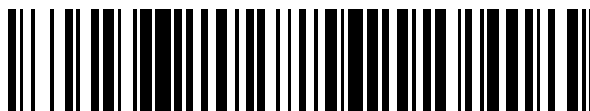


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 611 206**

51 Int. Cl.:

C07H 19/056 (2006.01)

A61K 31/7056 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.05.2009** **E 13184114 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.12.2016** **EP 2679595**

54 Título: **Derivados de di-(3-deoxi-3-1H-1,2,3-triazol-1-il)-beta-D-galacto-iranosil)sulfano como inhibidores de galectina-3**

30 Prioridad:

16.05.2008 SE 0801119

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

05.05.2017

73 Titular/es:

**GALECTO BIOTECH AB (100.0%)
Cobis, Ole Maaløes Vej 3
2200 Copenhagen, DK**

72 Inventor/es:

NILSSON, ULF

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 611 206 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

Derivados de di-(3-deoxi-3-1H-1,2,3-triazol-1-il)-beta-D-galacto-piranosil)sulfano como inhibidores de galectina-3

Campo técnico de la invención

La presente invención se refiere a nuevos tio-di-galactósidos de la Fórmula (13).

Técnica anterior

Las galectinas son proteínas con un dominio de reconocimiento de carbohidratos (CRD) característico (Leffler y *otros*, 2004) (Fig. 1). Este es un emparejado β fuertemente plegado de aproximadamente 130 aa (aproximadamente 15 kDa) con las dos características definitorias 1) un sitio de unión a β -galactosa (C en la Fig. 1) suficiente similitud en un motivo secuencial de aproximadamente siete aminoácidos, la mayoría de los cuales (aproximadamente seis residuos) conforman el sitio de unión a β -galactosa. Sin embargo, se requieren sitios adyacentes (A,B,D,E en la Fig. 1) para una unión fuerte de los sacáridos naturales, y diferentes preferencias de estos le dan a las galectinas una excelente especificidad diferente para los sacáridos naturales.

El completamiento reciente de las secuencias del genoma humano, de ratón y de rata revela aproximadamente 15 galectinas y proteínas similares a galectinas en un genoma de mamífero con una ligera variación entre especies (Leffler y *otros*, 2004).

Las subunidades de galectinas pueden contener uno o dos CRD dentro de una sola cadena peptídica. La primera categoría, galectinas mono-CRD, pueden presentarse como monómeros o dímeros (dos tipos) en vertebrados. Las galectinas mejor estudiadas hasta el momento son la galectina-1 dimérica, y la galectina-3 que es un monómero en solución pero puede agregarse y volverse multimérica tras encontrarse con ligandos (Leffler y *otros*, 2004). Estas fueron las primeras galectinas descubiertas y son abundantes en muchos tejidos. Sin embargo, nuestro análisis filogenético reciente sugiere que las galectinas con dos CRD dentro de una cadena peptídica, galectinas bi-CRD, parecen ser más antiguas y más centrales a la familia de lo que se pensaba previamente y que la mayoría de las galectinas mono-CRD de mamífero pueden haber descendido a partir de uno o el otro CRD de una galectina bi-CRD.

Uso terapéutico potencial de los inhibidores de galectina-3.

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, es útil la analogía con la aspirina y las ciclooxigenasas (COX-I y II). Las COX producen el precursor de una amplia variedad de prostaglandinas y, por lo tanto, están implicadas en un conjunto de mecanismos biológicos diversos. Sus inhibidores, la aspirina y otros NSAID (fármacos antiinflamatorios no esteroideos) tienen, además, amplios y diversos efectos. A pesar de esto, estos inhibidores son muy útiles en la medicina, y tienen varias utilidades específicas diferentes.

De manera que si las galectinas, al igual que las COX, forman parte de algún mecanismo regulatorio biológico básico (hasta ahora desconocido), es probable que se 'usen por la naturaleza' para diferentes propósitos en diferentes contextos. No se espera que los inhibidores de galectinas, al igual que los NSAID, eliminen todo el sistema, sino que inclinen un poco el equilibrio.

Inhibición de la inflamación.

Un papel proinflamatorio de la galectina-3 se indica por su inducción en células en sitios inflamatorios, una variedad de efectos sobre células inmunológicas (por ejemplo, explosión oxidativa en neutrófilos, quimiotaxis en monocitos), y disminución de la respuesta inflamatoria, principalmente en neutrófilos y macrófagos, en ratones mutantes nulos (capítulos de Rabinovich y *otros*, Sato y *otros*, y Almkvist y *otros* en Leffler (editor), 2004b). Además, los ratones con desactivación de Mac-2BP, un ligando de la galectina-3, tienen un aumento de la respuesta inflamatoria. La inflamación es una respuesta protectora del cuerpo a organismos invasores y al daño tisular. Sin embargo, si se desequilibra, frecuentemente es además destructiva 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 importante adición al arsenal disponible para esto.

Tratamiento del choque séptico.

La idea de un posible papel de la galectina-3 en el choque séptico proviene de nuestros propios estudios. Brevemente, el argumento es el siguiente. Se conoce que el choque séptico implica la diseminación de lipopolisacáridos bacterianos en el torrente sanguíneo, y que los efectos patológicos de esto están mediados a través de leucocitos neutrófilos. El LPS no activa la respuesta del neutrófilo al daño tisular. En su lugar, ceba al neutrófilo, de manera que lo convierte de

no respondedor a respondedor a otros activadores, presumiblemente endógenos. En el choque séptico, este cebado ocurre de manera prematura en el torrente sanguíneo. Después los activadores endógenos pueden inducir la respuesta al daño tisular en el lugar y el momento equivocados. Se han propuesto varios candidatos como estos activadores endógenos, que incluyen el TNF-alfa. Los inhibidores de estos se han usado en esquemas de tratamiento sin mucho éxito. Dado que nuestros propios estudios indican que la galectina-3 es un buen candidato para ser un activador endógeno de neutrófilos cebados (Almkvist y otros en Leffler (editor), 2004b), los inhibidores de galectina-3 pueden ser muy útiles en el choque séptico.

Tratamiento de cáncer.

Un gran número de estudios inmunohistoquímicos muestran cambios en la expresión de ciertas galectinas en cáncer (van den Brule y otros y Bidon y otros en Leffler (editor), 2004b). Ahora la galectina-3 es un marcador histoquímico establecido de cáncer tiroideo, y la neoexpresión de galectina-4 es un prometedor marcador de cáncer de mamas temprano. La evidencia directa de un papel de la galectina-3 en el cáncer proviene de modelos murinos, principalmente por Raz y otros, pero también otros (Takenaka y otros en Leffler (editor), 2004b). En líneas de células tumorales pareadas (con aumento o disminución de la expresión de galectina-3), la inducción de galectina-3 produce más tumores y metástasis y la supresión de galectina-3 produce menos tumores y metástasis. Se ha propuesto que la galectina-3 potencia el crecimiento tumoral al ser antiapoptótica, promover la angiogénesis, o promover metástasis al afectar la adhesión celular. A partir de lo anterior es claro que los inhibidores de galectina-3 pudieran tener efectos anticancerosos valiosos. De hecho, se han reportado sacáridos que tienen efectos anticancerosos, los cuales se han reivindicado pero no se ha demostrado que inhiben la galectina-3. En nuestro propio estudio un fragmento de galectina-3 que contiene el CRD inhibió el cáncer de mamas en un modelo murino al actuar como un inhibidor negativo dominante (John y otros, 2003).

Además, la galectina-1 se sobreexpresa frecuentemente en células cancerosas poco diferenciadas, y la galectina-9 o sus parientes la galectina-4 y la galectina-8 pueden inducirse en tipos de cáncer específicos (Leffler (editor), 2004b). La galectina-1 induce apoptosis en células T activadas y tiene un efecto inmunosupresor notable en enfermedades autoinmunitarias in vivo (Rabinovich y otros; y Pace y otros en Leffler (editor), 2004b). Por lo tanto, la sobreexpresión de estas galectinas en cáncer podría ayudar al tumor a defenderse contra la respuesta de células T levantada por el huésped.

Los ratones mutantes nulos para las galectinas 1 y 3 se han establecido desde hace muchos años. Estos son sanos y aparentemente se reproducen normalmente en condiciones de alojamiento de animales. Sin embargo estudios recientes han revelado fenotipos sutiles en función de neutrófilos y macrófagos (como se describió anteriormente) y en la formación ósea para los mutantes nulos para la galectina-3, y en la regeneración/diferenciación de células nerviosas y musculares para los mutantes nulos para la galectina-1 (Leffler y otros, 2004; Watt en Leffler (editor), 2004b). Recientemente se han generado ratones mutantes nulos para galectina 7 y galectina 9 y también son sanos en general en condiciones de alojamiento de animales, pero aún no se han analizado en detalle. Las diferencias en el sitio de expresión, la especificidad y otras propiedades hacen poco probable que las diferentes galectinas puedan remplazarse entre sí funcionalmente. Las observaciones en los ratones mutantes nulos indicarían que las galectinas no son esenciales en funciones básicas para el soporte de la vida como puede observarse en condiciones normales de alojamiento de animales. En su lugar ellas pueden ser optimizadores de la función normal y/o pueden ser esenciales en condiciones de estrés que no ocurren en las condiciones de alojamiento de animales. La falta de un efecto fuerte en ratones mutantes nulos puede hacer que los inhibidores de galectinas sean más favorables como fármacos. Si la actividad de las galectinas contribuye a condiciones patológicas como se sugirió anteriormente pero menos a las condiciones normales, entonces su inhibición tendrá menos efectos secundarios no deseados.

Inhibidores conocidos

Ligandos naturales.

Los ensayos de unión en fase sólida y los ensayos de inhibición han identificado un número de sacáridos y glicoconjugados con la capacidad de unirse a galectinas (Leffler y otros, 2004). Todas las galectinas se unen a 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 disacáridos relacionados se unen aproximadamente como la lactosa, pero para ciertas galectinas, estos pueden unirse ya sea peor o hasta 10 veces mejor. Los mejores sacáridos pequeños ligandos para la galectina-3 fueron los que portaron determinantes del grupo sanguíneo A unidos a lactosa o residuos lacNAc y se encontró que se unen hasta aproximadamente 50 veces mejor que la lactosa. La galectina-1 no muestra preferencia por estos sacáridos.

Los sacáridos más grandes del tipo de polilactosamina se han propuesto como los ligandos preferidos para las galectinas. En solución, con el uso de glicopéptidos que portan polilactosamina, hubo evidencia de esto para la galectina-3, pero no para la galectina-1.

Los sacáridos naturales descritos anteriormente que se han identificado como ligandos de la galectina-3 no son

adecuados para su uso como componentes activos en composiciones farmacéuticas, porque son susceptibles a hidrólisis ácida en el estómago y a degradación enzimática. Adicionalmente, los sacáridos naturales son hidrofílicos por naturaleza, y no se absorben fácilmente a partir del tracto gastrointestinal después de una administración oral.

5 Inhibidores sintéticos (Pieters, 2006).

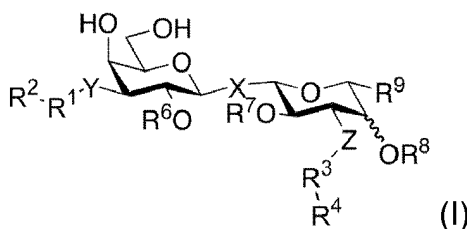
Los sacáridos acoplados a aminoácidos con actividad anticancerosa se identificaron primero como compuestos naturales en el suero, pero posteriormente, se han fabricado análogos sintéticos. Entre ellos, aquellos con lactosa o Gal acopladas al aminoácido inhiben las galectinas, pero solo aproximadamente con la misma potencia que el azúcar no derivada correspondiente. Una forma químicamente modificada de la pectina de cítricos que inhibe la galectina-3 muestra actividad antitumoral *in vivo*.

Una forma divalente de un lactosil-aminoácido tuvo mayor potencia en un ensayo en fase sólida y las agrupaciones que tenían hasta cuatro restos de lactosa mostraron un fuerte efecto de multivalencia cuando se unieron a la galectina-3, pero no a las galectinas 1 y 5. Las glicoagrupaciones basadas en ciclodextrina con siete residuos de galactosa, lactosa, o *N*-acetilactosamina mostraron, además, un fuerte efecto de multivalencia contra la galectina-3, pero menor contra las galectinas 1 y 7. Los dendrímeros y glicopolímeros estrellados, polivalentes en residuos de lactosa, se han descrito como inhibidores de la galectina-3 con una potencia marginalmente mejor en comparación con la lactosa. Los compuestos sintéticos antes mencionados que se han identificado como ligandos de galectina-3 no son adecuados para su uso como componentes activos en composiciones farmacéuticas, porque son hidrofílicos por naturaleza y no se absorben fácilmente a partir del tracto gastrointestinal después de una administración oral.

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

Se conoce que el tiodigalactósido es un inhibidor sintético y estable hidrolíticamente, aunque polar, aproximadamente tan eficiente como la *N*-acetilactosamina. Una genoteca de pentapéptidos proporcionó inhibidores contra las galectinas 1 y 3, pero solo con bajas afinidades, similares a la de la galactosa. Además, los péptidos no son agentes ideales para el direccionamiento a las galectinas *in vivo*, ya que son susceptibles a la hidrólisis y típicamente son polares. 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 la galectina-3, con valores de IC₅₀ sin precedentes tan bajos como 320 nM, lo que es una mejora de 20 veces en comparación con el disacárido de *N*-acetilactosamina natural (Sörme y otros, 2005). Estos derivados son menos polares en general, debido a la presencia de los restos amido aromáticos y por lo tanto son más adecuados como agentes para la inhibición de galectinas *in vivo*. Sin embargo, dichos compuestos derivados en 3'-amido todavía son susceptibles a la degradación hidrolítica *in vivo*, debido a la presencia de un enlace glicosídico en el resto de disacárido de *N*-acetilactosamina y, aunque son las moléculas pequeñas reportadas como mejores inhibidores de galectina-3, se desea una afinidad aún mejor.

El documento WO 2005/113568 describe un grupo de di-galactósidos que tienen la fórmula general (I):



en donde

la configuración de uno de los anillos de piranosa es β -D-galacto;
 X se selecciona del grupo que consiste en O, S, SO, SO₂, NH, CH₂, y NR⁵,
 Y se selecciona del grupo que consiste en O, S, NH, CH₂, y NR⁵, o es un enlace;
 Z se selecciona del grupo que consiste en O, S, NH, CH₂, y NR⁵, o es un enlace;
 R¹ y R³ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en CO, SO₂, SO, PO₂, PO, y CH₂ o es un enlace;
 R² y R⁴ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en:
 a) un grupo alquilo de al menos 4 carbonos, un grupo alquenilo de al menos 4 carbonos, un grupo alquilo de al menos 4 carbonos sustituido con un grupo carboxi, un grupo alquenilo de al menos 4 carbonos sustituido con un grupo carboxi, un grupo alquilo de al menos 4 carbonos sustituido con un grupo amino, un grupo alquenilo de al menos 4 carbonos sustituido con un grupo amino, un grupo alquilo de al menos 4 carbonos sustituido

tanto con un grupo amino como un grupo carboxi, un grupo alquenilo de al menos 4 carbonos sustituido tanto con un grupo amino como un grupo carboxi, y un grupo alquilo sustituido con uno o más halógenos;

b) un grupo fenilo sustituido con al menos un grupo carboxi, un grupo fenilo sustituido con al menos un halógeno, un grupo fenilo sustituido con al menos un grupo alcoxi, un grupo fenilo sustituido con al menos un grupo nitro, un grupo fenilo sustituido con al menos un grupo sulfo, un grupo fenilo sustituido con al menos un grupo amino, un grupo fenilo sustituido con al menos un grupo alquilamino, un grupo fenilo sustituido con al menos un grupo dialquilamino, un grupo fenilo sustituido con al menos un grupo hidroxilo, un grupo fenilo sustituido con al menos un grupo carbonilo y un grupo fenilo sustituido con al menos un grupo carbonilo sustituido,

c) un grupo naftilo, un grupo naftilo sustituido con al menos un grupo carboxi, un grupo naftilo sustituido con al menos un halógeno, un grupo naftilo sustituido con al menos un grupo alcoxi, un grupo naftilo sustituido con al menos un grupo nitro, un grupo naftilo sustituido con al menos un grupo sulfo, un grupo naftilo sustituido con al menos un grupo amino, un grupo naftilo sustituido con al menos un grupo alquilamino, un grupo naftilo sustituido con al menos un grupo dialquilamino, un grupo naftilo sustituido con al menos un grupo hidroxilo, un grupo naftilo sustituido con al menos un grupo carbonilo y un grupo naftilo sustituido con al menos un grupo carbonilo sustituido; y

d) un grupo heteroarilo, un grupo heteroarilo sustituido con al menos un grupo carboxi, un grupo heteroarilo sustituido con al menos un halógeno, un grupo heteroarilo sustituido con al menos un grupo alcoxi, un grupo heteroarilo sustituido con al menos un grupo nitro, un grupo heteroarilo sustituido con al menos un grupo sulfo, un grupo heteroarilo sustituido con al menos un grupo amino, un grupo heteroarilo sustituido con al menos un grupo alquilamino, un grupo heteroarilo sustituido con al menos un grupo dialquilamino, un grupo heteroarilo sustituido con al menos un grupo hidroxilo, un grupo heteroarilo sustituido con al menos un grupo carbonilo y un grupo heteroarilo sustituido con al menos un grupo carbonilo sustituido.

R^5 se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, un grupo alquilo, un grupo alquenilo, un grupo arilo, un grupo heteroarilo, y un heterociclo.

R^6 y R^8 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en un hidrógeno, un grupo acilo, un grupo alquilo, un grupo bencilo, y un sacárido.

R^7 se selecciona del grupo que consiste en un hidrógeno, un grupo acilo, un grupo alquilo, y un grupo bencilo.

R^9 se selecciona del grupo que consiste en un hidrógeno, un grupo metilo, grupo hidroximetilo, un grupo aciloximetilo, un grupo alcoximetilo, y un grupo benciloximetilo.

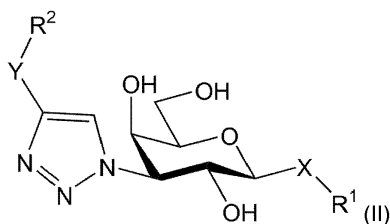
Modalidades específicas de la invención de acuerdo con el documento WO 2005/113568 se indican en las reivindicaciones 3-19 del documento WO 2005/113568.

Sin embargo la ruta de síntesis descrita en el mismo, es complicada y no proporcionará los mejores rendimientos deseados para la fabricación de mayores cantidades. Dicha síntesis de los inhibidores tiodigalactósidos de acuerdo con la técnica anterior siguió métodos bien conocidos para un experto en la técnica y se explican en detalle en el documento WO 2005/113568 en el pasaje "Síntesis de tiodigalactósidos" en las páginas 22-23. La síntesis del documento WO 2005/113568 diverge después de la primera etapa (ver 1 en el esquema 1 del documento WO 2005/113568) y para cada inhibidor individual sintetizado se requieren cinco reacciones separadas; reducción de azida, acilación, bromación, reacción con sulfuro, y eliminación de *O*-acetilo.

El documento WO 2005/113568 da varios ejemplos específicos de preparación de di-galactósidos:

bromuro de 2,4,6-tri-*O*-acetil-3-desoxi-3-(3,5-dimetoxibenzamido)- α -D-galactopiranosilo - ver preparación 9 en las páginas 27-28 del documento WO 2005/113568, bis-(2,4,6-tri-*O*-acetil-3-desoxi-3-(3,5-dimetoxibenzamido)- β -D-galactopiranosil)sulfano - ver preparación 14 en la página 28 del documento WO 2005/113568, bis-[3-desoxi-(3,5-dimetoxibenzamido)- β -D-galactopiranosil)sulfano - ver preparación 19 en las páginas 28-29 del documento WO 2005/113568,

El documento WO 2005/113569 describe un grupo de galactósidos que tienen la fórmula general denotada como II en el documento WO 2005/113569:



en donde

la configuración del anillo de piranosa es *D-galacto*;

X se selecciona del grupo que consiste en O, S, NH, CH₂, y NR⁴, o es un enlace;

Y se selecciona del grupo que consiste en CH₂, CO, SO₂, SO, PO₂ y PO, fenilo, o es un enlace;

R¹ se selecciona del grupo que consiste en;

a) un sacárido;

b) un sacárido sustituido;

c) D-galactosa;

d) D-galactosa sustituida;

e) D-galactosa sustituida con C3-[1,2,3]-triazol-1-il-;

f) hidrógeno, un grupo alquilo, un grupo alqueno, un grupo arilo, un grupo heteroarilo, y un heterociclo y derivados de estos;

g) un grupo amino, un grupo amino sustituido, un grupo imino, o un grupo imino sustituido.

R² se selecciona del grupo que consiste en; hidrógeno, un grupo amino, un grupo amino sustituido, un grupo alquilo, un grupo alquilo sustituido, un grupo alqueno, un grupo alqueno sustituido, un grupo alquino, un grupo alquino sustituido, un grupo alcoxi, un grupo alcoxi sustituido, un grupo alquilamino, un grupo alquilamino sustituido, un grupo arilamino, un grupo arilamino sustituido, un grupo arilo, un grupo arilo sustituido, un grupo heteroarilo, un grupo heteroarilo sustituido, y un heterociclo, un heterociclo sustituido.

Modalidades específicas de la invención de acuerdo con el documento WO 2005/113569 se indican en la reivindicación 9 del documento WO 2005/113569. En otras modalidades específicas Y es un grupo fenilo o un grupo carbonilo. Aún en otras modalidades específicas X es S u O y Y es un grupo fenilo o uno carbonilo. Otras modalidades específicas se enumeran en la reivindicación 10 del documento WO 2005/113569.

En particular, los derivados de tiodigalactósidos, tal como bis-(3-desoxi-3-(4-(metilaminocarbonil)-1H-[1,2,3]-triazol-1-il)-β-D-galactopiranosil)sulfano y análogos de estos, son inhibidores de galectinas de alta afinidad. Sin embargo, la ruta de síntesis hacia el derivado de tiodigalactósido bis-(3-desoxi-3-(4-(metilaminocarbonil)-1H-[1,2,3]-triazol-1-il)-β-D-galactopiranosil)sulfano descrita en él es complicada y no proporcionará los mejores rendimientos deseados para la fabricación de mayores cantidades. Dicha síntesis de los inhibidores tiodigalactósidos de acuerdo con la técnica anterior siguió métodos bien conocidos por un experto en la técnica y se explican en detalle en el documento WO 2005/113569 en el pasaje "Síntesis de triazoles" en las páginas 20-22, con particular referencia al esquema 4 ilustrado en la página 22. El conocido compuesto 1,2,4,6-tri-O-acetil-3-azido-3-desoxi-D-galactopiranosil, cuya preparación implica 11 etapas todas las cuales requieren purificación cromatográfica, se hizo reaccionar con propiolato de metilo bajo catálisis de cobre(I) para producir el triazol. El triazol se convirtió por tratamiento con bromuro de hidrógeno en ácido acético glacial en el bromuro de glicosilo, el que se usó directamente en una reacción con sulfuro sódico para producir el derivado de tiodigalactósido protegido. Los grupos protectores O-acetilo se eliminaron a través de aminólisis para proporcionar los tiodigalactósidos finales. Alternativamente, otros alquinos pueden reaccionar con 1,2,4,6-tri-O-acetil-3-azido-3-desoxi-D-galactopiranosil para proporcionar análogos de triazol. Por lo tanto, la síntesis diverge después de la primera etapa y para cada inhibidor individual sintetizado se requieren cuatro reacciones separadas; cicloadición con un alquino, bromación, reacción con sulfuro, y aminólisis.

El documento WO 2005/113569 da varios ejemplos específicos de preparación de di-galactósidos:

1,2,4,6-Tetra-O-acetil-3-desoxi-3-[4-(metoxycarbonil)-1H-[1,2,3]-triazol-1-il]-D-galactopiranosil - ver preparación **23** en las páginas 36-37 del documento WO 2005/113569,

Bromuro de 2,4,6-Tri-O-acetil-3-desoxi-3-[4-(metoxycarbonil)-1H-1,2,3-triazol-1-il]-α-D-galactopiranosil - ver preparación **24** en la página 37 del documento WO 2005/113569,

bis-[2,4,6-tri-O-acetil-3-desoxi-3-(4-(metoxycarbonil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-β-D-galactopiranosil]sulfano - ver preparación **25** en las páginas 36-37 del documento WO 2005/113569,

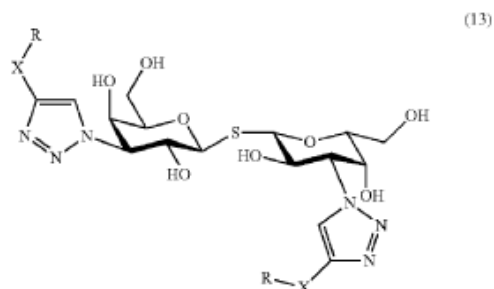
bis-(3-desoxi-3-[4-(metilamino)carbonil]-1H-1,2,3-triazol-1-il)-β-D-galactopiranosil)sulfano - ver preparación **26** en la página 38 del documento WO 2005/113569,

Breve descripción de los dibujos

La Fig. 1 ilustra una galectina que es una proteína con un dominio de reconocimiento de carbohidratos (CRD) característico. Este es un sandwich β fuertemente plegado de aproximadamente 130 aminoácidos (aproximadamente 15 kDa) con las dos características definitorias 1) un sitio de unión a β-galactosa (C en la Fig. 1) suficiente similitud en un motivo secuencial de aproximadamente siete aminoácidos, la mayoría de los cuales (aproximadamente seis residuos) conforman el sitio de unión a β-galactosa. Sin embargo, se requieren sitios adyacentes (A,B,D,E) para una unión fuerte de los sacáridos naturales, y diferentes preferencias de estos le dan a las galectinas una excelente especificidad diferente para los sacáridos naturales.

Resumen de la presente invención

La presente invención se refiere a un nuevo di-galactósido de la fórmula general (13).



en donde la configuración de al menos uno de los anillos de piranosa es D-galacto; X es un enlace; R es un grupo fenilo, que está sustituido en cualquier posición con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en metilo, etilo, isopropilo, terc-butilo, fluoro, cloro, bromo y trifluorometilo o R es un grupo tienilo.

En otra modalidad, R es un grupo fenilo sustituido que está sustituido en cualquier posición con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en flúor, cloro, y bromo.

En otra modalidad, R es un grupo fenilo que está sustituido en cualquier posición con uno o más sustituyentes seleccionados de fluoro.

Aún en otra modalidad, la configuración de los dos anillos de piranosa es D-galacto.

La presente invención también se refiere a un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 4 para su uso como medicamento.

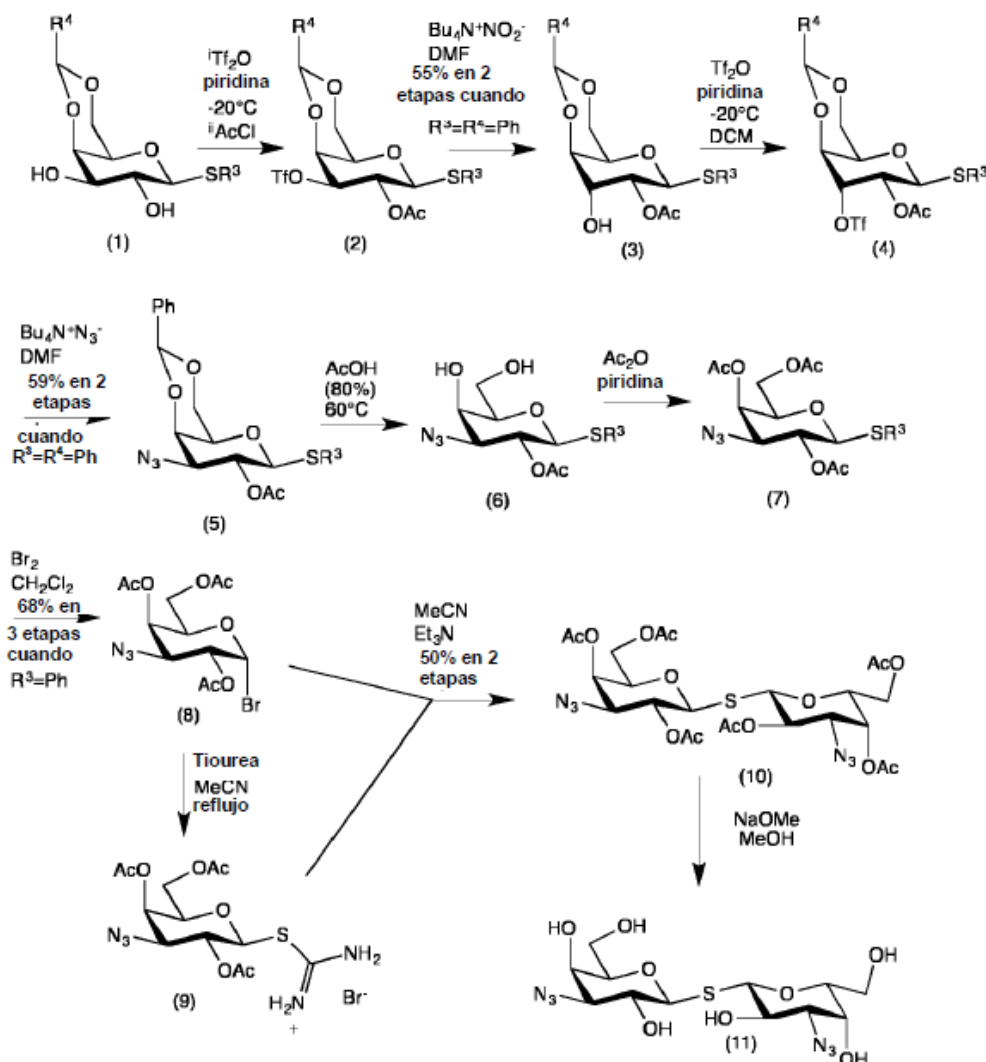
Además, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende el compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 4 y opcionalmente un aditivo farmacéuticamente aceptable, tal como un portador o un excipiente.

Además, la presente invención se refiere a un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 3 para uso en un método para tratar la inflamación, choque séptico o cáncer en un mamífero

Descripción detallada de la presente invención

La nueva ruta de síntesis se muestra claramente en el esquema 1 más abajo, y se refiere en particular a la reacción de compuestos de las fórmulas (8) y (9) en la etapa final para formar un compuesto de fórmula (10), cuyo compuesto tiodigalactósido se desprotege adicionalmente para formar el compuesto de fórmula (11) y después reaccionar más aún para formar los compuestos de fórmula (12) o (13).

Esquema 1



El grupo fenilo presente en el carbono acetal puede sustituirse con un metilo, metoxi, alquilo, alcoxi, o arilo o fusionarse con un grupo arilo como tal.

El grupo fenilo presente en el átomo S, el grupo tio, puede sustituirse con un grupo metilo, metoxi, alquilo, alcoxi, halo, nitro, o amido como tal.

Además de los acetatos, los ésteres de los compuestos (2) a (10) pueden ser ésteres alifáticos de 1 a 6 átomos de carbono, ésteres aromáticos, o éster aromático sustituido.

Como se explicó anteriormente, la reacción de la invención ilustrada en el esquema 1 resulta en un compuesto tiodigalactósido de fórmula (10), que se desprotege más aún para formar un compuesto de fórmula (11) y después se hace reaccionar adicionalmente incluye sustituyentes para formar el compuesto final deseado de fórmula (12) o la modalidad particular de fórmula (13).

La desprotección se realiza por medios conocidos de por sí: Tratamiento del compuesto (10) con metóxido de sodio metanólico produce el compuesto (11). ...

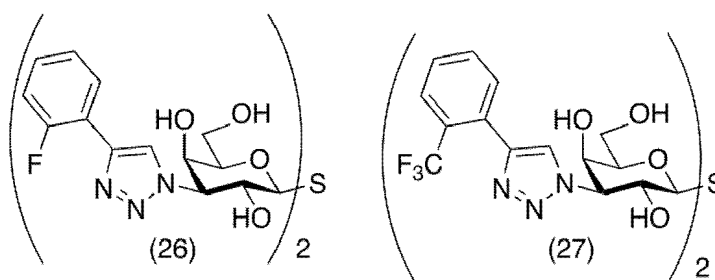
Además, la reacción adicional se realiza con el uso de métodos y etapas de síntesis conocidos de por sí: Reducción de

(11) seguido de acilación produce compuestos amido (12) y la reacción del compuesto (11) con acetilenos terminales en la presencia de Cu(I) produce compuestos de triazol (13).

Modalidades detalladas

El compuesto 1 se conoce en la literatura. Los compuestos 3, 5, 7 son cristalinos y por lo tanto pueden purificarse fácilmente.

La aplicabilidad del compuesto (11) en la síntesis de inhibidores de galectinas se ejemplifica más abajo con la preparación de di-(3-desoxi-3-{4-[2-fluorofenil]-1*H*-1,2,3-triazol-1-il}-β-D-galactopiranosil)sulfano (26) y di-(3-desoxi-3-{4-[2-trifluorometil-fenil]-1*H*-1,2,3-triazol-1-il}-β-D-galactopiranosil)sulfano (27):



Sección experimental

Fenil 2-O-acetil-4,6-O-bencilideno-1-tio-3-O-trifluorometanosulfonil-β-D-galactopiranosido (2)

El compuesto 1 (10.5 g, 29.2 mmol) se disolvió en piridina seca (4.73 mL, 58.4 mmol) y CH₂Cl₂ seco (132 mL). La mezcla de reacción se enfrió, en agitación, hasta -20 °C (baño de hielo y NaCl 3:1). Lentamente y bajo atmósfera de N₂, se añadió Tf₂O (5.68 mL, 33.6 mmol). La mezcla de reacción se monitoreó mediante TLC (heptano:EtOAc, 1:1 y tolueno:acetona, 10:1). Cuando la reacción se completó, se añadió AcCl (2.29 mL, 32.1 mmol) y se mantuvo en agitación, la temperatura se aumentó a temperatura ambiente. Esta mezcla también se monitoreó mediante TLC (heptano:EtOAc, 1:1 y tolueno:acetona, 10:1). Cuando se completó, se inhibió con CH₂Cl₂ y se lavó con 5 % HCl, NaHCO₃ (sat) y NaCl (sat). La capa orgánica se secó en MgSO₄, se filtró y se concentró a presión reducida.

Fenil 2-O-acetil-4,6-O-benciliden-1-tio-β-D-gulopiranosido (3)

El nitrito de tetrabutilamonio (25.3 g, 87.7 mmol) se añadió a una solución del compuesto 2 (15.6 g, 29.2 mmol) en DMF (110 mL) y se mantuvo en agitación, bajo atmósfera de N₂, a 50 °C. (La reacción comenzó de color púrpura y se volvió de color granate). La reacción se monitoreó mediante TLC (heptano:EtOAc, 1:1 y tolueno:acetona, 10:1) y se inhibió con CH₂Cl₂. La mezcla se lavó con 5 % HCl, NaHCO₃ (sat) y NaCl (sat). La capa orgánica se secó en MgSO₄, se filtró y se concentró a presión reducida seguido de purificación por cromatografía en columna (Eluyente heptano:EtOAc, 1:1 y heptano:EtOAc, 1:2) y se volvió a cristalizar a partir de una mezcla de EtOAc y heptano (1:3). ¹H NMR en CDCl₃ δ 7.60-7.57 (m, 2H, Ar), 7.43-7.40 (m, 2H, Ar), 7.37-7.34 (m, 3H, Ar), 7.29-7.25 (m, 3H, Ar), 5.50 (s, 1 H, PhCH), 5.15 (d, 1 H, J=10.29 Hz, H-1), 5.10 (dd, 1 H, J=10.27 Hz, 2.85 Hz, H-2), 4.36 (dd, 1 H, J= 12.49 Hz, 1.4 Hz, H-6), 4.18 (br s, 1 H, H-3), 4.08 (dd, 1 H, J= 3.59 Hz, 1.04 Hz, H-6), 4.03 (dd, 1 H, J= 12.53 Hz, 1.75 Hz, H-4), 3.88 (s, 2H, H-5 + OH), 2.12 (s, 3H, OAc).

Fenil 2-O-acetil-4,6-O-bencilideno-1-tio-3-O-trifluorometano-sulfonil-β-D-gulopiranosido (4)

El compuesto 3 (1.00 g, 2.48 mmol) se disolvió en CH₂Cl₂ seco (12.5 mL) y piridina seca (0.40 mL, 4.96 mmol). La mezcla de reacción se enfrió, en agitación, hasta -20 °C (baño de hielo y NaCl 3:1). Lentamente y bajo atmósfera de N₂, se añadió Tf₂O (0.48 mL, 2.85 mmol). La mezcla de reacción se monitoreó mediante TLC (heptano:EtOAc, 1:1 y tolueno:acetona, 10:1) y cuando se completó, se inhibió con CH₂Cl₂ y se lavó con 5 % HCl, NaHCO₃ (sat) y NaCl (sat). La capa orgánica se secó en MgSO₄, se filtró y se concentró a presión reducida hasta que estuvo seca.

Fenil 2-O-acetil-3-azido-4,6-O-bencilideno-3-desoxi-1-tio-β-D-galactopiranosido (5)

La azida de tetrabutilamonio (2.12 g, 7.44 mmol) se añadió cuidadosamente a una solución del compuesto 4 (1.3256 g, 2.48 mmol) en DMF (10 mL) y se mantuvo en agitación, bajo atmósfera de N₂, a 50 °C. La reacción se monitoreó mediante TLC (E:H, 1:1) y se concentró a presión reducida seguido de purificación mediante cromatografía en columna (Eluyente heptano:EtOAc, 2:1 y heptano:EtOAc, 1:1). ¹H NMR en CDCl₃ δ 7.61-7.58 (m, 2H, Ar), 7.44-7.41 (m, 2H, Ar),

7.39-7.36 (m, 3H, Ar), 7.30-7.24 (m, 3H, Ar), 5.59 (s, 1 H, PhCH), 5.35 (t, 1 H, J= 9.95 Hz, H-2), 4.73 (d, 1 H, J= 9.63 Hz, H-1), 4.44 (dd, 1 H, J= 6.24 Hz, 1.60 Hz, H-6), 4.35-4.34 (dd, 1 H, J= 3.33 Hz, 0.88 Hz, H-4), 4.11 (dd, 1 H, J= 12.48 Hz, 1.67 Hz, H-6), 3.57 (d, 1 H, J= 1.15 Hz, H-5), 3.44 (dd, 1 H, J= 10.21 Hz, 3.29 Hz, H-3), 2.17 (s, 3H, OAc).

5 Fenil 2-O-acetil-3-azido-3-desoxi-1-tio-β-D-galactopiranosido (6)

El compuesto **5** (470 mg, 1.1 mmol) se disolvió en ácido acético al 80 % (75 mL) y la mezcla se calentó a 60 °C. La reacción se monitoreó mediante TLC (heptano:EtOAc, 1:1). Cuando la reacción se completó, la mezcla se concentró a presión reducida y calentamiento.

10

Fenil 2,4,6-tri-O-acetil-3-azido-3-desoxi-1-tio-β-D-galactopiranosido (7)

El anhídrido acético (30 mL) se añadió a una solución del compuesto **6** (373 mg, 1.1 mmol) en piridina seca (30 mL). La reacción se monitoreó mediante TLC (heptano:EtOAc, 1:1) y cuando se completó, se concentró a presión reducida. ¹H NMR en CDCl₃ δ 7.54-7.51 (m, 2H, Ar), 7.35-7.30 (m, 3H, Ar), 5.46 (dd, 1 H, H-4), 5.23 (t, 1 H, H-2), 4.73 (d, 1 H, H-1), 4.15 (d, 2H, H-6, H-6'), 3.94 (dt, 1 H, H-5), 3.68 (dd, 1 H, H-3), 2.18 (s, 3H, OAc), 2.15 (s, 3H, OAc), 2.06 (s, 3H, OAc).

15

Bromuro de 2,4,6-tri-O-acetil-3-azido-3-desoxi-α-D-galactopiranosilo (8)

20

El compuesto **7** (237.4 mg, 560 μmol) se disolvió en CH₂Cl₂ seco (2 mL), y se añadió bromo (32 μl, 620 μmol). La reacción se monitoreó mediante TLC (heptano:EtOAc, 1:1). Cuando la reacción se completó, una pequeña cantidad de ciclopenteno se añadió a la mezcla de reacción para eliminar los restos de Br₂. La mezcla se concentró a presión reducida y se purificó mediante cromatografía en columna rápida (Eluyente: 500 mL heptano:EtOAc, 2:1).

25

Bromuro de 2,4,6-tri-O-acetil-3-azido-3-desoxi-α-D-galactopiranosilo-1-isotiuronio (9)

El bromuro sensible **8** (70.6 mg, 180 μmol) se disolvió inmediatamente en acetonitrilo seco (1.7 mL) y se sometió a reflujo con tiourea (13.7 mg, 180 μmol) bajo N₂ durante 4 horas. La reacción se monitoreó mediante TLC (heptano:EtOAc, 1:1) y cuando se completó, la mezcla se enfrió.

30

Di-(2,4,6-tri-O-acetil-3-azido-3-desoxi-β-D-galactopiranosil)-sulfano (10)

El bromuro sensible **8** (77.0 mg, 196 μmol) y Et₃N (60 μl, 430 μmol) se añadieron a la última mezcla (**9**). La reacción se monitoreó mediante TLC (heptano:EtOAc, 1:1). Cuando se completó, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida y sin calentamiento. El residuo se purificó mediante cromatografía por columna (Eluyente: heptano:EtOAc, 1:1). ¹H NMR en CDCl₃ δ 5.50 (dd, 2H, H-4), 5.23 (t, 2H, H-2), 4.83 (d, 2H, H-1, H-1'), 4.15 (dd, 4H, H-6, H-6', H-6'), 3.89 (dt, 2H, H-5, H-5'), 3.70 (dd, 2H, H-3, H-3'), 2.19 (s, 6H, 2OAc), 2.15 (s, 6H, 2OAc), 2.18 (s, 6H, 2OAc).

35

Di-(3-azido-3-desoxi-β-D-galactopiranosil)-sulfano (11)

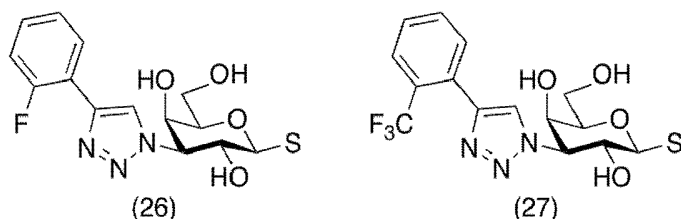
40

El compuesto **10** (9 mg, 0.000014 mol) se disolvió en MeOH seco (240 μl) y CH₂Cl₂ seco (100 μl), y se añadió NaOMe (1.4 μl, 1.4 μmol). La reacción se monitoreó mediante TLC (heptano:EtOAc 1:1 y D:M 5:1). Cuando la reacción se completó, la mezcla se neutralizó con Duolite C436 hasta pH 7, se filtró y se lavó con MeOH. La solución filtrada se concentró a presión reducida. ¹H NMR en CDCl₃ δ 4.72 (d, 2H, J=9.7 Hz, H-1, H-1'), 3.95 (br s, 2H, H-4, H-4'), 3.84 (t, 2H, J= 9.8 Hz, H-2, H-2'), 3.74 (dd, 2H, J= 11.47 Hz, 7.23 Hz, H-6, H-6'), 3.64 (dd, 2H, J= 11.48 Hz, 4.72 Hz, H-6, H-6'), 3.60-3.55 (ddd, 2H, 7.15 Hz, 4.67 Hz, 0.93 Hz, H-5, H-5'), 3.36 (dd, 2H, J= 10 Hz, 3.05 Hz, H-3, H-3').

45

La aplicabilidad del compuesto (11) en la síntesis de inhibidores de galectinas se ejemplifica más abajo con la preparación de di-(3-desoxi-3-{4-[2-fluorofenil]-1H-1,2,3-triazol-1-il}-β-D-galactopiranosil)sulfano (26) y di-(3-desoxi-3-{4-[2-trifluorometil-fenil]-1H-1,2,3-triazol-1-il}-β-D-galactopiranosil)sulfano (27):

50



55

60

Di-(3-desoxi-3-{4-[2-fluorofenil]-1H-1,2,3-triazol-1-il}-β-D-galactopiranosil)sulfano (26)

El compuesto (11) (12 mg, 0.030 mmol) se disolvió en DMF (3 mL) y se añadieron 1-etinil-2-fluorobenceno (10.2 µL, 0.090 mmol), CuI (0.6 mg, 0.0030 mmol) y trietilamina (4.2 µL, 0.030 mmol) bajo atmósfera de N₂. La solución se mantuvo en agitación. La reacción se monitoreó mediante TLC (CH₂Cl₂:MeOH 5:1) y cuando se completó, la mezcla se concentró a presión reducida y se purificó mediante cromatografía por columna (CH₂Cl₂:MeOH 8:1), seguido de RP_HPLC (C18, gradiente de agua:MeCN con ácido trifluoroacético al 0.1%). ¹H NMR en CDCl₃ δ 8.5 (d, 2H, J= 3.5 Hz, 2 triazol), 8.1 (dt, 2H, J= 7.63 Hz, 1.77 Hz, Ar), 7.4-7.33 (m, 2H, Ar), 7.3-7.25 (dt, 2H, J= 7.67 Hz, 1.22 Hz, Ar), 7.23-7.17 (m, 2H, Ar), 4.92 (dd, 2H, J= 10.61, 2.92, H-3, H-3'), 4.89 (d, 2H, J= 10 Hz, H-1, H-1'), 4.8 (br t, 2H, J= 10 Hz, H-2, H-2'), 4.16 (d, 2H, J= 2.86 Hz, H-4, H-4'), 3.91-3.84 (m, 4H, H-5, H-5', H-6, H-6'), 3.76-3.69 (m, 2H, H-6, H-6').

Di-(3-desoxi-3-{4-[2-trifluorometil-fenil]-1H-1,2,3-triazol-1-il}-β-D-galactopiranosil)sulfano (27)

El compuesto 11 (14.6 mg, 0.036 mmol) se disolvió en DMF (3.6 mL) y se añadieron 1-etinil-2-trifluorometilbenceno (15.0 µL, 0.108 mmol), CuI (0.7 mg, 0.0036 mmol) y trietilamina (5 µL, 0.036 mmol) bajo atmósfera de N₂. La solución se mantuvo en agitación. La reacción se monitoreó mediante TLC (CH₂Cl₂:MeOH 5:1) y cuando se completó, la mezcla se concentró a presión reducida y se purificó mediante cromatografía por columna (CH₂Cl₂:MeOH 8:1), seguido de RP_HPLC (C18, gradiente de agua:MeCN con ácido trifluoroacético al 0.1%). ¹H NMR en CDCl₃ δ 8.3 (s, 2H, 2 triazol), 7.83 (d, 2H, J= 7.86 Hz, Ar), 7.76-7.67 (m, 4H, Ar), 7.59 (dt, 2H, J= 7.56 Hz, 0.73 Hz, Ar), 4.92 (dd, 2H, J= 10.7 Hz, 2.94 Hz, H-3, H-3'), 4.87 (d, 2H, J= 10.1 Hz, H-1, H-1'), 4.71 (br t, 2H, J= 10.1 Hz, H-2, H-2'), 4.13 (d, 2H, J= 2.67 Hz, H-4, H-4'), 3.87 (dd, 2H, J= 8 Hz, 3.75 Hz, H-5, H-5'), 3.82 (dd, 2H, J= 11.10 Hz, 7.6, H-6, H-6'), 3.68 (dd, 2H, J= 11.12, 3.85, H-6, H-6').

Referencias

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.

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.

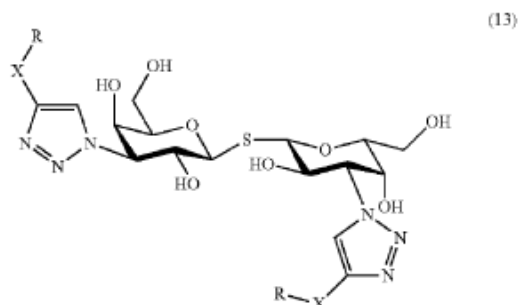
Lowary, T. L. e Hindsgaul, O. (1994) Recognition of synthetic O-methyl, epimeric, and amino analogues of the acceptor α-L-Fucp-(1-2)-β-D-Galp-OR by the blood-group A and B gene-specified glycosyltransferases. *Carbohydr. Res.* 251:33-67.

Pieters, R. (2006) Inhibition and Detection of Galectins. *ChemBioChem.* 7: 721-728.

Sörme, P., Arnoux, P., Kahl-Knutsson, B., Leffler, H., Rini, J. M., Nilsson, U. J. (2005) Structural and thermodynamic studies on cation-π interactions in lectin-ligand complexes: High-affinity galectin-3 inhibitors through fine-tuning of an arginine-arene interaction. *J. Am. Chem. Soc.* 127:1737-1743.

Reivindicaciones

1. Un di-digalactósido de la fórmula general (13)



en donde la configuración de al menos uno de los anillos de piranosa es D-galacto; X es un enlace; R es un grupo fenilo, que es sustituido en cualquier posición con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en metilo, etilo, isopropilo, terc-butilo, fluoro, cloro, bromo y trifluorometilo o R es un grupo tienilo.

2. El compuesto de la reivindicación 1 en donde R es un grupo fenilo que está sustituido en cualquier posición con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en fluoro, cloro y bromo.
3. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en donde R es un grupo fenilo que está sustituido en cualquier posición con uno o más sustituyentes seleccionados de fluoro.
4. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la configuración de los dos anillos de piranosa es D-galacto.
5. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4, para usar como un medicamento.
6. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4 y opcionalmente un aditivo farmacéuticamente aceptable, tal como un portador o un excipiente.
7. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-3 para usar en un método para tratar la inflamación, el choque séptico, o cáncer en un mamífero.

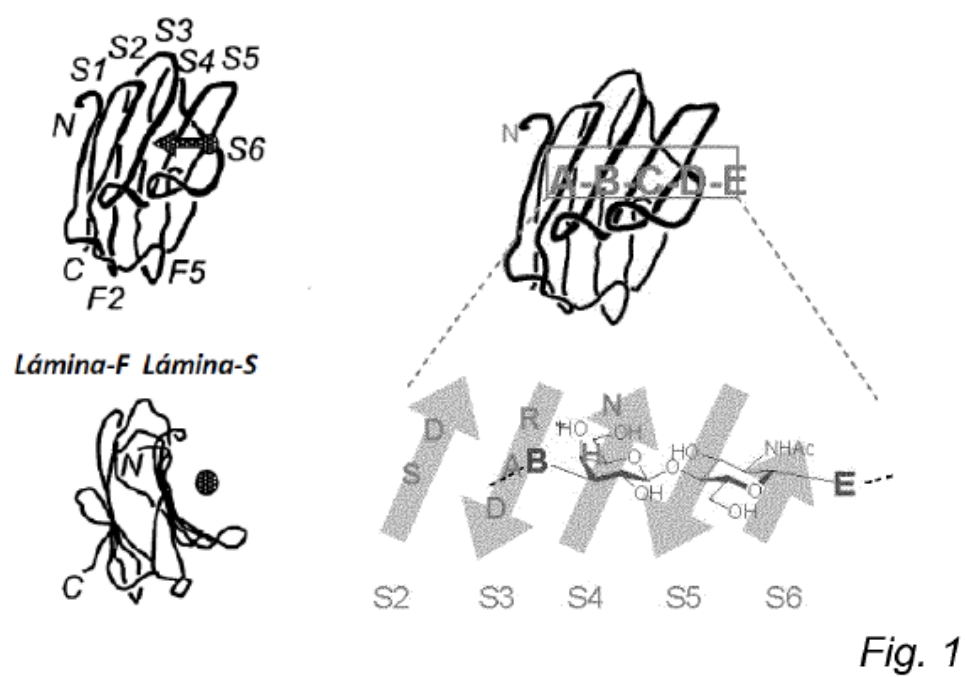


Fig. 1