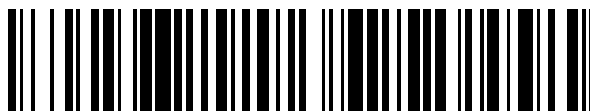


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 426 784**

51 Int. Cl.:

A61K 31/7072 (2006.01)

A61P 35/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.06.2009 E 09763535 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.08.2013 EP 2318015**

54 Título: **Tratamiento de cánceres de la sangre usando compuestos glicomiméticos seleccionados**

30 Prioridad:

13.06.2008 US 131969 P

23.09.2008 US 99270 P

27.04.2009 US 172853 P

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

25.10.2013

73 Titular/es:

GLYCOMIMETICS, INC. (100.0%)

401 Professional Drive Suite 250

Gaithersburg, MD 20879, US

72 Inventor/es:

MAGNANI, JOHN L.;

PATTON, JOHN T., JR. y

SMITH, THEODORE A.G.

74 Agente/Representante:

MILTENYI, Peter

ES 2 426 784 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

Tratamiento de cánceres de la sangre usando compuestos glicomiméticos seleccionados

AntecedentesCampo técnico

- 5 La presente invención se refiere en general a métodos para tratar cánceres de la sangre o complicaciones asociadas con los mismos, y para la reducción de una toxicidad mielosupresora de médula ósea de la quimioterapia independientemente del tipo de cáncer, y más específicamente al uso de glicomiméticos particulares para el tratamiento.

Descripción de la técnica relacionada

- 10 Uno de los grupos de cánceres son los cánceres de la sangre. Tal grupo de cánceres incluye tumores malignos hematológicos. La leucemia mielógena aguda es un ejemplo de un cáncer de la sangre.

- 15 La leucemia mielógena aguda (también conocida como leucemia mieloide aguda o LMA) es un cáncer de glóbulos blancos, y en particular la línea mieloide. Parece que la LMA surge de una única célula progenitora que ha experimentado transformación genética para dar una célula anómala con la capacidad para proliferar rápidamente. Estas células mieloides inmaduras anómalas se acumulan en la médula ósea. Esta acumulación en la médula ósea interfiere con la producción de células sanguíneas normales, incluyendo una reducción en glóbulos rojos, plaquetas y neutrófilos. Finalmente, la médula ósea deja de funcionar correctamente.

- 20 La LMA es uno de los tipos más comunes de leucemia entre los adultos, y la leucemia aguda más común que afecta a los adultos. En los EE.UU. solo, hay aproximadamente 12.000 nuevos casos cada año. Se espera que la incidencia de LMA aumente a medida que envejece la población. Además, en los EE.UU., aproximadamente el 11% de los casos de leucemia en la infancia son LMA. Se usa generalmente quimioterapia para tratar la LMA. Sólo una minoría de pacientes se curan con la terapia actual.

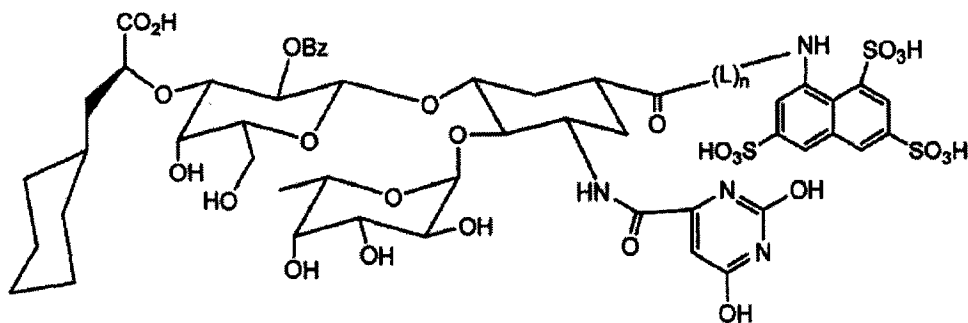
- 25 La quimioterapia tiene varios efectos secundarios perjudiciales. Uno de los efectos secundarios son toxicidades mielosupresoras de médula ósea. La médula ósea es el tejido que llena el interior de algunos huesos. Ejemplos de tales huesos son esternón, cadera, fémur y húmero. La médula ósea contiene células madre que se desarrollan para dar varios tipos de células sanguíneas: eritrocitos (glóbulos rojos), leucocitos (glóbulos blancos) y trombocitos (plaquetas). Las células en la médula ósea son susceptibles a los efectos de la quimioterapia debido a su rápida velocidad de división. Agentes quimioterápicos impiden que la médula ósea forme nuevas células sanguíneas. Con el tiempo, tras la exposición a un agente quimioterápico, los recuentos de las células sanguíneas disminuirán a diversas velocidades, dependiendo del tipo particular de célula ya que sus vidas útiles promedio difieren. Un recuento de glóbulos blancos bajo, por ejemplo, hace que un individuo sea más susceptible a la infección. Un recuento de glóbulos rojos bajo, por ejemplo, provoca que un individuo esté fatigado. Un recuento de plaquetas bajo, por ejemplo, altera la capacidad de un individuo para producir un coágulo de sangre.

- 35 Por consiguiente, existe una necesidad en la técnica del tratamiento de cánceres de la sangre, incluyendo leucemia mielógena aguda, o complicaciones asociadas con los mismos, y de la reducción de una toxicidad mielosupresora de médula ósea de la quimioterapia. La presente invención cumple estas necesidades y proporciona además otras ventajas relacionadas.

Breve resumen

- 40 En resumen, se proporcionan usos para el tratamiento de cánceres de la sangre o las complicaciones asociadas con los mismos, y usos independientemente del tipo de cáncer para la reducción de una toxicidad mielosupresora de médula ósea de la quimioterapia. En la presente invención, los compuestos usados para el tratamiento y para la reducción comprenden, o consisten en, un glicomimético particular. Un compuesto de este tipo puede combinarse con un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable para formar una composición farmacéutica.

En una realización, la presente invención proporciona un compuesto con la fórmula:

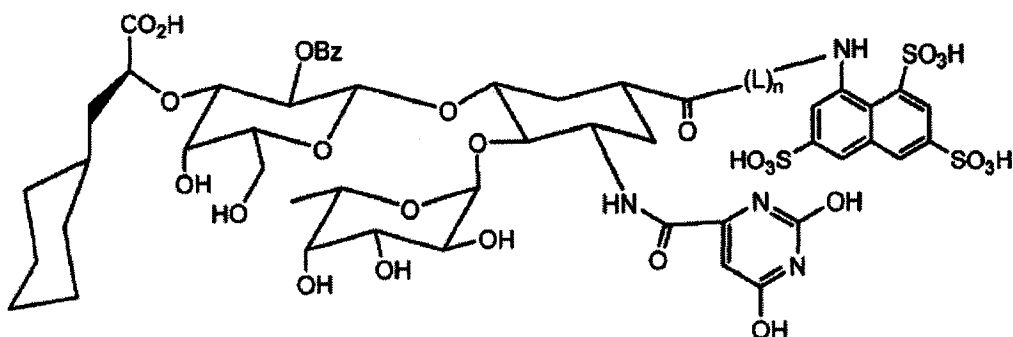


en la que

L = grupo ligador; y

n = 0-1, para su uso en el tratamiento de un cáncer de la sangre o una complicación asociada con el mismo.

- 5 En una realización, la presente invención proporciona un compuesto con la fórmula:



en la que

L = grupo ligador; y

n = 0-1, para su uso en la reducción de una toxicidad mielosupresora de médula ósea de la quimioterapia.

- 10 En una realización, los compuestos anteriores están en combinación con un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

En una realización, el cáncer de la sangre es leucemia mielógena aguda (LMA).

En otras realizaciones, los compuestos anteriores o composiciones de los mismos pueden usarse en la fabricación de un medicamento, para cualquiera de los usos mencionados en el presente documento.

- 15 Estos y otros aspectos de la presente invención resultarán evidentes con referencia a la siguiente descripción detallada y los dibujos adjuntos.

Breve descripción de las diversas vistas de los dibujos

La figura 1 es un diagrama que ilustra la síntesis de un componente del compuesto n.º 1.

La figura 2A-2C es un diagrama que ilustra la síntesis de un componente del compuesto n.º 1.

- 20 La figura 3 es un diagrama que ilustra la modificación del componente de la figura 1.

La figura 4 es un diagrama que ilustra la reacción de los componentes de las figuras 2 y 3 para formar el compuesto n.º 1. El compuesto XIX de la figura 2 se hace reaccionar con etilendiamina (EDA) para formar EDA-XIX.

La figura 5 es un diagrama que ilustra la síntesis del compuesto n.º 2. El compuesto XIX de la figura 2 se hace reaccionar con etilendiamina (EDA) para formar EDA-XIX.

- 25 La figura 6 muestra que el compuesto n.º 2 inhibe la rodadura en LMA tanto de E-selectina como de P-selectina en células endoteliales humanas.

La figura 7 muestra el efecto del compuesto n.º 2 (a 1,5 mM) sobre la adhesión de células de mieloma U266 a

células endoteliales que expresan P-selectina en condiciones de flujo.

La figura 8 muestra el efecto del compuesto n.º 2 (a diversas concentraciones) sobre la migración transendotelial inducida por SDF-1 de células de mieloma múltiple (MM).

5 La figura 9 muestra el efecto del compuesto n.º 2 (a 25 mg/kg o 100 mg/kg) sobre la extravasación de células de mieloma múltiple desde el torrente sanguíneo *in vivo*.

La figura 10 es un diagrama esquemático del protocolo para estudiar los efectos del compuesto n.º 2 sobre la neutropenia inducida por quimioterapia.

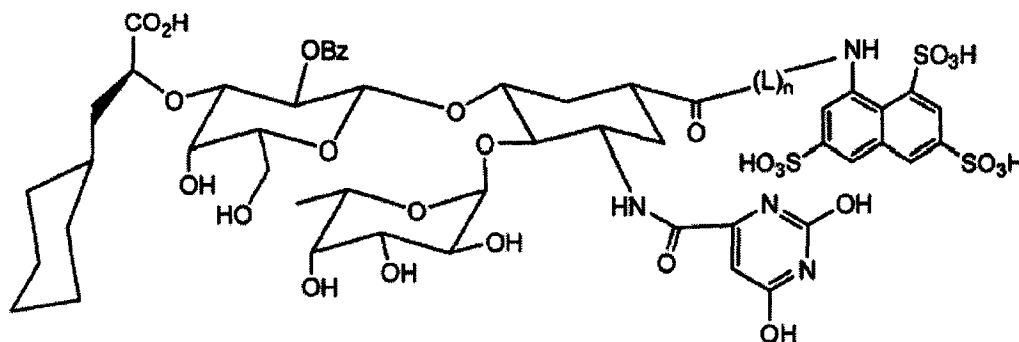
La figura 11 muestra el efecto del compuesto n.º 2 sobre la recuperación de neutrófilos en ratones tratados con ciclofosfamida.

10 La figura 12 muestra el efecto de compuesto n.º 2 sobre la recuperación de neutrófilos en ratones tratados con 5-FU.

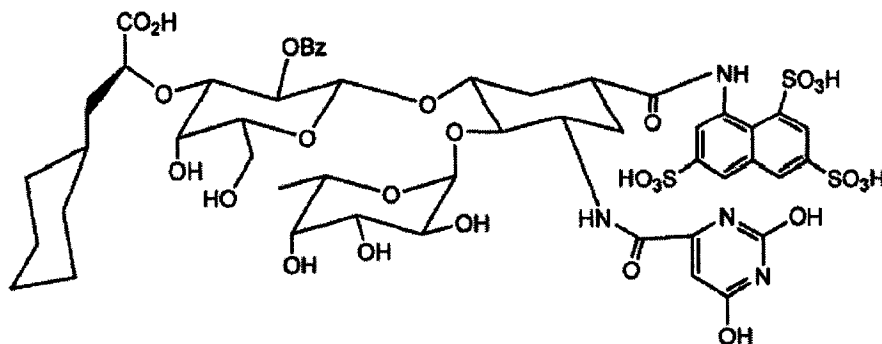
Descripción detallada

Tal como se indicó anteriormente, la presente invención proporciona usos para el tratamiento de cánceres de la sangre o una complicación asociada con los mismos en un individuo, y usos independientemente del tipo de cáncer para la reducción de toxicidades mielosupresoras de médula ósea de la quimioterapia.

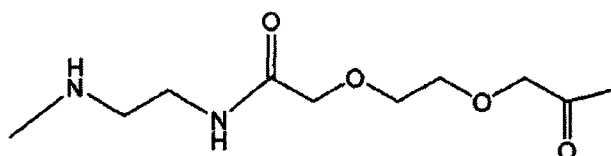
15 Los compuestos útiles en las composiciones (incluyendo medicamentos) y los métodos de la presente invención incluyen realizaciones con la fórmula:



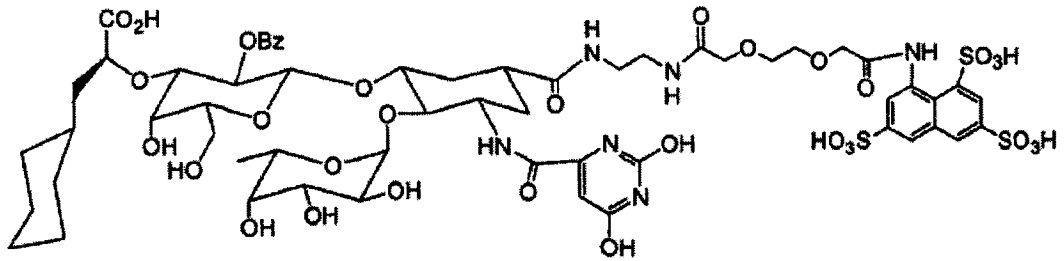
20 En la fórmula anterior, "L" representa un ligador. Puede no haber ligadores presentes (es decir, "n" es 0) o puede estar presente un ligador (es decir, "n" es 1). Cuando no está presente ningún ligador, el compuesto es con la fórmula:



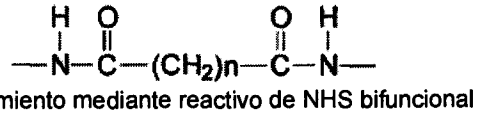
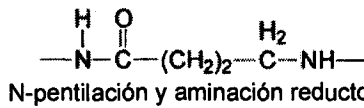
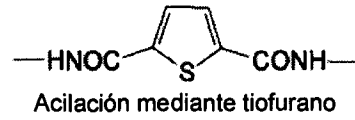
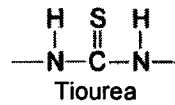
25 Cuando n es 1, está presente un ligador. Un ligador puede ser (o puede incluir) un grupo espaciador, tal como -(CH₂)_p- o -O(CH₂)_p- en los que p generalmente es aproximadamente 1-20 (incluyendo cualquier intervalo de números enteros entre los mismos). Otros ejemplos de grupos espaciadores incluyen un carbonilo o grupo que contiene carbonilo tal como una amida. Una realización de tales grupos espaciadores es



que produce:

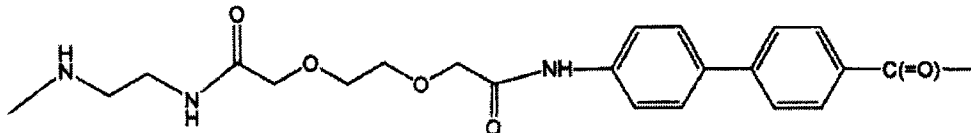


Las realizaciones de ligadores incluyen las siguientes:

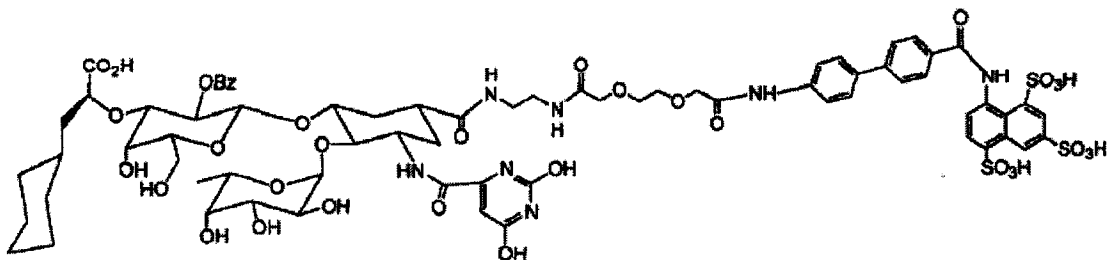


5 Otros ligadores, por ejemplo, polietilenglicoles (PEG) o $-C(=O)-NH-(CH_2)_p-C(=O)-NH_2$ en el que p es tal como se definió anteriormente, resultarán familiares a los expertos en la técnica o en posesión de la presente descripción.

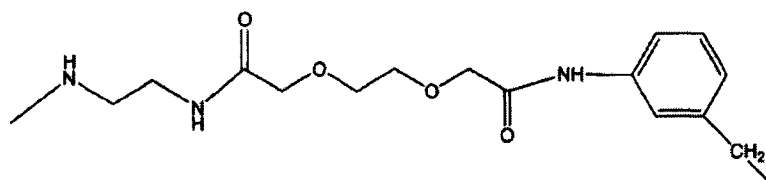
En otra realización, el ligador es



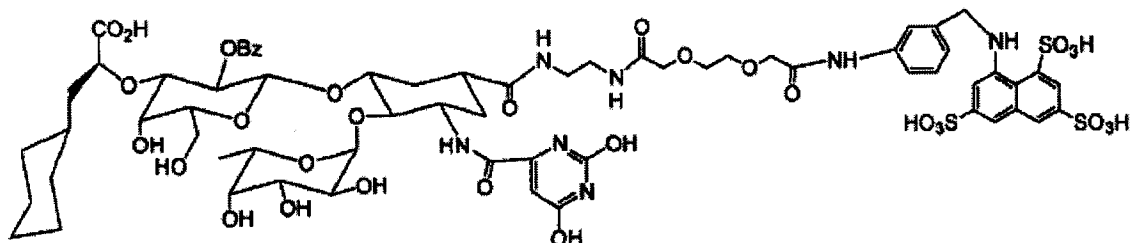
que produce



10 En otra realización, el ligador es



que produce



Todos los compuestos de la presente invención o útiles para la misma (por ejemplo, para composiciones farmacéuticas o métodos de tratamiento), incluyen sales fisiológicamente aceptables de los mismos. Ejemplos de tales sales son Na, K, Li, Mg, Ca y Cl.

5 Los compuestos descritos en el presente documento pueden estar presentes dentro de una composición farmacéutica. Una composición farmacéutica comprende uno o más compuestos en combinación con (es decir, no unidos covalentemente) uno o más portadores, diluyentes o excipientes farmacéutica o fisiológicamente aceptables. Tales composiciones pueden comprender tampones (por ejemplo, solución salina tamponada neutra o solución salina tamponada con fosfato), hidratos de carbono (por ejemplo, glucosa, manosa, sacarosa o dextranos), manitol, proteínas, polipéptidos o aminoácidos tales como glicina, antioxidantes, agentes quelantes tales como EDTA o glutatión, adyuvantes (por ejemplo, hidróxido de aluminio) y/o conservantes. Aún dentro de otras realizaciones, las composiciones de la presente invención pueden formularse como un liofilizado. Las composiciones de la presente invención pueden formularse para cualquier manera apropiada de administración, incluyendo por ejemplo administración tópica, oral, nasal, intravenosa, intracraneal, intraperitoneal, subcutánea o intramuscular.

15 Las composiciones descritas en el presente documento pueden administrarse como parte de una formulación de liberación sostenida (es decir, una formulación tal como una cápsula o esponja que produce una liberación lenta del compuesto tras la administración). Tales formulaciones pueden prepararse generalmente usando tecnología bien conocida y administrarse, por ejemplo, mediante implantación oral, rectal o subcutánea, o mediante implantación en el sitio diana deseado. Portadores para su uso en tales formulaciones son biocompatibles, y también pueden ser biodegradables; preferiblemente la formulación proporciona un nivel relativamente constante de liberación de compuesto. La cantidad de compuesto contenido dentro de una formulación de liberación sostenida depende del sitio de implantación, la velocidad y duración esperada de la liberación y la naturaleza del estado que va a tratarse o prevenirse.

25 Los compuestos descritos anteriormente incluyendo equivalentes de los mismos son útiles en métodos de la presente invención siempre que se refiera a cánceres de la sangre. Los cánceres de la sangre incluyen tumores malignos hematológicos. Los ejemplos de cánceres de la sangre incluyen leucemia mielógena aguda (LMA), leucemia linfoblástica aguda (LLA), leucemia mielógena crónica (LMC) y mieloma múltiple (MM). En una realización, se le administra a un individuo que necesita tratamiento para un cáncer de la sangre o una complicación asociada con el mismo al menos uno (es decir, uno o más) de los compuestos descritos anteriormente en una cantidad eficaz para el tratamiento. Tal como se usa en el presente documento, el término "tratamiento" (incluyendo variaciones tales como "tratar") incluye prevención. Por ejemplo, una complicación asociada con un cáncer de la sangre puede no haberse presentado por sí misma en un individuo con la enfermedad, y puede administrarse un compuesto para prevenir la presentación de la complicación en el individuo. Las complicaciones asociadas con un cáncer de la sangre incluyen, por ejemplo, esperanza de vida acortada, daño orgánico, dolor periódico o crónico, migración de células cancerosas fuera de la circulación sanguínea y reducción en glóbulos rojos, glóbulos blancos o plaquetas. Es deseable impedir que las células cancerosas abandonen el sitio primario, o impedir la extravasación de células cancerosas desde el torrente sanguíneo y su infiltración en otros tejidos. Las células cancerosas mientras están en el torrente sanguíneo normalmente son susceptibles a la quimioterapia, pero son más difíciles de tratar una vez que abandonan el torrente sanguíneo. Por ejemplo, las células cancerosas (tales como células de MM) pueden extravasarse desde el torrente sanguíneo e infiltrarse en la matriz de médula ósea en donde son inaccesibles a los agentes quimioterápicos que circulan en el torrente sanguíneo. Las consecuencias de la complicación de la migración de células cancerosas fuera de la circulación sanguínea incluyen recidiva (fracaso de la curación) y enfermedad diseminada (metástasis) que conducen, por ejemplo, a daño o insuficiencia orgánica. La LMA es un ejemplo de un cáncer sanguíneo con la complicación de migración de células cancerosas fuera de la circulación sanguínea dando como resultado enfermedad diseminada.

El término "tratamiento," tal como se expuso anteriormente, se refiere a cualquiera de una variedad de efectos positivos del tratamiento incluyendo, por ejemplo, erradicar una complicación asociada con la enfermedad, aliviar hasta cierto grado una complicación, ralentizar o detener la progresión de la enfermedad y prolongar el tiempo de supervivencia del receptor. El tratamiento puede usarse conjuntamente con una o más otras terapias para un cáncer de la sangre o complicaciones asociadas con el mismo. El uso del tratamiento conjuntamente con otra terapia puede ser para proporcionar dos terapias que actúan cada una por su cuenta para tratar el cáncer o una complicación asociada con el mismo, o puede ser para proporcionar dos terapias en las que una potencia la eficacia de la otra (por ejemplo, aumenta la eficacia de la otra o mejora el desenlace de la otra) para tratar el cáncer o una

complicación asociada con el mismo. Por ejemplo, el tratamiento puede usarse para impedir o reducir la migración de células cancerosas fuera de la circulación sanguínea. Mediante la acción de retener las células cancerosas en el torrente sanguíneo, el tratamiento potencia la eficacia de otra terapia que se usa conjuntamente y actúa proporcionando un agente quimioterápico al torrente sanguíneo.

5 Los compuestos descritos anteriormente incluyendo equivalentes de los mismos son útiles en métodos de la presente invención siempre que se refiera, independientemente del tipo de cáncer, a reducir una toxicidad mielosupresora de médula ósea de la quimioterapia. Esto puede aplicarse a cánceres de la sangre, pero no se limita a cánceres de la sangre. Los ejemplos de toxicidades incluyen recuentos de glóbulos blancos bajos (por ejemplo, recuentos de neutrófilos bajos), recuentos de glóbulos rojos bajos y recuentos de plaquetas bajos. En una
10 realización, se le administra a un individuo que necesita reducir una toxicidad mielosupresora de médula ósea de la quimioterapia al menos uno (es decir, uno o más) de los compuestos descritos anteriormente en una cantidad eficaz para la reducción. Tal como se usa en el presente documento, el término "reducir" (incluyendo variaciones tales como "reducción") incluye la reducción parcial y total de al menos una (es decir, una o más) toxicidad mielosupresora de médula ósea de la quimioterapia; y también incluye la prevención parcial y total de al menos una
15 toxicidad de este tipo (por ejemplo, mediante la administración de al menos uno de los compuestos descritos anteriormente antes de, simultáneo con o poco después de, el inicio de quimioterapia). Por ejemplo, un compuesto de este tipo puede no prevenir la neutropenia, pero puede promover una recuperación más rápida y sostenida de los neutrófilos tras la quimioterapia.

20 Los compuestos descritos anteriormente pueden administrarse de una manera apropiada a la enfermedad que va a tratarse. Pueden determinarse dosificaciones apropiadas y una duración y frecuencia de administración adecuadas mediante factores tales como el estado del paciente, el tipo y la gravedad de la enfermedad del paciente y el método de administración. En general, un régimen de dosificación y tratamiento apropiado proporciona el/los compuesto(s) en una cantidad suficiente para proporcionar beneficio terapéutico y/o profiláctico. Dentro de realizaciones particularmente preferidas de la invención, puede administrarse un compuesto a una dosificación que oscila entre
25 0,001 y 1000 mg/kg de peso corporal (más normalmente entre 0,01 y 1000 mg/kg), en un régimen de dosis diarias únicas o múltiples. Las dosificaciones apropiadas pueden determinarse generalmente usando modelos experimentales y/o ensayos clínicos. En general, se prefiere el uso de la dosificación mínima que sea suficiente para proporcionar una terapia eficaz. Los pacientes pueden monitorizarse generalmente para determinar la eficacia terapéutica usando ensayos adecuados para el estado que está tratándose, que resultarán familiares para los
30 expertos habituales en la técnica.

Al menos uno (es decir, uno o más) de los compuestos descritos anteriormente puede administrarse en combinación con al menos un (es decir, uno o más) agente quimioterápico. El compuesto puede funcionar independientemente del agente quimioterápico, o puede funcionar en coordinación con el agente quimioterápico, por ejemplo, potenciando la eficacia del agente o viceversa. Además, la administración puede ser conjuntamente con una o más
35 otras terapias para reducir toxicidades de la quimioterapia. Por ejemplo, puede administrarse al menos un (es decir, uno o más) agente para contrarrestar (al menos en parte) un efecto secundario de la quimioterapia. Fármacos (químicos o biológicos) que promueven la recuperación o potenciación de células sanguíneas son ejemplos de tales agentes. Al menos un compuesto descrito en el presente documento puede administrarse antes, después o de manera simultánea con la administración de al menos un agente quimioterápico o al menos un agente para reducir
40 un efecto secundario de la quimioterapia. Cuando la administración es simultánea, la combinación puede administrarse a partir de un único recipiente o dos (o más) recipientes separados.

Los siguientes ejemplos se ofrecen a modo de ilustración y no a modo de limitación.

Ejemplos

EJEMPLO 1

45 Síntesis de BASA (figura 1)

Síntesis del compuesto 4: Se añade yoduro de 3-nitro-bencilo (1) (48,3 g) a una disolución acuosa (pH 11) de ácido 8-aminonaftaleno-1,3,5-trisulfónico (2) (29,5 g) disponible comercialmente, con agitación a temperatura ambiente (TA). Se ajusta el pH de la disolución a 1 y, tras la evaporación del disolvente, se precipita el producto 3 (6,4 g) en etanol.

50 La hidrogenación catalizada con platino del compuesto 3 proporciona el compuesto 4 (el ácido bencilaminosulfónico o "BASA" de la figura 1) con un rendimiento del 96%.

EJEMPLO 2

Síntesis de glicomimético (figura 2)

55 Síntesis del intermedio II: Se agitan (-)-ácido shikímico (20 g) en MeOH (200 ml) y ácido sulfúrico (2 ml, al 98%) a TA durante 50 h. Se neutraliza la mezcla de reacción con NaOH acuoso 2 N en frío. Tras la evaporación hasta sequedad, se purifica el residuo mediante cromatografía sobre gel de sílice para proporcionar II (19,2 g).

Síntesis del intermedio III: Se disuelven shikimato de metilo (II, 10 g), 2,2-dimetoxipropano (10 ml) y p-TsOH (0,8 g) en acetonitrilo (125 ml) y se agita a TA durante 1 h. Entonces se neutraliza la mezcla de reacción con trietilamina (2 ml) y se evapora hasta sequedad. Se somete a cromatografía el residuo sobre gel de sílice para proporcionar III (11 g).

5 **Síntesis del intermedio IV:** Se hidrogenan el derivado de ácido shikímico III (10 g) y PtO₂/C (al 10%, 250 mg) en MeOH (40 ml) a TA con agitación vigorosa. Tras 16 h, se filtra la mezcla de reacción sobre Celite y se evapora hasta sequedad. Se somete a cromatografía el residuo sobre gel de sílice para proporcionar IV.

10 **Síntesis del intermedio V:** A una disolución de IV (8 g) en DCM (100 ml) a 0°C se le añaden piridina (12 ml), anhídrido acético (7 ml) y una DMAP (25 mg). Se agita la mezcla de reacción a TA durante 1 h, y se diluye con EtOAc (250 ml). Tras lavar con HCl acuoso 0,5 M (3 x 50 ml), disolución saturada de KHCO₃ (3 x 50 ml) y salmuera (3 x 50 ml), se secan las fases orgánicas combinadas (Na₂SO₄) y se evaporan hasta sequedad. Se purifica el residuo mediante cromatografía sobre gel de sílice para proporcionar V (6,8 g).

15 **Síntesis del intermedio VI:** Se agita una disolución de V (6,0 g) en ácido acético (30 ml, al 80%) a 80°C durante 1 h. Se elimina por evaporación el disolvente y se purifica el residuo mediante cromatografía sobre gel de sílice (DCM/MeOH 14:1) para proporcionar VI (3,6 g).

20 **Síntesis del intermedio VII:** Se agita una disolución de VI (3 g) and p-TsCl (3,5 g) en piridina (30 ml) a TA durante 6 h. Se añade MeOH (5 ml) y se evapora el disolvente a presión reducida, se disuelve el residuo en EtOAc (3 x 150 ml) y se lavan las fases orgánicas con HCl acuoso 0,5 M (0°C), agua (fría) y salmuera (fría). Se secan las fases orgánicas combinadas (Na₂SO₄), se filtran sobre Celite y se evaporan hasta sequedad. Se purifica el residuo mediante cromatografía sobre gel de sílice (tolueno/EtOAc 4:1) para proporcionar VII (3,7 g).

25 **Síntesis del compuesto VIII:** Se agita una disolución de VII (3 g) y NaN₃ (2,5 g) en DMF (20 ml) a 80°C. Se enfría la mezcla de reacción hasta TA y se diluye con EtOAc (200 ml) y agua (50 ml). Se lava adicionalmente la fase orgánica dos veces con agua (2 x 50 ml) y una vez con salmuera (50 ml). Se extraen todas las fases acuosas dos veces con EtOAc (2 x 50 ml). Se secan las fases orgánicas combinadas con Na₂SO₄, se filtran y se eliminan por evaporación el disolvente. Se purifica el residuo mediante cromatografía sobre gel de sílice (éter de petróleo/EtOAc 5:2) para dar VIII (2,2 g).

30 **Síntesis del compuesto X:** A una disolución de 2,3,4-tri-O-bencil- α -L-fucotiopiranosido de etilo IX (1,5 g) en DCM (3 ml), se le añade bromo (150 μ l) a 0°C bajo argón. Tras 5 min., se retira el baño de enfriamiento y se agita la mezcla de reacción durante 25 min. adicionales a TA. Se añade ciclohexeno (200 μ l) y se añade la mezcla de reacción a una disolución de VIII (400 mg), (Et)₄NBr (750 mg) y tamices moleculares de 4 Å en polvo en DCM (10 ml) y DMF (5 ml). Tras 16 h, se añade trietilamina (1,5 ml) y se agita durante 10 min. adicionales, se diluye con EtOAc (50 ml) y se lava con NaHCO₃ acuoso sat., agua y salmuera. Se extraen las fases orgánicas dos veces con EtOAc (2x 50 ml). Se secan las fases orgánicas combinadas (Na₂SO₄), se filtran y se evaporan hasta sequedad. Se purifica el residuo mediante cromatografía sobre gel de sílice (tolueno/EtOAc 9:1) para proporcionar X (700 mg).

35 **Síntesis del compuesto XI:** A una disolución de X (1,5 g) en MeOH (20 ml) se le añade NaOMe recién preparado (80 mg) y se agita la mezcla de reacción en un tubo de presión a 80°C durante 20 h. Se enfría la mezcla de reacción hasta TA y se neutraliza con ácido acético. Se evapora el disolvente hasta sequedad y se disuelve el residuo en éter. Se añade diazometano recién preparado y se neutraliza el exceso de diazometano con ácido acético. Se elimina por evaporación el disolvente para dar XI (1,25 g).

40 **Síntesis del elemento estructural XV:** Esta síntesis se realiza exactamente de la misma manera que se describió previamente (Helvetica Chimica Acta 83:2893-2907 (2000)).

45 **Síntesis del compuesto XVI:** Se agita una mezcla de XI (1,6 g), XV (3 g) y tamices moleculares de 4 Å en polvo activados (1 g) en DCM (17 ml) a TA bajo argón durante 2 h. Entonces se añade DMTST (2 g) en 4 partes iguales a lo largo de un periodo de 1,5 h. Tras 24 h, se filtra la mezcla de reacción sobre Celite y se diluye el filtrado con DCM (100 ml). Se lava la fase orgánica con NaHCO₃ acuoso sat. y salmuera y se extraen las fases acuosas dos veces con DCM. Se secan las fases orgánicas combinadas (Na₂SO₄), se filtran y se evaporan hasta sequedad. Se purifica el residuo mediante cromatografía sobre gel de sílice (tolueno/ EtOAc 8:1) para proporcionar XVI (1,5 g).

50 **Síntesis del compuesto XVII:** A una disolución de XVI (500 mg) y cloruro de ácido orótico (500 mg) en diclorometano (10 ml) se le añade una disolución de trifenilfosfina (500 mg en 5 ml de diclorometano) gota a gota durante 10 min. Se agita la mezcla de reacción a TA durante 25 h y se elimina por evaporación el disolvente. Se purifica el residuo (cromatografía sobre gel de sílice DCM/MeOH 19:1) para dar XVII (250 mg).

55 **Síntesis del compuesto XVIII:** A una disolución de XVII (200 mg) en dioxano-agua (5:1, 12 ml) se le añade Pd-C al 10% (100 mg) y se agita la mezcla de reacción vigorosamente bajo hidrógeno (55 psi) durante 24 h. Se filtra el catalizador a través de un lecho de Celite y se elimina por evaporación el disolvente. Se purifica el residuo mediante cromatografía sobre gel de sílice para dar el compuesto XVIII (150 mg).

Síntesis de XIX: A una disolución de compuesto XVIII (145 mg) en MeOH (5 ml) se le añade una disolución de

NaOMe en MeOH (25%, 0,025 ml) y se agita la mezcla de reacción a TA durante 4 h, se neutraliza con ácido acético y se elimina por evaporación el disolvente. Se disuelve el residuo en agua y se hace pasar a través de un lecho de resina Dowex 50wX-8 (forma de Na). Se elimina por evaporación el lavado con agua para proporcionar el compuesto XIX (100 mg).

- 5 Síntesis de EDA-XIX: Se calienta XIX (80 mg) a 70°C con etilendiamina (EDA) (1 ml) con agitación durante 5 h. Se elimina por evaporación el disolvente y se purifica mediante columna Sephadex G-25 para dar EDA-XIX (82 mg).

EJEMPLO 3

Síntesis de BASA pegilado (figura 3)

- 10 A una disolución de ácido 3,6-dioxaoctanodioico (PEG, 200 mg, disponible comercialmente) en DMF (1 ml) se le añade base de Hunig (0,4 ml), y entonces se añade HATU (0,35 g) tras 5 min. Se agita la disolución a TA durante 10 min. y entonces se añade una disolución del BASA del ejemplo 2 (50 mg) en DMF (0,1 ml). Se agita la mezcla de reacción durante 4 h a TA y se elimina por evaporación el disolvente. Se purifica el residuo mediante HPLC (columna C 18 de fase inversa) para dar XX (40 mg).

EJEMPLO 4

- 15 Síntesis del compuesto glicomimético-BASA n.º 1 (figura 4)

- 20 A una disolución de XX del ejemplo 3 (0,015 g) en DMF (0,1 ml) se le añade base de Hunig (0,015 ml) y luego HATU (0,007 g). Se agita la mezcla de reacción durante 10 min. a TA. Se añade una disolución de EDA-XIX del ejemplo 2 (0,010 g en DMF ml) y se agita la mezcla de reacción a TA durante 8 h. Se elimina por evaporación el disolvente y se purifica el residuo mediante cromatografía Sephadex G-25 para dar el glicomimético-BASA n.º 1 de la figura 4 (0,008 g).

EJEMPLO 5

Síntesis del compuesto glicomimético-BASA n.º 2 (figura 5)

- 25 Síntesis del compuesto XXI: A una disolución de ácido 3,6-dioxaoctanodioico (PEG, 200 mg, disponible comercialmente) en DMF (1 ml) se le añade base de Hunig (0,4 ml) y entonces se añade HATU (0,35 g) tras 5 min. Se agita la disolución a TA durante 10 min. y entonces se añade una disolución de ácido 8-aminonaftaleno-1,3,6-trisulfónico (50 mg, disponible comercialmente) en DMF. Se agita la mezcla de reacción durante 4 h a TA y se elimina por evaporación el disolvente. Se purifica el residuo mediante HPLC (columna C 18 de fase inversa) para dar XXI (25 mg).

- 30 Síntesis del compuesto XXII: Esta síntesis se realiza de la misma manera que se describió en el ejemplo 4 excepto porque se usa EDA-XIX del ejemplo 2 y XXI para dar el compuesto XXII (4 mg).

EJEMPLO 6

Efectos del compuesto n.º 2 sobre la rodadura en LMA de E-selectina y P-selectina sobre células endoteliales humanas

- 35 La interacción de células de LMA con el endotelio vascular es una etapa temprana en la extravasación de las células cancerosas fuera de la circulación. Se llevan a cabo experimentos dentro de la presente invención para demostrar que una línea celular de LMA humana (MV-4-11 derivada de leucemia mielomonocítica B bifenotípica) interacciona con, y rueda sobre, células endoteliales de vena umbilical humana (HUVEC) estimuladas *in vitro* para expresar o bien E-selectina o bien P-selectina. Tal como se muestra en la figura 6, el compuesto glicomimético n.º 2 (ejemplo 5; figura 5) inhibe la rodadura de las células de LMA sobre las HUVEC estimuladas.

- 40 EJEMPLO 7

Efectos del compuesto n.º 2 sobre la adhesión y la rodadura mediadas por P-selectina de la línea celular de mieloma múltiple U266 en células endoteliales humanas en condiciones de flujo

- 45 La interacción de células de mieloma múltiple con el endotelio vascular es una etapa temprana en la extravasación de células cancerosas fuera del torrente sanguíneo. Se llevan a cabo experimentos dentro de la presente invención para demostrar que una línea celular de mieloma múltiple de ser humano (U266) interacciona con (rueda y se adhiere) una monocapa de células endoteliales de vena umbilical humana (HUVEC) estimuladas para expresar P-selectina. Se cuantifican las interacciones bajo las fuerzas de corte del flujo sanguíneo normal (1 dina/cm²) mediante análisis de imágenes digitales. Tal como se muestra en la figura 7, el compuesto n.º 2 (ejemplo 5; figura 5) inhibe más del 50% de las interacciones de células cancerosas con la monocapa endotelial que expresa P-selectina a 1,5 mM.

- 50

EJEMPLO 8

Efectos del compuesto n.º 2 sobre la migración transmembrana y transendotelial con SDF-1 de células de mieloma múltiple

5 Con el fin de dirigirse a la médula ósea o diseminarse a otros tejidos desde el torrente sanguíneo, en primer lugar las células de mieloma múltiple deben atravesar el endotelio vascular. Se establece un modelo *in vitro* de este proceso con placas Transwell en las que cada pocillo está dividido en 2 cámaras por una membrana bisecante. Se coloca la quimiocina, factor derivado de células del estroma-1 (SDF-1) (30 nM) en la cámara inferior y se cuantifica el porcentaje de células de mieloma múltiple que migran desde la cámara superior hasta la cámara inferior. Se lleva a cabo el experimento con membrana solo (barras blancas) o con la membrana cubierta con una monocapa de células endoteliales (HUVEC). Tal como puede observarse en la figura 8, el compuesto n.º 2 (ejemplo 5; figura 5) inhibe la migración específicamente a través de la monocapa endotelial, lo que sugiere que la inhibición se basa en moléculas diana (es decir, selectinas) en las células endoteliales.

EJEMPLO 9

Efectos del compuesto n.º 2 sobre la extravasación de células de mieloma múltiple desde el torrente sanguíneo *in vivo*.

15 Las células de mieloma múltiple (MM) humanas inyectadas en ratones se extravasan desde el torrente sanguíneo y se dirigen a la médula ósea y otros órganos en el plazo de minutos. Marcando mediante fluorescencia las células de MM, puede monitorizarse este proceso *in vivo* mediante microscopía intravital usando técnicas de microscopía confocal. Tal como se muestra en la figura 9, en el plazo de 30 minutos casi todas las células de MM han abandonado el torrente sanguíneo periférico. La inyección conjunta de células con el compuesto n.º 2 a dos dosis diferentes (100 mg/kg y 25 mg/kg) inhibe drásticamente esta extravasación de células de MM circulantes *in vivo*.

EJEMPLO 10

Inhibición del injerto en médula ósea de células de LMA

25 Se obtienen ratones NOD/SCID/cadena γ y de receptor de IL2^{nuilos} ("ratones irradiados") (Ishikawa *et al.*, Nat. Biotech. 25:1315-1321, 2007; Christianson *et al.*, J. Immunol. 755:3578-3586, 1997; Cao *et al.*, Immunity 2:223-238, 1995). Se administra la línea celular de LMA usada en el ejemplo 6 por vía intravenosa a ratones irradiados (grupo control). Se injerta la línea celular de LMA en la médula ósea de los ratones irradiados. Se administra a otros ratones irradiados (grupo experimental) por vía intravenosa el compuesto glicomimético n.º 2, seguido tras un intervalo de tiempo por la administración intravenosa de la línea celular de LMA. En otros ratones irradiados (un grupo experimental diferente), se invierte el orden de administración administrando por vía intravenosa en primer lugar la línea celular de LMA, seguido tras un intervalo de tiempo por la administración intravenosa del compuesto glicomimético n.º 2. Se evalúa el injerto en médula ósea por la línea celular de LMA mediante análisis histológico y de citometría de flujo.

EJEMPLO 11

Efectos del compuesto n.º 2 sobre la neutropenia inducida por quimioterapia

35 Muchos fármacos quimioterápicos destruyen células cancerosas seleccionando como diana la proliferación celular potenciada asociada con tumores malignos. Los efectos secundarios de estos fármacos incluyen el aumento de toxicidad de células normales que experimentan división celular tales como las células madre hematopoyéticas (HSC) que se requieren para la generación de sangre nueva. En particular, uno de los efectos secundarios clínicamente relevantes de fármacos quimioterápicos convencionales en pacientes es la reducción drástica de neutrófilos que se requieren para combatir infecciones. Los recuentos de neutrófilos bajos contribuyen al estado inmunocomprometido de pacientes de cáncer que les deja vulnerables a infecciones potencialmente mortales. Una rápida recuperación del sistema inmunitario tras un ciclo de quimioterapia es una meta muy deseable entre esta población.

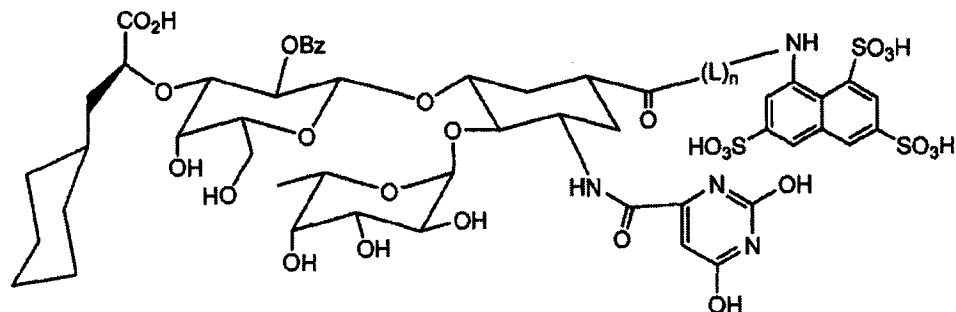
40 Para determinar si la inhibición de selectinas tiene un efecto beneficioso sobre la protección y recuperación de neutrófilos del tratamiento con fármacos antiproliferativos, se tratan ratones con el compuesto n.º 2 antes y después de la administración de o bien 5-fluorouracilo (5-FU) o bien ciclofosfamida. A puntos de tiempo variables tras el tratamiento, se toman muestras de sangre de los ratones y se analizan para determinar diferentes tipos de células incluyendo neutrófilos.

45 Tal como se representa en la figura 10, se tratan ratones con el compuesto n.º 2 durante 14 días mediante inyecciones (50 mg/kg) dos veces al día. En el día 12 dentro de este periodo de tratamiento, una cohorte de ratones recibe una inyección de un fármaco quimioterápico; o bien 5-fluorouracilo (150 mg/kg por vía i.p.) o bien ciclofosfamida (300 mg/kg por vía i.p.). En el tercer día tras el tratamiento con el compuesto n.º 2, se obtiene sangre mediante punción cardiaca de una cohorte de ratones para determinar un recuento sanguíneo completo (CBC). Se les extrae sangre a las otras cohorte de ratones y se analiza (CBC) en los días 5, 7, 9 y 15 tras el tratamiento con el compuesto n.º 2.

Los fármacos quimioterápicos, 5-FU y ciclofosfamida, tienen los efectos más pronunciados sobre el número de neutrófilos en la sangre. Tanto 5-FU como ciclofosfamida provocan neutropenia grave en ratones que dura durante al menos una semana. Unos pocos días tras el tratamiento con estos fármacos, el número de neutrófilos en la sangre disminuye hasta niveles peligrosamente bajos tal como se muestra en las figuras 11 y 12. El tratamiento previo de ratones con el compuesto n.º 2 mejora notablemente la recuperación de los recuentos de neutrófilos tras la administración de o bien ciclofosfamida (figura 11) o bien 5-FU (figura 12). El tratamiento con compuesto n.º 2 por sí mismo también promueve el aumento de los niveles de neutrófilos en la sangre (datos no mostrados). Aunque el compuesto n.º 2 no previene la neutropenia en ratones tratados con o bien 5-FU o bien ciclofosfamida, promueve una recuperación más rápida y sostenida de los neutrófilos tras el tratamiento con el fármaco y por tanto puede ser útil en combinación con quimioterapia convencional de pacientes con cáncer.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto con la siguiente fórmula:



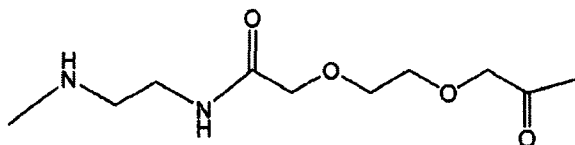
en la que

- 5 L es un grupo ligador; y
n = 0-1

para su uso en el tratamiento de un cáncer de la sangre o una complicación asociada con el mismo.

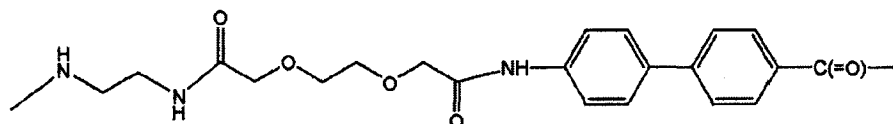
2. Compuesto según la reivindicación 1, en el que n=0.
3. Compuesto según la reivindicación 1, en el que n=1 y L es

10



en el que el N de L está unido al C terminal de C(=O) del compuesto.

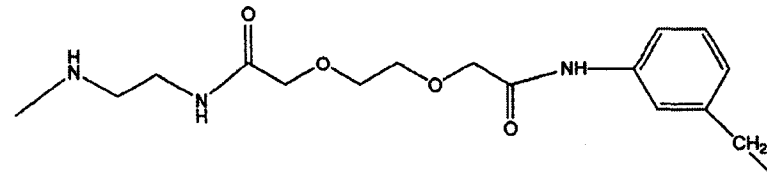
4. Compuesto según la reivindicación 1, en el que n=1 y L es



en el que el N de L está unido al C terminal de C(=O) del compuesto.

15

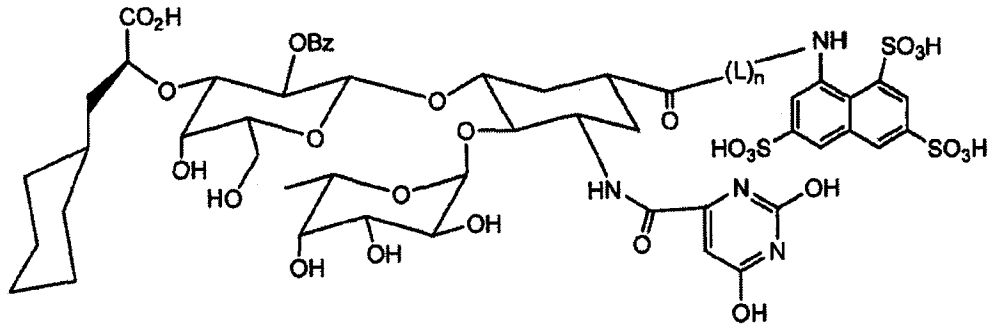
5. Compuesto según la reivindicación 1, en el que n=1 y L es



en el que el N de L está unido al C terminal de C(=O) del compuesto.

20

6. Compuesto según la reivindicación 1, en el que el cáncer es leucemia mielógena aguda (LMA).
7. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, donde el compuesto está en combinación con un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.
8. Un compuesto con la siguiente fórmula:



en la que

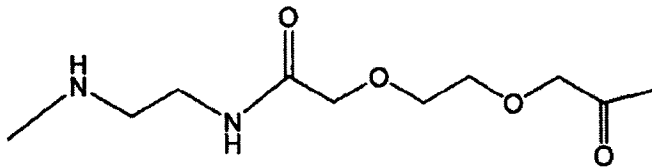
L es un grupo ligador; y

$n = 0-1$

5 para su uso en la reducción de una toxicidad mielosupresora de médula ósea de la quimioterapia.

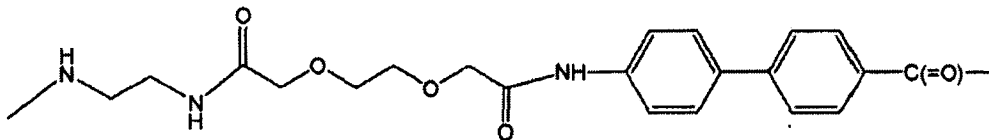
9. Compuesto según la reivindicación 8, en el que $n=0$.

10. Compuesto según la reivindicación 8, en el que $n=1$ y L es



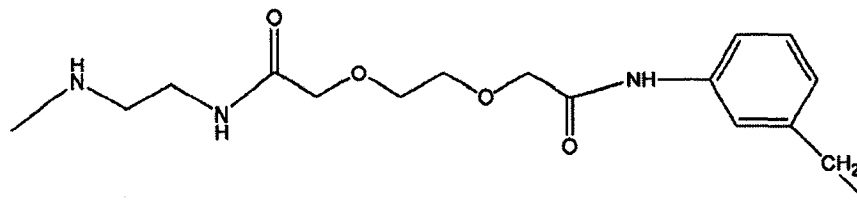
en el que el N de L está unido al C terminal de $\text{C}(=\text{O})$ del compuesto.

10 11. Compuesto según la reivindicación 8, en el que $n=1$ y L es



en el que el N de L está unido al C terminal de $\text{C}(=\text{O})$ del compuesto.

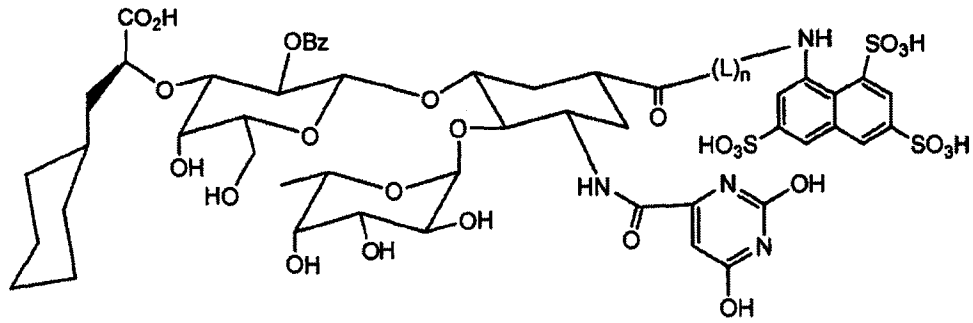
12. Compuesto según la reivindicación 8, en el que $n=1$ y L es



15 en el que el N de L está unido al C terminal de $\text{C}(=\text{O})$ del compuesto.

13. Compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 8-12, donde el compuesto está en combinación con un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

14. Uso de un compuesto para la preparación de un medicamento para tratar un cáncer de la sangre o una complicación asociada con el mismo, el compuesto con la fórmula:

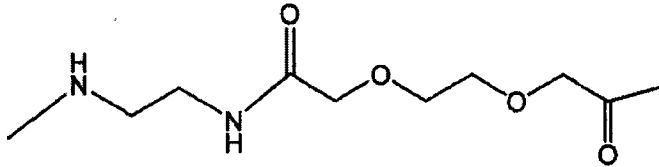


en la que

L es un grupo ligador; y

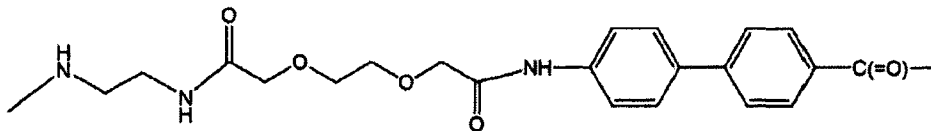
n = 0-1.

- 5 15. Uso según la reivindicación 14, en el que en el compuesto n=0.
 16. Uso según la reivindicación 14, en el que en el compuesto n=1 y L es



en el que el N de L está unido al C terminal de C(=O) del compuesto.

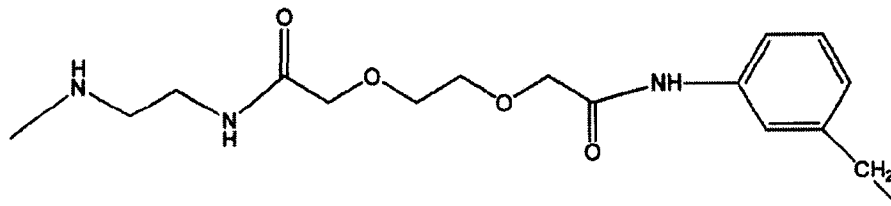
17. Uso según la reivindicación 14, en el que en el compuesto n=1 y L es



10

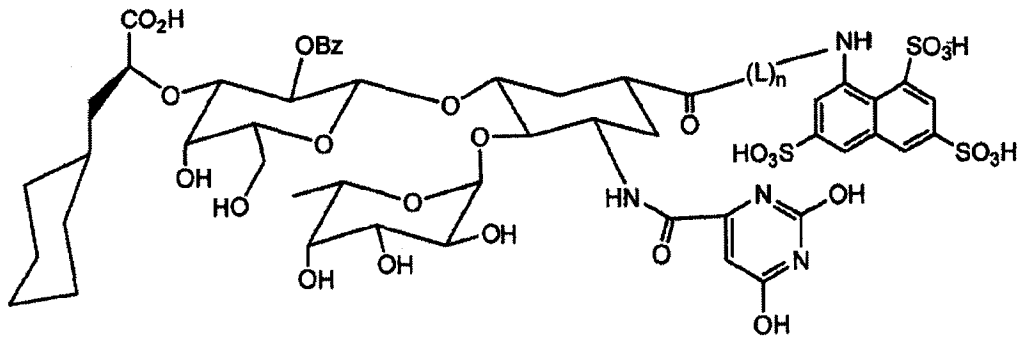
en el que el N de L está unido al C terminal de C(=O) del compuesto.

18. Uso según la reivindicación 14, en el que en el compuesto n=1 y L es



en el que el N de L está unido al C terminal de C(=O) del compuesto.

- 15 19. Uso según la reivindicación 14, en el que el cáncer es leucemia mielógena aguda (LMA).
 20. Uso de un compuesto para la preparación de un medicamento para reducir una toxicidad mielosupresora de médula ósea de la quimioterapia, el compuesto con la fórmula:

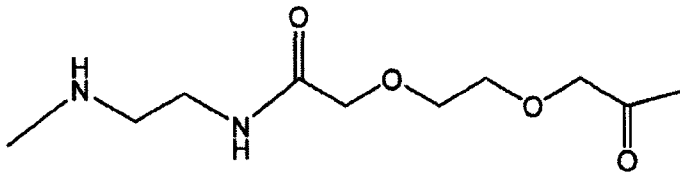


en la que

L es un grupo ligador; y

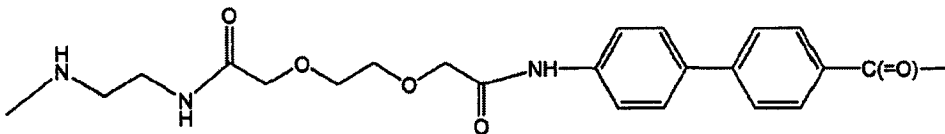
n = 0-1.

- 5 21. Uso según la reivindicación 20, en el que en el compuesto n=0.
 22. Uso según la reivindicación 20, en el que en el compuesto n=1 y L es



en el que el N de L está unido al C terminal de C(=O) del compuesto.

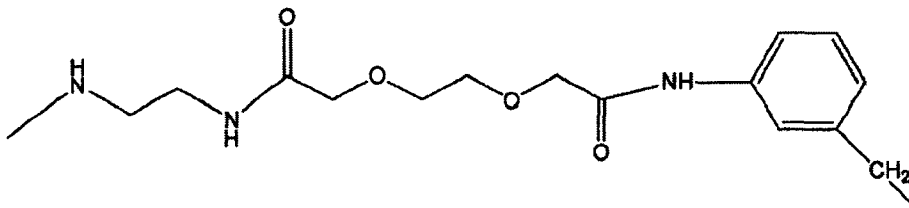
23. Uso según la reivindicación 20, en el que en el compuesto n=1 y L es



10

en el que el N de L está unido al C terminal de C(=O) del compuesto.

24. Uso según la reivindicación 20, en el que en el compuesto n=1 y L es



en el que el N de L está unido al C terminal de C(=O) del compuesto.

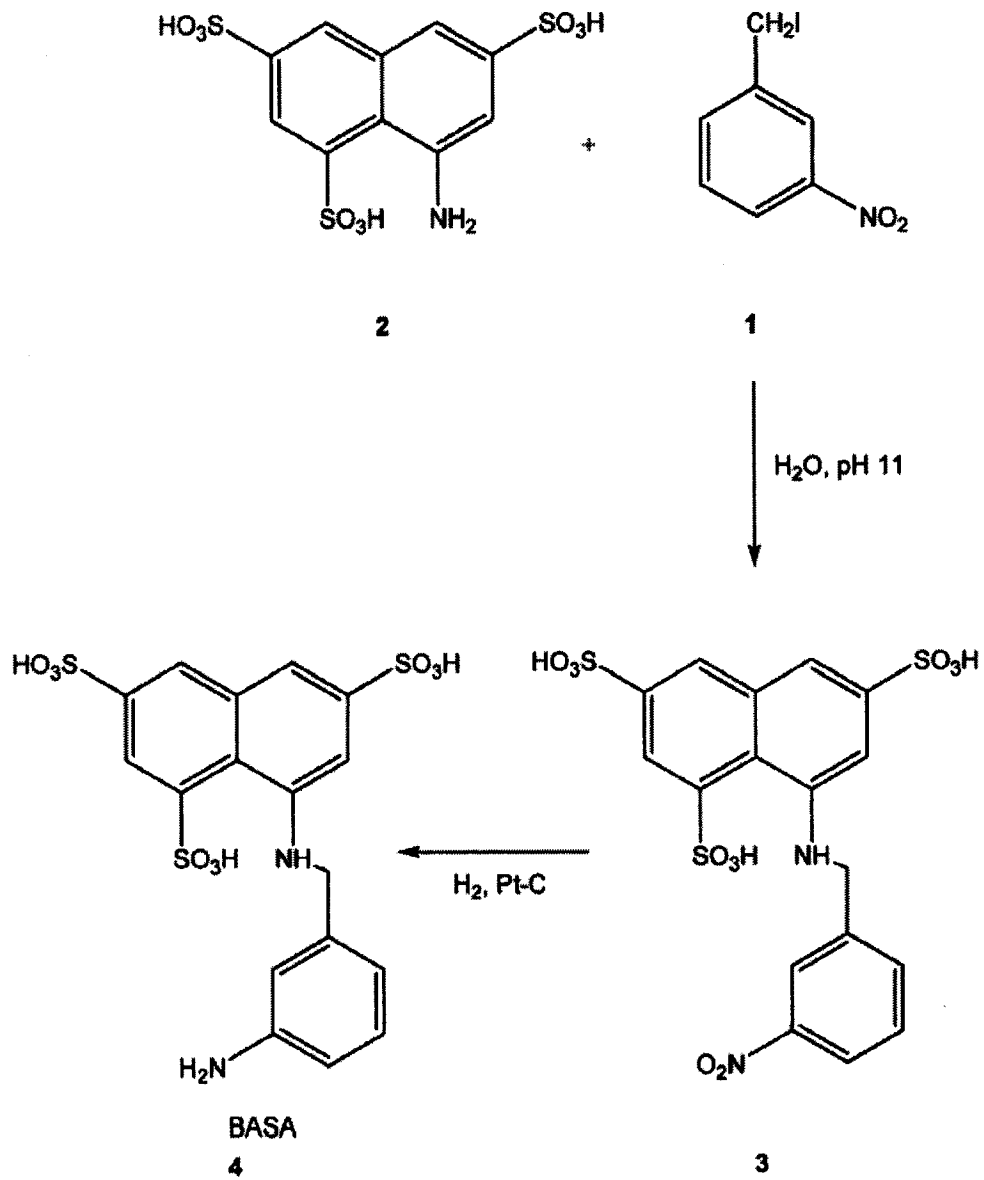


Fig. 1

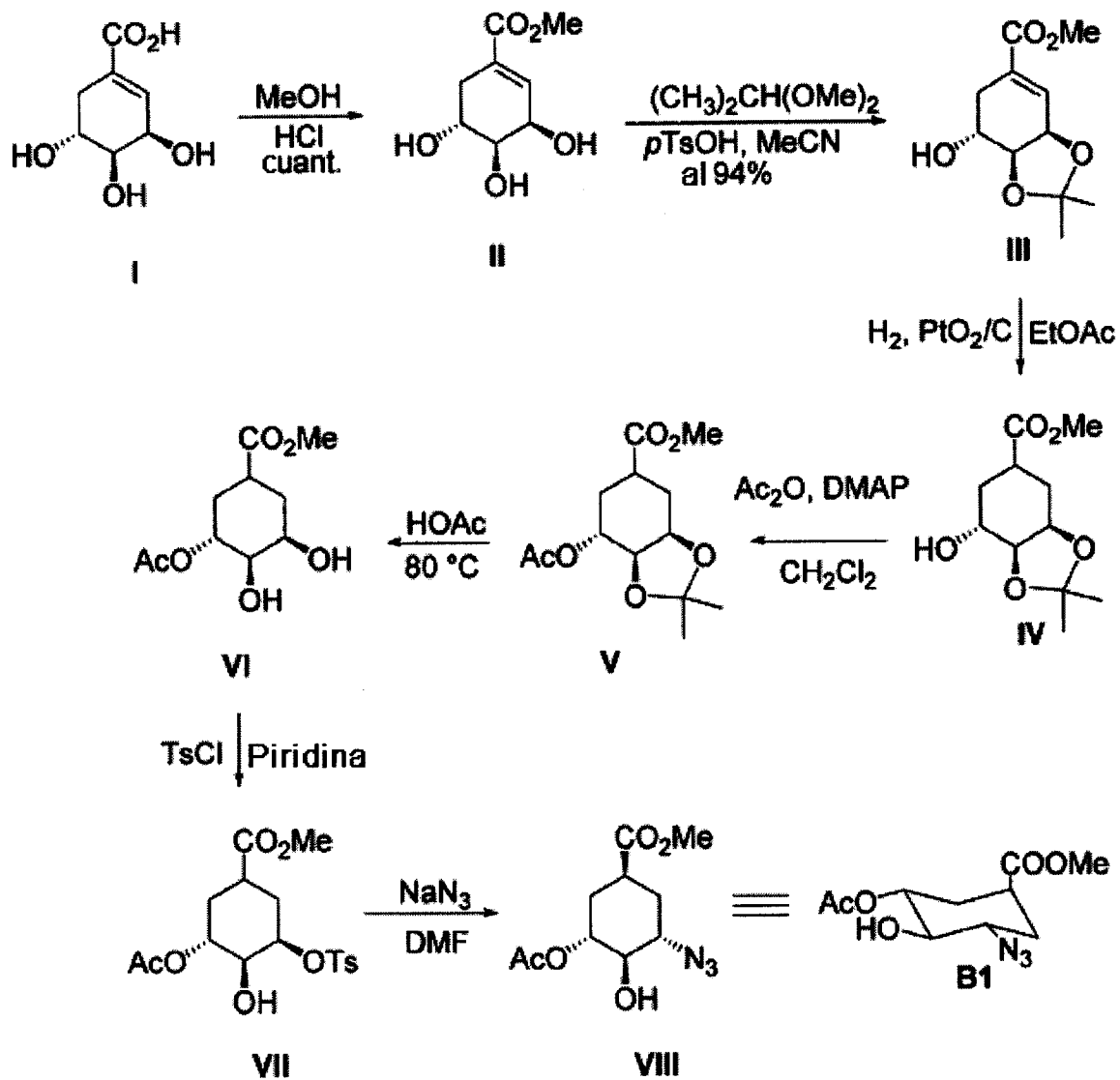


Fig. 2A

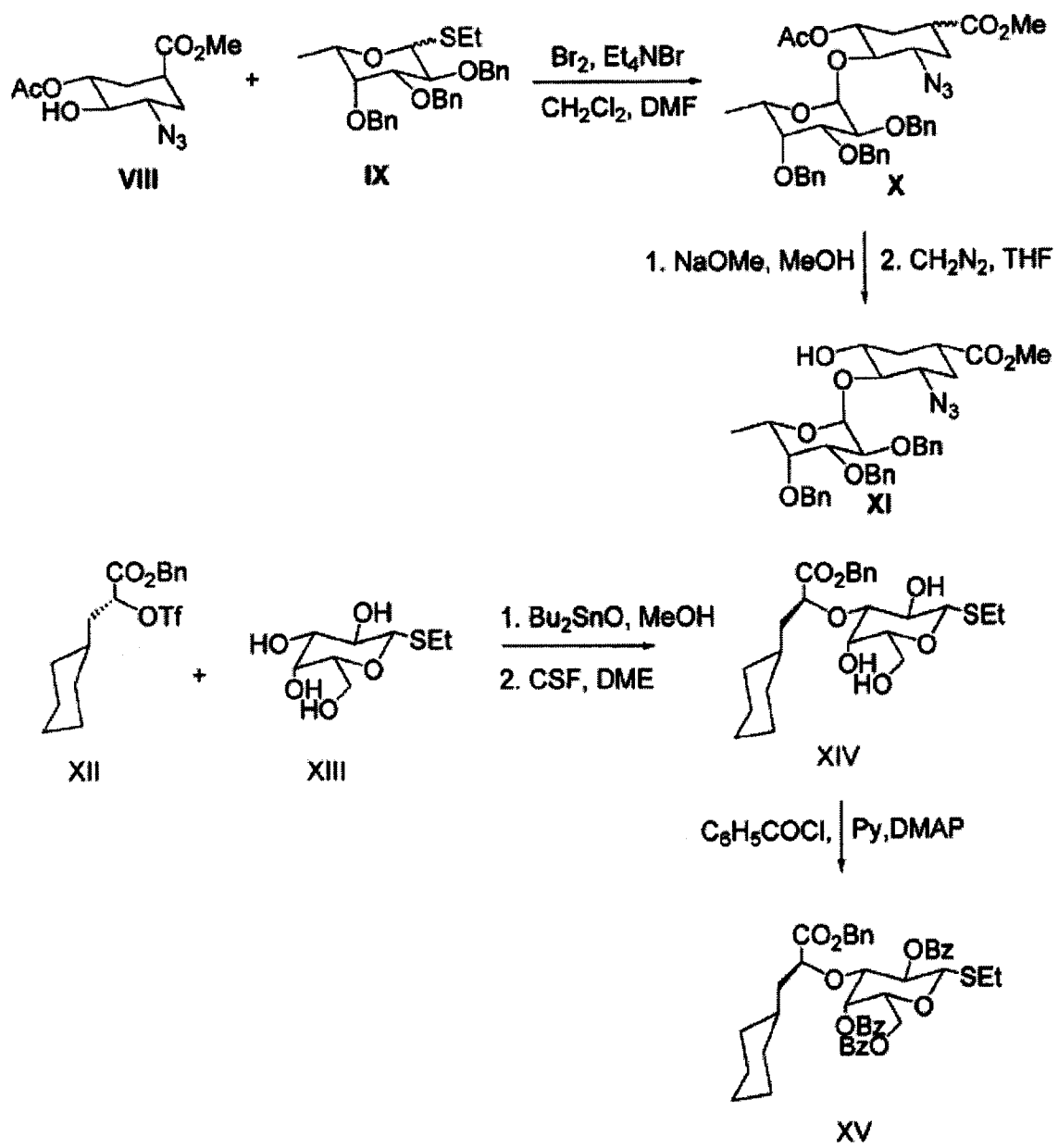


Fig. 2B

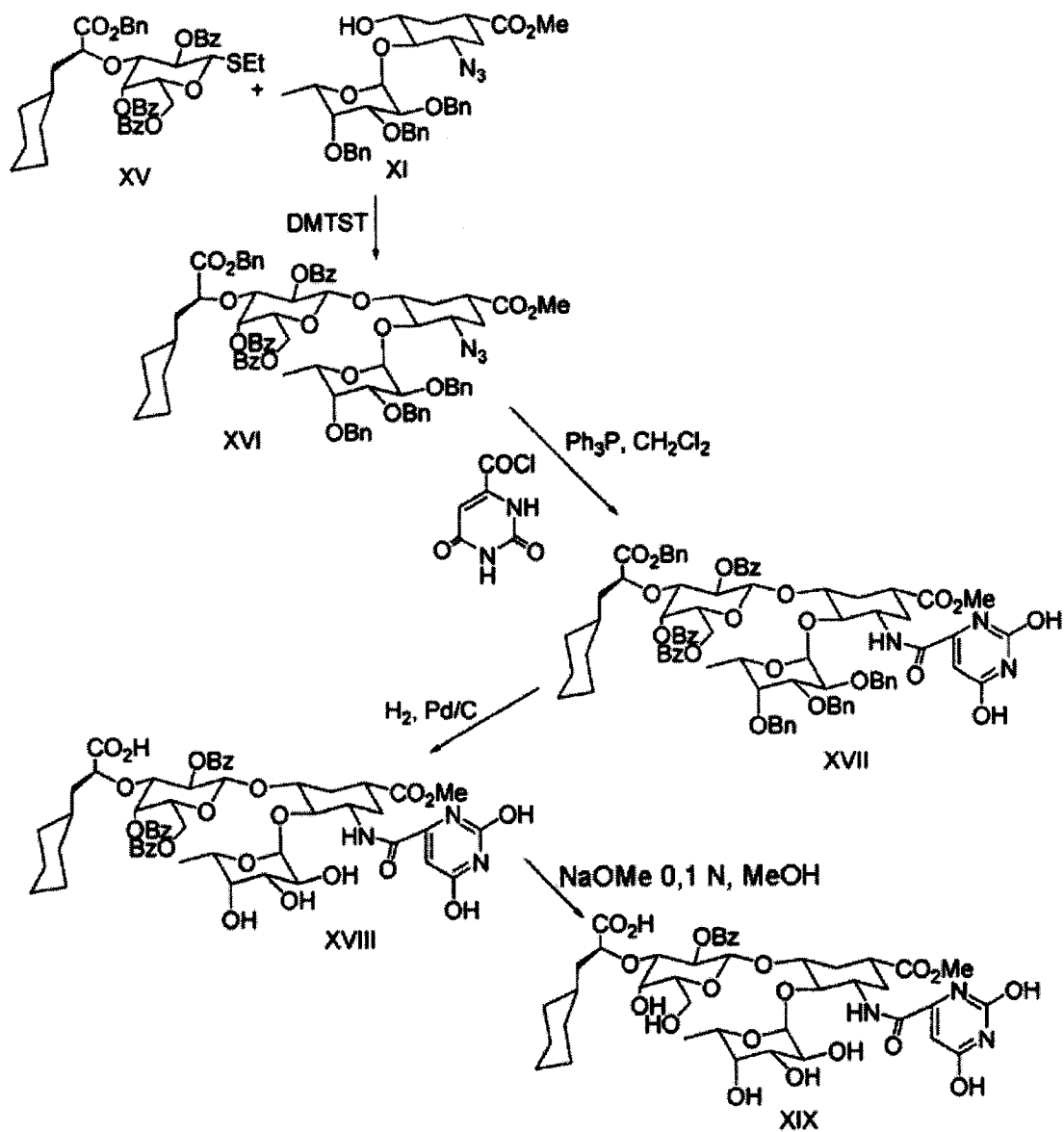
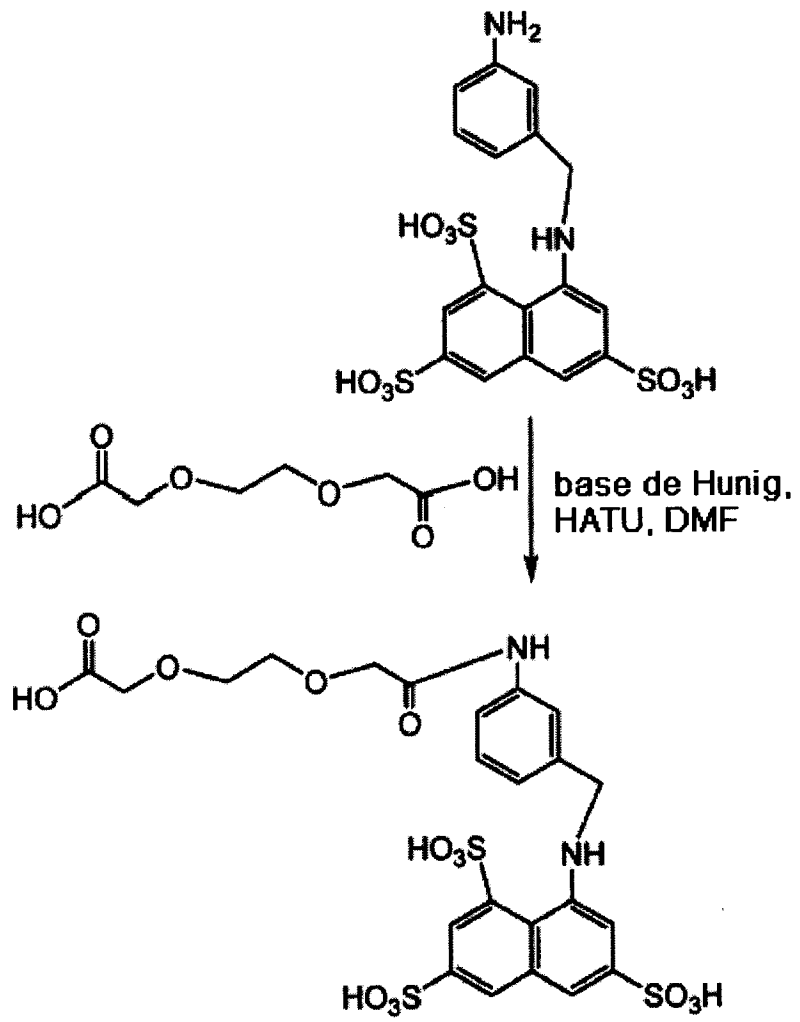
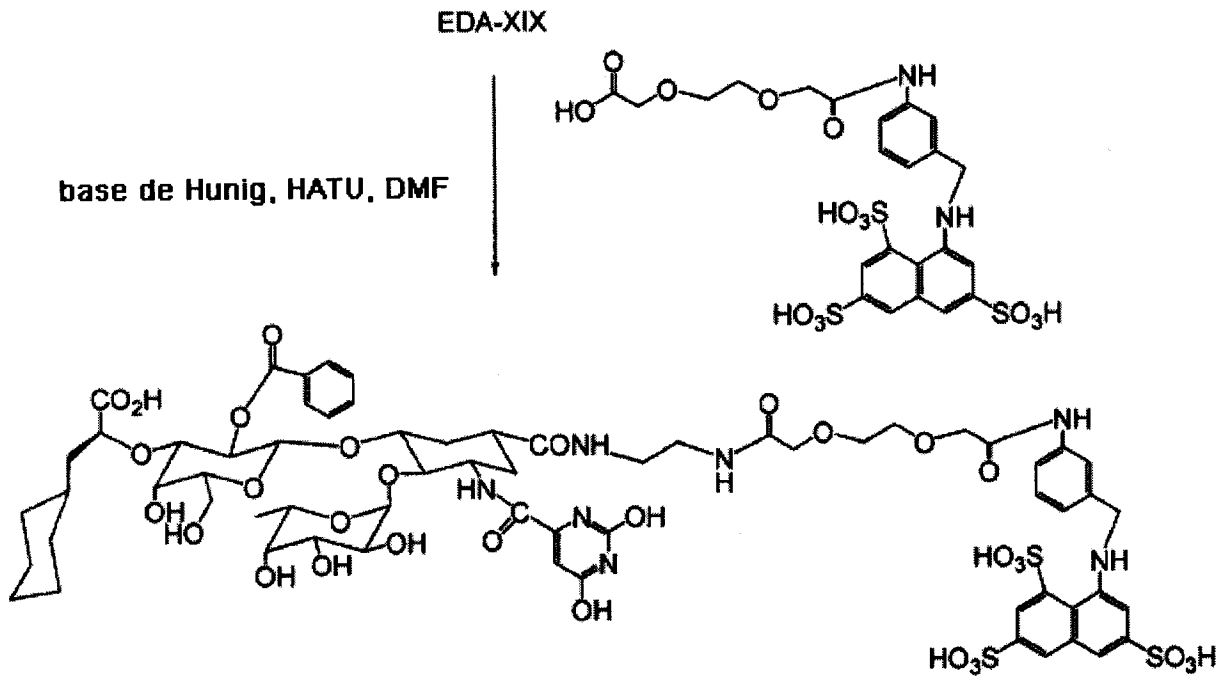


Fig. 2C



XX

Fig. 3



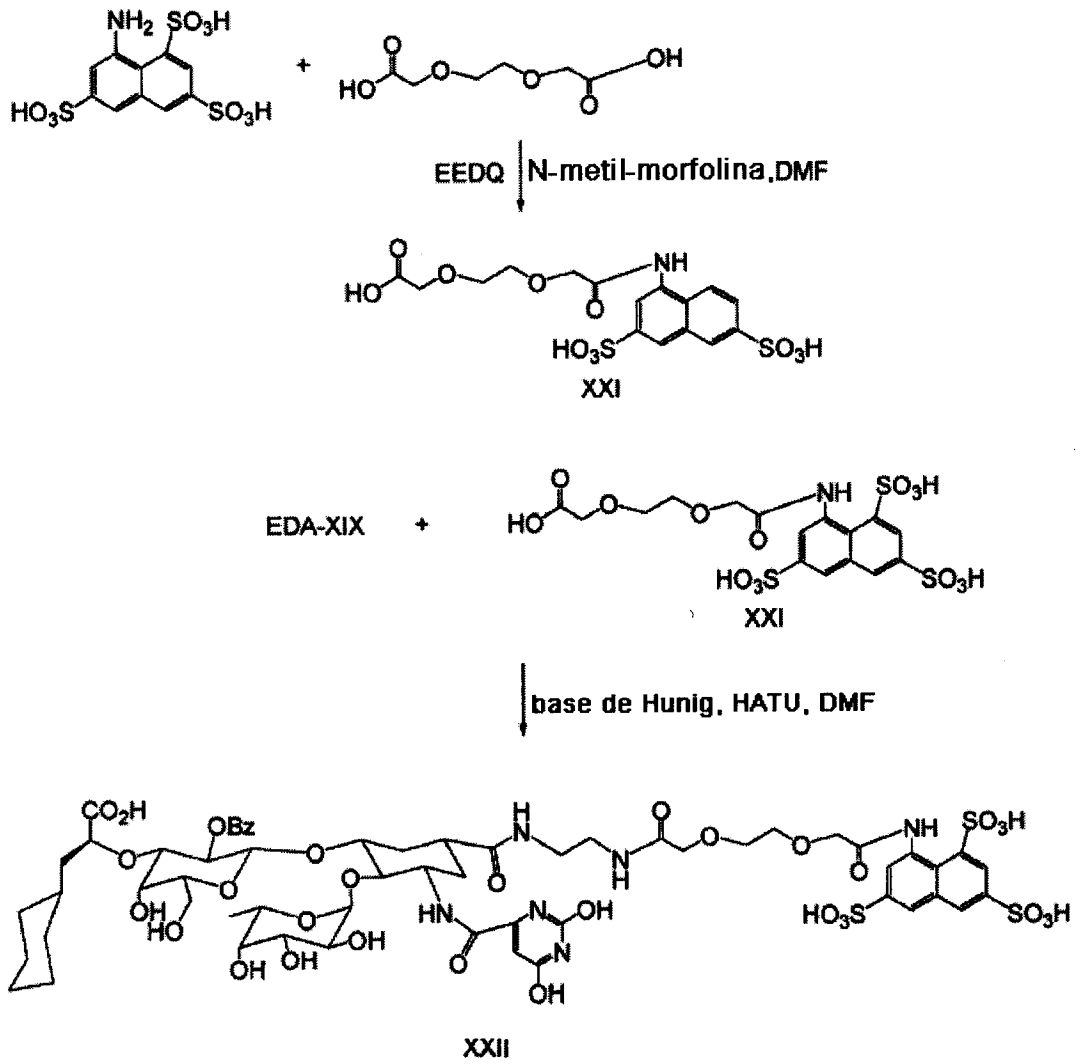


Fig. 5

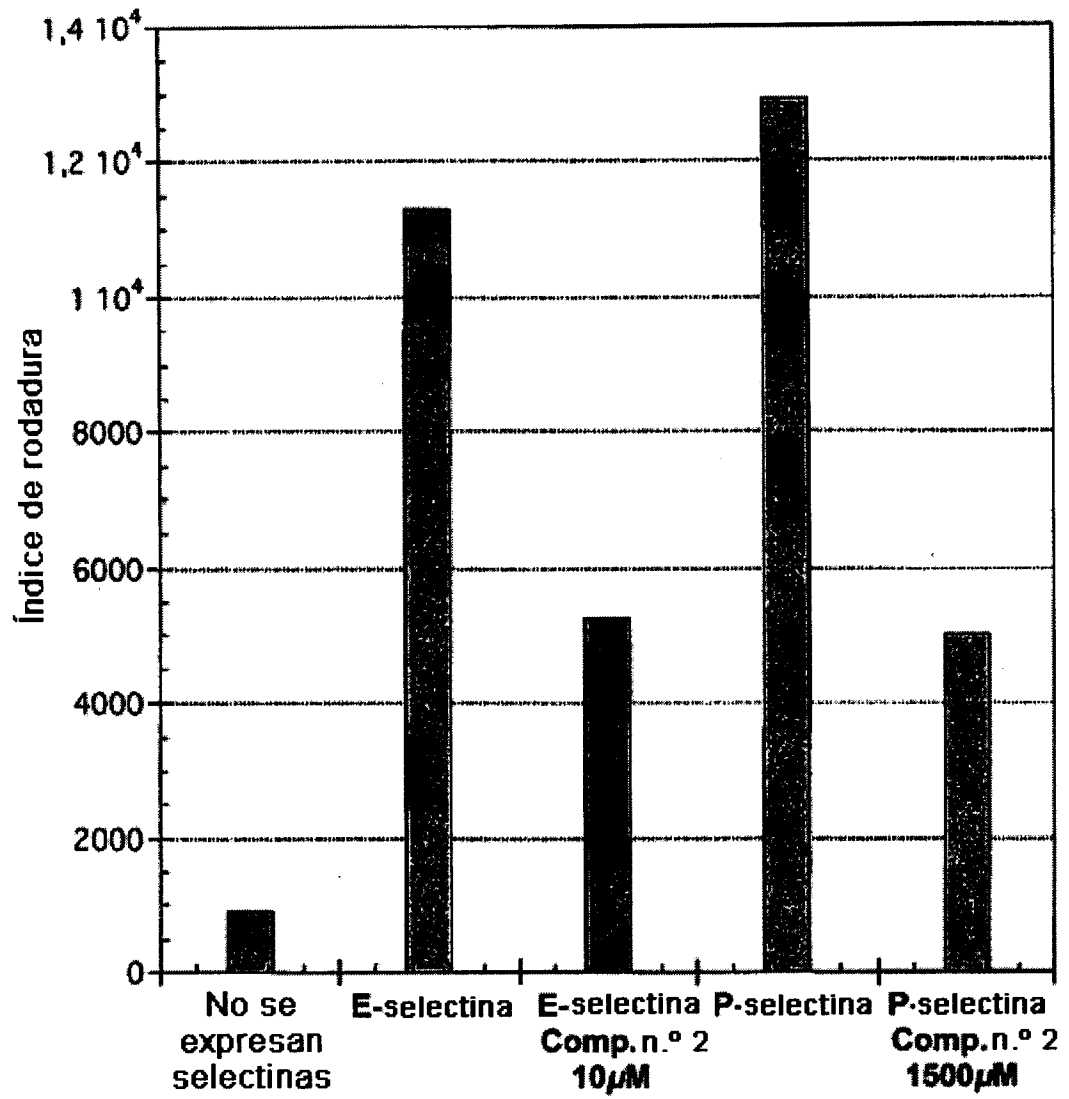


Fig. 6

**Adhesión de células de mieloma U266
a células endoteliales que expresan P-selectina
en condiciones de flujo**

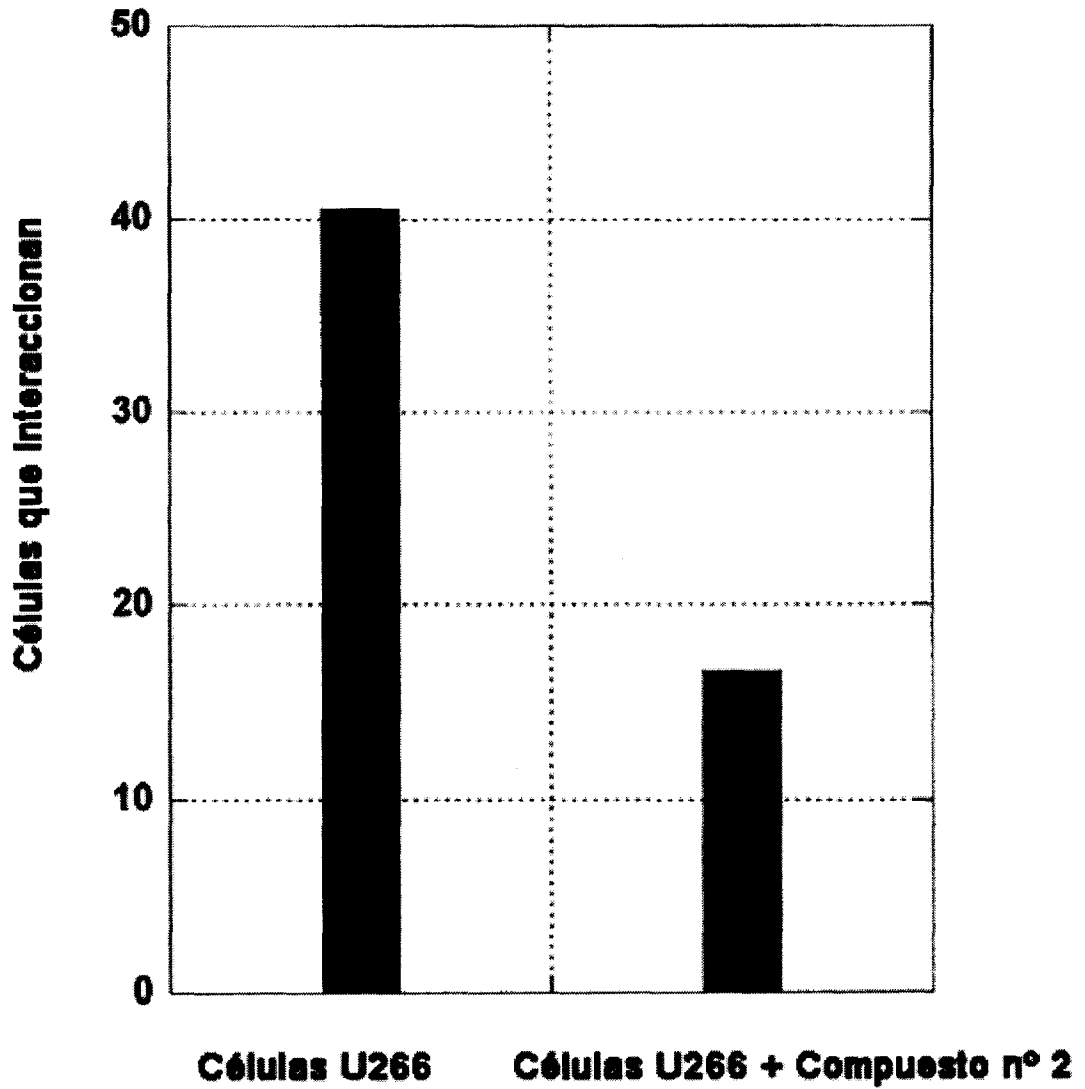
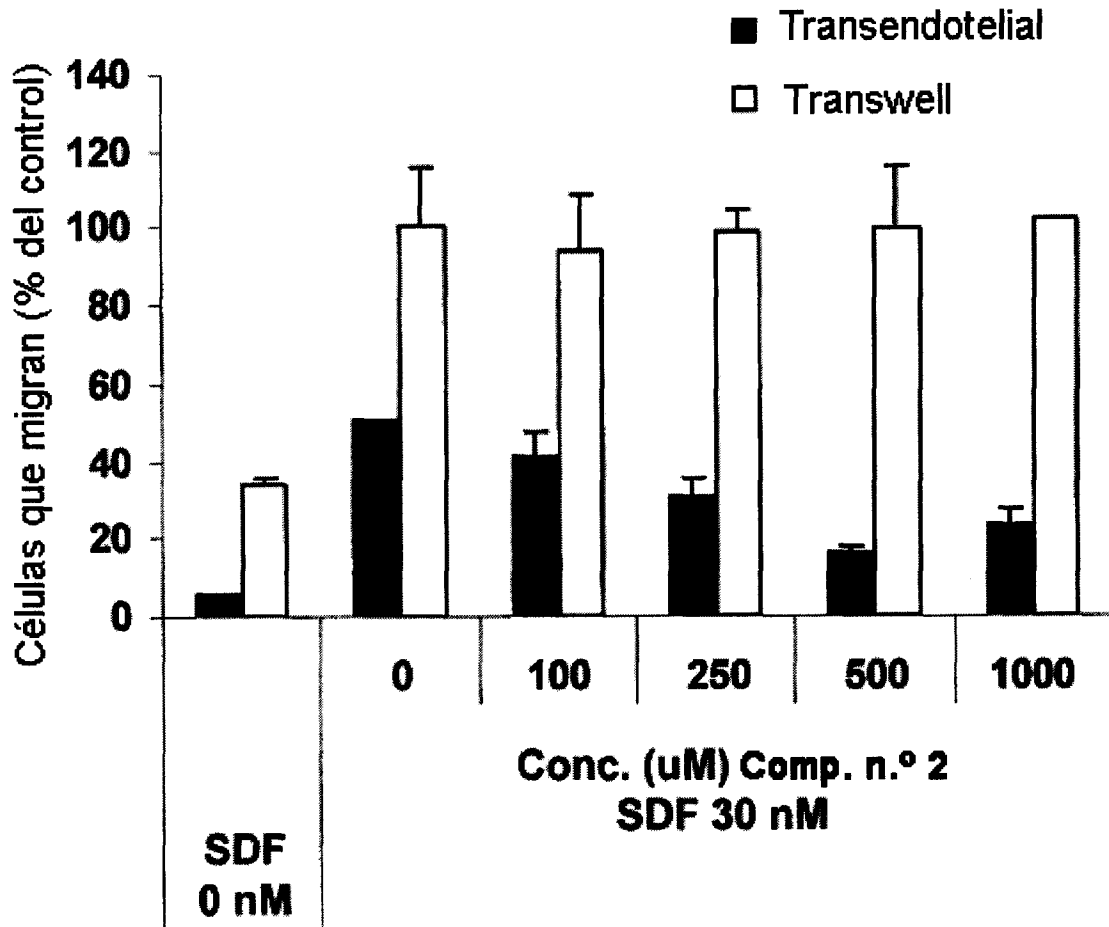


Fig. 7



El compuesto n.º 2 inhibe la migración transendotelial inducida por SDF-1 de células de MM

Fig. 8

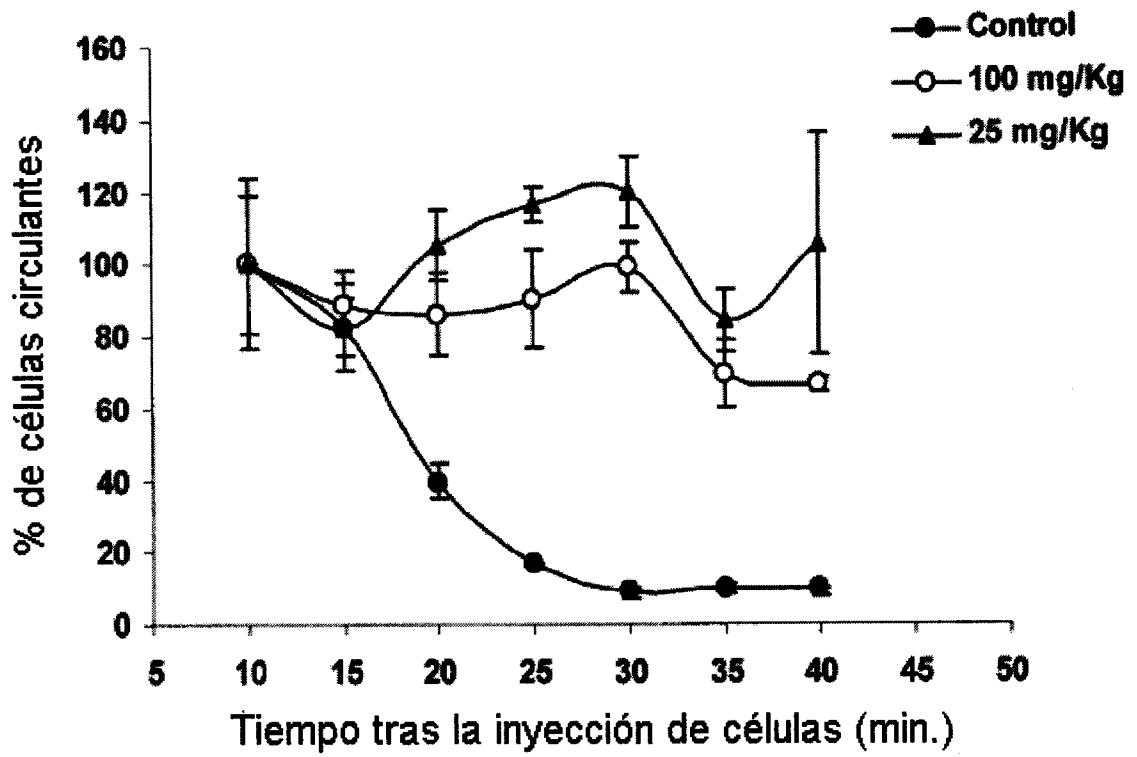


Fig. 9

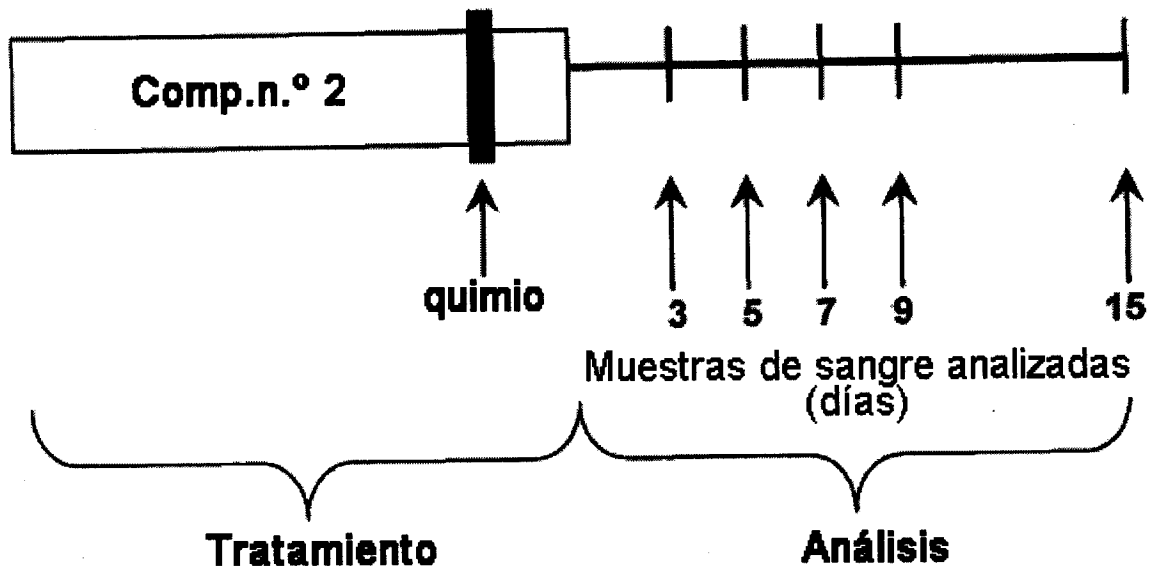


Fig. 10

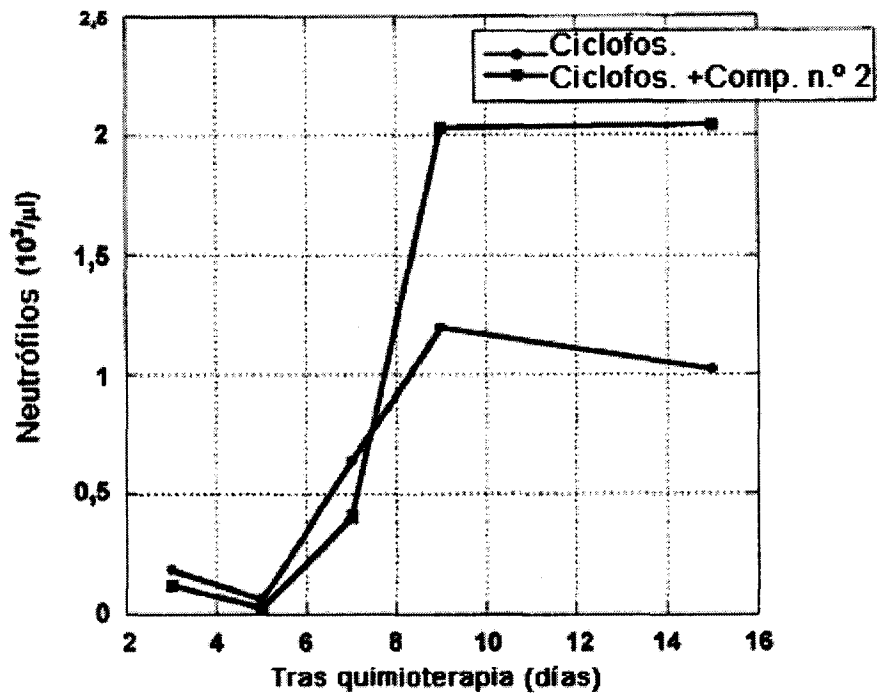


Fig. 11

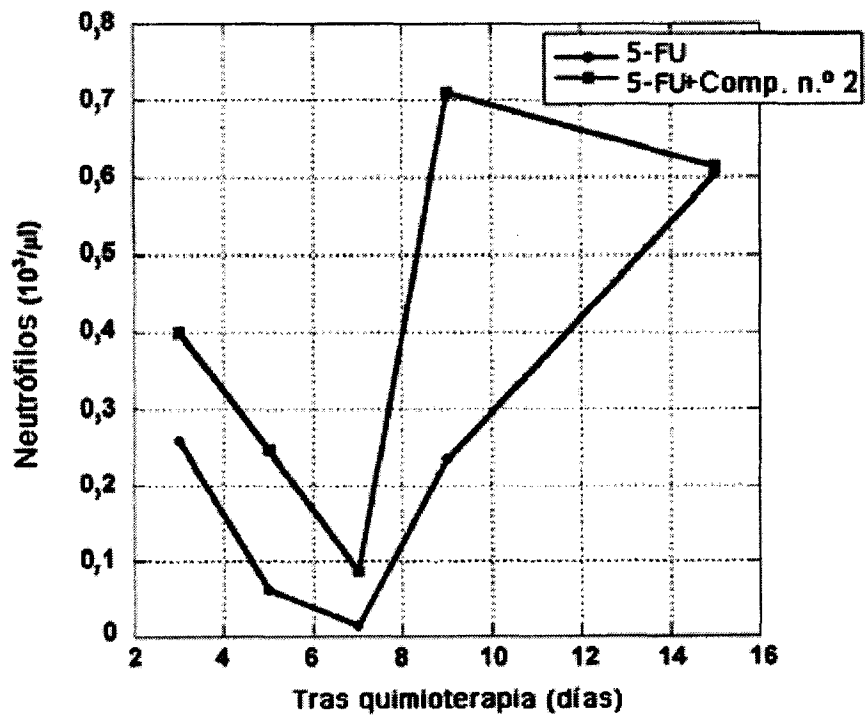


Fig. 12