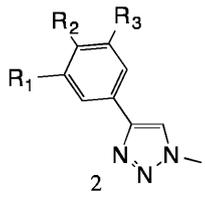
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de Fórmula (1)



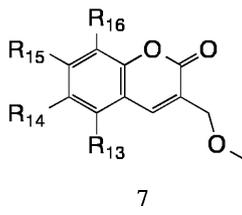
en la que

5 A se selecciona de



en la que R<sub>1</sub>-R<sub>3</sub> se seleccionan independientemente de hidrógeno (H), flúor, metilo opcionalmente sustituido con un flúor (F) y OCH<sub>3</sub> opcionalmente sustituido con un F;

B se selecciona de



10 en la que R<sub>13</sub>-R<sub>16</sub> se seleccionan independientemente de H, F, metilo opcionalmente sustituido con un F, y OCH<sub>3</sub> opcionalmente sustituido con un F;

o

una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

15 2. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R<sub>1</sub>-R<sub>3</sub> se seleccionan independientemente de H o F, y en el que R<sub>13</sub>-R<sub>14</sub> son ambos F, y R<sub>15</sub>-R<sub>16</sub> son ambos H.

3. El compuesto de la reivindicación 2, en el que R<sub>1</sub> es H, R<sub>2</sub> es H y R<sub>3</sub> es F.

4. El compuesto de la reivindicación 2 en el que R<sub>1</sub>-R<sub>3</sub> son F.

5. El compuesto de la reivindicación 1 que se selecciona de

20 3'-Desoxi-3-O-[(5,6-difluoro-2-oxo-3-cromenil)metil]-3'-[4-(3-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il]-1,1'-sulfanodiil-di-β-D-galactopiranosido, y

3'-Desoxi-3-O-[(5,6-difluoro-2-oxo-3-cromenil)metil]-3'-[4-(3,4,5-trifluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il]-1,1'-sulfanodiil-di-β-D-galactopiranosido.

6. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-5 para uso como un medicamento.