



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



① Número de publicación: **2 329 218**

② Número de solicitud: 200801505

⑤ Int. Cl.:

**C07H 5/10** (2006.01)

**B28B 3/00** (2006.01)

⑫

PATENTE DE INVENCION

B1

② Fecha de presentación: **22.05.2008**

④ Fecha de publicación de la solicitud: **23.11.2009**

Fecha de la concesión: **03.09.2010**

④ Fecha de anuncio de la concesión: **22.09.2010**

④ Fecha de publicación del folleto de la patente:  
**22.09.2010**

⑦ Titular/es:  
**Consejo Superior de Investigaciones Científicas  
c/ Serrano, 117  
28006 Madrid, ES  
Universidad de Sevilla**

⑦ Inventor/es: **Khlar el Wahabi, Nouredine;  
Pernía Leal, Manuel y  
Fernández Fernández, Inmaculada**

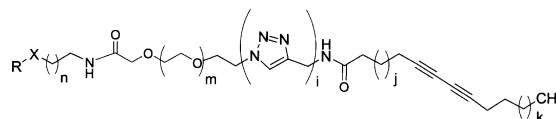
⑦ Agente: **Arias Sanz, Juan**

⑤ Título: **Neoglicolípidos, sus agregados con nanotubos de carbono, procedimiento de obtención y aplicaciones.**

⑦ Resumen:

Neoglicolípidos, sus agregados con nanotubos de carbono, procedimiento de obtención y aplicaciones.

La presente invención se refiere a un glicolípido de fórmula (I) en la que R es un carbohidrato seleccionado entre un mono-, di- y un polisacárido; X es oxígeno, azufre, -CH<sub>2</sub>- o -NH-; n, m, j y k son números enteros, iguales o diferentes entre sí, comprendidos entre 0 y 20; e i es 0 ó 1; así como a un agregado nanotubo de carbono-glicolípido; a un procedimiento para su obtención así como al uso de los mismos en procesos que implican interacciones de carbohidratos con otras especies bioquímicas.



ES 2 329 218 B1

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 37.3.8 LP.

## DESCRIPCIÓN

Neoglicolípidos, sus agregados con nanotubos de carbono, procedimiento de obtención y aplicaciones.

5 **Campo de la invención**

La presente invención se enmarca dentro del campo de la bionanotecnología. Más específicamente, la presente invención pertenece al campo de los conjugados o agregados carbohidratos-nanotubos de carbono y sus aplicaciones en los procesos que impliquen interacciones de carbohidratos con otras especies bioquímicas o biológicas, como por ejemplo sus aplicaciones en el diagnóstico y en la terapia antiadhesiva.

10 **Antecedentes de la invención**

Al mirar una célula al microscopio electrónico, se observa que está cubierta por una densa capa formada por carbohidratos, unidos de manera covalente a proteínas (glicoproteínas) o lípidos (glicolípidos). Al conjunto de todas estas moléculas se le denomina glicocáliz, nombre de origen griego que significa "cáscara dulce".

Durante mucho tiempo se pensó que el papel del glicocáliz era meramente el de un agente de protección de las células frente a agentes externos mediante interacciones repulsivas. Sin embargo, datos recientes indican que la parte glucídica del glicocáliz juega un papel preponderante en el proceso de comunicación de la célula con el medio que la rodea (C. R. Bertozzi, L. L. Kiessling, *Science* 2001, 291, 2357). El reconocimiento de carbohidratos por sus receptores biológicos específicos (lectinas) está implicado en procesos biológicos y patológicos diversos, tales como la replicación vírica, el reconocimiento célula-célula, la adhesión celular, la inflamación, la transducción de señales bioquímicas, la adhesión de agentes patógenos, la metástasis tumoral y como marcadores del progreso de varias enfermedades. A modo de ejemplo, las células neuronales utilizan los carbohidratos para facilitar su desarrollo y su diferenciación; el progreso de las células cancerosas generalmente se caracteriza por un incremento de procesos de adhesión dependientes de carbohidratos y por un incremento de los carbohidratos en la superficie celular; los virus reconocen carbohidratos para tener entrada en la célula huésped; y las bacterias utilizan los carbohidratos para adherirse a la célula huésped [R. Kleene, M. Schachner *Nat. Rev. Neurosci.* 2004, 5, 195-208; S. Hakomori, K. Handa, *FEBS Lett.* 2002, 531, 88-92; A. E. Smith, A. Helenius, *Science* 2004, 304, 237-242; K. A. Karlson, *Biochem. Soc. Trans.* 1999, 27, 471-474].

La importancia del papel biológico de los carbohidratos, descubierto recientemente, ha desencadenado un esfuerzo multidisciplinar para el entendimiento de la estructura, la función y el mecanismo de reconocimiento de los hidratos de carbono por las lectinas a nivel molecular. Debido a que la primera interacción de un patógeno con una célula huésped está mediada por la interacción lectina-carbohidratos, su inhibición constituye una excelente herramienta para luchar contra la infección viral y bacteriana. El desarrollo de terapias antiadhesivas a base de carbohidratos, llevaría a glicofármacos para el tratamiento de enfermedades víricas tan importantes como el SIDA, o al desarrollo de antibióticos de nueva generación, entre otros. Sin embargo, existen dos limitaciones fundamentales para el desarrollo de glicofármacos:

(i) La alta complejidad de los hidratos de carbono. Comparados con los otros tipos de biopolímeros, los ácidos nucleicos y las proteínas, que tienen una disposición lineal de unidades repetidas, los azúcares tienen muchos sitios de unión en diferentes disposiciones, dando lugar a estructuras muy ramificadas y ricas estereoquímicamente.

(ii) Las bajas afinidades de la interacción carbohidratos-lectinas, que a menudo están en el rango micromolar o incluso milimolar.

Sin embargo, en los sistemas biológicos la presentación multivalente de los glicoligandos da lugar a asociaciones efectivas, que muestran una alta especificidad (efecto cluster) [L.L. Kiessling, J.E. Gestwicki, L.E. Strong, *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2000, 4, 696-703]. La dificultad en disponer de carbohidratos de origen natural, asociada a la imposibilidad de su clonación, ha impulsado el desarrollo de diversos modelos de sistemas polivalentes. Los glicoconjugados sintéticos presentan la ventaja de permitir la modificación del número y la disposición de los elementos de reconocimiento. Las investigaciones llevadas a cabo hasta la fecha, han puesto de manifiesto que los ligandos multivalentes presentan a menudo una afinidad aparente respecto al receptor muy superior a la del correspondiente ligando monovalente [M. Mammen, S.K. Choi, G.M. Whitesides, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1998, 37, 2755-2794]. Los multiconjugados desarrollados hasta la fecha pueden clasificarse en dos grupos: (i) sistemas modelo de baja valencia y (ii) sistemas modelo de alta valencia.

Los sistemas modelo de baja valencia, tienen carácter molecular y permiten típicamente la incorporación de dos a veinte ligandos. Entre estos sistemas, se incluyen glicoclusteres, glicodendrimeros y derivados de macrociclos conformacionalmente rígidos como calixarenos, ciclopéptidos, éteres corona y ciclodextrinas.

Los llamados sistemas de alta valencia, entre los que se encuentran los ejemplos que se presentan en esta invención, tienen un núcleo supramolecular o resultan de la organización supramolecular de monómeros monovalentes. Entre estos sistemas se encuentran las neoglicoproteínas, los neoglicopolímeros, los liposomas y las monocapas autoensambladas. El efecto cluster, antes comentado, ha impulsado el desarrollo de fármacos antiadhesivos multivalentes contra bacterias y virus mediante la presentación de glicoligandos sobre polímeros flexibles. [R. Autar, A. S. Khan,

M. Schad, J. Hacker, R. M. Liskamp, R. J. Pieters, *ChemBioChem*, 2003, 4, 1317-1325; N. Nagahori, R.T. Lee, S. Nishimura, D. Page, R. Roy, Y.C. Lee, *ChemBioChem*, 2002, 3, 836-844; J.D. Reuter, A. Myc, M.M. Hayes, Z. Gan, R. Roy, D. Qin, R. Yin, L.T. Piehler, R. Esfand, D.A. Tomalia, J.R. Baker, *Bioconjug. Chem.* 1999, 10, 271-278; S.K. Choi, M. Mammen, G.M. Whitesides *J. Am. Chem. Soc.* 1999, 119, 4103-4111; G.B. Sigal, M. Mammen, G. Dahmann, G.M. Whitesides, *J. Am. Chem. Soc.* 1996, 118, 3789-3800]. En el campo de la nanotecnología cabe destacar el uso de las nanopartículas de oro como plataforma multivalente para el estudio de las interacciones carbohidratos-carbohidratos y carbohidratos-proteínas. [J. M. de la Fuente, A. G. Barrientos, T. C. Rojas, J. Rojo, J. Cañada, A. Fernández, S. Penadés, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2001, 40, 2257-2261; H. Otsuka, Y. Akiyama, Y. Kagasaki, K. Kataoka, *J. Am. Chem. Soc.* 2001, 123, 8226-8230; C.-C. Lin, Y.-C. Yeh, C.-Y. Yang, C.-L. Chen, G. F. Chen, C.-C. Chen, Y.-C. Wu, *J. Am. Chem. Soc.* 2002, 124, 3508-3509; B. Nolting, J.-J. Yu, G.-Y. Liu, S.-J. Cho, S. Kauzlarich, C. Gervay-Hague, *Langmuir* 2003, 19, 6465-6473]. Adicionalmente, existen dispositivos sensibles a la presencia de patógenos que utilizan asociaciones multivalentes para el reconocimiento [D.H. Charych, J.O. Nagy, W. Spevak, M.D. Bednarski, *Science* 1993, 261, 585-588; Z.F. Ma, J.R. Li, M.H. Liu, J. Cao, Z.Y. Zou, J. Tu, L. Jiang, *J. Am. Chem. Soc.* 1998, 120, 12678-12679; M.D. Disney, J. Zhang, T.M. Swager, P.H. Seeberger, *J. Am. Chem. Soc.* 2004, 126, 13343-13346].

Por otro lado, productos secundarios de la síntesis de fulerenos, los nanotubos de carbono (NTCs ó CNTs) fueron descubiertos en 1991 por el microscopista japonés S. Iijima de la sociedad NEC Corporation en Japón [S. Iijima, *Nature* 1991, 354, 56-58]. Después del grafito, el diamante y los fulerenos, los nanotubos de carbono representan la cuarta forma alotrópica del carbono. Los nanotubos multi-capas o MWNT (“multi wall nanotube”) están constituidos por varias capas de grafito enrolladas de forma concéntrica formando capas cilíndricas con diámetros de 4-30 nm según el número de cilindros, y longitudes que pueden llegar hasta 10  $\mu\text{m}$ . Las paredes de los nanotubos están constituidas por hexágonos de carbono con hibridación  $\text{sp}^2$  y las capas cilíndricas de carbono están separadas una distancia de 3.44 Å. Dos años más tarde, el equipo de NEC Corporation de Japón y de IBM de EEUU descubrieron un segundo tipo de nanotubos con la particularidad de estar constituidos por una única capa de grafito [S. Iijima, T. Ichihashi, *Nature* 1993, 363, 603]. Los nanotubos de carbono mono-capa o SWNT (“single wall nanotube”) tienen generalmente diámetros de 1 a 1.5 nm y varios  $\mu\text{m}$  de longitud. A diferencia de los MWNT, los SWNT no se pueden aislar, porque la mayoría se encuentra bajo la forma de paquetes de cilindros debido a interacciones de van der Waals (interacción hidrófobas) muy fuertes entre los diferentes tubos. Los NTCs se presentan bajo diferentes formas que se pueden clasificar en tres tipos según el enrollamiento de la capa de grafito más externa: (a) tipo “sillón” (“Armchair”), representa los nanotubos que tienen dos lados del hexágono perpendicular al eje del tubo. (b) tipo “zigzag”, representa los nanotubos que tienen dos lados del hexágono paralelo al eje del tubo. (c) tipo “quiral”, representa todos los intermedios entre los dos tipos anteriores.

Los NTCs son productos sintéticos, y los tres métodos más importantes para su preparación son: (i) el método del arco eléctrico, (b) el método de ablación láser y (iii) el método de deposición química de vapor.

Desde su descubrimiento, los nanotubos han despertado un enorme interés en los científicos. Prueba de ello es el número de publicaciones que han aparecido en los últimos cinco años y que superan los 10.000 artículos. El interés de los NTCs se basa en sus excepcionales propiedades mecánicas. Los NTCs son seis veces más ligeros que el acero, pero cien veces más resistentes. Su capacidad para deformarse sin romperse, bajo una acción mecánica, es también destacable: experimentos de dinámica molecular han mostrado que los nanotubos de carbono poseen módulos de Young (relación entre la tracción o la compresión que se ejerce sobre los nanotubos y la elongación o acortamiento que resulta de ello) excepcionalmente elevados. Aunque estructuralmente relacionados con el grafito, los nanotubos de carbono han mostrado propiedades electrónicas y magnéticas sorprendentes. Estudios teóricos, que recientemente han sido confirmados experimentalmente, han mostrado que los NTCs presentan diferentes características magnéticas y electrónicas dependiendo de su estructura. Su peculiar fluorescencia en la zona del infrarrojo cercano puede utilizarse para fabricar sensores biológicos y para tratar el cáncer. En este sentido, varios grupos han mostrado recientemente que los NTCs pueden penetrar en el interior de las células, sugiriendo su posible uso como vehículos para el transporte de “cargamentos” biológicamente activos [P. Cherukhi, S. M. Bachillo, S. H. Litovsky, R. B. Weisman, *J. Am. Chem. Soc.* 2004, 126, 15638; N. W. S. Kam, M. O’Connell, J. A. Wisdom, H. J. Dai, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2005, 102, 11600; N. W. S. Kam, T. C. Jessop, P. A. Wender, J. Dai, *J. Am. Chem. Soc.* 2004, 126, 15638; N. W. S. Kam, J. Dai, *J. Am. Chem. Soc.* 2005, 127, 6021; D. Pantarotto, R. Singh, D. McCarthy, M. Erhart, J. P. Briand, M. Prato, K. Kostarelos, A. Bianco, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2004, 43, 5242].

Sin embargo, a pesar de su enorme potencialidad, el uso de los NTCs en biología y biomedicina ha sido relativamente escaso hasta la fecha actual. Esto es debido fundamentalmente a la baja solubilidad de los NTCs en la mayoría de los disolventes en general y concretamente en agua, el medio biológico por excelencia.

A pesar de los esfuerzos realizados para entender la estructura, la función y el mecanismo de reconocimiento celular de los hidratos de carbono presentes en las membranas celulares todavía no ha sido descrito un modelo de glicocálix celular con una presentación multivalente de glicolípidos organizados alrededor de nanotubos de carbono.

### Breve descripción de la invención

Los autores de la presente invención han encontrado que compuestos de tipo glicolípido, constituidos por un carbohidrato unido a una cadena policarbonada y polioxigenada que contiene una función diacetilénica, son capaces de autorganizarse en forma de anillos alrededor de nanotubos de carbono, y de formar polímeros estables mediante la acción de irradiación de luz ultravioleta sobre el glicolípido de partida, debido a la presencia de la función diacetilénica.

## ES 2 329 218 B1

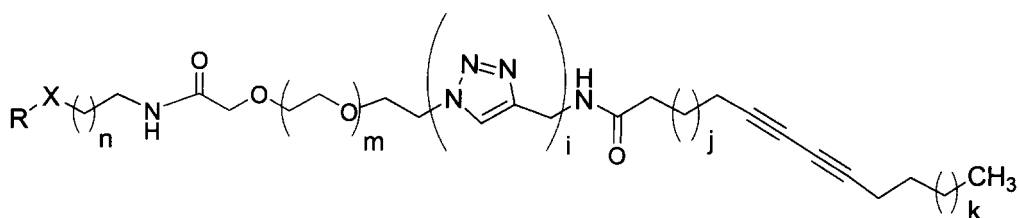
Se forman así lo que se ha denominado agregados glicolípido-nanotubo de carbono. El empleo de estos glicolípidos supone una forma de presentación de los carbohidratos sobre un material nanométrico semiflexible capaz de adaptar su estructura a las moléculas biológicas con las que puede interactuar, por lo que resultarían muy útiles en biomedicina, tanto como agentes de diagnóstico como terapéuticos.

Esta presentación es mucho más ventajosa que en los sistemas modelo de presentación multivalente de carbohidratos descritos en la técnica. Además, como ventaja adicional, los agregados descritos son solubles en muchos disolventes orgánicos así como en agua. El hecho de que sean solubles en agua permite presentar a los carbohidratos en sus conformaciones naturales. Por otra parte, al encontrarse los nanotubos de carbono funcionalizados con los glicolípidos, aquéllos carecen de toxicidad.

Los autores de la invención han conseguido además separar los anillos de glicolípidos polimerizados que rodean los nanotubos, obteniendo así lo que han denominado gliconanosomas (GNS).

Debido al elevado número de procesos en los que están implicados los carbohidratos de las membranas celulares tanto los agregados de neoglicolípidos-nanotubos de carbono como los gliconanosomas tienen un gran número de aplicaciones en biomedicina.

Así, un primer aspecto de la invención se dirige a un glicolípido de fórmula general I:



en la que

R es un carbohidrato seleccionado entre mono-, di- y polisacárido;

X es oxígeno, azufre,  $-\text{CH}_2-$  o  $-\text{NH}-$ ;

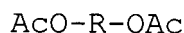
n, m, j y k son números enteros, iguales o diferentes, comprendidos entre 0 y 20; e

i es 0 ó 1.

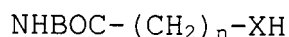
Un segundo aspecto de la invención se dirige a un procedimiento para la obtención de un glicolípido de fórmula I, que comprende:

- para la obtención de un compuesto de fórmula I en el que  $i = 0$ :

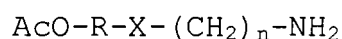
(1) hacer reaccionar un carbohidrato peracetilado de fórmula



donde R tiene el significado previamente mencionado, con un compuesto de fórmula



donde X y n tienen los significados previamente mencionados, para obtener un compuesto de fórmula general IV



**IV**

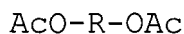
donde R, X y n tienen los significados previamente mencionados,



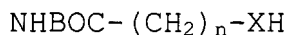
## ES 2 329 218 B1

• para la obtención de un compuesto de fórmula I en el que  $i = 1$ :

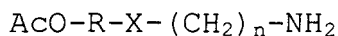
(1) hacer reaccionar un carbohidrato peracetilado de fórmula



donde R tiene el significado previamente mencionado, con un compuesto de fórmula



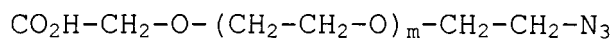
donde X y n tienen los significados previamente mencionados, para obtener un compuesto de fórmula general IV



**IV**

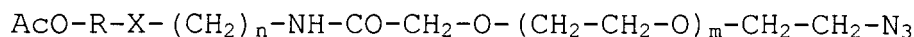
donde R, X y n tienen los significados previamente mencionados,

(2) hacer reaccionar el compuesto obtenido en la etapa (1) con un ácido de fórmula general V



**V**

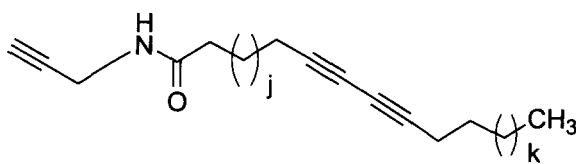
donde m tiene el significado previamente mencionado, en presencia de un agente deshidratante, en un disolvente orgánico para dar un compuesto de fórmula general VI



**VI**

donde R, X, m y n tienen los significados previamente mencionados,

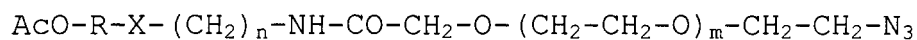
(3) hacer reaccionar un ácido carboxílico de fórmula general VIII, con propargilamina en un disolvente orgánico en presencia de un agente deshidratante para formar un compuesto de fórmula general X



**X**

donde j y k tienen los significados previamente mencionados,

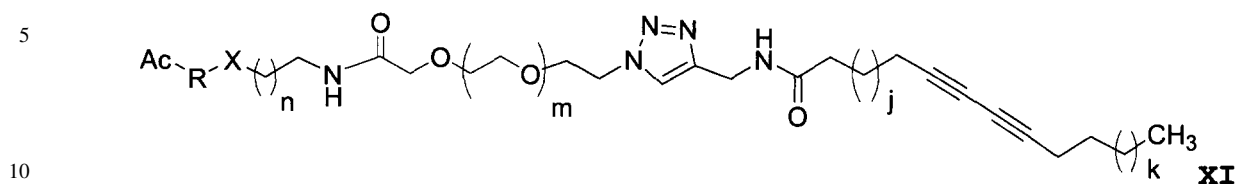
(4) acoplar el compuesto de fórmula general VI



**VI**

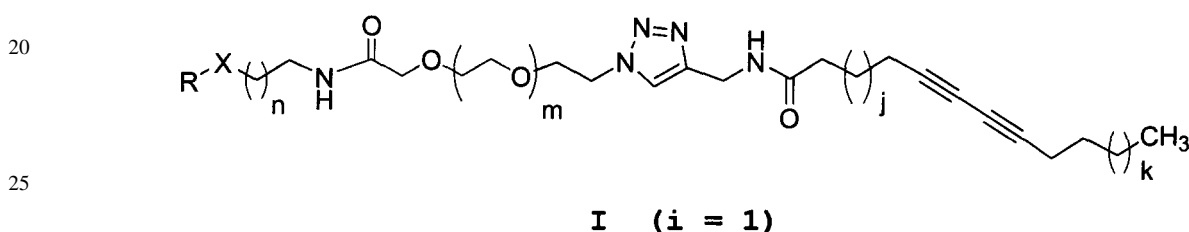
## ES 2 329 218 B1

donde R, X, m y n tienen los significados previamente mencionados, con un compuesto de fórmula X, mediante una cicloadición 1,3-dipolar, para dar un compuesto de fórmula general XI



donde R, X, j, k, m y n tienen los significados previamente mencionados, y

15 (5) hacer reaccionar dicho compuesto de fórmula XI con metilato sódico en metanol y posterior purificación para obtener el compuesto de fórmula I (i = 1)



donde R, X, j, k, m y n tienen los significados previamente mencionados.

Otro aspecto de la invención se dirige a un agregado supramolecular que comprende nanotubos de carbono y un compuesto de fórmula (I) como se ha definido previamente.

Asimismo, constituye otro aspecto de la invención un procedimiento para la preparación de un agregado supramolecular como se ha definido anteriormente que comprende:

- a) mezclar una suspensión de nanotubos de carbono con un compuesto de fórmula I, en agua, y sonicar la mezcla durante el tiempo necesario para obtener un agregado formado por nanotubos de carbono alrededor de los cuales se ubica el compuesto de fórmula (I);
- b) centrifugar la mezcla obtenida en la etapa a) con el fin de eliminar los nanotubos que no presentan compuestos de fórmula I organizados a su alrededor;
- c) irradiar con luz ultra-violeta la solución obtenida en la etapa b) para polimerizar el compuesto de fórmula (I), de manera que dicho compuesto polimerizado se ubica en forma de anillos alrededor de los nanotubos de carbono; y
- d) dializar contra agua desionizada la solución obtenida en la etapa c) con el fin de eliminar los glicolípidos y/o las micelas derivadas de los mismos que no se encuentran en contacto con los nanotubos.

En un aspecto adicional la invención se refiere a un agregado supramolecular obtenible según el procedimiento descrito anteriormente.

Otro aspecto de la invención lo constituye un procedimiento para producir un gliconanosoma que comprende retirar los anillos de compuestos de fórmula I polimerizados que rodean los nanotubos obtenidos según el procedimiento anteriormente definido.

En otro aspecto, la invención se dirige a un gliconanosoma obtenible según el procedimiento definido en el párrafo anterior.

La invención se refiere además a un agregado supramolecular como se ha definido anteriormente para su uso como medicamento.

Asimismo, la invención se dirige al uso de un agregado supramolecular como se ha definido anteriormente para la preparación de un medicamento dirigido al tratamiento de enfermedades y/o condiciones que cursan con interacciones mediadas por carbohidratos.

En particular, el uso del agregado supramolecular es para la preparación de un medicamento dirigido al tratamiento de infecciones bacterianas, infecciones virales, procesos inflamatorios, cáncer o disfunciones en la respuesta inmune durante el trasplante de tejidos.

5 En otro aspecto adicional, la presente invención se dirige a un kit para la determinación del grupo sanguíneo que comprende un agregado supramolecular como se ha definido previamente.

En otro aspecto, la invención se refiere a una vacuna que comprende un agregado supramolecular como se ha definido previamente y un antígeno.

10 Asimismo, la invención se refiere a un método para la determinación de la presencia en un medio de una sustancia capaz de interactuar con un carbohidrato, que comprende:

- 15 a) poner en contacto un agregado supramolecular como se ha definido anteriormente con la sustancia de tal manera que la sustancia se pueda asociar al carbohidrato; y
- b) determinar si la asociación tiene lugar o no.
- 20 c) Un último aspecto de la invención lo constituye el uso de un gliconanosoma como se ha definido previamente como vector de una molécula biológicamente activa.

### Breve descripción de las figuras

25 Figura 1.- Representación esquemática del glicocálix y de los agregados glicolípidos-nanotubos de carbono de la invención.

Figura 2.- Preparación de los gliconanosomas a partir de los agregados glicolípidos-nanotubos de carbono.

30 Figura 3.- Imagen de Microscopio Electrónico de Transmisión de los NTCs rodeados del glicolípidio 1 sin polimerizar.

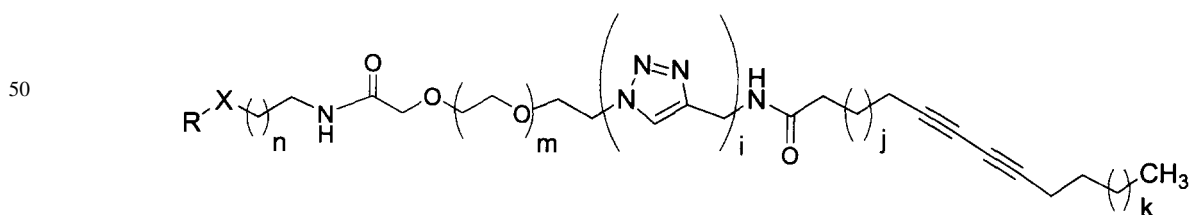
Figura 4.- Foto de Microscopio Eleetrónico de Transmisión de los NTCs rodeados del glicolípidio 1 polimerizado.

35 Figura 5.- Fotos de las suspensiones acuosas de los agregados: nanotubos de carbono-glicolípidio 1 sin polimerizar y nanotubos de carbono-glicolípidio 1 polimerizado, después de tres meses.

### Descripción detallada de la invención

#### 40 Glicolípidos

En el contexto de la presente invención, el término “glicolípidio” o “neoglicolípidio” se refiere a un compuesto constituido por un carbohidrato unido covalentemente a una cadena policarbonada y polioxigenada que contiene una función diacetilénica, y que presenta la siguiente fórmula general (I):



I

en la que

60 R es un carbohidrato seleccionado entre mono-, di- y polisacárido;

X es oxígeno, azufre, -CH<sub>2</sub>- o -NH-;

65 n, m, j y k son números enteros, iguales o diferentes, comprendidos entre 0 y 20; e

i es 0 ó 1.



## ES 2 329 218 B1

Los compuestos de fórmula (I) son fotopolimerizables, es decir, pueden formar polímeros mediante la acción de irradiación de luz ultra-violeta debido a la presencia de los grupos acetilénicos.

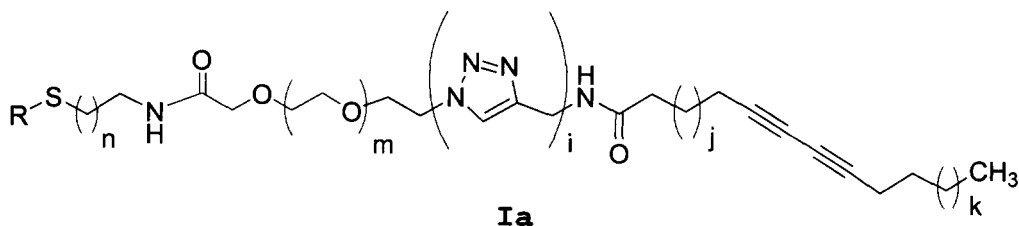
Mediante el término carbohidrato se hace referencia en la presente invención a un compuesto orgánico de fórmula general  $(CH_2O)_n$ , en la cual n está comprendido entre 4 y 40, seleccionado entre monosacáridos, disacáridos y polisacáridos, preferentemente monosacáridos.

No obstante, entre estos compuestos están también incluidos dentro del alcance de la invención derivados de carbohidratos como por ejemplo aquellos carbohidratos que presentan un carbono oxidado a ácido carboxílico y los desoxiazúcares, que son azúcares que presentan uno o más grupos hidroxilo reducidos, estando opcionalmente estos grupos hidroxilo independientemente sustituidos por otros grupos como puede ser un grupo amino o un grupo tioéter. En un aspecto particular, los carbohidratos son los 1-desoxiazúcares, en donde el hidroxilo del carbono anomérico del extremo reductor está sustituido por otro heteroátomo (S, N), o por un átomo de carbono, con sus correspondientes valencias ocupadas.

En una realización particular los carbohidratos de la invención se seleccionan entre el siguiente grupo: 1-desoxiglucosa, 1-desoxigalactosa, 1-desoxiarabinosa, 1-desoximannosa, 1-desoxi-N-acetil-galactosamina, 1-desoxixilosa, 1-desoximaltosa, 1-desoxilactosa, 1-desoxi-N-acetil-galactosamina- $\beta$ -1,3-galactosa, más preferentemente 1-desoxigalactosa, 1-desoxiglucosa, 1-desoximannosa y 1-desoxilactosa.

En otra realización particular el sacárido existe en forma acetálica. En otra realización particular, el grupo OH puede estar o no protegido como éster o como éter.

Una realización preferente de la invención lo constituye un compuesto de fórmula (I) en el cual X es un átomo de azufre dando lugar al compuesto de fórmula general Ia:



donde

n, m, j y k son números enteros, iguales o diferentes, comprendidos entre 0 y 20; e

i es 0 ó 1.

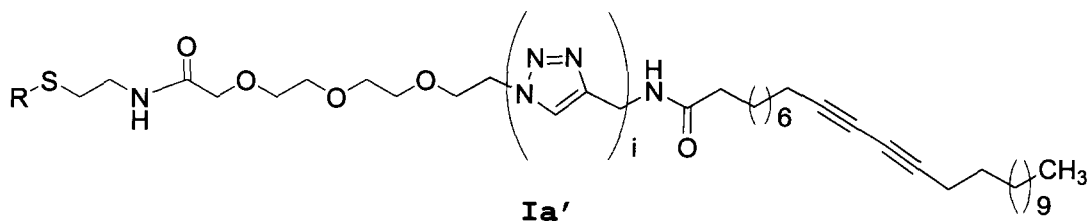
En una realización particular, n está comprendido entre 1 y 10, preferentemente entre 1 y 5, más preferentemente es 2.

En otra realización particular, m está comprendido entre 1 y 10, preferentemente entre 1 y 5, más preferentemente es 2.

En otra realización particular, j está comprendido entre 1 y 10, preferentemente entre 5 y 10, más preferentemente es 6.

En otra realización particular, k está comprendido entre 1 y 15, preferentemente entre 5 y 15, más preferentemente es 9.

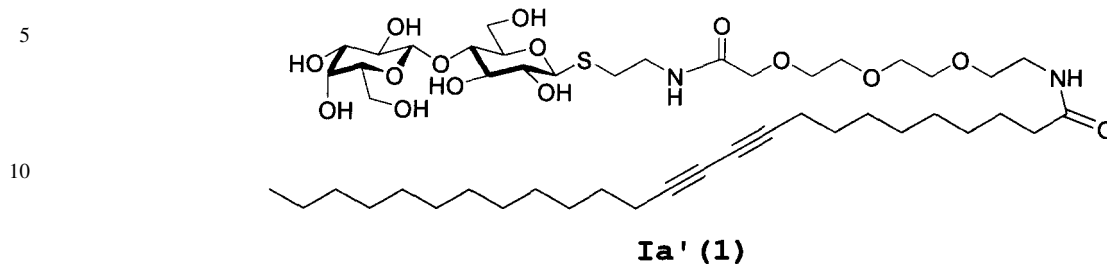
En una realización aún más preferente, n es 2, m es 2, j es 6 y k es 9, dando lugar al compuesto de fórmula general Ia':



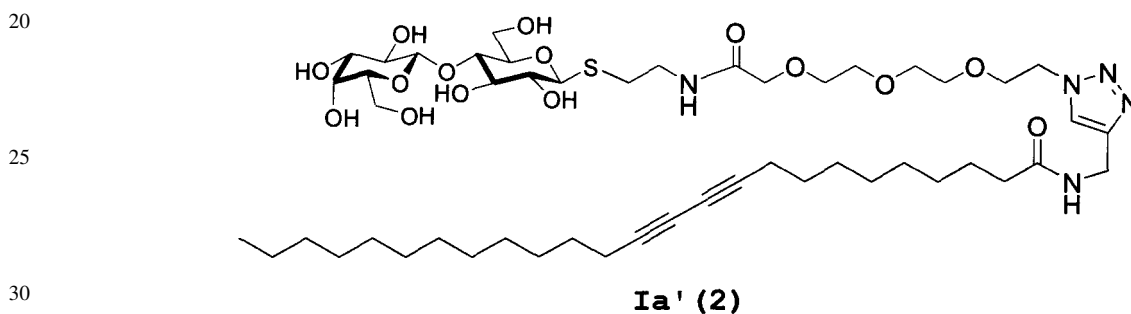
donde i es 0 ó 1.

## ES 2 329 218 B1

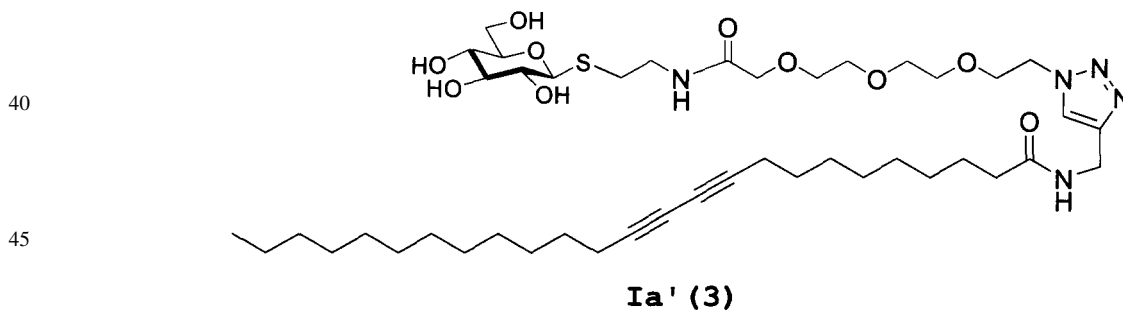
Una realización aún más preferente de la invención lo constituye el compuesto de fórmula (Ia') en el que i es igual a 0 y R es 1-desoxilactosa, dando lugar al compuesto de fórmula Ia'(1):



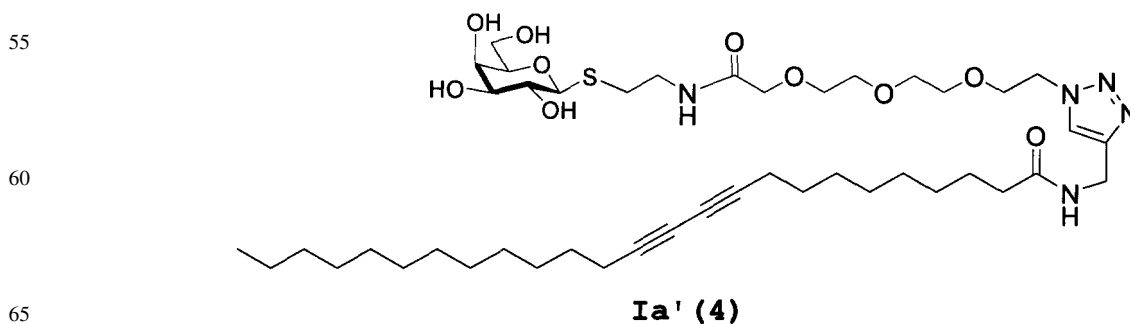
Otra realización aún más preferente de la invención lo constituye el compuesto de fórmula (Ia') en el que i es igual a 1 y R es 1-desoxilactosa, dando lugar al compuesto de fórmula Ia'(2):



Otra realización aún más preferente de la invención lo constituye el compuesto de fórmula (Ia') en el que i es igual a 1 y R es 1-desoxiglucosa, dando lugar al compuesto de fórmula Ia'(3):

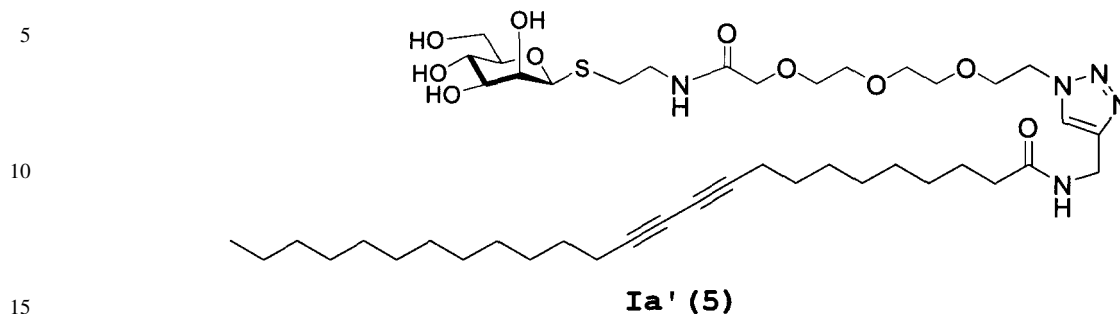


Otra realización aún más preferente de la invención lo constituye el compuesto de fórmula (Ia') en el que i es igual a 1 y R es 1-desoxigalactosa, dando lugar al compuesto de fórmula Ia'(4):



## ES 2 329 218 B1

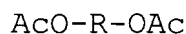
Otra realización aún más preferente de la invención lo constituye el compuesto de fórmula (Ia') en el que i es igual a 1 y R es 1-desoximanososa, dando lugar al compuesto de fórmula Ia'(5):



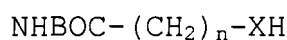
20 Constituye un segundo aspecto de la presente invención un procedimiento de preparación de un compuesto de fórmula (I), en adelante procedimiento de preparación de glicolípidos de la invención, que comprende las siguientes etapas:

- para la obtención de un compuesto de fórmula I en el que  $i = 0$ :

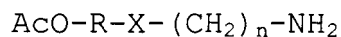
25 (1) hacer reaccionar un carbohidrato peracetilado de fórmula



30 donde R tiene el significado previamente mencionado, con un compuesto de fórmula



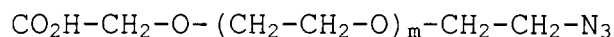
35 donde X y n tienen los significados previamente mencionados, para obtener un compuesto de fórmula general IV



40 **IV**

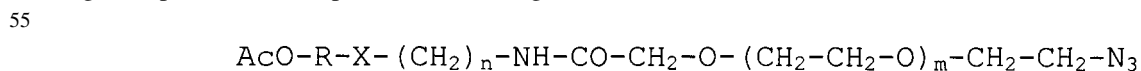
donde R, X y n tienen los significados previamente mencionados,

45 (2) hacer reaccionar el compuesto obtenido en la etapa (1) con un ácido de fórmula general V



50 **V**

donde m tiene el significado previamente mencionado, en presencia de un agente deshidratante, en un disolvente orgánico para dar un compuesto de fórmula general VI



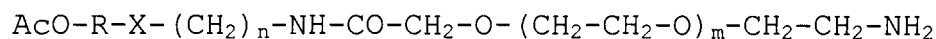
**VI**

60 donde R, X, m y n tienen los significados previamente mencionados,

65

## ES 2 329 218 B1

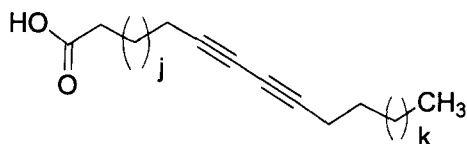
(3) reducir el compuesto de fórmula VI con un agente reductor selectivo de la función azida para dar una amina de fórmula VII



**VII**

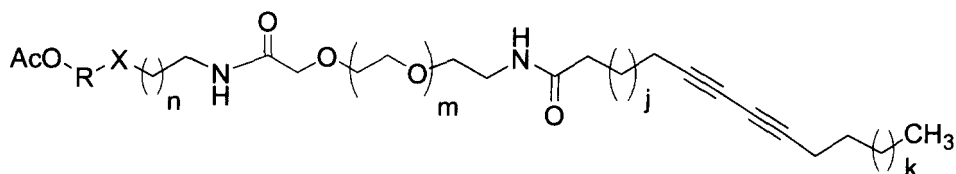
donde R, X, m y n tienen los significados previamente mencionados,

(4) hacer reaccionar el compuesto VII con un ácido carboxílico de fórmula general VIII



**VIII**

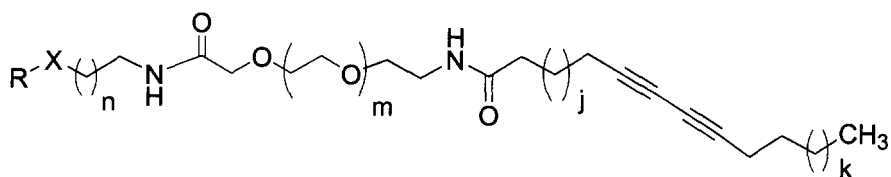
donde j y k tienen los significados previamente mencionados, en presencia de un agente deshidratante para rendir un compuesto de fórmula general IX



**IX**

donde R, X, j, k, m y n tienen los significados previamente mencionados,

(5) hacer reaccionar el compuesto IX con metilato sódico en metanol y posterior purificación del compuesto de fórmula I (i = 0)

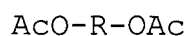


**I (i = 0)**

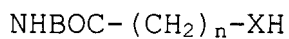
donde R, X, j, k, m y n tienen los significados previamente mencionados,

• para la obtención de un compuesto de fórmula I en el que i = 1:

(1) hacer reaccionar un carbohidrato peracetilado de fórmula

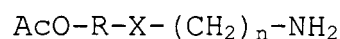


donde R tiene el significado previamente mencionado, con un compuesto de fórmula



## ES 2 329 218 B1

donde X y n tienen los significados previamente mencionados, para obtener un compuesto de fórmula general IV



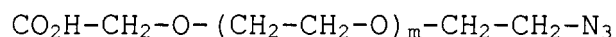
5

**IV**

donde R, X y n tienen los significados previamente mencionados,

10

(2) hacer reaccionar el compuesto obtenido en la etapa (1) con un ácido de fórmula general V

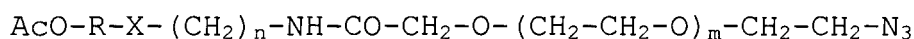


15

**V**

donde m tiene el significado previamente mencionado, en presencia de un agente deshidratante, en un disolvente orgánico para dar un compuesto de fórmula general VI

20



25

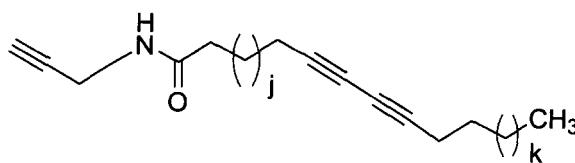
**VI**

donde R, X, m y n tienen los significados previamente mencionados,

30

(3) hacer reaccionar un ácido carboxílico de fórmula general VIII, con propargilamina en un disolvente orgánico en presencia de un agente deshidratante para formar un compuesto de fórmula general X

35



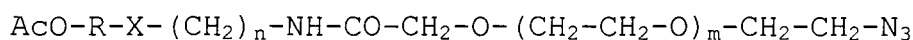
40

**X**

donde j y k tienen los significados previamente mencionados,

45

(4) acoplar el compuesto de fórmula general VI

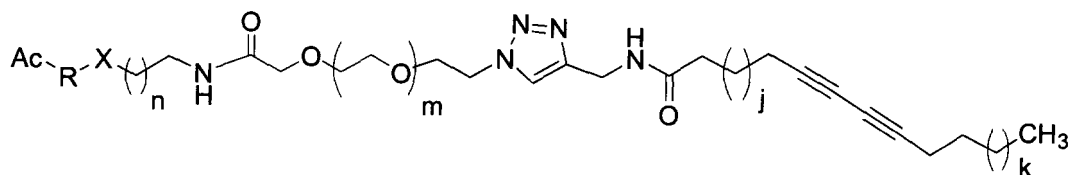


50

**VI**

donde R, X, m y n tienen los significados previamente mencionados, con un compuesto de fórmula X, mediante una cicloadición 1,3-dipolar, para dar un compuesto de fórmula general XI

55



60

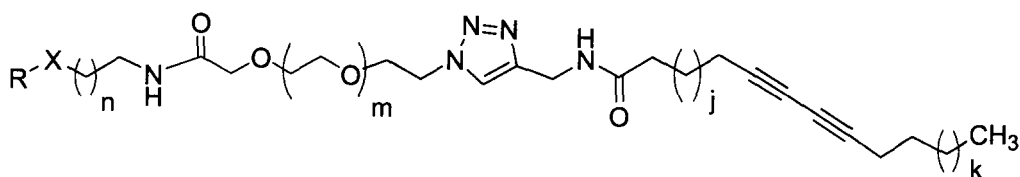
**XI**

65

donde R, X, j, k, m y n tienen los significados previamente mencionados, y

## ES 2 329 218 B1

(5) hacer reaccionar dicho compuesto de fórmula XI con metilato sódico en metanol y posterior purificación para obtener el compuesto de fórmula I ( $i = 1$ )



**I** ( $i = 1$ )

donde R, X, j, k, m y n tienen los significados previamente mencionados.

Como agente deshidratante se puede utilizar cualquier agente deshidratante conocido por un experto en el estado de la técnica, no obstante se prefiere el uso de tetrafluoroborato de O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio (TBTU).

Por su parte, como agente reductor se puede emplear cualquier compuesto que permita reducir un grupo azida a un grupo amina. En un aspecto particular, se prefiere el uso de trifenilfosfina (PPh<sub>3</sub>)

Como disolventes orgánicos se prefiere el uso de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, DMSO, DMF o THF.

### *Agregados glicolípido-nanotubo de carbono*

Por el término “agregado supramolecular” se entiende en la presente invención una estructura formada por un nanotubo de carbono alrededor del cual se ubican en forma de anillos, glicolípidos de fórmula (I) polimerizados. El nanotubo y el glicolípido se encuentran unidos de manera específica no covalente mediante una interacción hidrófoba. Este agregado nanométrico es un biomaterial estable útil como modelo de presentación multivalente de carbohidratos. En la Figura 1 se muestra una representación esquemática de los agregados de la invención.

En una realización particular el nanotubo de carbono del agregado supramolecular de la invención se selecciona entre nanotubo monocapa o multicapa y tiene estructura “zig-zag”, “quiral” o “sillón”.

Otro aspecto de la invención lo constituye el procedimiento de obtención del agregado supramolecular de la invención que comprende las siguientes etapas:

- mezclar una suspensión de nanotubos de carbono con un compuesto de fórmula I, en agua, y sonicar la mezcla durante el tiempo necesario hasta que el compuesto de fórmula (I) se ubica alrededor de los nanotubos de carbono formando un agregado;
- centrifugar la mezcla obtenida en la etapa a) con el fin de eliminar los nanotubos que no presentan compuestos de fórmula I organizados a su alrededor;
- irradiar con luz ultravioleta la solución obtenida en la etapa b) para polimerizar el compuesto de fórmula (I), de manera que dicho compuesto polimerizado se ubica en forma de anillos alrededor de los nanotubos de carbono; y
- dializar contra agua desionizada la solución obtenida en la etapa c) con el fin de eliminar los glicolípidos y o las micelas derivadas de los mismos que no se encuentran en contacto con los nanotubos.

Para la realización de la etapa a) no es necesario el empleo de disolución tampón ni la adición de detergentes. Por otra parte, para establecer el tiempo necesario de sonicación, se puede observar si se ha llevado a cabo la solubilización de los nanotubos de carbono en agua, indicativo de la formación de agregados estables, si no ocurriese esto, los nanotubos de carbono terminarían precipitando. En una realización preferente, dicho tiempo de sonicación está alrededor de 30 minutos. Durante esta etapa, los glicolípidos se preorganizan en una forma hemimicelar alrededor de los tubos de carbono.

La etapa de centrifugación se puede realizar por cualquier técnica de centrifugación conocido en la técnica.

Por su parte, la etapa c) de polimerización de los glicolípidos supone la irradiación sobre los mismos de luz ultravioleta durante el tiempo necesario para permitir la polimerización de dichos glicolípidos. En una realización preferente, el tiempo necesario para polimerizar el glicolípido con luz ultravioleta se encuentra entorno a las 12 horas. Esta etapa de polimerización provoca que los glicolípidos que se encontraban preorganizadas en forma hemimicelar alrededor del nanotubo, se polimericen organizándose en forma de anillos alrededor del mismo.

Tal como se muestra en el ejemplo 18, la polimerización de los glicolípidos ha permitido obtener agregados muy estables, cuya estructura permanece durante al menos 3 meses.

#### *Gliconosomas*

En el contexto de la presente invención, por el término “gliconosoma” se entiende una estructura en forma de anillo constituida por glicolípidos de fórmula (I) polimerizados, obtenida a partir del agregado supramolecular glicolípido-nanotubo de carbono mediante la separación del nanotubo de carbono. El gliconosoma es hidrófobo en su cavidad interna e hidrofílico en su parte externa.

En la Figura 2 se muestra un esquema de la preparación de los gliconosomas a partir de los agregados glicolípido-nanotubo de carbono.

La separación o proceso de deslizar los anillos de glicolípidos polimerizados fuera del nanotubo de carbono puede llevarse a cabo por diferentes métodos del estado de la técnica. Por ejemplo, cuando los carbohidratos de la cadena glicolípídica están cargados se aplica un campo eléctrico, utilizando como técnica de separación la electroforesis.

Los gliconosomas obtenidos constituyen un nuevo modelo de glicocálix con una presentación multivalente de carbohidratos que presentan ventajas biológicas importantes para su aplicación en biomedicina.

#### *Usos de los agregados y los gliconosomas*

Otro aspecto de la invención lo constituye la aplicación biológica de los agregados nanotubos de carbono-glicolípidos y de los gliconosomas, como resultado de la presentación multivalente de los hidratos de carbono en su capa externa, así como aquellas derivadas de sus características estructurales.

En lo relacionado con las primeras de estas actividades, constituye un aspecto de esta invención el uso de los agregados supramoleculares en la preparación de un medicamento. Dichos agregados sirven como agentes terapéuticos y de diagnóstico en procesos relacionados con interacciones mediadas por carbohidratos.

En la literatura están descritas varias interacciones mediadas por carbohidratos cuyo estudio y modulación podría llevarse a cabo mediante los agregados descritos en esta invención. Entre estas interacciones se encuentran: la adhesión de los leucocitos a las células endoteliales, la interacción carbohidratos-anticuerpo, interacción carbohidrato-proteína de la cual resulta una infección bacteria o vírica, el reconocimiento inmunológico de las células tumorales, adhesión de las células tumorales a las células endoteliales en los procesos de metástasis de cáncer e interacciones que conllevan el rechazo de un tejido trasplantado.

Por lo tanto, en un aspecto adicional la presente invención se dirige al uso de un agregado supramolecular nanotubo de carbono-glicolípido como se ha definido previamente para la preparación de un medicamento dirigido al tratamiento de enfermedades y/o condiciones que cursan con interacciones mediadas por carbohidratos. En una realización preferida de la invención, dado que el agregado supramolecular puede presentar múltiples copias de carbohidrato, se pueden tratar enfermedades que cursan con interacciones multivalentes.

En un aspecto particular de la invención, la enfermedad y/o condición se selecciona entre infecciones bacterianas, infecciones virales, procesos inflamatorios, cáncer y disfunciones en la respuesta inmune durante el trasplante de tejidos.

Por lo que se refiere al tratamiento de infecciones bacterianas, los agregados supramoleculares de la presente invención suponen una nueva familia de antibióticos de nueva generación. Es conocido en la literatura que la amplia y creciente resistencia de las bacterias a los antibióticos constituye una de las problemáticas sanitarias más serias y global. Debido a que la interacción o la infección de la bacteria a las células sanas empieza mediante una interacción con los carbohidratos de la membrana celular, el bloqueo o la inhibición de esta interacción por parte de los agregados de la invención permitiría el bloqueo de la actividad bacteriana. Por otra parte, debido a que esta interacción tiene lugar en la superficie de las bacterias, difícilmente estas podrían desarrollar una resistencia contra una terapia antiadhesiva basada en los hidratos de carbono.

Un ejemplo de infección bacteriana mediada por carbohidratos es la infección producida por la bacteria *Helicobacter pylori* responsable de las gastritis crónica aguda, la úlcera gástrica y duodenal, la aparición del adenocarcinoma gástrico y del linfoma de la mucosa-asociada al tejido linfoide en humanos. Teniendo en cuenta que la adhesión de la *H. pylori* a las células sanas tiene lugar mediante una interacción multivalente con carbohidratos de tipo antígeno Lewis<sup>b</sup>, de oligosacáridos sililados y de los oligosacáridos sulfatados de la glicoproteína mucina, el empleo de agregados supramoleculares en los cuales el glicolípido contenga los oligosacáridos capaces de bloquear estas interacciones adhesivas, permitiría tratar los desordenes mencionados.

Por otra parte, ejemplos de infecciones virales mediadas por hidratos de carbono incluyen el virus de la gripe (influenza) que infecta las células a través de interacciones multivalentes de la hemaglutinina de la superficie viral con el ácido siálico terminal de los glicoconjugados del huésped. Así la inhibición de estas interacciones puede impedir la infección gripal.

La infección del virus del SIDA constituye otro ejemplo de infección viral implicando carbohidratos. El HIV-1 infecta las células sanas mediante la interacción con la galactosilceramida (GalCer) del huésped con la proteína gp 120 del virus. Así una presentación multivalente de un análogo de la GalCer sobre los nanotubos de carbono podría inhibir la interacción celular GalCer y el HIV-1.

Otra aplicación de los agregados supramoleculares de la presente invención, consiste en modular el proceso de inflamación. En particular, los miembros de la familia de las selectinas participan en los procesos iniciales de adhesión de los leucocitos a las células endoteliales durante el proceso de inflamación. Una vez que se produce la inflamación, los neutrófilos transportados se adhieren a la superficie celular del endotelio y empiezan a rodar lentamente. Este movimiento se produce por interacción entre selectinas E y P de la superficie celular de las células endoteliales y glicoproteínas que llevan sialil-Le<sup>x</sup> presentes en el neutrófilo. Por lo tanto, el bloqueo de dichas interacciones por parte de los agregados de la invención permitiría modular el proceso de inflamación.

Datos recogidos en la literatura dirigidos hacia el uso de la selectinas como diana terapéutica han puesto de manifiesto que las tres familias de selectinas conocidas reconocen, aunque con baja afinidad, al tetrasacárido sialil-Lewis X (SLe<sup>x</sup>), ya sea sialilado o fucosilado. Las aproximaciones desarrolladas en la literatura adolecen de una baja afinidad en la interacción selectina-SLe<sup>x</sup> y de que las interacciones de las células que expresan selectinas son polivalentes. En este sentido, la presente invención que propone una presentación polivalente de carbohidratos, constituye una excelente solución para el tratamiento de las inflamaciones mediante la presentación multivalente y controlada de los ligandos de las selectinas.

Como aplicación adicional, los agregados de la presente invención resultan de interés para el control de la respuesta inmune, como por ejemplo en los procesos de trasplantes. Como el reconocimiento inmunológico de un tejido se inicia por la interacción de los carbohidratos presentes en el tejido transplantado y de los componentes del sistema inmune del huésped como los anticuerpos, esta interacción podría constituir una buena diana para mejorar la respuesta inmunológica del huésped. A título de ejemplo, se ha comprobado que el oligosacárido Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-4GlcNac (llamado epítipo  $\alpha$ Gal) constituye un epítipo antigénico importante en el proceso de rechazo de tejidos trasplantados. Así la intervención o el control de la interacción del epítipo  $\alpha$ Gal con el sistema inmune del huésped puede constituir una buena diana terapéutica y mejorar así el trasplante de tejidos.

Una aplicación alternativa es el tratamiento del cáncer, debido a que muchos antígenos de tumores y muchos factores autocrinos de tumores están basados sobre carbohidratos. En este contexto, los agregados neoglicolípidos-nanotubos de carbono pueden funcionar como vacunas induciendo al sistema inmune a producir anticuerpos capaces de atacar los carbohidratos presentes a la superficie de las células cancerosas. En este sentido, esta recogido en la literatura que las células cancerosas se caracterizan por la síntesis de un gran número de carbohidratos aberrantes en su superficie, que pueden servir para el desarrollo de un mecanismo para la activación del sistema inmune contra las mismas células cancerosas. Otra aplicación de los agregados en el tratamiento del cáncer consiste en inhibir su metástasis, por ej. inhibiendo la migración de las células tumorales a través de las células endoteliales.

En un aspecto adicional, la presente invención se dirige al uso de los agregados supramoleculares nanotubo de carbono-glicolípidos para la determinación del grupo sanguíneo en un individuo. En otro aspecto, la presente invención se refiere a un kit para la determinación del grupo sanguíneo en un individuo que comprende un agregado supramolecular nanotubo de carbono-glicolípidos como se ha definido en la presente memoria descriptiva.

En otro aspecto adicional, la invención hace referencia a una vacuna que comprende el agregado supramolecular nanotubo de carbono-glicolípidos y un antígeno. El ligando que queda asociado al agregado actúa de antígeno.

Una aplicación adicional de los agregados de la invención es para la catálisis en la síntesis de anticuerpos por un organismo huésped. Lo cual es de suma importancia dado que los carbohidratos carecen por lo general de poder antigénico.

Los agregados supramoleculares de la presente invención también pueden ser utilizados para la determinación de la presencia en un medio de una sustancia capaz de interactuar con un carbohidrato. En este sentido el método para la determinación de la presencia de dicha sustancia consiste en: (i) poner en contacto el agregado y la sustancia de tal manera que se pueda producir la asociación entre ambos y (ii) determinar si la asociación ha tenido o no lugar. A este método se puede implementar una etapa de correlacionar la presencia o ausencia de asociación con el diagnóstico de un estado patológico provocado por la sustancia.

Un ejemplo de utilización de los agregados de la presente invención como sistema de determinación de sustancias es la detección de los anticuerpos anti carbohidratos.

Otra posible aplicación de los agregados de esta invención es la detección de una especie cuando reconoce uno de los epítomos presente en los agregados. Los lípidos poliméricos en los agregados glicolípidos-nanotubo de carbono así como en los gliconanosomas tienen la característica de cambiar de color bajo una acción mecánica (mecanocromismo), o térmica (termocromismo) o cualquier otro estrés exterior. Esta característica puede aplicarse para utilizar estos agregados con fines de diagnóstico.



A modo de ejemplo, la contaminación alimenticia por la bacteria enterohemorrágica *Escherichia coli* es una de las causas más frecuentes en los estallidos de infecciones bacterianas con serias consecuencias para la salud humana. Por otra parte los métodos de detección y de control de los alimentos en la actualidad se caracterizan por su lentitud y baja eficacia. Teniendo en cuenta que la infección de la bacteria *E coli* tiene lugar tras una interacción multivalente de la misma con manosas en la superficie celular, los agregados de esta invención constituyen una excelente herramienta para su detección.

Por otra parte, debido al incremento producido en el amplio espectro de resistencia de ciertos patógenos a los medicamentos, existe actualmente el temor a que el tiempo transcurrido desde el momento en que un agente infeccioso ha sido detectado hasta la determinación de su perfil de multiresistencia, ya es demasiado tarde para el paciente. Como para todas las enfermedades graves -incluyendo el cáncer y el ataque al corazón- un diagnóstico temprano constituye la llave que decide muchas veces entre la vida o la muerte.

Muchos patógenos y toxinas comienzan sus ataques a las células sanas a través de un reconocimiento proteín-carbohidratos. Teniendo una plétora de agregados con diferentes carbohidratos específicos para cada patógeno y cada toxina, se dispone de una herramienta muy eficiente para un diagnóstico rápido de las citadas infecciones.

Otras aplicaciones importantes de la presente invención son aquellas derivadas de la estructura de los gliconanosomas. Como se ha indicado anteriormente, las estructuras en forma de anillo formadas por glicolípidos polimerizados en la superficie del nanotubo de carbono y separadas posteriormente de dichos nanotubos, son hidrófobas en su cavidad interna e hidrófila en su parte externa. Constituyen por lo tanto vehículos interesantes para la solubilización y el transporte de moléculas biológicamente activas, hidrófobas no hidrosolubles en medio acuoso. Teniendo en cuenta la presencia de glicoligandos en su superficie, se puede por lo tanto transportar selectivamente las moléculas hidrófobas hacia aquellas células o tejidos que poseen en su superficie los receptores adecuados de dichos glicoligandos. Por tanto, en un aspecto adicional la presente invención se dirige al uso de un gliconanosoma como el definido anteriormente como vector para el transporte inteligente de moléculas biológicamente activas.

El término "molécula biológicamente activa" se refiere a cualquier sustancia que se utiliza en el tratamiento, cura, prevención o diagnóstico de una enfermedad o que se utiliza para mejorar el bienestar físico y mental de seres humanos y animales. Según la presente invención, dichas moléculas tendrán un marcado carácter hidrófobo. Estas moléculas pueden incluir polisacáridos, proteínas, péptidos, lípidos, oligonucleótidos, polinucleótidos, ácidos nucleicos y mezclas de los mismos.

Otra posible aplicación de los gliconanosomas es su uso para la solubilización y estabilización de proteínas membranas. Utilizando neoglicolípidos de tamaño adecuado se pueden generar gliconanosomas con estructuras semejantes a una bicapa lipídica capaces de emular la membrana celular. En presencia de los gliconanosomas la parte hidrófoba de las proteínas membranas se introduce en su cavidad hidrófoba. El complejo gliconanosoma/proteína membrana se solubiliza en agua sin necesidad de detergentes que pueden dañar o alterar la estructura activa de la proteína.

## Ejemplos de la invención

### Abreviaturas

BOC: *tert*-butoxicarbonil

ccf: cromatografía en capa fina

DIPEA: diisopropiletilamina

DMAP: 4-dimetilaminopiridina

DMF: dimetilformamida

THF: tetrahidrofurano

TBTU: tetrafluoroborato de O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio.

### Métodos generales

El seguimiento de las reacciones se ha llevado a cabo por cromatografía en capa fina, empleando cromatoplasmas de gel de sílice soportada sobre aluminio Alugram®SiL.G/V<sub>245</sub> Merck de 0.25 mm de espesor. El análisis de las placas se ha llevado a cabo en una lámpara de UV de  $\lambda=254$  nm mediante revelado con ácido fosfomolibdico, ácido sulfúrico o vainillina.

Los disolventes anhidros empleados en las reacciones han sido secados según el procedimiento descrito en la bibliografía. El tetrahidrofurano (THF) y el dietil éter (Et<sub>2</sub>O) fueron destilados bajo argón sobre sodio/benzofenona y el diclorometano (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) sobre CaH<sub>2</sub>.

## ES 2 329 218 B1

La purificación y separación de los compuestos obtenidos se ha llevado a cabo generalmente en columna cromatográfica bajo presión, utilizando como fase estacionaria gel de sílice Merck 60 A (tamaño de poro 40-63  $\mu\text{m}$ ). En cada caso se indica el eluyente empleado.

5 Los poderes rotatorios  $[\alpha]_D^{20}$  se han determinado a temperatura ambiente, utilizando una celda de 10 cm de longitud. El polarímetro utilizado es *Perkin Elmer* 341MC, y se ha empleado la línea D del sodio ( $\lambda=589$  nm).

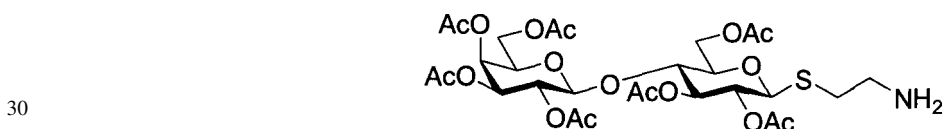
10 Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear ( $^1\text{H}$ -RMN y  $^{13}\text{C}$ -RMN) se han registrado en los espectrómetros *Bruker DRX-300* (300 MHz), *DPX-400* (400 MHz) y *DRX-500* (500 MHz), empleando como disolvente  $\text{CDCl}_3$  si no se indica lo contrario. En cada caso se indican los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) en la escala de ppm (usando TMS como referencia), el número de protones (calculados por integración), el valor de las constantes de acoplamiento  $J$  (Hz) y la asignación estructural de las señales. Las abreviaturas empleadas para indicar la multiplicidad de las señales son: s (singlete), d (doblete), t (tripleto), dd (doble doblete), m (multiplete), sa (singlete ancho).

15 Los espectros de masas (EM) fueron realizados por el Servicio de Espectrometría de Masas de la Universidad de Sevilla en un espectrómetro *Kratos MS-80-RFA* y en un espectrómetro de masas *Micromass* modelo *AutoSpec*.

20 Los estudios de microscopía electrónica han sido realizados en la Universidad Louis Pasteur de Estrasburgo y en el Centro de Investigación, Tecnología e Innovación (CITIUS) de la Universidad de Sevilla, utilizando un microscopio electrónico de transmisión (PHILIPS CM-200).

### Ejemplo 1

25 (2-Aminoetil)-2,2',3,3',4',6,6'-hepta-O-acetil-1-tio- $\beta$ -lactósido (IV-A)



35 A una disolución de octaacetato de lactosa (2 mmol, 1.35 g) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anhidro (10 mL), bajo atmósfera de argón y con agitación, se le añadió el *N*-BOC-cisteamina (500  $\mu\text{L}$ , 2.96 mmol) y  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  (700  $\mu\text{L}$ , 3.90 mmol). La reacción se calentó a reflujo a 70°C durante 24 horas. El disolvente se evaporó a presión reducida, y el crudo obtenido se purificó mediante cromatografía en columna usando  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  (9:1), obteniéndose IV-A con un 73% (1.12 g) de rendimiento.

Sólido.  $R_f = 0.38$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  9:1);  $[\alpha]_D = +11.56$  (c 0.4,  $\text{CHCl}_3$ );

40  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ [ppm] 6.65 (sa, H,  $\text{NH}_2$ ), 5.30 (d, 1 H,  $J_{4',3'} = 2.7$  Hz, H-4'), 5.16 (t, 1 H,  $J_{2,3} = 9.17$  Hz, H-2), 5.05 (t, 1 H,  $J_{2,3'} = 10.0$  Hz, H-2'), 4.92 (dd, 1 H,  $J_{3,2'} = 10.0$  Hz,  $J_{3,4'} = 3.4$  Hz, H-3'), 4.88 (t, 1 H,  $J_{3,2} = 9.7$  Hz, H-3), 4.54 (d, 1 H,  $J_{6a,6b} = 12$  Hz, H-6a), 4.53 (d, 1 H,  $J_{1,2'} = 6.3$  Hz, H-1'), 4.50 (d, 1 H,  $J_{1,2} = 10.0$  Hz, H-1), 4.07 (m, 3 H, H-6b, H-6'), 3.85 (t, 1 H,  $J_{5,6'} = 6.6$  Hz, H-5'), 3.77 (t, 1 H,  $J_{4,3} = 9.5$  Hz, H-4), 3.63 (m, 1 H, H-5), 3.40 (m, 2 H,  $\text{CH}_2\text{NH}_2$ ), 2.90 (dt, 1 H,  $^2J_{\text{SCHCH}'} = 13.6$  Hz,  $^3J_{\text{SCHCH}_2} = 5.5$  Hz, SCH), 2.77 (dt, 1 H,  $^2J_{\text{SCHCH}'} = 13.6$  Hz,  $^3J_{\text{SCHCH}_2} = 5.8$  Hz, SCH'), 2.1 (s, 3 H,  $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 2.09 (s, 3 H,  $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 2.02 (s, 3 H,  $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 2.01 (2 s, 6 H,  $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 2.00 (s, 3 H,  $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 1.92 (s, 3 H,  $\text{CH}_3\text{CO}$ ).

50  $^{13}\text{C}$  RMN (125.7 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ [ppm] 170.5-169.0 (7 CO), 101.0 (C1'), 83.8 (C1), 77.0 (C5), 75.9 (C4), 73.6 (C2), 70.9 (C3'), 70.7 (C5'), 70.1 (C3), 69.1 (C2'), 66.6 (C4'), 61.9 (C6), 60.8 (C6'), 41.4 ( $\text{CNH}_3^+$ ), 33.2 ( $\text{SCH}_2$ ), 20.9-20.4 (7  $\text{CH}_3$ ).

EMAR para  $\text{C}_{28}\text{H}_{41}\text{NO}_{17}\text{SNa}$ : calculado 718.199291 [ $\text{M}+\text{Na}$ ], encontrado 718.198562 (1.0 ppm).

55 (2-Aminoetil)-2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-tio- $\beta$ -D-glucopiranosido (IV-B)



65 A una disolución de pentaacetato de glucosa (2 mmol, 783 mg) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anhidro (10 mL), bajo atmósfera de argón y con agitación, se le añade *N*-BOC-cisteamina (500  $\mu\text{L}$ , 2.96 mmol) y  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  (700  $\mu\text{L}$ , 3.90 mmol), se calienta la reacción a reflujo a 70°C durante 24 horas, siguiendo la reacción por cromatografía en capa fina. Se concentra el crudo de reacción y se purifica mediante cromatografía en columna usando  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  (9:1), obteniéndose IV-B con un 92% (879 mg) de rendimiento.

## ES 2 329 218 B1

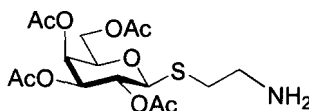
Sólido.  $R_f = 0.30$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  9:1);  $[\alpha]_D = +16.06$  (c 1.0,  $\text{CHCl}_3$ );

$^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ [ppm] 6.58 (sa, 2 H,  $\text{NH}_2$ ), 5.23 (t, 1 H,  $J_{4,3} = 9.4$  Hz, H-4), 5.13 (t, 1 H,  $J_{2,3} = 9.7$  Hz, H-2), 5.01 (t, 1 H,  $J_{3,4} = 9.6$  Hz, H-3), 4.64 (d, 1 H,  $J_{1,2} = 10.1$  Hz, H-1), 4.38 (d, 1 H,  $J_{6a,6b} = 11.9$  Hz, H-6a), 4.12 (dd, 1 H,  $J_{6b,6a} = 12.7$  Hz,  $J_{6b,5} = 3.9$  Hz, H-6b), 3.88 (d, 1 H,  $J_{5,6b} = 9.3$  Hz, H-5), 3.4-3.3 (2 m, 2 H,  $\text{CH}_2\text{NH}_2$ ), 3.16 (m, 1 H,  $\text{SCH}$ ), 2.95 (m, 1 H,  $\text{SCH}$ ), 2.10-2.0 (4 s, 12 H, 4  $\text{CH}_3$ ).

$^{13}\text{C}$  RMN (125.7 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ [ppm] 171.9-169.6 (4 CO), 83.7 (C1), 76.0 (C5), 73.5 (C3), 69.4 (C4), 67.9 (C2), 61.7 (C6), 41.3 ( $\text{CH}_2\text{NH}_2$ ), 28.2 ( $\text{SCH}_2$ ), 20.7-20.6 (4  $\text{CH}_3$ ).

EMAR para  $\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{NO}_9\text{SNa}$ : calculado 430.114773 [M+Na], encontrado 430.113567 (2.8 ppm).

(2-Aminoetil)-2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-tio- $\beta$ -D-galactopiranosido (IV-C)



A una disolución de pentaacetato de galactosa (2 mmol, 783 mg) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anhidro (10 mL), bajo atmósfera de argón y con agitación, se le añade *N*-BOC-cisteamina (500  $\mu\text{L}$ , 2.96 mmol) y  $\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$  (700  $\mu\text{L}$ , 3.90 mmol), se calienta la reacción a reflujo a 70°C durante 24 horas. El disolvente se elimina por presión reducida y el crudo de reacción obtenido se purifica mediante cromatografía en columna usando  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  (9:1), obteniéndose IV-C con un 93% (883 mg) de rendimiento.

Sólido.  $R_f = 0.39$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  9:1);  $[\alpha]_D = +7.56$  (c 0.4,  $\text{CHCl}_3$ );

$^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ [ppm] 6.58 (sa, 2 H,  $\text{NH}_2$ ), 5.45 (d, 1 H,  $J_{4,3} = 3.0$  Hz, H-4), 5.22 (t, 1 H,  $J_{2,3} = 10.0$  Hz, H-2), 5.07 (dd, 1 H,  $J_{3,2} = 10.0$  Hz,  $J_{3,4} = 3.1$  Hz, H-3), 4.59 (d, 1 H,  $J_{1,2} = 10.0$  Hz, H-1), 4.25 (m, 1 H, H-6a), 4.08 (m, 2 H, H-5, H-6b), 3.37 (m, 2 H,  $\text{CH}_2\text{NH}_2$ ), 3.19 (m, 1 H,  $\text{SCH}$ ), 2.95 (m, 1 H,  $\text{SCH}'$ ), 2.17-2.0 (4 s, 12 H, 4  $\text{CH}_3$ ).

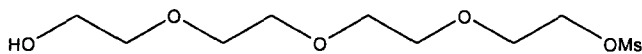
$^{13}\text{C}$  RMN (125.7 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ [ppm] 171.5-169.9 (4 CO), 83.8 (C1), 75.0 (C5), 71.6 (C3), 67.2 (C4), 66.5 (C2), 61.5 (C6), 40.9 ( $\text{CH}_2\text{NH}_2$ ), 27.9 ( $\text{SCH}_2$ ), 20.7-20.5 (4  $\text{CH}_3$ ).

EMAR para  $\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{NO}_9\text{SNa}$ : calculado 430.114773 [M+Na], encontrado 430.114188 (1.4 ppm).

### Ejemplo 2

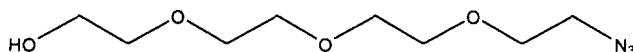
Síntesis del espaciador (V-A)

Metanosulfonato de 11-hidroxi-3,6,9-trioxaundecanilo



Se adiciona gota a gota cloruro de mesilo (3.87 mL, 50.0 mmol) sobre una solución de tetraetilenglicol (22.66 mL, 140 mmol) a 0°C en THF anhidro (100 mL) y  $\text{NEt}_3$  anhidra (15 mL). Una vez terminada la adición se lleva a temperatura ambiente y se deja toda la noche. El disolvente se evapora a presión reducida el crudo del producto obtenido se pone en la reacción siguiente sin purificar.

11-Azido-3,6,9-trioxaundecanol



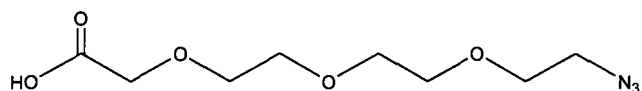
Se disuelve el crudo obtenido en el paso anterior en EtOH (100 mL), se le añade azida sódica (6.50 g, 100 mmol) y se calienta a reflujo durante toda la noche. Se elimina el disolvente a presión reducida y se purifica el crudo obtenido mediante cromatografía en columna usando como eluyentes AcOEt/Hex (1:1),  $R_f = 0.18$  obteniendo 7.48 g (Rto. 30%) del producto deseado cuyas características físicas corresponden al producto descrito en la literatura.

## ES 2 329 218 B1

$^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ [ppm] 3.58 (t, 2 H,  $^3J_{\text{CH}_2\text{CH}_2} = 4.8$  Hz,  $\text{HOCH}_2\text{CH}_2$ ), 3.53 (m, 10 H, 5  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 3.46 (t, 2 H,  $^3J_{\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_3} = 4.8$  Hz,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$ ), 3.26 (t, 2 H,  $^3J_{\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_3} = 4.8$  Hz,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$ ), 3.1 (sa, 1 H, OH).

$^{13}\text{C}$  RMN (125.7 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ [ppm] 72.5 ( $\text{HOCCO}$ ), 70.6-69.9 (CO), 61.5 (COH), 50.5 ( $\text{CN}_3$ ).

### Ácido 11-azido-3,6,9-trioxaundecanoico (V-A)



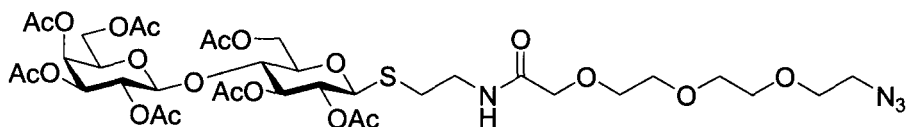
A una disolución de 13 (1.17 g, 5.33 mmol) en acetona (100 mL) se le añade el reactivo de Jones (16 mL) a temperatura ambiente y se deja agitar durante toda la noche. Al día siguiente se observa un precipitado verde, que corresponde al óxido de cromo (IV). Cuando la reacción ha terminado se le añade isopropanol (15 mL), para neutralizar el exceso del reactivo de Jones, y se deja agitar una hora. Luego se añade carbón activo para eliminar las sustancias coloreadas y  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . A las 2 horas se filtra con celita y se evapora el disolvente a vacío. Obtenemos el compuesto V-A con un rendimiento cuantitativo.

$^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ [ppm] 8.70 (sa, 1 H, HOOC), 4.01 (m, 1 H,  $\text{HOOCCH}_2$ ), 3.60 (m, 10 H,  $\text{HOCH}_2$ ), 3.29 (m, 2 H,  $\text{CH}_2\text{ON}_3$ ).

$^{13}\text{C}$  RMN (125.7 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ [ppm] 173.5 (CO), 70.9 ( $\text{HOOCCH}_2$ ), 70.4-70.2 (4  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 68.3 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$ ), 50.5 ( $\text{CN}_3$ ).

### Ejemplo 3

#### [14-Azido-4-oxo-6,9,12-trioxa-3-azatetradecanil] 2,2',3,3',4',6,6'-hepta-O-acetil-1-tio- $\beta$ -lactósido (VI-A)



A una disolución del compuesto IV-A (68 mg, 0.29 mmol), TBTU (93 mg, 0.29 mmol) y DIPEA (70  $\mu\text{L}$ , 0.43 mmol) en DMF anhidra (0.5 mL), bajo atmósfera de argón y agitación a temperatura ambiente, se añade a los 5 minutos una disolución del compuesto V-A (223 mg, 0.29 mmol) y DIPEA (70  $\mu\text{L}$ , 0.43 mmol) en DMF anhidra (1 mL). Se deja agitar la reacción a temperatura ambiente durante una noche. La reacción se sigue por cromatografía en capa fina, una vez terminada la reacción, se neutraliza con una disolución acuosa de  $\text{NaHCO}_3$  (20 mL), se extrae la fase acuosa con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 x 20 mL) y los extractos orgánicos reunidos se lavan con una disolución acuosa de  $\text{NaCl}$  (15 mL). Se seca sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, se filtra y se evapora el disolvente a vacío. La purificación se realiza mediante cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  (20:1), obteniéndose VI-A con un rendimiento del 85% (225 mg).

Aceite de color amarillo.  $R_f = 0.21$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  20:1);  $[\alpha]_D = -7.66$  (c 0.85,  $\text{CHCl}_3$ );

$^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ [ppm] 7.20 (t,  $^3J_{\text{CH}_2\text{NH}} = 1.1$  Hz,  $\text{NHCO}$ ), 5.33 (d, 1 H,  $J_{4',3'} = 2.4$  Hz, H-4'), 5.18 (t, 1 H,  $J_{2,3} = 9.2$  Hz, H-2), 5.08 (t, 1 H,  $J_{2',3'} = 10.0$  Hz, H-2'), 4.93 (m, 2 H, H-3', H-3), 4.50 (m, 3 H, H-1, H-1', H-6a), 4.1 (m, 3 H, H-6b, 6'), 3.98 (s, 2 H,  $\text{COCH}_2\text{O}$ ), 3.85 (t, 1 H,  $J_{5',6'} = 6.8$  Hz, H-5'), 3.77 (t, 1 H,  $J_{4,3} = 9.5$  Hz, H-4), 3.68 (s, 11 H, 5  $\text{CH}_2\text{O}$ , H-5), 3.50 (m, 2 H,  $\text{CH}_2\text{NH}$ ), 3.38 (t, 2 H,  $^3J_{\text{CH}_2\text{CH}_2} = 4.9$  Hz,  $\text{CH}_2\text{N}_3$ ), 2.88 (m, 1 H, SCH), 2.70 (m, 1 H, SCH'), 2.1-1.9 (7 s, 7  $\text{CH}_3\text{CO}$ ).

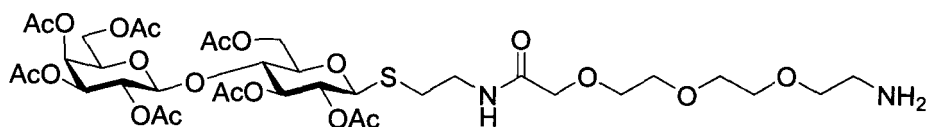
$^{13}\text{C}$  RMN (125.7 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ [ppm] 170.4-169.1 (8 CO), 101.1 ( $\text{C}1'$ ), 83.7 ( $\text{C}1$ ), 77.0 ( $\text{C}5$ ), 76.8 ( $\text{C}4$ ), 73.9 ( $\text{C}2$ ), 71.0 ( $\text{C}3'$ ), 70.7-70.3 ( $\text{C}5'$ ,  $\text{C}3$ , 5  $\text{CH}_2\text{O}$ ,  $\text{COCH}_2$ ), 69.1 ( $\text{C}2'$ ), 66.6 ( $\text{C}4'$ ), 62.1 ( $\text{C}6$ ), 60.8 ( $\text{C}6'$ ), 50.6 ( $\text{CN}_3$ ), 38.9 ( $\text{CH}_2\text{NH}$ ), 30.3 (SCH<sub>2</sub>), 20.8-20.4 (7  $\text{CH}_3$ ).

EMAR para  $\text{C}_{36}\text{H}_{54}\text{N}_4\text{O}_{21}\text{SNa}$ : calculado 933.289897 [ $\text{M}+\text{Na}$ ]<sup>+</sup>, encontrado 933.285373 (4.8 ppm).

## ES 2 329 218 B1

### Ejemplo 4

[14-Amino-4-oxo-6,9,12-trioxa-3-azatetradecanil] 2,2',3,3',4',6,6'-hepta-O-acetil-1-tio-β-lactósido (VII-A)



A una disolución de compuesto VI-A (103 mg, 0.113 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anhidro (3 mL), se le añade Ph<sub>3</sub>P (32.6 mg, 0.124 mmol) y se deja agitar 24 horas a temperatura ambiente. Se le añade 0.3 mL NH<sub>4</sub>OH (para romper el iminofosforano que se forma como intermedio) y se deja agitar una hora a temperatura ambiente. Se neutraliza con una disolución acuosa de NaHCO<sub>3</sub> (10 mL), se extrae la fase acuosa con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 20 mL) y los extractos orgánicos reunidos se lavan con una disolución acuosa de NaCl (15 mL). Se seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtra y se evapora el disolvente a vacío. La purificación se realiza mediante cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (2:1) 1% NEt<sub>3</sub>, obteniéndose VII-A con un rendimiento del 91% (91 mg).

Aceite de color amarillo. R<sub>f</sub> = 0.24 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 25:1); [α]<sub>D</sub> = -6.42 (c 0.4, CHCl<sub>3</sub>);

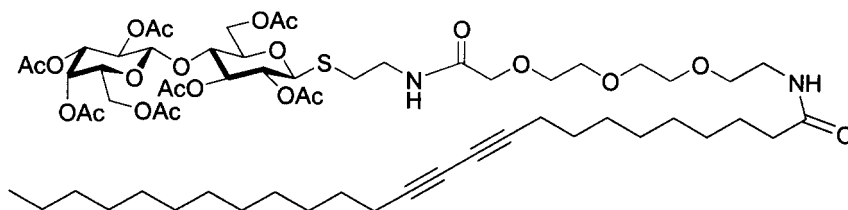
<sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ[ppm] 7.26 (m, 1 H, NHCO), 5.33 (d, 1 H, J<sub>4',3'</sub> = 2.7 Hz, H-4'), 5.16 (t, 1 H, J<sub>3,2</sub> = 9.2 Hz, H-2), 5.05 (t, 1 H, J<sub>2',3'</sub> = 10.2 Hz, H-2'), 4.93 (dd, 1 H, J<sub>3',2'</sub> = 10.4 Hz, J<sub>3',4'</sub> = 3.4 Hz, H-3'), 4.88 (t, 1 H, J<sub>3,4</sub> = 9.7 Hz, H-3), 4.50 (m, 3 H, H-1, H-1', H-6a), 4.38 (sa, 2 H, NH<sub>2</sub>), 4.1 (m, 3 H, H-6b, 6'), 3.98 (s, 2 H, COCH<sub>2</sub>O), 3.85 (t, 1 H, J<sub>5,6</sub> = 6.8 Hz, H-5'), 3.77 (t, 1 H, J<sub>4,3</sub> = 9.5 Hz, H-4), 3.63 (s, 11 H, 5 CH<sub>2</sub>O, H-5), 3.46 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>NH), 3.00 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 2.84 (m, 1 H, SCH), 2.69 (m, 1 H, SCH'), 2.1-1.9 (7 s, 7 CH<sub>3</sub>CO).

<sup>13</sup>C RMN (125.7 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ[ppm] 170.4-169.1 (8 CO), 101.1 (C1'), 83.6 (C1), 76.8 (C5), 76.06 (C4), 73.7 (C2), 70.9-70.0 (C5', C3', C3, 5 CH<sub>2</sub>O, COCH<sub>2</sub>), 69.2 (C2'), 66.7 (C4'), 62.1 (C6), 60.8 (C6'), 40.6 (CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 38.9 (CH<sub>2</sub>NH), 30.3 (SCH<sub>2</sub>), 20.8-20.4 (7 CH<sub>3</sub>).

EMAR para C<sub>36</sub>H<sub>56</sub>N<sub>4</sub>O<sub>21</sub>SNa: calculado 907.299399 [M+Na]<sup>+</sup>, encontrado 907.300858 (-1.6 ppm).

### Ejemplo 5

[4,16-Dioxo-6,9,12-trioxa-3,15-diaza-25,27-tetracontadiinil] 2,2',3,3',4',6,6'-hepta-O-acetil 1-tio-β-lactósido (IX-A)



A una disolución de VII-A (42.4 mg, 0.113 mmol), TBTU (40 mg, 0.12 mmol) y DIPEA (20 μL, 0.10 mmol) en DMF anhidra (0.5 mL), bajo atmósfera de argón, ausencia de luz y agitación a temperatura ambiente, se añade a los 5 minutos una disolución de VIII-A (100 mg, 0.113 mmol) y DIPEA (40 μL, 0.20 mmol) en DMF anhidra (1.0 mL). Se deja agitar a temperatura ambiente, la reacción termina a los 45 min., se neutraliza con una disolución acuosa de NaHCO<sub>3</sub> (20 mL), se extrae la fase acuosa con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 20 mL) y los extractos orgánicos reunidos se lavan con una disolución acuosa de NaCl (15 mL). Se seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtra y se evapora el disolvente a vacío. La purificación se realiza mediante cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes AcOEt/Hex (1:3), obteniéndose IX-A con un rendimiento del 70% (98 mg).

Sólido blanco. R<sub>f</sub> = 0.28 (AcOEt/Hex 1:1); [α]<sub>D</sub> = -5.6 (c 0.45, CHCl<sub>3</sub>);

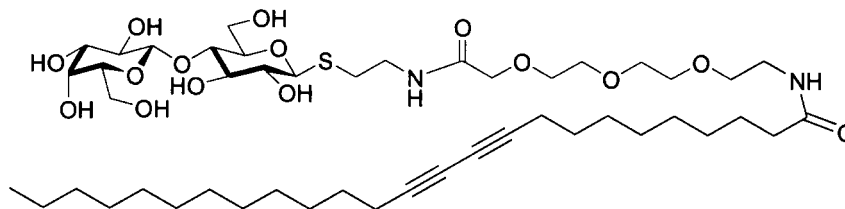
<sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ[ppm] 7.23 (m, 1 H, SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHCO), 6.26 (m, 1 H, NHCOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 5.33 (d, 1 H, J<sub>4,3</sub> = 2.9 Hz, H-4'), 5.19 (t, 1 H, J<sub>2,3</sub> = 9.2 Hz, H-2), 5.08 (t, 1 H, J<sub>2',3'</sub> = 10.2 Hz, H-2'), 4.95 (dd, 1 H, J<sub>3',2'</sub> = 10.3 Hz, J<sub>3',4'</sub> = 3.2 Hz, H-3'), 4.91 (t, 1 H, J<sub>3,2</sub> = 9.6 Hz, H-3), 4.50 (m, 3 H, H-1, H-1', H-6a), 4.10 (s, 2 H, COCH<sub>2</sub>O), 4.08 (m, 3 H, H-6', H-6b), 3.86 (m, 1 H, J<sub>5',6'</sub> = 6.6 Hz, H-5'), 3.77 (t, 1 H, J<sub>3,4</sub> = 9.4 Hz, H-4), 3.65 (m, 11 H, 5 CH<sub>2</sub>O, H-5), 3.53 (m, 2 H, 2 CHNHCO), 3.45 (m, 2 H, 2 CH<sub>2</sub>NHCO), 2.86 (m, 1 H, SCH), 2.72 (m, 1 H, SCH'), 2.21 (t, 4 H, <sup>3</sup>J<sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub></sub> = 6.9 Hz, 2 CH<sub>2</sub>C≡C), 2.15 (t, 2 H, <sup>3</sup>J<sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub></sub> = 7.6 Hz, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.10-1.90 (7 s, 7 CH<sub>3</sub>CO), 1.59 (m, 2 H, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.49 (t, 4 H, 2 CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C≡C), 1.3 (m, 26 H, 13 CH<sub>2</sub>), 0.86 (t, 3 H, <sup>3</sup>J<sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub></sub> = 6.5 Hz, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>).

<sup>13</sup>C RMN (125.7 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ[ppm] 173.5-169.0 (9 CO), 101.1 (C1'), 83.6 (C1), 77.6-77.4 (2 CH<sub>2</sub>C≡C), 76.9 (C5), 76.1 (C4), 73.7 (C2), 70.9-70.0 (C3', C5', C3, 5 CH<sub>2</sub>O, COCH<sub>2</sub>), 69.1 (C2'), 66.6 (C4'), 65.3, 65.2 (2 CH<sub>2</sub>C≡C), 62.1 (C6), 60.8 (C6'), 39.1 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 38.9 (SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 36.5 (NHCOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 31.9 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 30.4 (SCH<sub>2</sub>), 29.7-22.7 (15 CH<sub>2</sub>), 20.8-20.5 (7 CH<sub>3</sub>CO), 19.19, 19.18 (CH<sub>2</sub>C≡C), 14.1 (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>).

## ES 2 329 218 B1

### Ejemplo 6

#### *4,16-Dioxo-6,9,12-trioxa-3,15-diaza-25,27-tetracontadiinil]1-tio-β-lactósido (1)*



A una disolución de compuesto IX-A (98 mg, 0.079 mmol) en MeOH (1 mL) y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0.5 mL), a temperatura ambiente y en ausencia de luz, se le añade una disolución de NaOMe en MeOH 1 M (1 mL, 1 mmol). Tras agitar durante una hora, se neutraliza con amberlita [Ir-120 (plus) resina de intercambio iónico], se filtra y se elimina el disolvente a vacío. El producto obtenido se purifica mediante una columna Shephadex 20, usando como disolvente MeOH. Se obtiene 1 con un rendimiento del 75% (58 mg).

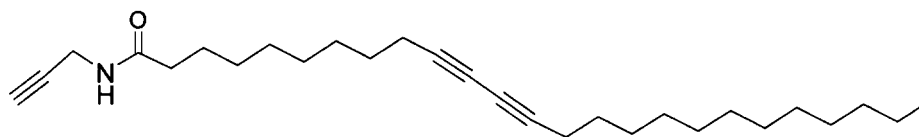
Sólido blanco.  $R_f = 0.4$  (CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O/NH<sub>4</sub>OH 6:1:1);  $[\alpha]_D = -2.38$  (c 0.84, MeOH);

<sup>1</sup>H RMN (500 MHz, MeOD):  $\delta$ [ppm] 8.36 (ta, 1 H, SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHCO), 8.08 (ta, 1 H, NHCOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 4.43 (d, 1 H,  $J_{1,2} = 9.8$  Hz, H-1), 4.35 (d, 1 H,  $J_{1',2'} = 7.6$  Hz, H-1'), 4.00 (m, 2 H, COCH<sub>2</sub>O), 3.99 (dd, 1 H,  $J_{6a,6b} = 12.2$  Hz,  $J_{6a,5} = 2.2$  Hz, H-6a), 3.82 (m, 2 H, H-4', H-6b), 3.75 (m, 1 H, H-6'a), 3.68 (m, 5 H, H-6b', 2 CH<sub>2</sub>O), 3.63 (m, 6 H, 3 CH<sub>2</sub>O), 3.55 (m, 2 H, H-5', H-4), 3.50 (m, 4 H, H-2', H-3', H-3, SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 3.47 (m, 1 H, H-5), 3.35 (m, 2 H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 3.27 (m, 1 H, H-2), 2.90 (m, 1 H, SCH), 2.78 (m, 1 H, SCH'), 2.25 (t, 4 H,  $^3J_{CH_2CH_2} = 6.9$  Hz, 2 CH<sub>2</sub>C≡C), 2.15 (t, 2 H,  $^3J_{CH_2CH_2} = 7.6$  Hz, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.60 (t, 2 H,  $^3J_{CH_2CH_2} = 7.0$  Hz, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.50 (m, 4 H, 2 CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C≡C), 1.35 (m, 26 H, 13 CH<sub>2</sub>), 0.90 (t, 3 H,  $^3J_{CH_2CH_3} = 6.5$  Hz, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>).

<sup>13</sup>C RMN (125.7 MHz, MeOD):  $\delta$ [ppm] 176.4, 172.9 (2 NHCO), 105.1 (C1'), 87.0 (C1), 80.6-80.4 (C5', C5), 77.9 (C3', 2 CH<sub>2</sub>C≡C), 77.1 (C4), 74.8 (C3), 74.1 (C2), 72.5-70.3 (6 CH<sub>2</sub>O, C2', C4'), 66.4 (2 CH<sub>2</sub>C≡C), 62.5 (C6'), 62.1 (C6), 40.5 (SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 40.3 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 37.1 (COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 31.5-29.5 (15 CH<sub>2</sub>), 27.0 (COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 19.7 (2 CH<sub>2</sub>C≡C), 14.4 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

### Ejemplo 7

#### *N-(2-Propinil)pentacosa-11,13-diinamida (X-A)*



A una disolución del ácido VIII-A (304 mg, 0.80 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anhidro (10 mL), bajo atmósfera de argón, con agitación y en ausencia de luz, se le añade *N-N'*-diisopropilcarbodiimida (138 μL, 0.88 mmol), propargilamina (56 μL, 0.80 mmol) y DMAP (9.78 mg, 0.08 mmol) a temperatura ambiente, siguiendo la reacción por ccf. Dejamos la reacción durante una noche. Una vez terminada, se concentra directamente a vacío y purificamos por cromatografía en columna, usando como eluyentes AcOEt/Hex (1:3), obteniéndose X-A con un rendimiento del 83% (274 mg).

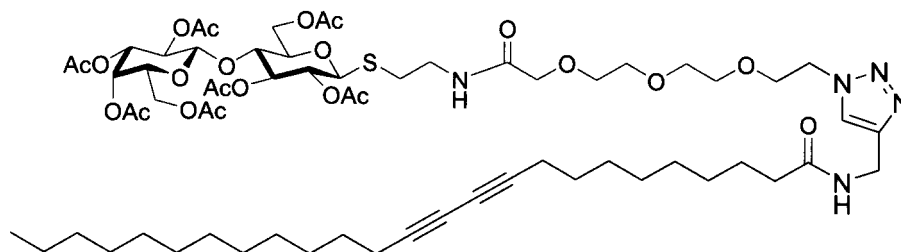
<sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$ [ppm] 5.6 (sa, 1 H, NHCO), 4.05 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>NHCO), 2.22 (t, 4 H,  $^3J_{CH_2CH_2C\equiv C} = 7.0$  Hz, 2 CH<sub>2</sub>C≡C), 2.18 (t, 2 H,  $^3J_{COCH_2CH_2} = 7.6$  Hz, COCH<sub>2</sub>), 1.62 (t, 2 H,  $^3J_{COCH_2CH_2} = 7.0$  Hz, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.50 (m, 4 H, 2 CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C≡C), 1.36 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.25 (m, 22 H, 11 CH<sub>2</sub>), 0.87 (t, 3 H,  $^3J_{CH_2CH_3} = 6.9$  Hz, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>).

<sup>13</sup>C RMN (125.7 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$ [ppm] 172.6 (CO), 79.6 (HC≡C) 77.6-77.4 (2 CH<sub>2</sub>C≡C), 71.6 (HC≡C), 65.3-65.2 (2 CH<sub>2</sub>C≡C), 36.4 (NHCOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 31.9 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 29.6-28.3 (13 CH<sub>2</sub>), 25.5 (COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 22.7 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 19.2-19.1 (2 CH<sub>2</sub>C≡C), 14.1 (CH<sub>3</sub>).

## ES 2 329 218 B1

### Ejemplo 8

4-(12,14-Pentacosadiinamidometil)-1-[14-(2,2',3,3',4',6,6'-hepta-O-acetil-1-tio-β-lactósido)-11-oxo-3,6,9-trioxa-12-aza-tetradecanil]-1-H-[1,2,3-triazol] (XI-A)



A una disolución de la compuesto VI-A (80 mg, 0.088 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 mL), bajo atmósfera de argón, ausencia de luz, temperatura ambiente y agitación, se le añade compuesto X-A (36 mg, 0.088 mmol), DIPEA (20  $\mu\text{L}$ , 0.096 mmol),  $\text{CuCl}$  (1 mg, 0.0088 mmol). Seguimos la reacción por ccf y se observa que termina a la hora. Se evapora el disolvente a vacío y purificamos mediante columna cromatográfica usando como eluyentes  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  (20:1), obteniéndose XI-A con un rendimiento del 85% (98 mg).

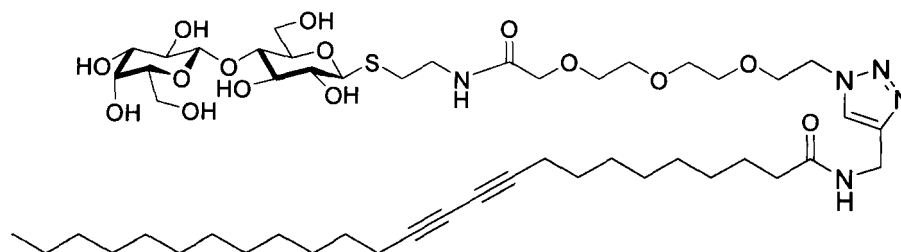
Sólido blanco.  $R_f = 0.16$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  10:1);  $[\alpha]_D = -5.6$  (c 0.45,  $\text{CHCl}_3$ );

$^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ [ppm] 7.67 (s, 1 H, H triazol), 7.21 (t,  $^3J_{\text{CH}_2\text{NH}} = 5.8$  Hz,  $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{NHCO}$ ), 6.37 (m, 1 H,  $\text{NHCOCH}_2\text{CH}_2$ ), 5.33 (d, 1 H,  $J_{4',3'} = 2.5$  Hz, H-4'), 5.19 (t, 1 H,  $J_{2,3} = 9.2$  Hz, H-2), 5.08 (t, 1 H,  $J_{2',3'} = 10.3$  Hz, H-2'), 4.96 (dd, 1 H,  $J_{3',2'} = 10.4$  Hz,  $J_{3',4'} = 3.4$  Hz, H-3'), 4.90 (t, 1 H,  $J_{3,4} = 9.5$  Hz, H-3), 4.50 (m, 7 H, H-1, H-1', H-6a, 2  $\text{CH}_2$ -triazol), 4.12 (dd, 1 H,  $J_{6'a,6'b} = 11.1$  Hz,  $J_{6'a,5'} = 6.2$  Hz, H-6'a), 4.05 (m, 2 H, H-6'b, H-6b), 3.97 (s, 2 H,  $\text{COCH}_2\text{O}$ ), 3.87 (m, 3 H, H-5',  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$ ), 3.78 (t, 1 H,  $J_{3,4} = 9.6$  Hz, H-4), 3.65 (m, 2 H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 3.60 (m, 7 H, H-5, 3  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 3.53 (m, 1 H,  $\text{SCH}_2\text{CHNH}$ ), 3.43 (m, 1 H,  $\text{SCH}_2\text{CH}'\text{NH}$ ), 2.85 (m, 1 H, SCH), 2.72 (m, 1 H,  $\text{SCH}'$ ), 2.21 (t, 4 H,  $^3J_{\text{CH}_2\text{CH}_2} = 6.9$  Hz, 2  $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}$ ), 2.16 (t, 2 H,  $^3J_{\text{CH}_2\text{CH}_2} = 7.6$  Hz,  $\text{COCH}_2\text{CH}_2$ ), 2.13-1.95 (7 s, 7  $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 1.59 (t, 2 H,  $^3J_{\text{CH}_2\text{CH}_2} = 7.0$  Hz,  $\text{COCH}_2\text{CH}_2$ ), 1.47 (m, 4 H, 2  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}$ ), 1.3 (m, 26 H, 13  $\text{CH}_2$ ), 0.86 (t, 3 H,  $^3J_{\text{CH}_2\text{CH}_3} = 6.5$  Hz,  $\text{CH}_3\text{CH}_2$ ).

$^{13}\text{C}$  RMN (125.7 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ [ppm] 173.4-169.0 (9 CO), 144.7 (C triazol), 123.2 (CH triazol), 101.1 ( $\text{C1}'$ ), 83.6 (C1), 77.6-77.4 (2  $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}$ ), 77.0 (C5), 76.2 (C4), 73.7 (C2), 70.9-70.2 ( $\text{C3}'$ ,  $\text{C5}'$ , C3, 4  $\text{CH}_2\text{O}$ ,  $\text{COCH}_2$ ), 69.4 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$ ), 69.1 ( $\text{C2}'$ ), 66.7 ( $\text{C4}'$ ), 65.3, 65.2 (2  $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}$ ), 62.1 (C6), 60.8 ( $\text{C6}'$ ), 50.2 ( $\text{CN}_3$ ), 38.9 ( $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ ), 36.5 ( $\text{NHCOCH}_2\text{CH}_2$ ), 34.8 ( $\text{CH}_2\text{NHCOCH}_2\text{CH}_2$ ), 31.9 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 30.4 ( $\text{SCH}_2$ ), 29.6-22.6 (15  $\text{CH}_2$ ), 20.8-20.5 (7  $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 19.19-19.18 ( $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}$ ), 14.1 ( $\text{CH}_3\text{CH}_2$ ).

### Ejemplo 9

4-(12,14-Pentacosadiinamidometil)-1-[14-(1-tio-β-lactosiloxi)-11-oxo-3,6,9-trioxa-12-aza-tetradecanil]-1-H-[1,2,3-triazol] (2)



A una disolución de compuesto XI-A (77 mg, 0.058 mmol) en  $\text{MeOH}$  (2 mL) y  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (0.5 mL), a temperatura ambiente y en ausencia de luz, se le añade una disolución de  $\text{NaOMe}$  en  $\text{MeOH}$  1 M (1 mL, 1 mmol). Tras agitar durante una hora, se neutraliza con amberlita [Ir-120 (plus) resina de intercambio iónico], se filtra y se elimina el disolvente a vacío. El producto obtenido se purifica mediante una columna Shephadex 20, usando como disolvente  $\text{MeOH}$ . Se obtiene 2 con un rendimiento del 78% (46 mg).

Sólido blanco.  $R_f = 0.4$  ( $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}/\text{NH}_4\text{OH}$  6:1:1);  $[\alpha]_D = -7.95$  (c 1.1,  $\text{MeOH}$ );

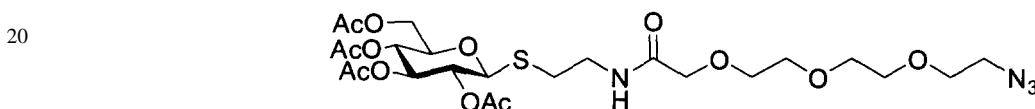
## ES 2 329 218 B1

<sup>1</sup>H RMN (500 MHz, MeOD): δ[ppm] 8.36 (ta, 1 H, SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHCO), 8.08 (ta, 1 H, NHCOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 7.88 (s, 1 H, H triazol), 4.57 (t, 2 H, CH<sub>2</sub>NHCOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 4.41 (m, 3 H, H-1, CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>), 4.34 (d, 1 H, H-1'), 3.99 (s, 2 H, COCH<sub>2</sub>O), 3.90 (m, 3 H, CH<sub>2</sub>O, H-6a), 3.81 (m, 2 H, H-6b, H-4'), 3.75 (m, 1 H, H-6'a), 3.68 (m, 3 H, H-6b', CH<sub>2</sub>O), 3.63 (m, 6 H, 3 CH<sub>2</sub>O), 3.58 (m, 2 H, H-5', H-4), 3.50 (m, 4 H, H-2', H-3', H-3, SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 3.40 (m, 2 H, H-5, SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 3.30 (m, 1 H, H-2), 2.90 (m, 1 H, SCH), 2.77 (m, 1 H, SCH'), 2.20 (m, 4 H, CH<sub>2</sub>C≡C), 1.60 (t, 2 H, <sup>3</sup>J<sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub></sub> = 7.0 Hz, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.50 (m, 4 H, 2 CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C≡C), 1.35 (m, 26 H, 13 CH<sub>2</sub>), 0.90 (t, 3 H, <sup>3</sup>J<sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub></sub> = 6.5 Hz, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>).

<sup>13</sup>C RMN (125.7 MHz, MeOD): δ[ppm] 176.1, 172.8 (2 NHCO), 146.2 (C triazol), 125.0 (CH triazol), 105.1 (C1'), 87.0 (C1), 80.6-80.5 (C5', C5), 77.9 (2 CH<sub>2</sub>C≡C), 77.1 (C4), 74.8 (C3), 74.1 (C2), 72.5-70.4 (C3', C2', 5 CH<sub>2</sub>O, COCH<sub>2</sub>), 70.3 (C4'), 66.4 (2 CH<sub>2</sub>C≡C), 62.5 (C6'), 62.1 (C6), 51.4 (CN<sub>3</sub>), 40.5 (SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 36.9 (NHCOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 35.6 (CH<sub>2</sub>NHCOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 33.1 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 30.7-29.5 (SCH<sub>2</sub>, 13 CH<sub>2</sub>), 26.9 (CO CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 23.7 (CH<sub>2</sub> CH<sub>3</sub>), 19.7 (CH<sub>2</sub>C≡C), 14.4 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

### 15 Ejemplo 10

[14-Azido-4-oxo-6,9,12-trioxa-3-azatetradecanil] 2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-tio-β-D-glucopiranosido (VI-B)



25 A una disolución del compuesto IV-B (139 mg, 0.61 mmol), TBTU (292 mg., 0.91 mmol) y DIPEA (100 μL, 0.61 mmol) en DMF anhidra (1.0 mL), bajo atmósfera de argón y agitación a temperatura ambiente, se añade a los 5 minutos una disolución del compuesto V-A (290 mg, 0.61 mmol) y DIPEA (220 μL, 1.20 mmol) en DMF anhidra (1.5 mL). La reacción termina a las tres horas, se neutraliza con una disolución acuosa de NaHCO<sub>3</sub> (20 mL), se extrae la fase acuosa con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2x 20 mL) y los extractos orgánicos reunidos se lavan con una disolución acuosa saturada de NaCl (15 mL). Se seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtra y se evapora el disolvente a vacío. La purificación se realiza mediante cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (25:1), obteniéndose VI-B con un rendimiento del 75% (287 mg).

30 Aceite de color amarillo. R<sub>f</sub> = 0.28 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 25:1); [α]<sub>D</sub> = -5.21 (c 0.4, CHCl<sub>3</sub>);

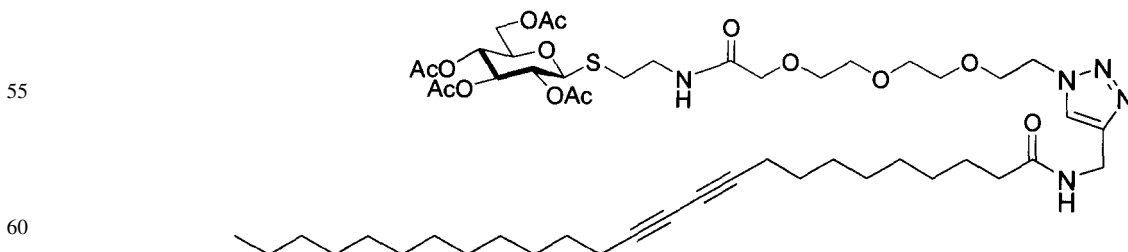
35 <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ[ppm] 7.18 (ta, 1 H, NHCO), 5.12 (t, 1 H, J<sub>4,3</sub> = 9.4 Hz, H-4), 4.97 (t, 1 H, J<sub>2,3</sub> = 9.7 Hz, H-2), 4.92 (t, 1 H, J<sub>3,4</sub> = 9.7 Hz, H-3), 4.48 (d, 1 H, J<sub>1,2</sub> = 10.5 Hz, H-1), 4.12 (dd, 1 H, J<sub>6a,6b</sub> = 12.4 Hz, J<sub>6a,5</sub> = 4.9 Hz, H-6a), 4.05 (d, 1 H, J<sub>6b,6a</sub> = 12.4 Hz, H-6b), 3.90 (s, 2 H, COCH<sub>2</sub>), 3.65 (m, 1 H, H-5), 3.60 (s, 10 H, 5 CH<sub>2</sub>O), 3.4 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>NH), 3.38 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>), 2.7 (m, 2 H, SCH<sub>2</sub>), 1.98-1.90 (4 s, 12 H, 4 CH<sub>3</sub>).

40 <sup>13</sup>C RMN (125.7 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ[ppm] 170.5-169.3 (5 CO), 83.7 (C1), 75.8 (C5), 73.6 (C3), 70.9-69.9 (6 CH<sub>2</sub>O), 69.8 (C2), 68.2 (C4), 62.0 (C6), 50.6 (CN<sub>3</sub>), 38.8 (CNH), 30.3 (SCH<sub>2</sub>), 20.6-20.4 (4 CH<sub>3</sub>).

45 EMAR para C<sub>24</sub>H<sub>38</sub>N<sub>4</sub>O<sub>13</sub>SNa: calculado 645.205379 [M+Na], encontrado 645.205180 (0.3 ppm).

### 46 Ejemplo 11

4-(12,14-Pentacosadiinamidometil)-1-[14-(2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-tio-β-D-glucosiloxi)-11-oxo-3,6,9-trioxa-12-azatetradecanil]-1-H-[1,2,3-triazol] (XI-B)



60 A una disolución de la compuesto VI-B (90 mg, 0.145 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 mL), bajo atmósfera de argón, ausencia de luz, temperatura ambiente y agitación, se le añade el compuesto X-A (65.5 mg., 0.16 mmol), DIPEA (38 μL, 0.218 mmol) y CuCl (1.5 mg., 0.0145 mmol). Se siguió la reacción por ccf y se observó que termina a la hora. Se evaporó el disolvente a vacío y se purificó mediante cromatografía en columna usando como eluyentes CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (20:1), obteniéndose XI-B con un rendimiento del 95% (142 mg).



## ES 2 329 218 B1

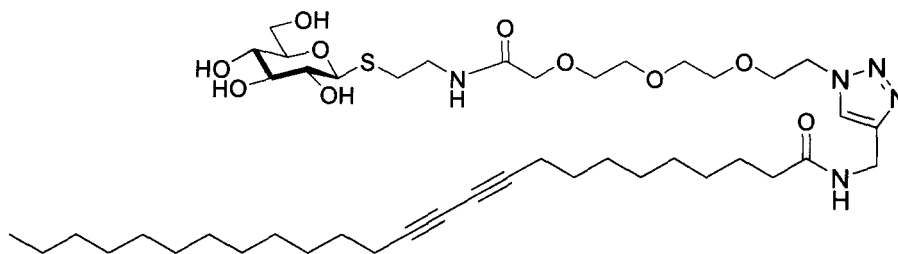
Sólido blanco.  $R_f = 0.25$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  20:1);  $[\alpha]_D = -6.15$  (c 1.1,  $\text{CHCl}_3$ );

$^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ [ppm] 7.65 (s, 1 H, H triazol), 7.22 (t,  $^3J_{\text{CH}_2\text{CH}_2} = 5.8$  Hz,  $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{NHCO}$ ), 6.37 (m, 1 H,  $\text{NHCOCH}_2\text{CH}_2$ ), 5.21 (t, 1 H,  $J_{4,3} = 9.4$  Hz, H-4), 5.04 (t, 1 H,  $J_{2,3} = 9.8$  Hz, H-2), 5.00 (t, 1 H,  $J_{3,4} = 9.4$  Hz, H-3), 4.58 (d, 1 H,  $J_{1,2} = 10.1$  Hz, H-1), 4.50 (m, 4 H, 2  $\text{CH}_2$ -triazol), 4.20 (dd, 1 H,  $J_{6a,6b} = 12.4$  Hz,  $J_{6a,5} = 5.1$  Hz, H-6a), 4.12 (dd, 1 H,  $J_{6b,6a} = 12.4$  Hz,  $J_{6b,5} = 5.1$  Hz, H-6b), 3.97 (s, 2 H,  $\text{COCH}_2\text{O}$ ), 3.86 (t, 2 H,  $^3J_{\text{CH}_2\text{CH}_2} = 6.2$  Hz,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$ ), 3.73 (m, 1 H, H-5), 3.65 (m, 2 H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 3.60 (m, 6 H, 3  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 3.56 (m, 1 H,  $\text{SCH}_2\text{CHNH}$ ), 3.44 (m, 1 H,  $\text{SCH}_2\text{CH}'\text{NH}$ ), 2.89 (m, 1 H, SCH), 2.75 (m, 1 H, SCH'), 2.21 (t, 4 H,  $^3J_{\text{CH}_2\text{CH}_2} = 6.9$  Hz, 2  $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}$ ), 2.16 (t, 2H,  $^3J_{\text{CH}_2\text{CH}_2} = 7.6$  Hz,  $\text{COCH}_2\text{CH}_2$ ), 2.05-1.97 (4 s, 4  $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 1.60 (m, 2 H,  $\text{COCH}_2\text{CH}_2$ ), 1.49 (m, 4 H, 2  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}$ ), 1.26 (m, 26 H, 13  $\text{CH}_2$ ), 0.86 (t, 3 H,  $^3J_{\text{CH}_2\text{CH}_2} = 6.5$  Hz,  $\text{CH}_3\text{CH}_2$ ).

$^{13}\text{C}$  RMN (125.7 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ [ppm] 173.1-169.4 (6 CO), 144.6 (C triazol), 123.1 (CH triazol), 83.8 (C1), 77.6-77.4 (2  $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}$ ), 75.9 (C5), 73.8 (C3), 71.0-70.4 (6  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 69.8 (C2), 68.3 (C4), 65.3-65.2 (2  $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}$ ), 62.1 (C6), 50.2 ( $\text{CN}_3$ ), 38.8 ( $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ ), 36.5 ( $\text{NHCOCH}_2\text{CH}_2$ ), 34.9 ( $\text{CH}_2\text{NHCOCH}_2\text{CH}_2$ ), 31.9 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 30.3-28.3 ( $\text{SCH}_2$ , 13  $\text{CH}_2$ ), 25.6 ( $\text{COCH}_2\text{CH}_2$ ), 22.7 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 20.7-20.5 (4  $\text{CH}_3$ ), 19.2 (2  $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}$ ), 14.1 ( $\text{CH}_3$ ).

### Ejemplo 12

4-(12,14-Pentacosadiinamidometil)-1-[14-(1-tio- $\beta$ -D-glucosiloxi)-11-oxo-3,6,9-trioxa-12-aza-tetradecanil]-1-H-[1,2,3-triazol] (3)



A una disolución de compuesto XI-B (130 mg, 0.127 mmol) en MeOH (3 mL) y  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1 mL), a temperatura ambiente y en ausencia de luz, se le añade una disolución de NaOMe en MeOH 1M (1 mL, 1 mmol). Tras agitar durante una hora, se neutraliza con amberlita [Ir-120 (plus) resina de intercambio iónico], se filtra y se elimina el disolvente a vacío. El producto obtenido se purifica mediante una columna Shephadex 20, usando como disolvente MeOH. Se obtiene 3 con un rendimiento cuantitativo (110 mg).

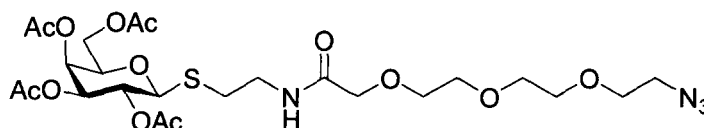
Sólido blanco.  $R_f = 0.25$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  20:1);  $[\alpha]_D = -6.15$  (c 1.1, MeOH);

$^1\text{H}$  RMN (500 MHz, MeOD):  $\delta$ [ppm] 8.36 (t, 1 H,  $^3J_{\text{CH}_2\text{NH}} = 5.8$  Hz,  $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{NHCO}$ ), 8.08 (m, 1 H,  $\text{NHCOCH}_2\text{CH}_2$ ), 7.91 (s, 1 H, H triazol), 4.57 (m, 2 H,  $\text{CH}_2\text{N}_3$ ), 4.40 (m, 3 H,  $\text{CH}_2\text{N}_3$ , H-1), 3.93 (s, 2 H,  $\text{COCH}_2\text{O}$ ), 3.89 (m, 3 H, H-6a,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$ ), 3.67 (m, 2 H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 3.63 (m, 7 H, H-6b, 3  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 3.49 (m, 2 H,  $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ ), 3.34 (m, 1 H, H-3), 3.30 (m, 2 H, H-5, H-4), 3.20 (m, 1 H, H-2), 2.88 (m, 1 H, SCH), 2.77 (m, 1 H, SCH'), 2.23 (m, 6 H,  $\text{COCH}_2\text{CH}_2$ , 2  $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}$ ), 1.60 (m, 2 H,  $\text{COCH}_2\text{CH}_2$ ), 1.49 (m, 4 H, 2  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}$ ), 1.30 (m, 26 H, 13  $\text{CH}_2$ ), 0.89 (t, 3 H,  $^3J_{\text{CH}_2\text{CH}_2} = 6.5$  Hz,  $\text{CH}_3\text{CH}_2$ ).

$^{13}\text{C}$  RMN (125.7 MHz, MeOD):  $\delta$ [ppm] 176.2-172.8 (2 NHCO), 146.2 (C triazol), 125.1 (CH triazol), 87.2 (C1), 82.2 (C5), 79.6 (C3), 77.9-77.8 (2  $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}$ ), 74.4 (C2), 72.0-70.9 (6  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 70.4 (C4), 66.4 (2  $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}$ ), 63.0 (C6), 51.5 ( $\text{CN}_3$ ), 40.5 ( $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ ), 37.0 ( $\text{NHCOCH}_2\text{CH}_2$ ), 35.6 ( $\text{CH}_2\text{NHCOCH}_2\text{CH}_2$ ), 33.1 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 31.0-29.5 ( $\text{SCH}_2$ , 13  $\text{CH}_2$ ), 26.8 ( $\text{COCH}_2\text{CH}_2$ ), 23.7 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 19.2 (2  $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}$ ), 14.4 ( $\text{CH}_3$ ).

### Ejemplo 13

14-Azido-4-oxo-6,9,12-trioxa-3-azatetradecanil]2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-tio- $\beta$ -D-galactopiranosido (VI-C)



## ES 2 329 218 B1

A una disolución del compuesto IV-C (83.7 mg., 0.36 mmol), TBTU (173.5 mg., 0.54 mmol) y DIPEA (88  $\mu$ L, 0.50 mmol) en DMF anhidra (1 mL), bajo atmósfera de argón y agitación a temperatura ambiente, se añade a los 5 minutos una disolución del compuesto V (148 mg., 0.36 mmol) y DIPEA (100  $\mu$ L, 1.10 mmol) en DMF anhidra (1.0 mL). La reacción termina en una hora, se neutraliza con una disolución acuosa de NaHCO<sub>3</sub> (20 mL), se extrae la fase acuosa con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 20 mL) y los extractos orgánicos reunidos se lavan con una disolución acuosa de NaCl (15 mL). Se seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtra y se evapora el disolvente a vacío. La purificación se realiza mediante cromatografía en columna usando como eluyentes CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (25:1), obteniéndose el producto requerido VI-C con un rendimiento del 82% (184 mg).

10 Aceite de color amarillo. R<sub>f</sub> = 0.24 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 25:1); [ $\alpha$ ]<sub>D</sub> = -5.09 (c 0.63, CHCl<sub>3</sub>);

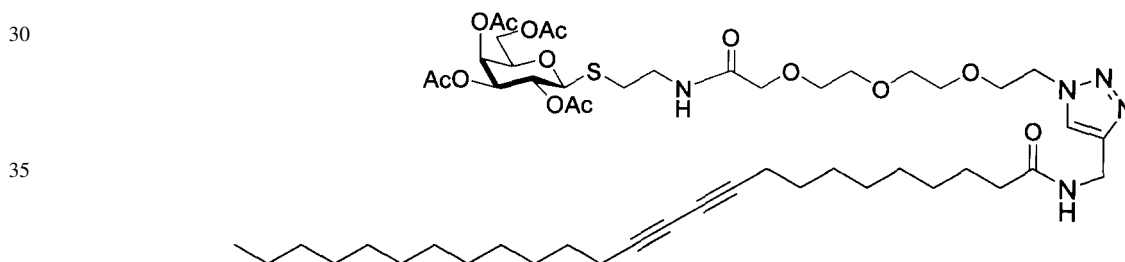
<sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$ [ppm] 7.21 (ta, 1 H, NHCO), 5.41 (d, 1 H, J<sub>4,3</sub> = 3.2 Hz, H-4), 5.20 (t, 1 H, J<sub>2,3</sub> = 9.9 Hz, H-2), 5.03 (dd, 1 H, J<sub>3,2</sub> = 10.0 Hz, J<sub>3,4</sub> = 3.1 Hz, H-3), 4.54 (dt, 1 H, J<sub>1,2</sub> = 10.0 Hz, J<sub>1,3</sub> = 3.3 Hz, H-1), 4.08 (m, 2 H, H-6), 3.95 (m, 3 H, H-5, COCH<sub>2</sub>), 3.65 (m, 10 H, 5 CH<sub>2</sub>O), 3.55 (m, 1 H, CHNH), 3.47 (m, 1 H, CH'NH), 3.37 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>), 2.90 (m, 1 H, SCH), 2.75 (m, 1 H, SCH'), 2.15-1.95 (4 s, 12 H, 4 CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C RMN (125.7 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$ [ppm] 170.4-169.6 (5 CO), 84.3 (C1), 74.6 (C5), 71.8 (C3), 71.0-70.0 (6 CH<sub>2</sub>O), 67.3 (C4), 67.2 (C2), 61.5 (C6), 50.7 (CN<sub>3</sub>), 38.8 (CNH), 30.4 (SCH<sub>2</sub>), 20.7-20.6 (4 CH<sub>3</sub>).

20 EMAR para C<sub>24</sub>H<sub>38</sub>N<sub>4</sub>O<sub>13</sub>SNa: calculado 645.205379 [M+Na], encontrado 645.205180 (0.3 ppm).

### Ejemplo 14

25 4-(12,14-Pentacosadiinamidometil)-1-[14-(2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-tio- $\beta$ -D-galactosiloxi)-11-oxo-3,6,9-trioxa-12-aza-tetradecanil]-1-H-[1,2,3-triazol] (XI-C)



A una disolución de la compuesto VI-C (144 mg, 0.231 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anhidro (4 mL), bajo atmósfera de argón, ausencia de luz, temperatura ambiente y agitación, se le añade el compuesto X-A (105 mg, 0.235 mmol), DIPEA (70  $\mu$ L, 0.345 mmol) y CuCl (3.0 mg., 0.023 mmol). Seguimos la reacción por ccf y observamos que termina a la hora. Evaporamos el disolvente a vacío y purificamos mediante cromatografía en columna usando como eluyentes CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (20:1), obteniéndose XI-C con un rendimiento del 98% (230 mg).

45 Sólido blanco. R<sub>f</sub> = 0.23 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 20:1); [ $\alpha$ ]<sub>D</sub> = -2.21 (c 1.1, CHCl<sub>3</sub>);

50 <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$ [ppm] 7.65 (s, 1 H, H triazol), 7.21 (ta, SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHCO), 6.46 (ta, 1 H, NHCOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 5.40 (d, 1 H, J<sub>4,3</sub> = 3.2 Hz, H-4), 5.18 (t, 1 H, J<sub>2,3</sub> = 9.9 Hz, H-2), 5.03 (dd, 1 H, J<sub>3,2</sub> = 10.0 Hz, J<sub>3,4</sub> = 3.2 Hz, H-3), 4.53 (d, 1 H, J<sub>1,2</sub> = 10.0 Hz, H-1), 4.48 (m, 4 H, 2 CH<sub>2</sub>-triazol), 4.10 (m, 2 H, H-6), 3.95 (m, 3 H, H-5, COCH<sub>2</sub>O), 3.84 (m, 2 H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>), 3.60 (m, 8 H, 4 CH<sub>2</sub>O), 3.53 (m, 1 H, SCH<sub>2</sub>CHNH), 3.45 (m, 1 H, SCH<sub>2</sub>CH'NH), 2.90 (m, 1 H, SCH), 2.75 (m, 1 H, SCH'), 2.20 (m, 4 H, 2 CH<sub>2</sub>C $\equiv$ C), 2.16 (m, 2 H, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.11-1.95 (4 s, 4 CH<sub>3</sub>CO), 1.55 (m, 2 H, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.47 (m, 4 H, 2 CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C $\equiv$ C), 1.30 (m, 26 H, 13 CH<sub>2</sub>), 0.86 (t, 3 H, <sup>3</sup>J<sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub></sub> = 6.5 Hz, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>).

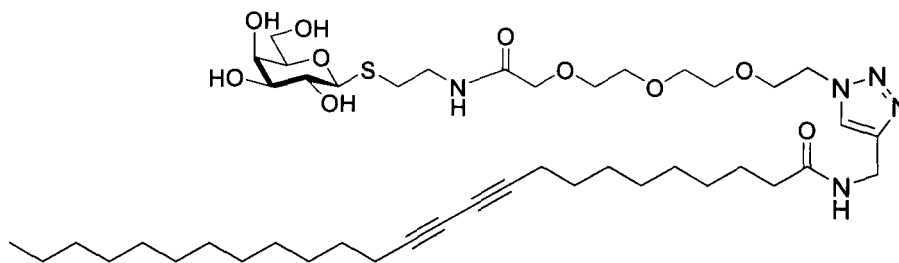
60 <sup>13</sup>C RMN (125.7 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$ [ppm] 173.2-169.6 (6 CO), 144.7 (C triazol), 123.1 (CH triazol), 84.3 (C1), 77.6-77.4 (2 CH<sub>2</sub>C $\equiv$ C), 74.5 (C5), 71.8 (C3), 70.9-69.4 (6 CH<sub>2</sub>O), 67.3 (C4), 67.2 (C2), 65.3-65.2 (2 CH<sub>2</sub>C $\equiv$ C), 61.4 (C6), 50.2 (CN<sub>3</sub>), 38.8 (SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 36.5 (NHCOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 34.8 (CH<sub>2</sub>NHCOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 31.9 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 30.5 (SCH<sub>2</sub>), 29.6-28.3 (13 CH<sub>2</sub>), 25.6 (COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 22.7 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 20.8-20.6 (4 CH<sub>3</sub>), 19.2-19.1 (2 CH<sub>2</sub>C $\equiv$ C), 14.1 (CH<sub>3</sub>).

65

## ES 2 329 218 B1

### Ejemplo 15

4-(12,14-Pentacosadiinamidometil)-1-[14-(1-tio-β-D-galactosiloxi)-11-oxo-3,6,9-trioxa-12-aza-tetradecanil]-1-H-[1,2,3-triazol] (4)



A una disolución del compuesto X-C (190 mg, 0.18 mmol) en MeOH (4 mL) y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1 mL), a temperatura ambiente y en ausencia de luz, se le añade una disolución de NaOMe en MeOH 1 M (1 mL, 1 mmol). Tras agitar durante una hora, se neutraliza con amberlita [Ir-120 (plus) resina de intercambio iónico], se filtra y se elimina el disolvente a vacío. El producto obtenido se purifica mediante una columna Shephadex 20, usando como disolvente MeOH. Se obtiene 4 con un rendimiento cuantitativo (159 mg).

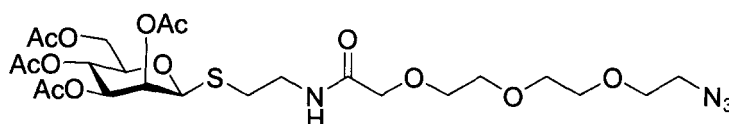
Sólido blanco. R<sub>f</sub> = 0.23 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 20:1); [α]<sub>D</sub> = -2.21 (c 1.1, MeOH);

<sup>1</sup>H RMN (500 MHz, MeOD): δ[ppm] 8.38 (m, 1 H, SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHCO), 8.15 (m, 1 H, NHCOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 7.88 (s, 1 H, H triazol), 4.56 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>), 4.42 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>NHCOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 4.35 (d, 1 H, J<sub>1,2</sub> = 10.0 Hz, H-1), 3.99 (s, 2 H, COCH<sub>2</sub>O), 3.88 (m, 2 H, H-4, H-6a), 3.75 (m, 3 H, H-6b, CH<sub>2</sub>O), 3.67 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>O), 3.62 (m, 6 H, 3 CH<sub>2</sub>O), 3.54 (m, 2 H, H-2, H-5), 3.50 (m, 2 H, SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 3.45 (dd, 1 H, J<sub>3,2</sub> = 9.2 Hz, J<sub>3,4</sub> = 3.2 Hz, H-3), 2.89 (m, 1 H, SCH), 2.78 (m, 1 H, SCH'), 2.22 (m, 6 H, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, 2 CH<sub>2</sub>C≡C), 1.60 (m, 2 H, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.50 (m, 4 H, 2 CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C≡C), 1.31 (m, 26 H, 13 CH<sub>2</sub>), 0.89 (t, 3 H, <sup>3</sup>J<sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub></sub> = 6.5 Hz, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>).

<sup>13</sup>C RMN (125.7 MHz, MeOD): δ[ppm] 176.2-172.8 (2 CO), 146.2 (C triazol), 123.1 (CH triazol), 87.7 (C1), 80.8 (C5), 77.9 (2 CH<sub>2</sub>C≡C), 76.3 (C3), 72.0-71.3 (4 CH<sub>2</sub>O), 70.6 (C2), 70.4 (C4), 69.8, 67.6 (2 CH<sub>2</sub>O), 66.4 (2 CH<sub>2</sub>C≡C), 62.8 (C6), 51.4 (CN<sub>3</sub>), 40.4 (SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 37.0 (NHCOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 35.6 (CH<sub>2</sub>NHCOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 33.1 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 30.7-29.5 (SCH<sub>2</sub>, 13 CH<sub>2</sub>), 26.9 (COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 23.7 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 19.7 (2 CH<sub>2</sub>C≡C), 14.4 (CH<sub>3</sub>).

### Ejemplo 16

14-Azido-4-oxo-6,9,12-trioxa-3-azatetradecanil]2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-tio-β-D-manopiranosido (VI-D)



A una disolución del compuesto IV-D (83.7 mg., 0.36 mmol), TBTU (173.5 mg., 0.54 mmol) y DIPEA (88 μL, 0.50 mmol) en DMF anhidra (1 mL), bajo atmósfera de argón y agitación a temperatura ambiente, se añade a los 5 minutos una disolución de la compuesto V (148 mg., 0.36 mmol) y DIPEA (100 μL, 1.10 mmol) en DMF anhidra (1.0 mL). La reacción termina en una hora, se neutraliza con una disolución acuosa de NaHCO<sub>3</sub> (20 mL), se extrae la fase acuosa con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 20 mL) y los extractos orgánicos reunidos se lavan con una disolución acuosa de NaCl (15 mL). Se seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtra y se evapora el disolvente a vacío. La purificación se realiza mediante cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (25:1), obteniéndose el producto requerido VI-D con un rendimiento del 82% (184 mg).

<sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ[ppm] 7.27 (ta, 1 H, NHCO), 5.32 (1 H, m, H-1), 5.30 (m, 2H, H-4, H-2), 5.21 (dd, 1H, J<sub>3,4</sub> = 10.0 Hz, J<sub>3,2</sub> = 3.2 Hz, H-3), 4.36 (m, 1 H, H-5), 4.28 (dd, 1 H, J<sub>6a6b</sub> = 12.2 Hz, J<sub>6a5</sub> = 5.5 Hz, H-6a), 4.09 (dd, 1 H, J<sub>6b6a</sub> = 12.2 Hz, J<sub>6b5</sub> = 1.7 Hz, H-6b), 3.99 (m, 2 H, COCH<sub>2</sub>O), 3.68 (m, 10 H, 5 CH<sub>2</sub>O), 3.45 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>NH), 3.38 (t, 2 H, J = 4.9 Hz, CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>), 2.8 (m, 2 H, SCH<sub>2</sub>), 2.14-1.97 (4 AcO).

<sup>13</sup>C RMN (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] 170.6-169.7 (5 CO), 82.5 (C1), 70.9 (C4), 70.6-70.2 (6 OCH<sub>2</sub>), 69.4(C3), 69.1(C5), 66.3 (C2), 62.4 (C6), 50.7 (CN<sub>3</sub>), 38.1 (SCH<sub>2</sub>CNHCO), 31.1 (SCH<sub>2</sub>), 20.9-20.6 (4 CH<sub>3</sub>).

EMAR para C<sub>24</sub>H<sub>38</sub>N<sub>4</sub>O<sub>13</sub>SNa: calculado 645.205379 [M+Na], encontrado 645.205180 (0.3 ppm).



## ES 2 329 218 B1

### Ejemplo 18

#### *Preparación de agregados nanotubos de carbono-glicolípidos*

5 Se prepara una suspensión de nanotubos de carbono en agua al 100% y se añade el compuesto (1) sintetizado en el Ejemplo 6. Se procede a sonicar la mezcla hasta que los nanotubos se solubilizan, indicativo de la formación de agregados estables. Dicho tiempo de sonicación resulta ser de unos 30 minutos.

10 A continuación, se centrifuga la mezcla obtenida con el fin de eliminar los nanotubos que no presentan glicolípidos organizados a su alrededor.

Por último, se procede a dializar la solución con agua desionizada con el fin de eliminar los lípidos y/o micelas derivadas de los mismos que no se encuentran en contacto con los nanotubos.

15 En la Figura 3 se muestra una imagen de microscopio electrónico de transmisión de los nanotubos de carbono rodeados de glicolípidos (1) sin polimerizar obtenidos según el procedimiento descrito.

20 Este mismo procedimiento se lleva a cabo con los compuestos (2) y (4) obtenidos en los Ejemplos 9 y 15, respectivamente.

Para la obtención de los agregados en los cuales el glicolípidos está polimerizado, se sigue el mismo procedimiento descrito anteriormente pero una vez eliminados los nanotubos que quedan libres (sin glicolípidos alrededor) tras la etapa de centrifugación, se procede a irradiar la mezcla con luz ultravioleta durante 12 horas con el fin de polimerizar el glicolípidos. La Figura 4 muestra una imagen de microscopio electrónico de transmisión de los nanotubos de carbono rodeados de glicolípidos (1) polimerizado.

### Ejemplo 19

#### *Estudio comparativo de la estabilidad de los agregados nanotubo de carbono-glicolípidos*

30 Se toman muestras de suspensiones de agregados de nanotubos de carbono-glicolípidos en los cuales el glicolípidos está polimerizado y sin polimerizar, obtenidos según el procedimiento descrito en el Ejemplo 18 y se almacenan durante 3 meses en viales (Figura 5). El vial A contiene la suspensión con los agregados no polimerizados y el vial B contiene la suspensión con los agregados polimerizados.

40 Como puede observarse a partir de dicha figura, los agregados no polimerizados no resultan estables durante el tiempo estudiado dado que los nanotubos han precipitado, indicativo de que la estructura de dichos agregados no se mantiene. Por el contrario, la suspensión de los agregados polimerizados permanece estable, no se observa precipitación alguna de los nanotubos.

45

50

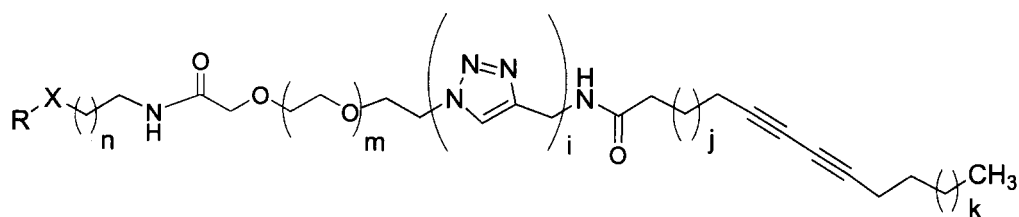
55

60

65

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula general I:

**I**

en la que

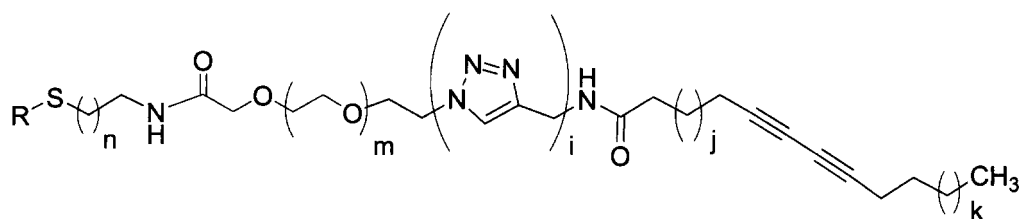
20 R es un carbohidrato seleccionado entre mono-, di- y polisacárido;

X es oxígeno, azufre, -CH<sub>2</sub>- o -NH-;

25 n, m, j y k son números enteros, iguales o diferentes entre sí, comprendidos entre 0 y 20; e

i es 0 ó 1.

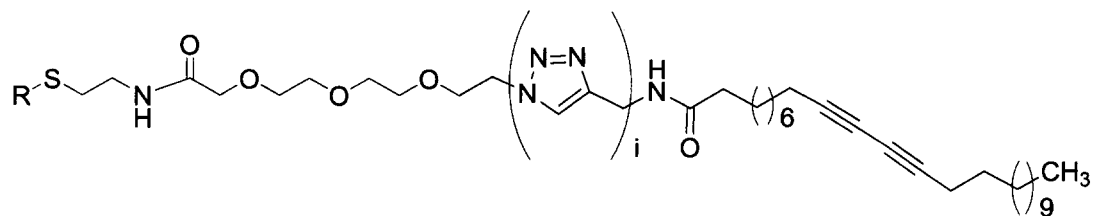
2. Compuesto según la reivindicación 1, de fórmula general Ia:

**Ia**

en la que

45 R, m, j, k e i tienen los significados definidos en la reivindicación 1.

3. Compuesto según la reivindicación 2, de fórmula general Ia'

**Ia'**

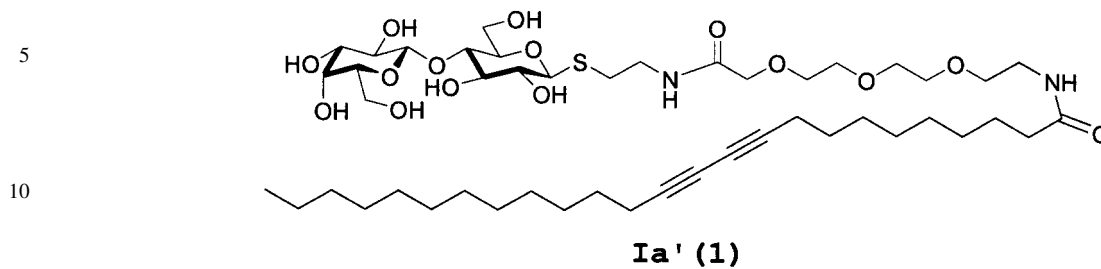
en la que

60 R e i tienen los significados definidos en la reivindicación 1.

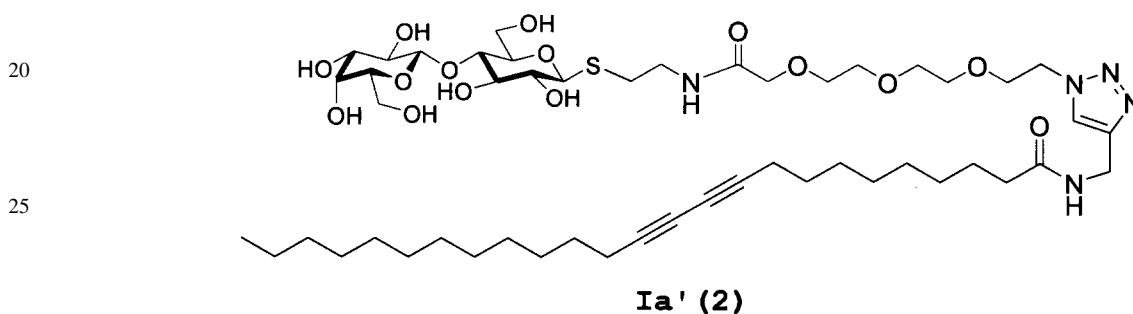
4. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que R es un monosacárido o un disacárido.

65 5. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que R es un sacárido seleccionado entre 1-desoxiglucosa, 1-desoxigalactosa, 1-desoxiarabinosa, 1-desoximanosa, 1-desoxi-N-acetil-galactosamina, 1-desoxixilosa, 1-desoximaltosa, 1-desoxilactosa, 1-desoxi-N-acetil-galactosamina-β-1,3-galactosa, preferentemente seleccionado entre 1-desoxigalactosa, 1-desoxiglucosa, 1-desoximanosa y 1-desoxilactosa.

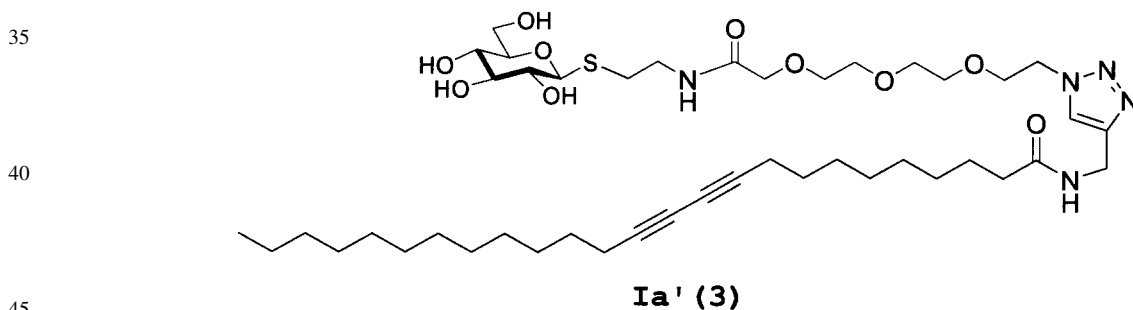
6. Compuesto según la reivindicación 3, de fórmula Ia'(1):



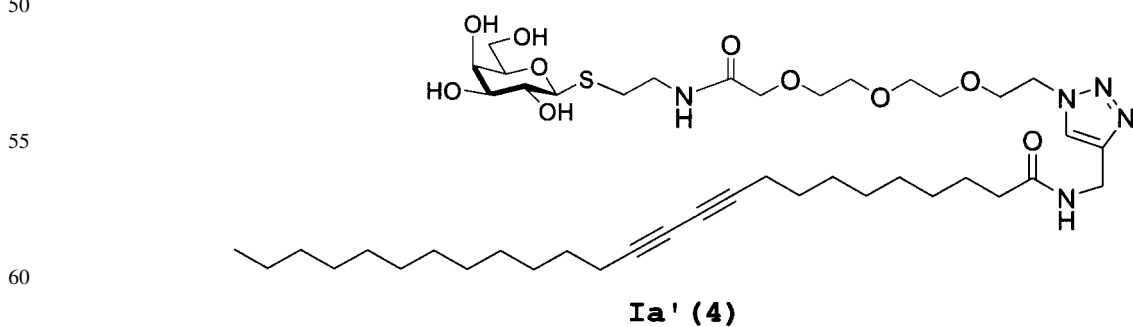
7. Compuesto según la reivindicación 3, de fórmula Ia'(2):



8. Compuesto según la reivindicación 3, de fórmula Ia'(3):

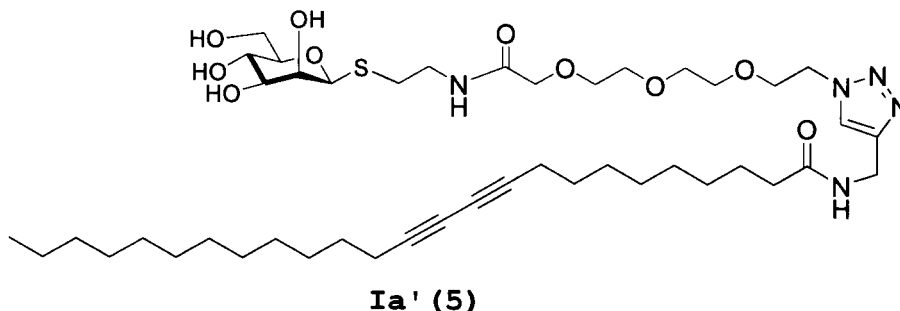


9. Compuesto según la reivindicación 3, de fórmula Ia'(4):



65

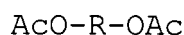
10. Compuesto según la reivindicación 3, de fórmula Ia' (5):



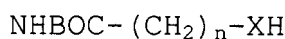
11. Un procedimiento para la obtención de un compuesto según se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, que comprende:

• cuando  $i = 0$

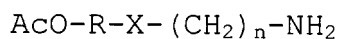
(1) hacer reaccionar un carbohidrato peracetilado de fórmula



donde R tiene el significado previamente mencionado en la reivindicación 1, con un compuesto de fórmula



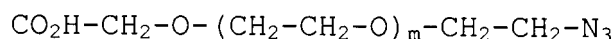
donde X y n tienen los significados previamente mencionados en la reivindicación 1, para obtener un compuesto de fórmula general IV



**IV**

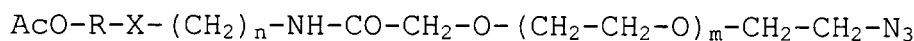
donde R, X y n tienen los significados previamente mencionados en la reivindicación 1,

(2) hacer reaccionar el compuesto obtenido en la etapa (1) con un ácido de fórmula general V



**V**

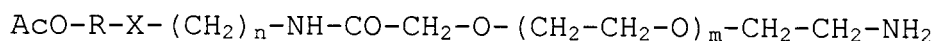
donde m tiene el significado previamente mencionado en la reivindicación 1, en presencia de un agente deshidratante, en un disolvente orgánico para dar un compuesto de fórmula general VI



**VI**

donde R, X, m y n tienen los significados previamente mencionados en la reivindicación 1,

(3) reducir el compuesto de fórmula VI con un agente reductor de la función azida selectivo para dar una amina de fórmula VII



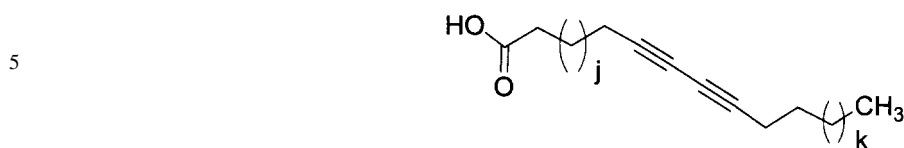
**VII**

donde R, X, m y n tienen los significados previamente mencionados en la reivindicación 1,



## ES 2 329 218 B1

(4) hacer reaccionar el compuesto VII con un ácido carboxílico de fórmula general VIII

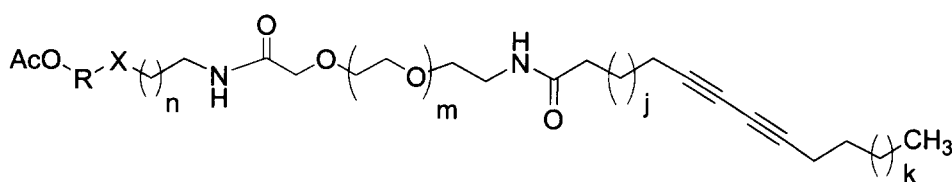


10

**VIII**

donde j y k tienen los significados previamente mencionados en la reivindicación 1, en presencia de un agente deshidratante para rendir un compuesto de fórmula general IX

15



25

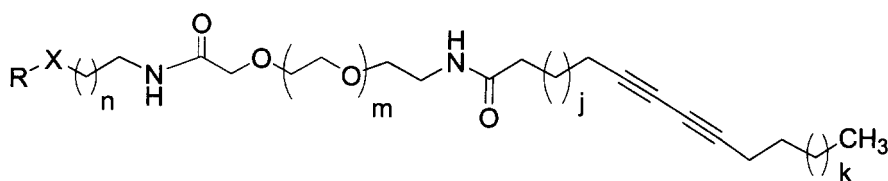
**IX**

donde R, X, m, n, j y k tienen los significados previamente mencionados en la reivindicación 1,

30

(5) hacer reaccionar el compuesto IX con metilato sódico en metanol y posterior purificación del compuesto de fórmula I (i = 0)

35



45

**I (i = 0)**

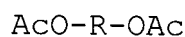
donde R, X, m, n, j y k tienen los significados previamente mencionados en la reivindicación 1,

50

• cuando i = 1

55

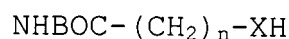
(1) hacer reaccionar un carbohidrato peracetilado de fórmula



60

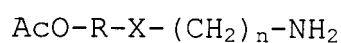
donde R tiene el significado previamente mencionado en la reivindicación 1, con un compuesto de fórmula

65



donde X y n tienen los significados previamente mencionados en la reivindicación 1, para obtener un compuesto de fórmula general IV

70



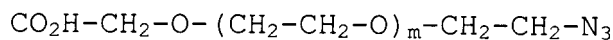
**IV**

75

donde R, X y n tienen los significados previamente mencionados en la reivindicación 1,

## ES 2 329 218 B1

(2) hacer reaccionar el compuesto obtenido en la etapa (1) con un ácido de fórmula general V

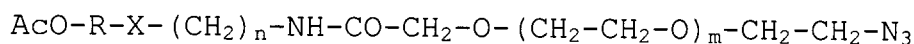


5

**V**

donde m tiene el significado previamente mencionado en la reivindicación 1, en presencia de un agente deshidratante, en un disolvente orgánico para dar un compuesto de fórmula general VI

10



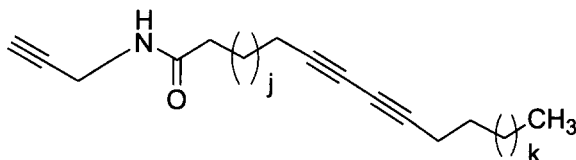
**VI**

15

donde R, X, m y n tienen los significados previamente mencionados en la reivindicación 1,

(3) hacer reaccionar un ácido carboxílico de fórmula general VIII, con propargilamina en un disolvente orgánico en presencia de un agente deshidratante para formar un compuesto de fórmula general X

20



25

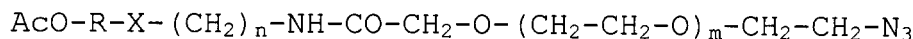
**X**

30

donde j y k tienen los significados previamente mencionados en la reivindicación 1,

(4) acoplar el compuesto de fórmula general VI

35

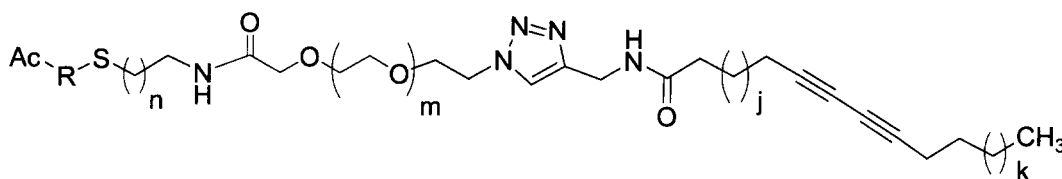


**VI**

40

donde R, X, m y n tienen los significados previamente mencionados en la reivindicación 1, con un compuesto de fórmula X, mediante una cicloadición 1,3-dipolar, para dar compuesto de fórmula general XI

45



50

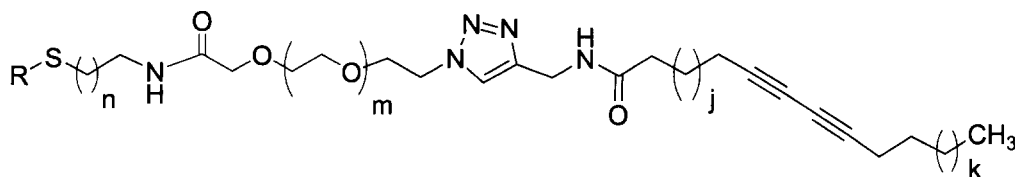
**XI**

donde R, X, j, k, m y n tienen los significados previamente mencionados en la reivindicación 1, y

55

(5) hacer reaccionar dicho compuesto de fórmula XI con metilato sódico en metanol y posterior purificación para obtener el compuesto de fórmula I (i = 1)

60



65

**I (i = 1)**

donde R, X, j, k, m y n tienen los significados previamente mencionados en la reivindicación 1.

## ES 2 329 218 B1

12. Un agregado supramolecular que comprende un nanotubo de carbono y un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10.

13. Agregado supramolecular según la reivindicación 12, en el que el nanotubo de carbono es monocapa o multicapa, de estructura “zig-zag”, “quiral” o “sillón”.

14. Un procedimiento para la preparación de un agregado supramolecular como se define en las reivindicaciones 12 y 13, que comprende:

- a) mezclar una suspensión de nanotubos de carbono con un compuesto de fórmula I, en agua, y sonicar la mezcla durante el tiempo necesario para obtener un agregado formado por nanotubos de carbono alrededor de los cuales se ubica el compuesto de fórmula (I);
- b) centrifugar la mezcla obtenida en la etapa a) con el fin de eliminar los nanotubos que no presentan compuestos de fórmula I organizados a su alrededor;
- c) irradiar con luz ultra-violeta la solución obtenida en la etapa b) para polimerizar el compuesto de fórmula (I), de manera que dicho compuesto polimerizado se ubica en forma de anillos alrededor de los nanotubos de carbono; y
- d) dializar contra agua desionizada la solución obtenida en la etapa c) con el fin de eliminar los glicolípidos y o las micelas derivadas de los mismos que no se encuentran en contacto con los nanotubos.

15. Un agregado supramolecular obtenible según el procedimiento de la reivindicación 14.

16. Un procedimiento para producir un gliconosoma que comprende retirar los anillos de compuestos de fórmula I polimerizados que rodean los nanotubos obtenidos según el procedimiento de la reivindicación 14.

17. Procedimiento según la reivindicación 16, donde el proceso para retirar los anillos se efectúa mediante la aplicación de un campo eléctrico.

18. Un gliconosoma obtenible según el procedimiento definido en cualquiera de las reivindicaciones 16 a 17.

19. Un agregado supramolecular como se define en cualquiera de las reivindicaciones 12, 13 ó 15 para su uso como medicamento.

20. Uso de un agregado supramolecular como se define en cualquiera de las reivindicaciones 12, 13 ó 15 para la preparación de un medicamento dirigido al tratamiento de enfermedades y/o condiciones que cursan con interacciones mediadas por carbohidratos.

21. Uso según reivindicación 20 en el que la enfermedad y/o condición se selecciona entre infecciones bacterianas, infecciones virales, procesos inflamatorios, cáncer y disfunciones en la respuesta inmune durante el trasplante de tejidos.

22. Uso según reivindicación 21, en el que la infección bacteriana es una infección mediada por la bacteria *Helicobacter pylori*.

23. Uso de un agregado supramolecular como se define en cualquiera de las reivindicaciones 12, 13 ó 15 para la detección del grupo sanguíneo en un individuo.

24. Un kit para la determinación del grupo sanguíneo que comprende un agregado supramolecular como se define en cualquiera de las reivindicaciones 12, 13 ó 15.

25. Una vacuna que comprende un agregado supramolecular como se define en cualquiera de las reivindicaciones 12, 13 ó 15 y un antígeno.

26. Un método para la determinación de la presencia en un medio de una sustancia capaz de interactuar con un carbohidrato, que comprende:

- a) poner en contacto un agregado supramolecular como se define en cualquiera de las reivindicaciones 12, 13 ó 15 con la sustancia de tal manera que la sustancia se pueda asociar al carbohidrato; y
- b) determinar si la asociación tiene lugar o no.

27. Uso de un gliconosoma como se define en la reivindicación 18 como vector de una molécula biológicamente activa hidrófoba.

28. Uso de un gliconosoma como se define en la reivindicación 18 como vector de una proteína de membrana.

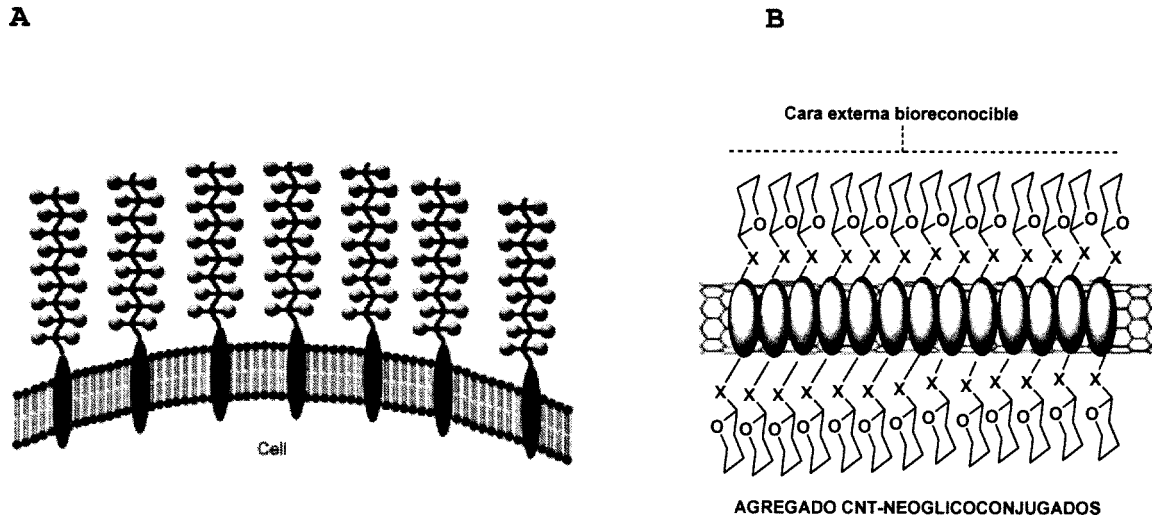


Figura 1

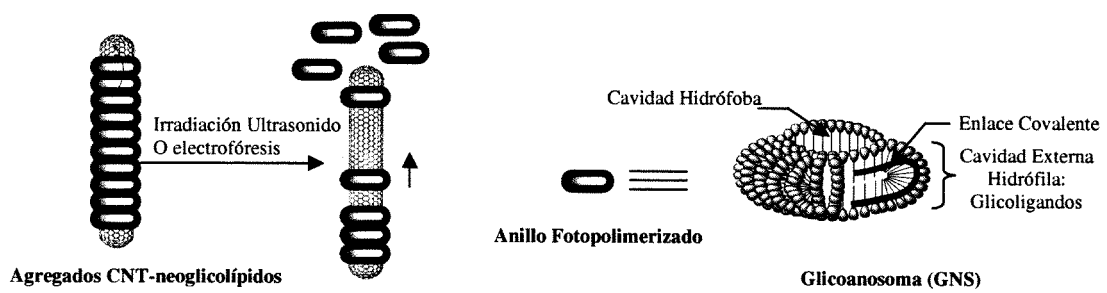


Figura 2

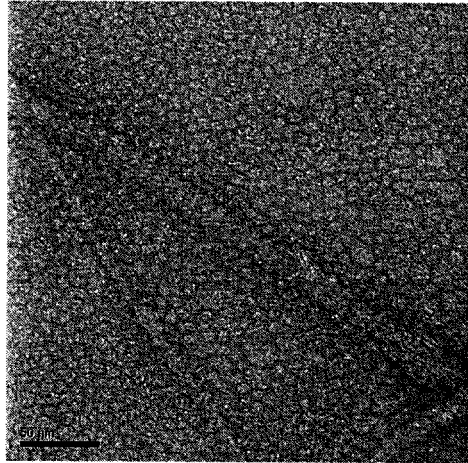


Figura 3

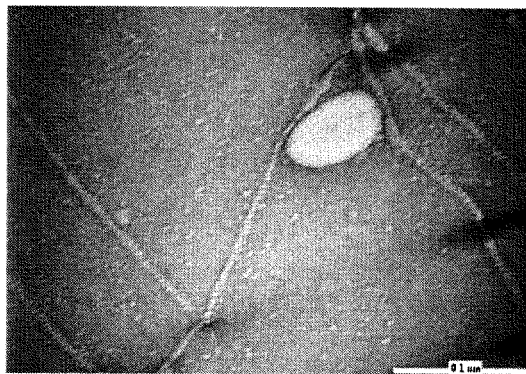


Figura 4

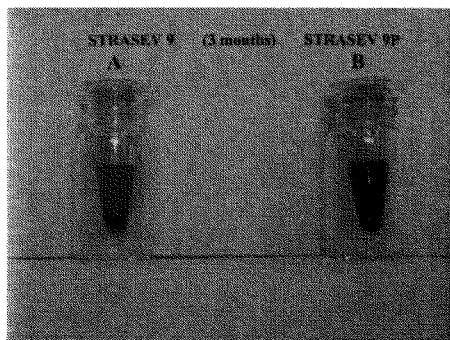


Figura 5



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① ES 2 329 218

② N° de solicitud: 200801505

③ Fecha de presentación de la solicitud: **22.05.2008**

④ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤ Int. Cl.: **C07H 5/10** (2006.01)  
**B28B 3/00** (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	KOLB et al., Drug Discovery Today 2003, vol 8, nº 24, páginas 1128-1137, "The growing impact of click chemistry on drug discovery", páginas 1130,1131.	1-11
A	WO 2007145158 A1 & EP 2033934 A1 (NATIONAL INSTITUTE OF ADVANCED INDUSTRIAL SCIENCE AND TECHNOLOGY) 21.12.2007, reivindicaciones.	12-28
A	EP 1609796 A1 (NATIONAL INSTITUTE OF ADVANCED INDUSTRIAL SCIENCE AND TECHNOLOGY) 28.12.2005, reivindicaciones.	12-28
A	EP 1186688 A1 (NATIONAL INSTITUTE OF ADVANCED INDUSTRIAL SCIENCE AND TECHNOLOGY) 13.03.2002, reivindicaciones 1,2.	12-28

**Categoría de los documentos citados**

X: de particular relevancia  
Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría  
A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita  
P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud  
E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

**El presente informe ha sido realizado**

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

**Fecha de realización del informe**  
04.09.2009

**Examinador**  
P. Fernández Fernández

**Página**  
1/4

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

C07H, B28B

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOCWPI,CAS,REGISTRY



Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 04.09.2009

**Declaración**

<b>Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)</b>	Reivindicaciones 1-28	<b>SÍ</b>
	Reivindicaciones	<b>NO</b>
<b>Actividad inventiva (Art. 8.1 LP 11/1986)</b>	Reivindicaciones 1-28	<b>SÍ</b>
	Reivindicaciones	<b>NO</b>

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de **aplicación industrial**. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

**Base de la Opinión:**

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como ha sido publicada.

**1. Documentos considerados:**

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	Drug Discovery Today 2003, vol. 8, nº 24, pp. 1128-1137	2003
D02	WO 2007/145158	21.12.2007
D03	EP 1609796	28.12.2005

**2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración**

La solicitud se refiere a los compuestos de fórmula general I (reivindicación 1) y al procedimiento de síntesis de dichos compuestos. También se refiere a su aplicación para obtener agregados supramoleculares con nanotubos de carbono y nanosomas útiles farmacológicamente.

El documento D1 divulga (páginas 1130 y 1131) procedimientos de síntesis de neoglicoconjugados que contienen 1,2,3-triazoles 1,4-disustituídos, obtenidos por cicloadición 1,3-dipolar de azidas y acetilenos terminales.

El documento D2 divulga (reivindicación 1) N-glicolípidos de fórmula general G-NHCO-R, donde G representa un residuo de azúcar y R un grupo hidrocarbonado insaturado de 10 a 39 átomos de C. Ninguno de los documentos D1 y D2 divulga neoglicolípidos como los reivindicados en la solicitud, por lo que las reivindicaciones 1-11 de la solicitud son nuevas y tienen actividad inventiva.

Los documentos D2 y D3 divulgan (ver reivindicaciones de ambos documentos) un método general para producir agregados supramoleculares de los compuestos de la reivindicación 1 de D3 con nanotubos de carbono. El método de obtención propuesto en la reivindicación 14 de la solicitud incluye una polimerización con luz UV de los compuestos de fórmula 1 de la reivindicación 1 de la solicitud y posterior separación de los anillos de glicolípidos polimerizados de los nanotubos de carbono, obteniendo un gliconanosoma de utilidad en biomedicina.

No se ha encontrado descrito el método de la solicitud para la preparación de los agregados de neoglicolípidos con nanotubos de carbono ni la obtención de los gliconanosomas, por lo que las reivindicaciones 12-28 de la solicitud son nuevas y tienen actividad inventiva. Por tanto, las reivindicaciones 1-28 de la solicitud cumplen los requisitos de novedad y actividad inventiva establecidos en los Art. 6.1 y 8.1 de la Ley de Patentes 11/1986.