

**UNIVERSIDAD DE GRANADA**

**Facultad de Ciencias**



**Empleo de cicloadiciones 1,3-dipolares y  
adiciones tipo Michael  
como nuevas metodologías para la síntesis  
de neoglicoconjugados multivalentes.  
Estudio de afinidad con lectinas.**

**TESIS DOCTORAL**

Francisco Manuel Pérez Balderas  
Granada, 2005

Editor: Editorial de la Universidad de Granada  
Autor: Francisco Manuel Pérez Balderas  
D.L.: Gr. 1745- 2005  
ISBN: 84-338-3598-x

**Empleo de cicloadiciones 1,3-dipolares y  
adiciones tipo Michael  
como nuevas metodologías para la síntesis  
de neoglicoconjugados multivalentes.  
Estudio de afinidad con lectinas.**

Memoria de la tesis doctoral presentada por  
Francisco Manuel Pérez Balderas  
para optar al Grado de  
Doctor en Ciencias Químicas  
por la Universidad de Granada

Granada, 2005

El Director de la tesis

Francisco Santoyo González  
Catedrático de Química Orgánica  
Universidad de Granada



*A mis padres*

*A mi hermana*



El trabajo recogido en la presente tesis doctoral ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia y Tecnología a través del proyecto BQU2002-03477.





## **Abreviaturas**



aa	Aminoácido
Ac	Acetilo
ac.	Acuoso
AChE	Enzima Acetilcolinesterasa
anh.	Anhidro
ANS	8-Anilino-1-naftalensulfonato
AZT	3'-Azido-3'-desoxitimidina
Bn	Bencilo
Boc	<i>tert</i> -Butoxicarbonil
BSA	Albúmina sérica bovina
Bz	Benzoilo
c.c.f.	Cromatografía en capa fina
calc.	Calculado
CD	Ciclodextrina
Ciclam	1,4,8,11-Tetraaza-ciclotetradecano
Ciclen	1,4,7,10-Tetraaza-ciclododecano
Cloramina-T	<i>N</i> -Cloro- <i>N</i> -sodio-4-metilbencenosulfonamida
Col.	Colaboradores
Con A	<i>Concanavalina A</i>
ConA-HRP	<i>Concanavalina A</i> marcada con peroxidasa de rabano picante
COSY	Espectroscopía de correlación ( <i>correlation spectroscopy</i> )
CRD	Dominio de reconocimiento de carbohidrato
d	Doblete
da	Doblete ancho
DAB-Am	Dendrímero de polipropilenimina
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno
DCC	<i>N,N'</i> -Diciclohexilcarbodiimida
dd	Doble doblete
ddd	Doble doble doblete
DEPT	<i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer</i>
DIB	Diacetoxiyodobenceno
DIPEA	Diisopropiletilamina
DMAP	4-Dimetilaminopiridina
DMF	<i>N,N</i> -Dimetilformamida
DMPU	1,3-Dimetil-2-oxohexahidropirimidina
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMTMM	4-(4,6-Dimetoxi[1,3,5]triazin-2-il)-4-metilmorfolinio
dt	Doble triplete
EDC	Clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
ELLA	<i>Enzyme Linked Lectin Assay</i>
EMAR	Espectro de masas de alta resolución
enc.	Encontrado
EPO	Eritropoietina

Equiv.	Equivalente
FAB+	Bombardeo por átomos rápidos ( <i>fast-atom bombardment</i> )
FMO	Orbital molecular de frontera
Fuc	Fucosa
Gal	Galactosa
Glc	Glucosa
GlcNAc	<i>N</i> -acetilglucosamina
h.	Horas
HATU	Hexafluorofosfato de <i>O</i> -(7-azabenzotriazol-1-il)- <i>N,N,N',N'</i> -tetrametiluronio
HBTU	Hexafluorofosfato de <i>O</i> -benzotriazol-1-il- <i>N,N,N',N'</i> -tetrametiluronio
HMQC	<i>Heteronuclear Multiple-Quantum Correlación</i>
HOBT	1-Hidroxibenzotriazol
HOMO	Orbital molecular ocupado más alto ( <i>Highest Occupied Molecular Orbital</i> )
IC <sub>50</sub>	Valor del 50 % de inhibición
iPr	Isopropilo
i-PrOH	Isopropanol
IR	Espectro infrarrojo
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
Lac	Lactosa
Liq.	Líquido
LUMO	Orbital molecular vacante más bajo ( <i>Lowest Unoccupied Molecular Orbital</i> )
m	Multiplete
MALDI-TOF	Desorción/ionización mediante láser asistida por matriz-tiempo de vuelo ( <i>Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Time Of Flight</i> )
Man	Manosa
MBP	Proteína de unión a manosa ( <i>Mannose binding protein</i> )
Me	Metilo
Me-man	Metil $\alpha$ -D-manopiranosido
min.	Minutos
MMPP	Monoperoxifalato de magnesio
Ms	Mesilo
MW	Irradiación por microondas
NBS	<i>N</i> -bromosuccinimida
NCS	<i>N</i> -clorosuccinimida
Neu5Ac	Ácido <i>N</i> -acetilneuramínico
NOESY	<i>Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy</i>
P.F.	Punto de fusión
Pa	Pascal
PAMAM	Dendrímero de poli(amidoamina)
PBS	Tampón fosfato
Ph	Fenilo
ppm	Partes por millon

Pr	Propilo
PTSA	Ácido paratoluensulfónico
Py	Piridina
Rend.	Rendimiento
RMN	Resonancia magnética nuclear
s	Singulete
sa	Singulete ancho
SDS	Dodecilsulfato sódico
SDS-PAGE	Electroforesis en gel de poliacrilamida de proteínas desnaturalizadas
sLe <sup>x</sup>	Sialil Lewis x
SLT	Toxina de tipo Shiga (Shiga like toxin) de <i>E. coli</i>
t	Triplete
t. a.	Temperatura ambiente
ta	Triplete ancho
TBTU	Tetrafluoroborato de <i>O</i> -benzotriazol-1-il- <i>N,N,N',N'</i> -tetrametiluronio
tBu	<i>Terc</i> -butilo
t-BuOH	2-metil-2-propanol
TFA	Ácido trifluoroacético
THF	Tetrahidrofurano
TMS	Trimetilsililo
TMSOTf	Triflato de trimetilsililo
Tol	Toluilo
Tol.	Tolueno
Tr	Tritilo
TRIS	Tris(hidroximetil)aminometano
VIH	Virus de inmunodeficiencia humana
WGA	Aglutinina de germen de trigo (wheat germ agglutinin)
δ	Desplazamiento químico



# Índice





<b>Abreviaturas</b>	<b>I</b>
<b>Índice</b>	<b>VII</b>
<b>Introducción</b>	<b>XI</b>
<b>Objetivos</b>	<b>XV</b>
<b>I. Antecedentes</b>	<b>1</b>
<b>Interacciones carbohidrato-proteína</b>	<b>3</b>
<b>Funciones de las lectinas en los seres vivos</b>	<b>5</b>
<b>Estructura de las lectinas</b>	<b>10</b>
<b>Efecto clúster glicosídico</b>	<b>13</b>
<b>Síntesis de neoglicoconjugados</b>	<b>18</b>
<b>Glicoclúster y glicodendrimeros</b>	<b>19</b>
<b>II. Síntesis de neoglicoconjugados basados en isoxazoles</b>	<b>55</b>
<b>Cicloadiciones 1,3-dipolares entre óxidos de nitrilo y alquinos</b>	<b>57</b>
<b>Síntesis de óxidos de nitrilo</b>	<b>58</b>
<b>Isoxazoles derivados de glicósidos</b>	<b>61</b>
<b>Discusión de los resultados</b>	<b>65</b>
<b>Síntesis de alquinos y precursores de óxido de nitrilo</b>	<b>66</b>
<b>Reacciones de cicloadición 1,3-dipolar de alquinos y óxidos de nitrilo</b>	<b>68</b>
<b>Ensayos de afinidad lectina-carbohidrato</b>	<b>73</b>
<b>III. Síntesis de neoglicoconjugados basados en triazoles</b>	<b>77</b>
<b>Antecedentes</b>	<b>79</b>
<b>Resultados y discusión</b>	<b>101</b>
<b>Síntesis de productos de partida y catalizadores</b>	<b>102</b>
<b>Síntesis de glicoconjugados mediante reacción de cicloadición de azidas y alquinos</b>	<b>104</b>
<b>Otras aplicaciones de la reacción de cicloadición de azidas y alquinos</b>	<b>112</b>
<b>Desacetilación de los glicoconjugados 321-336 y 339</b>	<b>117</b>

Ensayos de afinidad de los glicoconjugados 361-377 por <i>concanavalina A</i>	120
<b>IV. Nuevos procedimientos de síntesis de neoglicoconjugados empleando glicosil vinilsulfonas</b>	<b>125</b>
<b>Antecedentes</b>	<b>127</b>
<b>Discusión de los Resultados</b>	<b>135</b>
Síntesis de vinil sulfonas	135
Reacción entre vinil sulfonas y aminas	139
Ensayos de afinidad de los glicoconjugados 436, 444, 454, 459, 466 y 481 por <i>concanavalina A</i>	153
<b>V. Síntesis de neoglicoproteínas mediante el empleo de glicosil vinilsulfonas</b>	<b>157</b>
<b>Antecedentes</b>	<b>159</b>
<b>Resultados y discusión</b>	<b>165</b>
Síntesis de etenil 1-tio- $\beta$ -D-glucopiranosido S-dióxido	167
Glicosidación y caracterización de lisozima comercial	167
Glicosidación de otras proteínas: Taumatina	175
Ventajas de la glicosidación de proteínas con glicosil vinilsulfonas	177
<b>VI. Conclusiones</b>	<b>179</b>
<b>VII. Parte experimental</b>	<b>183</b>
<b>Materiales y métodos generales</b>	<b>185</b>
<b>Síntesis de neoglicoconjugados basados en isoxazoles</b>	<b>186</b>
<b>Síntesis de neoglicoconjugados basados en triazoles</b>	<b>205</b>
<b>Síntesis de neoglicoconjugados empleando glicosil vinilsulfonas</b>	<b>248</b>
<b>Síntesis de glicoproteínas</b>	<b>296</b>
<b>Ensayos tipo ELLA</b>	<b>297</b>
<b>Anexo I: Referencias</b>	<b>301</b>
<b>Anexo II: Productos sintetizados</b>	<b>317</b>

# **Introducción**



Durante los últimos años se ha incrementado de forma considerable el conocimiento de las funciones biológicas de los carbohidratos en los organismos vivos. El descubrimiento de la actividad de estos compuestos en seres vivos más allá de su mera función como fuentes de energía ha provocado la aparición de un nuevo campo de investigación denominado glicobiología.

El término glicobiología es aplicado, en un sentido amplio, al estudio de la estructura, la biosíntesis y la función de los carbohidratos en los seres vivos. Este campo es actualmente una de las áreas científicas de más rápido desarrollo debido, en buena parte, al gran interés suscitado por la actuación de los azúcares en procesos biológicos de gran importancia tales como reconocimiento celular, respuesta inmune o adhesión de patógenos a células entre otros. Los glicanos implicados en estos procesos se encuentran unidos covalentemente a proteínas o lípidos dando lugar a macromoléculas denominadas genéricamente glicoconjugados. Las glicoproteínas pueden ser *N*-glicosiladas si el glicano se encuentra unido a un grupo asparagina u *O*-glicosiladas si el glicano se encuentra unido a un grupo serina o treonina de la proteína.

Además de las propiedades que los glicanos aportan a los glicoconjugados tales como el aumento de la estabilidad de los mismos o su mayor solubilidad, las funciones de estos glicoconjugados en los seres vivos son muy diversas aunque podría ser resumida en 4 grandes grupos:

- Actúan como etiquetas en los procesos de unión de péptidos a una proteína en formación y su posterior plegado.
- Permiten dirigir el tráfico de estos glicoconjugados, tanto intracelular como extracelular.
- Actúan como mediadores y moduladores de la adhesión celular.

- Permiten la mediación y modulación de señales tanto intracelulares como extracelulares.

La utilidad de los glicoconjugados para estas funciones reside en la gran cantidad de información que los carbohidratos pueden portar, mucho mayor por unidad que la de los nucleótidos en ácidos nucleicos o la de los aminoácidos en proteínas. Para que esta información contenida sea de utilidad para los seres vivos es necesario algún mecanismo que sea capaz de “leer” esa información. Las encargadas de esto son unas proteínas que se unen a los carbohidratos de forma no covalente y son capaces de discriminar entre diferentes carbohidratos, estas proteínas son denominadas de forma genérica lectinas. Así, lectinas situadas en la superficie celular de una célula son capaces de reconocer los glicanos de glicoproteínas situadas en la superficie celular de otras células del mismo tejido. De la misma forma virus o bacterias pueden unirse a esas células para posteriormente colonizarlas.

Dada la gran importancia de los procesos en los que intervienen interacciones lectina-glicoconjugado en los últimos años se ha desarrollado un gran esfuerzo para el estudio de las mismas. Sin embargo el empleo de estructuras nativas presenta gran dificultad, debido entre otros factores a la gran heterogeneidad de los glicoconjugados y a la complejidad de los glicanos que intervienen. Se ha comprobado que solo un monosacárido o una pequeña porción oligosacáridica del glicano son reconocidos por la lectina, siendo el resto del carbohidrato un brazo que une esta pequeña porción del glicano con la proteína al mismo tiempo que los aleja para posibilitar la unión entre la lectina y los carbohidratos. Por ello los estudios de afinidad entre lectinas y carbohidratos se realizan con estructuras que comprenden uno o varios restos monosacáridos u oligosacáridos reconocidos por la lectina unidos a una estructura central mediante brazos de mayor o menor longitud y rigidez, estructuras denominadas neoglicoconjugados. Estos neoglicoconjugados presentan entre otras las siguientes ventajas en el estudio de la unión proteína-carbohidrato:

- Son de estructura perfectamente conocida.
- Pueden obtenerse con una gran pureza.
- Al incorporar solamente la parte activa del azúcar se facilita en gran medida la síntesis de los mismos ya que no son precisas complejas síntesis de polisacáridos con gran cantidad de protecciones y desprotecciones.
- Se facilita la posible modificación de la naturaleza y longitud del espaciador para optimizar la afinidad del neoglicoconjugado a la lectina.

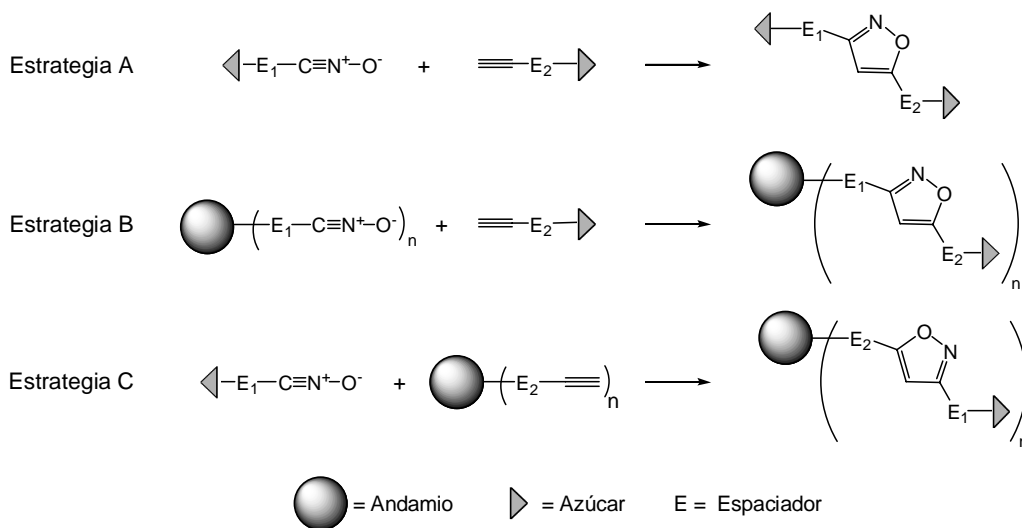
## **Objetivos**





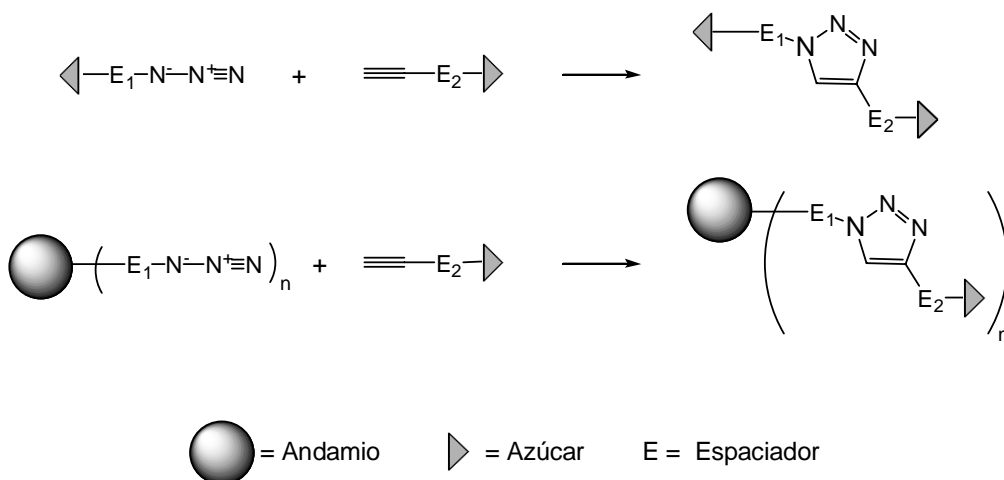
Desde los primeros estudios de interacción lectina-neoglicoconjugado realizados por Lee y col. a principios de la década de los 90 se ha llevado a cabo la síntesis de numerosos neoglicoconjugados que como se verá en el capítulo I dedicado a antecedentes de la presente tesis doctoral están basados en un gran número de andamios. Sin embargo, los grupos funcionales que han sido empleados para la unión de restos de carbohidrato a andamios que los contienen presentan una diversidad sorprendentemente baja. En nuestro laboratorio creemos de gran interés desarrollar nuevas y eficaces metodologías de síntesis de neoglicoconjugados que permitan la obtención de glicoconjugados con elevados rendimientos y con una estereoquímica definida.

En primer lugar vamos a emplear la reacción de cicloadición 1,3-dipolar de óxidos de nitrilo y alquinos terminales que da lugar exclusivamente a isoxazoles 3,5-disustituídos usualmente con buenos rendimientos (capítulo II). Ya que los óxidos de nitrilo no suelen ser estables van a ser obtenidos *in-situ* a partir de precursores adecuados de los mismos tales como nitroalcanos y oximas. Nos centraremos en el estudio de la reacción de un óxido de nitrilo derivado de un azúcar con un azúcar que contiene un grupo alquino para dar lugar a sistemas diméricos (estrategia A). La reacción de estos azúcares que contienen un resto propargilo con compuestos aromáticos que contienen dos grupos precursores de óxido de nitrilo nos permite la obtención de sistemas diméricos (estrategia B), aunque en este caso la presencia de un andamio aromático así como la mayor distancia entre los restos de azúcar puedan hacer variar la afinidad de los mismo por lectinas. Por último, el empleo de óxidos de nitrilo derivados de azúcares con polialquinos derivados del pentaeritritol nos permite la obtención de sistemas tri- y tetravalentes (estrategia C).



**Esquema 1.** Síntesis de neoglicoconjugados mediante la reacción de óxidos de nitrilo y alquinos.

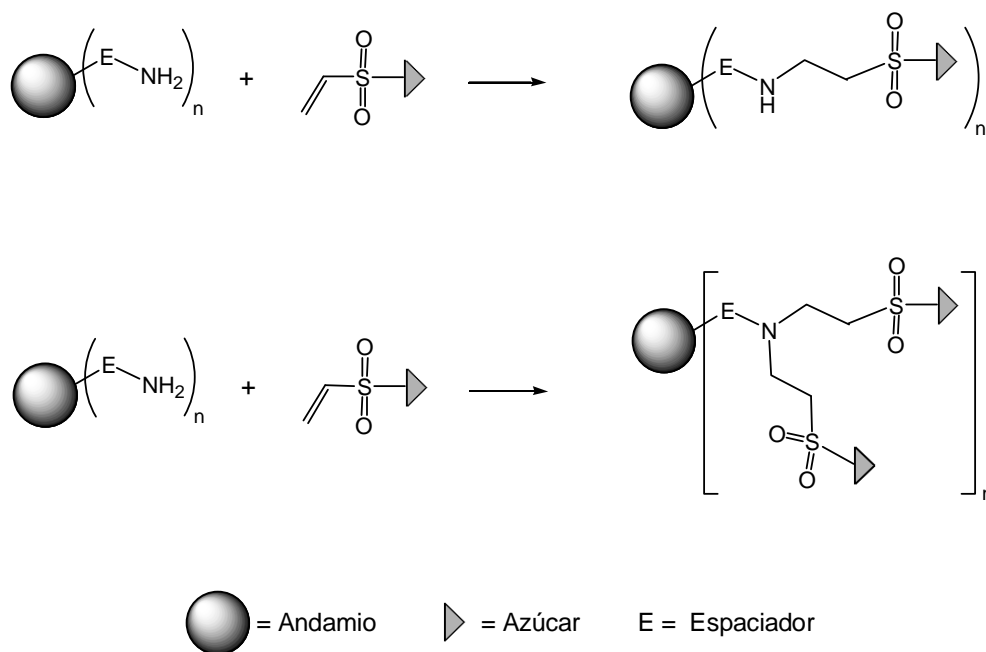
En el capítulo III llevaremos a cabo la síntesis de neoglicoconjugados mediante la reacción de cicloadición de azidas y alquinos que da lugar a triazoles, esta reacción es regioselectiva cuando es catalizada por sales de Cu (I). Vamos a sintetizar sistemas diméricos mediante reacción de un azidoetilglicósido con un azúcar conteniendo un resto alquino y diversos sistemas multiméricos mediante reacción de un compuesto que contiene varios grupos azida, que actuará de andamio, con estos azúcares que contienen un resto alquino. Asimismo serán sintetizados sistemas monoméricos que contienen un grupo triazol que van a ser empleados como referencia para el estudio de la afinidad de estos neoglicoconjugados por lectinas.



**Esquema 2.** Síntesis de neoglicoconjugados por reacción de azidas y alquinos.

Las estrategias de síntesis empleadas en los capítulos II y III se basan en reacciones formación de heterociclos para dar lugar a neoglicoconjugados, en el

capítulo IV por el contrario vamos a recurrir a una reacción de tipo Michael entre un compuesto que contiene uno o más grupos amina que va a actuar como andamio y vinilsulfonas derivada de diferentes azúcares. La elección de condiciones adecuadas de reacción nos permitirá bien la obtención de productos en los que la amina se adiciona a un solo grupo vinilsulfona bien la obtención de productos en los que la amina se adiciona a dos grupos vinilsulfona como se puede observar en el esquema 3.



**Esquema 3.** Síntesis de neoglicoconjugados mediante reacción de aminas y vinilsulfonas.

En cada uno de estos tres capítulos se procederá a evaluar la capacidad de unión de los neoglicoconjugados obtenidos a lectinas por las que poseen afinidad. Dicha evaluación va a ser llevada a cabo mediante la técnica de ELISA, en esta técnica se lleva a cabo la inhibición competitiva de la unión de dicha lectina y un azúcar soportado en placas de titulación mediante los diferentes neoglicoconjugados, tomando como referencia un azúcar determinado es posible evaluar la capacidad de inhibición de estos neoglicoconjugados de forma cuantitativa.

Por último, dado que las vinilsulfonas derivadas de azúcares presentan una alta reactividad por aminas y no es necesario la adición de ninguna sustancia para llevar a cabo dicha reacción vamos a proceder a la evaluación de la capacidad de dichas vinilsulfonas para la glicosidación de proteínas, este estudio va a ser llevado a cabo en el capítulo V de la presente tesis doctoral con la colaboración del Dr. Javier López Jaramillo.



## **I. Antecedentes**



## Interacciones carbohidrato-proteína<sup>1</sup>

A pesar de que las lectinas fueron descubiertas en los primeros años del siglo XX no fue hasta los años 60 cuando comenzaron a ser estudiadas con atención, poco a poco fueron desentrañadas las múltiples funciones que desempeñan en los organismos vivos lo que ha provocado un aumento en el interés por el estudio de su estructura. Las lectinas son proteínas carentes de actividad catalítica y de origen no inmunológico que se encuentran presentes en las células en proporciones variables dependiendo del tipo de tejido. Se trata de grupo heterogéneo de proteínas de diferente tamaño y estructura, muchas de las cuales se caracterizan por su capacidad de aglutinación de células. De hecho, el método clásico utilizado para la detección y caracterización de lectinas, se basa en su capacidad para aglutinar y precipitar eritrocitos, hemoaglutinación que puede ser inhibida por la adición de azúcares específicos de esa lectina. Generalmente las lectinas no reconocen el oligosacárido completo del glicoconjugado, sino monosacáridos o pequeños dominios oligosacáridicos.

En ocasiones las lectinas han sido clasificadas según el monosacárido que inhibe la hemoaglutinación para esta lectina. La mayoría de las lectinas exhiben afinidad por uno de los siguientes monosacáridos: manosa, galactosa/*N*-acetilgalactosamina, *N*-acetilglucosamina, fucosa y ácido *N*-acetilneuramínico (ácido siálico). Sin embargo, en general, las lectinas presentan baja afinidad por los monosacáridos. Además, a pesar de ser selectivas, algunas toleran variaciones en la naturaleza y configuración del sustituyente situado en C-2 del anillo de piranosa. Así, numerosas lectinas que

---

<sup>1</sup> Para una introducción general de los procesos de interacción entre proteínas y glicoconjugados naturales, véase:

a) Taylor, M. E.; Drickamer, K. *Introduction to Glycobiology*, Oxford University Press Inc., New York, **2003**.

b) *Essentials of Glycobiology* ( Varki, A.; Cummings, R.; Esko, J.; Freeze, H.; Hart, G.; Marth, J. eds.) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, **1999**.

c) Dwek, R. A. *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 683-720.

reconocen galactosa presentan también afinidad por la *N*-acetilgalactosamina y las que reconocen manosa suelen presentar afinidad por la glucosa. Además de esto, algunas lectinas no presentan afinidad alguna por monosacáridos, siendo específicas de oligosacáridos. Incluso las que presentan afinidad por monosacáridos suelen presentar mayor afinidad por oligosacáridos. En la tabla 1 aparecen lectinas clasificadas según el monosacárido que reconocen así como el oligosacárido preferido por las mismas y la afinidad relativa del oligosacárido frente al monosacárido.

Nombre de la lectina	Origen de la lectina	Monosacárido preferido	Oligosacárido preferido	Afinidad relativa
Concanavalina A	Guisante	Manosa	Man $\alpha$ 6(Man $\alpha$ 3)Man	130
GNL	<i>Galanthus nivalis</i>	Manosa	Man $\alpha$ 6(Man $\alpha$ 3)Man	
LOL	<i>Lathyrus ochrus</i>	Manosa	Octasacárido conteniendo Man	
WGA	Germen de trigo	<i>N</i> -Acetilglucosamina	GlcNAc $\beta$ 4GlcNAc $\beta$ 4 GlcNAc	3000
MNA	Cacahuete	Galactosa	Gal $\beta$ 3GalNAc	50
UEA I	<i>Ulex europeus</i>	Fucosa	Fuc $\alpha$ 2Gal $\beta$ 4GlcNAc	900
	<i>Sambucus nigra</i>	Ácido siálico	NeuAc $\alpha$ 2,6Gal	1600

**Tabla 1.** Especificidad de algunas lectinas (Tomado de referencia 2).

Por lo tanto esta clasificación puede llevar a error, por eso muchas veces las lectinas son clasificadas según su estructura molecular. Según esta clasificación<sup>2</sup> las lectinas pueden ser de tres tipos:

**Lectinas simples:** Son lectinas constituidas por un pequeño número de subunidades, no necesariamente idénticas, de peso molecular generalmente inferior a 40 kDa. Cada subunidad presenta un lugar de reconocimiento de carbohidrato y ocasionalmente otro dominio adicional. En esta clase se encuentran prácticamente todas las lectinas vegetales así como muchas galectinas, que son una familia de lectinas animales que reconocen galactosa. Algunas de estas lectinas precisan de cationes complejados para ser activas, estos cationes suelen ser Ca<sup>2+</sup> y Mn<sup>2+</sup>.

**Lectinas tipo mosaico o multidominio:** Este grupo incluye diversas proteínas víricas y lectinas animales del tipo C, P e I. Son moléculas compuestas cuyo peso molecular está comprendido en un gran rango y están formadas por numerosos dominios, algunos de los cuales no tiene capacidad de unión a carbohidratos. Algunas de estas lectinas precisan de la complejación de Ca<sup>2+</sup> para ser activas.

**Lectinas de tipo ensamblado molecular:** Estas lectinas son comunes en bacterias, se trata de filamentos helicoidales compuestos por subunidades

<sup>2</sup> Lis, H.; Sharon, N. *Chem.Rev.* **1998**, 98, 637-674.



proteicas de diverso tipo, en un orden bien definido, generalmente solo una de estas subunidades presenta un dominio de complejación de carbohidratos, el resto cumple funciones estructurales.

Simples	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Legumbres</li> <li>-Cereales</li> <li>-Otras lectinas vegetales</li> <li>-Galectinas</li> </ul>
Mosaico	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Hemaglutininas virales</li> <li>-Lectinas animales Tipo C</li> <li>-Lectinas animales Tipo I</li> </ul>
Ensamblado Macromolecular	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Lectinas bacterianas</li> </ul>

Tabla 2. Clasificación de los principales tipos de lectina según su estructura.

## Funciones de las lectinas en los seres vivos

### -Lectinas virales:

Los virus emplean procesos de interacción proteína-carbohidrato para fijarse a las células que van a invadir. Éste es el primer paso para la infección de células, posteriormente se producirá una endocitosis de la cápsula vírica mediante diferentes mecanismos y un desensamblado parcial de la cápsula vírica que dejará libre el genoma vírico y en algunos casos ciertas proteínas que ayudan a la labor de replicación de ese genoma.<sup>3</sup>

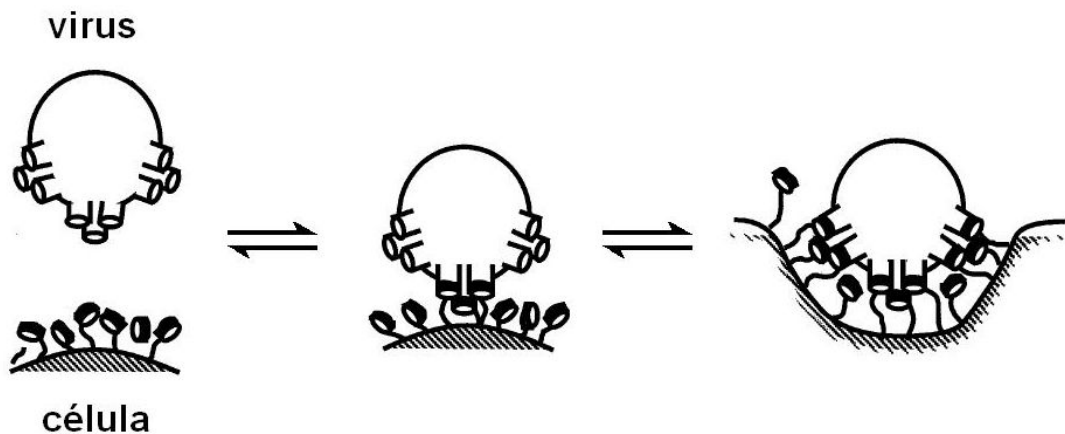


Figura 1. Unión entre virus influenza y célula previo a la endocitosis del mismo.

<sup>3</sup> Smith, A. E.; Helenius, A. *Science* **2004**, *304*, 237-242.

Algunos virus como el VIH-1 o el de la hepatitis C poseen glicoconjugados que se unen a lectinas de la célula huésped. Otros virus como influenza poseen lectinas, denominadas hemaglutininas virales, que se unen a glicoconjugados de la célula huésped. Estos glicoconjugados o lectinas se encuentran bien en la superficie de la cápsula bien en la bimembrana lipídica que rodea al virus en caso de ciertos virus que como el VIH están recubiertos por dicha membrana lipídica.

Mientras algunos virus parecen emplear lectinas como meros factores de unión a la célula huésped sin ninguna relación con los procesos que provocan la endocitosis del virus, en otros casos la lectina induce procesos que activan el mecanismo de endocitosis. Este es el caso del virus Sendai<sup>4</sup> que contiene dos glicoproteínas en su superficie: una hemaglutinina neuraminidasa y una proteína de fusión con la membrana célula. La unión de la hemaglutinina al glicoconjugado del receptor provoca un cambio conformacional en la misma permitiendo la unión con la proteína de fusión, esta unión activa la proteína de fusión permitiendo la endocitosis del virus. Otras hemaglutininas como la del virus influenza parecen actuar como lectina y como proteína de fusión.<sup>5</sup> La hemaglutinina del virus influenza es una proteína compuesta por 2 polipéptidos HA<sub>1</sub> y HA<sub>2</sub> unidos mediante un puente disulfuro, que se asocian covalentemente para formar un trímero situado en la membrana viral.<sup>6</sup>

### **Lectinas bacterianas:**

Las lectinas bacterianas pueden ser de dos tipos: toxinas y lectinas que se emplean para la unión de bacterias a la célula huésped. Las toxinas bacterianas son proteínas de gran simetría con estructura AB<sub>5</sub>, que contienen 5 subunidades capaces de ligar carbohidratos y una unidad que es la que actúa como toxina. Las segundas son lectinas que la bacteria emplea para fijarse a la célula que será colonizada e impide el arrastre de las bacterias por los fluidos extracelulares.

### **Lectinas vegetales:**

A pesar de que fueron las primeras en ser descubiertas su función aún no ha sido desentrañada. Hasta el momento hay dos teorías sobre esta función. Una de ellas es que estas lectinas actúan como mediadores de simbiosis entre plantas leguminosas y microorganismos fijadores de nitrógeno,<sup>6</sup> esta teoría explicaría porqué estos microorganismos son altamente selectivos respecto a la leguminosa de la que es simbiote y se basa en el hecho que la lectina de una leguminosa en particular se une a carbohidratos de la superficie bacteriana de su bacteria simbiote y no de bacterias simbiotes de otras leguminosas. Esta teoría no puede, sin embargo, explicar hechos como que la mayoría de las lectinas se encuentran situadas en las semillas y otros vectores reproductivos de plantas ni que las lectinas son producidas por multitud de vegetales y no solo por leguminosas. La segunda teoría es más general y postula que

---

<sup>4</sup> Karlsson, K.-A. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1995**, 5, 622-635.

<sup>5</sup> Skehel, J. J.; Wiley, D. C. *Annu. Rev. Biochem.* **2000**, 69, 531-569.

<sup>6</sup> Sharon, N.; Lis, H. *Science* **1989**, 246, 227-234.

las lectinas vegetales actúan como protección frente a hongos que infectan estas plantas y animales que se alimentan de las mismas ya que se ha observado una inhibición en el crecimiento de hongos en presencia de algunas lectinas y se sabe que la ingestión de ciertas legumbres poco cocinadas o de las lectinas que proceden de estas legumbres puede resultar toxica para ciertos animales.<sup>2</sup>

### Lectinas animales:

Las lectinas animales desempeñan una gran variedad de funciones en estos organismos. Intervienen, entre otras, en funciones de defensa frente a patógenos, tráfico celular, regulación inmune o adhesión celular. La enorme cantidad de lectinas animales descubierta en los últimos años puede ser clasificada estructuralmente en varias familias como se puede apreciar en la tabla 3.

---

#### Principales familias de lectinas animales

---

- Galectinas (tipo S)
  - Tipo C
  - Tipo I
  - Tipo P
  - Pentraxinas
- 

**Tabla 3.** Principales familias de lectinas animales.

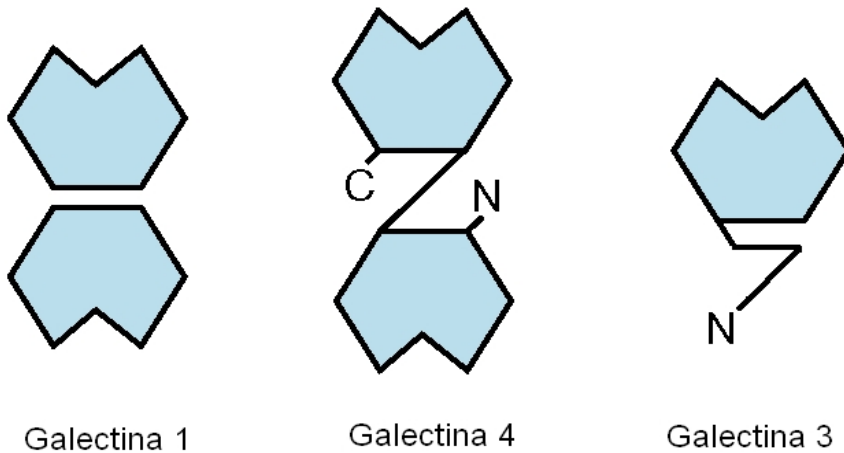
Las galectinas son lectinas solubles que reconocen restos Gal $\beta$ (1,3)GlcNAc o Gal $\beta$ (1,4)GlcNAc, presentando una alta afinidad por polilactosaminas. Su estructura es diversa, algunas de ellas poseen un solo sitio de reconocimiento de carbohidrato y son capaces de dimerizar mediante interacciones de tipo no covalente, entre estas se encuentran las galectina-1, -2 y -10. Otras como las galectina-4, -6, -8 y -9 son proteínas con dos sitios de reconocimiento de carbohidratos unidos a través de una cadena polipeptídica. Por último, las galectina-3, -5 y -7 poseen un sitio de reconocimiento de carbohidratos y una cadena polipeptídica que impide la dimerización de las mismas salvo a altas concentraciones de proteína.<sup>7</sup> La función principal de estas galectinas es la modulación de la adhesión celular, pudiendo actuar como inhibidores o como efectores de esta adhesión.<sup>8</sup> Otras funciones que realizan en organismos vivos son la activación de procesos celulares mediante la regulación en la captación de Ca<sup>2+</sup> del medio, regulación del crecimiento celular y de la apoptosis de células T lo que evita el desarrollo de células T autoreactivas y la extensión de la respuesta inmune.<sup>9</sup>

---

<sup>7</sup> Brewer, C. F.; Miceli, M. C.; Baum, L. G. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2002**, *12*, 616-623.

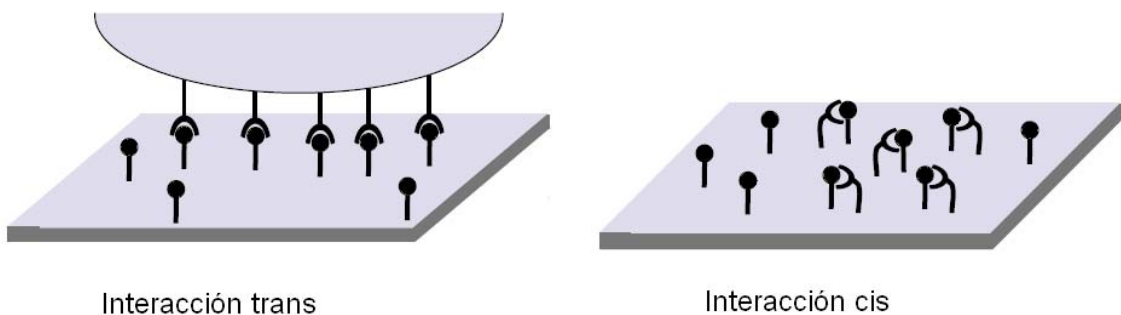
<sup>8</sup> Hughes, R. C. *Biochimie* **2001**, *83*, 667-676.

<sup>9</sup> Liu, F.-T. *Clin. Immunol.* **2000**, *97*, 79-88.



**Figura 2.** Tipos de galectinas (tomado de referencia 1a).

Las lectinas de tipo I pertenecen a la superfamilia de las inmunoglobulinas, familia de proteínas la mayoría de las cuales actúan en procesos de unión proteína-proteína. La mayor parte de las lectinas de tipo I presentan afinidad por ácido siálico y son denominadas siglecs.<sup>10</sup> Los siglecs de una célula pueden interaccionar con glicoconjugados de la misma célula, lo que se denomina interacción *cis* o con glicoconjugados de otras células (interacción *trans*)<sup>11</sup>. Ambos tipos de uniones son importantes para las funciones que los siglecs desempeñan. Así, mediante interacciones de tipo *cis* los CD22 modulan la activación de leucocitos mientras que mediante interacciones de tipo *trans* este mismo CD22 actúa como inhibidor de las células B. Otros siglecs ejercen otras importantes funciones en organismos: los denominados siglec-4 permiten mantener la integridad de la vaina de mielina que recubre células nerviosas mientras los CD33 parecen desempeñar un papel importante en funciones de defensa ya que están presentes en el sistema inmune innato.



**Figura 3.** Tipos de interacción entre siglecs y glicoconjugados (tomado de referencia 33).

<sup>10</sup> Powell, L. *Essentials of Glycobiology* (Varki, A.; Cummings, R.; Esko, J.; Freeze, H.; Hart, G.; Marth, J. eds.) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, **1999**, 363-378.

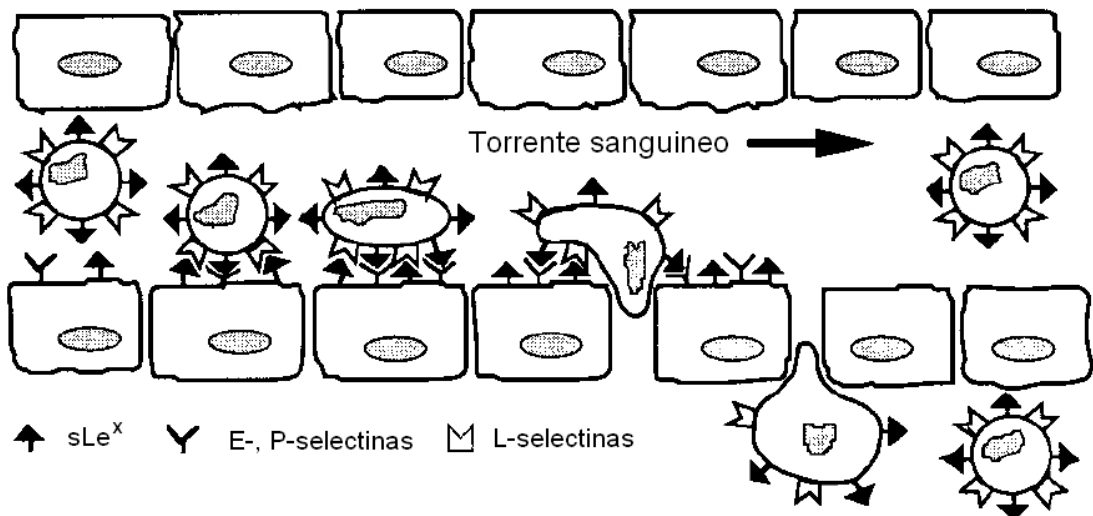
<sup>11</sup> Crocker, P. R. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2002**, *12*, 609-615.

Las lectinas tipo C se caracterizan por precisar de  $\text{Ca}^{2+}$  para su funcionamiento. Estas lectinas se subdividen en varios tipos:

- Lectinas endocíticas: Permiten la endocitosis de los ligandos a los que se unen. Cuando el ligando se une a la lectina en la superficie celular, se produce la internalización del complejo y su llegada a los compartimentos endosomáticos de la célula. La disociación del complejo ligando-lectina esta provocada por el bajo pH existente en esos compartimentos tras la cual la lectina vuelve a la superficie celular.

- Colectinas: Son un tipo de lectinas que contienen un sitio de unión de carbohidratos y un dominio tipo colágeno. Este dominio ayuda a la formación de grandes complejos que contienen entre 9 y 27 monómeros. Estas lectinas contribuyen a la respuesta inmune innata previa inducción de una respuesta mediada por los anticuerpos.

- Selectinas: Son lectinas expresadas en el endotelio vascular y en los leucocitos circulantes. Su función es fijar los leucocitos en zonas endoteliales próximas a lugares donde se produce inflamación y ayudar a su posterior salida de los vasos hacia estos lugares de inflamación.<sup>12</sup> El proceso comienza en las zonas de inflamación por la liberación de citosinas que una vez llegan a las células endoteliales provocan el despliegue de selectinas en la membrana exterior de las células endoteliales. Estas selectinas reconocen grupos sialil Lewis X de los leucocitos circulantes y permiten la fijación y movimiento rotatorio de los leucocitos en las paredes vasculares hasta su trasvase hacia las zonas de inflamación.<sup>13</sup>



**Figura 4.** Mecanismo por el cual los leucocitos viajan desde el torrente sanguíneo hasta el lugar de inflamación (Tomado de referencia 31).

<sup>12</sup> McEver, R. P. *Curr. Opin. Cell. Biol.* **2002**, *14*, 581-586.

<sup>13</sup> Simanek, E. E.; McGarvey, G. J.; Jablonowski, J. A.; Wong, C.-H. *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 833-862.

La función de todas las lectinas animales comentadas anteriormente tiene lugar en el exterior de la célula, sin embargo, también hay lectinas que actúan en el interior de las células en funciones de gran importancia como pueden ser el transporte de glicoconjugados por el interior de la célula o su actuación como chaperones durante la síntesis de proteínas en el retículo endoplasmático. Esta última función es desempeñada por calnexina y por calreticulina, lectinas análogas que reconocen N-glicanos de glicopoliaminoácidos recientemente sintetizados y ayudan a su plegado para dar lugar a glicoproteínas funcionales.<sup>14</sup>

## Estructura de las lectinas

La lectina *concanavalina A* fue la primera en ser cristalizada. Además ha sido la lectina cuya estructura ha sido más profundamente estudiada tanto aisladamente como a través de sus complejos con diferentes azúcares. Dado su interés en el desarrollo de la presente tesis de doctorado, vamos a centrarnos en la estructura de la misma aunque se incluirán datos de otras lectinas para enfatizar tanto las similitudes como las diferencias entre las diversas lectinas.

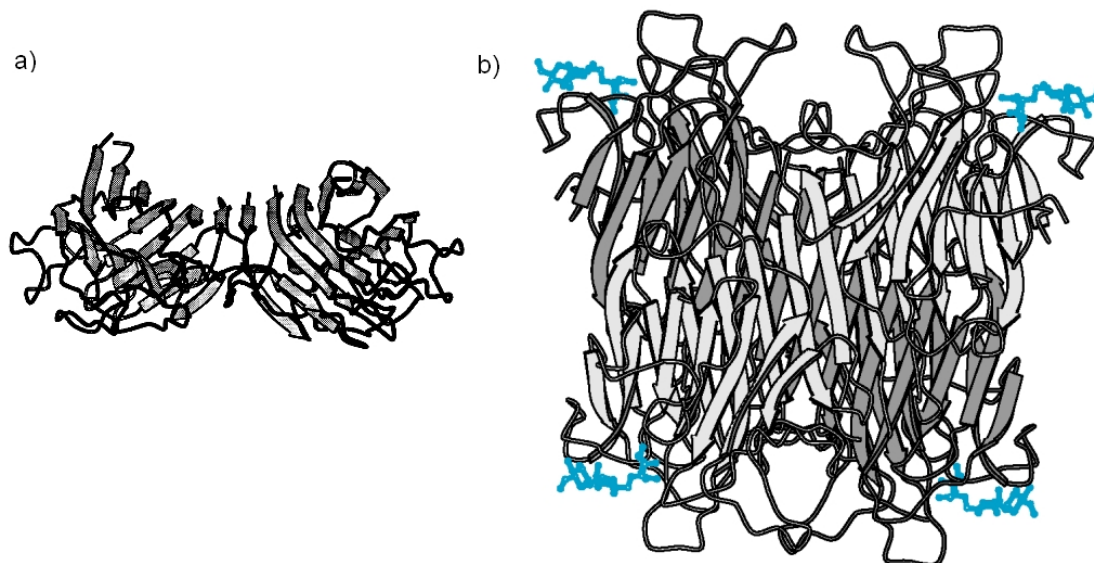
Las lectinas de legumbres son proteínas que contienen un solo sitio de unión de carbohidratos. Estas lectinas forman dímeros quedando los sitios de unión de carbohidratos en los extremos del dímero, algunas de estas lectinas forman tetrámeros que son en realidad dímeros de dímeros. La *concanavalina A* se encuentra como dímero a pH menor de 5.0 y como tetrámero a pH mayor de 7.0, entre estos valores de pH la forma dimérica y la tetramérica se encuentran en equilibrio, aunque además de pH dependiente este equilibrio parece depender también de la concentración de sal, así cuando la concentración de NaCl es alta tiende a estar en forma de tetrámero.<sup>15</sup> Otras lectinas presentan más de 1 sitio de reconocimiento de carbohidratos: cada monomero de la WGA (*Wheat Germ Agglutinin*) posee 4 posibles sitios de unión de carbohidratos debido a que la secuencia de aminoácidos de esta proteína está compuesta por 4 subdominios muy similares, al ser esta lectina dimérica la lectina posee 8 posibles sitios de unión aunque solo 4 de ellos parecen tener capacidad de reconocimiento de carbohidratos.<sup>16</sup>

---

<sup>14</sup> Helenius, A.; Aebi, M. *Science* **2001**, *291*, 2364-2369.

<sup>15</sup> Dam, T. K.; Brewer, C. F. *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 387-429.

<sup>16</sup> Rini, J. N. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **1995**, *24*, 551-577.



**Figura 5.** Estructura de la *Concanavalina A* en forma dimérica (a) y tetramérica (b).

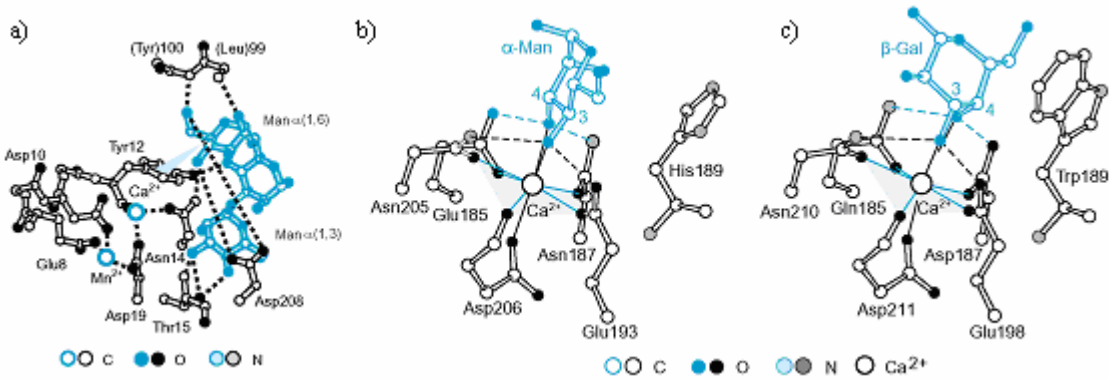
El sitio de unión de carbohidratos de las lectinas se sitúa en la superficie de la misma formando depresiones poco profundas, al contrario que en otras proteínas que se unen a azúcares como ciertas enzimas que envuelven completamente los azúcares en profundas depresiones.

En lectinas, la unión con los carbohidratos se lleva a cabo principalmente mediante enlaces de puentes de hidrógeno entre los grupos hidroxilo de los azúcares y los aminoácidos capaces de formar puentes de hidrógeno, aunque también contribuyen en gran medida interacciones de Van der Waals entre aminoácidos aromáticos y zonas hidrofóbicas del carbohidrato.

Las lectinas de legumbres precisan de  $\text{Ca}^{2+}$  y de algún metal de transición preferentemente  $\text{Mn}^{2+}$  para su unión a carbohidratos. Estos cationes se sitúan en una zona próxima al sitio de unión de carbohidratos y aunque no participan activamente en las interacciones con carbohidratos estabilizan la proteína en una conformación adecuada para el reconocimiento de carbohidratos. Cuando no hay metales presentes, la región de la proteína en la que se sitúan los mismos se encuentra parcialmente desplegada desapareciendo totalmente el lugar donde se acomoda el  $\text{Ca}^{2+}$  y parcialmente el lugar de unión de  $\text{Mn}^{2+}$ . El primer catión que se une a la lectina es el  $\text{Mn}^{2+}$  lo que provoca un reordenamiento en los aminoácidos de la zona formándose el lugar donde se une el  $\text{Ca}^{2+}$ . La posterior unión del  $\text{Ca}^{2+}$  termina de estabilizar la proteína en la configuración activa para el reconocimiento de carbohidratos.<sup>17</sup> La mayoría de las lectinas no precisan de cationes para llevar a cabo su labor, salvo el caso de las lectinas animales de tipo C que precisan de  $\text{Ca}^{2+}$  en su centro de

<sup>17</sup> Loris, R.; Hamelryck, T.; Bouckaert, J.; Wyns, L. *Biochim. Biophys. Acta* **1998**, 1383, 9-36.

reconocimiento de carbohidratos. En estas lectinas, al contrario que en las lectinas de leguminosas, el  $\text{Ca}^{2+}$  actúa activamente en la unión del carbohidrato. Por otra parte la mayoría de las lectinas contienen moléculas de agua que actúan como puente entre los hidroxilos de los carbohidratos y los aminoácidos más alejados.



**Figura 6.** Centro de reconocimiento de carbohidratos de la *concanavalina A* (a) y de las lectinas de tipo C MBP (b) y asialoglicoproteína (c). Obsérvese que en (a) los cationes  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$  no intervienen directamente en el reconocimiento del carbohidrato pero sí se encuentran unidos a aminoácidos que forman puentes de hidrógeno con el carbohidrato mientras en (b) y (c) el  $\text{Ca}^{2+}$  interviene activamente en el reconocimiento. Es también destacable la similitud entre los CRD de MPB y asialoglicoproteína, una pequeña diferencia en los mismos hace que presenten afinidad por monosacáridos diferentes (tomado de referencia 1a).

El sitio de unión de carbohidratos de las lectinas de leguminosas tiene una estructura muy similar entre ellas. Cuando se superponen las estructuras de estos sitios de unión de lectinas específicas por manosa con las de lectinas específicas por galactosa se observa que la forma de ese sitio de unión está bien conservada, sin embargo pequeñas diferencias en el mismo provocan un gran cambio en la especificidad por monosacáridos debido a un sutil cambio en la disposición del monosacárido y por lo tanto en la correspondencia de los enlaces de hidrógeno entre aminoácidos y grupos hidroxilo del monosacárido. En general pequeñas diferencias en los aminoácidos del sitio de unión de carbohidratos o en su disposición estérica provocan grandes diferencias en la afinidad por carbohidratos, así la hemagutina subtipo H3 del virus influenza de humanos posee una alta afinidad por  $\text{Neu5Ac}\alpha(2,6)\text{lac}$  mientras cepas que afectan a aves presentan mayor afinidad por  $\text{Neu5Ac}\alpha(2,3)\text{lac}$  comprobándose que la única diferencia existente entre ellos son unos pocos aminoácidos del sitio de unión de carbohidratos.<sup>5</sup>

La *concanavalina A* presenta gran afinidad por el trisacárido  $\text{Man}\alpha(1,6)[\text{man}\alpha(1,3)]\text{man}$  que se encuentra presente en los glicanos de todas las *N*-glicoproteínas. La estructura cristalina del complejo entre este trisacárido y la Con A muestra que la configuración adoptada por el trisacárido en el complejo posee una baja energía. En el caso de monosacáridos, el sitio de unión tanto de manosa como de



glucosa corresponde con el lugar de la superficie de la proteína en la que se sitúa la manosa no reductora unida en  $\alpha(1,6)$  de trimanósido antes referido.<sup>18</sup>

## Efecto clúster glicosídico

A diferencia de lo que ocurre con las interacciones proteína-proteína, las uniones proteína-carbohidrato suelen ser de tipo débil, con constantes de afinidad en el rango de mM. Esta baja afinidad es incompatible con la función biológica de estas interacciones. El hecho de que tanto las lectinas como los azúcares presenten en la naturaleza un alto grado de polivalencia parece indicar que la gran afinidad necesaria se basa en múltiples uniones simultáneas de carbohidratos y lectinas. Diversos estudios han demostrado que la unión de lectinas multiméricas con carbohidratos polivalentes aumenta de forma extraordinaria la constante de afinidad. Este aumento es, en algunos casos, entre  $10^6$  y  $10^9$  veces respecto a monómeros.<sup>19</sup> Este fenómeno se denomina *efecto clúster glicosídico* y es definido como “un aumento de la afinidad del ligando multivalente a menudo más allá del esperado por el incremento en la concentración del azúcar debido a la presencia de múltiples residuos de azúcar”.<sup>20</sup>

En un principio se diferenció entre el efecto clúster producido por dominios de carbohidratos de gran tamaño como glicoproteínas o glicopolímeros denominado efecto macroclúster y el producido por pequeños dominios de carbohidratos denominado efecto miniclúster.<sup>21</sup> El efecto macroclúster ha sido observado en lectinas tanto animales como vegetales y parece aumentar con el aumento del número de restos de azúcar en el glicoconjugado independientemente de la geometría del mismo, el efecto miniclúster es altamente selectivo dependiendo tanto del tipo de lectina como de la estructura del glicoconjugado.<sup>22</sup>

---

<sup>18</sup> Naismith, J. H.; Field, R.A. *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 972-976.

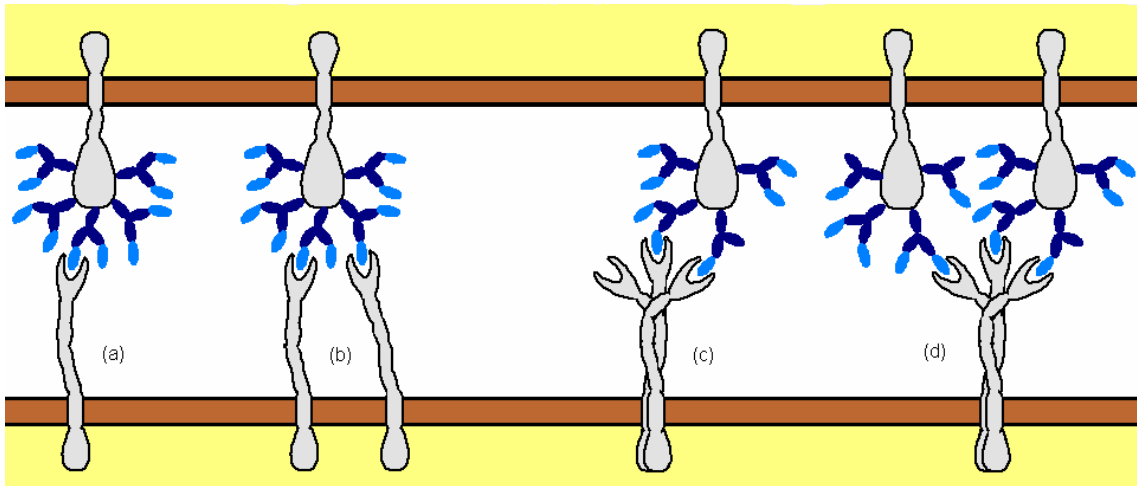
<sup>19</sup> Lee, Y. C.; Lee, R.T. *Acc. Chem. Res.* **1995**, *28*, 321-327.

<sup>20</sup> Lee, R. T.; Lee, Y. C. en *Neoglycoconjugates: Preparation and Applications* (Lee, Y. C.; Lee, R. T. eds) Academic Press Inc., San Diego, California, **1994**, 23-50.

<sup>21</sup> Lee, Y. C. *Biochem. Soc. Trans.* **1993**, *21*, 460-463.

<sup>22</sup> a) Fan, J.-Q.; Quesenberry, M. S.; Takegawa, K.; Iwahara, S.; Kondo, A.; Kato, I.; Lee, Y.C. *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 17730-17735.

b) Quesenberry, M. S.; Lee, R. T.; Lee, Y.C. *Biochem.* **1997**, *36*, 2724-2732.



**Figura 7.** Efecto cluster glicosídico. La presencia de múltiples copias de azúcares produce un aumento en la concentración efectiva de los mismos (a). Varias lectinas pueden unirse a una glicoproteína (b), una lectina multimérica puede presentar múltiples uniones a una glicoproteína (c) o producir agregación por la unión de la misma a varias glicoproteínas (d) (Tomado de referencia 33e).

Este efecto miniclúster parece depender tanto del aumento de la concentración efectiva del azúcar como de una adecuada configuración de la lectina multimérica y del glicoconjugado basada en la complementariedad de ambos, esta complementariedad evita efectos entrópicos adversos en la interacción. Para que el efecto miniclúster sea de gran intensidad la lectina debe poseer varios centros de reconocimiento de carbohidratos muy próximos unos a otros, esto implica que lectinas diméricas o tetraméricas con centros de reconocimiento de carbohidratos situados en lugares opuestos de la misma, tales como lectinas vegetales o galectinas, presenten efectos miniclúster despreciables.<sup>23</sup> Para evitar efectos entrópicos adversos, tanto la lectina como el glicoconjugado deben tener una rigidez suficiente. Así mientras la lectina hepática de rata, que es una lectina trimérica con los CRD muy próximos entre sí, presenta un aumento de afinidad de hasta  $10^5$  veces por ciertos trigalactósidos respecto a los galactósidos monovalentes cuando esta lectina se encuentra en la superficie del hepatocito, la misma lectina una vez solubilizada presenta incrementos de afinidad del orden de  $10^3$  frente a los mismos trigalactósidos. Éste hecho ha sido atribuido a la mayor rigidez de la lectina hepática cuando se encuentra en la membrana de la célula. Estas mismas lectinas presentan afinidades muy inferiores en el caso de glicoconjugados con espaciadores de mayor longitud y menor rigidez, en concreto incrementos en la afinidad de  $6 \times 10^3$  y 200 veces del glicoconjugado trivalente cuando se unen a la lectina hepática situada en la membrana y solubilizada respectivamente.<sup>24</sup>

<sup>23</sup> Roy, R.; Pagé, D.; Perez, D. F.; Bencomo, V.V. *Glycoconj. J.* **1998**, *15*, 251-263.

<sup>24</sup> Lee, R. T.; Lee, Y. C. *Glycoconj. J.* **2000**, *17*, 543-551.

Las razones por las que se produce el efecto clúster son principalmente un efecto estadístico debido a un aumento en la concentración efectiva del azúcar cuando lectina y glicoconjugado se encuentran próximos y un efecto quelato en el cual el ligando multivalente se une simultáneamente a varios sitios de unión.<sup>25</sup> Se ha comprobado que en sistemas en los cuales el efecto quelato no es posible el aumento de afinidad producido por un glicopolímero es solo entre 5 y 10 veces mayor que el producido por el correspondiente monosacárido.<sup>26</sup> El efecto quelato puede producirse tanto entre el glicoconjugado y sitios de unión de lectinas situadas próximas entre sí como entre el glicoconjugado y sitios de unión de una lectina multivalente.<sup>32e</sup> Esta unión a una lectina multivalente puede ocurrir por interacciones con restos de azúcares de un único glicoconjugado o con restos de azúcares de varios glicoconjugados, el primer caso se identifica con el efecto miniclúster mientras el segundo se identifica con el efecto macroclúster.<sup>27</sup>

La unión multivalente puede ser intramolecular si una lectina multimérica se une a un azúcar multivalente cuando ambos tienen una geometría adecuada y la unión de este tipo es termodinámicamente favorable o intermolecular si un carbohidrato se une al menos a dos lectinas y una lectina se une al menos a dos carbohidratos, en este caso se obtienen grandes agregados moleculares que en ocasiones poseen poca solubilidad en agua y precipitan de forma irreversible. Estos agregados han sido divididos en dos clases: los agregados de tipo I que se producen entre lectinas y glicoconjugados dimericos y dan lugar a grandes estructuras lineales solubles y los agregados de tipo II que se producen cuando, bien la lectina bien el glicoconjugado, poseen una valencia mayor de dos, en este caso dan lugar a grandes agregados tridimensionales. Mientras los agregados de tipo I pueden estar formados por varios tipos de glicoconjugados diferentes debido a la mayor flexibilidad del agregado lineal, los agregados de tipo II forman estructuras tridimensionales muy ordenadas y homogéneas y no permiten la presencia de glicoconjugados de diferente estructura, de hecho se comprueba que se forman agregados con un solo glicoconjugado incluso en disoluciones en las que existen mezclas de varios glicoconjugados.<sup>28</sup>

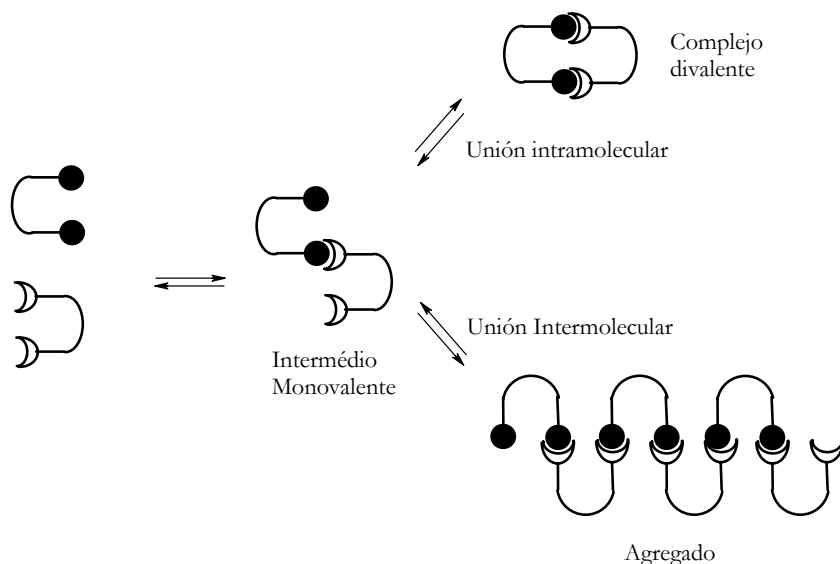
---

<sup>25</sup> Kiessling, L. L.; Gestwicki, J. E.; Strong, L. E. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2000**, *4*, 696-703.

<sup>26</sup> Pohl, N. L.; Kiessling, L. L. *Synthesis*, **1999**, 1515-1519.

<sup>27</sup> Yi, D.; Lee, R. T.; Longo, P.; Boger, E. T.; Lee, Y. C.; Petri Jr., W. A.; Schnaar, R. L. *Glycobiology* **1998**, *8*, 1037-1043.

<sup>28</sup> Saccettini, J. C.; Baum, L. G.; Brewer, C. F. *Biochem* **2001**, *40*, 3009-3015.



**Figura 8.** La unión entre lectinas y glicoconjugados divalentes puede ser intramolecular, lo que lleva a la formación de un complejo divalente, o intermolecular, que lleva a la formación de agregados de grandes dimensiones.

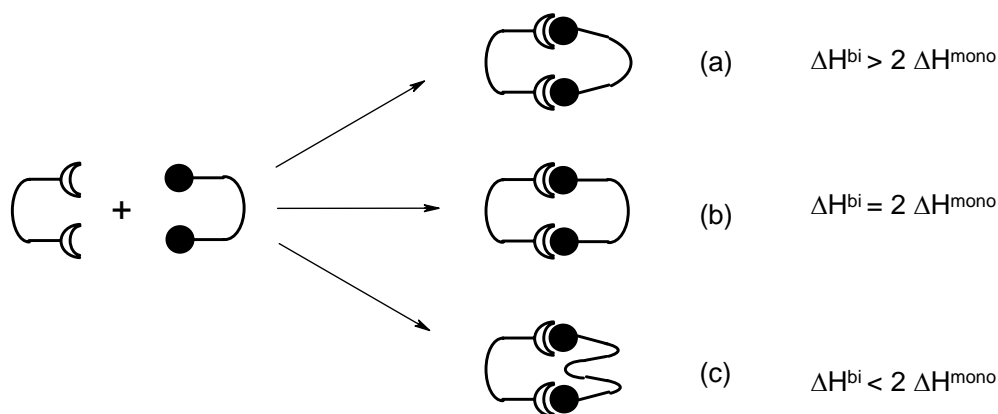
La formación de sistemas intramoleculares o intermoleculares depende esencialmente de dos factores: de la estructura de lectina y glicoconjugado, y de la termodinámica de la interacción.<sup>29</sup> Si el glicoconjugado no posee una distancia suficiente entre los restos de azúcar para interactuar con varios lugares de reconocimiento de carbohidrato la interacción intramolecular no es posible, así en las lectinas vegetales los centros de reconocimiento de carbohidratos se encuentran a distancias demasiado largas para permitir interacciones intramoleculares dando lugar a agregados, también glicoconjugados de pequeño tamaño y de gran rigidez tienden a formar agregados en lugar de sistemas intramoleculares.

Aunque la lectina y el glicoconjugado posean estructuras que permitan la unión multivalente esta solo será posible si es termodinámicamente favorable. Las razones en las que se basa este efecto clúster no están claras, en algunos casos las interacciones multivalentes están favorecidas entálpicamente mientras en otro caso lo están entrópicamente. Una interacción polivalente puede estar entálpicamente favorecida cuando la unión del primer resto de azúcar a la lectina causa que el siguiente ligando se una al receptor con una entalpía de unión mayor que el primero. Por el contrario estará entálpicamente desfavorecida si la unión del primer ligando al receptor interfiere la siguiente unión, esto ocurre cuando la unión de los restos de azúcar requiere la adopción de conformaciones energéticamente desfavorables por parte de los mismos.<sup>30</sup>

<sup>29</sup> a) Mulder, A.; Huskens, J.; Reinhoudt, D. N. *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 3409-3424.

b) Houseman, B. T.; Mrksich, M. *Topics Curr. Chem.* **2002**, *218*, 1-44.

<sup>30</sup> Mammen, M.; Choi, S.-K.; Whitesides, G. M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2755-2794.



**Figura 9.** Factores entálpicos de la interacción divalente: (a) Sistema con un espaciador de longitud o rigidez no optimizada que provoca tensiones en el sistema, (b) sistema con espaciador de longitud y rigidez optimizada y (c) sistema con espaciador que forma interacciones secundarias que estabilizan en compuesto.

El estudio de la entropía de la unión lectina-carbohidrato es más complicado debido a la gran cantidad de variables entrópicas implicadas en el proceso así como de la dificultad para cuantificar las mismas. La componente entrópica de la energía de enlace se puede dividir en cuatro contribuciones denominadas traslacional, rotacional, conformacional y de solvatación. Las dos primeras se deben a la pérdida de grados de libertad en los movimientos rotacionales y traslacionales de la lectina y el carbohidrato cuando ambos se unen. La entropía conformacional se debe a la pérdida de grados de libertad en los movimientos conformacionales tanto de lectina multimérica como de carbohidrato cuando se produce una unión polivalente. Si el coste conformacional es menor que la suma de los costes traslacional y rotacional en la unión polivalente esta unión estará favorecida, en caso contrario se producirán preferentemente varias uniones monovalentes. La importancia de los factores entrópicos ha sido muy discutida, mientras para algunos autores como Whitesides la contribución del término conformacional es de gran importancia para otros como Toone estos no son fundamentales para la unión multivalente.<sup>31</sup>

A la hora de diseñar neoglicoconjugados multivalentes es necesario considerar las ventajas e inconvenientes tanto entálpicos como entrópicos del neoglicoconjugado diseñado, así una mayor rigidez provoca uniones entálpicamente desfavorecidas ya que tiende a alterar la posición del ligando en el lugar de unión pero con menor coste conformacional, la elección del espaciador es también importante, pudiendo favorecer o penalizar entálpicamente la unión si se producen interacciones o impedimentos estéricos con la superficie de la proteína.

<sup>31</sup> Lundquist, J. J.; Toone, E. J. *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 555-578.

## Síntesis de neoglicoconjugados<sup>32</sup>

Para el estudio de las interacciones entre lectinas y glicoconjugados es necesario poseer sistemas multivalentes conteniendo azúcares con una estructura homogénea y lo más sencilla posible y además que se disponga de una cantidad suficiente para dicho estudio. Desafortunadamente, los glicoconjugados naturales no cumplen estos requisitos por lo que en los últimos años se ha llevado a cabo un gran esfuerzo dirigido hacia la síntesis de glicoconjugados no naturales tanto para el estudio de estas interacciones como para el diseño de fármacos y vacunas frente a enfermedades en las que intervienen directa o indirectamente este tipo de interacciones.

Estos neoglicoconjugados poseen una gran variedad estructural y un número de azúcares muy variable, para su estudio<sup>32c, 33</sup> han sido divididos en varios tipos:

- Glicoclúster: Son sistemas de baja valencia que normalmente tienen menos de 8 restos de azúcar unidos directamente a un andamio de pequeño tamaño.

- Glicodendrimeros: Sistemas contruidos mediante la unión de unidades hiperramificadas a un andamio de pequeño tamaño. Usualmente poseen entre 8 y 32 restos de azúcares aunque a veces poseen un número de azúcares mucho mayor.

- Glicopolímeros: Polímeros lineales con azúcares anclados al mismo. Es posible controlar en cierta medida la densidad de restos de azúcares y el tamaño del polímero. Suelen presentar un número de restos de azúcar que varía entre unas pocas decenas hasta varios miles.

- Neoglicoproteínas: Se trata de proteínas naturales modificadas mediante la adición de azúcares. La proteína puede ser glicosilada en un solo punto, generalmente una cisteína obtenida mediante mutagénesis dirigida, o en numerosos lugares, normalmente glicosilando lisinas o treoninas de la proteína. En este grupo también pueden incluirse los neoglicopéptidos obtenidos generalmente mediante técnicas de síntesis en fase sólida.

---

<sup>32</sup> Existe gran cantidad de revisiones y libros sobre este tema, como ejemplos más significativos:

a) *Neoglycoconjugates: Preparation and Applications* (Lee, Y. C.; Lee, R. T. eds) Academic Press Inc., San Diego, California, **1994**.

b) Choi, S.-K. *Synthetic Multivalent Molecules: concepts and biomedical applications* John Willey and Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, **2004**.

c) Roy, R. *Trends Glycosci. Gly.* **2003**, *15*, 291-310.

d) Turnbull, W. B.; Stoddart, J. F. *Rev. Mol. Biotechnol.* **2002**, *90*, 231-255.

e) Fulton, D. A.; Stoddart, J. F. *Bioconj. Chem.* **2001**, *12*, 655-672.

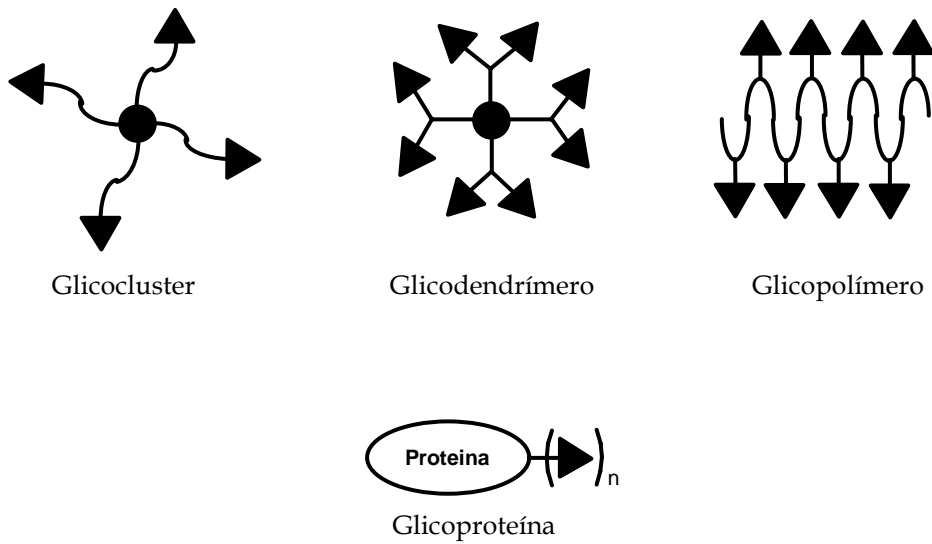
f) Ortiz Mellet, C.; Defaye, J.; García Fernández, J. M. *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 1982-1990.

g) Ladmiral, V.; Melia, E.; Haddleton, D. M. *Eur. Polym. Chem.* **2004**, *40*, 431-449.

h) Okada, M. *Prog. Polym. Sci.* **2001**, *26*, 67-104.

i) Davis, B. G. *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 579-601.

<sup>33</sup> Collins, B. E.; Paulson, J. C. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2004**, *8*, 617-625.

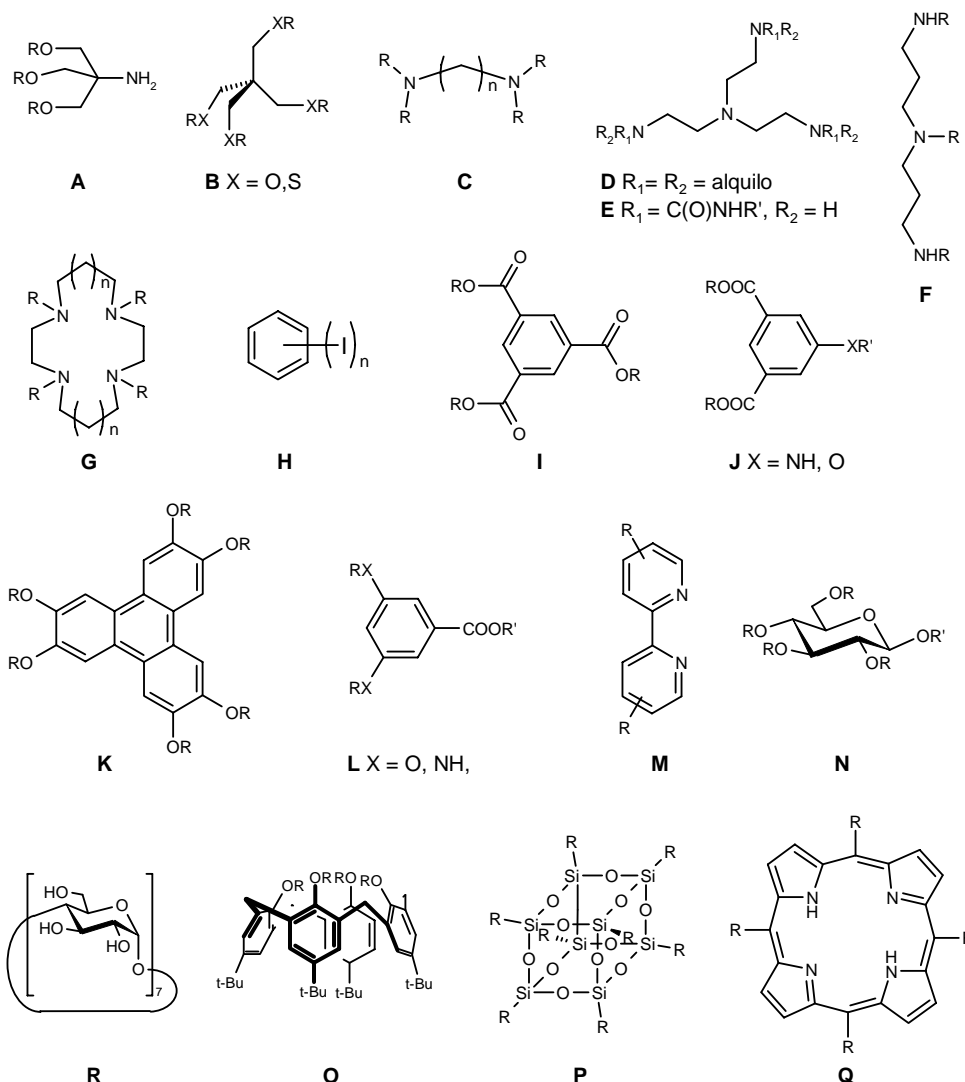


**Figura 10.** Clases de neoglicoconjugados.

## Glicoclúster y glicodendrímeros

Glicoclúster y glicodendrímeros suelen compartir la estructura central que forma el glicoconjugado, sin embargo, mientras en los glicoclúster los azúcares están unidos a este andamio a través espaciadores de mayor o menor rigidez, en los glicodendrímeros los azúcares se encuentran unidos a estructuras ramificadas denominadas dendrones que son los que se unen al andamio central. Así pues, la diferencia fundamental entre glicoclúster y glicodendrímero reside en la mayor ramificación del último aunque existen casos de glicoclústeres que carecen de glicodendrímeros equivalentes y viceversa.

Los andamios empleados para las síntesis de estas estructuras son muy diversos y algunos ejemplos significativos se recogen en la siguiente figura.



**Figura 11.** Andamios comúnmente empleados en la síntesis de neoglicoconjugados.

### Andamios basados en polialcoholes

En ocasiones se han empleado polialcoholes como andamio, ejemplos significativos son el empleo de tris(hidroximetil)aminometano (TRIS) o el pentaeritritol. El TRIS (A) posee tres hidroxilos primarios y un grupo amino unido a un carbono cuaternario lo que ha propiciado su empleo tanto para formar compuestos trivalentes unidos a otro tipo de sustancias como para actuar como dendrones en la formación de dendrímeros, ejemplos de lo primero han sido la síntesis de diversos sistemas de galactósidos trivalentes que contienen un resto de colesterol desarrollados por los grupos de Biessen y van Boom<sup>34</sup> (figura 12) o sistemas trivalentes de lactósidos unidos a un nucleósido.<sup>35</sup>

<sup>34</sup> a) Biessen, E. A. J.; Beuting, D. M.; Roelen, H. C. P. F.; van de Marel, G. A.; van Boom, J. H.; van Berkel, T. J. C. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 1538-1546.



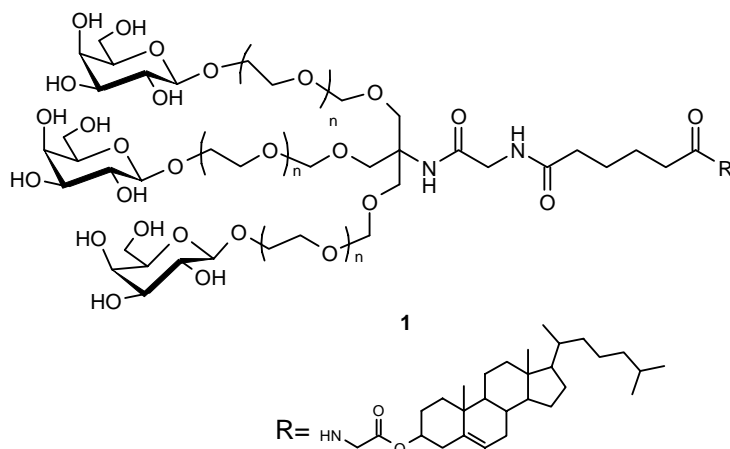
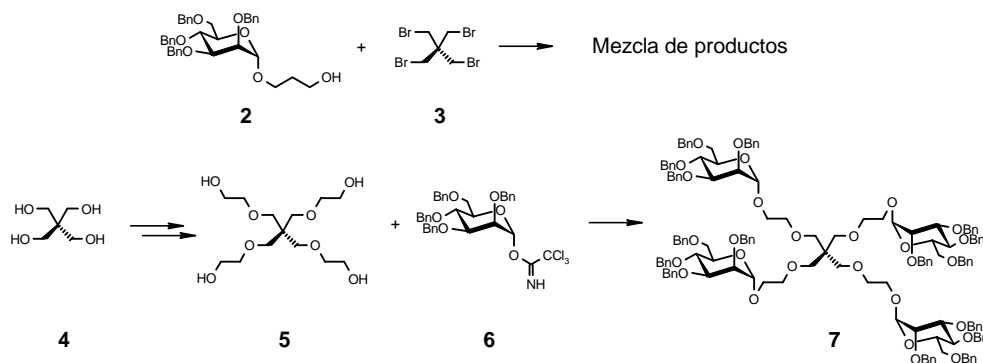


Figura 12.

El pentaeritritol (**B**) ha sido empleado frecuentemente como andamio para la síntesis de glicolúster ya que presenta el atractivo de su gran simetría, sin embargo, su per-*O*-alquilación resulta problemática obteniéndose generalmente mezclas de productos de parcial alquilación. El empleo de rutas convergentes en las que se realiza la alquilación de tetrakis(bromometil)metano (**3**) con azúcares que contienen un resto 3-hidroxipropilo como **2** propicia la obtención de mezclas de productos que contienen entre dos y cuatro restos de azúcar.<sup>36</sup> La obtención de estas mezclas puede ser evitada mediante una estrategia divergente consistente en la alquilación previa del pentaeritritol mediante bromuro de alilo, transformación de los grupos alilo en grupos hidroxilo y glicosidación del mismo (esquema 4).



Esquema 4.

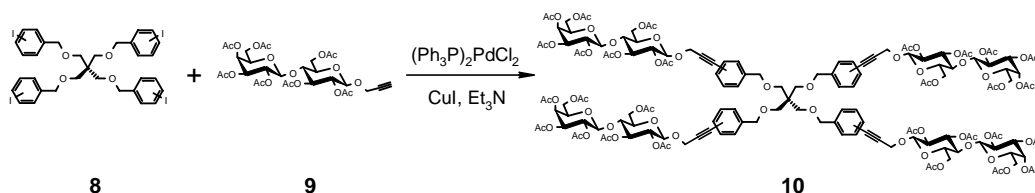
b) Biessen, E. A. J.; Boxterman, H.; van Boom, J. H.; van Berkel, T. J. C. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 1846-1852.

c) Sliedregt, L. A. J. M.; Rensen, P. C. N.; Rump, E. T.; van Santbrink, P. J.; Bijsterbosch, M. K.; Valentijn, A. R. P. M.; van der Marel, G. A.; van Boom, J. H.; van Berkel, T. J. C.; Biessen E. A. L. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 609-618.

<sup>35</sup> Vaino, A. R.; Depew, W. T.; Szarek, W. A. *Chem. Commun.* **1997**, 1871-1872.

<sup>36</sup> Lindhorst, T. K.; Dubber, M.; Krallmann-Wenzel, U.; Ehlers, E. *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 2027-2034.

La alquilación del pentaeritritol mediante bromuro de 4-yodobencilo da lugar a derivados yodobencílicos susceptibles de reaccionar con alquinoazúcares mediante reacción de Sonogashira. Esta metodología, llevada a cabo por el grupo de Roy, ha dado lugar a derivados tetravalentes<sup>37</sup> como **10** o incluso hexavalentes mediante el empleo de un dímero del pentaeritritol unido a través de un puente de butilo posteriormente per-*O*-alquilado con bromuro de 4-yodobencilo.<sup>38</sup>



Esquema 5.

Otro ejemplo de alquilación selectiva del pentaeritritol para la obtención de sistemas trivalentes fue llevada a cabo por el grupo de Hanessian<sup>39</sup> que obtiene el sistema trivalente **11** mediante la reacción del ácido carboxílico derivado de un trisacárido con un derivado de pentaeritritol conteniendo tres restos aminoetil.

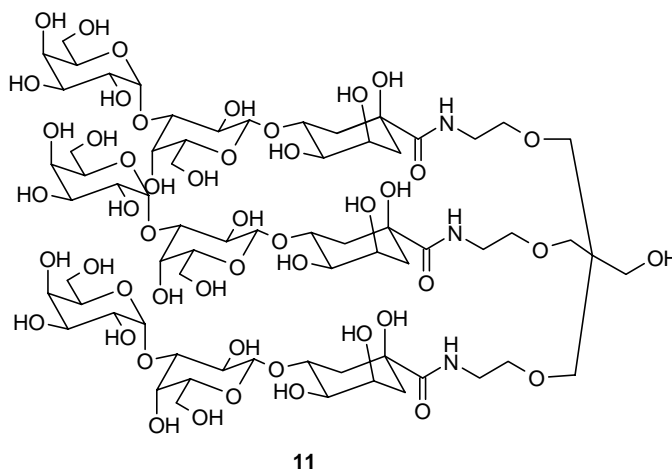


Figura 13.

Por su parte, el grupo de Stoddart obtiene glicoconjugados mediante per-*O*-alilación del pentaeritritol y posterior reacción de fotoadición de un tiolactósido.<sup>40</sup> Los

<sup>37</sup> a) Liu, B.; Roy, R. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **2001**, 773-779.

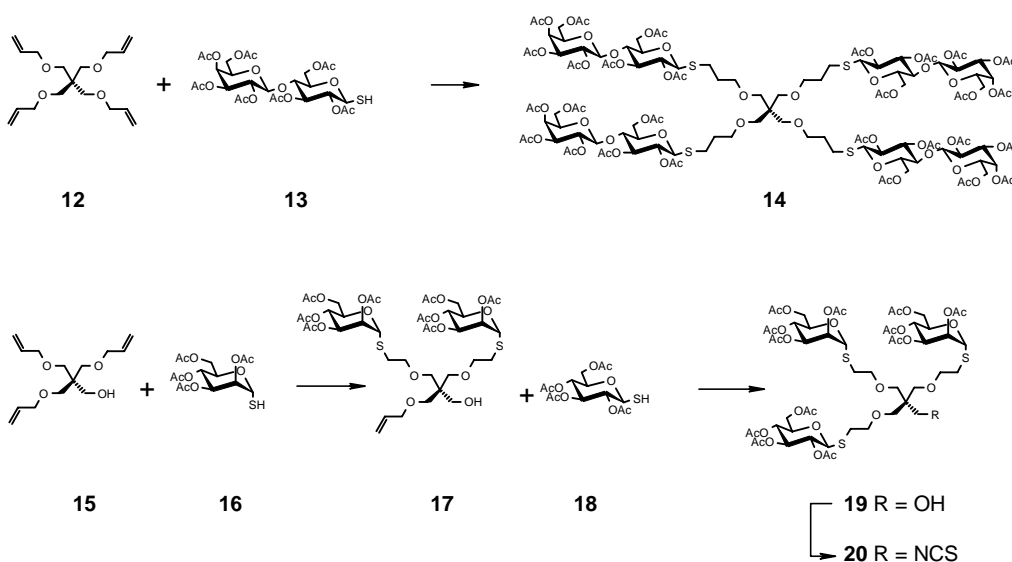
b) André, S.; Liu, B.; Gabius, H.-J.; Roy, R. *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 3909-3916.

<sup>38</sup> Liu, B.; Roy, R. *Chem. Commun.* **2002**, 594-595.

<sup>39</sup> Hanessian, S.; Huynh, H. K.; Reddy, G. V.; Duthaler, R. O.; Katopodis, A.; Streiff, M. B.; Kinzy, W.; Oehrlein, R. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 3281-3290.

<sup>40</sup> Kalovidouris, S. A.; Blixt, O.; Nelson, A.; Vidal, S.; Turnbull, W. B.; Paulson, J. C.; Stoddart, J. F. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 8485-8493.

grupos de García-Fernández, Ortiz-Mellet y Defaye<sup>41</sup> emplean también reacciones de fotoadición de tioazúcares a alilos para la síntesis de glicodendrones basados en el pentaeritritol conteniendo tres restos de azúcar. Una adecuada elección de las condiciones de reacción permite la adición de entre uno y tres restos de manosa, en el caso de dendrones parcialmente glicosilados como **17** es posible la posterior adición de tetra-*O*-acetiltioglucofosa **18** o hepta-*O*-acetiltiogalactosa que permite obtener dendrones que poseen restos de azúcar diferentes así como un grupo hidroxilo del pentaeritritol sin reaccionar **19**, la transformación del mismo en un grupo isotiocianato permite la adición de estos dendrones a una molécula de per-6-heptacisteaminil- $\beta$ -ciclodextrina con lo que se obtienen heteroglicoclústeres basados en ciclodextrinas que contienen 21 restos de azúcar. Las pruebas de afinidad de estos glicoclústeres con Con A demuestra la influencia positiva de la presencia de azúcares no reconocibles sobre el efecto cluster, aumentando la afinidad de estos heteroglicoclústeres respecto a homoglicoclústeres que contienen el mismo número de restos azúcares reconocibles.

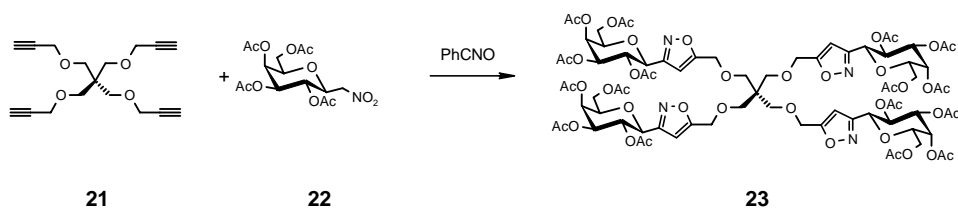


Esquema 6.

Nuestro grupo de investigación<sup>42</sup> ha llevado a cabo la síntesis de derivados del pentaeritritol por reacción de cicloadición 1,3-dipolar entre un óxido de nitrilo derivado de un C-galactósido (obtenido por deshidratación del C-nitrometilgalactósido **22** con fenilisocianato) y pentaeritritol tri- y tetrapropargilado (**21**).

<sup>41</sup> Gómez-García, M.; Benito, J. M.; Rodríguez-Lucena, D.; Yu, J.-X.; Chmurski, K.; Ortiz Mellet, C.; Gutiérrez Gallego, R.; Maestre, A.; Defaye, J.; García-Fernández, J. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 7970-7971.

<sup>42</sup> Calvo-Flores, F. G.; Isac-García, J.; Hernández-Mateo, F.; Pérez-Balderas, F.; Calvo-Asín, J. A.; Sánchez-Vaquero, E.; Santoyo-González, F. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 2499-2502.



Esquema 7.

## Andamios basados en poliaminas

Las poliaminas presentan una serie de ventajas respecto a los polialcoholes tales como su alta reactividad que permite la obtención de glicodendrimeros con altos rendimientos empleando condiciones de reacción más suaves, la mayor solubilidad de los glicodendrimeros basados en poliaminas debido a la presencia de mayor número de grupos hidrofílicos en la molécula o el posible empleo de estructuras dendriméricas comerciales basadas en estas poliaminas tales como poliamidoaminas<sup>43</sup> (PAMAN) o polipropilenimininas<sup>44</sup> (DAB-Am) con una gran cantidad de grupos amina libres (en ocasiones más de cuatro mil grupos amino terminales) como se muestra en la figura 14. El empleo de estas estructuras dendriméricas comerciales resulta muy atractivo, aunque en ocasiones la incorporación de restos de azúcar a estas estructuras no es completa produciéndose cierta polidispersión en los productos<sup>44</sup> especialmente cuando se emplean dendrimeros de altas generaciones que contienen un gran número de restos amino ya que provoca un gran impedimento estérico. Este hecho es debido a que mientras el diámetro del dendrimer aumenta linealmente el número de grupos amino terminal aumenta exponencialmente.<sup>45</sup> En otras ocasiones se ha preferido partir de pequeñas poliaminas como andamio sobre las que se puede seguir una estrategia de tipo divergente o una estrategia de tipo convergente. En el caso de la síntesis de dendrimeros con gran número de restos azúcar la estrategia más adecuada consiste en acoplar dendrones de gran tamaño siguiendo una estrategia de tipo convergente lo que permite un mayor control de la polidispersión. Las poliaminas empleadas en estos casos son variadas aunque las más empleadas son: etilendiamina, hexilidendiamina<sup>46</sup> (C), bis(3-aminopropil)amina<sup>47</sup> (F) y tris(aminoetil)amina<sup>46, 48</sup> (D, E).

<sup>43</sup> a) André, S.; Cejas Ortega, P. J.; Alamino Perez, M.; Roy, R.; Gabius, H.-J. *Glycobiology* **1999**, *9*, 1253-1261.

b) Baek, M.-G.; Rittenhouse-Olson, K.; Roy, R. *Chem. Commun.* **2001**, 257-258.

c) Woller, E. K.; Cloninger, M. J. *J. Org. Lett.* **2002**, *4*, 7-10.

<sup>44</sup> Kensinger, R. D.; Yowler, B. C.; Benesi, A. J.; Schengrund, C.-L. *Bioconjugate Chem.* **2004**, *15*, 349-358.

<sup>45</sup> Tomalia, D. A. *Aldrichim. Acta* **2004**, *37*, 39-57.

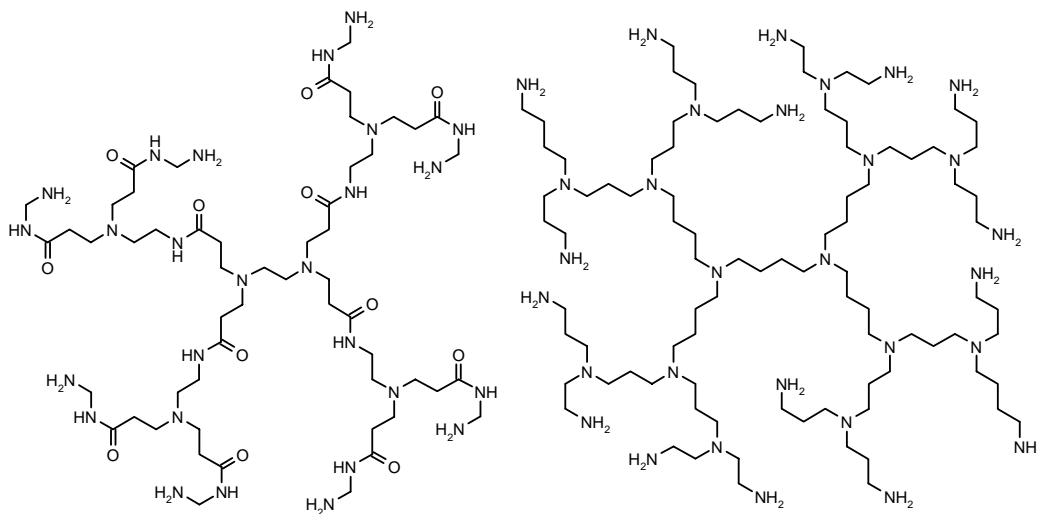
<sup>46</sup> a) Lindhorst, T.K.; Kieburg, C. *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.* **1996**, *35*, 1953-1956.

b) Bezouska, K.; Kren, V.; Kieburg, C.; Lindhorst, T. K. *FEBS Lett.* **1998**, *426*, 243-247.

c) Zanini, D.; Roy, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 2088-2095.

<sup>47</sup> a) Zanini, D.; Roy, R. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 7348-7354.

b) Llinares, M.; Roy, R. *Chem. Commun.* **1997**, 2119-2120.



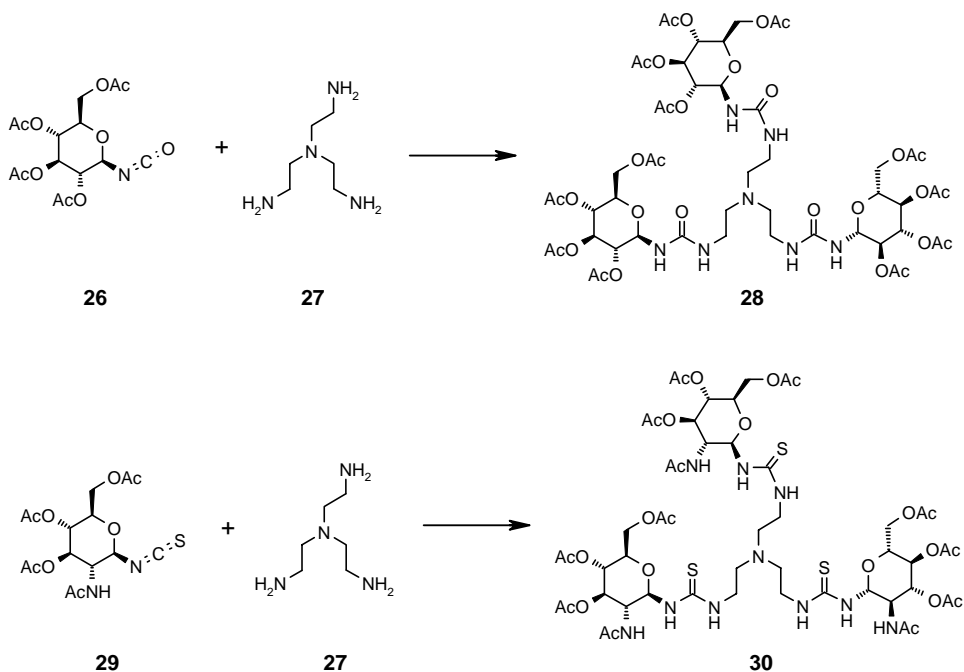
24 PAMAM-1,4-diaminobutano- G1

25 Polipropilenimina (DAB) G3

Figura 14.

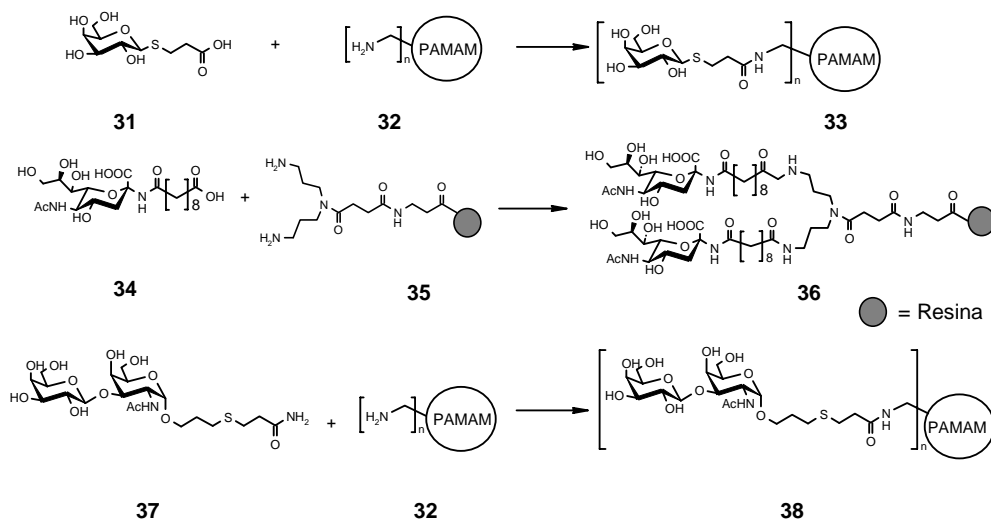
La formación de enlaces urea así como sus equivalentes tiourea ha sido frecuentemente empleadas para la obtención de glicodendrimeros. Estos enlaces poseen la capacidad de formar puentes de hidrógeno lo que aumenta de forma significativa la solubilidad de los mismos en disoluciones acuosas. Los sistemas multivalentes basados en enlaces de tipo urea pueden ser obtenidos mediante reacción de aminas y de isocianatos derivados de azúcares los cuales pueden haber sido aislados previamente<sup>48e</sup> u obtenidos *in-situ* a partir del p-nitrofenil  $\beta$ -N-glucopiranosil carbamato<sup>48d</sup> por tratamiento del mismo con diisopropiletilamina. Por su parte, los sistemas basados en enlaces tiourea<sup>43c,46a</sup> son generados por reacción de las correspondientes aminas con isotiocianatos. es de destacar que esta reacción puede ser llevada a cabo con azúcares que poseen los grupos hidroxilo libres en disoluciones acuosas<sup>43a, 48a</sup> lo que permite reducir el número de pasos necesarios para la obtención de dichos glicoconjugados.

<sup>48</sup> a) Kieburg, C.; Lindhorst, T. K. *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 3885-3888.  
 b) Turnbull, W. B.; Kalovidouris, S. A.; Stoddart, J. F. *Chem. Eur. J.* **2002**, 8, 2988-3000.  
 c) Kalovidouris, S. A.; Turnbull, W. B.; Stoddart, J. F. *Can. J. Chem.* **2002**, 80, 983-991.  
 d) Ichikawa, Y.; Nishiyama, T.; Isobe, M. *Tetrahedron* **2004**, 60, 2621-2627.  
 e) Ichikawa, Y.; Matsukawa, Y.; Nishiyama, T.; Isobe, M. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 586-591.



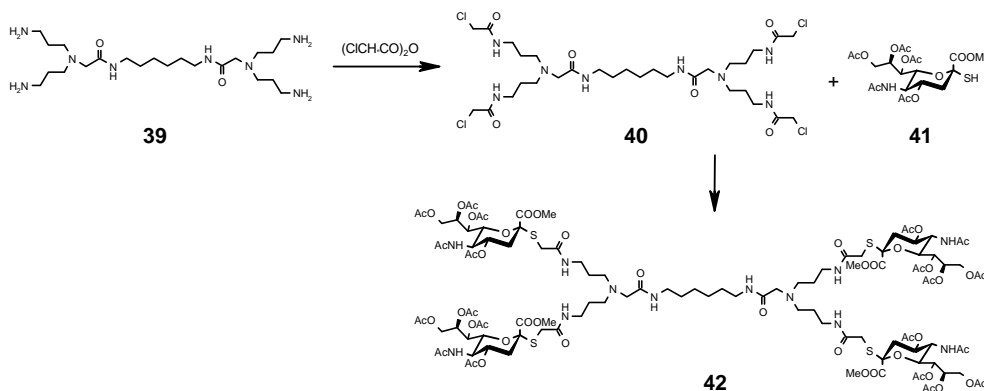
Esquema 8.

Otra estrategia empleada para la unión de estos andamios y los restos de azúcar es la formación de enlaces amida de manera similar a la química de péptidos: partiendo de un ácido carboxílico derivado de un azúcar, mediante el empleo de agentes de acoplamiento comúnmente empleados en la síntesis de péptidos tales como HATU<sup>44</sup> o TBTU.<sup>43b,47b</sup> El empleo de estos agentes de acoplamiento es compatible con procedimientos de síntesis en fase sólida o con restos de azúcar que poseen los grupos hidroxilo libres.



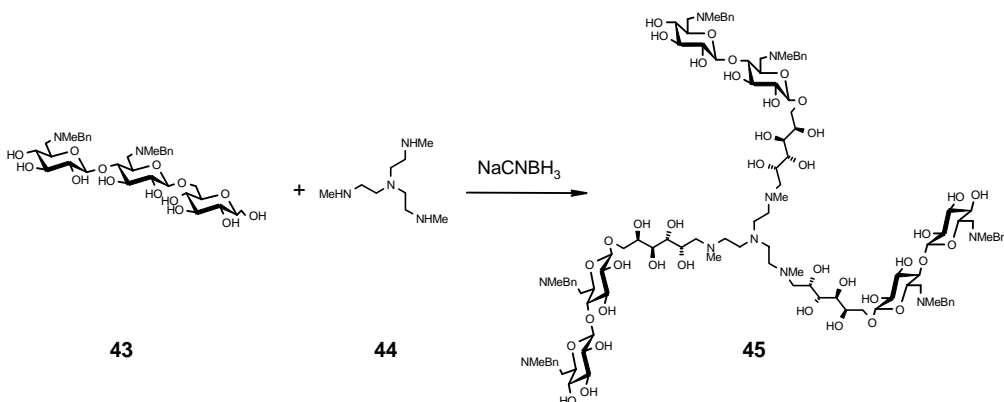
Esquema 9.

Uno de los pocos ejemplos de síntesis de glicodendrimeros basados en poliaminas mediante el empleo de una estrategia divergente ha sido desarrollado por el grupo de Roy que sintetiza glicodendrimeros basados en un andamio de poliamina conteniendo restos de ácido siálico. Para ello la poliamina es hecha reaccionar con anhídrido cloroacético lo que permite la obtención del correspondiente cloroacetamido que reacciona con un tioderivado de ácido siálico mediante una reacción  $S_N2$  con buenos rendimientos.<sup>46c</sup>



Esquema 10.

El grupo de Stoddart<sup>48b,c</sup> ha sintetizado glicoclústeres mediante reacción de aminación reductiva entre una poliamina y un oligosacárido con el extremo reductor libre lo que produce la apertura del monosacárido reductor, siendo la primera vez que esta reacción se emplea para la síntesis de glicoclústeres si bien ha sido empleada con frecuencia para la síntesis de glicoproteínas.



Esquema 11.

### Andamios basados en éteres corona nitrogenados

Los éteres corona nitrogenados (**G**) tales como 1,4,8,11-tetraaza-ciclotetradecano (ciclám) y 1,4,7,10-tetraaza-ciclododecano (ciclen) han sido empleados por el grupo de Lindhorst<sup>49</sup> como andamio para unirles cuatro restos manosa a través de enlaces tiourea (figura 15).

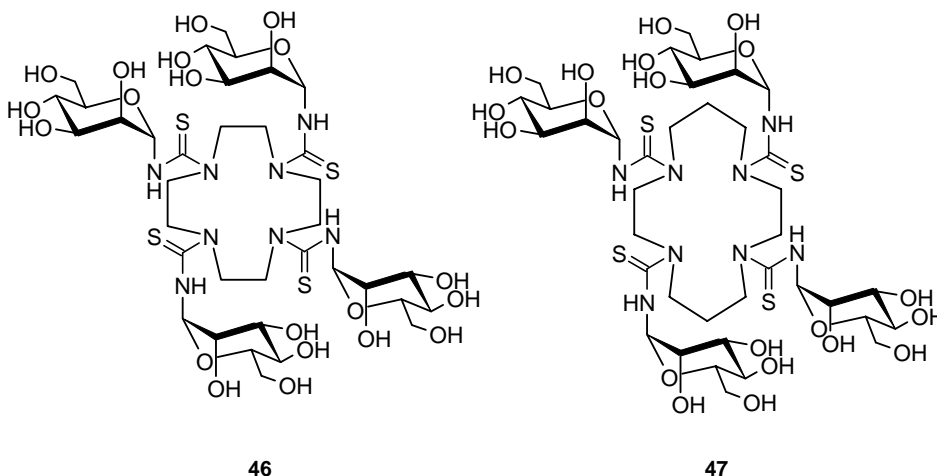


Figura 15.

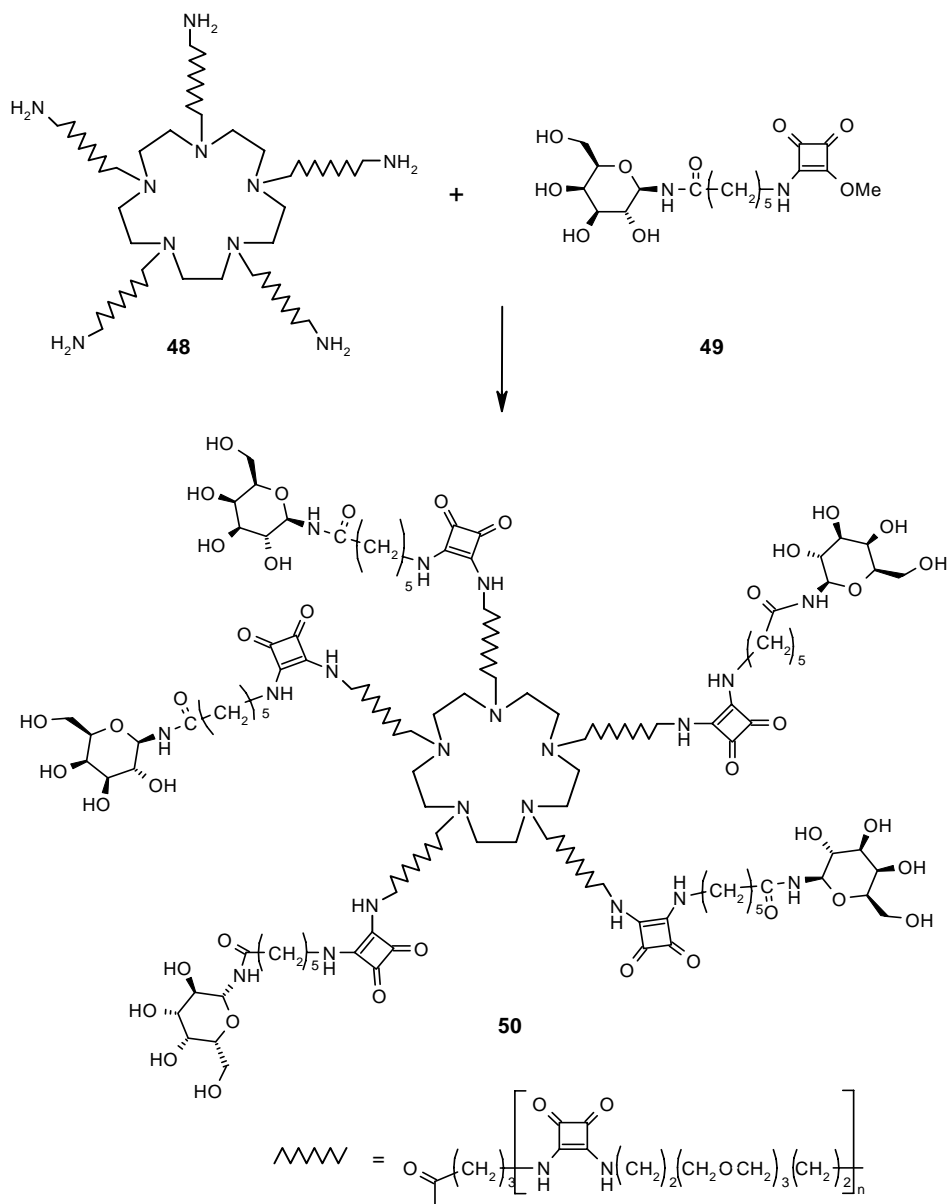
Estos éteres corona presentan el atractivo de su simetría que ha sido aprovechada para el diseño y síntesis de sistemas multivalentes con alta afinidad, así Fan y col.<sup>50</sup> partieron de 1,4,7,10,13-pentaazaciclopentadecano a partir del cual crearon sistemas multivalentes (**50**) conteniendo cinco restos galactosa unidos a través de espaciadores flexibles empleados como inhibidores de toxinas bacterianas. Modificando la longitud del espaciador mediante reacciones sucesivas entre unidades de 4,7,10-trioxa-1,13-tridecanodiamina y escuarato de dimetilo obtuvieron un aumento en la inhibición de la toxina al aumentar la longitud del espaciador, hecho que justificaron por un correcto ajuste de los carbohidratos a los sitios de unión de carbohidrato de la toxina.

<sup>49</sup> König, B.; Fricke, T.; Wassmann, A.; Krallmann-Wenzel, U.; Lindhorst, T. K. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 2307-2310.

<sup>50</sup> a) Fan, E.; Zhang, Z.; Minke, W. E.; Hou, Z.; Verlinde, C. L. M. J.; Hol, W. G. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 2663-2664.

b) Zhang, Z.; Pickens, J. C.; Hol, W. G. J.; Fan, E. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 1377-1380.





Esquema 12.

Para aprovechar las capacidades complejantes de éteres corona nitrogenados en sistemas multivalentes de azúcares se han diseñado sistemas dendriméricos por unión de un dendrón basado en bis(3-aminopropil)amina a ciclen<sup>51</sup> que es capaz de complejar  $\text{La}^{3+}$ , este sistema tiene posibilidad de reconocer lectinas específicas de un tejido (por ejemplo lectinas que reconocen galactósidos situadas en células hepatocíticas del hígado) por lo que se concentra en el mismo y puede ser empleados para técnicas de imagen de resonancia magnética.

<sup>51</sup> André, J. P.; Geraldés, C. F.G.C. ; Martins, J. A. ; Merbasch, A. E. ; Prata, M. I. M. ; Santos, A. C. ; Lima, J. J. P.; Tóth, E. *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 5804– 5816.

## Andamios basados en sistemas aromáticos

Una gran cantidad de sistemas multivalentes han sido construidos en torno a un andamio aromático (**H-M**). Los grupos funcionales del sistema aromático son muy variados y por tanto los métodos de síntesis son también muy variados. Un tipo de sistema aromático muy empleado han sido halobencenos, especialmente yodobencenos (**H**), que reaccionan con alquinos derivados de azúcares mediante reacción de tipo Sonogashira. Así el grupo de Roy junto con miembros de nuestro grupo de investigación han sintetizado sistemas divalentes mediante la reacción de propargil glicósidos con 1,4-diyodobenceno<sup>52</sup> o con 4-yodofenilglicósidos (productos **51** y **52** respectivamente). El empleo de 1,3,5-triyodobenceno permite la obtención de sistemas trivalentes **53**<sup>37</sup> mientras el 1,2,4,5-tetrayodobenceno da lugar a sistemas tetravalentes que pueden ser reducidos para la obtención de sistemas con menor rigidez y mayor solubilidad.<sup>53</sup> Por su parte, el tetrakis(4-yodofenil)metano también permite la obtención de sistemas tetravalentes.<sup>54</sup>

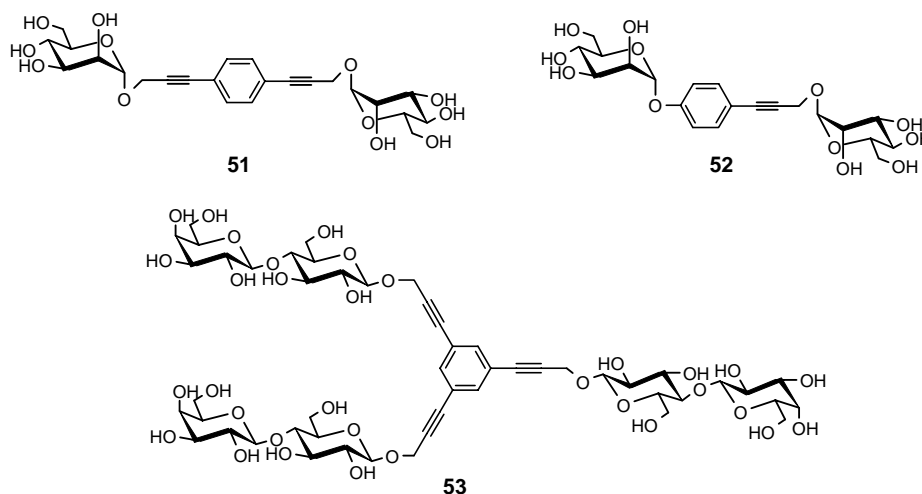


Figura 16.

El empleo de derivados de ácidos polibenzoicos permite obtener glicodendrimeros unidos al andamio aromático a través de enlaces amida. A título de ejemplo se recogen derivados del ácido trimésico (**I**) convenientemente modificados que dan lugar a sistemas trivalentes<sup>55</sup> y a dendrimeros de primera, segunda o tercera generación con 9, 18 (**56**) y 36 restos de azúcar respectivamente.<sup>56</sup>

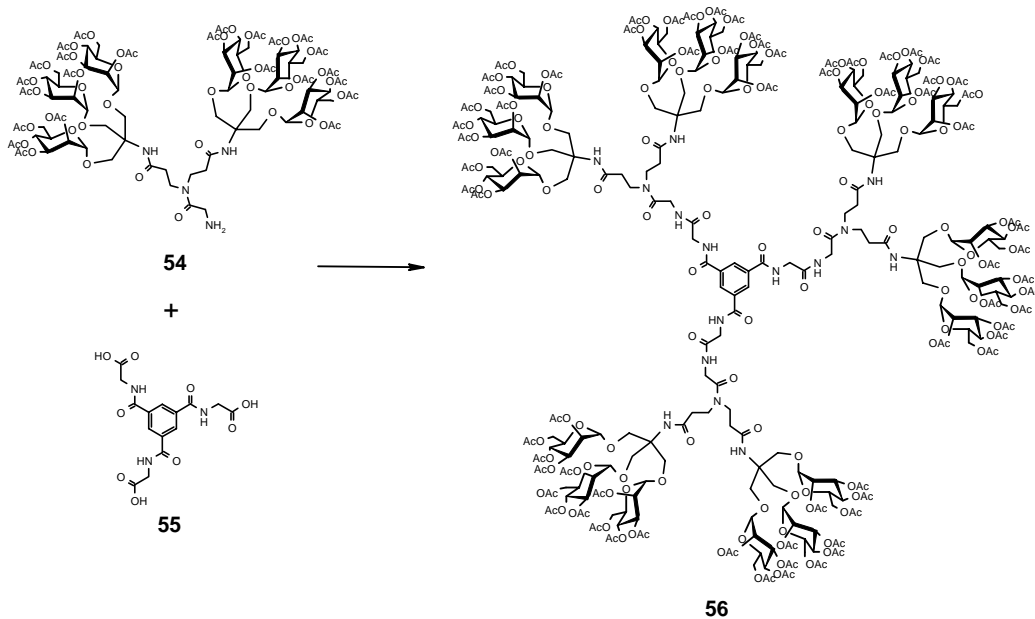
<sup>52</sup> Roy, R.; Das, S. K.; Santoyo-González, F.; Hernández-Mateo, F.; Dam, T. K.; Brewer, C. F. *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 1757-1762.

<sup>53</sup> Kort, M.; Correa, V.; Valentijn, A. R. P. M.; van der Marel, G. A.; Potter, B. V. L.; Taylor, C. W.; van Boom, J. H. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 3295-3303.

<sup>54</sup> Sengupta, S.; Sadhukhan, S. K. *Carbohydr. Res.* **2001**, *332*, 215-219.

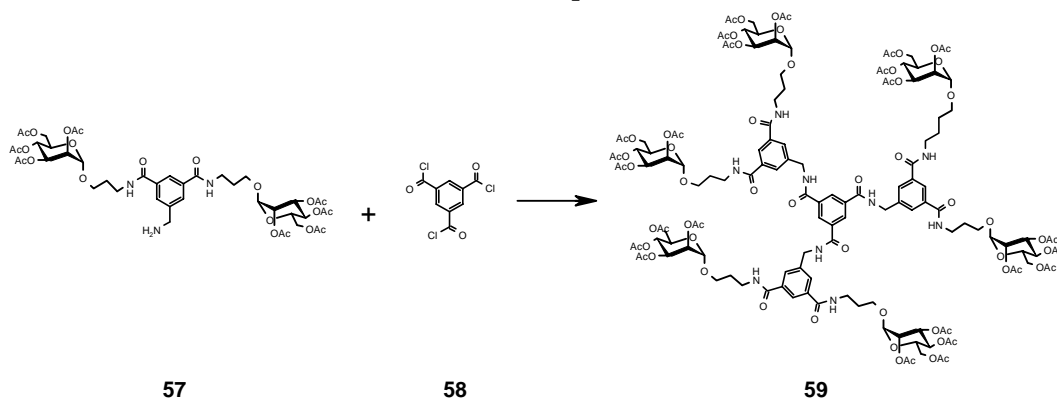
<sup>55</sup> Jayaraman, N.; Stoddart, J. F. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 6767-6770.

<sup>56</sup> Ashton, P. R.; Hounsell, E. F.; Jayaraman, N.; Nilsen, T. M.; Spencer, N.; Stoddart, J. F.; Young, M. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 3429-3437.



Esquema 13.

La reacción<sup>57</sup> de derivados del ácido 5-aminometilsoftálico conteniendo 2 restos de azúcar con el cloruro del ácido trimésico permite la obtención de dendrímeros como **59**. Otros andamios aromáticos modificados con funciones de tipo ácido como el ácido 5-hidroxiisoftálico han sido también empleados.<sup>58</sup>



Esquema 14.

Comparados con los alcoholes alifáticos, los fenoles son andamios que presentan la ventaja de la mayor reactividad. La estrategia empleada más comúnmente con estos fenoles consiste en la alquilación de los mismos con un espaciador susceptible de reaccionar posteriormente con un derivado glicosídico. Mediante el empleo de esta estrategia varios grupos de investigación han sintetizado glicoclústeres basados en

<sup>57</sup> Dimick, S. M.; Powell, S. C.; McMahon, S. A.; Moothoo, D. N.; Naismith, J. H.; Toone, E. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 10286-10296.

<sup>58</sup> McWatt, M.; Boons, G.-J. *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 2535-2545.

andamios fenólicos tales como ácido 3,5-dihidroxibenzoico<sup>59</sup> (**L**), ácido gálico<sup>60</sup> y 2,3,6,7,10,11-hexahidroxitriphenileno<sup>61</sup> (**K**). Este último compuesto puede formar empaquetamientos en forma de prisma hexagonal producidos por interacciones  $\pi$ - $\pi$  de los grupos triphenileno, para ello es necesario que el espaciador posea una longitud suficiente de forma que la molécula presente un comportamiento anfifílico adecuado.

Compuestos aminobencénicos han sido empleados, en ocasiones, como andamio para la construcción de glicoconjugados. Partiendo de 1,4-diaminobenceno<sup>62</sup> es posible obtener sistemas que contienen dos restos de un derivado de ácido glucurónico unidos al andamio aminobencénico a través del carboxilo del resto de azúcar mediante un enlace amida. Por otra parte, el ácido 3,5-diaminobenzoico (**J**) permite la obtención de sistemas divalentes mediante reacción de los grupos amino del andamio con restos de azúcar conteniendo isotiocianatos,<sup>23</sup> aunque este ácido puede ser también empleado para la síntesis de glicodendrimeros como **60** que posee un andamio con un marcado carácter apolar<sup>63</sup> al contener un gran número de grupos bencénicos. Sistemas de este tipo han demostrado la posibilidad de formar grandes agregados a través de interacciones de tipo hidrofóbico lo que permite aumentar el número de azúcares efectivo del glicodendrímtero aumentando a su vez en gran medida la inhibición producida por los mismos.

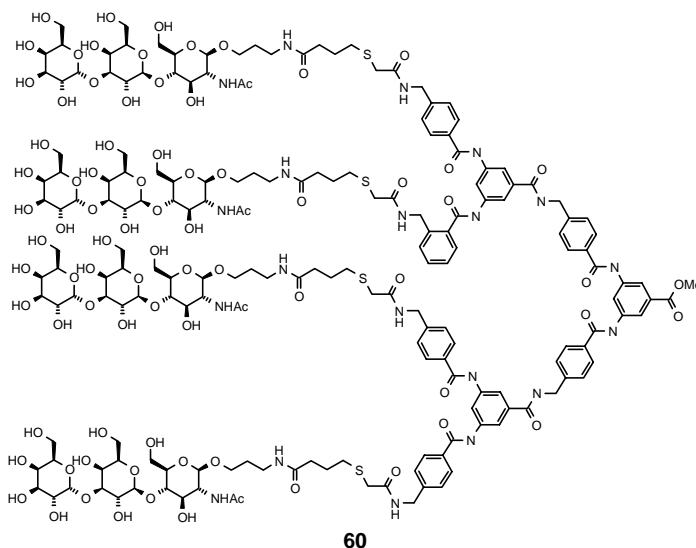


Figura 17.

<sup>59</sup> André, S.; Pieters, R. J.; Vrasidas, I.; Kalner, H.; Kuwabara, I.; Liu, F.-T.; Liskamp, R. M. J.; Gabius, H.-J. *ChemBioChem* **2001**, 2, 822-830.

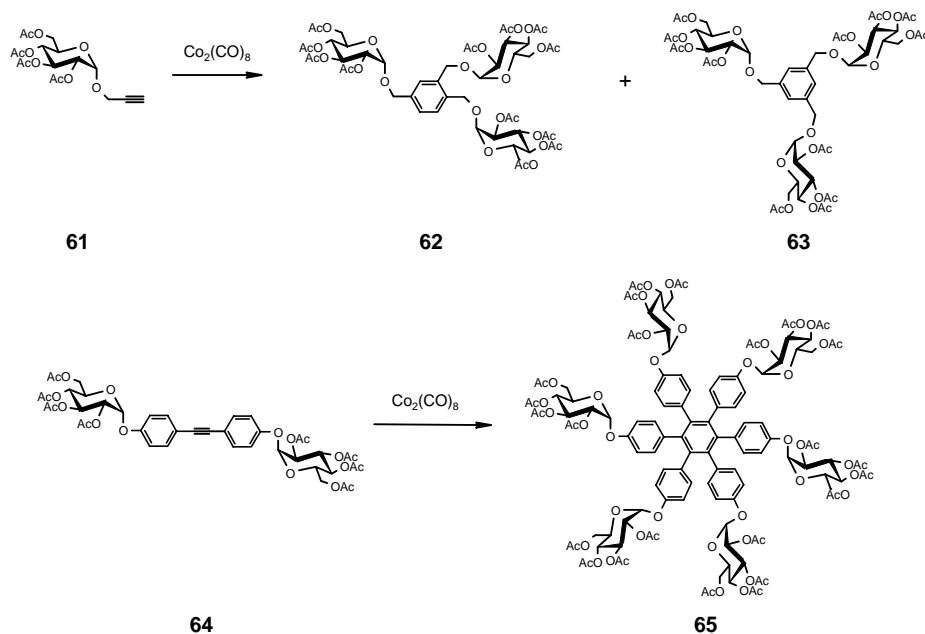
<sup>60</sup> Roy, R.; Park, W. K. C.; Wu, Q.; Wang, S.-N. *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 4377-4380.

<sup>61</sup> Barberá, J.; Garcés, A. C.; Jayaraman, N.; Omenat, A.; Serano, J. L.; Stoddart, J. F. *Adv. Mater.* **2001**, 13, 175-180.

<sup>62</sup> Tosin, M.; Müller-Bunz, H.; Murphy, P. V. *Chem. Commun.* **2004**, 494-495.

<sup>63</sup> Thoma, G.; Katopodis, A. G.; Voelcker, N.; Duthaler, R. O.; Streiff, M. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 3195-3198.

Mediante reacción de ciclotrimerización de alquinoazúcares<sup>64</sup> es posible la síntesis de glicoclústeres basados en un andamio de tipo bencénico, reacción llevada a cabo mediante catálisis con  $\text{Co}_2(\text{CO})_8$ . En el caso de partir de propargilglicósidos (**61**) o sus análogos propargiltioglicósidos se obtienen mezclas de productos que contienen 3 restos de azúcar siendo el producto mayoritario el producto con el benceno sustituido en 1,2,4 (**62**). También han sido empleados alquinos simétricos que contienen 2 restos de azúcar como **64** con los que se pueden obtener sistemas bencénicos hexaglicosilados.



Esquema 15.

Un último grupo de andamios aromáticos es el constituido por bipyridinas<sup>65</sup> (**M**) que, en presencia de metales de transición como  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Ru}^{3+}$  o  $\text{Cu}^{2+}$ , permite la obtención de complejos que aumentan de forma significativa la inhibición producida sobre lectinas por los mismos (figura 18).

<sup>64</sup> a) Kaufman, R. J.; Sidhu, R. S. *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 4941-4947.

b) Roy, R.; Das, S. K.; Dominique, R.; Trono, C.; Hernández-Mateo, F.; Santoyo-González, F. *Pure Appl. Chem.* **1999**, *71*, 565-571.

<sup>65</sup> a) Sakai, S.; Shigemasa, Y.; Sasaki, T. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 8145-8148.

b) Hasegawa, T.; Yonemura, T.; Matsuura, K.; Kobayashi, K. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 3898-3992.

c) Hasegawa, T.; Yonemura, T.; Matsuura, K.; Kobayashi, K. *Bioconjugate Chem.* **2003**, *14*, 728-737.

d) Roy, R.; Kim, J. M. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 3881-3893.

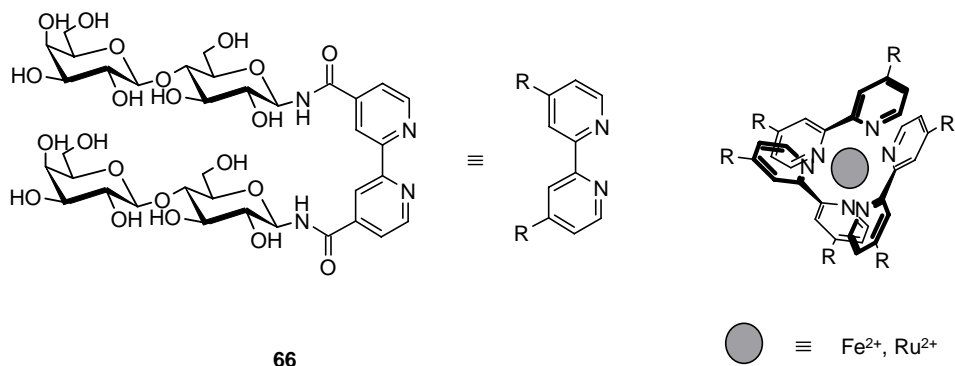
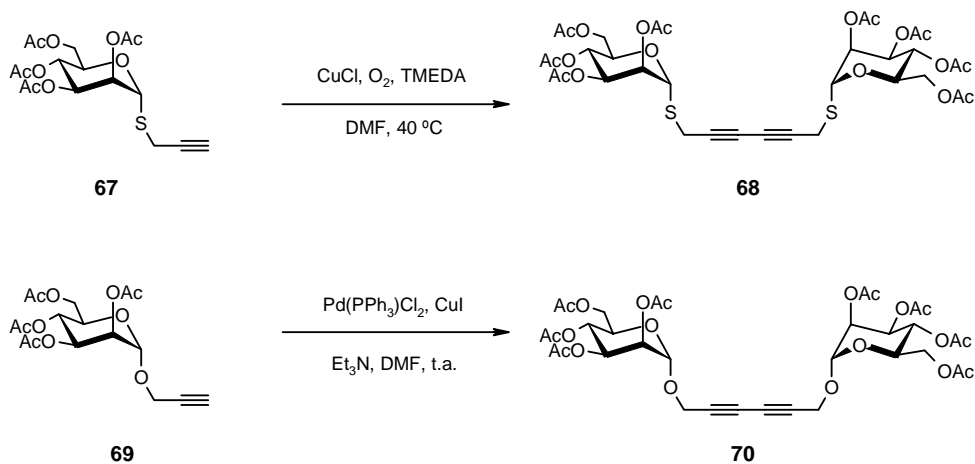


Figura 18.

### Andamios basados en sistemas insaturados

La dimerización tanto de propargilglicósidos como de alquenilglicósidos permite la obtención de sistemas divalentes de azúcares. Los propargil glicósidos dimerizan en condiciones de Glaser para dar lugar a compuestos de gran rigidez y han sido sintetizados compuestos de este tipo partiendo tanto de propargiltioglicósidos<sup>66</sup> (**67**) como de los correspondientes *O*-propargilglicósidos<sup>67</sup> (**69**).



Esquema 16.

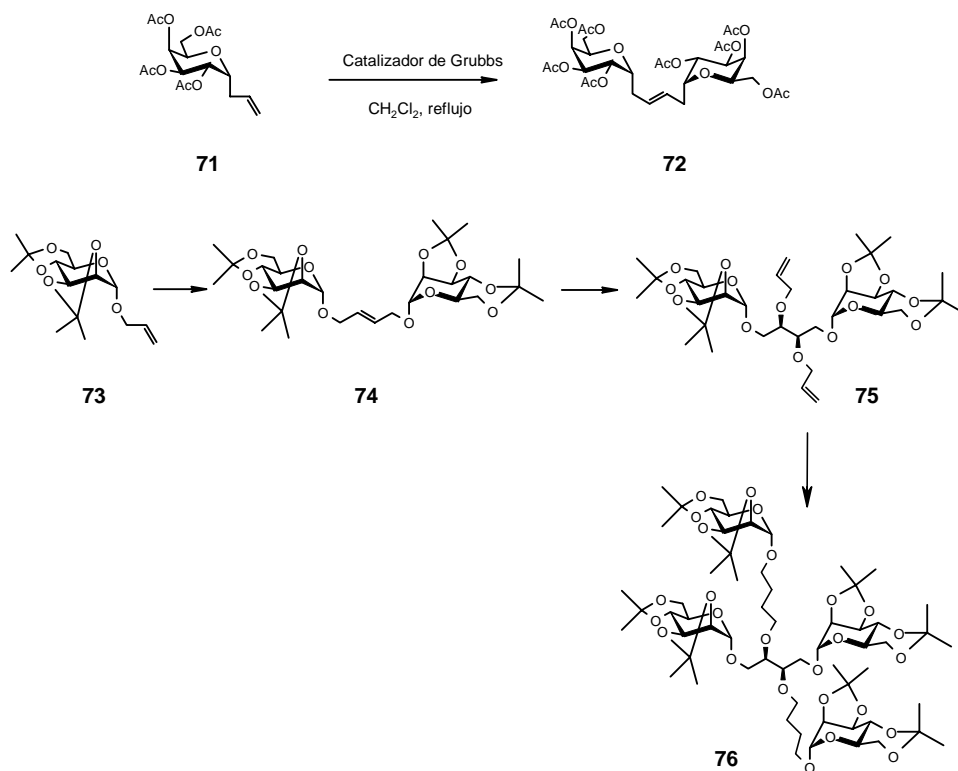
Los *O*-alquenilglicopiranosídeos como **73** y sus análogos *C*-alquenilglicopiranosídeos como **71** pueden dimerizar mediante reacción de metatesis olefínica en presencia de catalizadores de Ru<sup>68</sup> para dar lugar a sistemas divalentes como **74** y **72** respectivamente. Mediante pérdida de una unidad de etileno se obtienen dímeros unidos a través de un puente de 2-butenopentano, posterior

<sup>66</sup> Gan, Z.; Roy, R. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 1155-1158.

<sup>67</sup> Roy, R.; Das, S. K.; Hernández-Mateo, F.; Santoyo-González, F.; Gan, Z. *Synthesis* **2001**, 1049-1052.

<sup>68</sup> Dominique, R.; Das, S. K.; Roy, R. *Chem. Commun.* **1998**, 2437-2438.

dihidroxilación de algunos de estos productos seguido de alilación, metatesis con 4 equivalentes de alquenilglicósido y hidrogenación dan lugar derivados que como **76** que posee 4 restos de azúcar.<sup>69</sup>



Esquema 17.

## Andamios basados en azúcares

El grupo de Lindhorst ha desarrollado una gran variedad de sistemas multivalentes basados en andamios de azúcares<sup>70</sup> (N). Como intermedio clave Lindhorst y col. emplean los 6-bromohexil-2,3,4,6-tetra-*O*-alil- $\beta$ -D-glucopiranosido, per-*O*-alilglucopiranosido y per-*O*-aliltrealosa que pueden reaccionar con tioglicósidos mediante reacción de fotoadición. Además de reaccionar directamente con tioglicósidos, los alil derivados de azúcares han sido transformados en otros grupos funcionales como 4-hidroxi-butil derivados (**81**) que son glicosilados con

<sup>69</sup> Dominique, R.; Roy, R. *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 395-398.

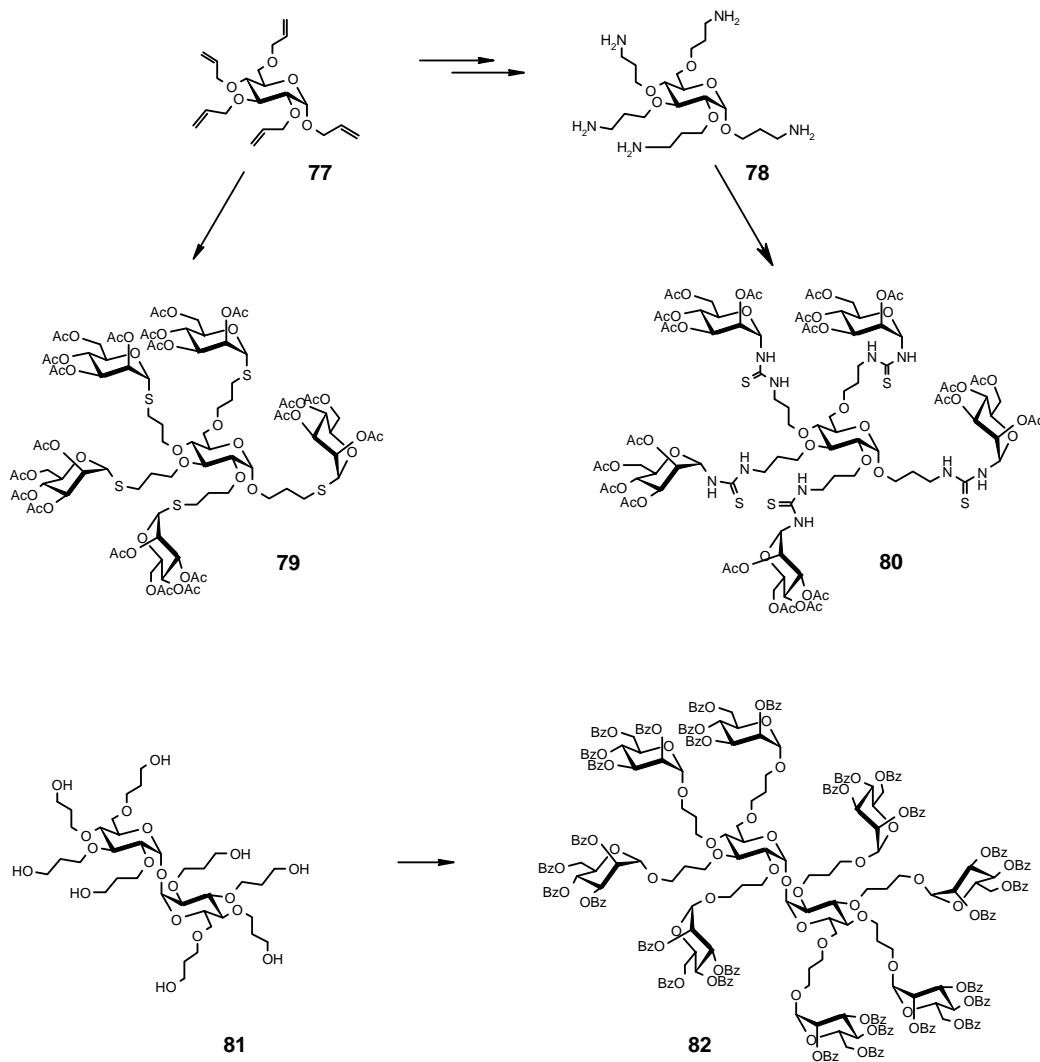
<sup>70</sup> a) Dubber, M.; Lindhorst, T. K. *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 5275-5281.

b) Dubber, M.; Lindhorst, T. K. *Org. Lett.* **2001**, 3, 4019-4022.

c) Dubber, M.; Lindhorst, T. K. *J. Carbohyd. Chem.* **2001**, 20, 755-760.

d) Köhn, M.; Benito, J. M.; Ortiz Mellet, C.; Lindhorst, T. K.; García Fernández, J. M. *ChemBioChem* **2004**, 5, 771 – 777.

tricloroacetamidatos derivados de azúcares, también han sido transformados en los correspondientes 4-aminopropil derivados (**78**) que reaccionan con isotiocyanatos de azúcares para dar glicoclústeres unidos a través de un enlace tiourea.



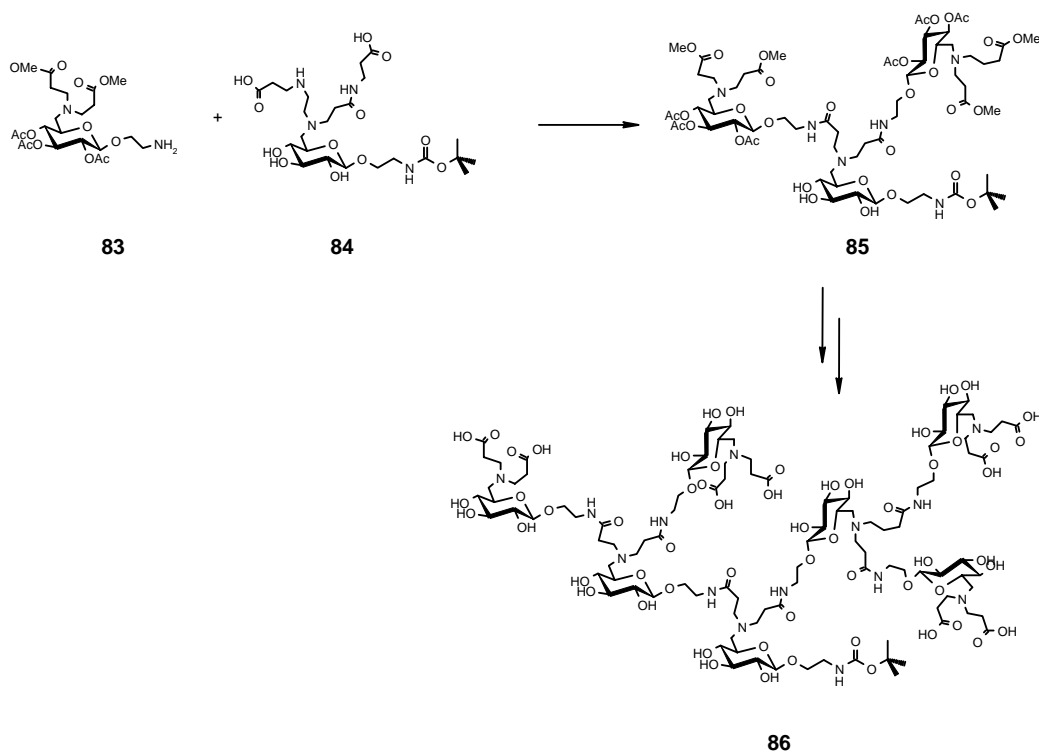
Esquema 18.

Este mismo grupo ha sintetizado glicodendrimeros basados en carbohidratos como **85** y **86** demostrando que partiendo de 6-aminoglicósidos como **84** es posible construir glicodendrimeros mediante la introducción de restos alifáticos en el amino.

71

<sup>71</sup> Sadalpure, K.; Lindhorst, T. K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 2010-2013.





Esquema 19.

Partiendo de glucosa las grupos de Read y Brundle<sup>72</sup> han sintetizado el producto **87** denominado “*starfish*” que contiene 5 copias de una estructura dimérica basada en el trisacárido pk1, trisacárido reconocido por la toxina bacteriana SLT. Se ha demostrado que este glicodendrímtero presenta una alta afinidad por esta toxina y, aunque en principio, pueda parecer que al ser pentamérico podría formar complejos de estequiometría 1:1 con la citada toxina estudios cristalográficos demuestran que esta estructura no se une a una única toxina sino que se une a dos toxinas presentando una estequiometría 2:1.

<sup>72</sup> Kitov, P. I.; Sadowska, J. M.; Mulvey, G.; Amstrong, G. D.; Ling, H.; Pannu, N. S.; Read, R. J.; Bundle, D. R. *Nature* **2000**, *403*, 669-672.

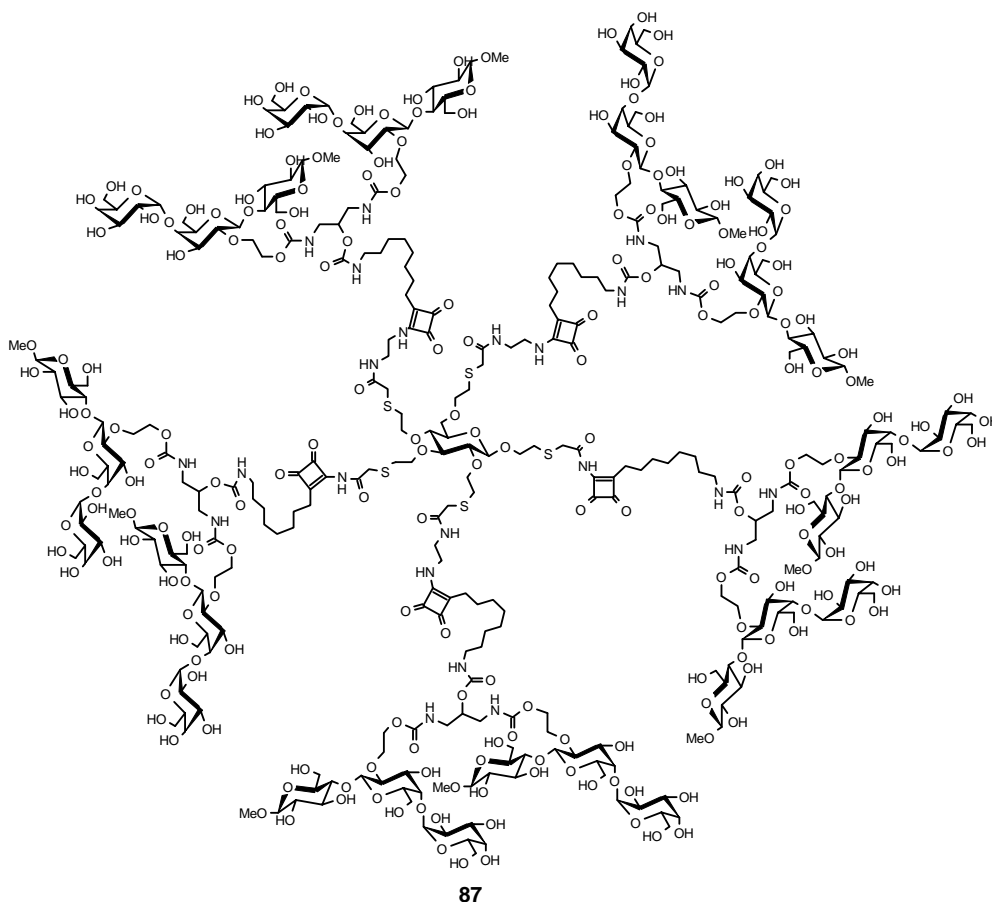


Figura 19.

### Andamios basados en ciclodextrinas

Las ciclodextrinas (**R**) son moléculas cuyas características permiten obtener de forma sencilla glicoclústeres. El gran número de grupos hidroxilo fácilmente modificables que poseen, su simetría y el hecho de poseer un interior hidrofóbico que permite la complejación de moléculas orgánicas en agua ha propiciado el empleo de las mismas tanto para la construcción de glicoclústeres con alta capacidad inhibitoria como para la obtención de sistemas capaces de transportar fármacos a tejidos específicos. Los primeros artículos de glicociclodextrinas sintetizadas por vía química fueron publicados hace más de 15 años.<sup>73</sup> Sin embargo, estas primeras glicociclodextrinas así como muchas otras sintetizadas posteriormente poseen un solo resto de azúcar unido a la ciclodextrina, por lo que no pueden ser considerados glicoclústeres. El hecho de no presentar múltiples copias de azúcares les impide, en general, poseer una gran afinidad relativa frente a lectinas respecto a monosacáridos

<sup>73</sup> a) Fugedi, P.; Nanasi, P.; Szejtli, J. *Carbohydr. Res.* **1988**, *175*, 173-181.

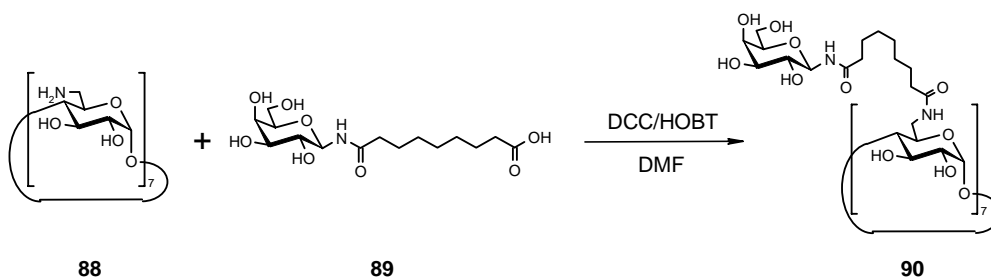
b) Defaye, J.; Gabelle, A.; Guiller, A.; Darcy, R.; O'Sullivan, T. *Carbohydr. Res.* **1989**, *192*, 251-258.

c) Cottaz, S.; Driguez, H. *Synthesis* **1989**, 755-758.

de referencia por lo que sus propiedades como transportadores de fármacos a tejidos específicos son poco significativas. Los glicoclústeres basados en ciclodextrinas pueden ser de dos tipos, aquellos formados por un dendrón unido a una sola posición de la ciclodextrina y aquellos formados por un resto de azúcar o un dendrón unidos a varios grupos hidroxilo de la ciclodextrina.

La perfuncionalización de las ciclodextrinas puede ser realizada sobre la cara primaria, sobre algunos o todos los hidroxilos de la cara secundaria, o sobre todos los hidroxilos de la ciclodextrina. La mayor parte de estas modificaciones han sido realizadas sobre la cara primaria de la ciclodextrina ya que la modificación de los hidroxilos primarios es la que produce menos problemas y muchas de estas parten de las per-6-halo-6-desoxiciclodextrinas (tanto yodo como bromo) o de per-6-amino-6-desoxiciclodextrina (**88**) que se obtiene con facilidad a partir de las primeras.

La primera síntesis de este tipo fue llevada a cabo por el grupo de Parrot-Lopez<sup>74</sup> partiendo de per-6-amino-6-desoxi- $\beta$ -ciclodextrina a la que le une un derivado de galactosa con un espaciador que contiene un ácido carboxílico mediante acoplamiento peptídico con DCC (esquema 20).



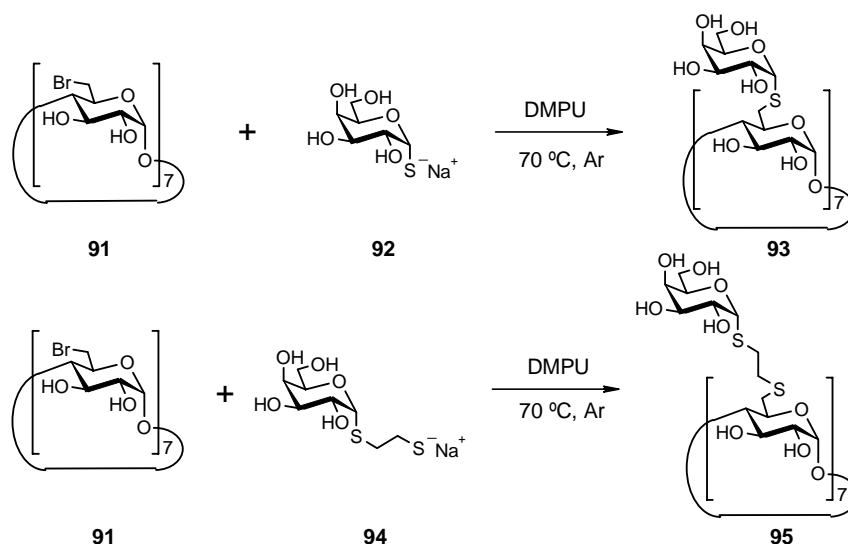
Esquema 20.

Driguez y colaboradores<sup>75</sup> obtienen ciclodextrinas unidas a derivados de galactosa (**93** y **95**) mediante el desplazamiento nucleofílico de per-6-bromo-6-desoxi- $\beta$ -ciclodextrina (**91**) por tiolatos derivados de galactosa. Posteriormente Djedaïni-Pilard y col.<sup>76</sup> sintetizaron los correspondientes per-tioderivados de glucosa.

<sup>74</sup> Parrot-Lopez, H.; Leary, E.; Coleman, A. W. *Supramol. Chem.* **1993**, *3*, 37-42.

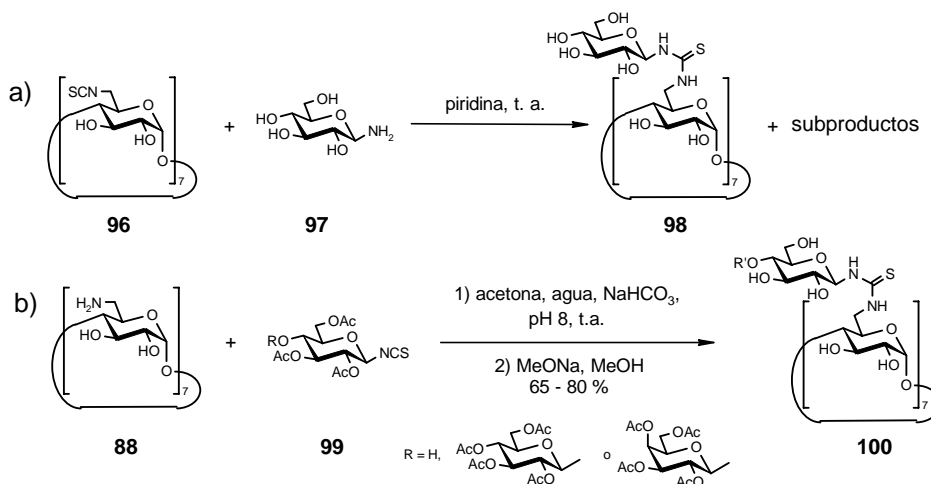
<sup>75</sup> de Robertis, L.; Lancelon-Pin, C.; Driguez, H.; Attioui, F.; Bonaly, R.; Marsura, A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1994**, *4*, 1127-1130.

<sup>76</sup> Lainé, V.; Coste-Sarguet, A.; Gadelle, A.; Defaye, J.; Perly, B.; Djedaïni-Pilard, F. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1995**, 1479-1487.



Esquema 21.

Por su parte el grupo de Stoddart emplea una estrategia similar a la de Parrot-Lopez para acoplar un derivado del ácido propiónico conteniendo glucosa y lactosa a la per-6-amino-6-desoxi- $\beta$ -ciclodextrina mediante HBTU<sup>77</sup>. También partiendo de per-6-amino-6-desoxi- $\beta$ -ciclodextrina los grupos de Ortiz-Mellet, García Fernández y Defaye llevaron a cabo la síntesis de ciclodextrinas persustituidas en C-6 mediante el empleo de enlaces tiourea uniéndole el isotiocianato de un azúcar<sup>78</sup> (esquema 22b), la estrategia contraria partiendo de per-6-isotiociano-6-desoxi- $\beta$ -ciclodextrina (**96**) y un aminoazúcar aunque atractiva por permitir el empleo de azúcares desacetilados no da buenos resultados debido a la obtención de gran cantidad de subproductos (esquema 22a).

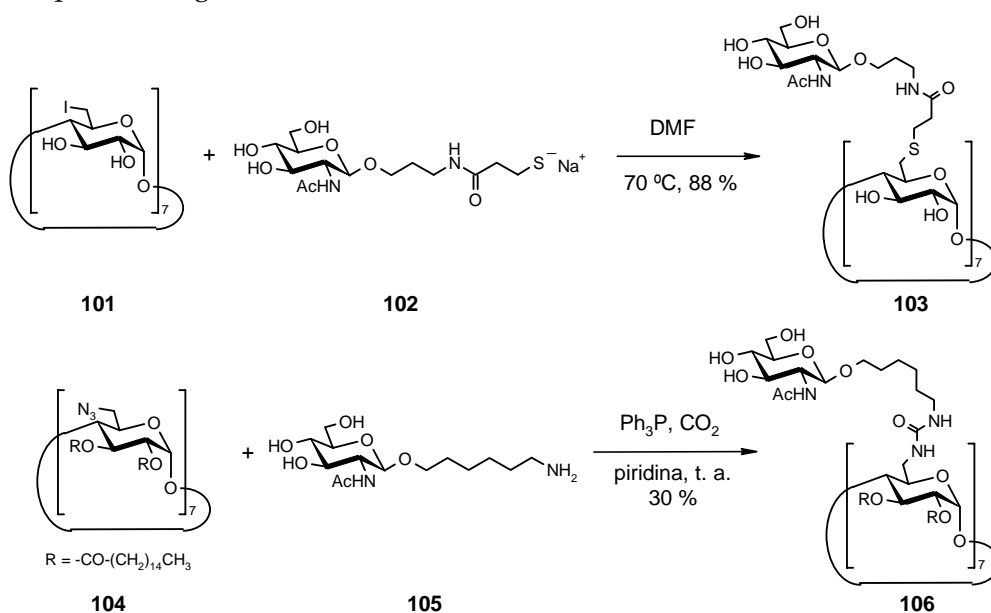


Esquema 22.

<sup>77</sup> Fulton, D. A.; Pease, A. R.; Stoddart, J. F. *Isr. J. Chem.* **2000**, *40*, 325-333.

<sup>78</sup> Ortiz-Mellet, C.; Benito, J. M.; García Fernández, J. M.; Law, H.; Chmurski, K.; Defaye, J.; O'Sullivan, M. L.; Caro, H. N. *Chem. Eur. J.* **1998**, *4*, 2523-2531.

Furuike y Aiba<sup>79</sup> obtienen tiolatos sódicos derivados de *S*-acetil-tiopropionil-aminopropil galactosa y el análogo de *N*-acetilglucosamina **102** que hacen reaccionar con per-6-yodo-6-desoxi- $\beta$ -ciclodextrina (**101**). Posteriormente junto a Nishimura<sup>80</sup> amplían la síntesis a los derivados de lactosa y *N*-acetilgalactosamina. El derivado de *N*-acetilglucosamina **103** ha sido recientemente transformado<sup>81</sup> en el derivado que contiene grupos sialil Lewis X mediante síntesis enzimática. El grupo de Nishimura<sup>82</sup> también ha sintetizado derivados anfifílicos de ciclodextrina per-esterificando en C-2 y C-3 la per-6-azido-6-desoxi- $\beta$ -ciclodextrina **104** con anhídrido palmítico, posteriormente reducen los grupos azida con trifenilfosfina en presencia de una hexilamina derivada de *N*-acetilglucosamina y anhídrido carbónico para dar lugar a la correspondiente glicociclodextrina a través de un enlace urea **106**.



Esquema 23.

Nuestro grupo de investigación ha estado muy interesado en la síntesis compuestos de este tipo especialmente mediante reacción de sustitución de tiolatos generados *in-situ* a partir de sales de isotiuronio con diversos halocompuestos. Así, junto a los grupos de investigación de Roy y Vargas-Berenguel, se hicieron reaccionar las sales de isotiuronio de varios monosacáridos *in-situ* con la per-6-yodo-6-desoxi- $\beta$ -ciclodextrina **107** y la per-6-cloroacetamido-6-desoxi- $\beta$ -ciclodextrina<sup>83</sup> **112** para dar lugar a varios glicoclústeres basados en ciclodextrinas como **109**, **111** y **114**.

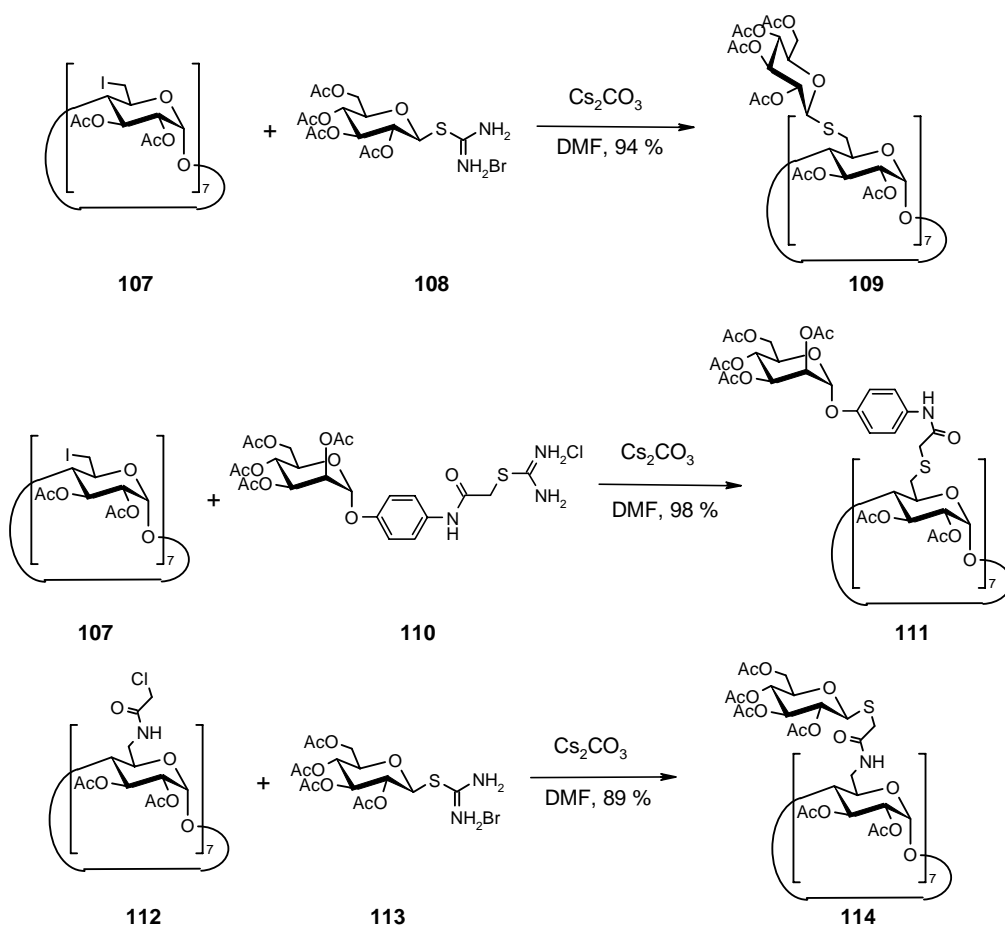
<sup>79</sup> Furuike, T.; Aiba, S. *Chem. Lett.* **1999**, 69-70.

<sup>80</sup> Furuike, T.; Aiba, S.; Nishimura, S.-I. *Tetrahedron* **2000**, *56*, 9909-9915.

<sup>81</sup> Furuike, T.; Sadamoto, R.; Niikura, K.; Monde, K.; Sakairi, N.; Nishimura, S.-I. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 1737-1742.

<sup>82</sup> Sallas, F.; Niikura, K.; Nishimura, S.-I. *Chem. Commun.* **2004**, 597-597.

<sup>83</sup> García-López, J. J.; Hernández-Mateo, F.; Isac-García, J.; Kim, J. M.; Roy, R.; Santoyo-González, F.; Vargas-Berenguel, A. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 522-531.



Esquema 24.

Mediante el empleo de una metodología similar también han sido sintetizadas otras glicociclodextrinas con espaciadores de mayor longitud mediante la reacción de las ciclodextrinas **107** y **112** con sales de *N*-isotiuronioacetilglicopiranosilaminas,<sup>84</sup> así como glicodendrímeros basados en ciclodextrinas mediante la reacción de la per-6-yodo-6-desoxi- $\beta$ -ciclodextrina **107** con dendrones que contienen 2 unidades de monosacárido y un grupo tiol terminal.<sup>85</sup> En un trabajo posterior se ampliaron la síntesis de estos glicoconjugados a disacáridos como la lactosa, la celobiosa<sup>86</sup> y derivados del ácido siálico.<sup>87</sup>

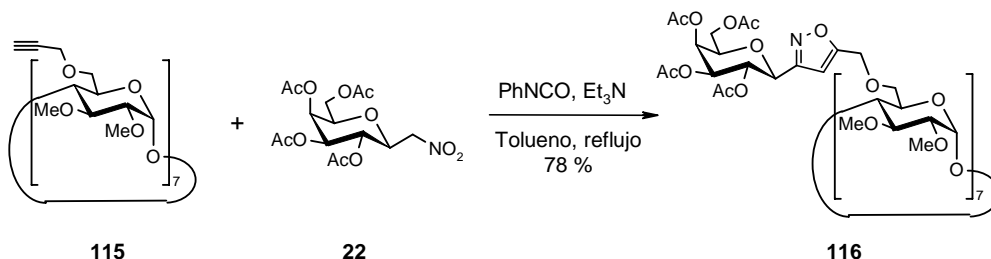
<sup>84</sup> García-López, J. J.; Santoyo-González, F.; Vargas-Berenguel, A.; Giménez-Martínez, J. J. *Chem. Eur. J.* **1999**, *5*, 1775-1784.

<sup>85</sup> Ortega-Caballero, F.; Giménez-Martínez, J. J.; García-Fuentes, L.; Ortiz-Salmerón, E.; Santoyo-González, F.; Vargas-Berenguel, A. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 7786-7795.

<sup>86</sup> Vargas-Berenguel, A.; Ortega-Caballero, F.; Santoyo-González, F.; García-López, J. J.; Giménez-Martínez, J. J.; García-Fuentes, L.; Ortiz-Salmerón, E. *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 812-827.

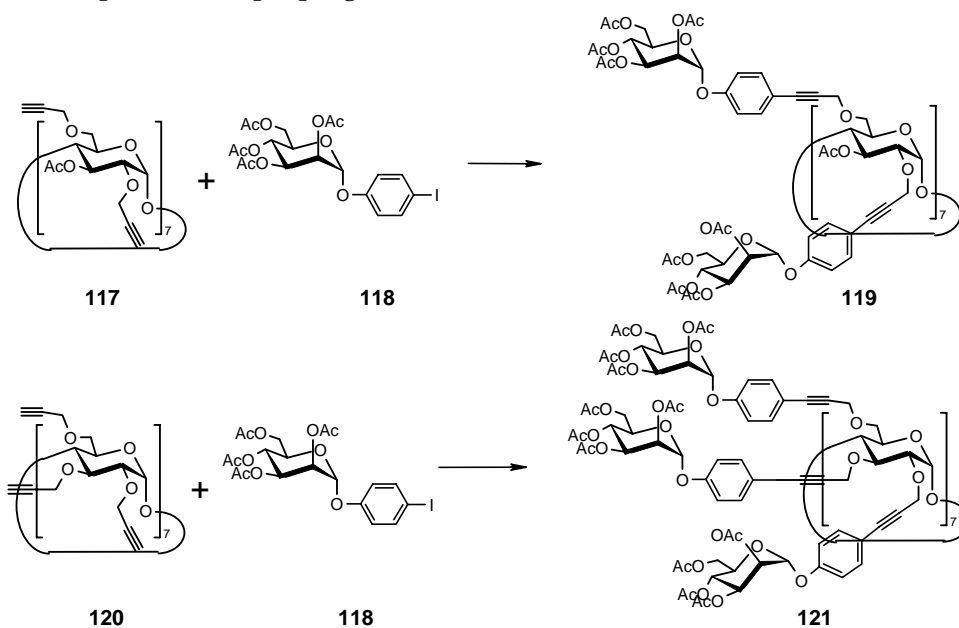
<sup>87</sup> Roy, R.; Hernández-Mateo, F.; Santoyo-González, F. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 8743-8746.

Además de estos sistemas, y como parte del estudio de las reacciones de cicloadición 1,3-dipolares de óxidos de nitrilo derivados de azúcares y alquinos, hemos llevado a cabo<sup>42</sup> la reacción del óxido de nitrilo derivado de galactosa **22** con la per-6-propargil- $\beta$ -ciclodextrina **115** dando lugar al correspondiente glicoclúster **116** basado en un andamio de ciclodextrina.



Esquema 25.

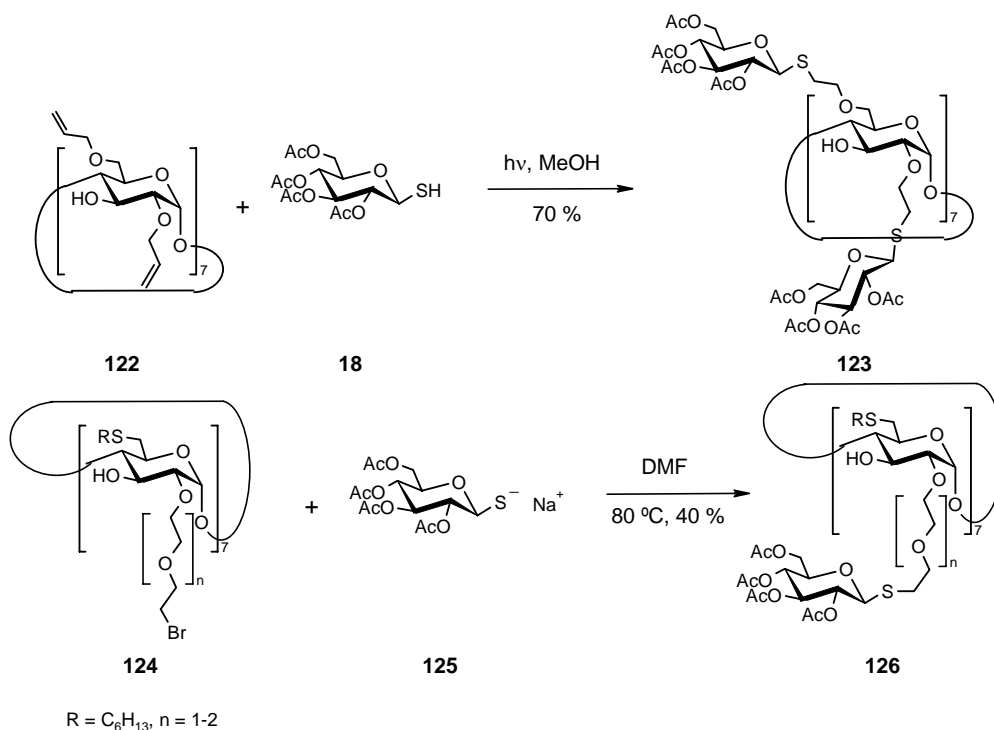
El grupo de Vargas-Berenguel<sup>88</sup> también ha trabajado en la síntesis de derivados de ciclodextrinas basadas en propargilciclodextrinas. En concreto, partiendo de una per-6-propargil- $\beta$ -ciclodextrina, y mediante la reacción de Sonogashira con el 4-yodofenilmanósido **118** se obtiene el correspondiente derivado de ciclodextrina permodificada en la cara estrecha. En este mismo trabajo partiendo de una per-3-propargilciclodextrina obtiene derivados de ciclodextrina conteniendo azúcares por la cara ancha de la ciclodextrina y ciclodextrinas con azúcares unidos tanto por la cara ancha como por la cara estrecha **119** partiendo de la per-2,6-*O*-propargilciclodextrina **117** y el caso único de una ciclodextrina totalmente per-sustituida con azúcares **121** partiendo de per-2,3,6-*O*-propargilciclodextrina **120**.



Esquema 26. Condiciones:  $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_4$ , piperidina, 75 °C; después  $\text{Ac}_2\text{O}$ , piridina, rend. = 75 %

<sup>88</sup> Ortega-Caballero, F.; Giménez-Martínez, J. J.; Vargas-Berenguel, A. *Org. Lett.* **2003**, 5, 2389-2392.

El grupo de Stoddart también ha obtenido ciclodextrinas tanto modificadas en la cara ancha como en la cara ancha y estrecha simultáneamente (**123**) partiendo de una per-2-*O*-alil- $\beta$ -ciclodextrina y per-2,6-*O*-alil- $\beta$ -ciclodextrina respectivamente mediante la reacción de fotoadición de estas con a tioglucopiranosa **18**.<sup>89</sup> Otro ejemplo de ciclodextrina persustituida con glicósidos en la cara ancha fue dado por los grupos de Darcy y Mazzaglia<sup>90</sup> que sintetizaron una ciclodextrina anfifílica **126** con grupos tioalquilo en posición 6 y unidades de galactosiltiliooligoetilenglicol en posición 2 de la ciclodextrina.



Esquema 27.

Las glicociclodextrinas formadas por un dendrón unido a uno de los grupos hidroxilo de la ciclodextrina han sido diseñadas como transportadores de fármacos a tejidos específicos. Poseen la ventaja de una mayor afinidad por lectinas que los sistemas compuestos por un resto de azúcar unido a la ciclodextrina y parecen complejar moléculas hidrófobas mejor que los sistemas que poseen restos de azúcar unidos a varias posiciones de la ciclodextrina. A pesar de ello solo existen dos ejemplos de sistemas de este tipo, el primero fue sintetizado por el grupo de Driguez<sup>91</sup> partiendo de **128** que contiene un ácido carboxílico y 2 grupos tioglicosídicos unido a

<sup>89</sup> a) Fulton, D. A.; Stoddart, J. F. *Org. Lett.* **2000**, 2, 1113-1116.

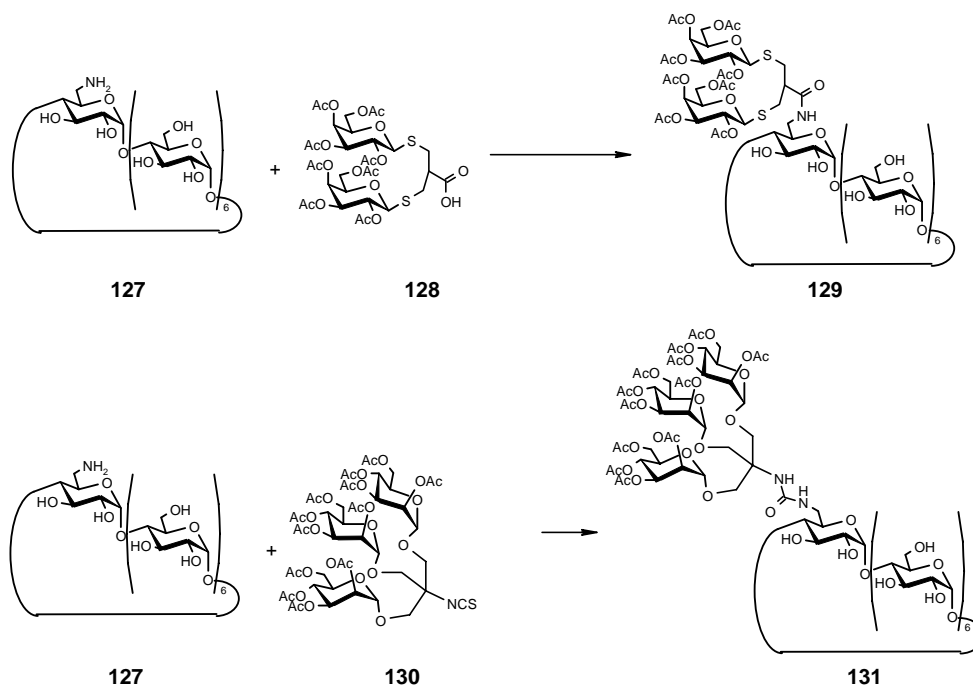
b) Fulton, D. A.; Stoddart, J. F. *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 8309-8319.

<sup>90</sup> Mazzaglia, A.; Forde, D.; Garozzo, D.; Malvagana, P.; Ravoo, B. J.; Darcy, R. *Org. Biomol. Chem.* **2004**, 2, 957-960.

<sup>91</sup> Lancelon-Pin, C.; Driguez, H. *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 3125-3128.



6-monoamino- $\beta$ -ciclodextrina (**127**) empleando DCC como agente de acoplamiento. Por su parte los grupos de García Fernández, Ortiz Mellet y Defaye<sup>92</sup> han llegado más allá, sintetizando ciclodextrinas monosustituidas que contienen dendrones formados por entre 1 y 6 unidades de manosa a través de enlaces de tipo tiourea y estudiando la afinidad de los mismos por lectinas así como la capacidad complejante de la ciclodextrina. En el último artículo<sup>92b</sup> presentan la síntesis de un sistema de bis-ciclodextrina unida a un dendrón conteniendo varios azúcares diseñado para aumentar la capacidad de complejación del sistema por moléculas hidrofóbicas.



Esquema 28.

### Andamios basados en calixarenos y análogos

Los calixarenos (**O**) y sus análogos calixresorcarenos poseen propiedades que, en parte, son similares a las de las ciclodextrinas y que los hacen adecuados como andamios para la formación de glicoclústeres. Sin embargo, debido a su gran hidrofobicidad los glicocalixarenos suelen ser poco solubles en agua comportándose como sustancias anfífilas. Este hecho ha permitido que sean empleados en ocasiones para la formación de monocapas sobre superficies hidrofóbicas tales como láminas plásticas<sup>93</sup> o de cuarzo.<sup>94</sup>

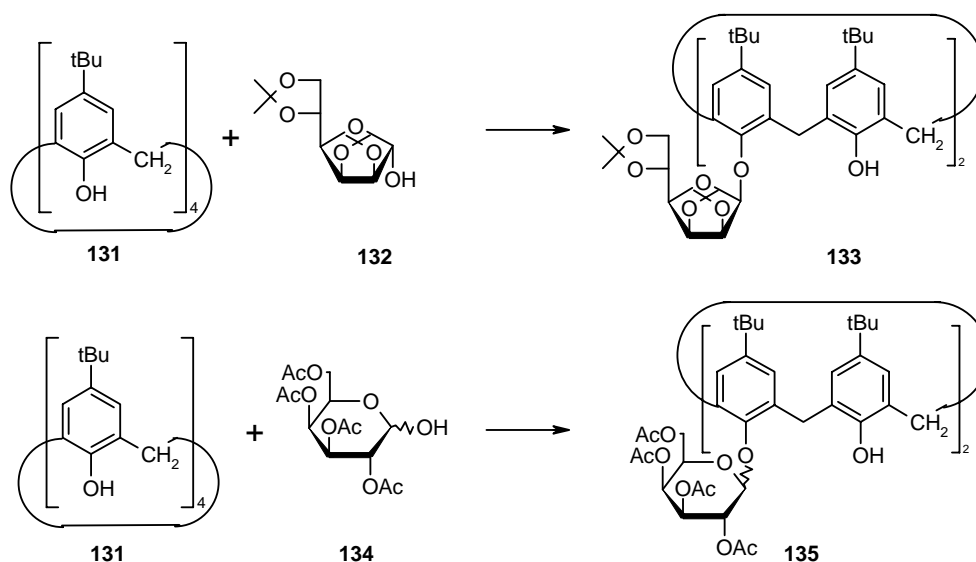
<sup>92</sup> a) Baussanne, I.; Benito, J. M.; Ortiz Mellet, C.; García Fernández, J. M.; Law, H.; Defaye, J. *Chem. Commun.* **2000**, 2741-2742.

b) Benito, J. M.; Gómez-García, M.; Ortiz Mellet, C.; Baussanne, I.; Defaye, J.; García Fernández, J. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 10355-10363.

<sup>93</sup> Roy, R.; Kim, J. M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 369-372.

<sup>94</sup> Fujimoto, T.; Shimizu, C.; Hayashida, O.; Aoyama, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 6676-6677.

Muchas de las síntesis de glicocalixarenos se basan en reacciones de glicosidación de los grupos fenólicos de la cara estrecha del calixareno o de grupos hidroxilos situados en la cara ancha del calixareno. Para la primera síntesis de estos glicocalixarenos Dondoni y Ungaro acoplaron calix[4]areno y monosacáridos con el hidroxilo anomérico libre mediante condiciones de Mitsunobu obteniendo calix[4]arenos con 1 o 2 unidades de azúcar directamente unidos a los mismos por la cara estrecha<sup>95</sup> (esquema 29). Sin embargo, este tipo de glicosidación es poco selectiva en cuanto a la configuración del carbono anomérico por lo que en ocasiones da lugar a la formación de los dos diastereoisómeros posibles como se puede apreciar en el compuesto **135**.



Esquema 29.

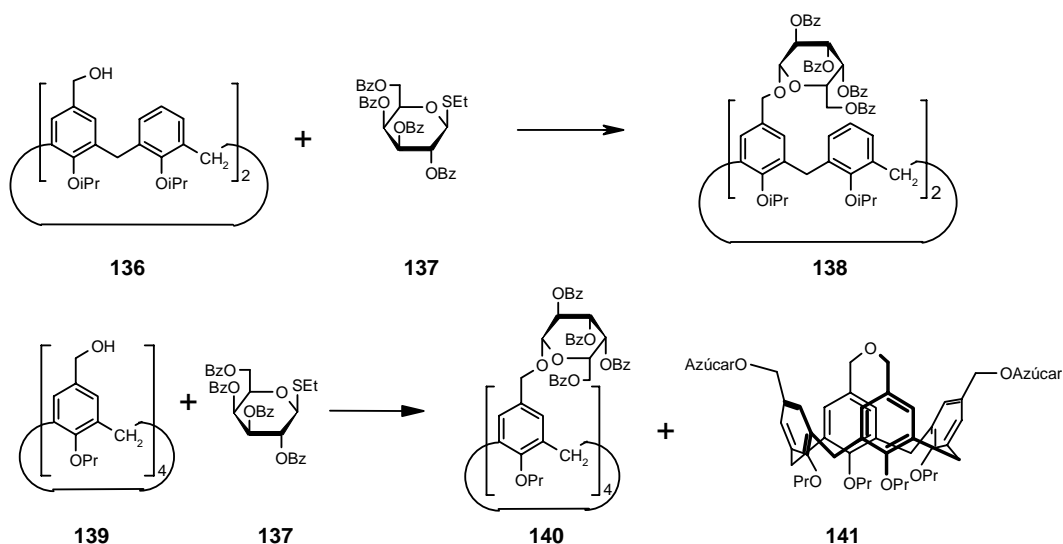
En este mismo trabajo también obtuvieron derivados de calix[4]arenos conteniendo azúcares por la cara ancha, para lo que acoplaron 5,17-dihidroximetilcalix[4]areno (**136**) o 5,11,17,23-tetrahidroximetilcalix[4]areno (**139**) y etiltioglicósidos como **137** mediante el empleo de triflato de cobre para dar lugar a los derivados di- y tetrasustituidos. En el caso del tetrahidroximetilcalixareno se obtiene como subproducto un bis-glicocalixareno con un puente éter entre los dos grupos hidroximetilo sin glicosidar (**141**) debido a la gran acidez en que se realiza la reacción unido al impedimento estérico producido por la múltiple glicosidación. Este hecho reduce en gran medida los rendimientos, siendo en el caso de etiltiolactósidos el único producto obtenido. El empleo de los análogos hidroxipropilcalixarenos evita la formación de estos subproductos obteniéndose los correspondientes calixarenos

<sup>95</sup> a) Marra, A.; Scherrmann, M.-C.; Dondoni, A.; Casnati, A.; Minari, P.; Ungaro, R. *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.* **1994**, *33*, 2479-2481.

b) Dondoni, A.; Marra, A.; Scherrmann, M.-C.; Casnati, A.; Sansone, F.; Ungaro, R. *Chem. Eur. J.* **1997**, *3*, 1774-1782.

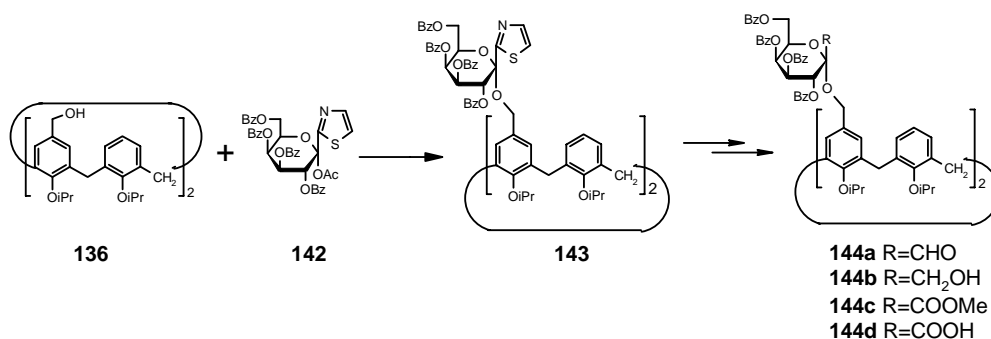
c) Dondoni, A.; Kleban, M.; Hu, X.; Marra, A. Banks, H. D. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 4722-4733.

tetraglicosilados con rendimientos significativamente mayores.<sup>94c</sup> Desafortunadamente todos estos compuestos, una vez hidroxilados, demostraron ser insolubles en agua.



Esquema 30.

También es posible obtener calixareno-azúcares<sup>96</sup> como **143** partiendo del 5,17-dihidroximetilcalix[4]areno y haciéndolo reaccionar con 2 moles de 2,3,4,6-tetra-O-bencil-1-acetoxi-1-C-(2-tiazolil)-α-D-galactopiranososa, empleando como catalizador TMSOTf (esquema 31). Estos grupos tiazolil pueden ser posteriormente transformados en otros grupos funcionales como aldehídos, alcoholes, ésteres o ácidos carboxílicos.

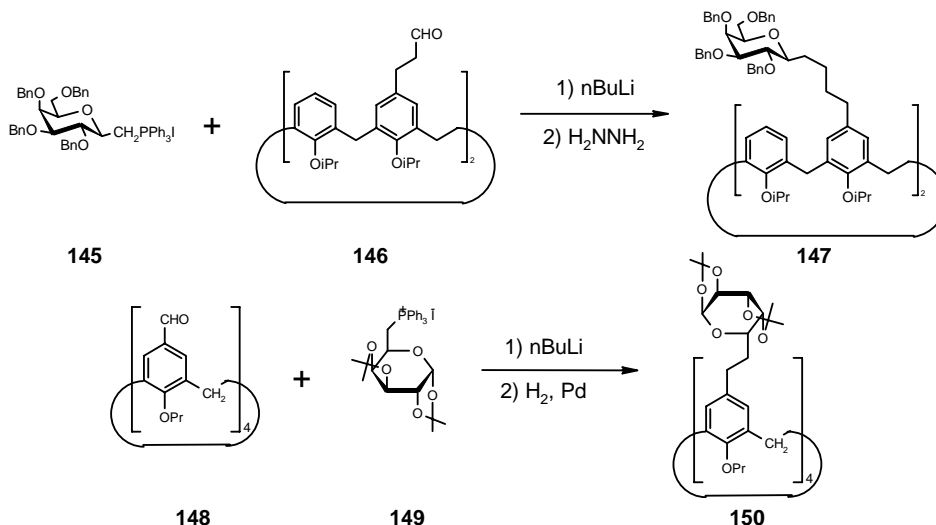


Esquema 31.

Otra reacción de glicosilación, empleada en este caso para la obtención de C-glicósidos unidos a calixarenos, ha sido la condensación de Wittig entre aldehídos

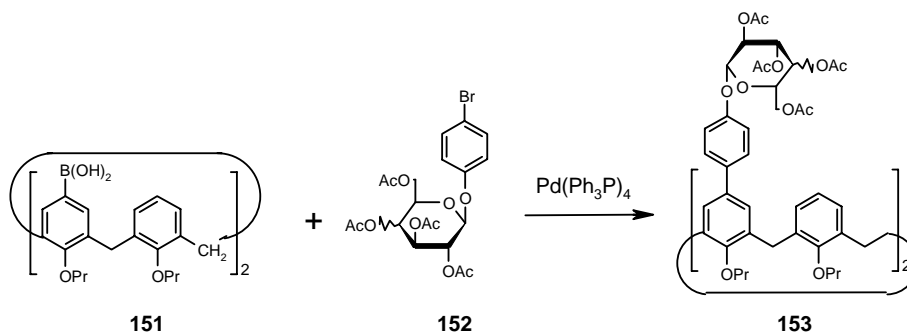
<sup>96</sup> a) Marra, A.; Dondoni, A.; F. Sansone *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 5155-5158.  
b) Dondoni, A.; Marra, A. *Chem. Commun.* **1999**, 2133-2145.

derivados de calixarenos por la cara ancha e iluros de fósforo derivados de azúcares en C-1 como **145** y posterior reducción del doble enlace producido que conduce a los citados glicocalixarenos como **147** que contienen C-glicósidos<sup>95c</sup> con rendimientos moderados. La misma estrategia aplicada a iluros de fósforo en C-6 del azúcar (**149**) permite la obtención de los correspondientes calixarenos como **150** unidos a azúcares<sup>95c, 97</sup> por C-6.



Esquema 32.

Además de glicosidaciones, otras reacciones de muy diverso tipo han sido empleadas para la síntesis de glicocalixarenos. El grupo de investigación de Parrot-Lopez<sup>98</sup> describe la síntesis de nuevos calixarenos-azúcares que contienen un espaciador de naturaleza aromática entre ellos mediante reacción de Suzuki (véase esquema 33). La reacción de diversos p-bromofenil β-D-glicósidos (**152**) adecuadamente protegidos con ácidos borónicos derivados del tetrapropioxicalixareno como **151** en las condiciones de la reacción de Suzuki les lleva a la formación de los correspondientes carbohidratos derivados de n-propioxicalix[4]arenos (**153**).

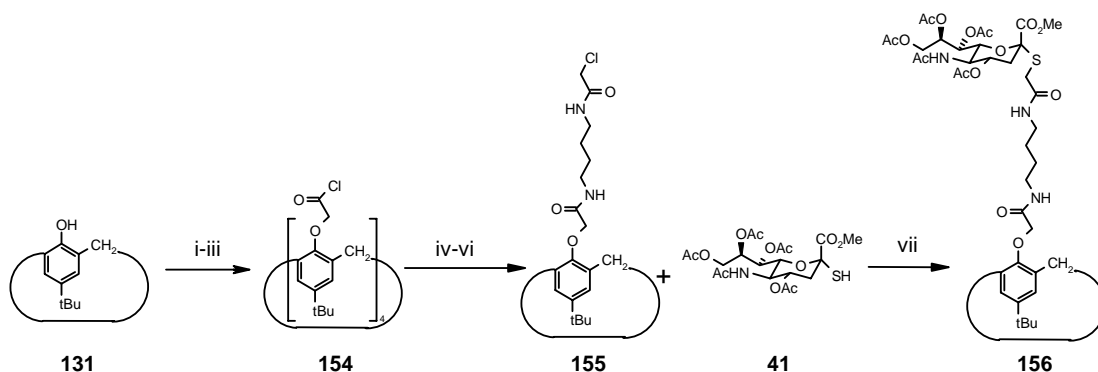


Esquema 33.

<sup>97</sup> Dondoni, A.; Kleban, M.; Marra, A. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 7801-7804.

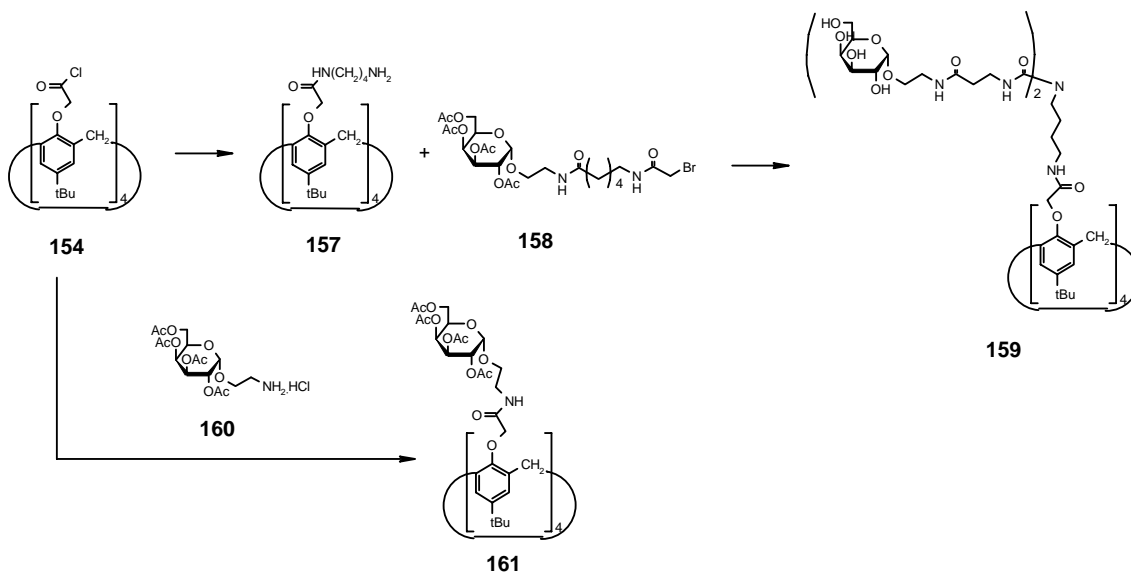
<sup>98</sup> Félix, C.; Parrot-Lopez, H.; Kalchenko V.; Coleman, A. W. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 9171-9174.

El grupo de Roy<sup>99</sup> ha descrito la síntesis de derivados de *p*-*tert*-butilcalix[4]areno que contienen restos de ácido siálico en la cara estrecha del calix[4]areno mediante reacción de sustitución del cloro de una cloroacetamida por el tiolato derivado de ácido siálico (esquema 34), reacción empleada en varias ocasiones por este mismo grupo para la síntesis de glicoclústeres basados en otros andamios.



**Esquema 34.** Condiciones: i)  $\text{BrCH}_2\text{CO}_2\text{Et}$ ,  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , acetona, reflujo; ii)  $\text{KOH}$  1M,  $\text{H}_2\text{O}/\text{EtOH}$ , reflujo; iii)  $\text{SO}_2\text{Cl}$ , reflujo; iv)  $\text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_4\text{NHBoc}$ ,  $\text{Et}_3\text{N}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; v)  $\text{TFA}$  20 %,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; vi)  $(\text{ClCH}_2\text{CO})_2\text{O}$ ,  $\text{Et}_3\text{N}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; vii)  $\text{Et}_3\text{N}$ , acetonitrilo, t. a.

Este mismo grupo de investigación<sup>93</sup> ha sintetizado dendrímeros a partir de la alquilación de aminas derivadas de *p*-*tert*-butilcalix[4]areno con derivados de bromoacetamida conteniendo azúcares (**163**). Mediante este método han sido obtenidos calixarenos conteniendo hasta 16 restos de azúcar.

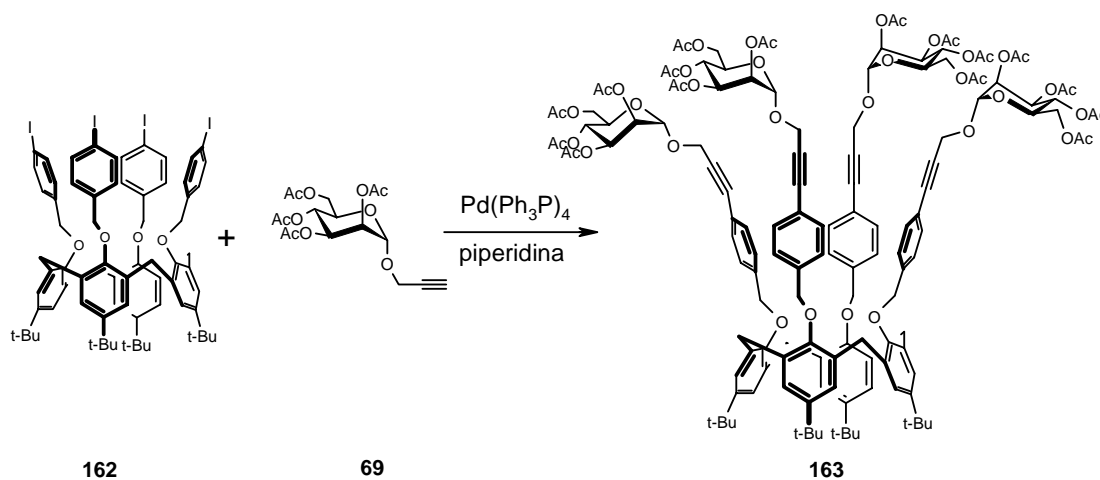


**Esquema 35.**

<sup>99</sup> Meunier, S. J. ; Roy, R. *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 5469-5472.

Mediante reacción de un cloruro de ácido derivado de calix[4]areno y 6-amino-6-desoxi-1,2:3,4-di-*O*-isopropiliden- $\alpha$ -D-galactopiranososa se obtienen calixarenos conteniendo 2 unidades de azúcar aunque ha sido imposible la posterior desprotección del azúcar.<sup>100</sup>

Nuestro grupo de investigación<sup>101</sup> ha trabajado intensamente en el empleo de calixarenos como andamio para la construcción de clústeres tanto con éteres corona como con azúcares, así hemos sintetizado glicocalixarenos mediante reacción de Sonogashira de tetrakis-(4-yodobenciloxi)calix[4]areno y 1-*O*-propinil-2,3,4,6-tetra-*O*-acetilmanopiranosido (esquema 36).



Esquema 36.

Previamente habíamos sintetizado calixarenos conteniendo azúcares en la cara estrecha por reacción de diversos glicopiranosil isotiocianatos (derivados de glucosa, manosa, galactosa y lactosa) con el bis-(aminometiloxi)calix[4]areno **164**<sup>102</sup> (esquema 37). Empleando una estrategia similar, el grupo de Ungaro ha sintetizado neoglicoconjugados basados en calix[4]arenos unidos a través de enlaces tiourea a la cara ancha del calixareno mediante reacción de los correspondientes di- y tetraaminocalixarenos y glicosilisocianatos<sup>103</sup>. Más recientemente han sido obtenidos tioureidoglicosilcalix[8]arenos<sup>104</sup> así como glicocalixarenos conteniendo un espaciador de tipo aminoácido.<sup>105</sup>

<sup>100</sup> Budka, J.; Tkadlecová, M.; Lhoták, P.; Stibor, I. *Tetrahedron* **2000**, *56*, 1883-1887.

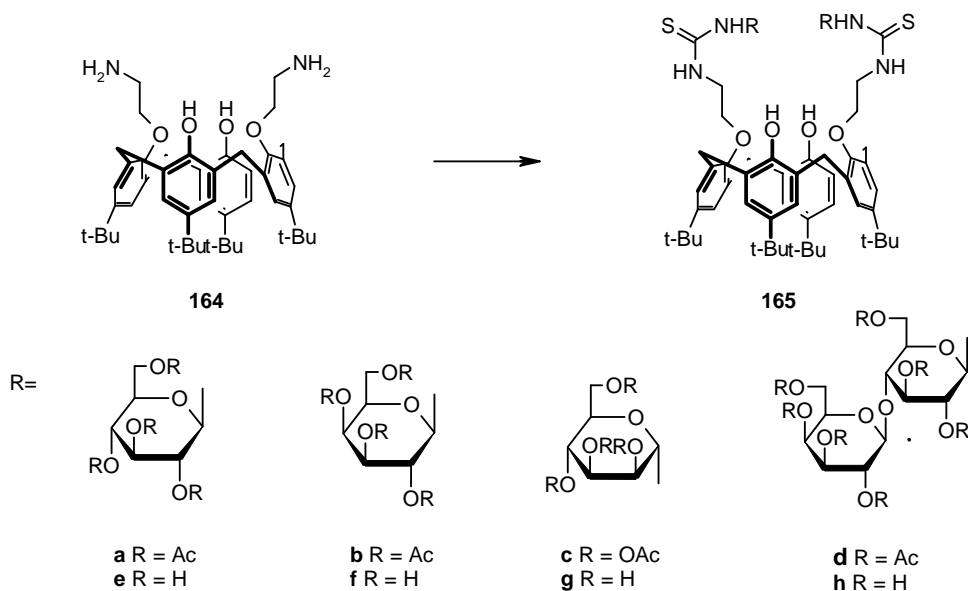
<sup>101</sup> Pérez-Balderas, F.; Santoyo-González, F. *Synlett* **2001**, 1699-1702.

<sup>102</sup> Saitz-Barria, C.; Torres-Pinedo, A.; Santoyo-Gonzalez, F. *Synlett* **1999**, 1891-1894.

<sup>103</sup> Sansone, F.; Chierici, E.; Casnati, A.; Ungaro, R. *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 1802-1809.

<sup>104</sup> Consoli, G. M. L.; Cunsolo, F.; Geraci, C.; Mecca, T.; Neri, P. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 7467-7470.

<sup>105</sup> Consoli, G. M. L.; Cunsolo, F.; Geraci, C.; Sgarlata, V. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 4163-4166.



Esquema 37.

Aoyama y col.<sup>94</sup> han sintetizado derivados de calix[4]resorcarenos conteniendo ocho restos de azúcar (**166**) y con estos compuestos han llevado a cabo experimentos de unión en agua a láminas de cuarzo. También han sintetizado<sup>106</sup> otros análogos de calixarenos conteniendo 4 restos de azúcar como **167**.

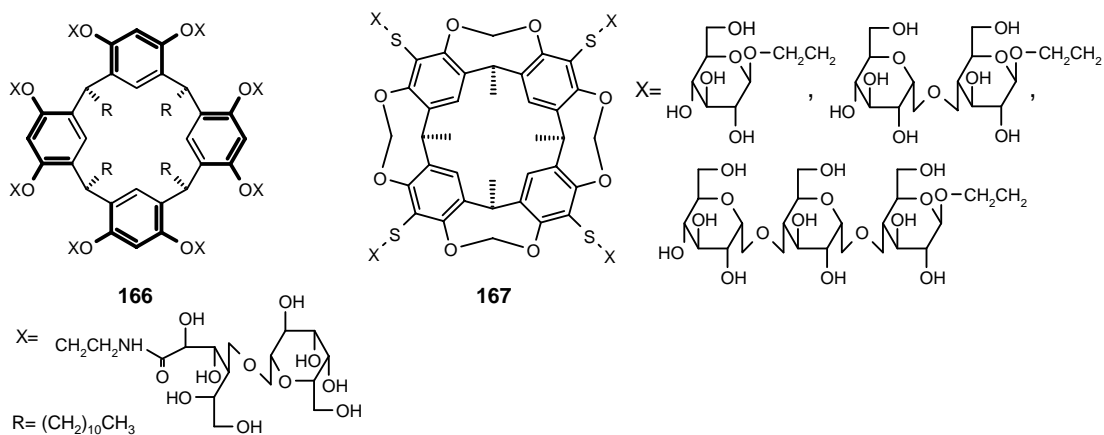


Figura 20.

<sup>106</sup> Hayashida, O.; Nishiyama, K.; Matsuda, Y.; Aoyama Y. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 3407-3410.

## Otros andamios

En los últimos años se ha ampliado la síntesis de glicoclústeres empleando andamios de otra naturaleza: ferrocenos,<sup>107, 108</sup> porfirinas<sup>109</sup> (Q), sistemas basados en silicio<sup>110, 111</sup> o fullerenos.<sup>112</sup>

Mediante reacción entre cloruros de ácido derivados de ferroceno y aminas derivadas de azúcares varios grupos de investigación entre ellos el de Stoddart<sup>107</sup> obtienen sistemas que contienen entre 1 y 6 restos de azúcares, los ferrocenos empleados son el cloruro del ácido ferrocenocarboxílico y del ácido 1,1'-ferrocenodicarboxílico y los azúcares son un derivado de 2-etilaminoglucósido y un sistema basado en el TRIS que contiene 3 restos de glucosa. Nuestro grupo de investigación conjuntamente con el grupo de Vargas-Berenguel<sup>108</sup> han sintetizado derivados de ferroceno conteniendo 2 restos de azúcar mediante dos tipos de reacción: cicloadición 1,3-dipolar entre 1,1'-bis(azidometil)ferroceno y propargilglicósidos y, aprovechando la alta basicidad de los hidroximetilferrocenos, reacción entre 1,1'-bis(hidroximetil)ferroceno y tioglicósidos en presencia de TFA.

Ballardini y col.<sup>109</sup> obtuvieron glicoporfirinas mediante reacción entre 2-aminoetilglicósidos o derivados de TRIS conteniendo tres restos de azúcar y porfirinas que contienen 4 grupos cloruro de ácido.

El grupo de investigación de Matsuoka ha empleado diversos silanos como andamio para la construcción de glicodendrimeros.<sup>110</sup> Según sus autores, estos glicodendrimeros presentan como ventaja sobre los basados en poliaminas su naturaleza neutra en medios acuosos. La síntesis se realiza por reacción de tipo S<sub>N</sub>2 de un tiol derivado del azúcar como **168** sobre diversos andamios de tipo polibromopropilsilano. De esta forma se han obtenido glicoconjugados que presentan

---

<sup>107</sup> Ashton, P. R.; Balzani, V.; Clemente-León, M.; Colonna, B.; Credi, A.; Jayaraman, N.; Raymo, F. M.; Stoddart, J. F.; Venturi, M. *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 673-684.

<sup>108</sup> Casas-Solvas, J. M.; Vargas-Berenguel, A.; Capitán-Vallvey, L. F.; Santoyo-González, F. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3687-3690.

<sup>109</sup> Ballardini, R.; Colonna, B.; Gandolfi, M. T.; Kalovidouris, S. A.; Orzel, L.; Raymo, F. M.; Stoddart, J. F. *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 288-294.

<sup>110</sup> a) Matsuoka, K.; Terabatake, M.; Esumi, Y.; Terunuma, D.; Kuzuhara, H. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 7839-7842.

b) Matsuoka, K.; Kurosawa, H.; Esumi, Y.; Terunuma, D.; Kuzuhara, H. *Carbohydr. Res.* **2000**, *329*, 765-772.

c) Matsuoka, K.; Oka, H.; Koyama, T.; Esumi, Y.; Terunuma, D. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 3327-3330.

d) Matsuoka, K.; Ohtawa, T.; Hinou, H.; Koyama, T.; Esumi, Y.; Nishimura, S.-I.; Hatano, K.; Terunuma, D. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 3617-3620.

<sup>111</sup> a) Feher, F. J.; Wyndham, K. D.; Knauer, D. J. *Chem. Commun.* **1998**, 2393-2394.

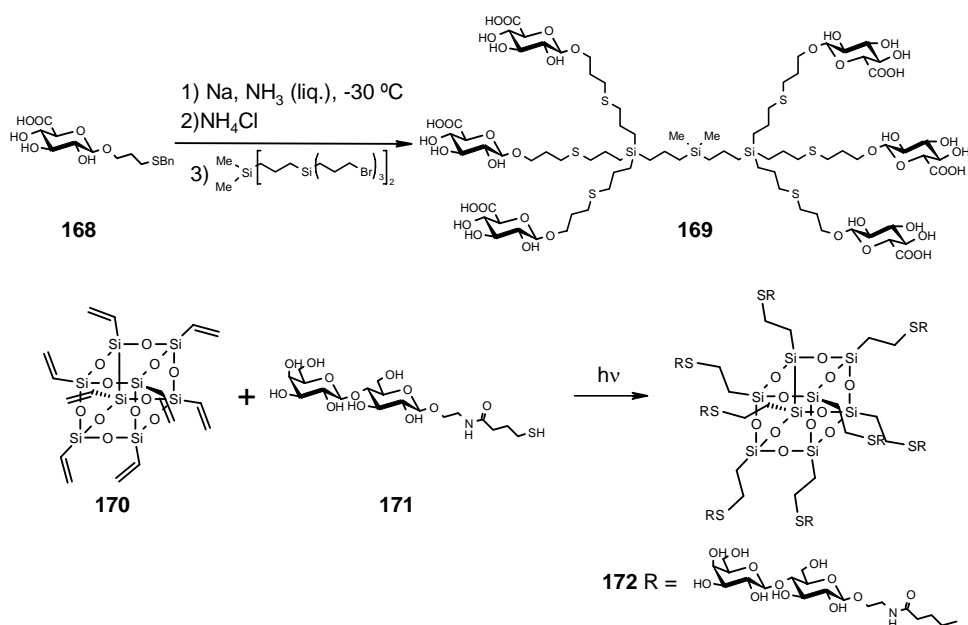
b) Gao, Y.; Eguchi, A.; Kakehi, K.; Lee, Y. C. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3457-3460.

<sup>112</sup> a) Cardullo, F.; Diederich, F.; Echegoyen, L.; Habicher, T.; Jayaraman, N.; Leblanc, R. M.; Stoddart, J. F.; Wang, S. *Langmuir* **1998**, *14*, 1955-1959.

b) Isobe, H.; Mashima, H.; Yorimitsu, H.; Nakamura, E. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 4461-4463.



3, 6 o 12 restos de azúcar (esquema 38). Otros sistemas basados en andamios de silicio de gran interés son los derivados de oligosilsesquioxanos poliédricos, andamios de fórmula  $\text{Si}_8\text{O}_{12}$  con forma de cubo con los átomos de silicio situados en los vértices del mismo. La primera síntesis de derivados de este tipo fue llevada a cabo por Feher y otros mediante la reacción entre los derivados  $(\text{H}_2\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2)_8\text{Si}_8\text{O}_{12}$  y lactonas derivadas de disacáridos, sin embargo los rendimientos de esta reacción son moderados<sup>111a</sup>. Un método que permite la obtención de sistemas de este tipo con altos rendimientos ha sido desarrollado por el grupo de Lee<sup>111b</sup> mediante reacción de fotoadición de tioles derivados de azúcares como **171** con octaviniloctasilsesquioxano (**170**).



Esquema 38.

Los fullerenos conteniendo azúcares son estructuras insolubles en agua aunque capaces de formar monocapas de Langmuir para su empleo como posibles biosensores para proteínas. Con este objetivo los grupos de Diederich, Echegoyen y Stoddart<sup>112a</sup> llevaron a cabo la síntesis de compuestos de este tipo mediante la reacción de acoplamiento de diácidos carboxílicos derivados de fullerenos y sistemas basados en TRIS conteniendo 3 restos de azúcar mediante DCC. Por desgracia los rendimientos de las reacciones tanto de formación del diácido derivado de fullereno como de formación del enlace amida entre derivado del fullereno y glicodendrón son moderados o bajos. Más recientemente el grupo dirigido por Nakamura<sup>112b</sup> ha publicado la síntesis de un derivado de fullereno conteniendo 5 restos de azúcar. El primer paso consiste en la adición de 5 moléculas de un organocuprato derivado del 4-mercaptobenceno adecuadamente protegido al fullereno y posterior desprotección del grupo mercaptano, ambas reacciones tienen lugar con excelentes rendimientos. Posterior reacción de tipo  $\text{S}_{\text{N}}2$  del tiol con diferentes bromoetilglicósidos dan lugar a

---

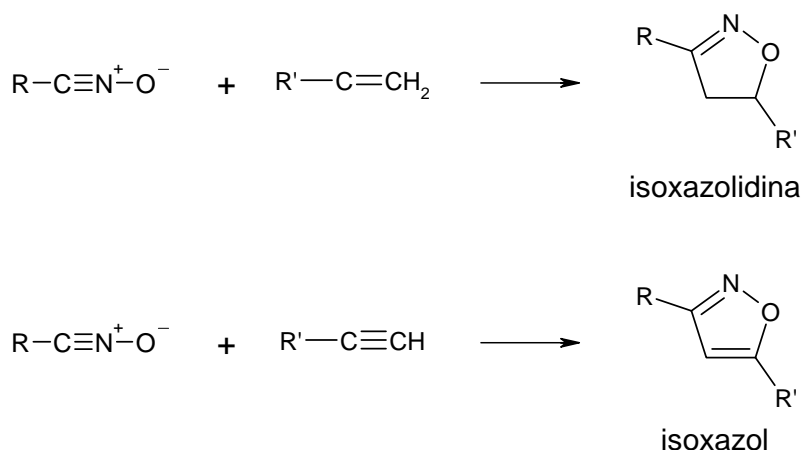
los correspondientes fullerenos conteniendo 5 restos de azúcar con buenos rendimientos.

## **II. Síntesis de neoglicoconjugados basados en isoxazoles**



## Cicloadiciones 1,3-dipolares entre óxidos de nitrilo y alquinos

Los óxidos de nitrilo son funciones que pueden actuar como 1,3-dipolos frente a dipolarófilos para dar lugar a sistemas heterocíclicos de cinco miembros. La reacción entre óxidos de nitrilo y alquenos da lugar a isoxazolidinas y la reacción con alquinos da lugar a isoxazoles.



Esquema 39.

En general, la reacción de cicloadición entre óxidos de nitrilo y alquinos terminales es considerada altamente regioselectiva dando lugar al 3,5-isoxazol en muchas ocasiones de forma exclusiva. Estudios computacionales de la reacción entre óxido de acetonitrilo y propino<sup>113</sup> en acetonitrilo muestran una diferencia de 2.8 kcal/mol en la barrera de activación para la formación del 3,4-isoxazol y el 3,5-isoxazol, lo que corresponde a una relación 100:1 a favor del 3,5-isoxazol. Si bien, en ocasiones esta reacción ha sido llevada a cabo a temperatura ambiente con buenos

<sup>113</sup> Himo, F.; Lovell, T.; Hilgraf, R.; Rostovtsev, V. V.; Noodleman, L.; Sharpless, K. B.; Fokin, V. V. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 210-216.

rendimientos,<sup>114</sup> la baja velocidad de reacción obliga a tiempos de reacción muy prolongados siendo en los casos más desfavorables del orden de varios días. Cuando los tiempos de reacción empleados han sido menores la reacción parece no completarse aislándose el producto deseado con pobres rendimientos.<sup>115</sup> Por ello es usual el empleo de altas temperaturas que permiten unos tiempos de reacción relativamente cortos, entre varios minutos y un día.<sup>116</sup> Otra estrategia que ha mostrado ser satisfactoria consiste en el empleo de microondas que permiten acortar los tiempos de reacción en gran medida con una mejora considerable de los rendimientos de la reacción.<sup>117</sup> Recientemente el grupo de Sharpless<sup>113</sup> ha presentado una metodología que permite disminuir en gran medida los tiempos de reacción mediante el empleo de sales de Cu(I) que a través de la formación de un acetiluro de cobre intermedio permite la obtención del producto deseado con buenos a excelentes rendimientos, en cortos tiempos de reacción y con excelente regioselectividad.

## Síntesis de óxidos de nitrilo

Los óxidos de nitrilo son compuestos que suelen poseer poca estabilidad por lo que suelen generarse *in-situ*. Una excepción a esta baja estabilidad la constituyen los óxidos de nitrilo aromáticos que, en ocasiones, pueden ser aislados sin problema. El resto de óxidos de nitrilo tienen tendencia a reaccionar con otra molécula de óxido de nitrilo para formar 2-óxidos de 1,2,5-oxodiazoles<sup>118</sup> también denominados furoxanos. La síntesis de óxidos de nitrilo se lleva a cabo principalmente por dos métodos:

- a) Deshidratación de nitrocompuestos.
- b) Halogenación seguida de deshidrohalogenación de oximas.

Si bien otros métodos, como la termólisis de furoxanos, han sido empleados con menos frecuencia.

---

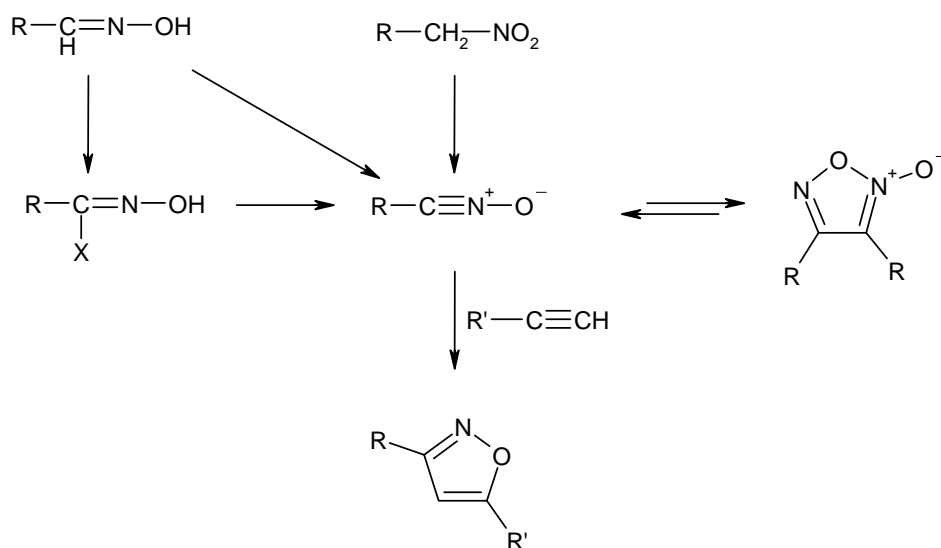
<sup>114</sup> Sammelson, R. E.; Miller, R. B.; Kurth, M. J. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 2225-2228.

<sup>115</sup> Basel, Y.; Hassner, A. *Synthesis* **1997**, 309-312.

<sup>116</sup> Li, C.-S.; Lacasse, E. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 3565-3568.

<sup>117</sup> Giacomelli, G.; De Luca, L.; Porcheddu, A. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 5437-5440.

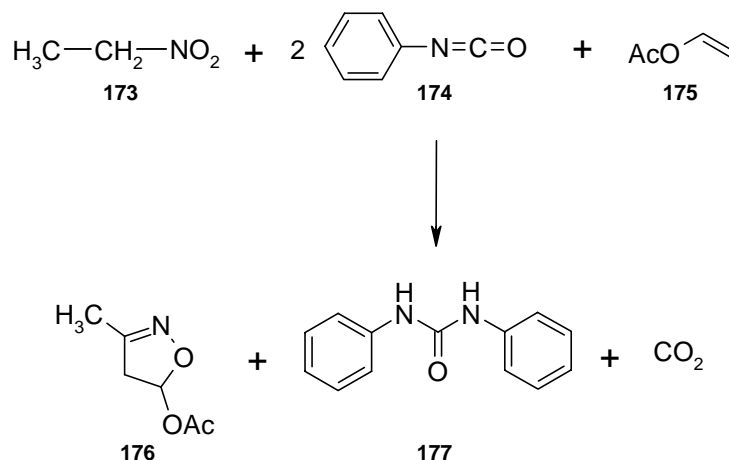
<sup>118</sup> Grundmann, C.; Dean, J. M. *J. Org. Chem.* **1965**, *30*, 2809-2812.



Esquema 40.

### Deshidratación de nitrocompuestos

La deshidratación de nitrocompuestos como método para la síntesis de isoxazoles e isoxazolidinas fue introducido por Mukaiyama y Hoshino<sup>119</sup>(esquema 41). Emplearon fenilisocianato como agente deshidratante de nitrocompuestos en presencia de trietilamina que daba lugar al óxido de nitrilo que dimerizaba inmediatamente produciendo furoxanos, la adición de acetato de vinilo les permitió la obtención de la correspondiente isoxazolidina.



Esquema 41.

Este método ha sido el más empleado para la preparación de isoxazoles e isoxazolidinas aunque la 1,3-difenilurea que se forma dificulta en cierta medida la

<sup>119</sup> Mukaiyama, T.; Hoshino, T. *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, 82, 5339-5342.

purificación debido a su moderada solubilidad en disolventes orgánicos y su baja solubilidad en agua. Como alternativa ha sido empleado el 1,4-fenilendiisocianato que al producir la deshidratación del nitrocompuesto da lugar a un polímero insoluble que es fácilmente eliminado por filtración.<sup>120</sup>

Además de estos isocianatos, una gran variedad de agentes deshidratantes han sido empleados, entre ellos oxicloriguro de fósforo,<sup>121</sup> cloroformiato de metilo<sup>122</sup> o etilo,<sup>123</sup> cloruro de bencenosulfonilo,<sup>122</sup> cantidades catalíticas de ácido 4-toluensulfónico en ausencia de base y en mesitileno como disolvente a reflujo,<sup>124</sup> el cloruro de 4-(4,6-dimetoxi[1,3,5]triazin-2-il)-4-metilmorfolinio (DMTMM) en presencia de DMAP,<sup>117</sup> trifluoruro de dimetilaminosulfuro<sup>125</sup> o dicarbonato de di-*terc*-butilo en presencia de cantidades catalíticas de DMAP<sup>115</sup> que permite el empleo de precursores que poseen grupos hidroxilo y/o amino transformándolos simultáneamente en los óxidos de nitrilo que poseen protegidos sus OH o NH en forma de *O*-Boc y *N*-Boc derivados.

### Halogenación-deshidrohalogenación de oximas

El método clásico empleado para la halogenación de oximas es el uso de cloro gas, sin embargo, este método es peligroso y en el caso de oximas aromáticas puede dar lugar a reacciones indeseadas de cloración del anillo aromático. Por ello es preferible el empleo de agentes clorantes alternativos como *N*-clorosuccinimida<sup>126</sup> (NCS) cuya reacción evita estos problemas a la vez que produce altos rendimientos. Un método alternativo para la obtención de cloruros de hidroximoilo se basa en la reacción de nitroalquenos con TiCl<sub>4</sub> en presencia de trietilsilano.<sup>127</sup>

La deshidrohalogenación de estos cloruros de hidroximoilo se lleva a cabo en medio básico generalmente trietilamina<sup>128</sup> (método de Huisgen) aunque en ocasiones es posible el empleo de otras condiciones tales como deshidrohalogenación por calentamiento en ausencia de base en la que generalmente se emplea tolueno a reflujo con desprendimiento de cloruro de hidrógeno.<sup>129</sup> Otra posibilidad es el empleo de alúmina neutra en ausencia de disolvente y con irradiación de microondas.<sup>126</sup> El empleo de *n*-butil litio a -30 °C permite la formación de un complejo entre el óxido de nitrilo y LiCl que estabiliza el mismo impidiendo la formación de furoxanos, este

<sup>120</sup> Kantorowski, E. J.; Brown, S. P.; Kurth, M. J. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 5272-5274.

<sup>121</sup> Bachman, G. B.; Strom, L. E. *J. Org. Chem.* **1963**, *28*, 1150-1152.

<sup>122</sup> Yoshioka, T.; Yamamoto, K.-I.; Shimauchi, Y.; Fukagawa, Y.; Ishikura, T. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1984**, 1513-1514.

<sup>123</sup> Shimizu, T.; Hayashi, Y.; Shibafuchi, H.; Teramura, K. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1986**, *59*, 2827-2831.

<sup>124</sup> Shimizu, T.; Hayashi, Y.; Teramura, K. *Bull. Chem. Soc. Jap.* **1984**, *57*, 2531-2534.

<sup>125</sup> Maugein, N.; Wagner, A.; Mioskowski, C. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 1547-1550.

<sup>126</sup> Syassi, B.; Bougrin, K.; Soufiaoui, M. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 8855-8858.

<sup>127</sup> Kumaran, G.; Kulkarni, G. H. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 1516-1520.

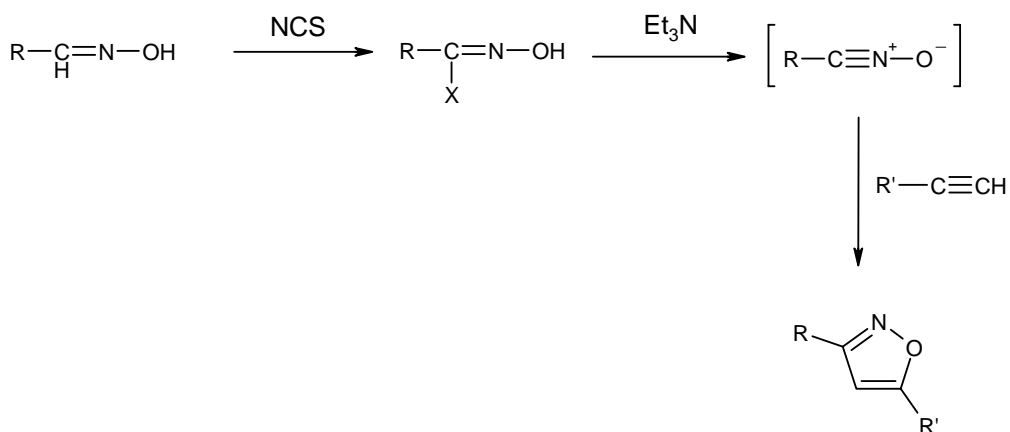
<sup>128</sup> a) Huisgen, R.; Mack, W.; Anneser, E. *Angew. Chem.* **1961**, *73*, 656-657.

b) Bast, K.; Christl, M.; Huisgen, R.; Mack, W.; Sustman, R. *Chem. Ber.* **1973**, *106*, 3258-3274.

<sup>129</sup> Lenaers, R.; Eloy, F. *Helv. Chim. Acta* **1963**, *46*, 1067-1073.



complejo se encuentra en equilibrio con el óxido de nitrilo libre que en presencia de un alqueno da lugar a la isoxazolidina.<sup>130</sup> Otro método para la deshidrohalogenación de cloruros de hidroximoilo en condiciones muy suaves es el empleo de óxidos de bis(tributilestaño), que permiten la obtención del óxido de nitrilo a temperatura ambiente en ausencia de base.<sup>131</sup>



**Esquema 42.** Obtención de isoxazoles mediante el método de Huisgen.

La halogenación y deshidrohalogenación de oximas también puede ser llevada a cabo en un solo paso sin necesidad de aislar el cloruro de hidroximoilo, así el empleo de disoluciones acuosas de hipobromito sódico da lugar al óxido de nitrilo en un solo paso con buenos rendimientos.<sup>118</sup> Otras alternativas son el empleo de NBS y etóxido sódico o trietilamina,<sup>132</sup> cloramina T,<sup>133</sup> cloruro de nitrosilo y trietilamina<sup>114</sup> o NCS y trietilamina<sup>134</sup> con irradiación en microondas que disminuye considerablemente los tiempos de reacción.

## Isoxazoles derivados de glicósidos

En literatura existen pocos ejemplos de isoxazoles derivados de azúcares, los primeros derivados de este tipo fueron sintetizados por el grupo de Tronchet a partir de una oxima derivada de ribosa y fenilacetileno dando productos como **178**<sup>135</sup>y

<sup>130</sup> Kanemasa, S.; Kobayashi, S.; Nishiuchi, M.; Yamamoto, H.; Wada, E. *Tetrahedron Lett.* **1991**, 32, 6367-6370.

<sup>131</sup> Moriya, O.; Urata, Y.; Endo, T. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1991**, 17-18.

<sup>132</sup> Grundmann, C.; Richter, R. *J. Org. Chem.* **1968**, 33, 476-478.

<sup>133</sup> Hassner, A.; Rai, K. M. L. *Synthesis* **1989**, 57-59.

<sup>134</sup> De la Cruz, P.; Espildora, E.; García, J. J.; De la Hoz, A.; Langa, F.; Martín, N.; Sánchez, L. *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 4889-4892.

<sup>135</sup> Tronchet, J. M. J.; Perret, F. *Carbohydr. Res.* **1974**, 38, 169-175.

también mediante reacción de acetilenos derivados de azúcares con óxido de 4-nitrofenilnitrilo<sup>136</sup> con lo que se obtienen productos similares a **179**.

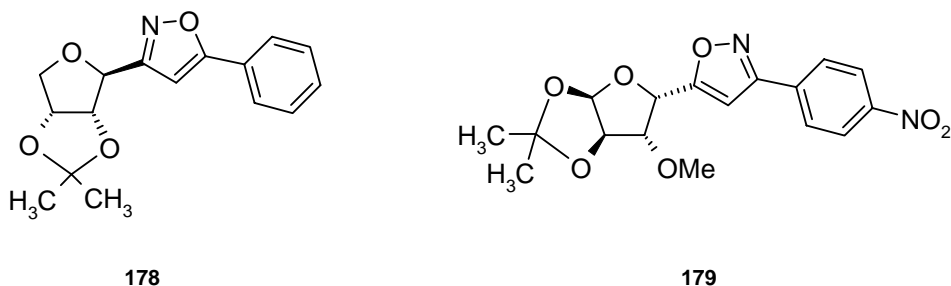
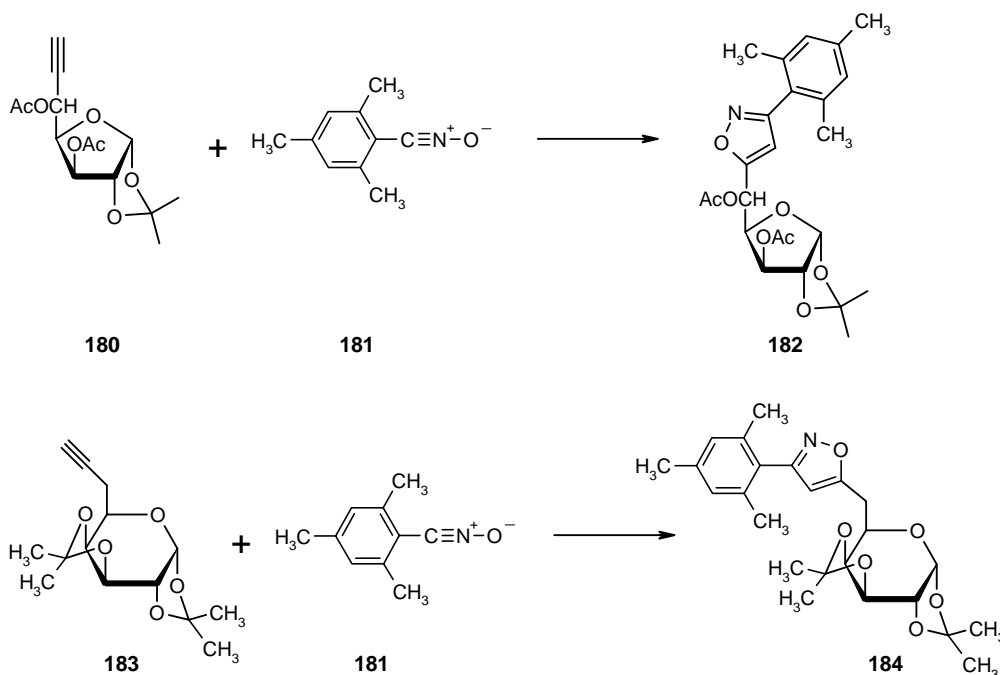


Figura 21.

Posteriormente, debido a las interesantes propiedades biológicas mostradas por C-nucleósidos el grupo de Horton sintetizó isoxazoles a partir de derivados acetilénicos de furanosas y piranosas en C-6 sintetizados a partir de D-galactosa y D-glucosa<sup>137</sup> (esquema 43).



Esquema 43.

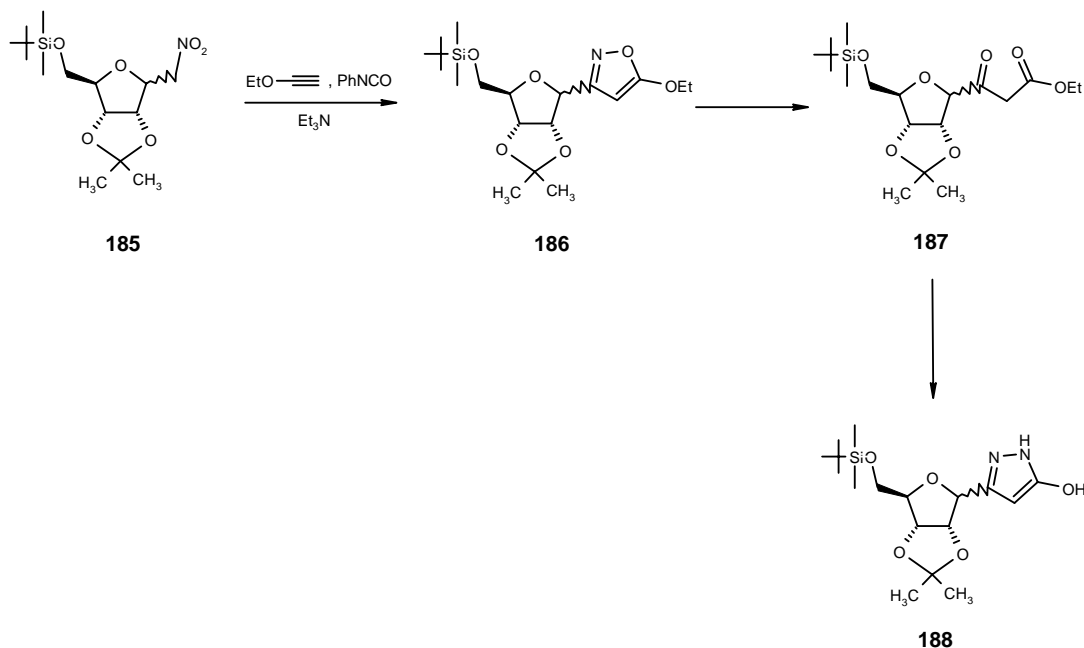
El grupo de Kozikowski obtuvo los furanosilglicoisoxazoles **186** mediante reacción de cicloadición de D-ribofuranosilnitrometano<sup>138</sup> con etoxiacetileno en

<sup>136</sup> Tronchet, J. M. J.; Gonzalez, A.; Zumwald, J. B.; Perret, F. *Helv. Chim. Acta* **1974**, *57*, 1505-1510.

<sup>137</sup> Horton, D.; Tsai, J.-H. *Carbohydr. Res.* **1978**, *67*, 357-370.

<sup>138</sup> Kozikowski, A. P.; Goldstein, S. *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 1139-1141.

condiciones de Mukaiyama. Estos isoxazoles pueden ser reducidos a  $\beta$ -cetoésteres y transformados en el nucleósido **188** por reacción con hidracina.



Esquema 44.

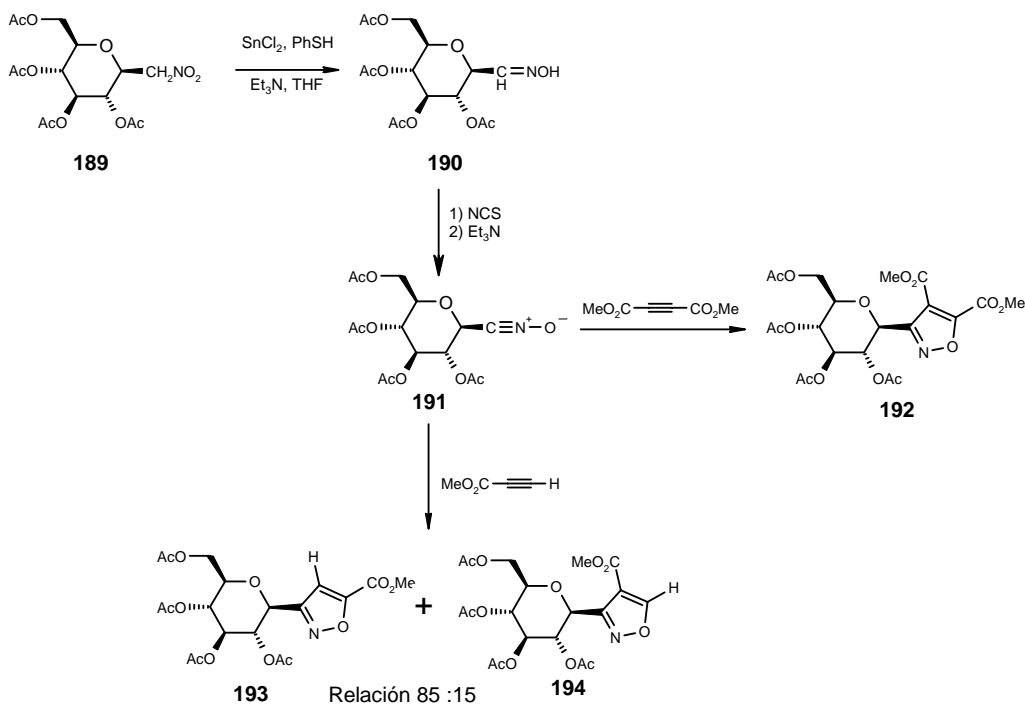
En los últimos años el grupo dirigido por Paton ha mostrado gran interés en los métodos de obtención y reactividad de óxidos de nitrilo derivados de glicopiranosilnitrometanos<sup>139</sup> tanto con alquenos como con alquinos o sus reacciones de dimerización. Curiosamente, la reacción entre óxido de nitrilo derivado de D-glucosa **191** y propiolato de metilo<sup>139c</sup> resulta ser poco regioselectiva dando lugar al correspondiente 3,5-isoxazol **193** y 3,4-isoxazol **194** en proporción 85:15. Es también destacable la gran tendencia de estos óxidos de nitrilo para formar los correspondientes furoxanos.

<sup>139</sup> a) Dawson, I. M.; Johnson, T.; Paton, R. M.; Rennie, R. A. C. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1988**, 1339-1340.

b) Paton, R. M.; Young, A. A. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1997**, 629-635.

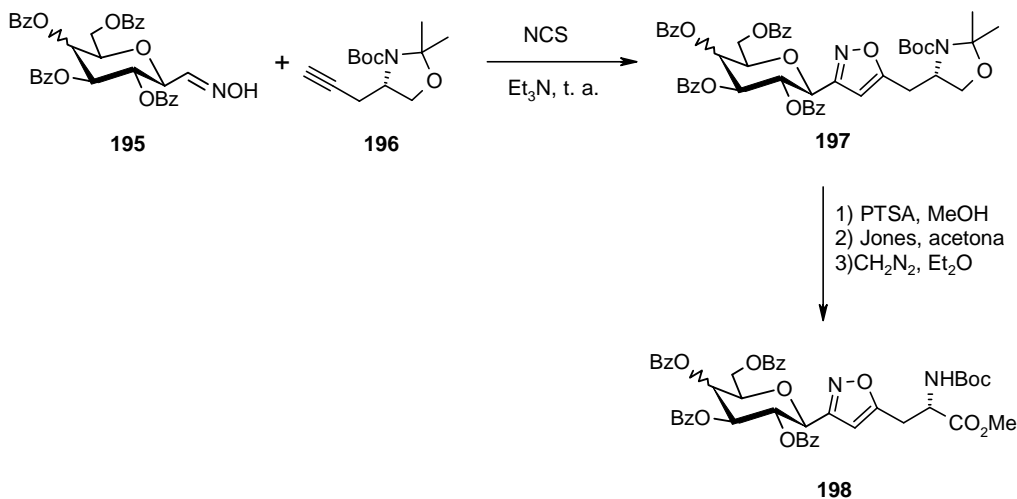
c) Baker, K. W. J.; Gibb, A.; March, A. R.; Paton, R. M. *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42, 4065-4068.

d) Baker, K. W. J.; March, A. R.; Paton, R. M.; Stewart, G. W. *Tetrahedron* **2002**, 58, 8505-8513.



Esquema 45.

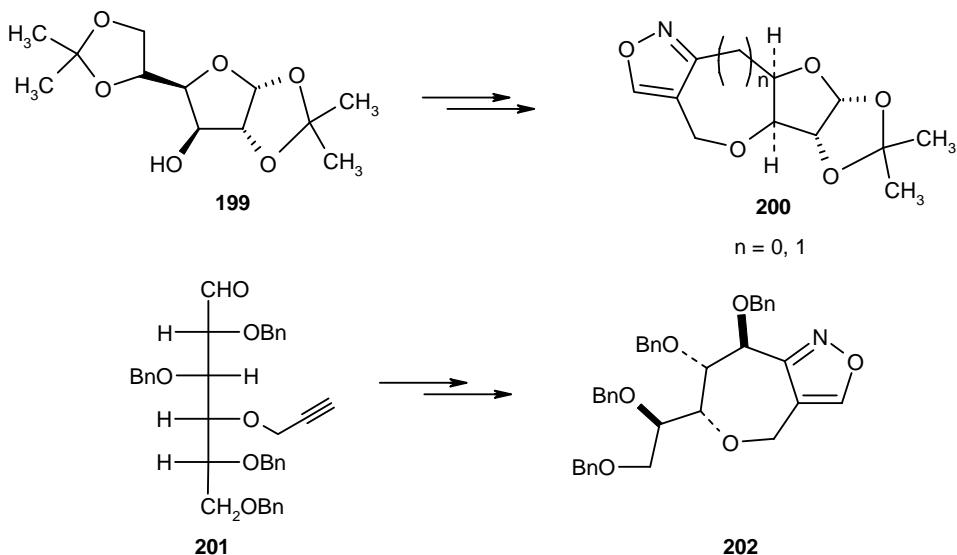
El grupo de Dondoni<sup>140</sup> ha sintetizado C-glicosilaminoácidos como **198** mediante reacción de óxidos de nitrilo derivados de C-glicósidos **195** y (s)-2-amino-4-pentin-1-ol adecuadamente protegido **196**. Posterior tratamiento de **197** con ácido 4-toluensulfónico, oxidación del hidroxilo y esterificación da lugar al correspondiente C-glicosilaminoácido.



Esquema 46.

<sup>140</sup> Dondoni, A.; Giovannini, P. P.; Massi, A. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 2929-2932.

Compuestos de estructuras más complejas tales como poliheterociclos relacionados con productos naturales han sido sintetizados partiendo de carbohidratos que contienen grupos alquino y precursores de óxidos de nitrilo. Por reacción de cicloadición 1,3-dipolar intramolecular se obtienen los citados poliheterociclos con una estereoquímica definida, en este campo destaca la contribución del grupo de Bhattacharjya en la obtención de sistemas bi-<sup>141</sup> y tricíclicos<sup>142</sup> como los que aparecen en el esquema 47.



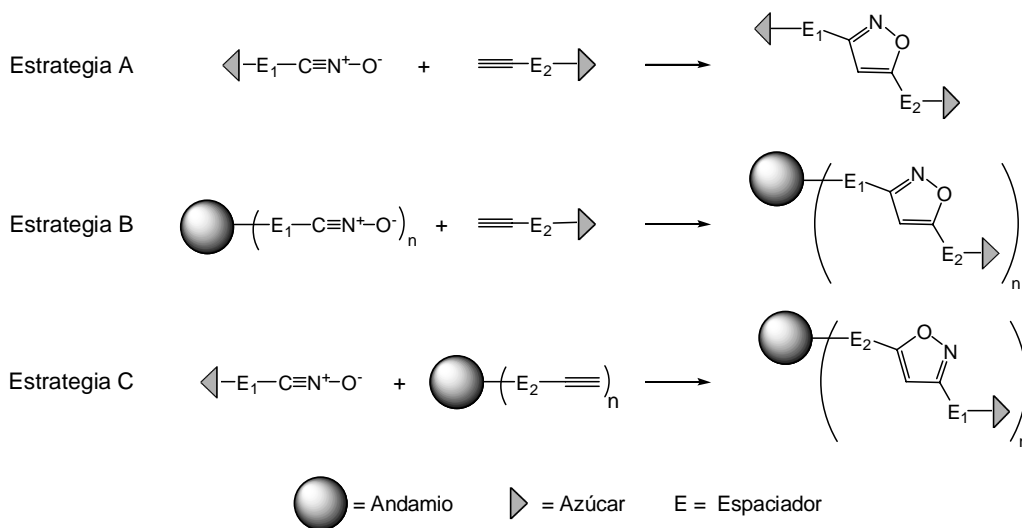
Esquema 47.

## Discusión de los resultados

Nuestra experiencia previa<sup>42</sup> en la síntesis de sistemas multivalentes de azúcares empleando como reacción clave la formación de isoxazoles nos ha llevado a pensar que esta puede ser una reacción adecuada para la síntesis de glicoconjugados con buenos rendimientos. Emplearemos varias estrategias para la síntesis de estos neoglicoconjugados, como se puede observar en el esquema 48. Mediante reacción de un óxido de nitrilo derivado de un azúcar y un propargilglicósido es posible sintetizar homo y heterodímeros (ruta A), también sintetizaremos sistemas divalentes basados en andamios aromáticos mediante la reacción de óxidos de nitrilo basados en sistemas aromáticos y los propargilglicósidos anteriormente comentados (ruta B), por último llevaremos a cabo la síntesis de sistemas tri- y tetravalentes mediante reacción de óxidos de nitrilo derivados de azúcares y sistemas basados en pentaeritritol tri y tetrapropargilados (ruta C).

<sup>141</sup> Ghorai, S.; Mukhopadhyay, R.; Kundu, A. P.; Bhattachariya, A. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 2999-3012.

<sup>142</sup> Pal, A.; Bhattacharjee, A.; Bhattachariya, A. *Synthesis* **1999**, 1569-1572.



Esquema 48.

### Síntesis de alquinos y precursores de óxido de nitrilo

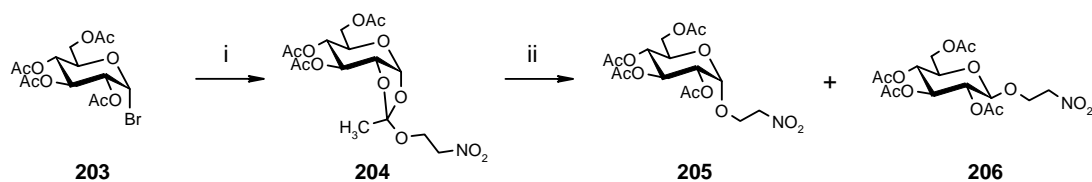
Hemos seleccionado la D-manosa y la D-glucosa como precursores de los alquínil derivados de glicósidos y los óxidos de nitrilo derivados de glicósidos. Los alquínil derivados de azúcares que vamos a emplear son el propargilglucósido<sup>143</sup> **61** y el propargilmanósido<sup>52</sup> **69**, estos propargilglicósidos han sido sintetizados mediante glicosidación de los correspondientes azúcares per-*O*-acetilados con alcohol propargílico catalizada por  $BF_3 \cdot Et_2O$ . Los precursores de óxidos de nitrilo derivados de azúcares que serán empleados son de diverso tipo, así emplearemos el C-nitrometilglicósido **189**<sup>144</sup> y también emplearemos *O*-glicósidos como 2-nitroetil 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- $\beta$ -D-glucopiranosido **206** y el correspondiente 2-nitroetil 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- $\alpha$ -D-manopiranosido **210**. El producto **206** ha sido sintetizado con anterioridad<sup>145</sup> por glicosidación vía ortoéster. Así la reacción del bromuro de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- $\alpha$ -D-glucopiranosilo con nitroetanol (esquema 49) condujo al correspondiente ortoéster **204** el cual se transformó en el compuesto **206** con nitroetanol en presencia de bromuro de mercurio (II). Este método no nos parece muy adecuado ya que se obtienen ambos anómeros en una relación  $\alpha:\beta$  44:56 y un rendimiento global moderado.

<sup>143</sup> Mereyala, H. B.; Gurralla, S. R. *Carbohydr. Res.* **1998**, *307*, 351-354.

<sup>144</sup> a) Sowden, J. C.; Bowers, C. H.; Hough, L.; Shute, S. H. *Chem. Ind.(London)* **1962**, 1827-1828.

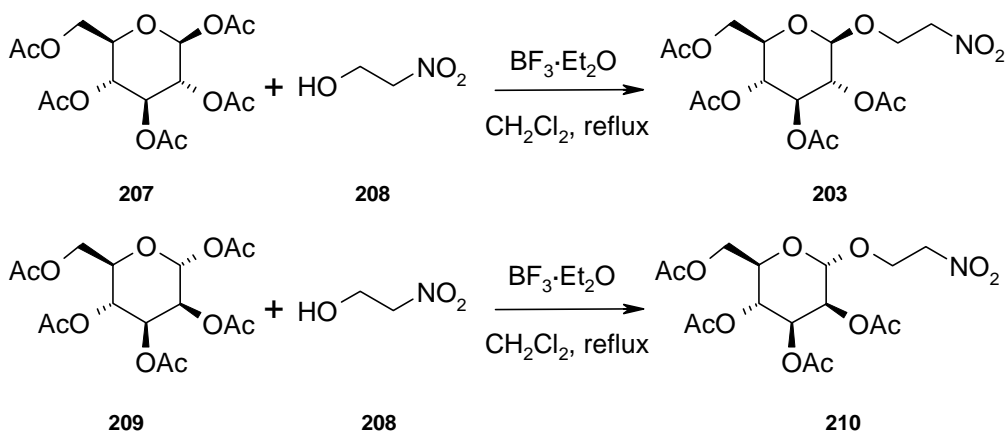
b) Foertsch, A.; Kogelberg, H.; Koell, P. *Carbohydr. Res.* **1987**, *164*, 391-402.

<sup>145</sup> Garegg, P. J.; Kvarnström, I. *Acta Chem. Scand.* **1977**, *B31*, 509-513.



**Esquema 49.** Condiciones: i) HOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NO<sub>2</sub>, 2,6-lutidina, CH<sub>3</sub>NO<sub>2</sub>;  
ii) HOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NO<sub>2</sub>, HgBr<sub>2</sub>, reflujo. Rendimiento global = 53 % (α:β 44:56)

La estrategia sintética propuesta por nosotros para la obtención de los nitroetilglicósidos se basa en la glicosidación directa del correspondiente penta-*O*-acetilglicósido con nitroetanol mediante catálisis con BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O (esquema 50), método que ha sido empleado con éxito en numerosas glicosidaciones por ejemplo la anteriormente comentada formación de los propargilglicósidos. Este método nos ha permitido obtener los nitroetilglicósidos deseados con mejores rendimientos (71% en el caso de glucosa y 74% en caso de manosa) que el método anteriormente descrito, en un solo paso obteniéndose en ambos casos el enantioisómero deseado de forma regioselectiva.

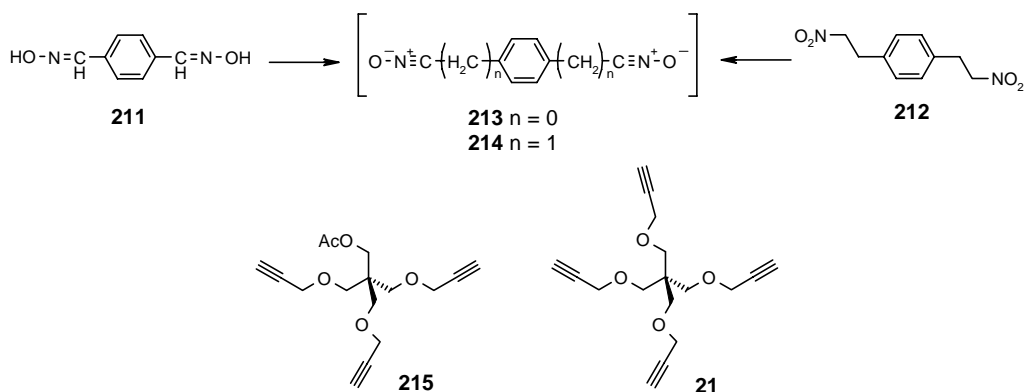


**Esquema 50.**

Los andamios conteniendo un precursor de óxido de nitrilo que nos hemos propuesto emplear son la tereftalaldeidodioxima **211**<sup>146</sup> y el 1,4-bis-(2-nitroetil)benceno **212**<sup>147</sup> cuya síntesis ha sido descrita con anterioridad. Creemos que la halogenación-deshidrohalogenación de **211** según el método de Huisgen<sup>126</sup> y la deshidratación de **212** mediante el procedimiento de Mukaiyama<sup>118</sup> nos permitirán obtener de forma sencilla los correspondientes óxidos de nitrilo **213** y **214** respectivamente (esquema 51).

<sup>146</sup> Kim, B. H.; Jeong, E. J.; Hwang, G. T.; Venkatesan, N. *Synthesis* **2001**, 2191-2202.

<sup>147</sup> Kilway, K. V.; Siegel, J. S. *Tetrahedron* **2001**, 57, 3615-3627.



Esquema 51.

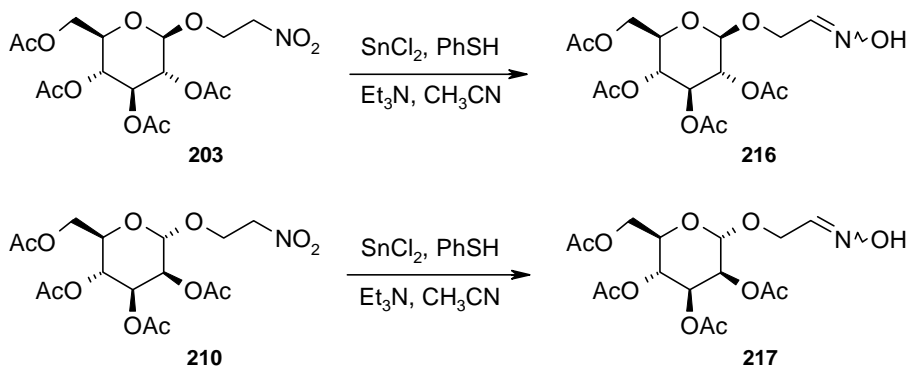
Para la obtención de los polialquinos que nos servirán de andamio escogemos el pentaeritritol que puede ser alquilado con bromuro de propargilo para dar lugar al tetrapropargilpentaeritritol **21**<sup>42</sup> y al tripropargilpentaeritritol, la acetilación de este último nos permite obtener **215**.

### Reacciones de cicloadición 1,3-dipolar de alquinos y óxidos de nitrilo

Una vez obtenidos los alquinos y nitro compuestos de partida el siguiente paso fue la reacción entre ellos para dar lugar los diferentes glicoconjugados. Se comenzó por la síntesis de sistemas homo y heterodiméricos siguiendo la ruta A, partiendo de 2-nitroetilglicósidos por reacción con propargilglicósidos, sin embargo, las condiciones clásicas de Mukaiyama no permitieron la obtención de los mismos. Tampoco dieron buenos resultados otros métodos de deshidratación de nitroalcanos como el empleo de cloroformiato de etilo en presencia de DMAP.<sup>123</sup> Por tanto, fue necesaria la transformación de estos nitroetilglicósidos en oximas para posteriormente realizar la reacción de cicloadición en condiciones de Huisgen. Esta transformación se lleva a cabo siguiendo el método publicado por Bartra y otros<sup>148</sup> que reducen nitrocompuestos alifáticos primarios a aldoximas mediante el empleo de complejos de Sn(II) obtenidos a partir de SnCl<sub>2</sub>, PhSH y Et<sub>3</sub>N. Cuando aplicamos esta metodología a los 2-nitroetilglicósidos de partida conseguimos las oximas derivadas de los mismos con buenos rendimientos (73 % en el caso del derivado de glucosa **216** y 71 % en el caso del derivado de manosa **217**).

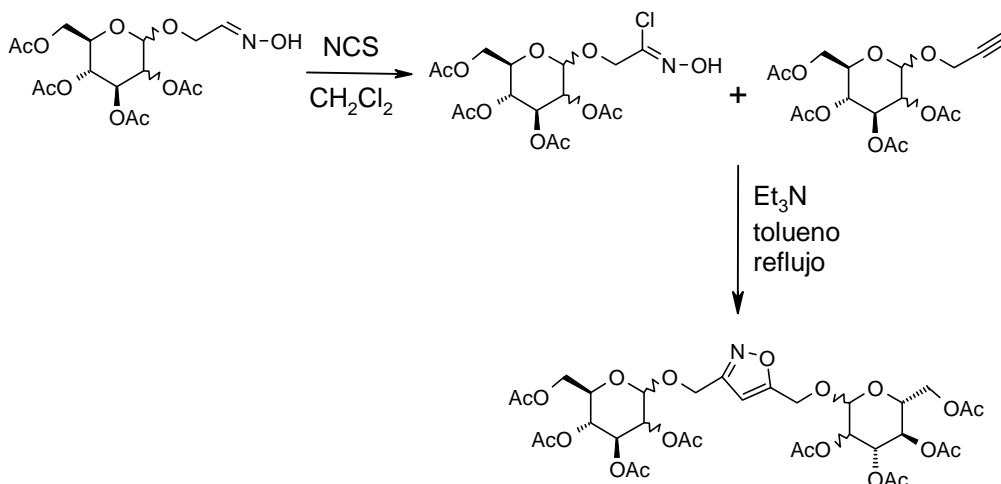
<sup>148</sup> Bartra, M.; Romea, P.; Urpí, F.; Vilarrasa, J. *Tetrahedron* **1990**, *46*, 587-594.





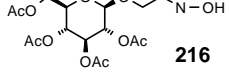
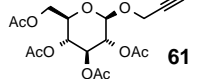
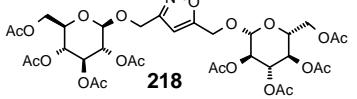
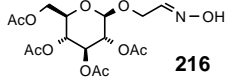
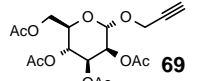
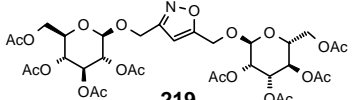
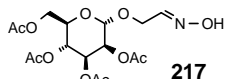
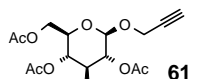
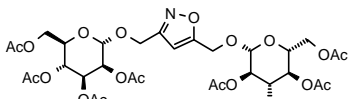
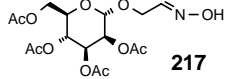
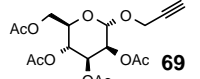
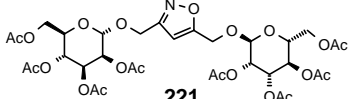
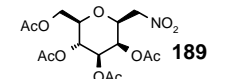
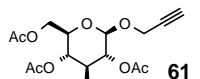
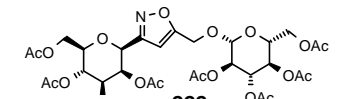
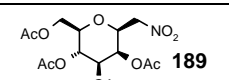
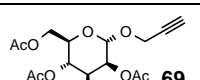
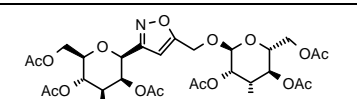
Esquema 52.

Una vez obtenidas estas oximas la cloración de las mismas con NCS en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  a t. a. y posterior reacción de cicloadición con los propargilglicósidos en tolueno a reflujo con  $\text{Et}_3\text{N}$  (esquema 53) permite la obtención de los mencionados homo y heterodímeros **218-221** con buenos rendimientos (véase tabla 4).



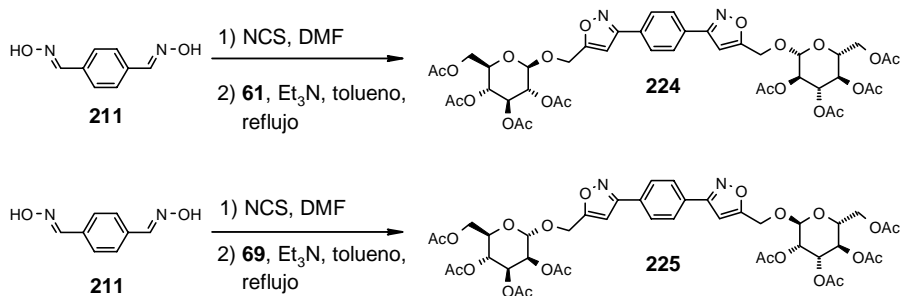
Esquema 53.

El C-nitrometilmanósido por el contrario reacciona con los propargilglicósidos en las condiciones de Mukaiyama dando lugar a los correspondientes "homodímero" **222** y "heterodímero" **221** con buenos rendimientos (77-80 %). En este caso, se observa una reaccionabilidad menor del C-nitrometilmanósido en estas reacciones frente al análogo C-nitrometilgalactósidos<sup>42</sup> dando lugar al producto deseado con rendimientos algo inferiores (77 % de rendimiento en la reacción del C-nitrometilmanósido **189** con propargilglucósido frente a 93 % cuando se emplea C-nitrometilgalactósido **22** en las mismas condiciones de reacción).

Precursor de óxido de nitrilo	Alquino	Condi- ciones	Producto	Rendi- miento
 <b>216</b>	 <b>61</b>	A	 <b>218</b>	59 %
 <b>216</b>	 <b>69</b>	A	 <b>219</b>	61 %
 <b>217</b>	 <b>61</b>	A	 <b>220</b>	58 %
 <b>217</b>	 <b>69</b>	A	 <b>221</b>	65 %
 <b>189</b>	 <b>61</b>	B	 <b>222</b>	77 %
 <b>189</b>	 <b>69</b>	B	 <b>223</b>	80 %

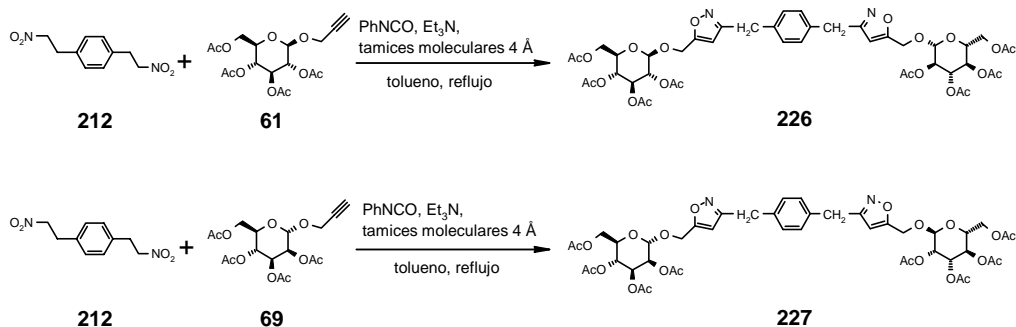
**Tabla 4.** Síntesis de neoglicoconjugados por reacción óxidos de nitrilo derivados de azúcares y alquinoazúcares. Condiciones: (A) i) **216** o **217**, NCS, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, t. a.; ii) **61** o **69**, Et<sub>3</sub>N, tolueno, reflujo. (B) PhNCO, Et<sub>3</sub>N, tolueno, reflujo.

Para la síntesis de sistemas divalentes basados en andamios aromáticos (estrategia B) partimos de los ya conocidos tereftalaldehidodioxima **211** y 1,4-bis-(2-nitroetil)benceno **212**. El primero de ellos se clora con NCS en DMF a temperatura ambiente y posteriormente, sin necesidad de ser aislado, se hace reaccionar con los correspondientes propargilglicósidos con Et<sub>3</sub>N en tolueno a reflujo, obteniéndose los productos correspondientes con rendimientos que oscilan entre el 61% en caso del derivado de glucosa **224** y 64 % en el caso del derivado de manosa **225**.



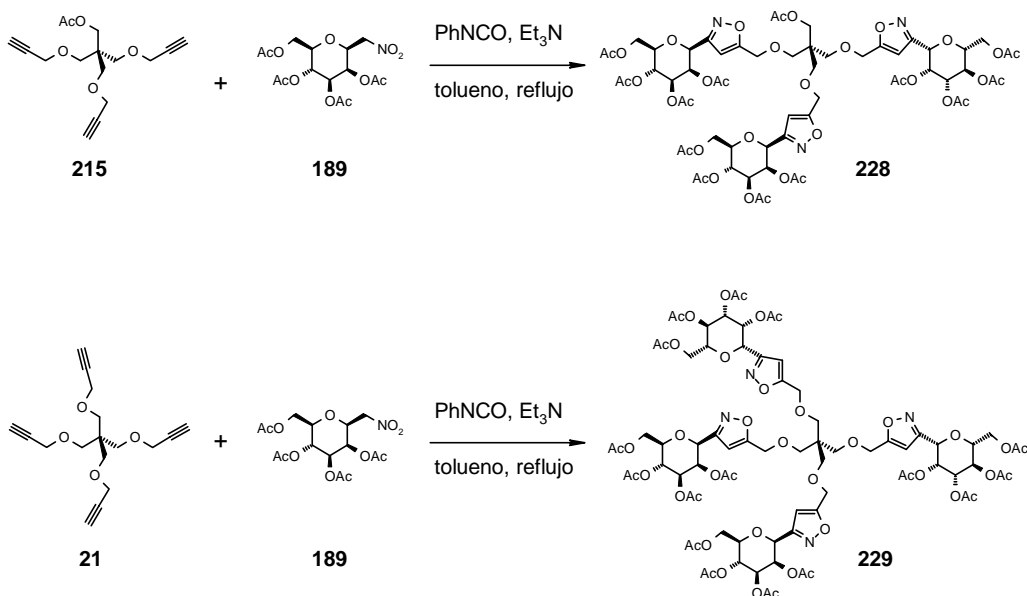
**Esquema 54.**

El 1,4-bis-(2-nitroetil)benceno **212** por su parte se hace reaccionar con los mismos propargilglicósidos en la condiciones de Mukaiyama para dar lugar a los correspondientes productos con buenos rendimientos (58 % en caso del glucósido **226** y 66 % en caso del manósido **227**).



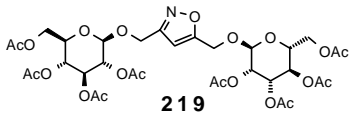
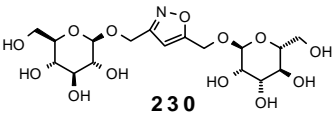
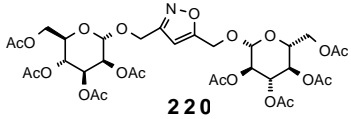
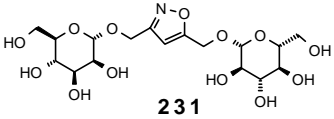
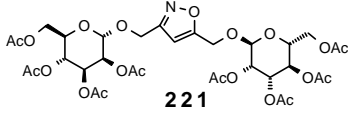
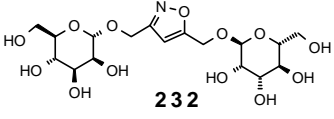
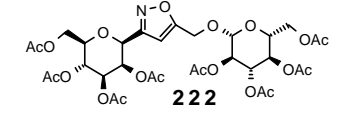
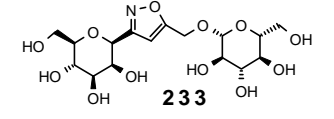
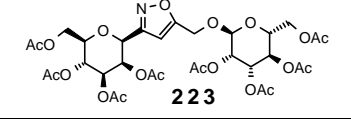
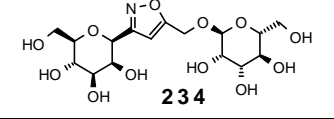
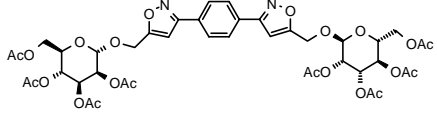
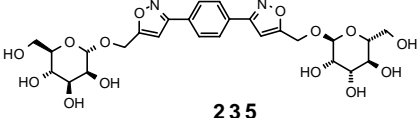
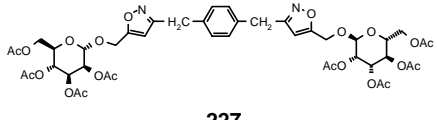
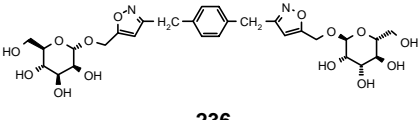
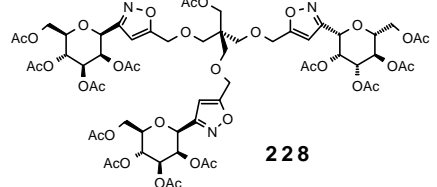
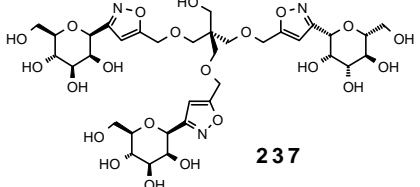
Esquema 55.

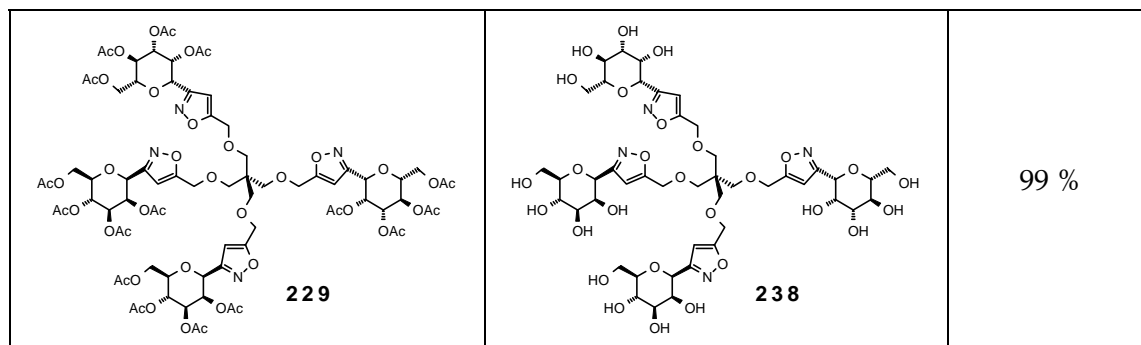
Por último llevamos a cabo la síntesis de sistemas multivalentes basados en pentaeritritol (estrategia C), dada la relativamente baja reaccionabilidad del C-nitrometilmanósido **189** respecto al análogo nitrometilgalactósido **22** modificamos ligeramente las condiciones de reacción, para ello añadiremos un mayor exceso de C-nitrometilmanósido pero en varias fracciones en lugar de añadirlo de una vez con el objeto de disminuir la concentración de óxido de nitrilo y por tanto minimizar la posibilidad de formación de furoxanos, a su vez añadiremos el fenilisocianato en varias fracciones. Con estas condiciones de reacción los rendimientos aumentan en gran medida (92-94 %).



Esquema 56.

Una vez sintetizados estos productos llevamos a cabo la desacetilación de los productos que contengan alguna unidad de manosa mediante condiciones de Zemplen, obteniéndose los correspondientes desacetilados con rendimientos excelentes.

Acetilado	Desacetilado	Rendimiento
 <p style="text-align: center;"><b>219</b></p>	 <p style="text-align: center;"><b>230</b></p>	100 %
 <p style="text-align: center;"><b>220</b></p>	 <p style="text-align: center;"><b>231</b></p>	100 %
 <p style="text-align: center;"><b>221</b></p>	 <p style="text-align: center;"><b>232</b></p>	99 %
 <p style="text-align: center;"><b>222</b></p>	 <p style="text-align: center;"><b>233</b></p>	100 %
 <p style="text-align: center;"><b>223</b></p>	 <p style="text-align: center;"><b>234</b></p>	87 %
 <p style="text-align: center;"><b>225</b></p>	 <p style="text-align: center;"><b>235</b></p>	90 %
 <p style="text-align: center;"><b>227</b></p>	 <p style="text-align: center;"><b>236</b></p>	89 %
 <p style="text-align: center;"><b>228</b></p>	 <p style="text-align: center;"><b>237</b></p>	85 %



**Tabla 5.** Des-*O*-acetilación de los neoglicoconjugados. Condiciones: MeONa, MeOH, pH = 9-10, t. a.

### Ensayos de afinidad lectina-carbohidrato

Se ha estudiado la afinidad de los compuestos **232**, **234-238** por la lectina *concanavalina A* marcada con peroxidasa de rábano picante (ConA-HRP) mediante la técnica de ELLA. Los ensayos consisten en la inhibición competitiva de la unión de esta ConA-HRP a manano de *Saccharomyces cerevisiae* que es previamente adsorbido en placas diseñadas para ensayos competitivos en fase sólida. Los experimentos se realizan por triplicado y con ellos se construyen las correspondientes curvas de inhibición. Los resultados de tales experimentos se expresan como los valores necesarios para la inhibición del 50 % de la unión entre manano y ConA-HRP. Hemos empleado metil  $\alpha$ -D-manopiranosido (Me-man) como referencia a partir del cual hemos calculado la afinidad relativa de cada uno de estos neoglicoconjugados por ConA-HRP. Esta afinidad relativa se define como el cociente entre el valor de  $IC_{50}$  de la referencia y el valor de  $IC_{50}$  del neoglicoconjugado. Asimismo hemos calculado la afinidad relativa por unidad de azúcar de cada neoglicoconjugado. Los resultados así obtenidos aparecen reflejados en la siguiente tabla así como en las figuras 22, 23 y 24.

Producto	$IC_{50}$ (mM)	Afinidad Relativa	Número de azúcares	Afinidad Relativa/Azúcar
Me-man	0,89	1	--	--
<b>232</b>	0,29	3,07	2	1,54
<b>234</b>	0,76	1,17	--	--
<b>235</b>	0,067	13,3	2	6,65
<b>236</b>	0,26	3,42	2	1,71
<b>237</b>	>4 <sup>a</sup>	--	--	--
<b>238</b>	0,96	0,93	4	0,24

**Tabla 6.** Ensayos ELLA de inhibición de la unión de manano a ConA-HRP por neoglicoconjugados. <sup>a</sup> El porcentaje de inhibición para este compuesto a concentración 4mM es 38.1 %.

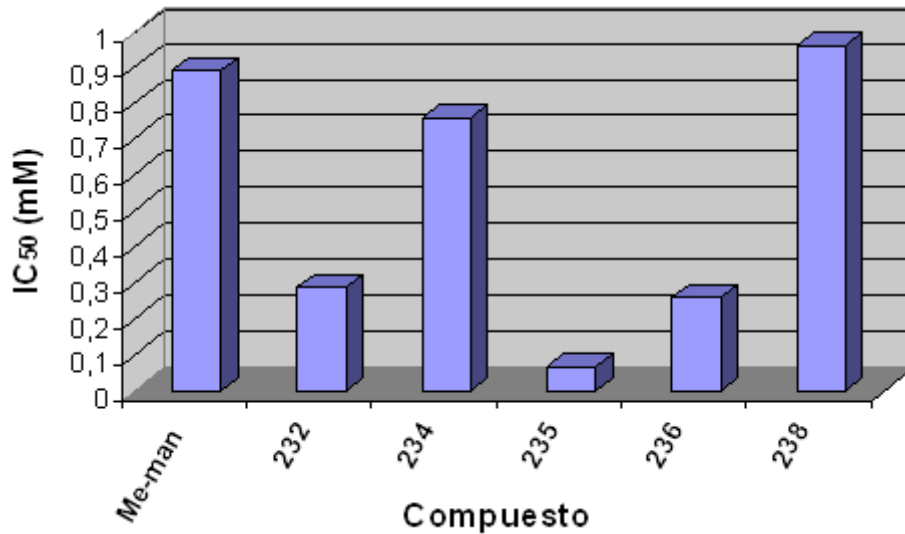


Figura 22. Capacidad inhibitoria de los neoglicoconjugados.

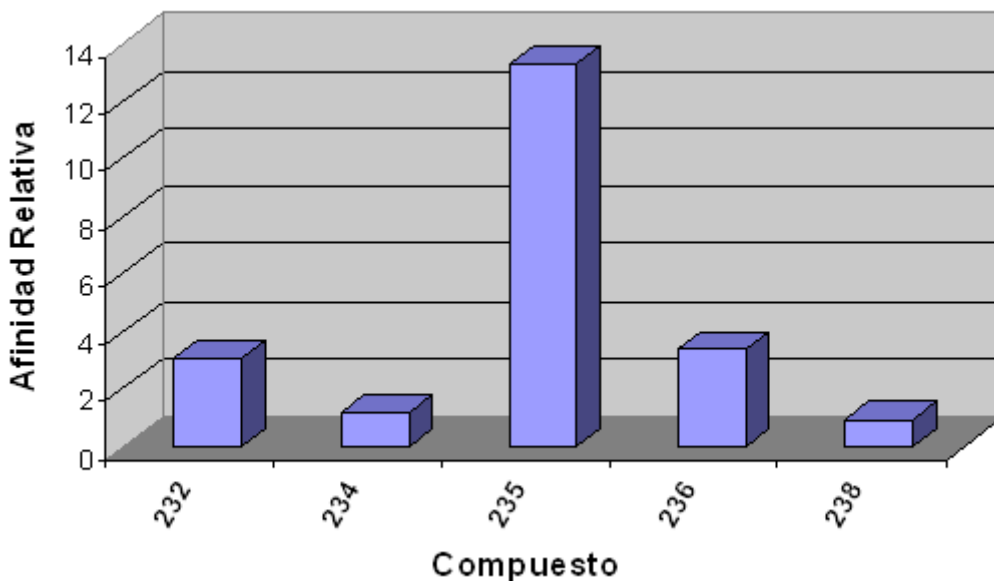


Figura 23. Afinidad relativa de los neoglicoconjugados.

Como se puede observar la afinidad relativa por unidad de azúcar de los neoglicoconjugados **232**, **234**, **235** y **236** cuyos restos de azúcar son, al menos en parte, *O*-glicósidos es mayor que la del metil  $\alpha$ -D-manósido de referencia, siendo en el caso de **235** muy superior al resto. Este último compuesto posee mayor rigidez que el resto y este hecho puede estar relacionado con la mayor afinidad aunque otra posibilidad sería la existencia de interacciones secundarias entre al anillo de tipo *p*-xileno y restos hidrofóbicos de la superficie de la ConA-HRP. Por otra parte la afinidad de los compuestos **232** y **236** es muy similar lo que nos hace pensar que la longitud del

espaciador que conecta los restos de manosa no es un factor determinante en su afinidad por ConA-HRP.

Por otra parte destacamos que los neoglicoconjugados conteniendo unidades de  $\beta$ -C-manósido **237** y **238** también son reconocidos por ConA aunque con baja afinidad relativa. Una profunda revisión de la bibliografía existente nos hace pensar que esta es la primera vez que se notifica el caso de sistemas multivalentes formados por  $\beta$ -C-manósidos que muestran afinidad por lectinas. Previamente Bertozzi y col.<sup>149</sup> han publicado la síntesis de C-manósidos monovalentes y la evaluación de sus afinidades por lectina de fimbria tipo 1 de *E. Coli* encontrando que tan solo los  $\alpha$ -manósidos son reconocidos por tal lectina a las concentraciones empleadas. La diferencia de afinidad entre **237** y **238** es notable mostrando un elevado efecto clúster en este tipo de sistemas. Dado que los C-glicósidos son estables frente a la hidrólisis enzimática, que estos nitrometil  $\beta$ -C-manósidos son obtenidos con facilidad y que hemos demostrado que la formación de sistemas multivalentes basados en isoxazoles se lleva a cabo de forma sencilla en un solo paso y con buenos rendimientos creemos que tales sistemas son buenos candidatos para la obtención de potentes inhibidores de lectinas.

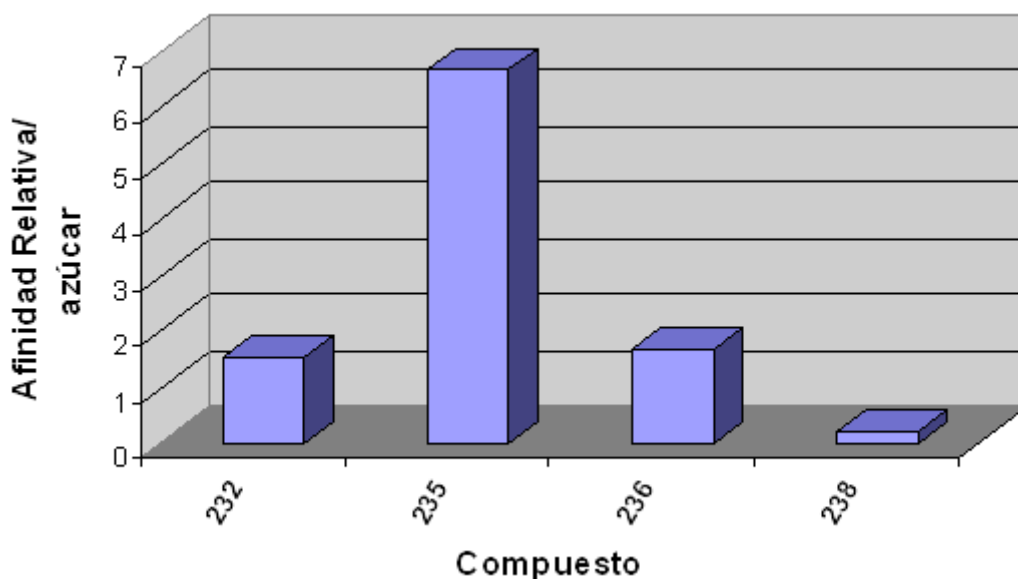


Figura 24. Afinidad relativa por unidad de azúcar de los neoglicoconjugados.

<sup>149</sup> Bertozzi, C.; Bednarski, M. *Carbohydr. Res.* **1992**, 223, 243-253.





### **III. Síntesis de neoglicoconjugados basados en triazoles**



## Antecedentes

### Empleo de azidas orgánicas en síntesis

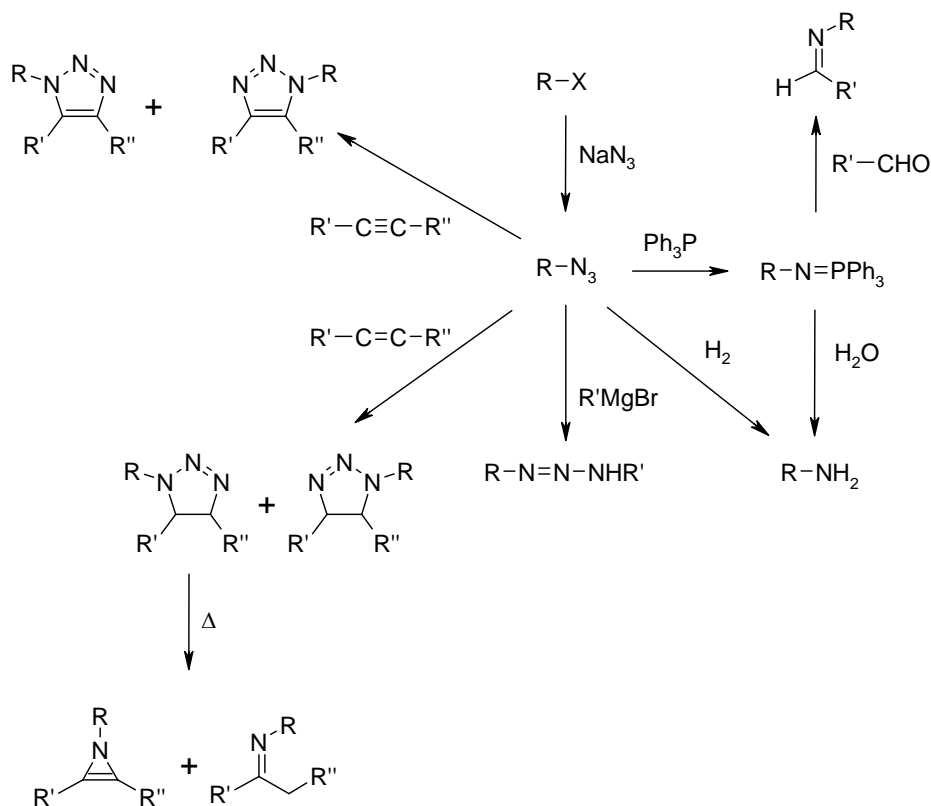
Las azidas son grupos funcionales con interesantes características que hacen de ellas útiles intermedios sintéticos para introducir nitrógeno en moléculas orgánicas, algunas de estas características son:

- Son fáciles de obtener, generalmente por sustitución nucleofílica de buenos grupos salientes: sulfonatos y haluros de alquilo con azidas metálicas.
- Presentan una elevada estabilidad en la mayoría de las condiciones en las que se desarrollan muchas otras reacciones, esto permite su empleo como grupo funcional con una adecuada ortogonalidad en síntesis con múltiples etapas.
- Aunque algunas, especialmente las poliazidas aromáticas, son compuestos explosivos, incluso estas suelen ser estables al calentamiento y son seguras cuando se toman unas precauciones básicas.

Como se ha dicho anteriormente las azidas alifáticas suelen obtenerse por sustitución nucleofílica de los correspondientes haluros de alquilo con azidas metálicas, especialmente azida sódica aunque muchos otros procedimientos han sido empleados con menos frecuencia, a título de ejemplo y por el interés de las mismas en la síntesis de azidas derivadas de azúcares destacamos la obtención de azidas a partir de epóxidos, de alquenos o de sulfatos cíclicos.<sup>150</sup>

---

<sup>150</sup> Scriven, E. F. V.; Turnbull, K. *Chem. Rev.* **1988**, 88, 297-368.



Esquema 57. Reactividad del grupo azida

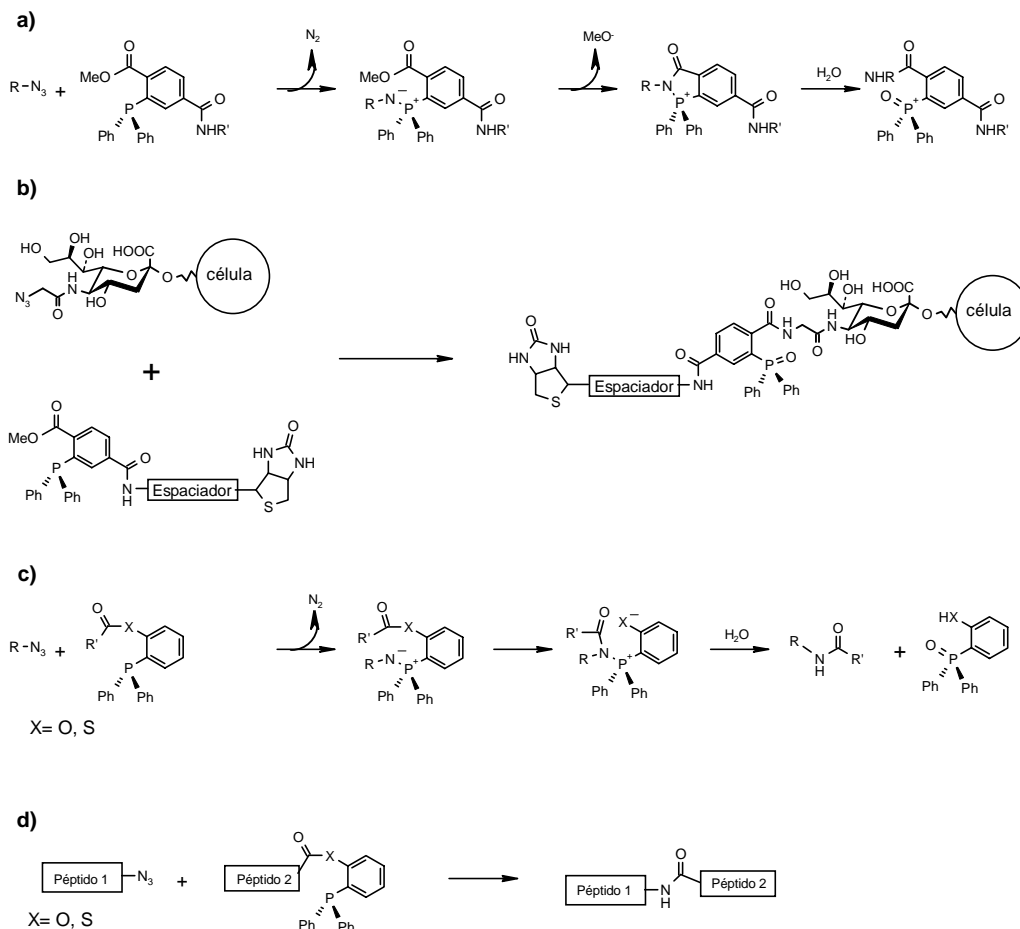
En la mayoría de las ocasiones las azidas se emplean como precursores de aminas generalmente por reducción de las mismas mediante hidrogenación catalítica, aunque también pueden ser empleados otros agentes reductores como  $LiAlH_4$ ,  $NaBH_4$  o  $PhP_3$ . El empleo de fosfinas tales como trifenilfosfina permite la reducción de azidas mediante condiciones de reacción muy suaves. En este método denominado reacción de Staudinger<sup>151</sup> se obtiene como intermedio un iminofosforano que en presencia de agua hidroliza hasta amina, en ausencia de agua el iminofosforano puede reaccionar con aldehídos y cetonas para formar iminas. Además de su empleo para la obtención de aminas, la reacción de Staudinger es de gran utilidad en síntesis orgánica, especialmente cuando se emplean fosfinas que contienen un grupo éster metílico en *orto* de uno de los bencenos<sup>152</sup> lo que permite la obtención de amidas cíclicas que en presencia de agua hidrolizan, abriéndose el ciclo para dar lugar a una amida y un óxido de fosfina (esquema 58 a). Mediante esta metodología Bertozzi y Saxon<sup>153</sup> han incorporado *in vivo* restos de biotina a azido derivados del ácido siálico presentes en glicoproteínas de la membrana celular (esquema 58 b). Sin embargo, la presencia de una función óxido de triarilfosfina en la molécula puede causar problemas en

<sup>151</sup> Köhn, M.; Breinbauer, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 3106-3116.

<sup>152</sup> Hang, H. C.; Bertozzi, C. R. *Acc. Chem. Res.* **2001**, *34*, 727-736.

<sup>153</sup> Saxon, E.; Bertozzi, C. R. *Science* **2000**, *287*, 2007-2010.

sistemas vivos, por lo que ha sido desarrollado<sup>154</sup> un método que permite la eliminación de esta función del producto final, este método consiste en el empleo de fosfinas que contienen un grupo acilo transferible que al hidrolizar permite la pérdida de este oxido de trifenilfosfina (esquema 58 c). El empleo de estas condiciones de reacción ha permitido la unión de dos cadenas peptídicas<sup>155</sup> que ha demostrado ser un procedimiento de gran utilidad en la síntesis de péptidos (esquema 58 d).



Esquema 58.

Aunque de menor interés es también reseñable la reacción de azidas con reactivos de Grignard<sup>156</sup> que da lugar a triazenos 1,3-disustituidos.

Por otra parte las azidas son potenciales precursores de heterociclos, tanto por reacción de cicloadición 1,3-dipolar entre azidas y alquenos lo que da lugar a 1,2,3-triazolidinas como con alquinos que permite obtener 1,2,3-triazoles.<sup>157</sup> Las

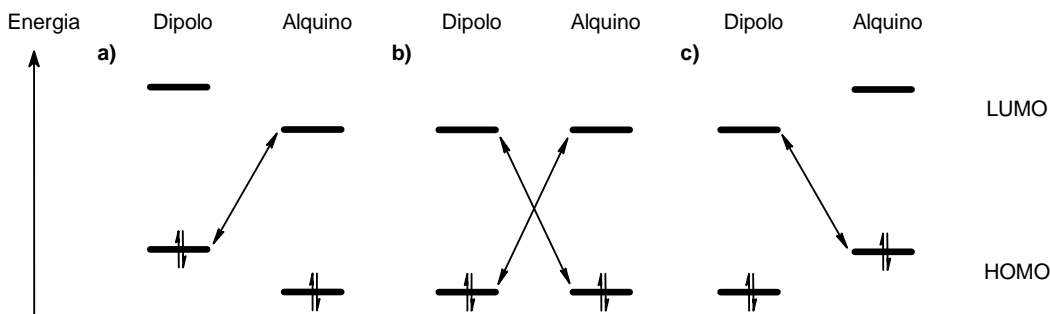
<sup>154</sup> Saxon, E.; Armstrong, J. I.; Bertozzi, C. R. *Org. Lett.* **2000**, 2, 2141-2143.

<sup>155</sup> Nilsson, B. L.; Kiessling, L. L.; Raines, R. T. *Org. Lett.* **2001**, 3, 9-12.

<sup>156</sup> Trost, B. M.; Pearson, W. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, 103, 2483-2485.

<sup>157</sup> L'abbé, G. *Chem. Rev.* **1969**, 69, 345-363.

triazolidinas son menos estables que los triazoles, cuando estas se calientan a temperaturas suaves o moderadas descomponen desprendiendo nitrógeno molecular y dando lugar a aziridinas y enaminas. La utilidad de estas azidas en reacciones de cicloadición fue puesta de relieve por Sharpless<sup>158</sup> para el que esta es una de las reacciones de cicloadición de mayor utilidad para la síntesis orgánica. A pesar de la utilidad de este tipo de reacciones, hasta fechas muy recientes no han sido empleadas con tanta frecuencia como se podría esperar para la síntesis de heterociclos en parte debido a las condiciones tan enérgicas necesarias para que se produzca este tipo de reacción en periodos de tiempo relativamente cortos y en parte por la baja regioselectividad obtenida mediante las condiciones clásicas de reacción. Esta baja regioselectividad es debida a que en la formación de los enlaces intervienen contribuciones tanto de interacciones  $\text{HOMO}_{\text{dipolo}}\text{-LUMO}_{\text{alquino}}$  como de  $\text{HOMO}_{\text{alquino}}\text{-LUMO}_{\text{dipolo}}$  (figura 25 b).



**Figura 25.** Diferentes posibilidades de interacción entre los orbitales HOMO y LUMO de alquinos y dipolos en cicloadiciones 1,3-dipolares según la energía de los FMO. (a) Interacción  $\text{HOMO}_{\text{dipolo}}\text{-LUMO}_{\text{alquino}}$ . (b) Interacciones  $\text{HOMO}_{\text{dipolo}}\text{-LUMO}_{\text{alquino}}$  y  $\text{LUMO}_{\text{dipolo}}\text{-HOMO}_{\text{alquino}}$ . (c) Interacción  $\text{LUMO}_{\text{dipolo}}\text{-HOMO}_{\text{alquino}}$ .

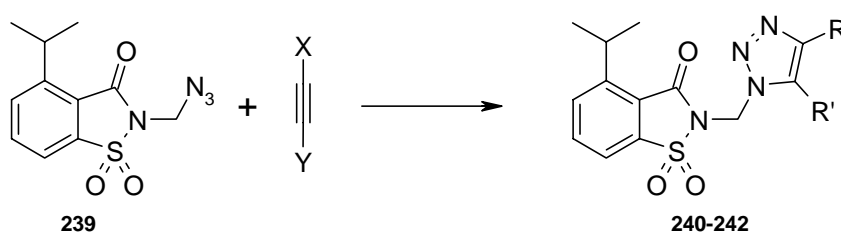
### Síntesis regioselectiva de 1,2,3-triazoles

Si bien el empleo de alquinos que poseen grupos electrón atrayentes aumenta en gran medida la velocidad de reacción de la cicloadición, en el caso de alquinos heterosustituidos produce una disminución de la regioselectividad. Así la reacción de **239** con acetilendicarboxilato de dimetilo en benceno a reflujo<sup>159</sup> finaliza en 6 horas, la reacción del mismo con propiolato de metilo en las mismas condiciones necesita de 18 horas para dar una mezcla de **214a** y **241b** en relación 1:3 y con (trimetilsilil)propiolato de metilo precisa siete días aunque da en exclusiva el producto **242**. Asimismo el disolvente es clave en la velocidad de la reacción, observándose que mientras en disolventes orgánicos apolares la velocidad de reacción es bastante baja, esta velocidad aumenta de forma significativa en el caso de reacciones realizadas en

<sup>158</sup> Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004-2021.

<sup>159</sup> Hlasta, D. J.; Ackerman, J. H. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 6184-6189.

ausencia de disolvente o en agua, este hecho fue en principio atribuido a que al ser los reactivos empleados líquidos apolares, estos en presencia de agua dan lugar a una bifase y en este medio la reacción se comporta como en ausencia de disolvente. Sin embargo, según Engberts<sup>160</sup> el aumento de la velocidad de reacción en estas condiciones puede ser atribuido a una mayor polarización del dienófilo por la capacidad de formación de puentes de hidrógeno que presenta el agua así como a la imposición de interacciones hidrofóbicas entre las dos moléculas orgánicas lo que aumenta la velocidad de reacción.



Alquino		Equiv. Alquino	Tiempo reacción	Producto	Triazol		Rend. %
X	Y				R	R'	
COOMe	COOMe	3	6 h	<b>240</b>	COOMe	COOMe	84
H	COOMe	19	18 h	<b>241a</b>	COOMe	H	66
				<b>241b</b>	H	COOMe	23
TMS	COOMe	3	7 d	<b>242</b>	TMS	COOMe	68

**Tabla 7.** Reactividad de **237** en reacciones de cicloadición con varios alquinos.

Un estudio reciente<sup>161</sup> demuestra que la reactividad de estas cicloadiciones se modifica en gran medida cuando el disolvente empleado es agua destilada en caliente. En los casos estudiados los tiempos de reacción disminuyen y se aumenta la regioselectividad. El autor justifica estos hechos por un cambio en la energía de los orbitales moleculares frontera (FMO) de los reactivos de manera que se produce una interacción predominante entre HOMO del dipolo y LUMO del alquino (figura 25 a).

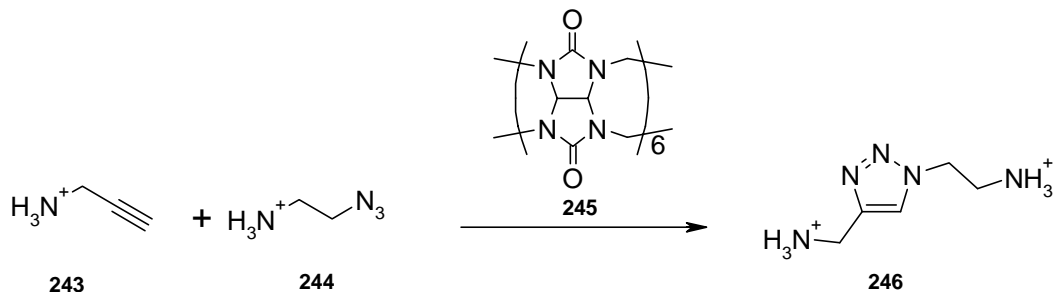
Hasta el desarrollo de métodos de síntesis regioselectiva de 1,2,3-triazoles 1,4-disustituidos los métodos empleados para la síntesis regioselectiva de estos eran poco generales. Por ejemplo, el clorhidrato de propargilamonio reacciona con el clorhidrato de 2-azidoetilamonio en presencia de cantidades catalíticas de curcubiturilo<sup>162</sup> dando el producto **246** exclusivamente a la vez que aumenta considerablemente la velocidad de reacción, parece ser que **243**, **244** y **245** forman un complejo ternario por inclusión de los restos hidrofóbicos de **243** y **244** en el curcubiturilo mientras los restos amina forman puentes de hidrógeno con los grupos carbonilo del curcubiturilo, esta

<sup>160</sup> Wijnjen, J. W.; Steiner, R. A.; Engberts, J. B. F. N. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 5389-5392.

<sup>161</sup> Wang, Z.-X.; Qin, H.-L. *Chem. Commun.* **2003**, 2450-2451.

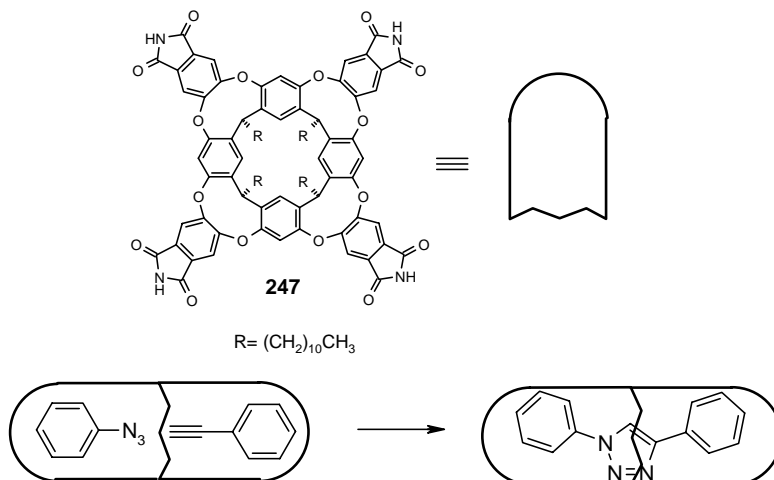
<sup>162</sup> Mock, W. L.; Irra, T. A.; Wepsiec, J. P.; Adhya, M. J. *Org. Chem.* **1989**, *54*, 5302-5308.

disposición permite la formación del 1,4-bis(aminoetil)-1,2,3-triazol. La misma estrategia puede ser aplicada para la síntesis de polímeros<sup>163</sup> si se emplea dipropargilamina y bis(2-azidoetil)amina en las mismas condiciones. El empleo de sales de amonio cuaternarias más voluminosas permite la obtención de rotaxanos<sup>162, 164</sup> debido a que estos restos impiden la salida del curcubiturilo del sistema.



Esquema 59.

Otro ejemplo de catálisis producido mediante el encapsulamiento de azidas como fenilazida y alquinos como fenilacetileno en medio acuoso es el empleo del resorcalixareno **247**.<sup>165</sup> Este resorcalixareno posee la capacidad de formar dímeros estabilizados por puentes de hidrógeno entre los grupos carboxilo y los hidrógenos de las imidas formando una capsula en cuyo interior hidrofóbico se acomodan simultáneamente ambos compuestos aromáticos en una disposición favorable para la formación del 1,4-difenil-1,2,3-triazol observándose un aumento considerable de la velocidad de reacción (esquema 60).



Esquema 60.

El empleo de trimetilsililacetileno permite obtener el producto 1,4-disustituido con excelentes rendimientos aunque la presencia de un grupo electrón donante disminuye

<sup>163</sup> Krasia, T. C.; Steinke, J. H. G. *Chem. Commun.* **2002**, 22-23.

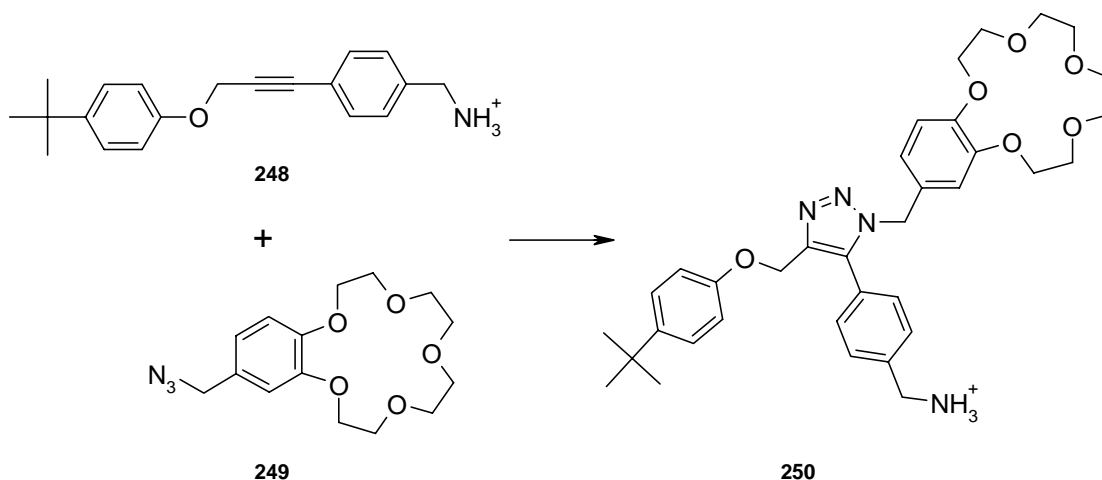
<sup>164</sup> Tuncel, D.; Steinke, J. H. G. *Chem. Commun.* **2002**, 496-497.

<sup>165</sup> Chen, J.; Rebeck, J., Jr. *Org. Lett.* **2002**, 4, 327-329.



en gran medida la velocidad de reacción, un estudio de la reaccionabilidad del trimetilsililacetileno con diferentes azidas aromáticas<sup>166</sup> permite comprobar que la presencia de grupos electrón atrayentes en posición *para* del benceno aumenta la velocidad de reacción de forma considerable. Otro método de aumentar la velocidad de reacción es el empleo de altas presiones,<sup>167</sup> así cuando la reacción se lleva a cabo a presiones entre  $10^8$ - $10^9$  Pa la velocidad de reacción aumenta en varios ordenes de magnitud.

Otra estrategia que da buenos resultados en la síntesis regioselectiva de triazoles consiste en el empleo de azidas y alquinos que poseen restos capaces de formar complejos mediante reconocimiento molecular lo que les permite situar el grupo alquino y azida en una posición adecuada para la obtención del triazol de manera regioselectiva. La reacción entre la azida **249** que posee un éter corona unido a ella y el alquino **248** que posee una sal de amonio cuaternaria<sup>168</sup> es un ejemplo del empleo de reacciones de reconocimiento molecular previas a la formación del triazol, que da lugar al 1,2,3-triazol 1,4-disustituido **250** prácticamente como único producto de reacción y a la vez provoca un discreto aumento en la velocidad de la reacción.



Esquema 61.

Las vinilsulfonas son equivalentes sintéticos adecuados de los alquinos en reacciones de cicloadición 1,3-dipolares con azidas. Al poseer un grupo electrón atrayente estas vinilsulfonas reaccionan con rapidez con las azidas para dar la 1,2,3-triazolidina que al poseer un buen grupo saliente como es la sulfona produce eliminaciones con facilidad para dar lugar al 1,2,3-triazol. La reacción de 2-perfluoroalquilvinilsulfonas con azidas derivadas de glicósidos<sup>169</sup> permite obtener los

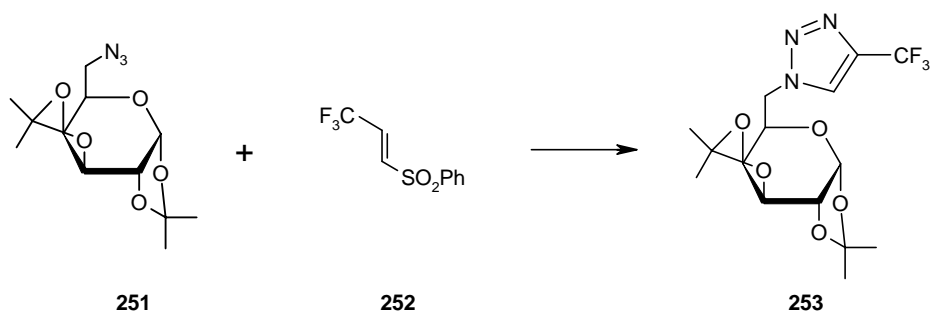
<sup>166</sup> Zanirato, P. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1991**, 2789-2796.

<sup>167</sup> Melai, V.; Brillante, A.; Zanirato, P. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1998**, 2447-2449.

<sup>168</sup> Howell, S. J.; Spencer, N.; Philp, D. *Tetrahedron* **2001**, 57, 4945-4954.

<sup>169</sup> Hager, C.; Miethchen, R.; Reinke, H. *J. Fluor. Chem.* **2000**, 104, 135-142.

correspondientes 1,2,3-triazoles 1,4-disustituidos con buenos rendimientos en tiempos de reacción relativamente cortos.



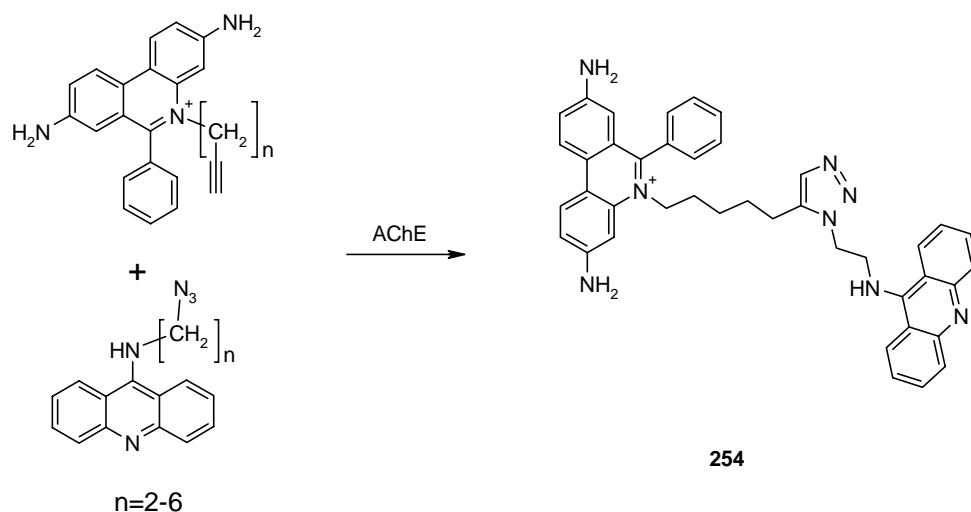
Esquema 62.

El empleo de enzimas para la síntesis de 1,2,3-triazoles ha demostrado ser un método muy valioso para la búsqueda de inhibidores enzimáticos basados en estos triazoles.<sup>170</sup> Se ha llevado a cabo un muestreo de gran cantidad de posibles inhibidores mediante incubación de diferentes alquinos y azidas en presencia de acetilcolinesterasa (AChE), posterior análisis mediante cromatografía líquida y espectrometría de masas permite determinar que triazoles inhiben el centro activo de la AChE. Este método se basa en la capacidad de la AChE para complejar ciertas sustancias en su centro activo y posteriormente catalizar la cicloadición de azidas y alquinos en su interior hidrofóbico. El empleo de azidas o alquinos unidos a través de espaciadores de distinto tamaño a restos capaces de ser reconocidos por el centro activo de la AChE permite sintetizar inhibidores de AChE. En concreto el producto **254** ha demostrado ser un inhibidor muy potente de esta enzima y curiosamente se trata de un 1,2,3-triazol 1,5-disustituido.

<sup>170</sup> a) Lewis, W. G.; Green, L. G.; Grynszpan, F.; Radic, Z.; Carlier, P. R.; Taylor, P.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 1053-1057.

b) Manetsch, R.; Krasinski, A.; Radic, Z.; Raushel, J.; Taylor, P.; Sharpless, K. B.; Kolb, H. C. J. *Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 12809-12818.

c) Krasinski, A.; Radic, Z.; Manetsch, R.; Raushel, J.; Taylor, P.; Sharpless, K. B.; Kolb, H. C. J. *Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 6686-6692.



**Esquema 63.** Fueron empleados 49 combinaciones de reactivos que podrían haber dado lugar a 98 productos potenciales, sin embargo se obtuvo **254** como único producto.

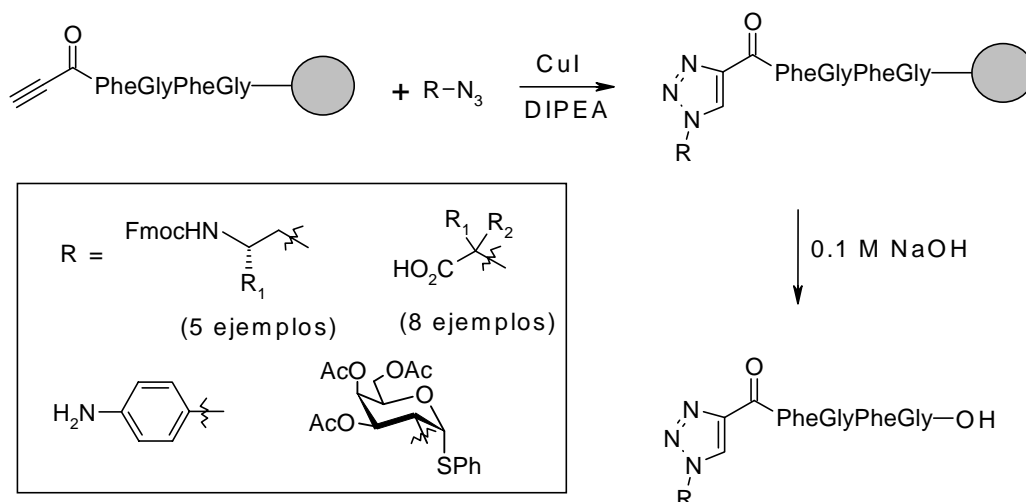
La síntesis regioselectiva de 1,2,3-triazoles 1,5-disustituidos es un reto que no ha sido solucionado hasta fechas recientes<sup>171</sup> mediante el empleo de una estrategia indirecta consistente en la reacción entre azidas y alquilmagnesianos, que da lugar a 4-magnesio-1,2,3-triazoles 1,5-disustituidos cuya hidrólisis permite obtener los deseados 1,2,3-triazoles 1,5-disustituidos. Este método aunque conocido anteriormente no había sido aprovechado para la obtención de este tipo de productos.

### Síntesis de 1,2,3-triazoles catalizadas con sales de cobre

Los métodos para la síntesis regioselectiva de 1,2,3-triazoles 1,4-disustituidos comentados hasta ahora presentan varios inconvenientes, ya que si bien presentan buena regioselectividad la velocidad de estas reacciones suele ser muy baja y además son poco generales. Recientemente Meldal<sup>172</sup> ha publicado un método de síntesis que permite obtener 1,2,3-triazoles 1,4-disustituidos de forma exclusiva en cortos periodos de tiempo y que es aplicable a todos los alquinos terminales. Este método se basa en el empleo de cantidades catalíticas de Cu(I) en medio básico y puede ser llevado a cabo en numerosos disolventes tales como acetonitrilo, diclorometano, THF, tolueno, DMF o diisopropiltilamina (esquema 64). Meldal ha comprobado que la adición de alquinos no terminales no es catalizada por CuI y que las sales de Cu(II) no poseen capacidad de catalizar la cicloadición de alquinos terminales. Con estos resultados Meldal propone un mecanismo de esta reacción que pasa por la formación de un acetiluro de cobre que polariza el triple enlace favoreciendo la cicloadición.

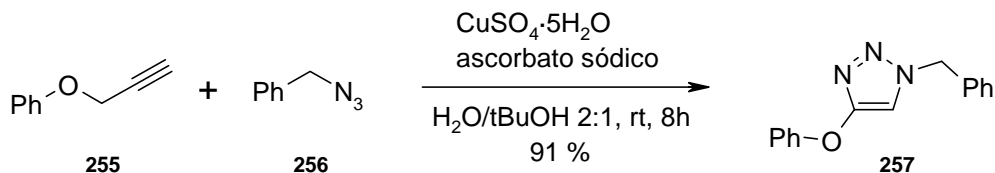
<sup>171</sup> Kasinski, A.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B. *Org. Lett.* **2004**, 6,1237-1240.

<sup>172</sup> Tornøe, C. W.; Christensen, C.; Meldal, M. *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 3057-3064.



Esquema 64.

En su búsqueda de condiciones adecuadas para la síntesis de triazoles mediante "click-chemistry", Sharpless<sup>173</sup> ha publicado la síntesis de los mismos catalizada mediante sales de Cu solubles en agua, empleando sulfato de cobre (II) que es reducido en el medio de reacción a Cu(I) por empleo de ascorbato sódico. Este catalizador permite la reacción de alquinos terminales y azidas en mezclas hidroalcohólicas o incluso en medios acuosos sin que aparentemente se vea afectado por el pH.

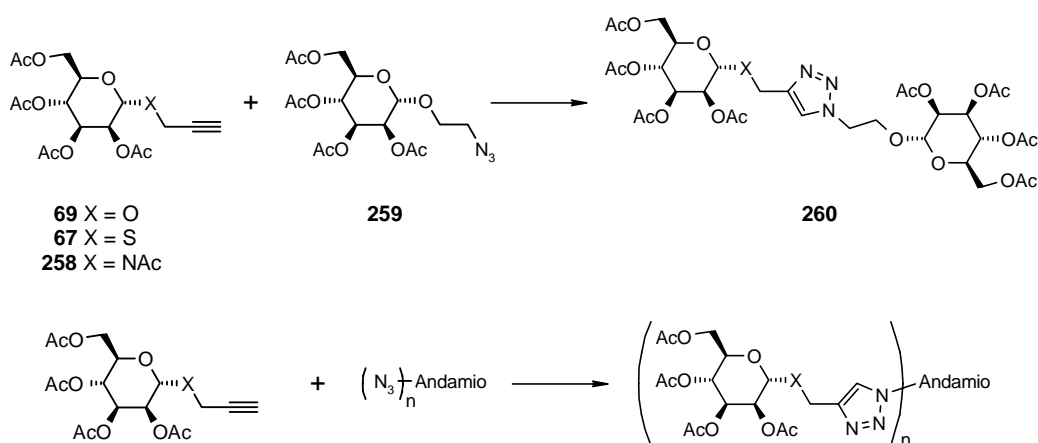


Esquema 65.

Poco tiempo después nuestro grupo de investigación ha publicado<sup>174</sup> la síntesis de 1,2,3-triazoles catalizada empleando complejos de cobre (I) tales como (Ph<sub>3</sub>P)<sub>3</sub>·CuBr y (EtO)<sub>3</sub>P·CuI solubles en disolventes orgánicos. La reacción se lleva a cabo en tolueno empleando como base diisopropiletilamina con irradiación de microondas que hace que los tiempos de reacción sean especialmente cortos (del orden de minutos) con buenos a excelentes rendimientos. Esta metodología permite la reacción de poliazidas y alquinos para dar lugar a sistemas que contienen múltiples grupos triazol. Parte de estas investigaciones serán desarrolladas en la presente tesis de doctoral.

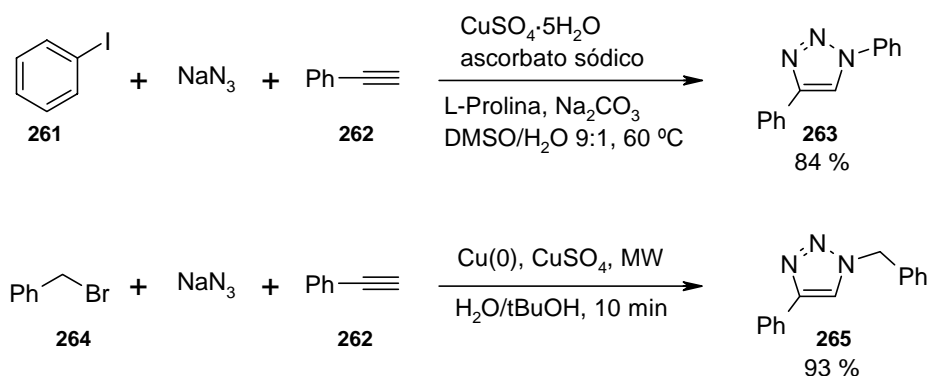
<sup>173</sup> Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596-2599.

<sup>174</sup> Pérez-Balderas, F.; Ortega-Muñoz, M.; Morales-Sanfrutos, J.; Hernández-Mateo, F.; Calvo-Flores, F. G.; Calvo-Asín, J. A.; Isac-García, J.; Santoyo-González, F. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 1951-1954.



**Esquema 66.** Condiciones:  $(Ph_3P)_3 \cdot CuBr$  ó  $(EtO)_3P \cdot CuI$ , DIPEA, t. a. ó MW

Partiendo de haluros de alquilo y arilo es posible llevar a cabo la transformación de los mismos en azidas y posterior cicloadición con alquinos en medio hidroalcohólico en un solo paso.<sup>175</sup> La transformación de haluros de alquilo en azidas se realiza por sustitución nucleofílica con  $NaN_3$  mientras en el caso de haluros de arilo la sustitución de halógeno por azida es catalizada mediante sales de Cu(I) en presencia de prolina. Si esta reacción es realizada en presencia de un alquino con cantidades catalíticas de  $CuSO_4$  y ascorbato sódico se obtiene el producto de cicloadición en un solo paso, aunque en algunos casos se obtienen también cantidades significativas de 1H-1,2,3-triazoles provenientes de la reacción del alquino con  $NaN_3$ . Este tipo de reacción también puede ser llevada a cabo<sup>176</sup> empleando cobre metálico y  $CuSO_4$  en ausencia de ascorbato sódico, en este caso el Cu (I) se produce mediante una reacción de dismutación. Adicionalmente la irradiación por MW les permite disminuir en gran medida los tiempos de reacción.



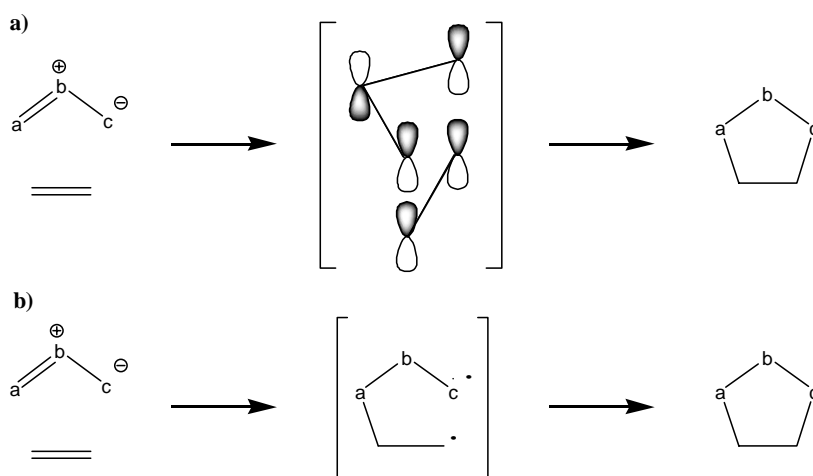
**Esquema 67.**

<sup>175</sup> Feldman, A. K.; Colasson, B.; Fokin, V. V. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3897-3899.

<sup>176</sup> Appukkuttan, P.; Dehaen, W.; Fokin, V. V.; Van der Eycken, E. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 4223-4225.

### Mecanismo de la reacción entre alquinos y azidas

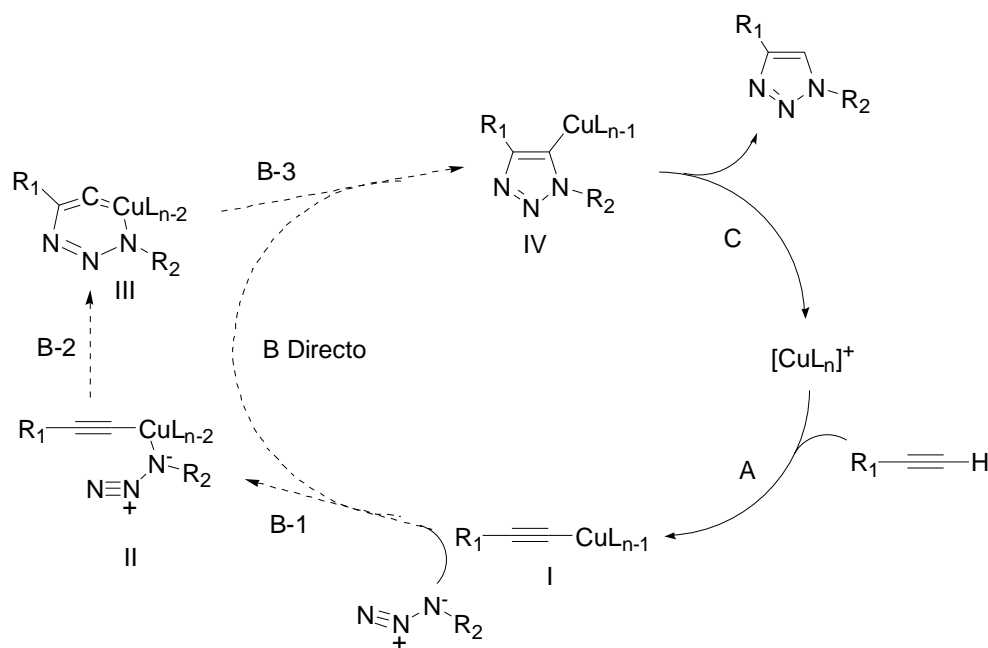
Durante mucho tiempo existió la duda sobre cual era el mecanismo<sup>177</sup> de las reacciones de cicloadición de alquinos y azidas no catalizadas, Huisgen defendía un mecanismo concertado en el que los 4 electrones  $\pi$  del 1,3-dipolo interactúan con los electrones del enlace  $\pi$  del dipolarófilo (esquema 68 a) mientras Firestone postulaba un mecanismo a través de un intermedio diradicalario (esquema 68 b). Finalmente los datos experimentales permitieron concluir que esta reacción es, al menos en la mayoría de los casos, de tipo concertado.



**Esquema 68.** Posibles mecanismos de la reacción no catalizada entre dienos y dipolos.

Sin embargo, cuando la reacción está catalizada por sales de cobre el mecanismo por el que transcurre la misma parece ser otro. Sharpless ha propuesto<sup>173</sup> dos posibles mecanismos partiendo de acetiluros de cobre consistentes bien en una cicloadición concertada entre este acetiluro y la azida bien en un proceso de varios pasos que comienza por la adición del nitrógeno en posición 1 de la azida al cobre para formar el compuesto II del esquema 69. Posteriormente, este compuesto sufriría una ciclación para dar lugar al compuesto cíclico de seis miembros III y una posterior contracción del anillo permite obtener el compuesto IV que finalmente se descompone dando lugar al triazol y liberando el cobre con lo que se completa el ciclo catalítico. Estudios computacionales de la energía de los diferentes posibles intermedios de esta reacción revelan<sup>113</sup> que transcurre a través del segundo mecanismo.

<sup>177</sup> Houk, K. N.; González, J.; Li, Y. *Acc. Chem. Res.* **1995**, *28*, 81-90.

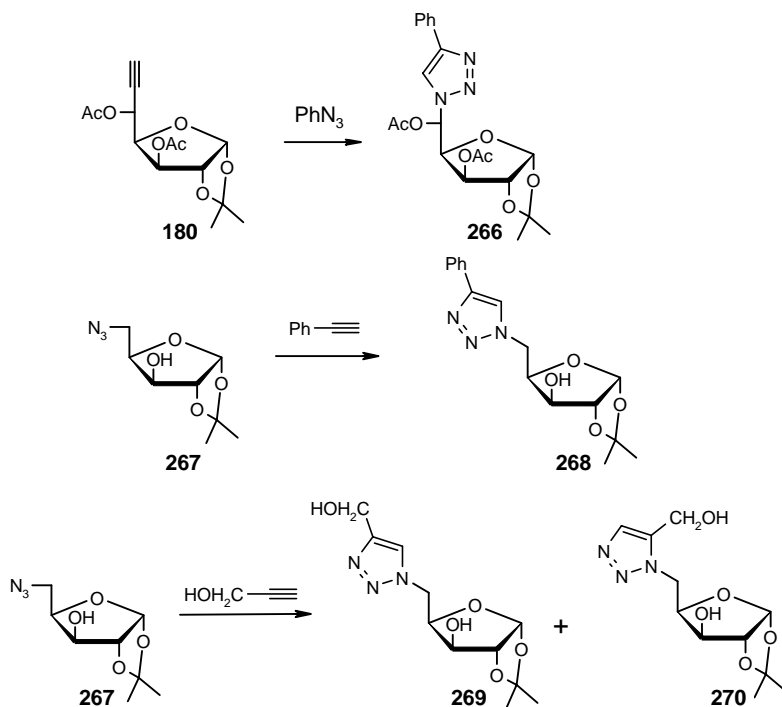


**Esquema 69.** Mecanismo propuesto por Sharpless para la reacción entre azidas y alquinos catalizada por sales de Cu (I).

### Triazoles derivados de azúcares

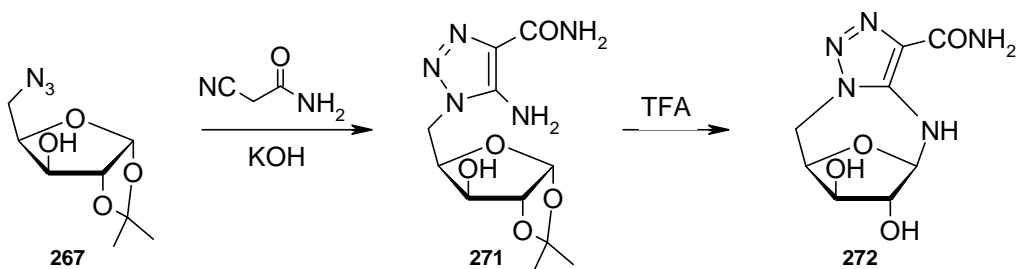
Las primeras síntesis de triazoles derivados de azúcares tenían como objeto la obtención de análogos de nucleósidos en los que la base nitrogenada ha sido sustituida por un triazol, especialmente de los denominados “nucleósidos invertidos”, furanósidos en los que el heterociclo está situado en posición 5 del azúcar ya que poseen la ventaja de no sufrir hidrólisis en medios ácidos fuertes como los existentes en estómago. La primera síntesis de un derivado de este tipo fue llevada a cabo por el grupo de Horton<sup>137</sup> partiendo de alquinoazúcares en posición 6 del azúcar con los que sintetizó derivados de los mismos con un resto isoxazol o triazol. Los derivados de triazoles fueron sintetizados mediante reacción de alquino-furanósidos como **180** con fenilazida a 100 °C en ausencia de disolvente, reacción que finaliza en cortos periodos de tiempo dando lugar al producto 1,4-disustituido en exclusiva con buenos rendimientos. Posteriormente, este mismo grupo sintetizó<sup>178</sup> otros análogos de nucleósidos empleando como productos de partida 5-azido-5-deoxifuranósidos como **267** por reacción de los mismos con alquinos como fenilacetileno, alcohol propargílico o propiolato de etilo. Cuando el alquino empleado en la cicloadición es fenilacetileno se obtiene en todos los casos el producto 1,4-disustituido en exclusiva, sin embargo el empleo de alcohol propargílico o propiolato de etilo da lugar a mezclas de productos 1,4-disustituidos y 1,5-disustituidos, hecho que según Horton se debe al mayor impedimento estérico producido por el grupo fenilo.

<sup>178</sup> Norris, P.; Horton, D.; Levine, B. R. *Heterocycles* **1996**, 43, 2643-2656.



Esquema 70.

Villa y col.<sup>179</sup> han sintetizado análogos de ciclonucleósidos invertidos mediante cicloadición del 5-azidoxilósido **267** con cianoacetamida en presencia de KOH lo que da lugar al producto **271**. Este producto cicla espontáneamente cuando el grupo protector isopropilidén es eliminado dando lugar al producto **272**.



Esquema 71.

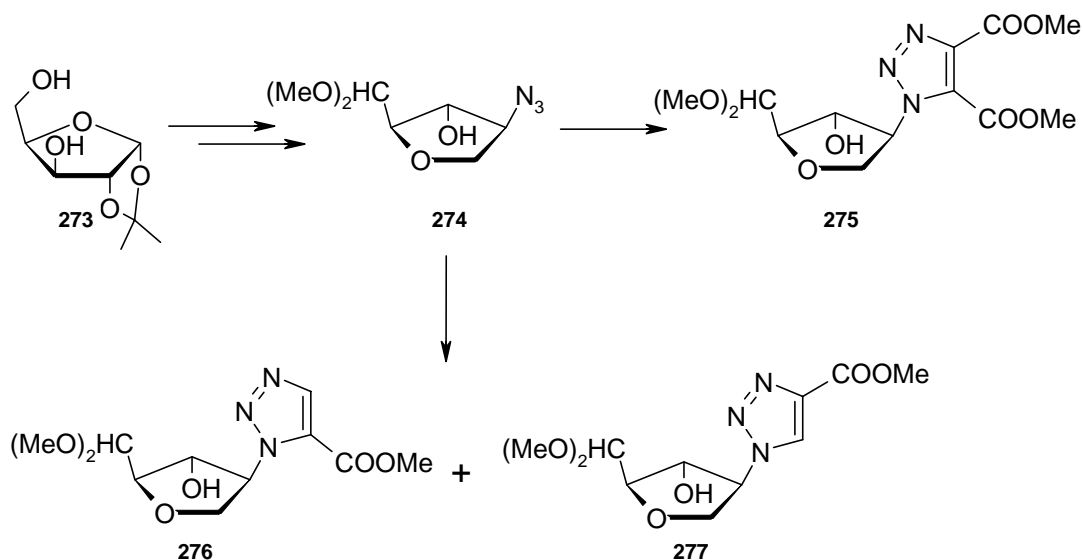
Partiendo de 1,2-*O*-isopropiliden- $\alpha$ -D-xilofuranosa Talekar y Wightman<sup>180</sup> sintetizaron varios isonucleósidos mediante la transformación de **273** en el azidoderivado **274**, cicloadición con acetilendicarboxilato de dimetilo o propiolato de

<sup>179</sup> Ewing, D. F.; Goethals, G.; Mackenzie, G.; Martin, P.; Ronco, G.; Vanbaelinghen, L.; Villa, P. J. *Carbohydr. Chem.* **1999**, *18*, 441-450.

<sup>180</sup> Talekar, R. R.; Wightman, R. H. *Tetrahedron* **1997**, *53*, 3831-3842.



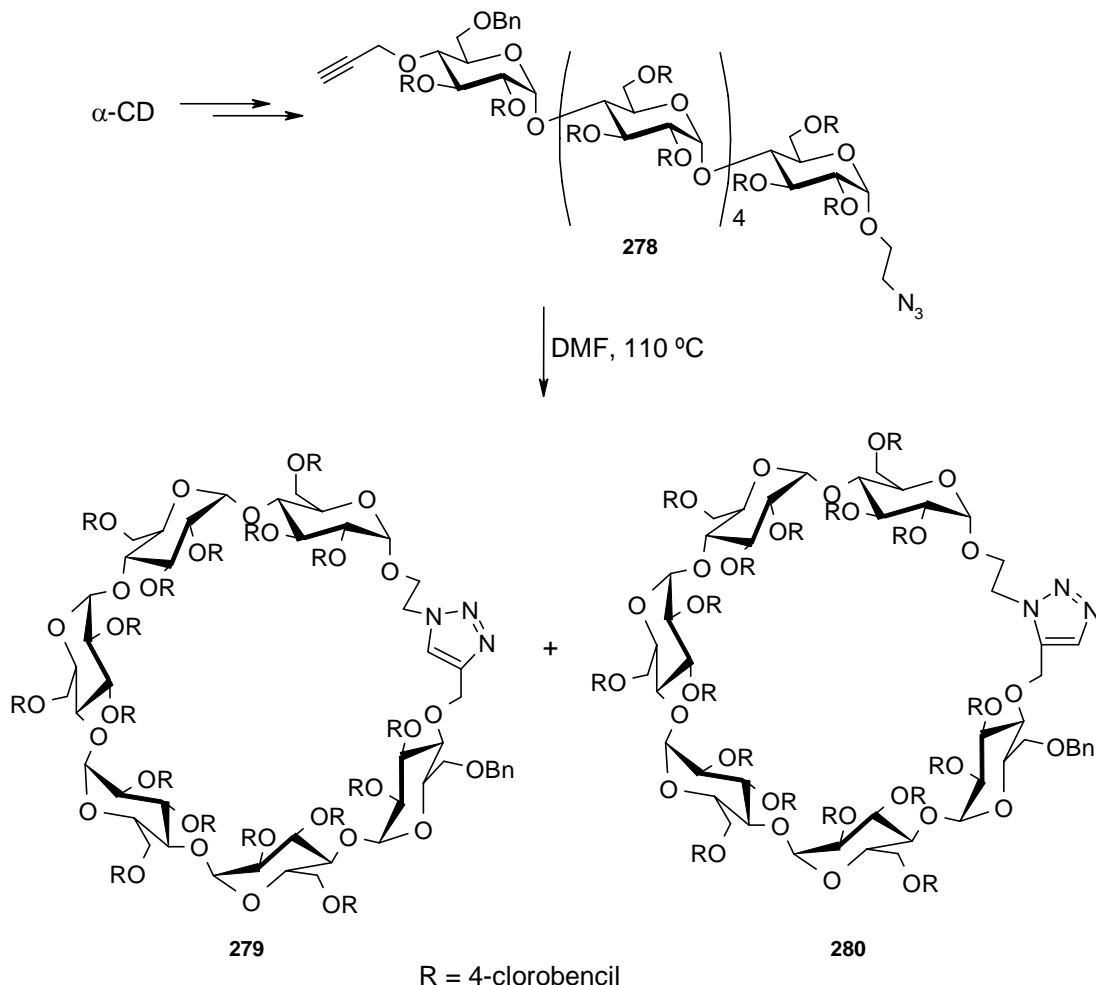
metilo y posterior conversión de los grupos éster carboxílicos en amidas. Aunque los ensayos realizados con estas sustancias para probar su capacidad como antiVIII resultaron negativos.



Esquema 72.

La formación de triazoles ha sido también empleada para la síntesis de análogos de ciclodextrinas conteniendo estos heterociclos. Para obtener estos análogos Vasella y col.<sup>181</sup> partiendo de  $\alpha$ -CD obtienen el ciclohexamaltósido **278** en varias etapas. Por reacción de cicloadición de los grupos azida y alquino que posee **278** es posible obtener estructuras cíclicas que contienen seis restos de azúcar y un grupo triazol. Al ser realizada la cicloadición en condiciones térmicas se obtienen tanto el producto 1,4-disustituido (24 %) como el 1,5-disustituido (31 %).

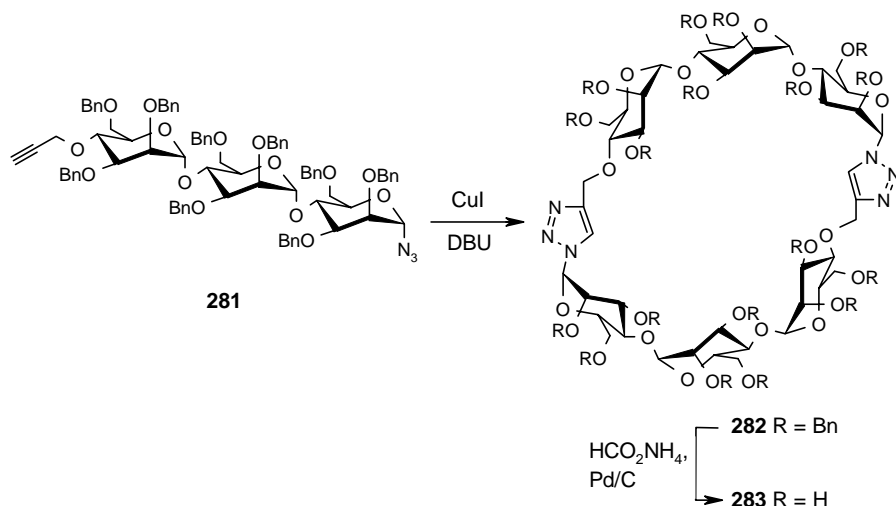
<sup>181</sup> Hoffmann, B.; Bernet, B.; Vasella, A. *Helv. Chim. Acta* **2002**, *85*, 265-287.



Esquema 73.

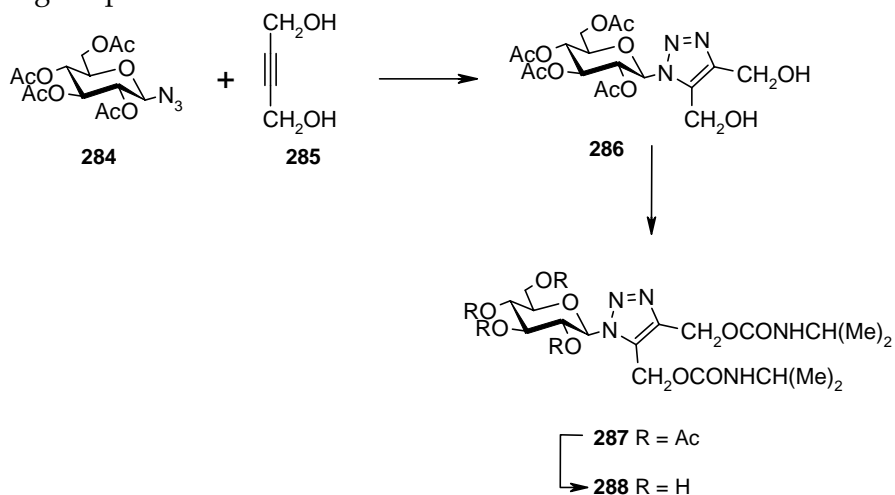
Por su parte Gin y col.<sup>182</sup> (esquema 74) sintetizan el trimanósido **281** cuyas unidades de manosa se encuentran unidas a través de enlaces  $\alpha(1,4)$  y que además contienen un grupo azida y otro grupo propargilo. La cicloadición de los mismos catalizada por CuI empleando como base DBU permite obtener macrociclos simétricos formados por 6 unidades de manosa y dos grupos triazol. El empleo de manosa en lugar de glucosa en estos análogos de ciclodextrina da mayor flexibilidad a la estructura, para evaluar si esta mayor flexibilidad afecta a la capacidad complejante de las ciclodextrinas estudiaron la interacción entre 8-anilino-1-naftalensulfonato (ANS) y este análogo de ciclodextrina llegando a la conclusión de que la constante de afinidad es ligeramente inferior aunque del mismo orden de magnitud que la del complejo de ANS y  $\beta$ -ciclodextrina.

<sup>182</sup> Bodine, K. D.; Gin, D. Y.; Gin, M. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 1638-1639.



Esquema 74.

Los azidoazúcares han sido empleados en numerosas ocasiones, por ejemplo para la síntesis de triazoles derivados como **288**<sup>183</sup> que fue sintetizado como anticancerígeno potencial.



Esquema 75.

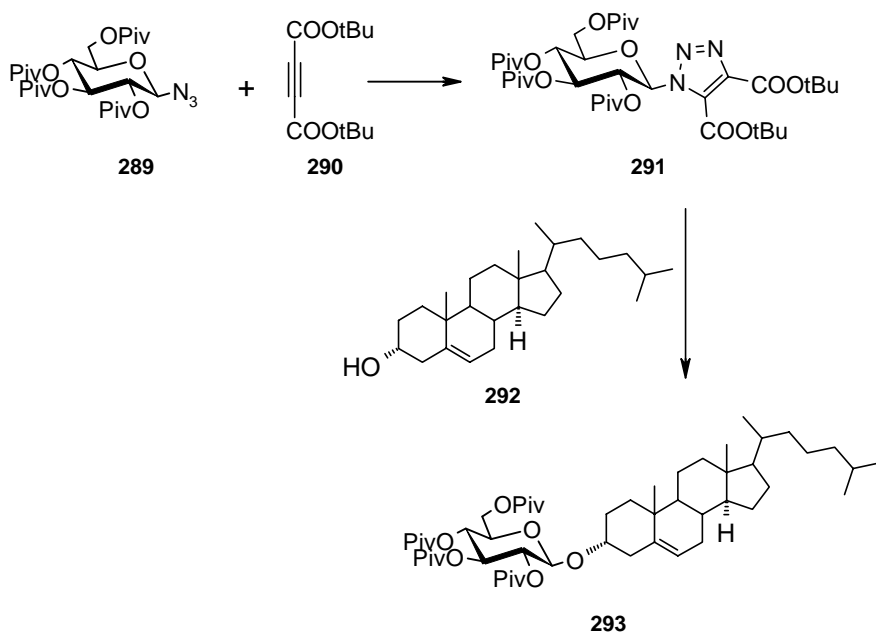
Otra posibilidad es el empleo de glicosilazidas como precursores de donores de glicosilo<sup>184</sup> hidrolíticamente estables desarrollado por Bröder y Kunz. Estas glicosilazidas son, por una parte, carbohidratos anoméricamente protegidos y por otra parte pueden ser activados mediante ciertas condiciones. La activación de los mismos se realiza mediante cicloadición de las azidas con acetilendicarboxilato de di-*tert*-butilo que da lugar al correspondiente triazol de *N*-glicosilo con buenos rendimientos, este triazol es el que actúa como donante de glicosilo mediante

<sup>183</sup> a) Al-Masoudi, N. A.; Al-Soud, Y. A. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 4021-4022.

b) Al-Masoudi, N. A.; Al-Soud, Y. A. *Nucleos. Nucleot.* **2002**, *21*, 361-375.

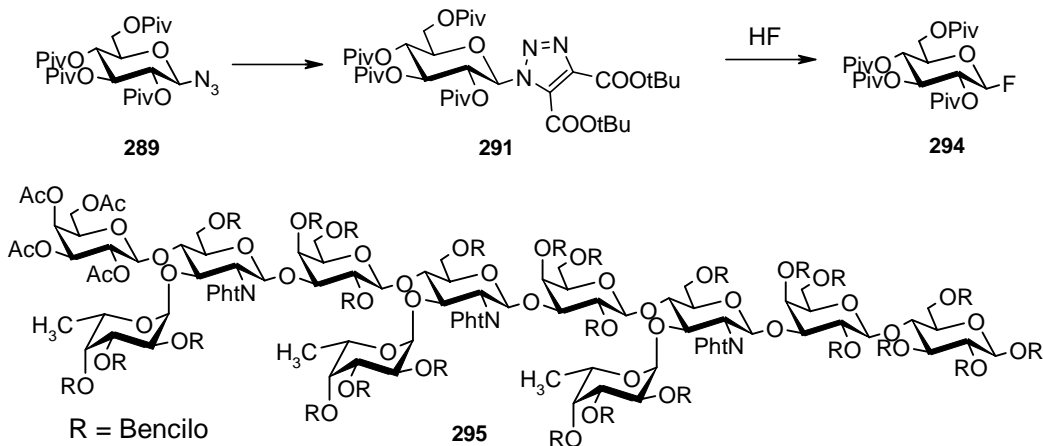
<sup>184</sup> Bröder, W.; Kunz, H. *Synlett* **1990**, 251-252.

activación con ácidos de Lewis o con triflato de trimetilsililo. Un ejemplo ilustrativo de esta estrategia es la glicosidación de colesterol mediante azidoglucosa per-pivaloizada (esquema 76).



Esquema 76.

Esta metodología ha sido empleada con éxito en la síntesis de disacáridos<sup>185</sup> así como para la obtención de fluoroazúcares que actúan como eficaces donores de glicosilo (esquema 77). Mediante el empleo de fluoroazúcares obtenidos por este método ha sido posible la síntesis de oligosacáridos complejos<sup>186</sup> tales como el undecárido trimérico Lewis<sup>x</sup> **295**.

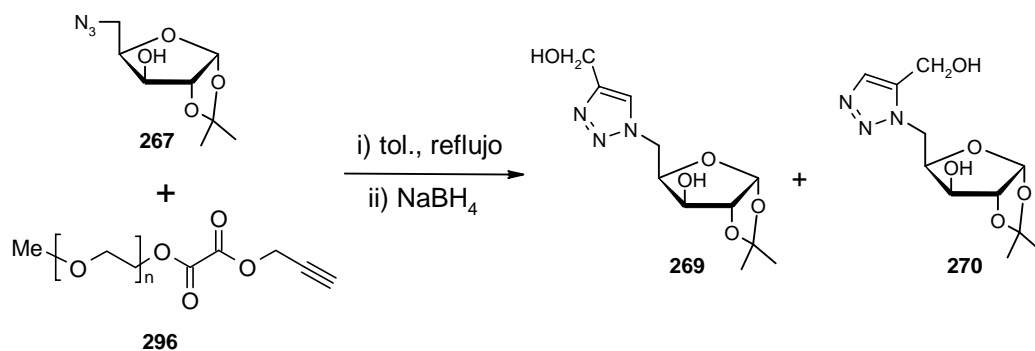


Esquema 77.

<sup>185</sup> Bröder, W.; Kunz, H. *Carbohydr. Res.* **1993**, 249, 221-241.

<sup>186</sup> Bröder, W.; Kunz, H. *Bioorg. Med. Chem.* **1997**, 5, 1-19.

El empleo de alquinos soportados en polímeros solubles<sup>187</sup> permite la obtención de triazoles sin los problemas causados por la menor reactividad de los polímeros insolubles en este tipo de reacciones. La reacción de alquinos soportados en polímeros solubles derivados de polietilenglicol con 6-azido-6-desoxiazúcares en tolueno a reflujo y posterior tratamiento con NaBH<sub>4</sub> para liberar el triazol permite obtener los correspondientes hidroximetiltriazales con una mayor proporción del compuesto 1,4-disustituido que en el caso de la cicloadición de las azidas correspondientes con alcohol propargílico (esquema 78).



Esquema 78.

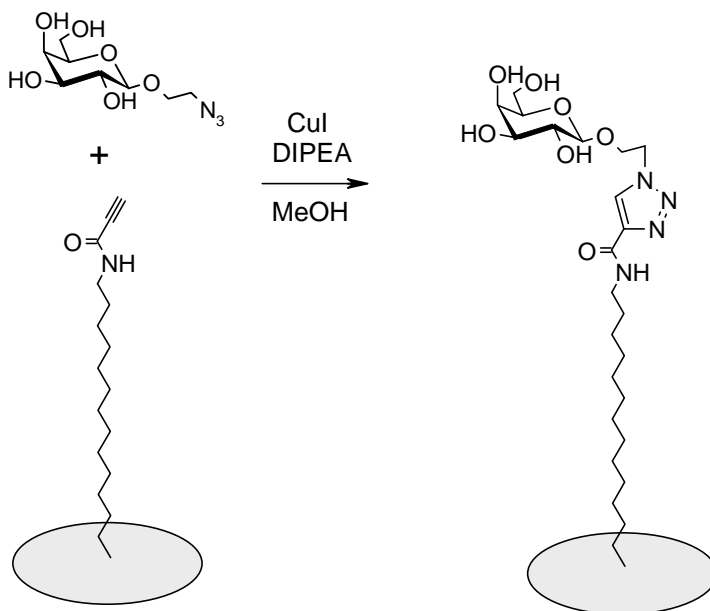
Durante el estudio sistemático de los compuestos organofluorados y agentes fluorizantes realizado por Miethchen y col. se llevó a cabo la síntesis de varios triazoles derivados de azúcares conteniendo restos organofluorados. Como ya se ha dicho en esta introducción el empleo de perfluoralquilvinilsulfonas<sup>169</sup> permite la obtención de triazoles derivados de azúcares como **253** de forma regioselectiva. Sin embargo, el empleo de otros fluoroalquinos como 1-trifluorometil-2-fenilacetileno en reacciones de cicloadición tanto con azidoglicósidos como con 6-azido-6-desoxiazúcares no es regioselectiva dando lugar a mezclas de productos de reacción.

Tras la publicación de los métodos de síntesis regioselectiva de triazoles mediante catálisis por Cu (I) este tipo de reacciones se están convirtiendo en herramientas habituales para la síntesis de compuestos que contienen azúcares. Paulson, Wong y col.<sup>188</sup> obtienen microarrays de oligosacáridos mediante la reacción entre un alquino que contiene una cadena hidrofóbica y azidas derivadas de azúcares. La reacción se lleva a cabo en placa multipocillo empleando como disolvente metanol y en presencia de CuI y DIPEA a temperatura ambiente. A título de ejemplo en el esquema 79 aparece la reacción entre el citado alquino hidrofóbico y 2-azidoetilgalactósido. Al evaporarse el metanol, el carbohidrato queda fijado en la placa mediante interacciones hidrofóbicas siendo estable al lavado. Estos microarrays pueden ser empleados para

<sup>187</sup> Moore, M.; Norris, P. *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 7027-7030.

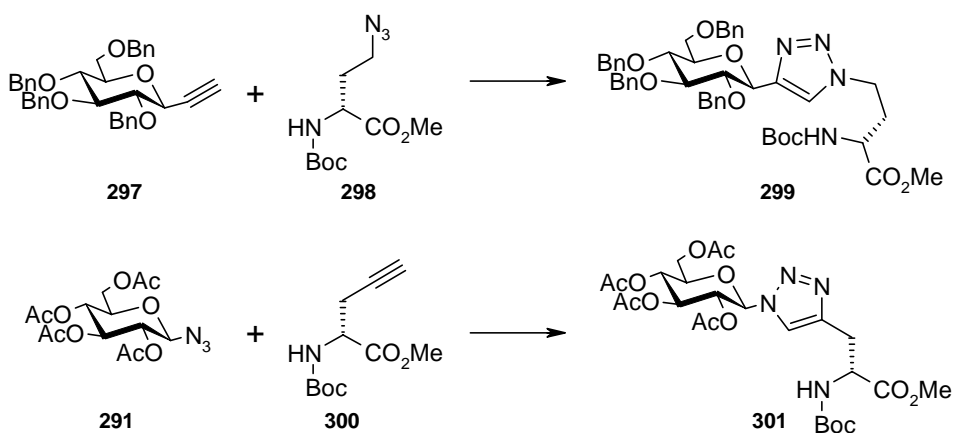
<sup>188</sup> Fazio, F.; Bryan, M. C.; Blixt, O.; Paulson, J. C.; Wong, C.-H. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 14397-14402.

la detección de lectinas y para la determinación de que oligosacáridos presentan afinidad por las mismas.



Esquema 79.

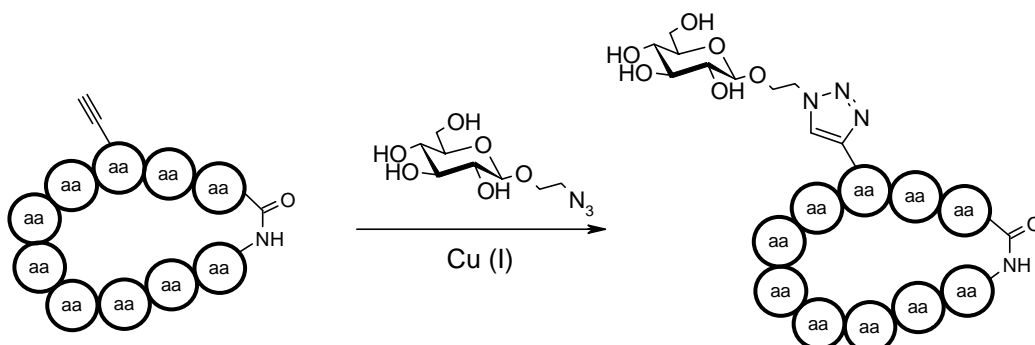
La importancia biológica de los glicopéptidos combinada con la dificultad para la obtención de los mismos ha ocasionado el desarrollo de estrategias para la obtención de glicoaminoácidos y glicopéptidos no naturales mediante reacciones de formación de triazoles. Los grupos de Dondoni<sup>140</sup> y Rutjes<sup>189</sup> han publicado de forma casi simultánea la síntesis de glicosil aminoácidos mediante cicloadición de aminoácidos conteniendo grupos azido o alquino y etinilglicósidos o azidoglicósidos (esquema 80).



Esquema 80.

<sup>189</sup> Kuijpers, B. H. M.; Groothuys, S.; Keereweer, A. R.; Quaedflieg, P. J. L. M.; Blaauw, R. H.; van Delft, F. L.; Rutjes, F. P. J. T. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3123-3126.

Lin y Walsh han preparado<sup>190</sup> una librería de péptidos cíclicos de estructura similar al antibiótico peptídico tirocidina con algunos de los aminoácidos del mismo sustituidos por propargilglicina (esquema 81). Estos péptidos que contienen entre 1 y 3 grupos propargilo han sido hechos reaccionar con monosacáridos conteniendo un resto azida. A continuación han estudiado la capacidad terapéutica de los mismos, descubriendo en los casos más favorables que, si bien la concentración inhibitoria mínima es igual o inferior que en el caso de la tirocidina, la concentración hemolítica de algunos de estos glicopéptidos es muy superior a la tirocidina lo que los hace más seguros como antibióticos.



Esquema 81.

Además de análogos de ciclodextrinas comentados con anterioridad otros macrociclos basados en azúcares han sido sintetizados para su empleo como potenciales receptores artificiales. Billing y Nilsson han sintetizado<sup>191</sup> macrociclos híbridos de carbohidratos y aminoácidos mediante cicloadición de derivados 6-azidoaminoglucopiranosidos que contienen un dipéptido unido al grupo amino. La cicloadición de los mismos permite obtener macrociclos de simetría  $C_2$  como **302**. Por su parte Dörner y Westermann han obtenido macrociclos conteniendo azúcares mediante una estrategia consistente en la combinación de cicloadiciones 1,3-dipolares y metatesis olefínica. Partiendo de azúcares que contienen un azido y un alqueno obtienen macrociclos de diverso tamaño por una primera reacción de los mismos con 1,7-octadieno en presencia de sales de Cu con lo que se obtiene un sistema dimérico que a continuación cicla por reacción de metatesis olefínica en presencia de catalizadores de Ru. Es de destacar que en presencia de Cu (I) el grupo azida no reacciona con el doble enlace sino con el alquino a pesar de que en condiciones térmicas la reacción de formación de triazolidinas ocurre con mayor velocidad que la de triazoles. Un ejemplo de macrociclos de este tipo es el compuesto **304** obtenido tras reducir el doble enlace del producto **303** que se forma en la reacción de metatesis olefínica.

<sup>190</sup> Lin, H.; Walsh, C. T. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 13998-14003.

<sup>191</sup> Billing, J. F.; Nilsson, U. J. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 4847-4850.

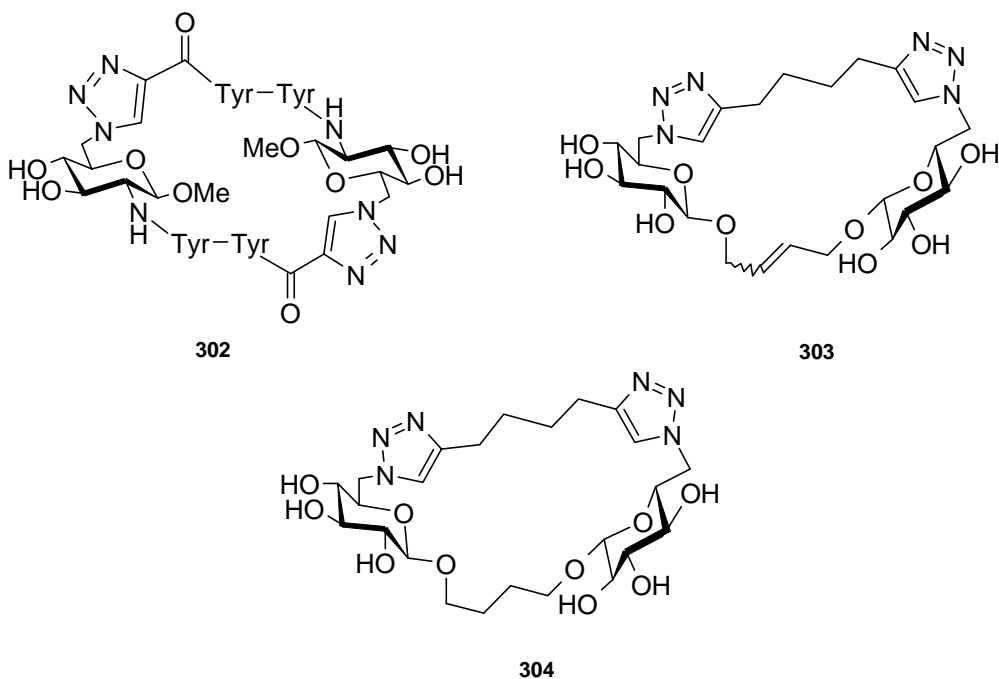


Figura 26.

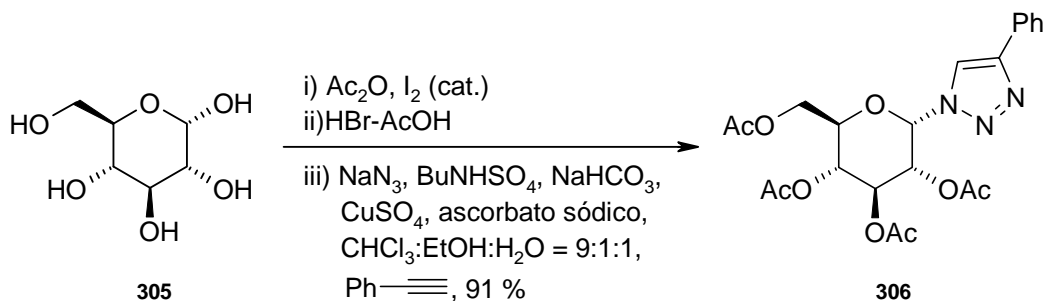
Ballell y col.<sup>192</sup> emplean reacciones de cicloadición para adherir una etiqueta fluorescente a una lectina mediante un ingenioso método basándose en un azúcar que contiene un grupo fotoreactivo (en este caso un grupo benzofenona) y un grupo azida. La lectina se incubaba con este azúcar y tras la incubación se irradiaba con luz, de esta forma se produce la unión covalente entre ambos mediante el grupo fotoreactivo. A continuación se hace reaccionar el grupo azido con un fluorescente que contenga un grupo alquino, lo que permite marcar dicha lectina cerca del centro de reconocimiento de carbohidratos de la misma. Se ha llevado a cabo el marcaje de galectinas empleando lactósidos y un derivado de rodamina como fluoróforo.

Recientemente el grupo de Wang<sup>193</sup> ha publicado la síntesis de glicoconjugados derivados de triazoles en un solo paso partiendo de azúcares tanto desprotegidos como peracetilados. Así, partiendo del azúcar desacetilado en un solo paso lleva a cabo la acetilación con  $\text{Ac}_2\text{O}$  en presencia de cantidades catalíticas de  $\text{I}_2$ , con  $\text{HBr}$  y posterior reacción con  $\text{NaN}_3$ ,  $\text{CuSO}_4$ , ascorbato sódico y un alquino permite la obtención de los correspondientes glicoconjugados con buen rendimiento sin necesidad de aislar los intermedios (esquema 82). En caso de azúcares per-*O*-acetilados, el proceso se produce en solo dos pasos.

<sup>192</sup> Ballell, L.; Alink, K. J.; Slijper, M.; Versluis, C.; Liskamp, R. M. J.; Pieters, R. J. *ChemBioChem* **2005**, *6*, 291-295.

<sup>193</sup> Chittaboina, S.; Xie, F.; Wang, Q. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 2331-2336.





Esquema 82.

## Resultados y discusión

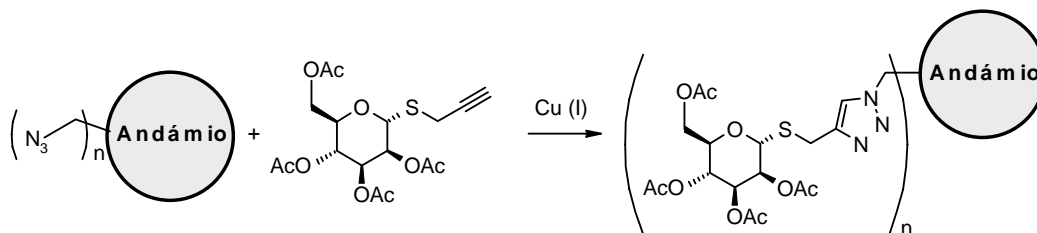
La principal dificultad en la síntesis de glicoconjugados es la baja reactividad de algunos grupos funcionales lo que posibilita la aparición de productos en los que la reacción no se ha completado con la consiguiente obtención de mezclas de glicoconjugados de estructura no definida. Esto impide una correcta evaluación de las propiedades biológicas de los mismos. Es, por tanto, de suma importancia recurrir a estrategias que empleen reacciones con muy alto rendimiento lo que permite la obtención de estructuras totalmente sustituidas.

Por otra parte, se ha demostrado que la presencia de un grupo de tipo aromático próximo al enlace glicosídico contribuye positivamente en la interacción de los neoglicoconjugados con lectinas al producirse un aumento de la hidrofobicidad.<sup>194</sup>

Desde hace tiempo creemos que el empleo de reacciones de formación de 1,2,3-triazoles a partir de alquinos y azidas podría ser un interesante método para la obtención de glicoclústeres que contienen un grupo heteroaromático próximo al enlace glicosídico y que puedan, por tanto, poseer una elevada afinidad por lectinas. Sin embargo en el caso de alquinos terminales, hasta hace relativamente poco tiempo estas reacciones de formación de triazoles tenían el inconveniente de una baja regioselectividad con lo que se obtenían mezclas complejas de productos.

La publicación del grupo de Meldal<sup>172</sup> del empleo de  $\text{CuI}$  como catalizador que conduce a la formación de uno solo de los triazoles nos hizo pensar en la posibilidad de emplear poliazidas como andamio para la síntesis de neoglicoconjugados. En la presente tesis doctoral se aborda el estudio de la reaccionabilidad de propargil 1-tiomanósidos con mono- y poliazidas tanto alifáticas como bencílicas (esquema 83). También van a ser empleados otros alquinos como el benzoato de propargilo y propargil manósido para evaluar tanto la diferencia de reactividad de *O*-propargil glicósidos frente a *S*-propargil glicósidos como las diferencias en capacidad inhibidora entre los tioglicósidos y los glicósidos frente a lectinas.

<sup>194</sup> Bezouska, K. *Rev. Mol. Biotech.* **2002**, *90*, 269-290.



**Esquema 83.** Esquema de síntesis de neoglicoconjugados basados en triazoles.

Por último van a ser estudiadas tanto la capacidad catalizadora de diferentes sales de Cu (I) como la eficiencia de la cicloadición en diferentes condiciones de reacción.

### Síntesis de productos de partida y catalizadores

Las azidas que han sido empleadas aparecen en la figura 27. La mayoría de estas azidas son de tipo poliazidometilbenzeno, aunque también van a ser empleadas otras como la monoazida **307**, diazidas alifáticas como **308** y azidas derivadas de azúcares **316** y ciclodextrinas **317** y **318**. La elección de azidas que poseen un resto aromático se debe fundamentalmente a dos motivos, en primer lugar a la facilidad de obtención de las mismas a partir de los correspondientes compuestos halometilbencénicos y en segundo lugar a la posibilidad de obtener tanto compuestos con muy diferente grado de impedimento estérico, se pueden obtener fácilmente desde bencenos disustituidos hasta hexasustituidos, como diferentes geometrías ya que en los bencenos disustituidos la sustitución puede ser en *orto*, *meta* o *para*.

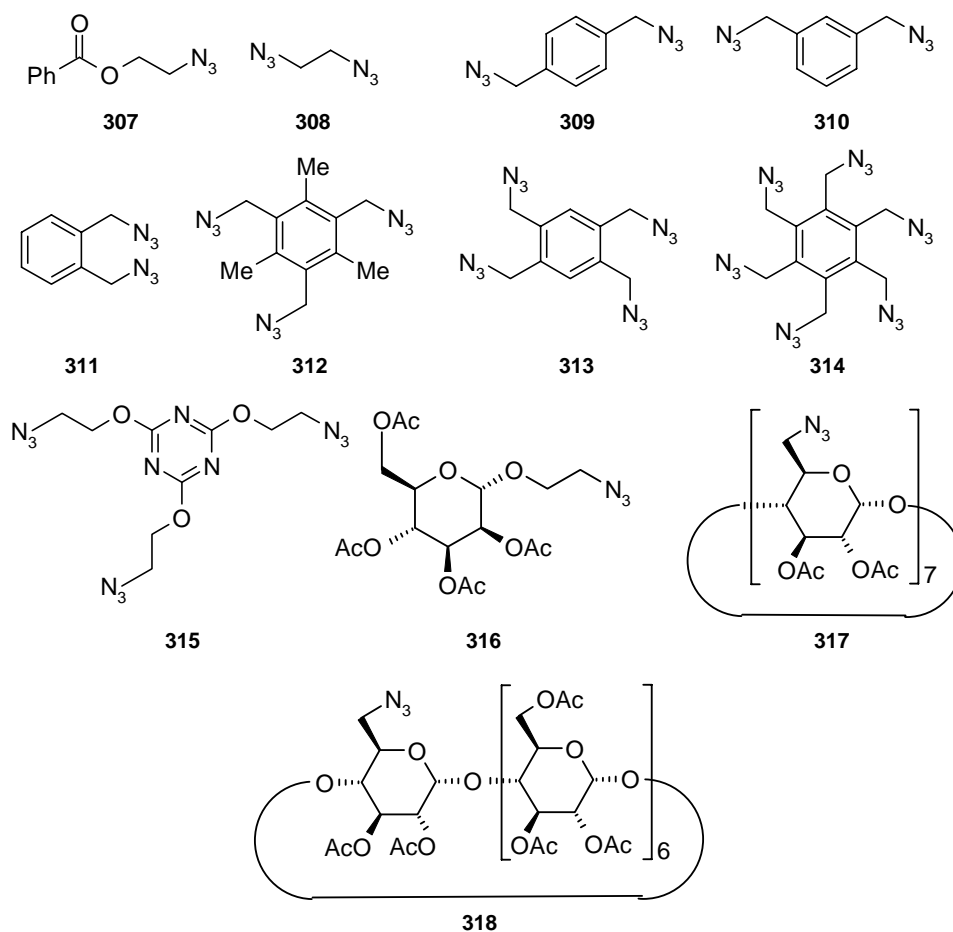


Figura 27. Azidas empleadas

Muchas de estas azidas han sido sintetizadas mediante sustitución nucleofílica de los correspondientes halocompuestos con azida sódica, de esta forma han sido obtenidos los compuestos **308-311**<sup>195</sup> y **312-314**.<sup>196</sup> El compuesto **307** fue obtenido mediante reacción de 2-bromoetanol con azida sódica y benzoilación del mismo mediante condiciones estándar. Las azidas derivadas de ciclodextrinas **317**<sup>197</sup> y **318**<sup>198</sup> han sido sintetizadas siguiendo los procedimientos descritos en literatura así como la derivada de manosa **316**.<sup>199</sup> El compuesto **315** ha sido sintetizado mediante reacción de cloruro de cianurilo con 2-azido etanol en medio básico.

En cuanto a los alquinos que emplearemos y aparecen en la figura 28, el benzoato de propargilo (**319**) se sintetiza por benzoilación del alcohol propargílico con cloruro

<sup>195</sup> Theocharis, A. B.; Alexandrou, N. E.; Terzis, A. *J. Heterocycl. Chem.* **1990**, *27*, 1741-1744.

<sup>196</sup> Gilbert, E. E. Patent N° US-138, **1984** USA (CA: 106:158921).

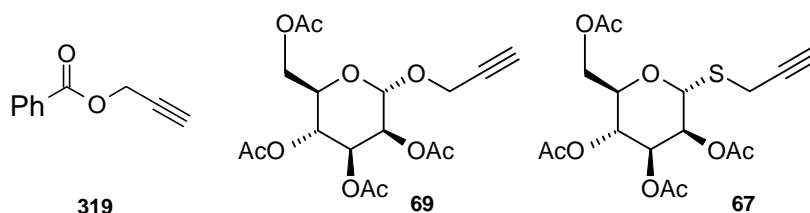
<sup>197</sup> a) Boger, J.; Corcoran, R. J.; Lehn, J. M. *Helv. Chim. Acta* **1978**, *6*, 2190-2218.

b) Roehri-Stoeckel, C.; Dangles, O.; Brouillard, R. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 1551-1554.

<sup>198</sup> Zhang, L. F.; Wong, Y. C.; Chen, L.; Ching, C. B.; Ng, S. C. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 1815-1818.

<sup>199</sup> Chernyak, A. Y.; Sharma, G. V. M.; Kononov, L. O.; Krishna, P. R.; Levinsky, A. B.; Kochetkov, N. K.; Rao, A. V. R. *Carbohydr. Res.* **1992**, *223*, 303-309.

de benzoilo, mientras tanto el propargilmanósido **69**<sup>52</sup> como el propargil 1-tiomanósido **67**<sup>66</sup> han sido sintetizados siguiendo los procedimientos descritos en literatura.



**Figura 28.**

Los catalizadores  $(\text{Ph}_3\text{P})_3 \cdot \text{CuBr}^{200}$  y  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}^{201}$  han sido elegidos ya que son fáciles de obtener, estables en presencia de aire durante periodos de tiempo prolongados y solubles en la mayoría de los disolventes orgánicos.

### Síntesis de glicoconjugados mediante reacción de cicloadición de azidas y alquinos

Las condiciones de reacción empleadas son variadas:

- (A) Empleo del catalizador  $(\text{Ph}_3\text{P})_3 \cdot \text{CuBr}$  en tolueno con irradiación MW sin base.
- (B) Catálisis con  $(\text{Ph}_3\text{P})_3 \cdot \text{CuBr}$  con DIPEA como base en tolueno e irradiación MW.
- (C)  $(\text{Ph}_3\text{P})_3 \cdot \text{CuBr}$  empleando como base DBU en tolueno con irradiación MW.
- (D) Catálisis con  $(\text{Ph}_3\text{P})_3 \cdot \text{CuBr}$  con CuI como co-catalizador y DIPEA como base en tolueno e irradiación MW.
- (E) Catalizador  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$ , DIPEA como base en tolueno y con irradiación MW.
- (F)  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$  con DIPEA como base en tolueno a reflujo.
- (G)  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$  con DIPEA como base en DMF y en microondas para síntesis.

En las tablas 8, 9, 10 y 11 aparecen las condiciones empleadas para la obtención de los diferentes derivados así como los tiempos de reacción y los rendimientos.

<sup>200</sup> Gujadhur, R.; Venkataraman, D.; Kintigh, J. T. *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42, 4791-4793.

<sup>201</sup> Ziegler, F. E.; Fowler, K. W.; Rodgers, W. B.; Wester, R. T. *Organic Syntheses*; Wiley: New York, 1993; Collect. Vol. VIII, 586-592.

Azida	Alquino	Producto	Condi- ciones <sup>a</sup>	Tiempo de reacción	Rend. %
307	319	 320	A	26 min.	53
307	69	 321	E	24 min.	92
307	67	 322	C	30 min.	85
			E	30 min.	88
316	67	 323	E	15 min.	99
318	67	 324	E	180 min.	97
			F	5 h.	80

**Tabla 8.** Condiciones: (A)  $(\text{Ph}_3\text{P})_3 \cdot \text{CuBr}$ , tolueno, MW; (B)  $(\text{Ph}_3\text{P})_3 \cdot \text{CuBr}$ , DIPEA, tolueno, MW; (C)  $(\text{Ph}_3\text{P})_3 \cdot \text{CuBr}$ , DBU, tolueno, MW; (D)  $(\text{Ph}_3\text{P})_3 \cdot \text{CuBr}$ , CuI, DIPEA, tolueno, MW; (E)  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$ , DIPEA, tolueno, MW; (F)  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$ , DIPEA, tolueno, reflujo; (G)  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$ , DIPEA, DMF, MW.

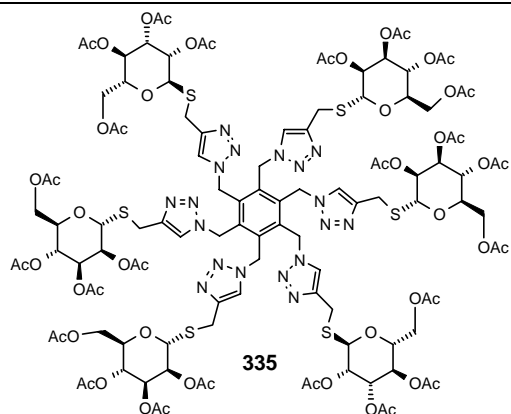
Azida	Alquino	Producto	Condi- ciones <sup>a</sup>	Tiempo de reacción	Rend. %
308	67	 325	E	20 min.	77
309	69	 326	B	12 min.	74
309	67	 327	B C	20 min. 20 min.	0 68
310	69	 328	B F	8 min. 6 h.	80 81
310	67	 329	E C	12 min. 12 min.	83 86
311	69	 330	B	8 min.	90
311	67	 331	C	12 min.	75

**Tabla 9.** Condiciones: (A)  $(\text{Ph}_3\text{P})_3 \cdot \text{CuBr}$ , tolueno, MW; (B)  $(\text{Ph}_3\text{P})_3 \cdot \text{CuBr}$ , DIPEA, tolueno, MW; (C)  $(\text{Ph}_3\text{P})_3 \cdot \text{CuBr}$ , DBU, tolueno, MW; (D)  $(\text{Ph}_3\text{P})_3 \cdot \text{CuBr}$ , CuI, DIPEA, tolueno, MW; (E)  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$ , DIPEA, tolueno, MW; (F)  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$ , DIPEA, tolueno, reflujo; (G)  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$ , DIPEA, DMF, MW.

Azida	Alquino	Producto	Condi- ciones <sup>a</sup>	Tiempo de reacción	Rend. %
312	67	<p style="text-align: center;"><b>332</b></p>	E	20 min.	78
313	67	<p style="text-align: center;"><b>333</b></p>	E	24 min.	77
314	69	<p style="text-align: center;"><b>334</b></p>	B	30 min.	58

314

67



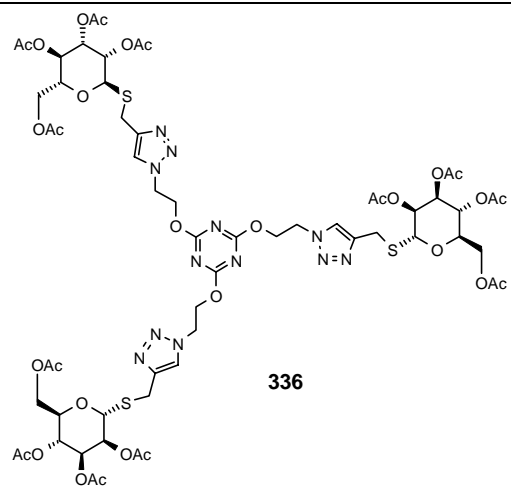
G

40 min.

65

315

67



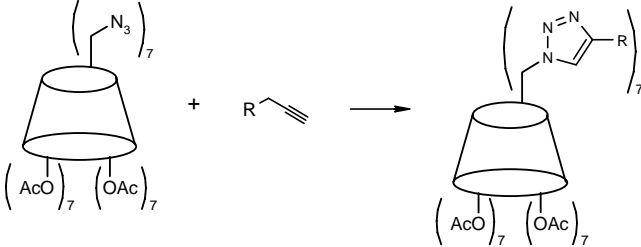
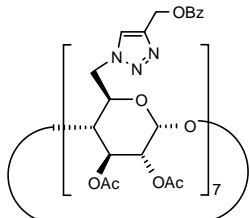
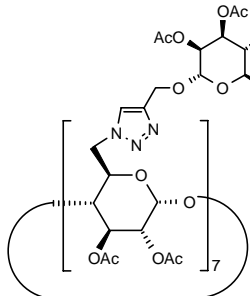
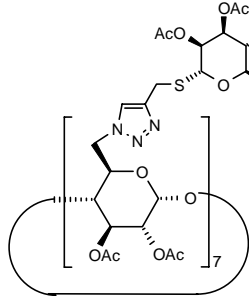
E

10 min.

84

**Tabla 10.** Condiciones: (A)  $(\text{Ph}_3\text{P})_3 \cdot \text{CuBr}$ , tolueno, MW; (B)  $(\text{Ph}_3\text{P})_3 \cdot \text{CuBr}$ , DIPEA, tolueno, MW; (C)  $(\text{Ph}_3\text{P})_3 \cdot \text{CuBr}$ , DBU, tolueno, MW; (D)  $(\text{Ph}_3\text{P})_3 \cdot \text{CuBr}$ , CuI, DIPEA, tolueno, MW; (E)  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$ , DIPEA, tolueno, MW; (F)  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$ , DIPEA, tolueno, reflujo; (G)  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$ , DIPEA, DMF, MW.



Azida	Alquino	Producto	Condi- ciones <sup>a</sup>	Tiempo de reacción	Rend. %
					
317	319		B	53 min.	74
317	69		B D E	30 min. 30 min. 30 min.	mezcla 89 94
317	67		E	30 min.	73

**Tabla 11.** Condiciones: (A)  $(\text{Ph}_3\text{P})_3 \cdot \text{CuBr}$ , tolueno, MW; (B)  $(\text{Ph}_3\text{P})_3 \cdot \text{CuBr}$ , DIPEA, tolueno, MW; (C)  $(\text{Ph}_3\text{P})_3 \cdot \text{CuBr}$ , DBU, tolueno, MW; (D)  $(\text{Ph}_3\text{P})_3 \cdot \text{CuBr}$ , CuI, DIPEA, tolueno, MW; (E)  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$ , DIPEA, tolueno, MW; (F)  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$ , DIPEA, tolueno, reflujo; (G)  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$ , DIPEA, DMF, MW.

Los datos que aparecen en las tablas anteriores nos permiten obtener abundante información de las reacciones catalizadas por sales de cobre solubles en disolventes orgánicos.

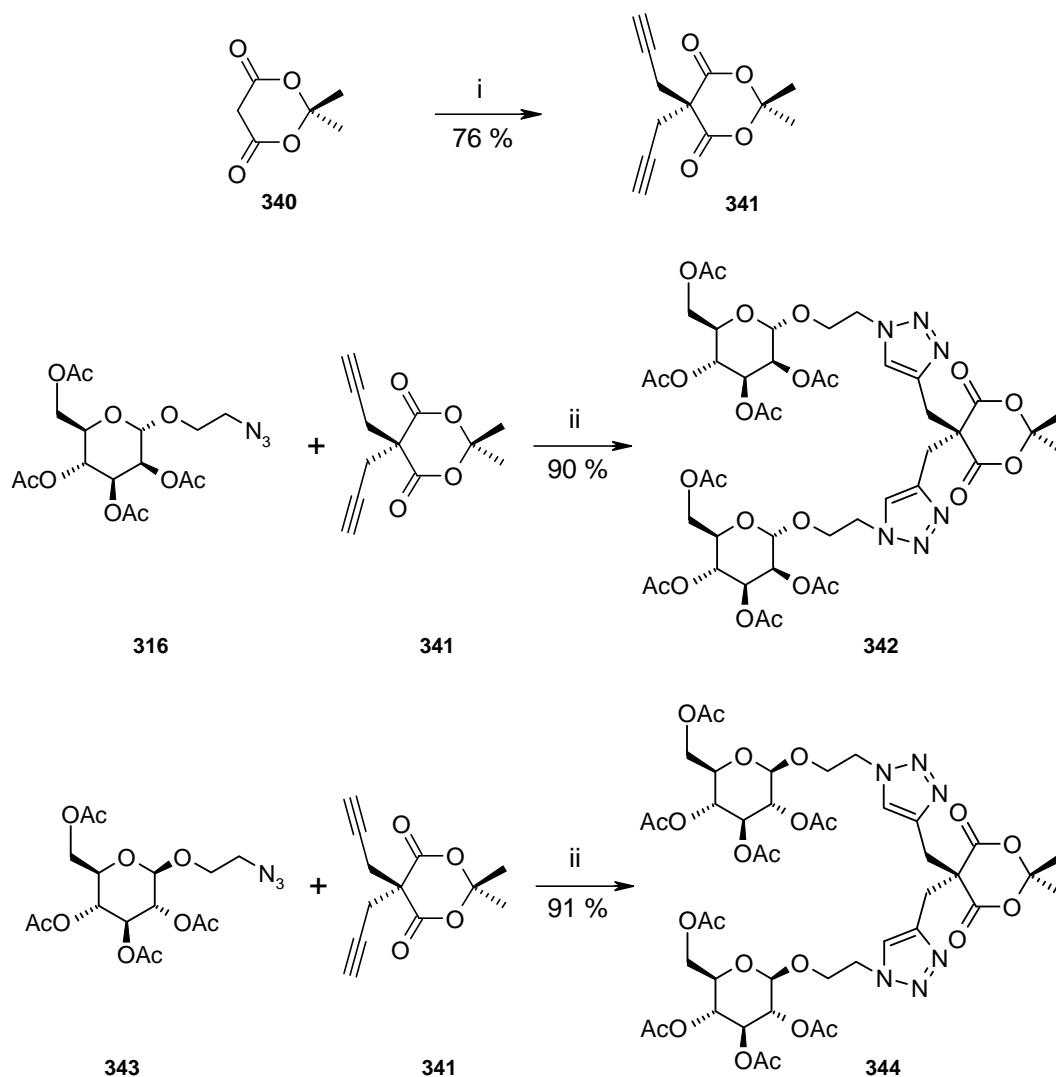
Las condiciones más adecuadas para la reacción de propargil 1-tiomanósidos con azidas son el empleo del catalizador  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$  y DIPEA como base o el empleo de DBU como base junto a  $(\text{Ph}_3\text{P})_3 \cdot \text{CuBr}$  como catalizador. En estas condiciones la reacción de cicloadición transcurre de forma general con unos tiempos de reacción entre 10 y 30 minutos y unos rendimientos que oscilan entre buenos y excelentes. Existen excepciones como la reacción de cicloadición entre el propargil tiomanósido **67** y la mono-6-azido-6-desoxi-ciclodextrina **318** cuya velocidad de reacción resulta muy inferior, finalizando tras 180 minutos de irradiación. Esta misma reacción realizada en condiciones térmicas resulta también muy lenta observándose que tras 5 horas de reacción se obtiene un rendimiento del 80 % bastante más bajo al conseguido cuando se irradia con microondas. El empleo de  $(\text{Ph}_3\text{P})_3 \cdot \text{CuBr}$  en presencia de DIPEA no resulta efectivo en el caso de propargiltiomanósidos como se puede observar en la reacción entre **67** y **309**.

En el caso del propargil manósido **69** y benzoato de propargilo, ambos catalizadores poseen una capacidad catalítica muy similar cuando se emplea DIPEA como base. Como única excepción encontramos el caso de la per-6-azido-6-desoxi- $\beta$ -ciclodextrina **317**, en el que, a igual tiempo de reacción, se obtiene una mezcla compleja de productos de parcial reacción cuando el catalizador empleado es  $(\text{Ph}_3\text{P})_3 \cdot \text{CuBr}$ . Parece ser que en este caso la velocidad de reacción es sensiblemente menor. La adición de CuI como co-catalizador permite la aceleración de la misma con lo que se obtiene el producto **338** con rendimientos y en tiempos de reacción similares a cuando se emplea como catalizador  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$  junto a DIPEA.

Por último destacar que, como se comprobará a continuación, si bien es posible realizar las reacciones en ausencia de base, cuando se emplea  $(\text{Ph}_3\text{P})_3 \cdot \text{CuBr}$  como catalizador el rendimiento de la reacción es bajo como podemos observar en el caso del producto **320**.

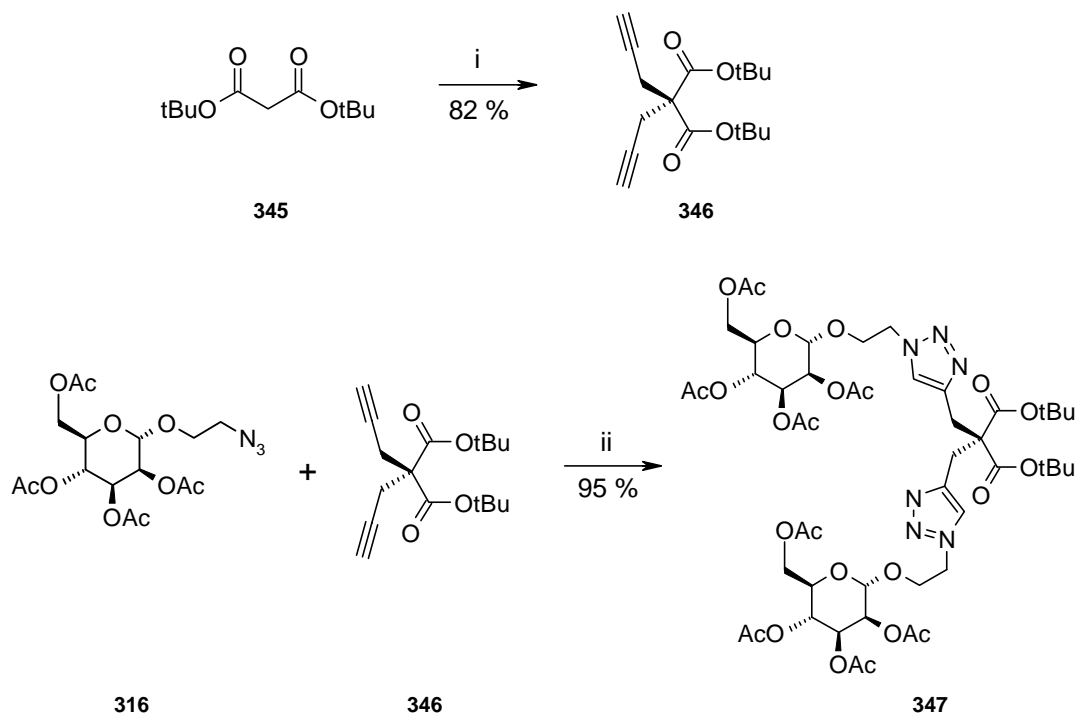
La reacción de formación de triazoles 1,4-disustituidos puede ser también empleada en la síntesis de glicodendrimeros. Nos proponemos la síntesis de dendrones basados en triazoles que contengan grupos funcionales susceptibles de reaccionar con andamios para formar los citados dendrimeros. Como se ha visto en el capítulo I, la reacción más comúnmente empleada para la formación de glicodendrimeros es la de formación de amidas. El empleo de glicodendrones que contengan un grupo ácido carboxílico permite la formación de gran variedad de glicodendrimeros de muy diferente grado de complejidad mediante el empleo, como andamio, de las numerosas clases de poliaminas existentes en el mercado, desde las menos complejas como pueden ser las diferentes diaminas o la tris(aminoetil)amina hasta las de mayor complejidad como las de tipo PAMAM y DAB-Am (véase figura 14 en página 25).

Creemos que los dialquinos **341** y **346** pueden ser intermedios de gran utilidad para la síntesis de los citados glicodendrimeros. El dialquino **341** se obtiene con facilidad y alto rendimiento a partir del ácido de Meldrum (**340**) en un solo paso como muestra el esquema 84. La cicloadición de **341** con azidoetilglicósidos como **316** y **343**<sup>199</sup> permite obtener respectivamente los productos **342** y **344** con excelentes rendimientos sin que sea necesario el empleo de base alguna.



**Esquema 84.** Condiciones: i)  $\text{BrCH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$ ,  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , DMF, t. a., 4h.; ii)  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$ , tolueno, reflujo, 4h.

Por su parte el dialquino **346** obtenido a partir de malonato de di-*tert*-butilo (**345**) con buenos rendimientos reacciona con **316** en presencia de  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$  para dar lugar al compuesto **347** con excelente rendimiento también en ausencia de base.



**Esquema 85.** Condiciones: i)  $\text{BrCH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$ ,  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , DMF, 50 °C, 12h.; ii)  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$ , tolueno, reflujo, 2h.

Mediante la descarboxilación<sup>202</sup> de los compuestos **342**, **344** y **347** se obtendrán los correspondientes ácidos carboxílicos que pueden actuar a modo de dendrones en la síntesis de glicodendrimeros.

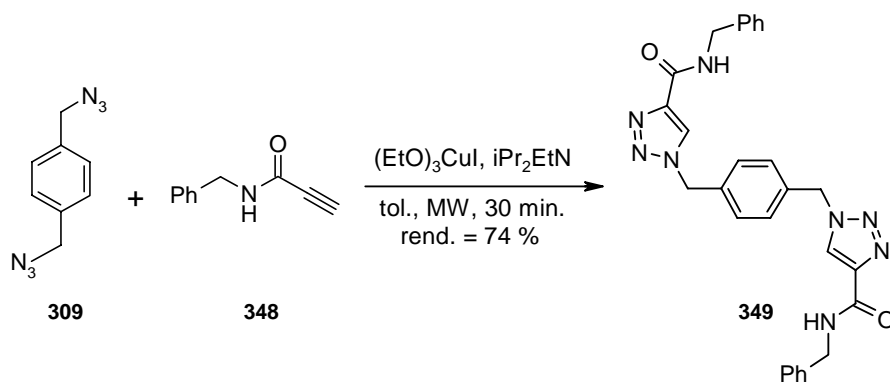
### Otras aplicaciones de la reacción de cicloadición de azidas y alquinos

Una vez comprobado que estos catalizadores resultan adecuados para la obtención de glicoconjugados se procedió a evaluar la capacidad catalítica de estas sales de cobre en reacciones de cicloadición en otros tipos de sustancias. Las amidas acetilénicas han demostrado ser poco reactivas en cicloadiciones 1,3-dipolares, Katritzky y col.<sup>203</sup> publicaron un estudio de la reactividad de dichos alquinos en reacciones de cicloadición no catalizadas y en estas condiciones no fue posible llevar a cabo la adición de dos amidas acetilénicas a la azida **309**, obteniendo únicamente el producto que contiene una sola unidad de triazol. Decidimos realizar la reacción de la azida **309** con *N*-bencil-2-propinamida **348**<sup>203</sup> y comprobamos que en presencia de  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$  y DIPEA e irradiación con microondas el 1,4-bis(azidometil)benceno sufre la cicloadición de dos unidades de alquino dando el producto **349** con buenos rendimientos en cortos periodos de tiempo (esquema 86).

<sup>202</sup> a) Helavi, V. B.; Solabannavar, S. B.; Desai, U. V.; Mane, R. B *J. Chem. Res., Synop.* **2003**, 174-175.

b) Benschafut, R.; Haran, A.; Shvarts, D.; Schneider, B. *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 4040-4044.

<sup>203</sup> Katritzky, A. R.; Singh, S. K. *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 9077-9079.



Esquema 86.

Desde hace tiempo es bien conocida la capacidad de las ciclodextrinas para complejar moléculas apolares en agua aumentando su solubilidad. Este hecho a promovido el empleo de ciclodextrinas en la formulación de diversos medicamentos comerciales con el fin de mejorar la solubilidad y en ocasiones la estabilidad del principio activo de los mismos. Esta capacidad complejante se une a la capacidad de ciertos derivados de ciclodextrina para actuar como enzimas mímicos. En muchos casos, sin embargo, las constantes de afinidad del complejo formado son muy bajas y además estos complejos poseen en muchas ocasiones una flexibilidad excesiva para permitir a estas ciclodextrinas actuar como enzimas mímicos ideales. Los dímeros de ciclodextrina solucionan buena parte de estos problemas al estar la molécula apolar mucho más protegida del medio acuoso.<sup>204</sup> Estos hechos han posibilitado el empleo de numerosas ciclodextrinas como eficientes complejantes de sustancias tales como esteroides<sup>205</sup> incluyendo colesterol,<sup>206</sup> diversos fluoróforos por ejemplo derivados del ácido 6-(*p*-toluidino)-2-naftalensulfónico (TNS)<sup>207</sup> y otros compuestos apolares como aquellos que contienen restos *terc*-butilo<sup>204</sup> y adamantilo.<sup>208</sup> También han sido empleadas como enzimas mímicos en procesos tales como rotura de carotenoides,<sup>209</sup> plegado de oligopéptidos<sup>210</sup> o hidrólisis de ésteres fenólicos.<sup>211</sup>

La síntesis de bis-ciclodextrinas suele realizarse a partir de los correspondientes monómeros hidroxilados, aunque, por lo general, el rendimiento de estas reacciones

<sup>204</sup> Breslow, R.; Halfon, S.; Zhang, B. *Tetrahedron* **1995**, *51*, 377-388.

<sup>205</sup> a) Liu, Y.; Song, Y.; Chen, Y.; Li, X.-Q.; Ding, F.; Zhong, R.-Q. *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 3685-3696.

b) Liu, Y.; Yang, Y.-W.; Yang, E.-C.; Guan, X.-D. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 6590-6602.

<sup>206</sup> Breslow, R.; Zhang, B. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 8495-8496.

<sup>207</sup> Venema, F.; Nelissen, H. F. M.; Berthault, P.; Birlirakis, N.; Rowan, A. E.; Feiters, M. C.; Nolte, R. J. M. *Chem. Eur. J.* **1998**, *4*, 2237-2250.

<sup>208</sup> Zang, B.; Breslow, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 9353-9354.

<sup>209</sup> a) French, R. R.; Holzer, P.; Leuenberger, M. G.; Woggon, W.-D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 1267-1269.

b) French, R. R.; Holzer, P.; Leuenberger, M. G.; Nold, M. C.; Woggon, W.-D. *J. Inorg. Biochem.* **2002**, *88*, 295-304.

<sup>210</sup> Wilson, D.; Perlson, L.; Breslow, R. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 2649-2653.

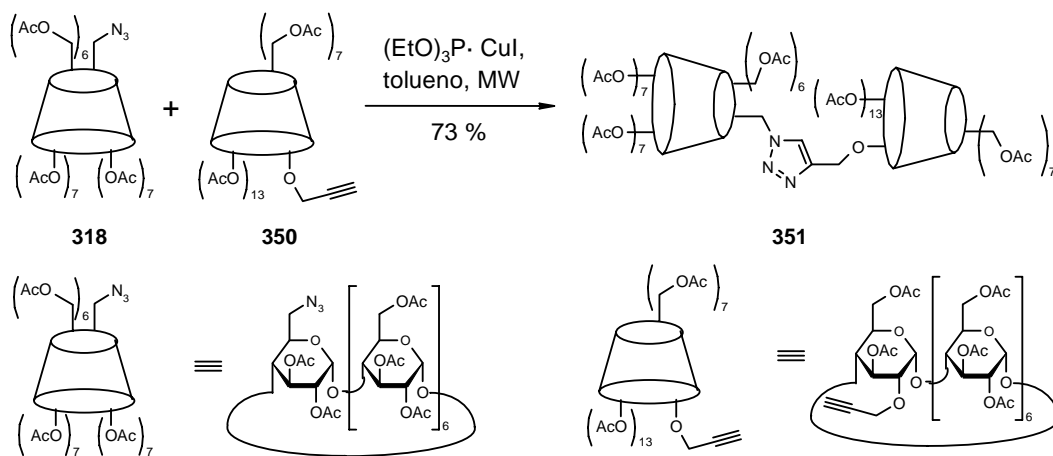
<sup>211</sup> a) Zang, B.; Breslow, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 1676-1681.

b) Yang, J.; Breslow, R. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 2059-2062.

no supera el 30 % y además, el hecho de emplear ciclodextrinas hidroxiladas dificulta la separación de estos productos. El empleo de ciclodextrinas con los hidroxilos protegidos permite la obtención de las bis-ciclodextrinas con rendimientos que generalmente oscilan entre buenos y excelentes aunque en algunos casos pueden ser sorprendentemente bajos.<sup>212</sup> La protección de los hidroxilos primarios con grupos *tert*-butildimetilsililo ha sido empleada en numerosas ocasiones<sup>213</sup> para la síntesis de bis-ciclodextrinas unidas a través de la cara secundaria. Para las bis-ciclodextrinas unidas a través de la cara primaria, pueden ser empleadas ciclodextrinas de partida con los hidroxilos convenientemente protegidos por grupos bencilo<sup>214</sup> o acetato.<sup>212</sup>

Respecto a las formas de las que están unidas las ciclodextrinas, estas han sido unidas usualmente a través de la cara primaria de ambas o a través de la cara secundaria de las mismas, una opción poco usual es la unión cara primaria-cara secundaria de ciclodextrinas que, salvo subproductos formados en otras síntesis,<sup>211b</sup> han sido obtenidas en raras ocasiones.<sup>215</sup>

El uso de cicloadiciones 1,3-dipolares de alquinos y azidas nos ha permitido obtener una bis-ciclodextrina unida a través de la cara primaria de una de ellas y la cara secundaria de la otra. Para ello llevamos a cabo la reacción de 6-azido-6-desoxi-CD **318** con 2-*O*-propargil- $\beta$ -ciclodextrina **350** amablemente suministrada por Vargas-Berenguel y col. con lo que se obtiene la bis-ciclodextrina **351** con buenos rendimientos.



Esquema 87.

<sup>212</sup> Charbonnier, F.; Marsura, A.; Pintér, I. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 6581-6583.

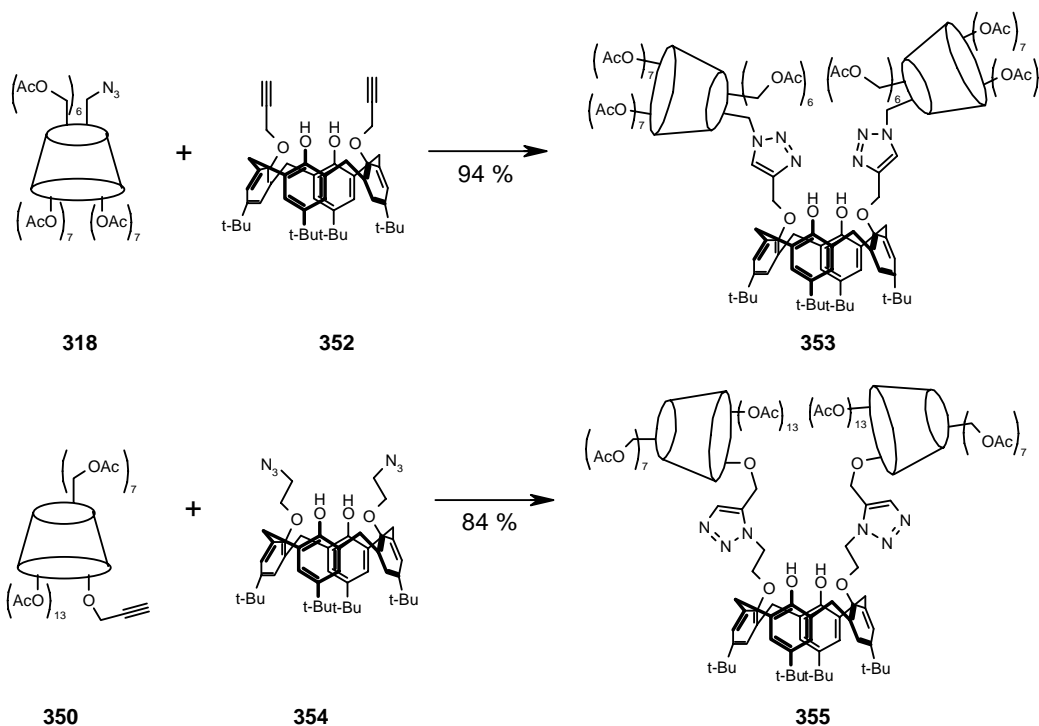
<sup>213</sup> a) Venema, F.; Baselier, C. M.; van Dienst, E.; Ruël, B. H. M.; Feiters, M. C.; Engbersen, J. F. J.; Reinhoudt, D. N.; Nolte, R. J. M. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 1773-1776.

b) Mulder, A.; Jukovic, A.; Lucas, L. N.; van Esch, J.; Feringa, B. L.; Huskens, J.; Reinhoudt, D. N. *Chem. Commun.* **2002**, 2734-2735.

<sup>214</sup> Lecourt, T.; Mallet, J.-M.; Sinaý, P. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 5533-5536.

<sup>215</sup> Okabe, Y.; Yamamura, H.; Obe, K.-i.; Ohta, K.; Kawai, M.; Fujita, K. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1995**, 581-582.

Los sistemas mixtos compuestos por una unidad de calixareno y dos unidades de ciclodextrina son compuestos con una elevada capacidad para solubilizar en disolventes acuosos sustancias apolares cuya estructura se adapte a la geometría de estos sistemas mixtos como el violeta de cristal.<sup>216</sup> Interesados en la síntesis de tales sistemas mixtos llevamos a cabo la reacción de la ciclodextrina **318** con el dipropargilcalix[4]areno **352** previamente sintetizado por nuestro grupo de investigación<sup>42</sup> con lo que se obtiene **353** con excelente rendimiento. Se trata de un sistema mixto calix[4]areno bis-ciclodextrina en el que las unidades de ciclodextrina se encuentran unidas al calixareno a través de la cara primaria. Para obtener un sistema en el que las unidades de ciclodextrina se encuentren unidas al calixareno por su cara secundaria llevamos a cabo la reacción entre mono-2-O-propargil derivado de ciclodextrina **350** y diazidoetil derivado del calix[4]areno **354**<sup>42</sup> que permite la obtención de **355** con buen rendimiento.

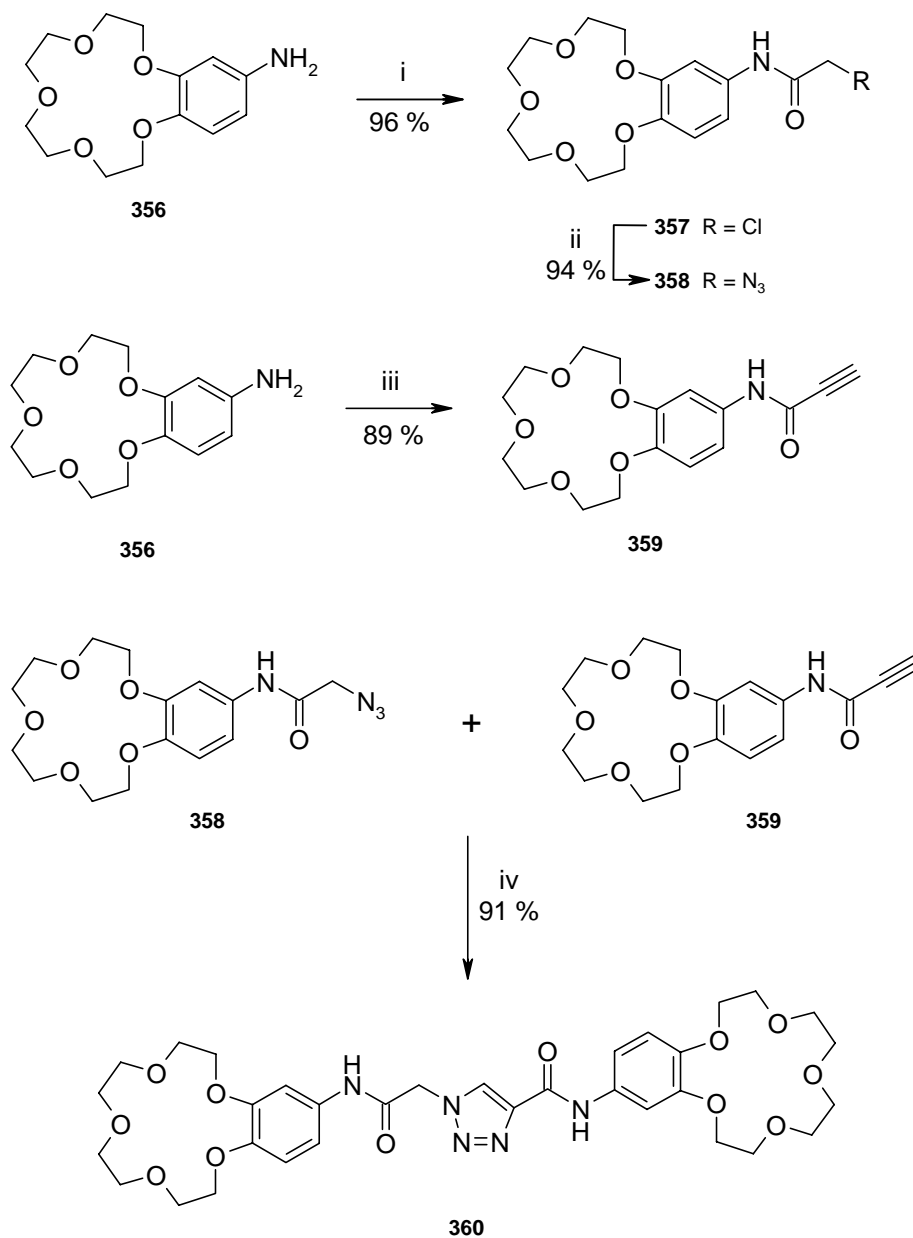


Esquema 88. Condiciones:  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$ , tolueno, MW.

Otro área de interés para nuestro grupo de investigación es la síntesis de sistemas diméricos de éteres corona, especialmente los que contienen un fluoróforo ya que creemos que pueden actuar como sensores catiónicos. Como parte del estudio previo destinado a la síntesis de tales compuestos vamos a proceder a la síntesis del bis-éter corona **360** por cicloadiación de los éteres corona **358**, que posee una función azida, y

<sup>216</sup> Liu, Y.; Chen, Y.; Li, L.; Huang, G.; You, C.-C.; Zhang, H.-Y.; Wada, T.; Inoue, Y. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 7209-7215.

**359**, que posee una función alquino. La reacción de las mismas realizada en DMF empleando como catalizador  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$  y DIPEA como base permite obtener el deseado producto **360** con elevados rendimientos. Este compuesto resulta ser sorprendentemente insoluble en disolventes orgánicos apolares siendo en cambio muy soluble tanto en disolventes orgánicos polares como en las mezclas de estos con agua.

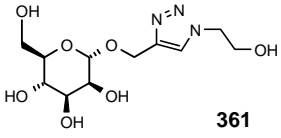
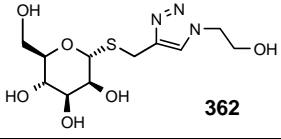
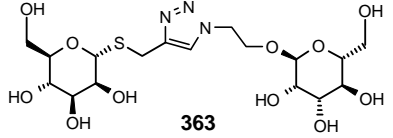
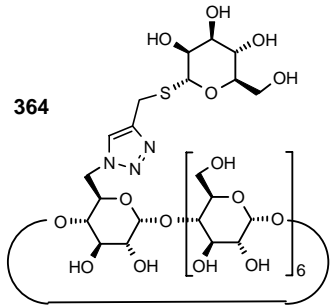
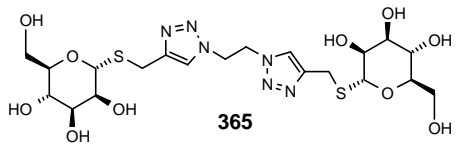
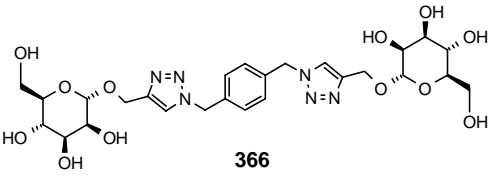
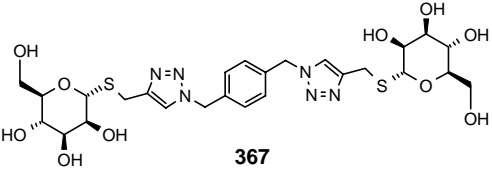


**Esquema 89.** Condiciones: (i)  $(\text{ClCH}_2\text{CO})_2\text{O}$ , AcOEt, t. a. ; (ii)  $\text{NaN}_3$ , DMF, 100 °C; (iii)  $\text{HC}\equiv\text{CCOOH}$ , DCC,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , t. a.; (iv)  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$ , DIPEA, DMF, MW, 8 min.

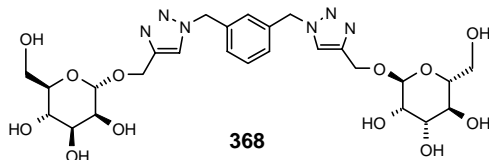


## Desacetilación de los glicoconjugados 321-336 y 339

La desacetilación de los glicoconjugados anteriormente sintetizados se realiza mediante condiciones de Zemplen (tabla 12) con unos rendimientos que oscilan entre buenos y excelentes.

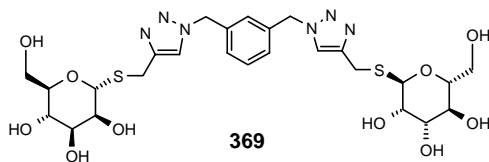
Acetilado	Desacetilado	Rendimiento
321	 361	82 %
322	 362	93 %
323	 363	100 %
324	 364	98 %
325	 365	79 %
326	 366	100 %
327	 367	71 %

328



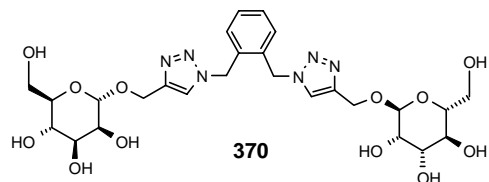
78 %

329



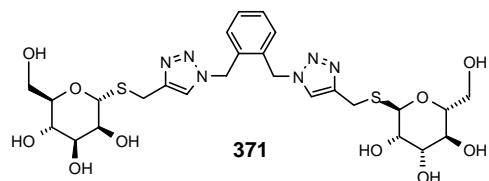
80 %

330



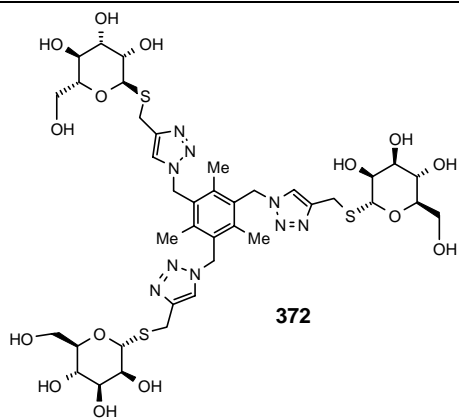
75 %

331



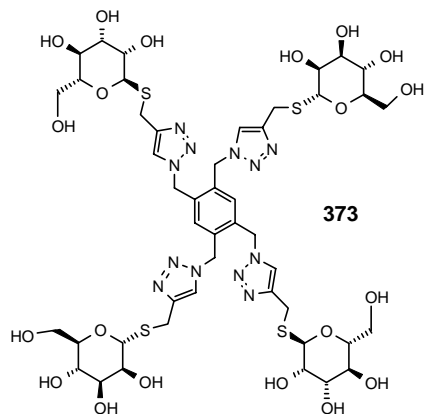
100 %

332



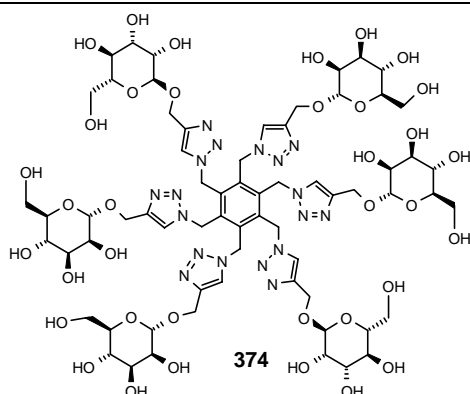
95 %

333



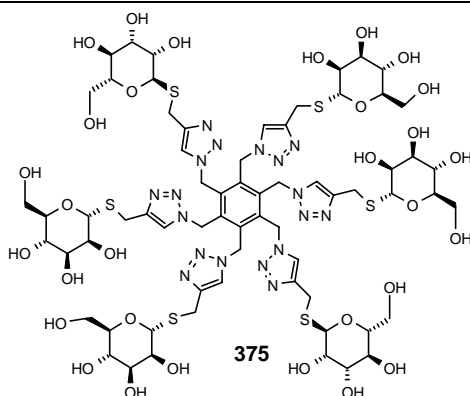
86 %

334



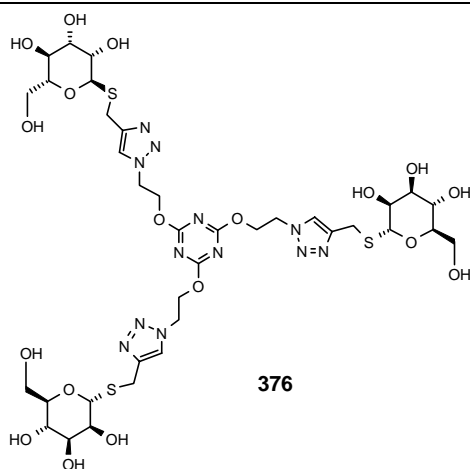
92 %

335



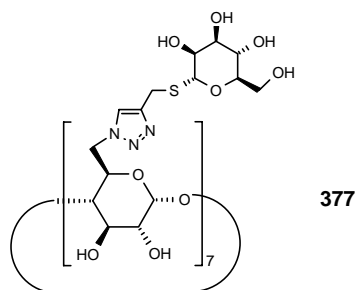
82 %

336



85 %

339



92 %

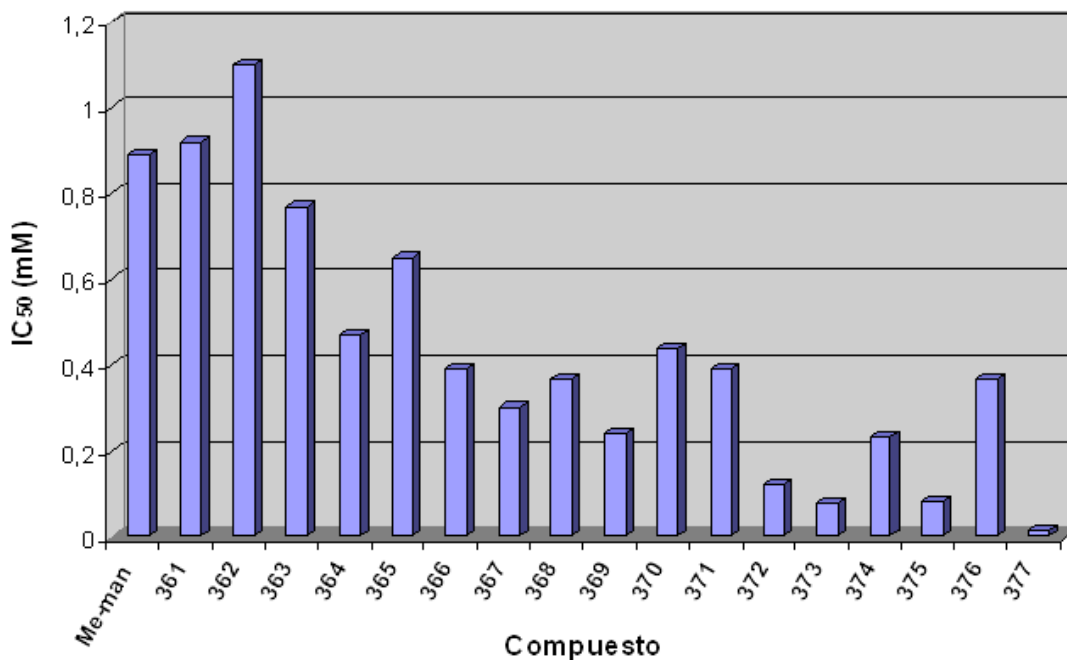
Tabla 12. Condiciones: NaOMe, MeOH, pH 9-10, t. a.

### Ensayos de afinidad de los glicoconjugados 361-377 por *concanavalina A*

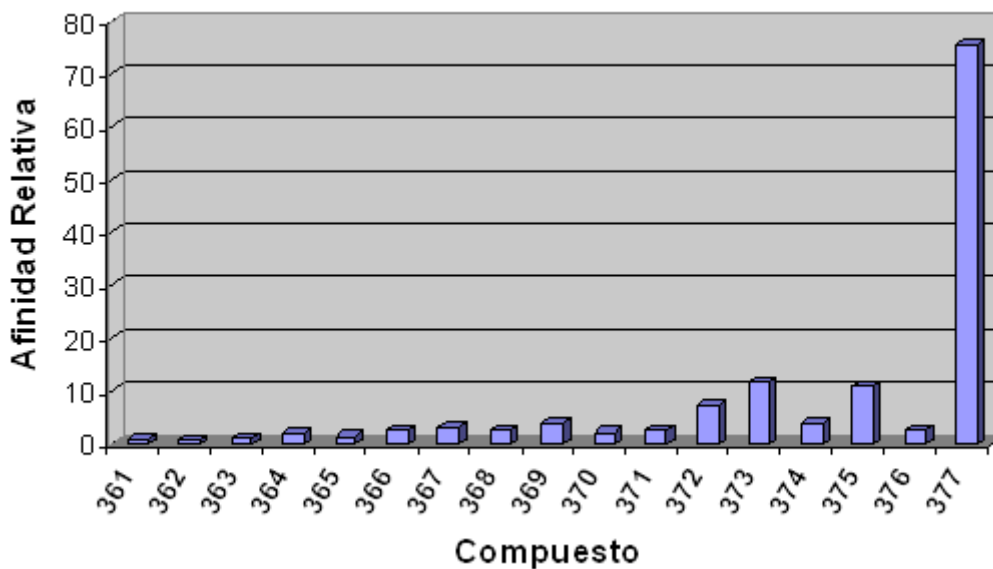
La capacidad de unión de estos productos desacetilados a la lectina *concanavalina A* marcada con peroxidasa de rábano picante (ConA-HRP) ha sido evaluada mediante inhibición competitiva de la unión de esta lectina a manano mediante la técnica de ELLA. La referencia empleada ha sido metil  $\alpha$ -D-manopiranosido (Me-man). La siguiente tabla resume los resultados de la misma.

Producto	IC <sub>50</sub> (mM)	Afinidad Relativa	Nº de Azúcares	Afinidad relativa/azúcar
Me-man	0.89	1	--	--
361	0.92	0.97	1	0.97
362	1.10	0.81	1	0.81
363	0.77	1.16	2	0.58
364	0.47	1.89	1	1.89
365	0.65	1.36	2	0.68
366	0.39	2.28	2	1.14
367	0.30	2.94	2	1.47
368	0.37	2.41	2	1.21
369	0.24	3.66	2	1.83
370	0.44	2.04	2	1.02
371	0.39	2.27	2	1.13
372	0.12	7.3	3	2.43
373	0.076	11.6	4	2.9
374	0.23	3.84	6	0.64
375	0.082	10.8	6	1.8
376	0.37	2.4	3	0.8
377	0.012	75.7	7	10.81

**Tabla 13.** Datos del ensayo ELLA de inhibición de la unión de ConA-HRP a manano con los neoglicoconjugados multivalentes.



**Figura 29.** Inhibición del 50 % de unión de manano a ConA-HRP mediante los diferentes neoglicoconjugados.



**Figura 30.** Afinidad relativa de los diferentes neoglicoconjugados tomando como referencia metil  $\alpha$ -D-manopiranosido.

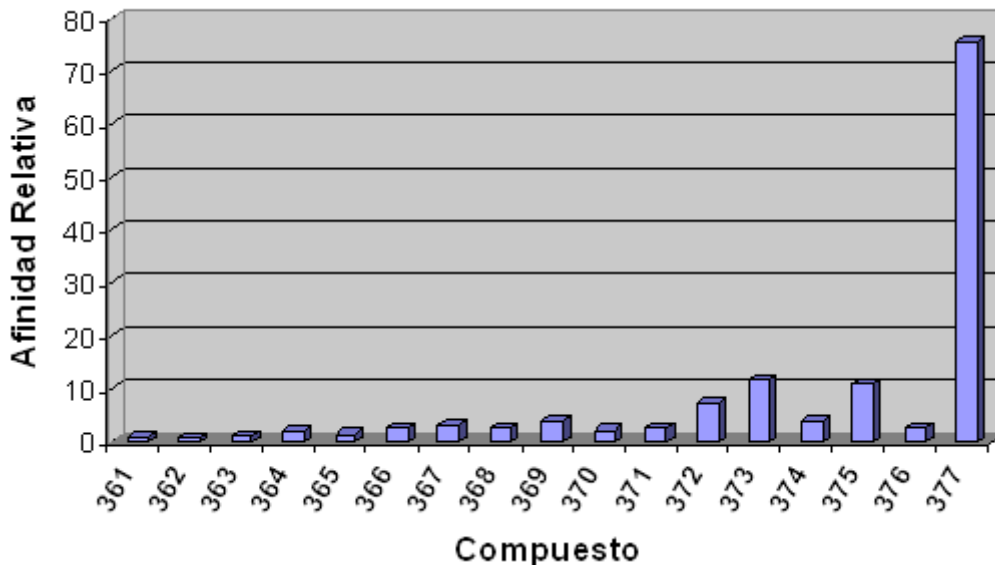


Figura 31. Afinidad relativa por unidad de monosacárido de los neoglicoconjugados.

En los datos reflejados en la tabla y las gráficas se observa que, en general, los neoglicoconjugados basados en tioglicósidos poseen una afinidad mayor que los análogos basados en *O*-glicósidos, como excepción en los sistemas monoméricos la afinidad relativa del producto **361** es menor que la de su análogo **362**.

En sistemas divalentes los compuestos basados en andamios aromáticos poseen una afinidad por la ConA-HRP superior a los sistemas basados en andamios alifáticos y que, por tanto, son menos rígidos. Esto puede ser debido tanto a la mayor rigidez de los primeros como a la posibilidad de formación de interacciones secundarias del grupo aromático con aminoácidos hidrofóbicos situados en la superficie de la lectina.

También destacar que en sistemas divalentes aromáticos la afinidad aumenta siguiendo el orden *orto* < *para* < *meta*.

Los sistemas basados en ciclodextrinas poseen una afinidad alta, tanto para compuestos con un solo resto manosa como para las ciclodextrinas per-glicosiladas en la cara primaria de la misma.

Por último, un estudio de los sistemas que contienen restos de tiomanósido basados en andamios aromáticos (figura 32) nos permite concluir que existe un aumento de afinidad relativa por resto de azúcar al aumentar el número de estos restos de azúcar hasta llegar al compuesto **375** en el que esta afinidad relativa desciende bruscamente. Este hecho está de acuerdo con la existencia de un efecto cluster multivalente, el descenso de afinidad del compuesto **375** así como de su análogo **374** puede ser debido a la gran congestión estérica de estos sistemas.

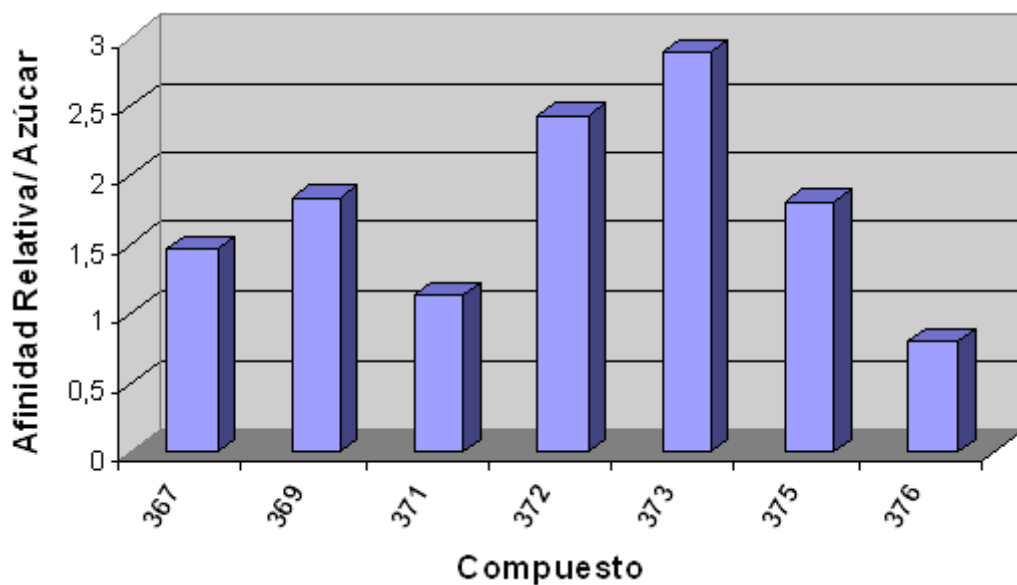


Figura 32. Afinidad relativa por resto de azúcar de los compuestos basados en tiomanósidos.





**IV. Nuevos procedimientos de síntesis de  
neoglicoconjugados empleando  
glicosil vinilsulfonas**



## Antecedentes

### Síntesis de vinilsulfonas terminales

La síntesis de vinilsulfonas terminales suele llevarse a cabo a partir de 2-haloetilíóteres siguiendo tres posibles estrategias:

- Reacción de eliminación para dar lugar a tioéteres vinílicos que posteriormente son oxidados a vinilsulfonas<sup>217</sup> (esquema 90 a).
- Oxidación previa de estos 2-haloetilíóteres y posterior deshidrohalogenación de la 2-haloetilsulfona<sup>218</sup> (esquema 90 b).
- Por último, las reacciones de oxidación y la de eliminación pueden ser llevadas a cabo en un solo paso<sup>219</sup> (esquema 90 c).

Dado que el grupo sulfona es un grupo fuertemente electrón atrayente la reacción de deshidrohalogenación se ve favorecida por lo que la base empleada puede ser de tipo débil, por ejemplo trietilamina. En el caso de 2-haloetilíóteres es preciso emplear

---

<sup>217</sup> a) Carr, R. V. C.; Williams, R. V.; Paquette, L. A. *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 4976-4986.

b) Barton, D. H. R.; Li, W.; Smith, J. A. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 7055-7058.

c) Alonso, D. A.; Nájera, C.; Varea, M. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 3459-3461.

d) Choudary, B. M.; Bharathi, B.; Reddy, C. V.; Kantam, M. L. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **2002**, 209-2074.

e) Baciocchi, E.; Gerini, M. F.; Lapi, A. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 3586-3589.

<sup>218</sup> a) Brace, N. O. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 4506-4508.

b) Bera, S.; Sakthivel, K.; Pathak, T.; Langley, G. J. *Tetrahedron* **1995**, *51*, 7857-7866.

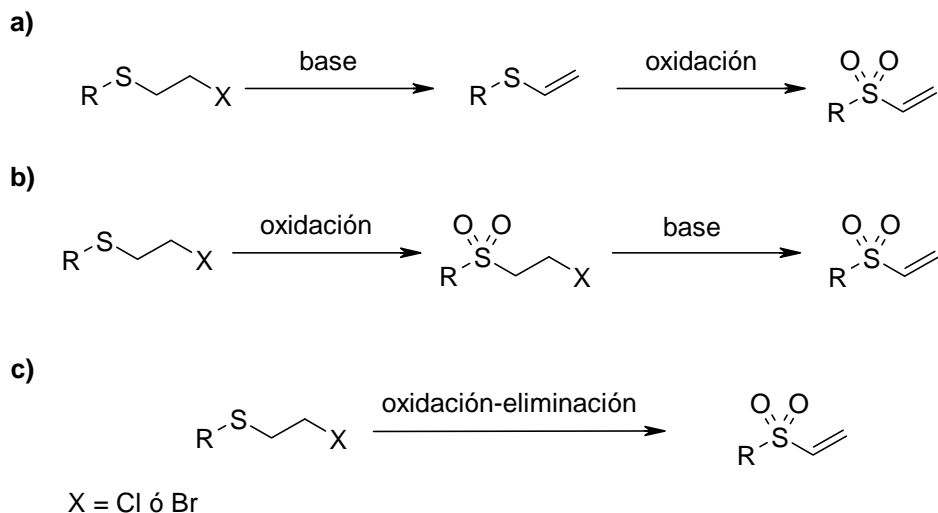
c) Barker, J. E.; Ren, T. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 4681-4683.

d) Temmen, O.; Uguen, D.; De Cian, A.; Gruber, N. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 3175-3179.

e) Block, E.; Jeon, H. R.; Putman, D.; Zhang, S.-Z. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 7525-7541.

<sup>219</sup> Krishna, P. R.; Lavanya, B.; Jyothi, Y.; Sharma, G. V. M. *J. Carbohydr. Chem.* **2003**, *22*, 423-431.

un alcóxido como etóxido sódico<sup>217a</sup> o *terc*-butóxido potásico<sup>220</sup> u otras bases fuertes como hidróxido potásico,<sup>221</sup> además es preferible el empleo de 2-bromoetiliosulfuros ya que el bromo es mejor grupo saliente que el cloro.



Esquema 90.

La oxidación a sulfona suele hacerse con un exceso de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en ácido acético<sup>217a, 218a</sup> aunque otros oxidantes como ácido *m*-cloroperbenzoico,<sup>218d,e</sup> HIO<sub>4</sub><sup>217b</sup> o monoperoxifitalato de magnesio<sup>218b</sup> han sido empleados con menos frecuencia. El empleo del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> presenta el atractivo de su bajo coste y su baja toxicidad junto a unos rendimientos generalmente altos, sin embargo esta reacción suele ser más lenta y para aumentar la velocidad de reacción han sido probados catalizadores como MnSO<sub>4</sub> en presencia de NaHCO<sub>3</sub><sup>217c</sup> o tetrakis(pentafluorofenil)porfirina de hierro<sup>217e</sup>. En el caso de que las reacciones de oxidación y eliminación sean realizadas en un solo paso el empleo de molibdato amónico en presencia de peróxido de hidrógeno o de ozono han resultado ser de gran utilidad.

Existen otros métodos de síntesis de vinilsulfonas terminales que han sido utilizados con menos frecuencia (esquema 91), por ejemplo mediante reacción de Peterson entre una  $\alpha$ -sililsulfona y formaldehído<sup>222</sup> se obtiene la correspondiente vinilsulfona con buenos rendimientos. También la reacción de arenosulfomercuriación de alquenos<sup>223</sup> da lugar a intermedios como **381** que mediante reacción con bromo y posterior tratamiento con trietilamina permite obtener vinilsulfonas aromáticas con

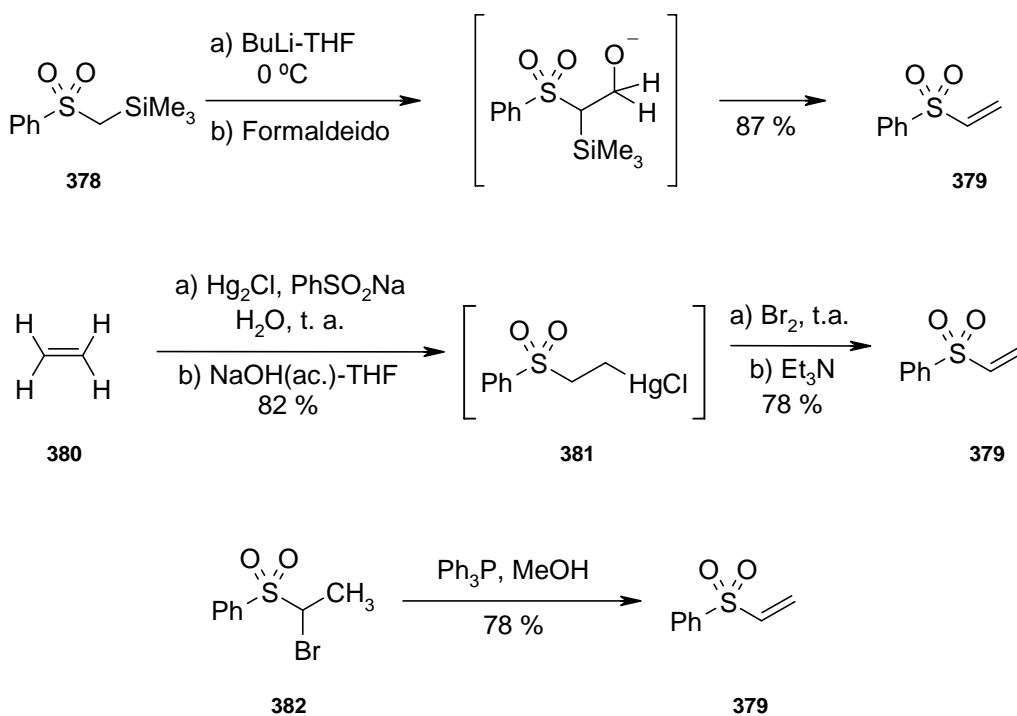
<sup>220</sup> Verboom, W.; Meijer, J.; Brandsma, L. *Synthesis* **1978**, 577-578.

<sup>221</sup> Smith, M. B. *Synth. Commun.* **1986**, *16*, 85-90.

<sup>222</sup> Ager, D. J. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1984**, 486-488.

<sup>223</sup> Sas, W. J. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1984**, 862-863.

buenos rendimientos. Por último, fenilvinilsulfona puede ser sintetizada por reacción de deshidrobromación de la (1-bromoetil)fenilsulfona **382** con trifenilfosfina.<sup>224</sup>



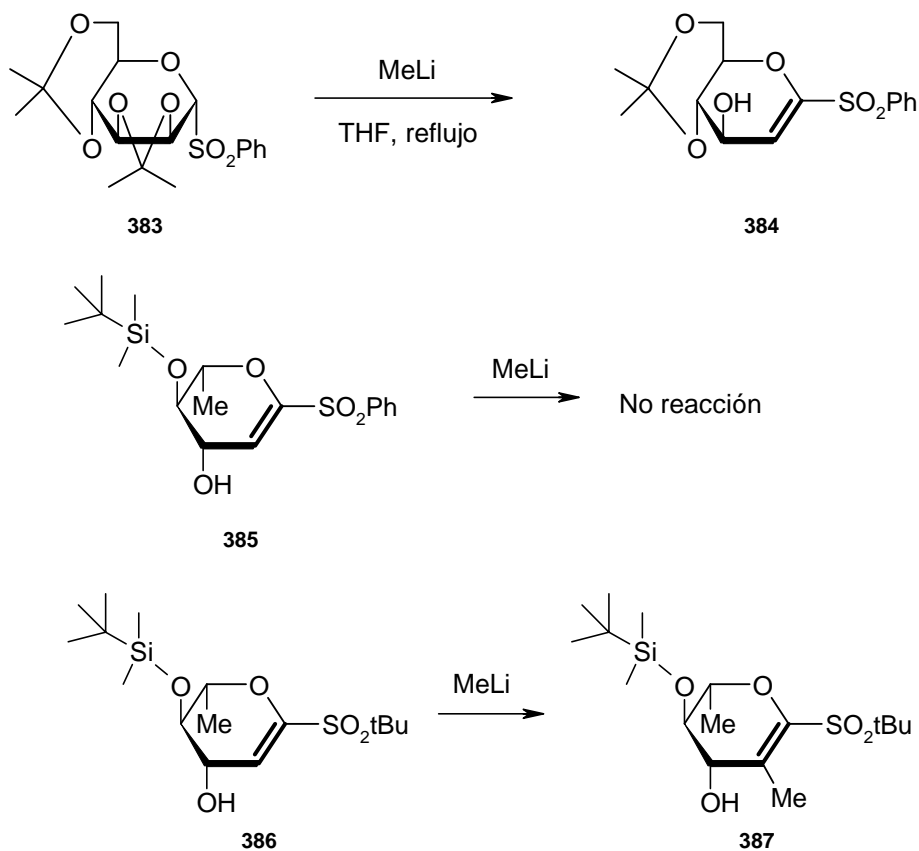
Esquema 91.

### Vinilsulfonas derivadas de azúcares

Hasta la fecha los ejemplos de síntesis y reactividad de vinilsulfonas derivadas de azúcares han sido muy escasos y la mayoría de ellos consisten en enoglicósidos que poseen una función sulfona directamente unida al doble enlace endocíclico. Así Cassidy y Williams<sup>225</sup> sintetizaron 1-fenilsulfonil glicales a partir de 2,3:4,6-di-*O*-isopropilideno-1-fenilsulfonilmanopiranosido (**383**) por reacción con metililitio. De forma similar fueron sintetizados los correspondientes derivados de ramnosa **385** y **386**. Estas dos últimas vinilsulfonas presentan una acusada diferencia de reactividad, si bien el derivado **385** no es capaz de reaccionar con MeLi el derivado **386** si reacciona para dar lugar al compuesto **387**. Los autores atribuyen esta diferencia de reactividad al menor carácter electrón atrayente de la fenilsulfona respecto a la *tert*-butilsulfona debido a la deslocalización electrónica del benceno.

<sup>224</sup> Vernon, A.; Stirling, C. J. M. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1993**, 1609-1610.

<sup>225</sup> Cassidy, J. F.; Williams, J. M. *Tetrahedron Lett.* **1986**, 27, 4355-4358.



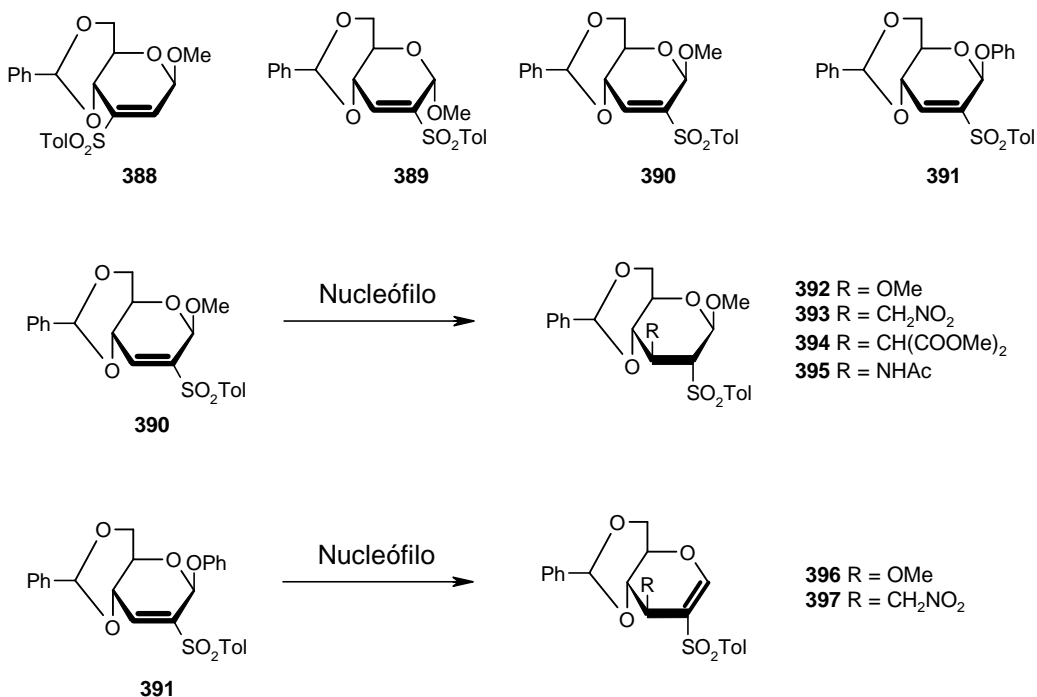
Esquema 92.

Los grupos de Sakakibara e Ishido<sup>226</sup> han sintetizado varios 2-enopiranosidos conteniendo un grupo toluensulfonil unido a C-2 o C-3 (esquema 93) y los han hecho reaccionar con diversos nucleófilos tales como  $\text{MeONa}$ , amoníaco y los carbaniones derivados de nitrometano y malonato de dimetilo.<sup>227</sup> El producto **390** sufre adición de Michael en C-3 para dar los correspondientes glicósidos en conformación  $\beta$ -gluco. Por el contrario en el azúcar **391** en el que el grupo protector del hidroxilo anomérico es un fenilo, éste actúa como grupo saliente produciéndose la eliminación del mismo una vez se adiciona el nucleófilo para dar lugar a los correspondientes glicales **396** y **397**.

<sup>226</sup> a) Sakakibara, T.; Takai, I.; Tachimori, Y.; Yamamoto, A.; Ishido, Y.; Sudoh, R. *Carbohydr. Res.* **1987**, *160*, C3-C5.

b) Sakakibara, T.; Takai, I.; Yamamoto, A.; Tachimori, Y.; Sudoh, R.; Ishido, Y. *Carbohydr. Res.* **1987**, *169*, 189-199.

<sup>227</sup> Takai, I.; Yamamoto, A.; Ishido, Y.; Sakakibara, T.; Yagi, E. *Carbohydr. Res.* **1991**, *220*, 195-207.



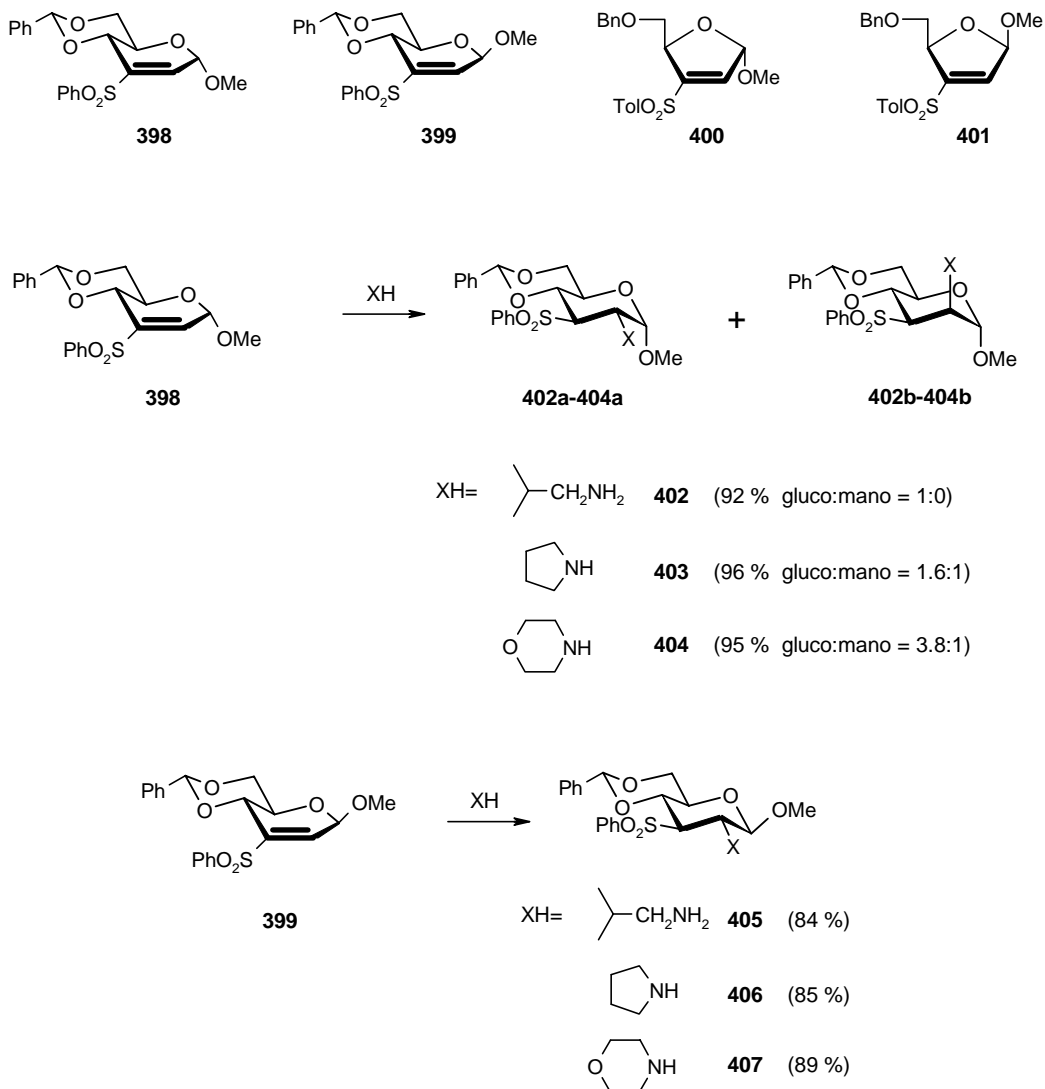
Esquema 93.

Sin duda el grupo de investigación que ha trabajado más activamente en este tipo de compuestos ha sido el dirigido por Pathak, que sintetiza algunos enopiranosidos como **398** y **399** parecidos a los sintetizados por Sakakibara y otros,<sup>226, 227</sup> así como otros 3-sulfonil-2-enopiranosidos y furanosidos<sup>228</sup> (esquema 94) para hacer un estudio sistemático de la reaccionabilidad de los mismos. La reacción de los derivados **398** y **399** con diversas aminas muestra que la adición de aminas primarias conduce a los derivados de configuración gluco independientemente de la configuración del carbono anomérico. La adición de aminas secundarias a **399** da lugar al producto de configuración gluco mientras la adición de las mismas a **398** produce mezclas del isómero de configuración gluco y del de configuración mano. La reaccionabilidad de estos compuestos con aminas ha sido aprovechada para la síntesis de estructuras similares a la D-lividocimina<sup>229</sup> que forma parte de antibióticos aminoglicosídicos tales como lividocimina-A, lividocimina-B o 3'-desoxicanamicina C, dicho método de síntesis permite la obtención de este tipo de estructuras de forma mucho más simple que los métodos publicados con anterioridad.

<sup>228</sup> a) Sanki, A. K.; Suresh, C. G.; Falune, U. D.; Pathak, T. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 1285-1288.

b) Sanki, A. K.; Pathak, T. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 7203-7214.

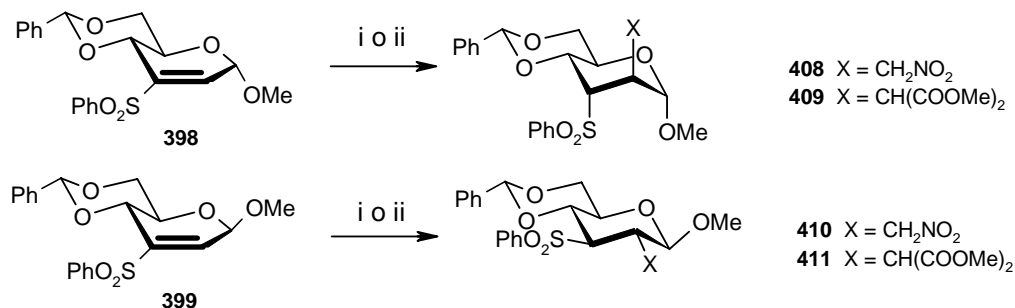
<sup>229</sup> Ravindran, B.; Deshpande, S. G.; Pathak, T. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 1093-1098.



Esquema 94.

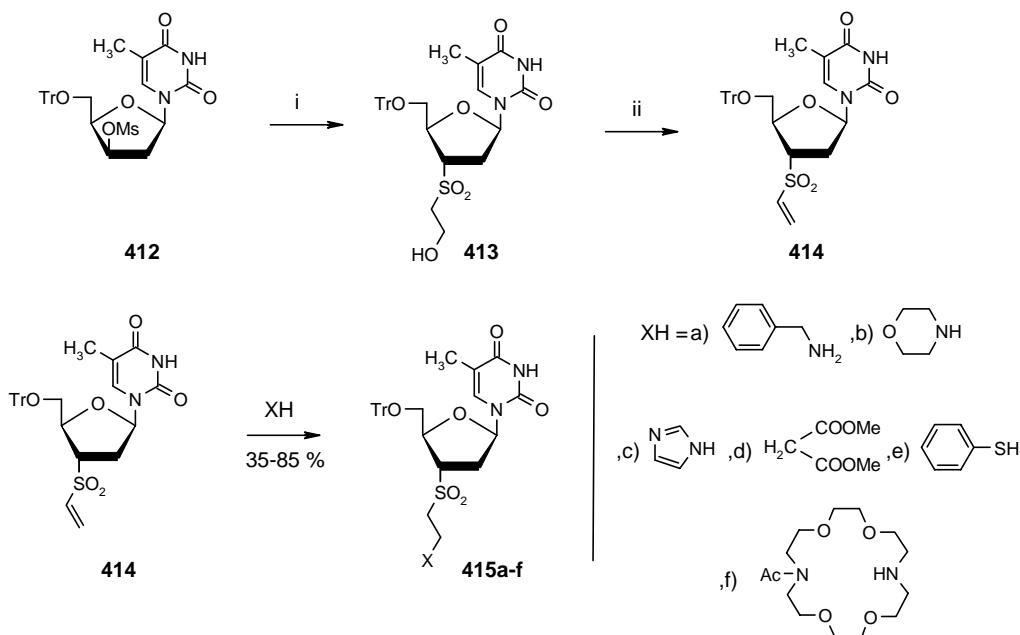
Continuando con el estudio de la reaccionabilidad de estas vinilsulfonas, la reacción de los derivados **398** y **399** con los carbaniones derivados del nitrometano y malonato de dimetilo da lugar en el caso de **398** al derivado de configuración  $\alpha$ -D-altro mientras en el caso de **399** se obtiene el derivado de configuración  $\beta$ -D-gluco. La configuración del carbono anomérico produce una gran influencia en la dirección del ataque del nucleófilo<sup>228a</sup> al contrario que en el caso del ataque mediante aminas. En el caso de las furanosas **400** y **401** también se constata este efecto.





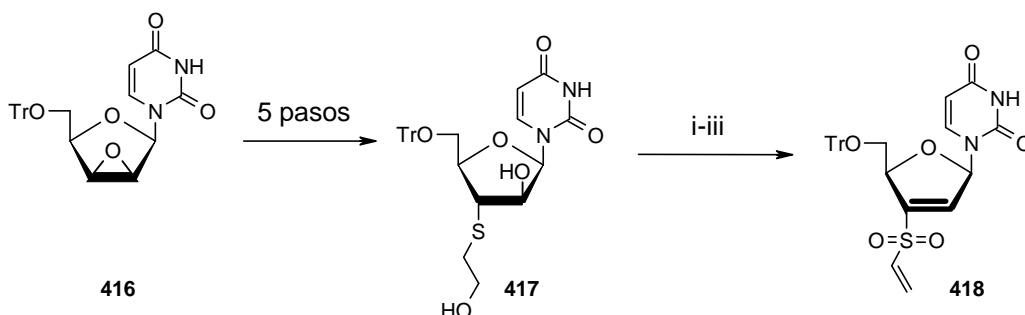
**Esquema 95.** Condiciones: i) CH<sub>3</sub>NO<sub>2</sub>, MeONa, MeOH, t.a.; ii) H<sub>2</sub>C(COOMe)<sub>2</sub>, NaH, THF, t.a.

El grupo de investigación de Pathak también ha sintetizado vinilsulfonas derivadas de nucleósidos, obteniendo de esta forma el producto **414** ideado como un posible análogo del anti-VIH AZT. La reacción de sustitución de grupo mesilo de **412** con 2-mercaptoetanol y posterior oxidación con monoperoxifalato de magnesio (MMPP) permite obtener la sulfona **413**, la mesilación del hidroxilo de esta sulfona y posterior eliminación del mismo permite obtener la vinilsulfona **414**. Esta vinilsulfona terminal demuestra, en general, gran reactividad frente a aminas tanto primarias como secundarias<sup>218b</sup> aunque precisan de grandes excesos de nucleófilo (4-21 equivalentes) y en algunos casos como la reacción con 7-*N*-acetil-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazacooctadecano los rendimientos son bajos aún tras largos tiempos de reacción.



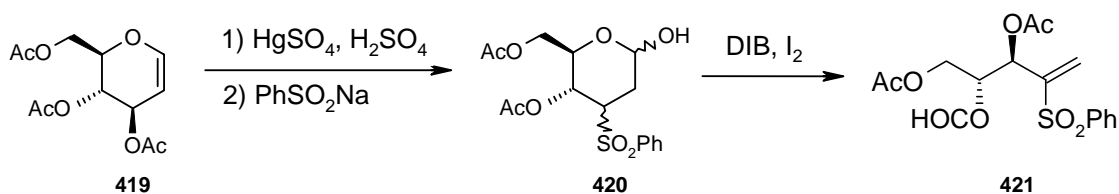
**Esquema 96.** Condiciones: i) (a) HSCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, DBU, DMF, 60 °C; (b) MMPP, MeOH, t. a.;  
 i) (a) MsCl, Py, 4 °C; (b) calentamiento suave.

En el campo de los nucleósidos no solo se han obtenido las monovinilsulfonas citadas, sino también divinilsulfonas como por ejemplo **418**.<sup>230</sup> Cuando este compuesto o su derivado destritilado son tratados con aminas primarias como isobutilamina, bencilamina, etanolamina o ciclohexilamina, se produce una reacción de doble adición de Michael dando lugar al correspondiente derivado bicíclico. Es conveniente destacar que la elección del disolvente es importante, así el empleo de metanol como disolvente permite obtener estos los derivados bicíclicos pero en el caso de ser empleado cloroformo como disolvente la reactividad es menor por lo que no es posible obtener tales derivados bicíclicos. Aminas primarias más desactivadas como *p*-anisidina, aminas secundarias como morfolina y carbaniones como el obtenido a partir de malonato de dimetilo solo permiten la obtención del derivado de mono adición al grupo vinílico terminal.



Esquema 97. Condiciones: i) MMPP, MeOH; ii) MsCl, Py, 0 °C; iii) Py, 40 °C.

Recientemente el grupo de E. Suárez<sup>231</sup> ha desarrollado un nuevo método de síntesis de vinilsulfonas quirales a partir de glicales. Como ejemplo en el esquema 98 se recoge la síntesis de la vinilsulfona **421** en la que se parte de tri-*O*-acetil-*D*-glucal en dos pasos a través del intermedio **420**.



Esquema 98.

<sup>230</sup> Bera, S.; Langley, G. J.; Pathak, T. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 1754-1760.

<sup>231</sup> Alonso-Cruz, C. R.; León, E. I.; Ortiz-López, F. J.; Rodríguez, M. S.; Suárez, E. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 5265-5268.

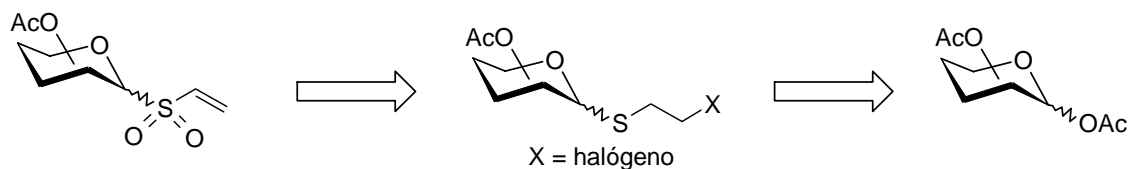
## Discusión de los Resultados

### Síntesis de vinil sulfonas

En la búsqueda de nuevas metodologías para la obtención de neoglicoconjugados llevada a cabo por nuestro laboratorio, nos hemos sentido interesados en ciertos derivados de carbohidratos conteniendo un grupo sulfona  $\alpha,\beta$ -insaturado como potencial precursor de estos neoglicoconjugados. Las sulfonas  $\alpha,\beta$ -insaturadas han demostrado ser reactivos de síntesis muy versátiles<sup>232</sup> ya que la presencia del grupo sulfona activa el doble enlace debido al efecto aceptor de electrones de la misma. Esto permite a las sulfonas  $\alpha,\beta$ -insaturadas actuar como aceptores de Michael en adiciones de tipo 1,4-conjugadas y en cicloadiciones  $4\pi+2\pi$ . En concreto las vinil sulfonas actúan como aceptores de Michael de compuestos nucleofílicos y reacciones de las mismas con nucleófilos que contienen un heteroátomo como alcoholes, tioles y aminas dan lugar a sulfonas  $\beta$ -heterosustituidas.

Por otra parte, la síntesis de sulfonas directamente unidas a la posición anomérica del azúcar proporciona ciertas ventajas a estos azúcares cuando actúan como bloques de construcción de neoglicoconjugados debido a que estos neoglicoconjugados resultantes deben ser altamente estables frente a la acción hidrolítica de ciertas enzimas.<sup>233</sup>

Para el desarrollo de esta estrategia sintética precisamos obtener estas vinil sulfonas de forma simple y eficiente. Nos proponemos sintetizar tanto vinil sulfonas derivadas de monosacáridos como de disacáridos para evaluar la reaccionabilidad de las mismas con distintas aminas y demostrar así la utilidad de esta metodología. Para ello emplearemos como productos de partida los glicósidos derivados de glucosa, manosa y lactosa previamente peracetilados. Como producto intermedio clave precisamos de los correspondientes 2-haloetil 1-tioglicósidos, el correspondiente análisis retrosintético aparece en el esquema 99.



Esquema 99.

Las posibles rutas para la obtención de estos 2-haloetil 1-tioglicósidos son muy numerosas. Para determinar cual de ellas es más adecuada para nuestros objetivos

<sup>232</sup> a) Simpkins, N. S. *Tetrahedron* **1990**, *46*, 6951-6984.

b) Simpkins, N. S. *Sulfones in Organic Synthesis* Pergamon Press: Oxford, 1993.

<sup>233</sup> Knapp, S.; Myers, D. S. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 3636-3638.

llevamos a cabo un estudio previo consistente en la obtención de 2-haloetil 1-tioglucósido mediante varios procedimientos que aparece en la tabla 14.

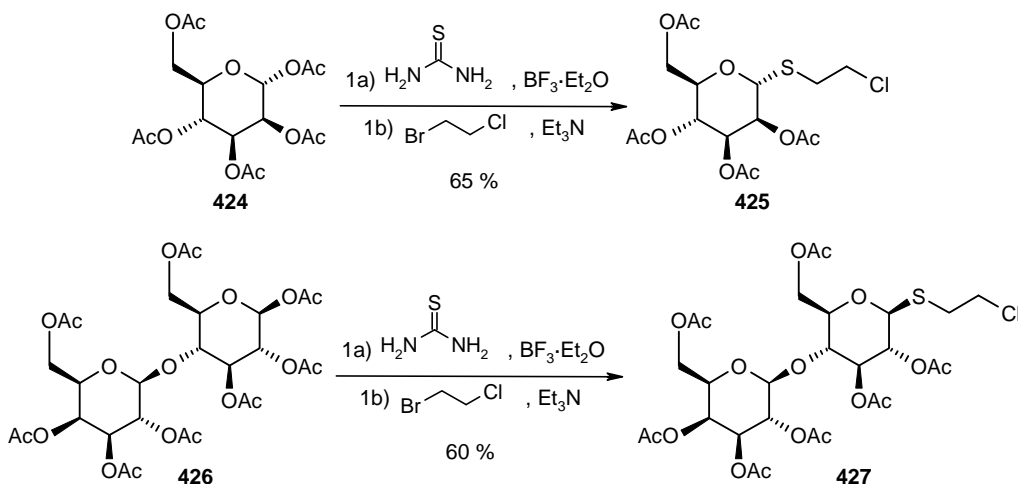
Reacción		Rendimiento
<p> <chem>CC(=O)OC[C@H]1O[C@@H](Br)[C@H](OC(=O)C)[C@@H](OC(=O)C)[C@@H]1OC(=O)C</chem> <math>\xrightarrow[2) \text{Cl}_2\text{SO}]{1) \text{HS-CH}_2\text{CH}_2\text{OH, DBU}}</math> <chem>CC(=O)OC[C@H]1O[C@@H](SCC(Cl)C)[C@H](OC(=O)C)[C@@H](OC(=O)C)[C@@H]1OC(=O)C</chem> </p> <p><b>203</b> <span style="margin-left: 150px;"></span> <b>422</b></p>	44 % <sup>a</sup>	
<p> <chem>CC(=O)OC[C@H]1O[C@@H](S)[C@H](OC(=O)C)[C@@H](OC(=O)C)[C@@H]1OC(=O)C</chem> <math>\xrightarrow{\text{Br-CH}_2\text{CH}_2\text{Br, DBU}}</math> <chem>CC(=O)OC[C@H]1O[C@@H](SCC(Br)C)[C@H](OC(=O)C)[C@@H](OC(=O)C)[C@@H]1OC(=O)C</chem> </p> <p><b>18</b> <span style="margin-left: 150px;"></span> <b>423</b></p>	93 %	
<p> <chem>CC(=O)OC[C@H]1O[C@@H](OC(=O)C)[C@H](OC(=O)C)[C@@H](OC(=O)C)[C@@H]1OC(=O)C</chem> <math>\xrightarrow[1b) \text{Br-CH}_2\text{CH}_2\text{Br, Et}_3\text{N}]{1a) \text{H}_2\text{N-C(=S)-NH}_2, \text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}}</math> <chem>CC(=O)OC[C@H]1O[C@@H](SCC(Br)C)[C@H](OC(=O)C)[C@@H](OC(=O)C)[C@@H]1OC(=O)C</chem> </p> <p><b>207</b> <span style="margin-left: 150px;"></span> <b>423</b></p>	66 % <sup>b</sup>	
<p> <chem>CC(=O)OC[C@H]1O[C@@H](OC(=O)C)[C@H](OC(=O)C)[C@@H](OC(=O)C)[C@@H]1OC(=O)C</chem> <math>\xrightarrow[1b) \text{Br-CH}_2\text{CH}_2\text{Cl, Et}_3\text{N}]{1a) \text{H}_2\text{N-C(=S)-NH}_2, \text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}}</math> <chem>CC(=O)OC[C@H]1O[C@@H](SCC(Cl)C)[C@H](OC(=O)C)[C@@H](OC(=O)C)[C@@H]1OC(=O)C</chem> </p> <p><b>207</b> <span style="margin-left: 150px;"></span> <b>422</b></p>	83 %	
<p> <chem>CC(=O)OC[C@H]1O[C@@H](OC(=O)C)[C@H](OC(=O)C)[C@@H](OC(=O)C)[C@@H]1OC(=O)C</chem> <math>\xrightarrow[2) \text{Cl}_2\text{SO}]{1a) \text{H}_2\text{N-C(=S)-NH}_2, \text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}; 1b) \text{Br-CH}_2\text{CH}_2\text{OH, Et}_3\text{N}}</math> <chem>CC(=O)OC[C@H]1O[C@@H](SCC(Cl)C)[C@H](OC(=O)C)[C@@H](OC(=O)C)[C@@H]1OC(=O)C</chem> </p> <p><b>207</b> <span style="margin-left: 150px;"></span> <b>422</b></p>	59 % <sup>a</sup>	
<p> <chem>CC(=O)OC[C@H]1O[C@@H](OC(=O)C)[C@H](OC(=O)C)[C@@H](OC(=O)C)[C@@H]1OC(=O)C</chem> <math>\xrightarrow[1b) \text{Cl-CH}_2\text{CH}_2\text{Cl, Et}_3\text{N}]{1a) \text{H}_2\text{N-C(=S)-NH}_2, \text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}}</math> <chem>CC(=O)OC[C@H]1O[C@@H](SCC(Cl)C)[C@H](OC(=O)C)[C@@H](OC(=O)C)[C@@H]1OC(=O)C</chem> </p> <p><b>207</b> <span style="margin-left: 150px;"></span> <b>422</b></p>	60 %	

**Tabla 14.** Síntesis de 2-haloetil 2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-tio-β-D-glucopiranósido.

<sup>a</sup> Reacción realizada en 2 etapas, el rendimiento dado es el global de la reacción.

<sup>b</sup> Rendimiento no optimizado.

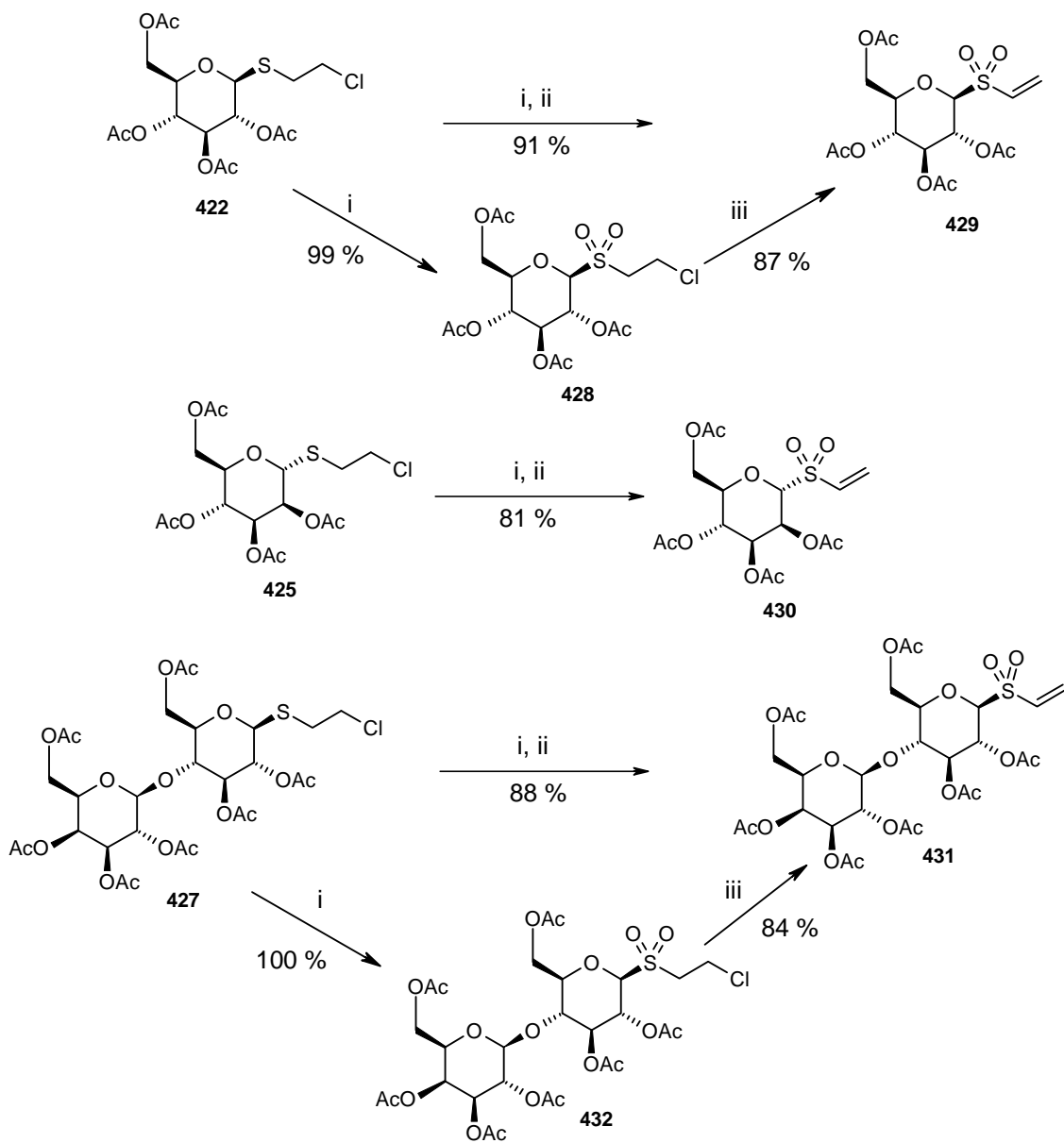
En un principio nos decidimos por la reacción de acetobromoglucosa con 2-mercaptoetanol empleando como base DBU, sin embargo los rendimientos de dicha reacción resultaron sorprendentemente bajos. La reacción de la correspondiente 1-tio- $\beta$ -D-glucosa peracetilada con 1,2-dibromoetano empleando como base trietilamina nos permitió obtener el producto 2-bromoetil 2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-tio- $\beta$ -D-glucopiranosido con rendimientos excelentes, aunque el empleo como producto de partida el tioazúcar implica 2 reacciones previas partiendo del correspondiente azúcar peracetilado. Además aunque la 2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-tio- $\beta$ -D-glucopiranososa es un sólido que puede ser almacenado durante largos periodos en el congelador no ocurre lo mismo con otros tioglicósidos que resultan complicados de manejar por ser sustancias siruposas que además descomponen con facilidad formando los correspondientes disulfuros. Recientemente Ibatullin y col.<sup>234</sup> han publicado la síntesis de alquil 1-tioglicósidos con buenos rendimientos a partir de acetatos de 1,2-*trans*-glicosilo en una sola etapa mediante reacción de los mismos con tiourea en presencia de un ácido de Lewis y posterior reacción de la correspondiente sal de isotiuronio con un haluro de alquilo sin necesidad de aislar la sal de isotiuronio intermedia. Procedemos a realizar la reacción de 1,2,3,4,6-penta-O-acetil- $\beta$ -D-glucopiranososa con varios haluros de etilo adecuadamente funcionalizados en  $\beta$  con el objeto de saber cual es el reactivo con el que se consiguen mejores resultados globales. El empleo de dibromoetano o dicloroetano es muy favorable desde el punto de vista económico, sin embargo, el rendimiento de ambas reacciones es muy inferior al obtenido cuando se emplea 1-bromo-2-cloroetano. Por lo tanto decidimos el empleo de 2-cloroetil 1-tioglicósidos obtenidos mediante formación de la sal de isotiuronio con tiourea en presencia de trifluoruro de boroeterato y reacción posterior con 1-bromo-2-cloroetano sin necesidad de aislar el intermedio.



Esquema 100.

<sup>234</sup> Ibatullin, F. M.; Shabalin, K. A.; Jänis, J. V.; Shavva, A. G. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 7961-7964.

La oxidación de los tioéteres así obtenidos con peróxido de hidrógeno en ácido acético permite obtener las correspondientes sulfonas que son directamente dehidrohalogenadas sin necesidad de purificación previa mediante tratamiento con trietilamina para obtener las glicosil vinil sulfonas **429**, **430** y **431** con altos rendimientos. Estas glicosil vinil sulfonas son sólidos estables a temperatura ambiente que pueden ser fácilmente purificadas mediante cromatografía en columna. En el caso de la glucosa y lactosa se procedió al aislamiento del intermedio cloroetilsulfona con el objeto de caracterizar el mismo, en este caso la oxidación permite obtener dicho producto con rendimiento casi cuantitativo.

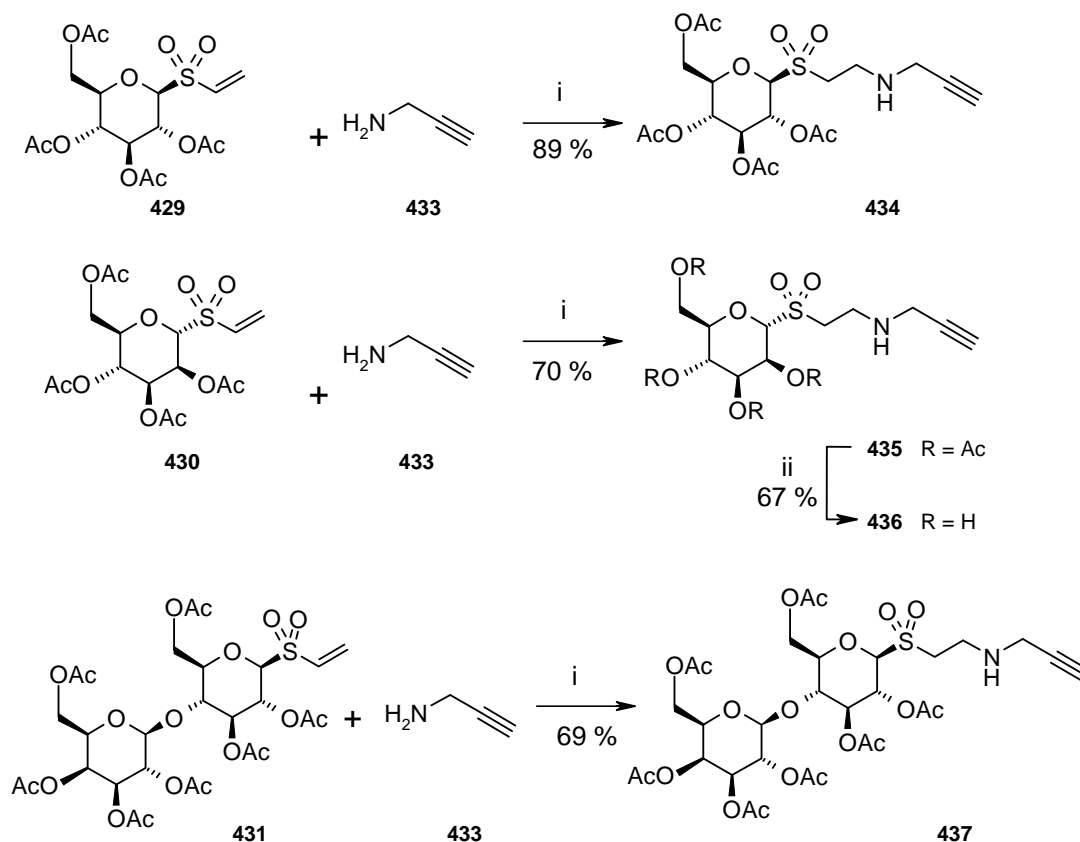


**Esquema 101.** Condiciones: (i)  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{AcOH}$ , t. a.; (ii)  $\text{Et}_3\text{N}$ ,  $\text{THF}$ ; (iii) Resinas (OH<sup>-</sup>),  $\text{Bu}_4\text{NI}$ ,  $\text{THF}$

## Reacción entre vinil sulfonas y aminas

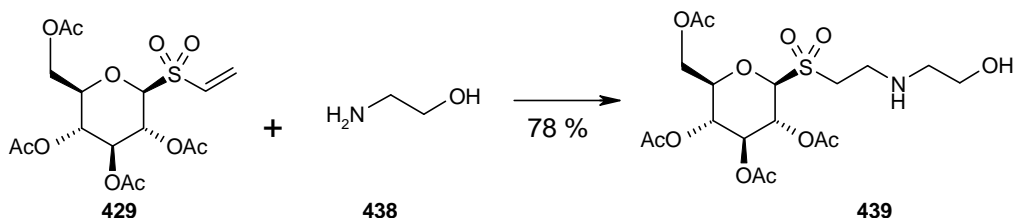
La adición de Michael entre vinil sulfonas y aminas es una reacción que no precisa la adición de ningún otro reactivo para ser llevada a cabo. Los disolventes más adecuados para este tipo de reacciones resultan ser los de tipo alcohólico que facilitan la migración de protones. El 2-propanol nos ha parecido el disolvente más adecuado para la síntesis de monoderivados de aminas, sin embargo las glicosil vinilsulfonas son poco solubles en este alcohol por lo que es preciso la adición de otro disolvente para llevar a cabo la reacción en fase homogénea, la mezcla de THF y 2-propanol en proporciones 1:2 v/v se ha mostrado muy adecuada para estas reacciones.

En primer lugar se escogió una amina de estructura simple como propargilamina para llevar a cabo la adición de Michael, la reacciones se realizarán empleando cantidades equimoleculares de amina y vinil sulfona, en mezclas de THF y 2-propanol a temperatura ambiente durante 16 horas. Se aislaron los productos de monoaddición **434**, **435** y **436** con altos rendimientos (esquema 102).



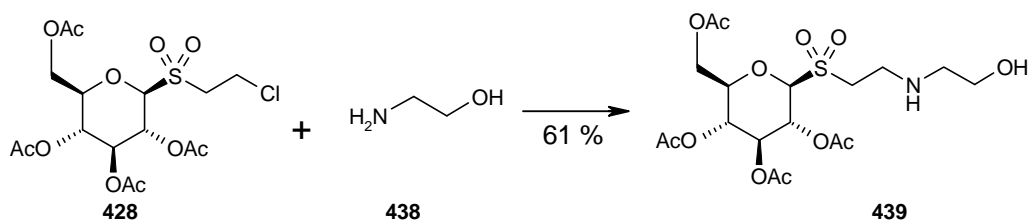
Esquema 102. Condiciones: (i) 1 equiv. **421-431**, i-PrOH/THF 2:1, t. a.; (ii) Et<sub>3</sub>N, MeOH, t. a.

Cuando la amina fue etanolamina se obtiene el producto de monoación con alto rendimiento en tan solo 4 horas. Este y otros ensayos que comentaremos a continuación parecen indicar que la propargilamina es poco reactiva en comparación con otras aminas.



**Esquema 103.** Condiciones: 1 equiv. **429**, i-PrOH/THF 2:1, t. a.

Pensamos que la 2-cloroetilsulfona derivada de glucosa en presencia de base podría generar la correspondiente vinil sulfona que en presencia de una amina reaccione para dar lugar al producto correspondiente sin que sea necesario el aislamiento de la vinil sulfona, para evaluar esta posibilidad hicimos reaccionar cantidades equimoleculares de 2-cloroetil 2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-tio-β-D-glucopiranosido S-dióxido y etanolamina en presencia de Et<sub>3</sub>N a temperatura ambiente. En estas condiciones obtenemos el compuesto de monoación de la vinilsulfona a la amina con un rendimiento del 61 % sensiblemente menor al rendimiento global de la misma síntesis cuando es llevada a cabo aislando la vinil sulfona intermedia (71 %). Este hecho, unido a la dificultad para aislar y purificar la cloroetilsulfona nos hace pensar que es preferible aislar previamente la vinil sulfona.

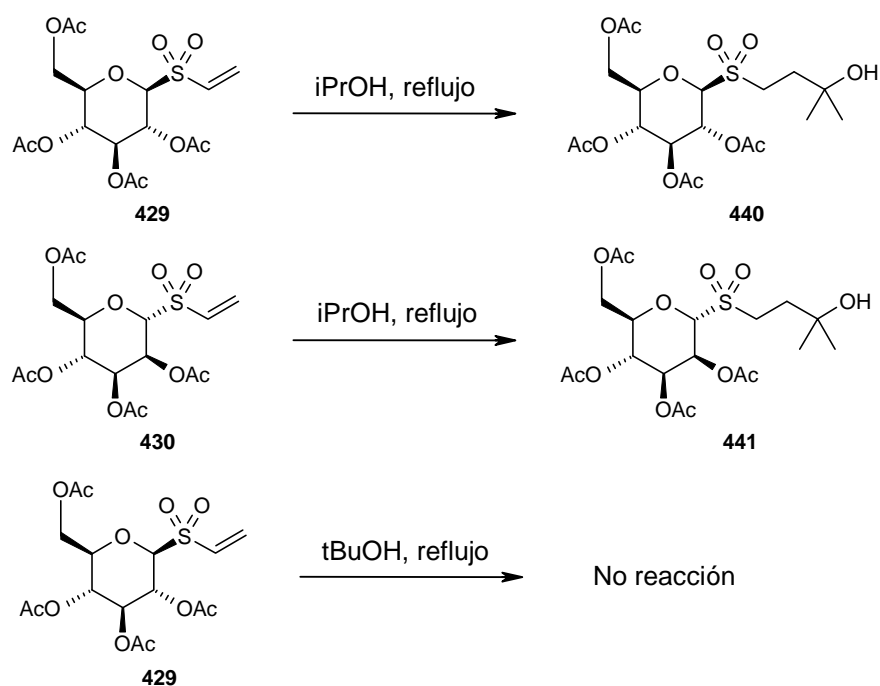


**Esquema 104.** Condiciones: 1 equiv. **428**, 3 equiv. Et<sub>3</sub>N, i-PrOH/THF 2:1, t. a.

Cuando se emplea un exceso de vinil sulfona en las condiciones empleadas anteriormente no es posible la obtención del correspondiente derivado resultante de la reacción 1:2 entre amina y vinilsulfona. Pensamos que unas condiciones de reacción más enérgicas nos permitirían la obtención del derivado deseado, sin embargo, si bien, en estas condiciones de reacción se obtiene el producto deseado con rendimientos moderados también se obtiene un subproducto identificado como el producto **440** de reacción entre la vinil sulfona y el isopropanol. Para confirmar que se produce esta reacción procedemos a llevar a cabo la misma en ausencia de amina, esta reacción finaliza en 30 minutos dando un producto con el mismo R<sub>F</sub> que el subproducto de la reacción anterior y que posee idénticos datos espectroscópicos. La reacción realizada



empleando como sustrato la vinil sulfona derivada de D-manosa también da lugar al correspondiente derivado de adición de manosa al radical 2-hidroxi-2-propilo, lo que parece indicar que la reacción es general para este tipo de vinil sulfonas. Si empleamos como disolvente 2-metil-2-propanol, que carece de hidrógeno situado en  $\alpha$  respecto al hidroxilo, en lugar de isopropanol no se produce reacción alguna recuperándose la vinil sulfona de partida. Parece lógico afirmar que el mecanismo por el que se produce esta reacción es de tipo radicalario y si bien existen antecedentes de adiciones radicalarias de vinil sulfonas a 2-propanol<sup>235</sup> en todos los casos es necesario el empleo de luz ultravioleta y un iniciador radicalario. En nuestro caso el único iniciador radicalario posible es el oxígeno atmosférico y el mecanismo que postulamos para esta reacción pasa por la formación de un radical 2-hidroxi-2-propilo por rotura radicalaria del enlace C-H del 2-propanol mediante acción de oxígeno y adición del mismo a la vinil sulfona.

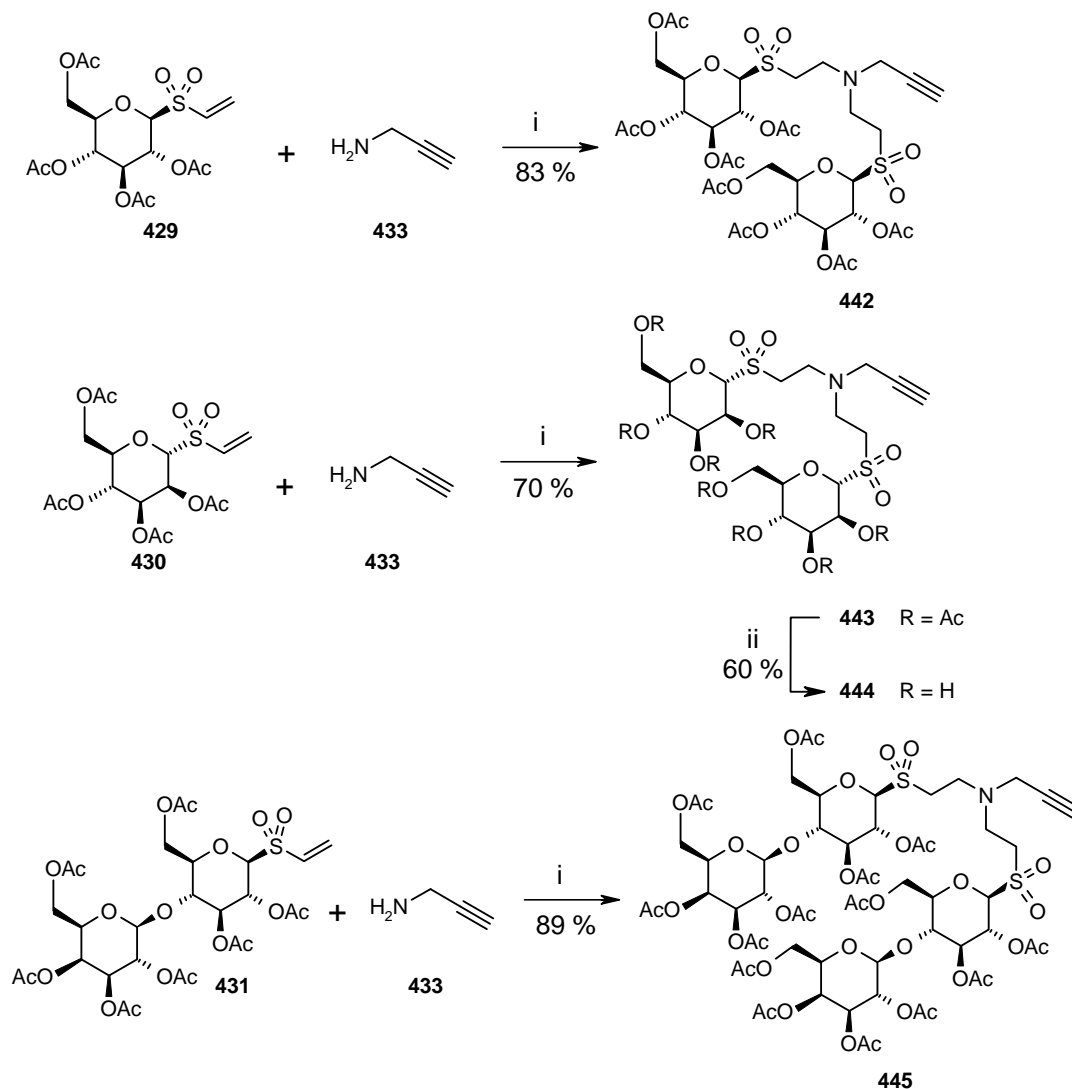


Esquema 105.

Ya que cuando es necesario forzar las condiciones de la reacción calentando no es aconsejable el uso de 2-propanol como disolvente y dado que el THF también posee hidrógenos en  $\alpha$  del oxígeno que pueden sufrir procesos radicalarios preferimos el empleo de otros disolventes para las reacciones a alta temperatura. La elección de 2-metil-2-propanol como disolvente ya que en la experiencia anteriormente comentada se recuperó cuantitativamente la glucopiranosil vinilsulfona de partida.

<sup>235</sup> a) Ogura, K.; Kayano, A.; Sumitani, N.; Akazome, M.; Fujita, M. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 1106-1107.  
b) Kayano, A.; Akazome, M.; Fujita, M.; Ogura, K. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *53*, 12101-12114.

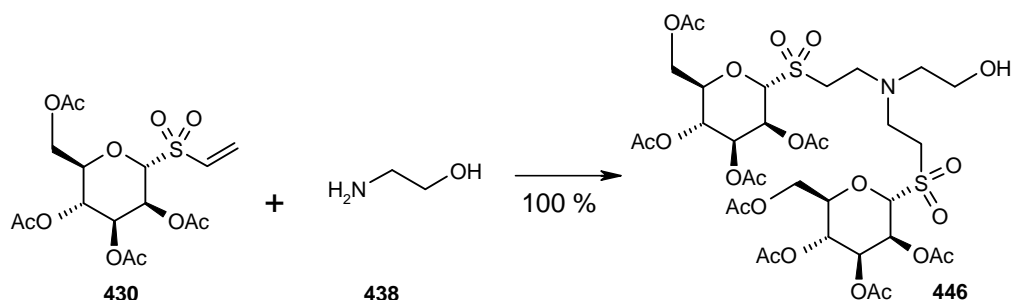
En el caso de la propargilamina su punto de ebullición es de 83 °C y procedemos a realizar las reacciones de adición 1:2 de las vinilsulfonas **429-431** a esta amina a 60 °C hasta que se produzca totalmente la primera adición de la vinilsulfona a la propargilamina. Tras 24 horas a 60 °C se aumenta la temperatura de la reacción a reflujo hasta que por c.c.f. se comprueba la finalización de la misma, lo que ocurre tras 48 horas a reflujo obteniéndose los correspondientes productos de adición 1:2: **442**, **443** y **445** respectivamente con altos rendimientos.



**Esquema 106.** Condiciones: (i) 2.2 equiv. **429-431**, *t*-BuOH, 24 h a 60 °C después 48 h reflujo; (ii) Et<sub>3</sub>N, MeOH, t. a.

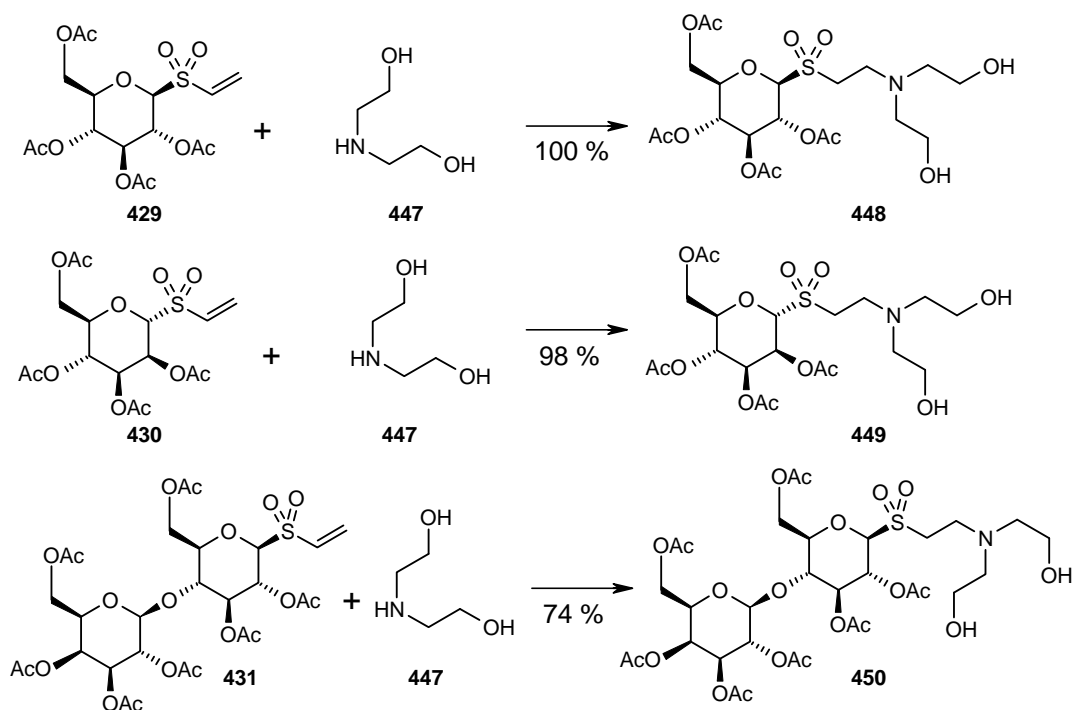
Cuando se hace reaccionar la etanolamina con 2.2 equivalentes de la vinil sulfona derivada de D-manosa la reacción se completa en 24 horas a reflujo con rendimiento

cuantitativo lo que confirma la mayor reaccionabilidad de esta amina respecto a la propargilamina.



**Esquema 107.** Condiciones: 2.2 equiv. **430**, t-BuOH, reflujo, 24 h.

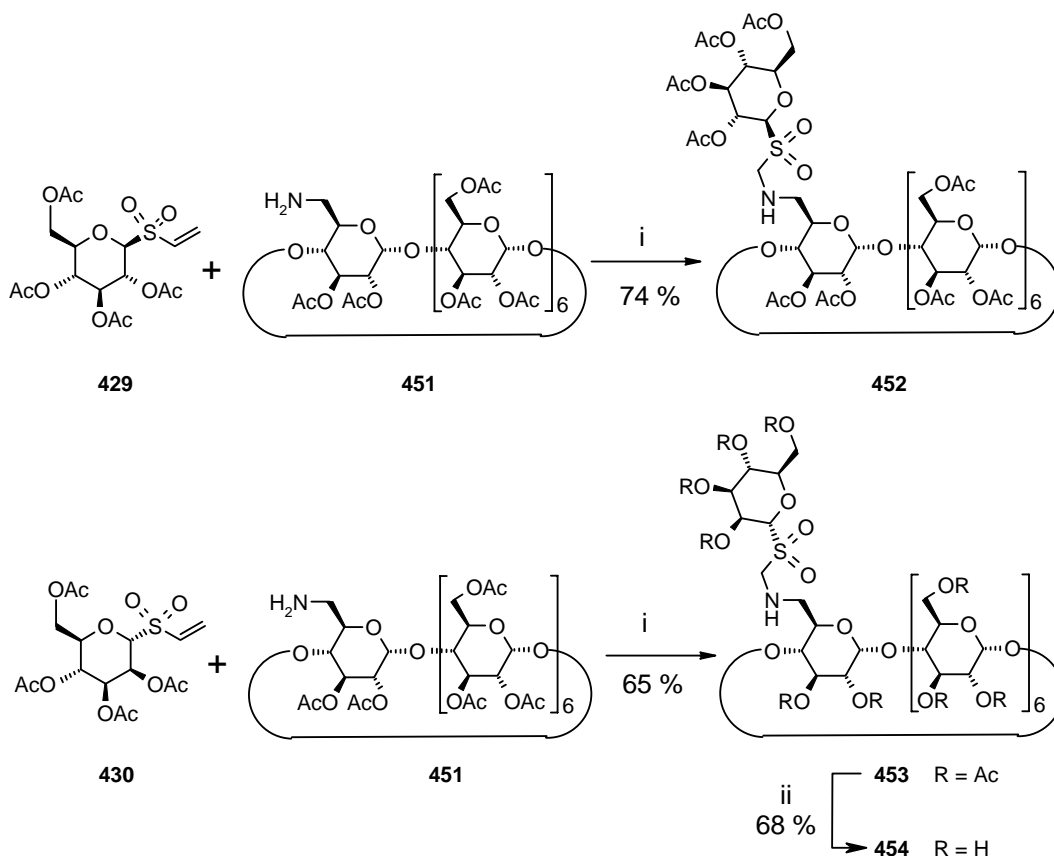
Aminas secundarias también han sido empleadas como nucleófilo frente a estas vinilsulfonas. Cuando se emplea la dietanolamina la reacción, realizada en *tert*-butanol a reflujo, finaliza en tan solo 2 horas con rendimientos que oscilan entre buenos y cuantitativos.



**Esquema 108.** Condiciones: 1 equiv. **429-431**, t-BuOH, reflujo.

El éxito de las síntesis anteriores nos animó a llevar a cabo adiciones de Michael sobre aminas más complejas, se pensó en el empleo de una amina más voluminosa para comprobar si en este caso la reacción es posible. Dado nuestro interés por la

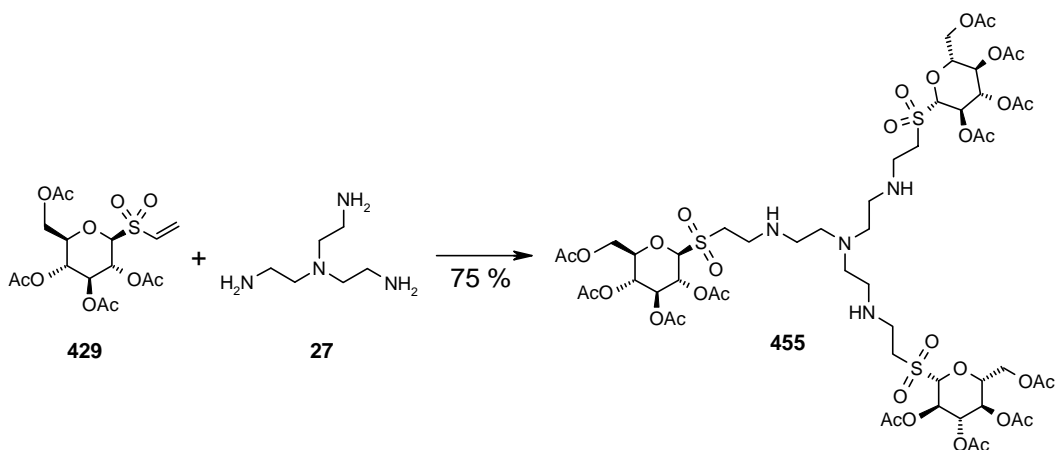
síntesis de azúcares unidos a ciclodextrinas (glicociclodextrinas) decidimos emplear como amina de partida la mono-6-amino-6-desoxi- $\beta$ -ciclodextrina peracetilada.<sup>236</sup> En este caso la reacción no tiene lugar a temperatura ambiente por lo que es preciso emplear como disolvente 2-metil-2-propanol a reflujo lo que permite la obtención de los productos **452** y **453** con buenos rendimientos, cuando las vinilsulfonas de partida son las derivadas de D-glucosa **429** y D-manosa **430**.



**Esquema 109.** Condiciones: (i) 1 equiv. **429** ó **430**, t-BuOH, reflujo; (ii) Et<sub>3</sub>N, MeOH, t. a.

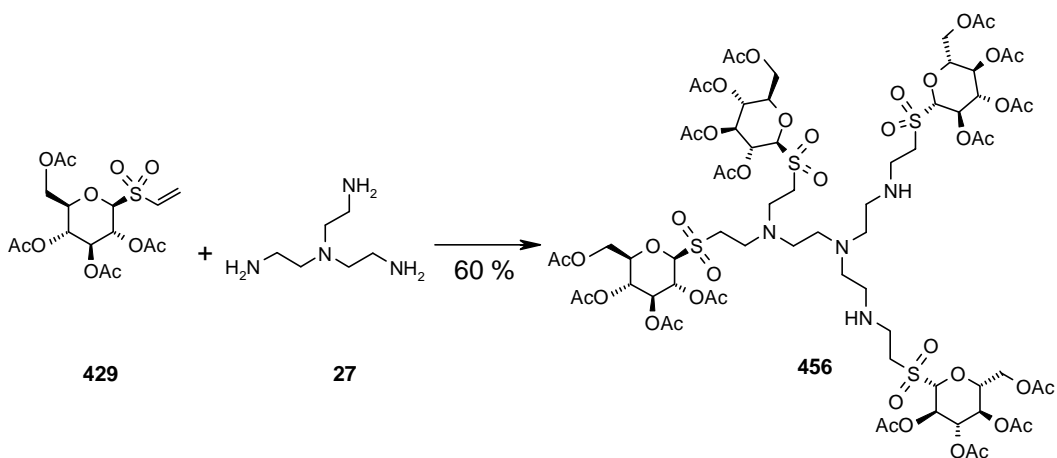
Una vez comprobada la reactividad de estas vinil sulfonas con monoaminas pasamos al estudio de su reactividad con poliaminas. En primer lugar decidimos el empleo de la tris(2-aminoetil)amina **27**, amina con tres grupos aminos primarios y de alta simetría. La reacción de la misma con 3 equivalentes de la vinil sulfona **429** usando como disolvente una mezcla de 2-propanol y THF 2:1 (v/v) a temperatura ambiente dio lugar al sistema trivalente **455** con buen rendimiento en corto tiempo de reacción, lo que revela que estas poliaminas son mucho más reactivas que las monoaminas.

<sup>236</sup> Maya, I.; López, O.; Maza, S.; Fernández-Bolaños, J. G.; Fuentes, J. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 8539-8543.



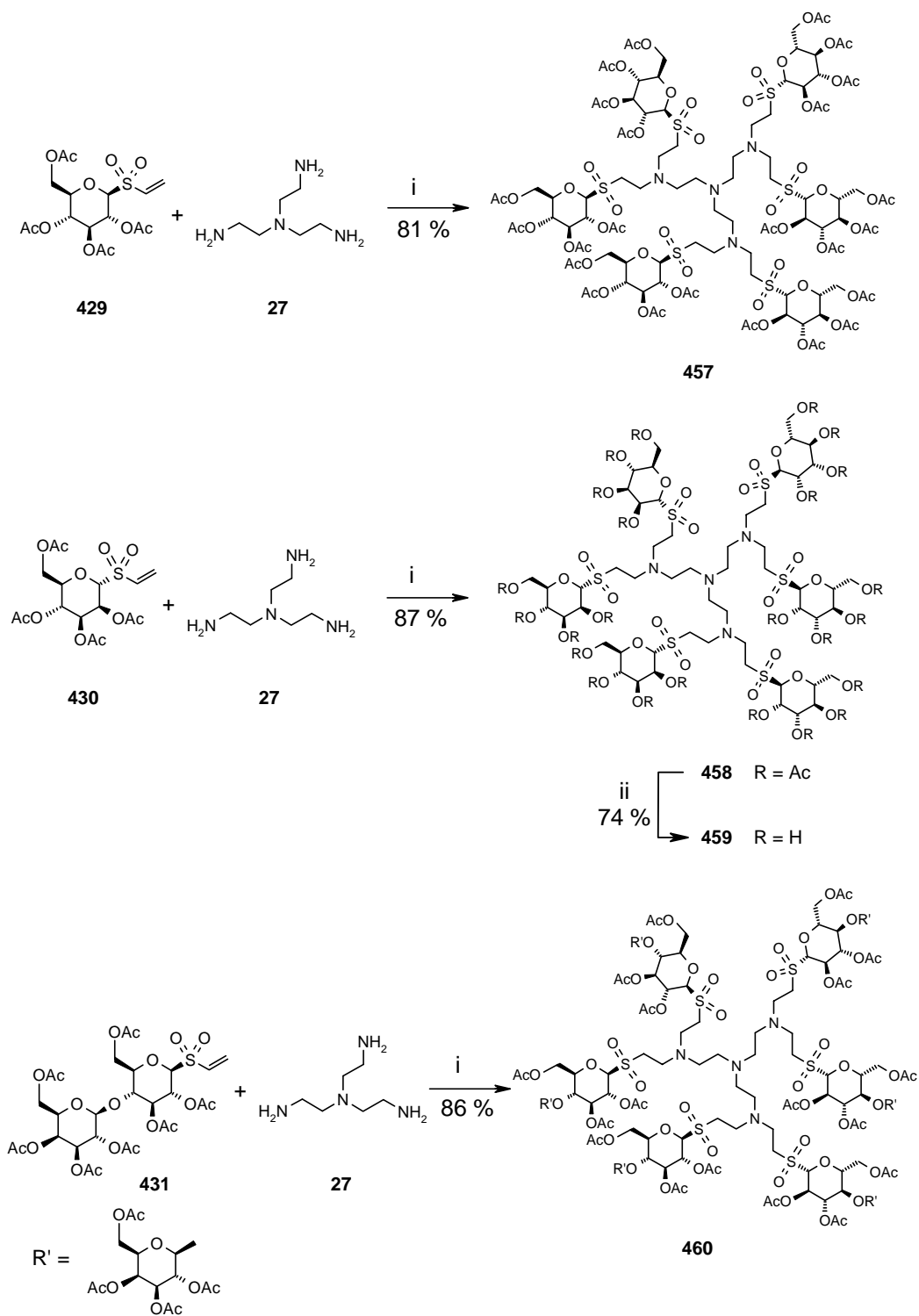
**Esquema 110.** Condiciones: 3 equiv. **429**, i-PrOH/THF 2:1, t. a.

Cuando se realiza la reacción en las mismas condiciones experimentales usando 6 equivalentes de azúcar se observa la formación del derivado **456** que posee 4 restos de azúcar, sin embargo la reacción se detiene en este derivado no observándose la presencia de derivados con mayor número de restos de azúcar, hecho que puede ser debido al impedimento estérico provocado por la presencia de estos restos de azúcar en la molécula (esquema 111)



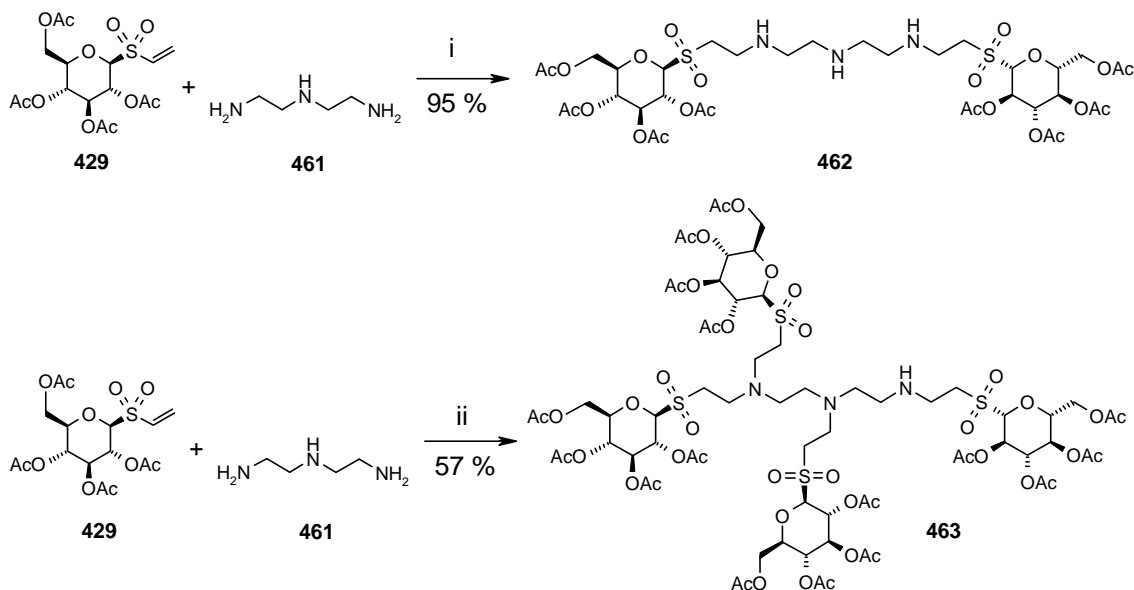
**Esquema 111.** Condiciones: 6 equiv. **429**, i-PrOH/THF 2:1, t. a.

La reacción de la amina **27** con 7.2 equivalentes de las vinylsulfonas **429-431** en 2-metil-2-propanol:acetonitrilo 3:1 v/v a reflujo da lugar a la formación de los sistemas hexavalentes **457**, **458** y **460** con altos rendimientos, en este caso es necesaria la adición de acetonitrilo ya que en 2-metil-2-propanol los productos precipitan cuando aún no ha finalizado la reacción.



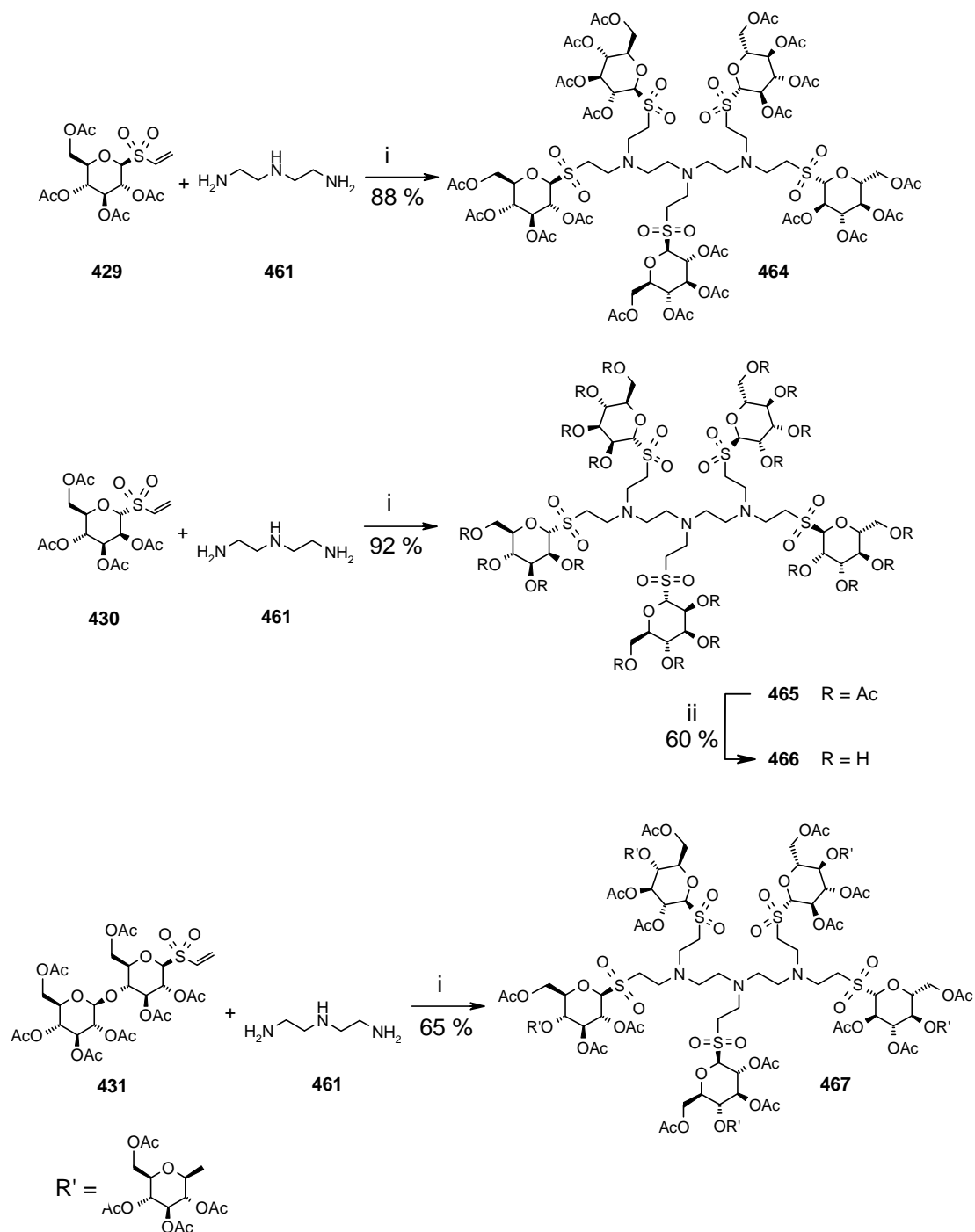
**Esquema 112.** Condiciones: (i) 7.2 equiv. **429-431**, t-BuOH/CH<sub>3</sub>CN 3:1, refluxo; (ii) Et<sub>3</sub>N, MeOH, t. a.

El empleo de dietilentriamina (**461**) da lugar a resultados similares a los ya descritos con la tris(2-aminoetil)amina, así la reacción de **461** con 2 equivalentes de vinil sulfona en 2-propanol:THF a temperatura ambiente da lugar al producto simétrico **462**. La reacción de **461** con 5.3 equivalentes de vinil sulfona da lugar a una mezcla de productos siendo mayoritario el producto **463**.



**Esquema 113.** Condiciones: (i) 2 equiv. **429**, i-PrOH/THF 2:1, t. a.; (ii) 5.3 equiv. **429**, i-PrOH/THF 2:1, t. a.

El empleo de condiciones más enérgicas (reflujo en 2-metil-2-propanol:acetonitrilo) y 6 equivalentes de las vinilsulfonas **429-431** permiten la obtención de los sistemas pentavalentes **464**, **465** y **467**. Esta reacción transcurre con excelentes rendimientos cuando se emplean vinilsulfonas derivadas de monosacáridos (**429** y **430**) mientras que en el caso de la vinil sulfona **431** derivada de lactosa el rendimiento es sensiblemente inferior probablemente debido al congestionamiento estérico del producto.

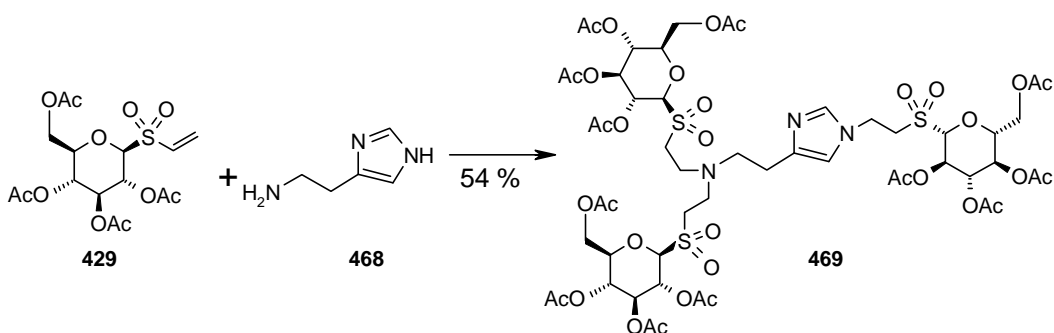


**Esquema 114.** Condiciones: (i) 6 equiv. **429-431**, t-BuOH/CH<sub>3</sub>CN 3:2, reflujo;  
(ii) Et<sub>3</sub>N, MeOH, t. a.

Teniendo en cuenta que en las proteínas existen aminoácidos básicos que poseen restos nucleófilos, tales como lisina e histidina, se ha considerado oportuno realizar un estudio previo de la reactividad de estos compuestos frente a vinilsulfonas derivadas

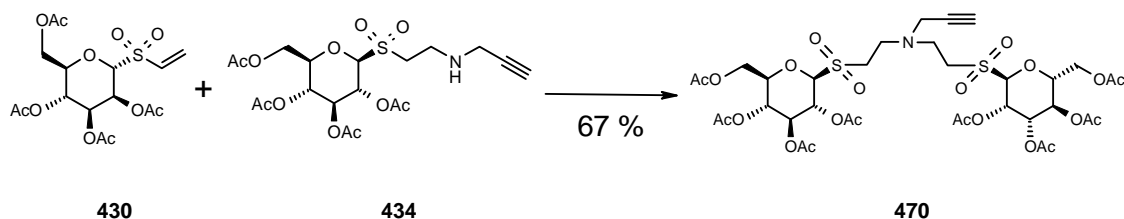


de azúcares. La lisina posee un resto amino primario de características similares a las aminas que han sido empleadas con anterioridad, por su parte, la histidina posee un anillo imidazol que puede actuar como nucleófilo en estos procesos. Para evaluar la reaccionabilidad de este grupo imidazol se ha estudiado el comportamiento de la histamina (468) con un exceso de la vinilsulfona 429 a temperatura ambiente, produciéndose el derivado 469. Por el contrario, cuando llevamos a cabo la reacción con el clorhidrato de la lisina en 2-propanol:agua en presencia de 1.5 equivalentes de  $\text{Et}_3\text{N}$  se forma un gel que impide la finalización de la reacción.



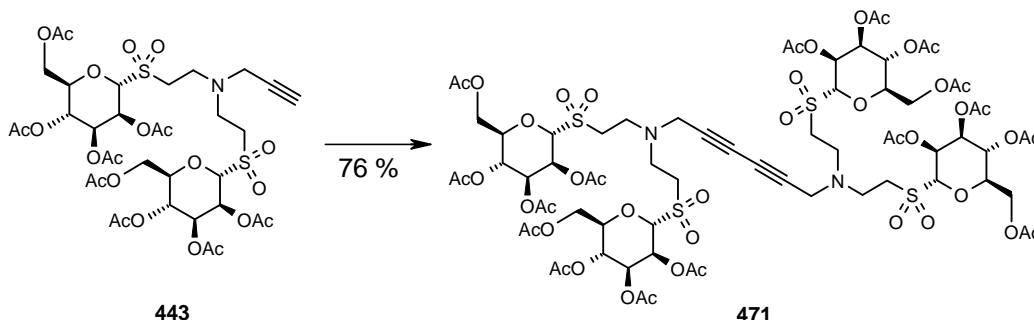
Esquema 115. Condiciones: 3.3 equiv. 429, i-PrOH/ $\text{H}_2\text{O}$  7:3, t. a.

Los resultados anteriormente comentados ponen de manifiesto que es posible modular la reactividad de las diferentes aminas frente a estas vinil sulfonas mediante una elección adecuada de las condiciones de reacción. Teniendo en cuenta esto se pensó que sería posible la obtención de sistemas que contengan dos azúcares diferentes mediante una adecuada modulación de esta reactividad. Para ello hicimos reaccionar la amina 434, cuya síntesis ha sido anteriormente comentada, que contiene un resto de D-glucosa con la vinil sulfona 430 derivada de la D-manosa, en mezclas de 2-metil-2-propanol:acetonitrilo a temperatura de reflujo obteniéndose el producto 470 que contiene 2 restos diferentes de azúcar con buen rendimiento. Además es remarcable el hecho de que este producto contiene un alquino terminal que es susceptible de reaccionar, entre otros, en procesos de cicloadición 1,3-dipolares, acoplamientos oxidativos de tipo Glaser o reacciones de Sonogashira para dar otros glicoconjugados que posean distintos azúcares en su estructura.



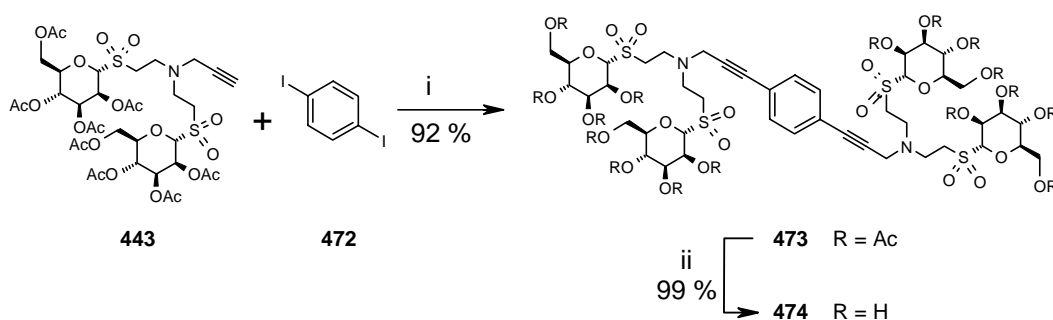
Esquema 116. Condiciones: 1.5 equiv. 430, t-BuOH/ $\text{CH}_3\text{CN}$  3:1, reflujo.

Algunos de los productos anteriormente sintetizados poseen grupos funcionales que pueden reaccionar conduciendo a glicoconjugados que poseen mayor número de restos de azúcar. El producto **443** reaccionó en condiciones de Glaser conduciendo con buenos rendimientos a **471** que contiene 4 restos de azúcar.



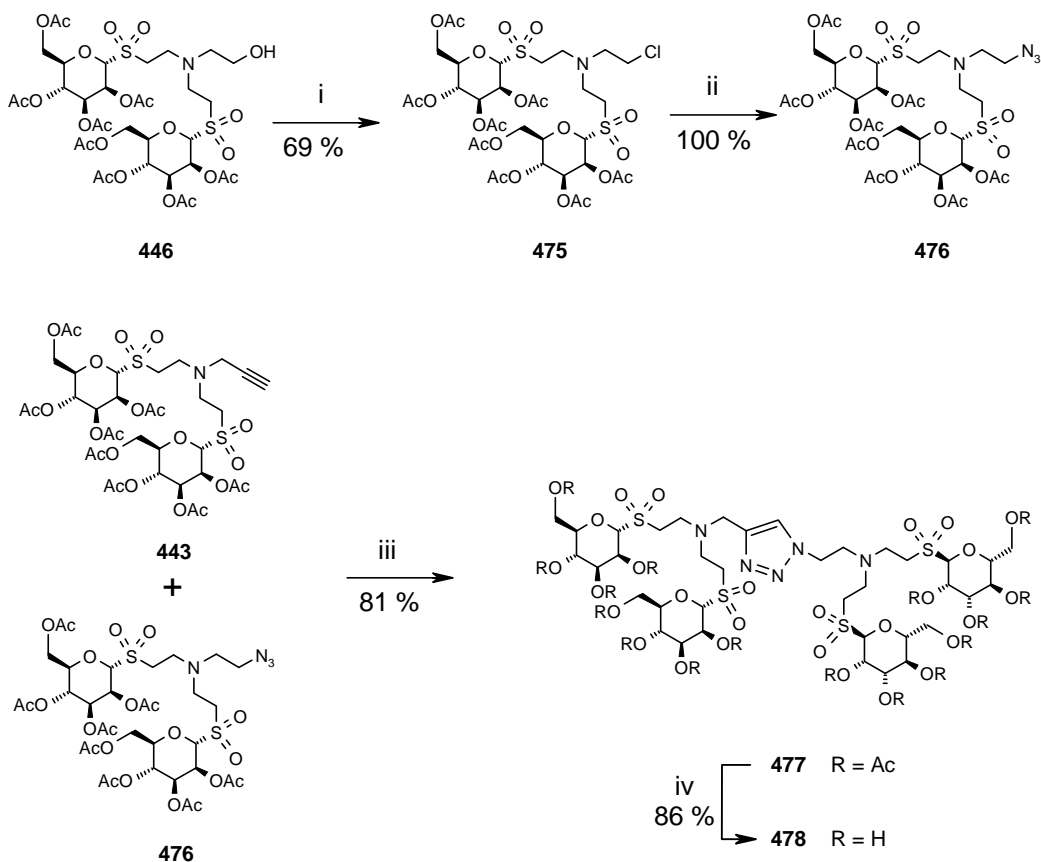
**Esquema 117.** Condiciones:  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$ ,  $\text{CuI}$ ,  $\text{Et}_3\text{N}/\text{DMF}$ , t. a.

Por otra parte, la reacción de **443** con 1,4-diyodobenceno empleando la reacción de Sonogashira permitió la síntesis del sistema aromático tetravalente **473** con excelentes rendimientos.



**Esquema 118.** Condiciones: (i)  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ ,  $\text{Et}_3\text{N}/\text{DMF}$ ,  $60\text{ }^\circ\text{C}$ ; (ii)  $\text{Et}_3\text{N}$ ,  $\text{MeOH}/\text{CH}_3\text{CN}$ , t. a.

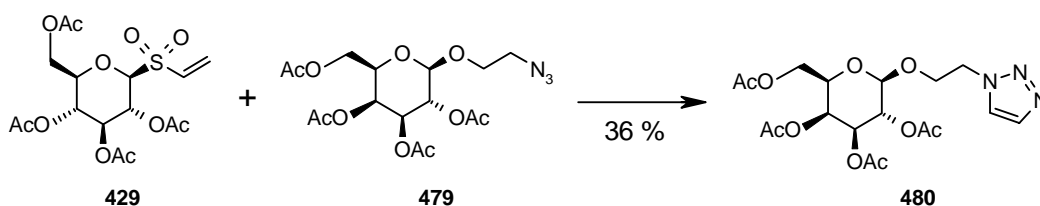
Estos resultados ponen de manifiesto la utilidad del sistema divalente **443** que contiene un resto de alquino terminal. Para poder usar este compuesto en cicloadiciones 1,3-dipolares con azidas se ha llevado a cabo la obtención del sistema divalente **476** a partir del derivado **446** que posee un grupo hidroxilo libre. La reacción de **476** con **443** catalizada por  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$  con irradiación de microondas permite la obtención del derivado tetravalente **477** con buenos rendimientos.



**Esquema 119.** Condiciones: (i)  $\text{Cl}_2\text{SO}$ , piridina, THF; (ii)  $\text{NaN}_3$ , DMF, 100 °C; (iii)  $(\text{EtO})_3 \cdot \text{CuI}$ , DIPEA, tol., MW; (iv)  $\text{Et}_3\text{N}$ , MeOH, reflujo.

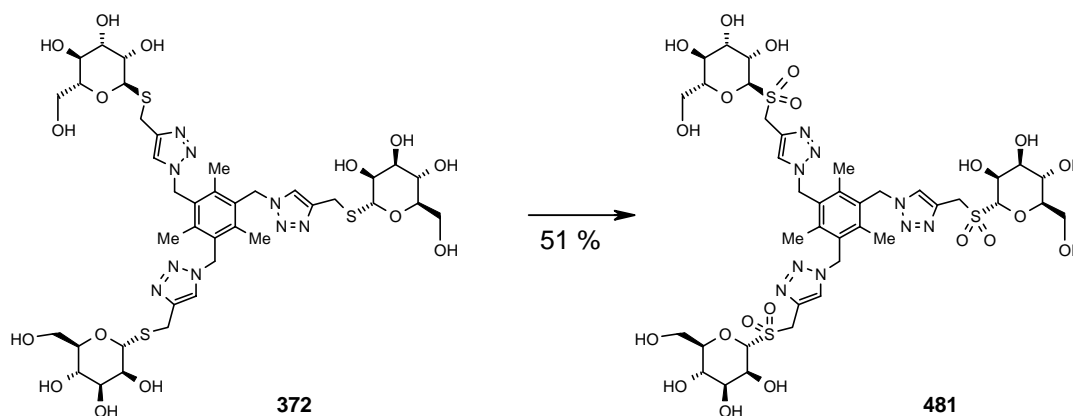
De la misma forma que hemos obtenido diversos sistemas tetravalentes derivados de D-manosa como **471**, **473** y **477** sería posible obtener sistemas mixtos que contengan restos de azúcares diferentes mediante el empleo de alquinos o azidas similares a **443** o **476** que, como **470**, contienen 2 restos de azúcar diferentes.

Cuando intentamos realizar cicloadiciones de estas vinilsulfonas a azidoderivados los resultados no son los esperados, la reacción de **429** con la azida **479**<sup>199</sup> en mezclas de 2-metil-2-propanol y acetonitrilo a reflujo da lugar al producto **480** con rendimientos moderados. La obtención de este producto es coherente con los resultados publicados por Hager y col.<sup>169</sup> en el que al hacer reaccionar una azida con una vinilsulfona obtienen el triazol en lugar de la triazolidina esperada. Esto ocurre ya que el grupo sulfona es un excelente grupo saliente con lo que tras la ciclación se produce la eliminación de la misma por lo que la triazolidina sufre una aromatización espontánea. Estas vinil sulfonas son, por tanto, equivalentes sintéticos del acetileno en dichas reacciones de cicloadición.



**Esquema 120.** Condiciones: 1 equiv. **429**, t-BuOH/CH<sub>3</sub>CN 3:1, reflujo.

Como se comentará más adelante los glicoconjugados basados en sulfonas derivados de manosa poseen una baja afinidad por la lectina Con A, para comprobar si esta baja afinidad es debida al grupo sulfona se ha realizado la oxidación del compuesto **372** con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> lo que permite obtener la trisulfona **481**.



**Esquema 121.** Condiciones: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, AcOH, t. a., 2 días.

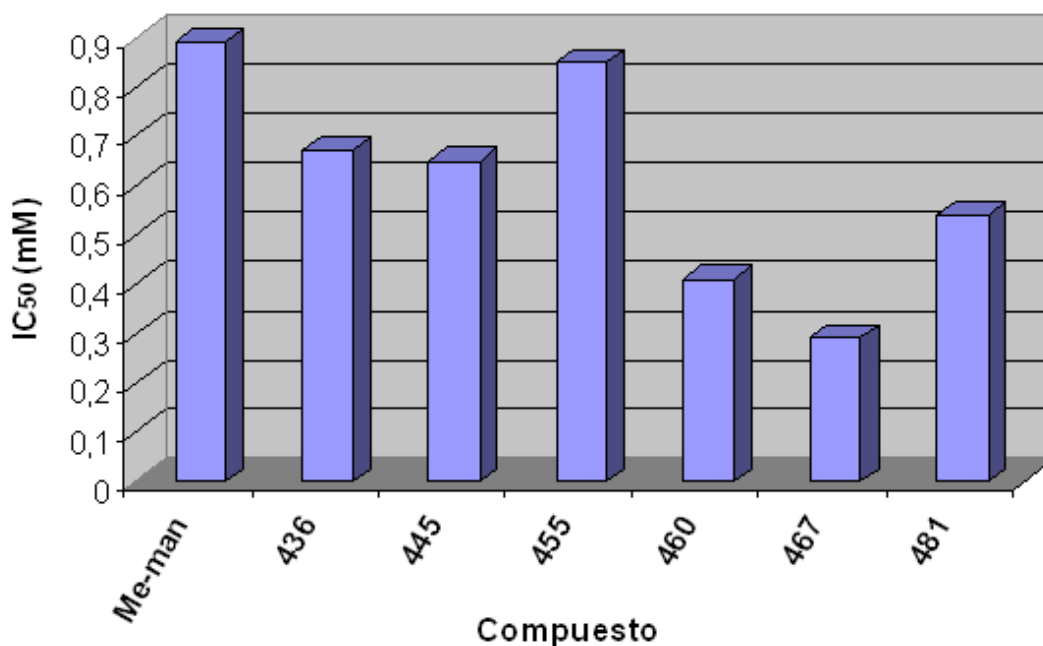
La desacetilación de **435**, **443**, **453**, **458**, **465**, **474** y **477** fue realizada con Et<sub>3</sub>N en metanol conduciendo a los correspondientes derivados hidroxilados **436**, **444**, **454**, **459**, **466**, **475** y **478** con buenos a excelentes rendimientos lo que evita la posible reacción de retro-Michael de estos productos que puede producirse cuando son empleadas bases fuertes.

### Ensayos de afinidad de los glicoconjugados 436, 444, 454, 459, 466 y 481 por *concanavalina A*

La evaluación de la afinidad de las vinilsulfonas derivadas de D-manosa ha sido realizada de forma idéntica a la de los isoxazoles y triazoles comentados en los capítulos anteriores. La evaluación de tales afinidades por la técnica de ELLA da los resultados que aparecen en la siguiente tabla:

Producto	IC <sub>50</sub> (mM)	Afinidad Relativa	Nº de Azúcares	Afinidad relativa/azúcar
Me-man	0.89	--	--	--
436	0.67	1.33	1	1.33
445	0.65	1.36	2	0.68
455	0.85	1.05	1	1.05
460	0.41	2.16	6	0.36
467	0.29	3.02	5	0.6
481	0.54	1.66	3	0.55

**Tabla 15.** Datos del ensayo ELLA de inhibición de la unión de ConA-HRP a manano con los neoglicoconjugados multivalentes.



**Figura 33.** Inhibición del 50 % de unión de manano a ConA-HRP mediante los diferentes neoglicoconjugados.

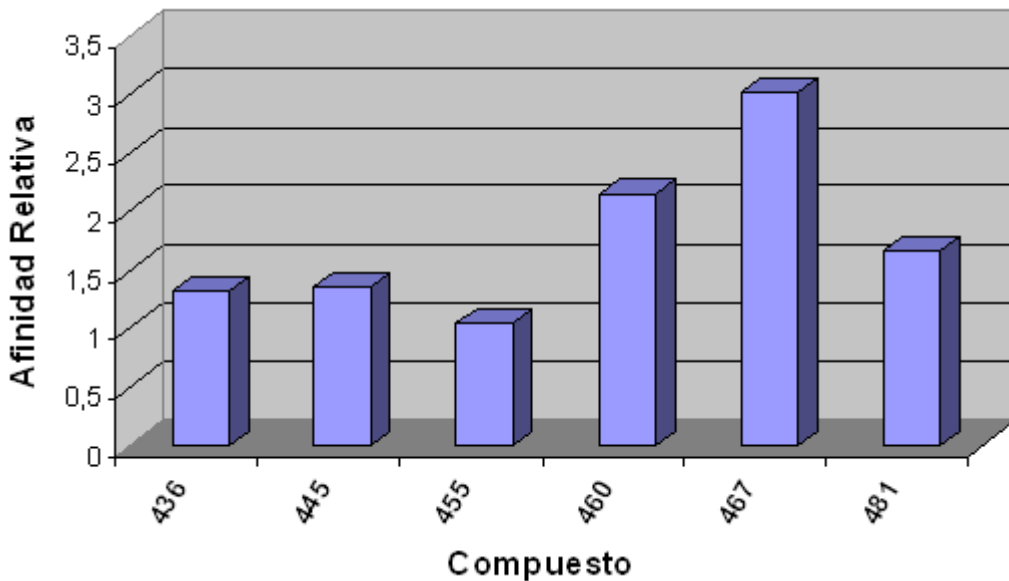


Figura 34. Afinidad relativa de los diferentes neoglicoconjugados tomando como referencia metil  $\alpha$ -D-manopiranosido.

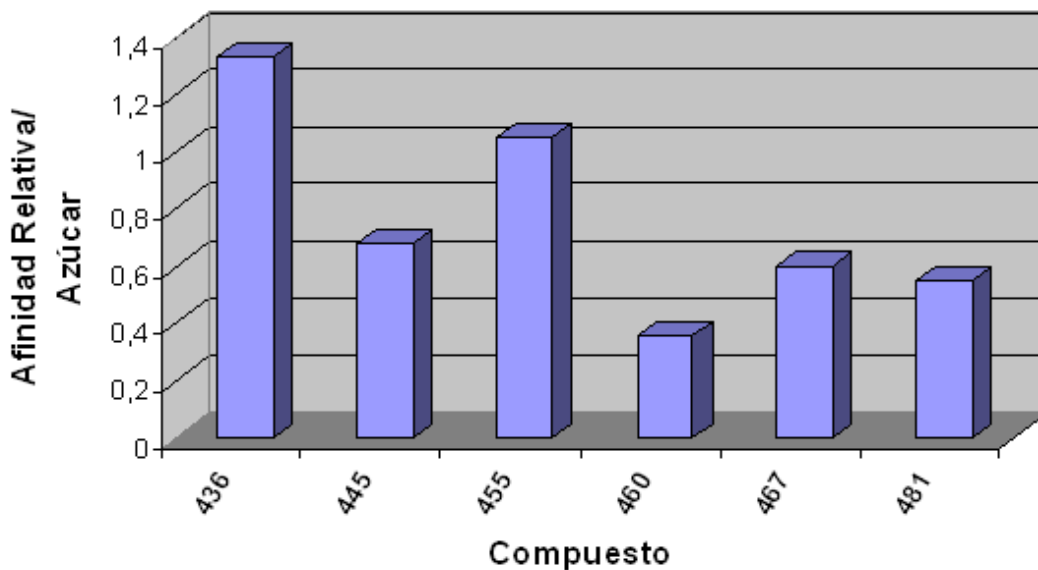


Figura 35. Afinidad relativa por unidad de monosacárido de los neoglicoconjugados.

Los sistemas monovalentes **436** y **455** poseen una afinidad relativa superior a metil  $\alpha$ -D-manósido, especialmente el derivado **436**. Sin embargo, en los sistemas de adición 2:1 vinilsulfona-amina la afinidad por resto de azúcar disminuye de forma considerable, de hecho el compuesto **460** que posee seis restos de azúcar es el que menor afinidad relativa por resto de azúcar posee.

Estos hechos sugieren la existencia de algún factor que dificulta el reconocimiento de los restos de azúcar por la lectina. Para determinar si esta causa se debe al grupo sulfona procedimos a la oxidación del compuesto **372** que dio lugar a la sulfona **481**. El producto **481** presenta una baja afinidad relativa, especialmente cuando se compara con la afinidad relativa de **372** (la afinidad relativa de **481** resulta ser 1.66 mientras la de **372** es 7.3) lo que nos hace pensar que es el grupo sulfona el causante de esta baja afinidad por *concanavalina A*.





## **V. Síntesis de neoglicoproteínas mediante el empleo de glicosil vinilsulfonas**



## Antecedentes

### Métodos de glicosidación química de proteínas

Aunque las proteínas por si mismas cumplen una gran variedad de funciones en los organismos, cada vez parece más claro que los restos de azúcar unidos a gran parte de estas proteínas son fundamentales para el correcto desempeño de las funciones realizadas por las mismas. El hecho de que más la mitad de las proteínas humanas se encuentren glicosiladas parece apoyarlo y la función de estos glicanos va más allá del reconocimiento de las mismas por lectinas ya que actúan en los procesos de plegado de las proteínas, aumentan la estabilidad térmica de las mismas y les confieren mayor tiempo de vida en el torrente sanguíneo.

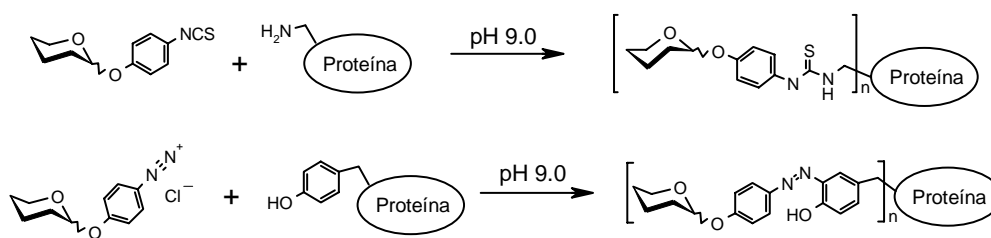
La presencia de glicanos unidos a proteínas no solo es beneficiosa para las proteínas segregadas por el organismo, sino que las proteínas empleadas como fármacos también se ven beneficiadas por la presencia de los mismos:

- Aumentan su capacidad de unión a los tejidos a las que van dirigidas.
- Mejoran sus propiedades inmunogénicas y alergénicas enmascarando parte de la estructura de la proteína.
- También mejoran su perfil farmacocinético por la mayor persistencia de estas proteínas en circulación.
- Aumentan su estabilidad al evitar agregación no específica de las mismas y proporcionarles resistencia al ataque de proteasas.
- Les confieren mayor estabilidad conformacional.

- Por último, las hacen más solubles en disoluciones acuosas.<sup>237</sup>

Uno de los mayores problemas para el estudio de estas glicoproteínas y también para su empleo farmacológico estriba en la heterogeneidad de las glicoproteínas naturales. Este hecho ha incrementado enormemente el interés por los diferentes métodos de obtención de glicoproteínas no naturales que pueden ser clasificados en dos grandes grupos: métodos de síntesis quimioenzimática y métodos para la glicosidación química de estas proteínas.<sup>32j</sup>

Para que los procedimientos químicos de síntesis de glicoproteínas sean eficaces es necesario el empleo de funciones que presenten alta reactividad compatibles con el medio acuoso en el que van a reaccionar. Las lisinas han sido con frecuencia dianas de estas reacciones de glicosidación, debido en parte a la alta reactividad del resto amino primario que poseen y en parte a que son aminoácidos muy comunes en proteínas que por su alta hidrofilia, suelen encontrarse en la superficie de las mismas. Una reacción clásica de glicosidación de proteínas, empleada en numerosas ocasiones, ha sido la reacción entre los grupos lisina de la proteína e isotiocyanatos derivados de azúcares para dar lugar a tioureas<sup>238</sup> (esquema 122). Goldstein y col.<sup>238a</sup> demostraron que esta reacción resulta más adecuada que otros métodos clásicos de glicosidación de proteínas como el empleo de sales de diazonio los cuales, aunque reaccionan preferentemente con tirosinas, también pueden atacar histidinas, lisinas o incluso triptófanos y argininas cuando son empleados grandes excesos de sal de diazonio. Sin embargo el empleo de isotiocyanatos presenta el inconveniente de que son necesarios grandes excesos de agente glicosidante para obtener altos grados de glicosidación de la proteína, en ocasiones el empleo de hasta 200 equivalentes de isotiocianato produce relaciones de glicosidación no demasiado altos<sup>238b</sup> y el empleo de menor cantidad de agente glicosidante puede dar lugar a un bajo grado de glicosidación.<sup>238c</sup>



Esquema 122.

Otra alternativa es el empleo de 2-imino-2-metoxi-1-tioglicósidos que reaccionan con aminas primarias para dar lugar a amidinas<sup>20, 239</sup> (esquema 123). La eficacia de

<sup>237</sup> Khmel'nitsky, Y. L. *J. Mol. Cat. B* **2004**, *31*, 73-81.

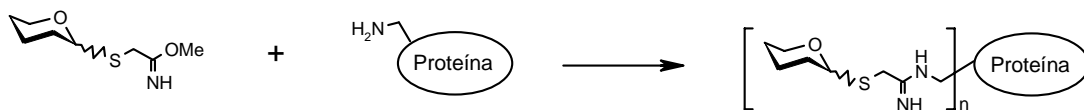
<sup>238</sup> a) McBroom, C. R.; Samanen, C. H.; Goldstein, I. J. *Methods Enzymol.* **1972**, *28*, 212-219.

b) Smith, D. F.; Ginsburg, V. *J. Biol. Chem.* **1980**, *255*, 55-59.

c) Amer, H.; Hofinger, A.; Kosma, P. *Carbohydr. Res.* **2003**, *338*, 35-45.

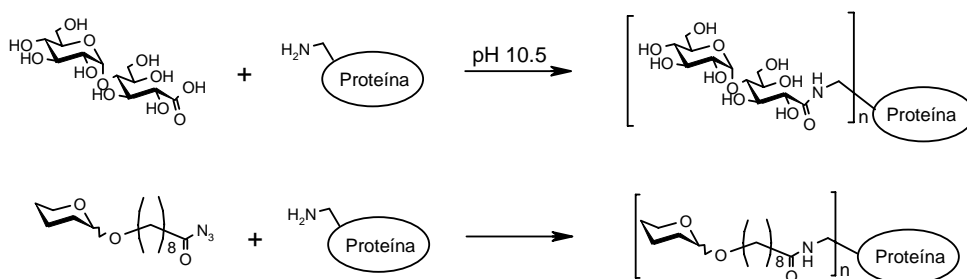
<sup>239</sup> Lee, Y. C.; Stowell, C. P.; Krantz, M. J. *Biochem.* **1976**, *15*, 3956-3963.

esta reacción depende en gran medida de las condiciones empleadas aunque en muchos casos suele ser relativamente baja.



Esquema 123.

La reacción de formación de amidas entre lisinas y ácidos carboxílicos derivados de azúcares, tales como ácido maltónico, permite obtener el correspondiente glicoconjugado con una baja tasa de glicosidación<sup>240</sup> (esquema 124). Esto unido al alto valor de pH necesario para que la reacción transcurra desaconsejan el empleo de la misma en proteínas sensibles al pH. Estas amidas pueden ser formadas en condiciones más suaves mediante métodos alternativos como la reacción con acilazidas derivadas de azúcares cuya alta reactividad permite la glicosidación de un gran número de lisinas empleando bajos excesos de las mismas.<sup>241</sup>



Esquema 124.

Por otra parte, el empleo de escuaratos derivados de azúcares permite la obtención de glicoproteínas de forma eficaz,<sup>242</sup> incluso utilizando bajos excesos de azúcares se obtiene una alta tasa de glicosidación de grupos lisina, sin embargo se ha demostrado que la función escuarato es por si misma inmunogénica<sup>243</sup> lo que hace que el empleo de estas como vacunas sea poco adecuado. Recientemente ha sido comunicado el empleo de ésteres p-nitrofenólicos como excelentes glicosidantes de grupos lisina<sup>243</sup> (esquema 125). Esta técnica permite la glicosidación de proteínas a pH muy suaves aunque tiene como principal desventaja la baja solubilidad de los glicósidos empleados lo que obliga al empleo de DMF como disolvente de los mismos. Además, el número de azúcares por proteína es menor que el obtenido en otros métodos empleados con anterioridad.

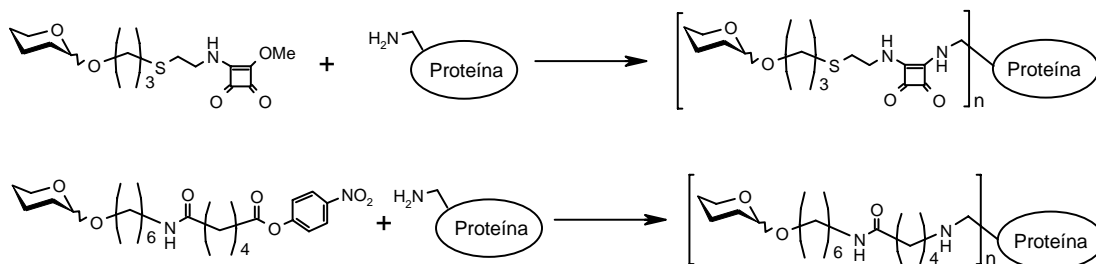
<sup>240</sup> Ashwell, G. *Methods Enzymol.* **1972**, 28, 219-222.

<sup>241</sup> Lemieux, R. U.; Bundle, D. R.; Baker, D. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, 97, 4076-4083.

<sup>242</sup> a) Nitz, M.; Bundle, D. R. *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 8411-8423.

b) Saksena, R.; Ma, X.; Kovac, P. *Carbohydr. Res.* **2003**, 338, 2591-2603.

<sup>243</sup> Wu, X.; Ling, C.-C.; Bundle, D. R. *Org. Lett.* **2004**, 6, 4407-4410.



Esquema 125.

Sin duda, el procedimiento de glicosidación más utilizado para la síntesis de glicoproteínas ha sido mediante reacción de aminación reductiva<sup>244</sup> en la que un aldehído reacciona con una lisina para dar lugar a una imina que posteriormente es reducida para estabilizar la unión, esta reducción se lleva a cabo *in-situ* empleando cianoborhidruro sódico que al ser un reductor suave evita la reducción de los puentes disulfuro de la proteína (esquema 126). Sin embargo estas reacciones presentan problemas al ser poco eficaces por lo que son necesarios grandes excesos de agente glicosidante para obtener glicoproteínas con un número significativo de restos de azúcar. Este problema es especialmente grave cuando se emplea un espaciador corto entre el resto de azúcar y la lisina. Esto ha propiciado que, tras emplear esta reacción, algunos autores prefieran el empleo de una estrategia indirecta que consiste en transformar el grupo amino de la lisina en un grupo 3-mercaptopropionamido y posterior reacción de Michael del tiol sobre un azúcar que contiene un resto maleimida.<sup>244b, 245</sup> Esta reacción resulta más conveniente a pesar de implicar la realización de varias reacciones consecutivas sobre la proteína, Verez-Bencomo y col.<sup>245a</sup> demuestran que esta reacción resulta también más eficaz que las reacciones de sustitución nucleofílica sobre cloro-, bromo- y yodoacetamidatos derivados de azúcares.

<sup>244</sup> a) Bernstein, M. A.; Hall, L. D. *Carbohydr. Res.* **1980**, *78*, C1-C3.

b) Ragupathi, G.; Koganti, R. R.; Qiu, D.; Loyd, K. O.; Livingston, P. O. *Glycoconjugate J.* **1998**, *15*, 217-221.

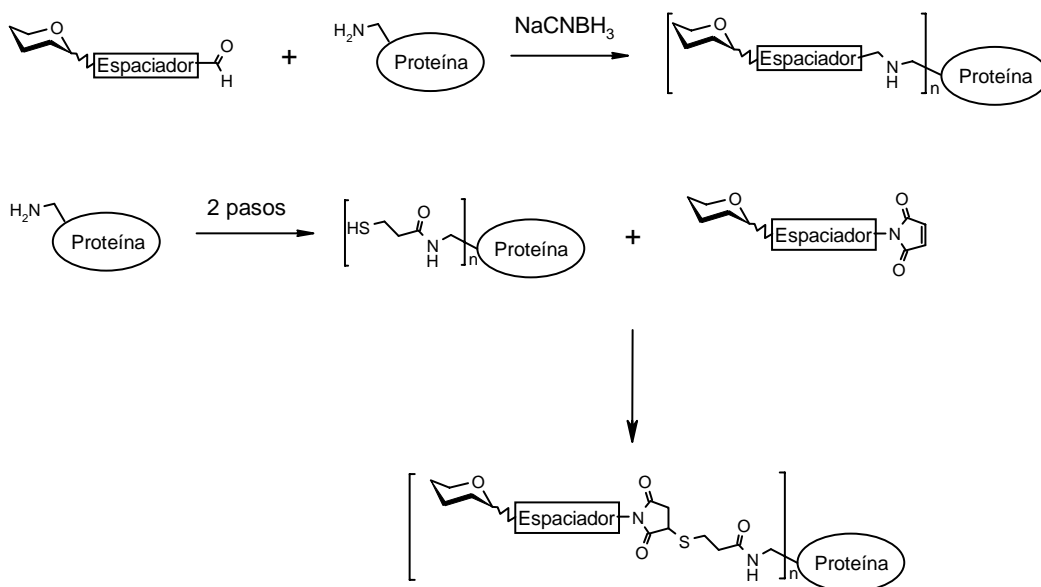
c) Zhang, J.; Yergey, A.; Kowalak, J.; Kovac, P. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *54*, 11783-11792.

d) Xue, J.; Pan, Y.; Guo, Z. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 1599-1602.

e) Clausen, M. H.; Madsen, R. *Carbohydr. Res.* **2004**, *339*, 2159-2169.

<sup>245</sup> a) Fernández-Santana, V.; González-Lio, R.; Sarracent-Pérez, J.; Verez-Bencomo, V. *Glycoconjugate J.* **1998**, *15*, 549-553.

b) Gonzalez-Lio, R.; Thiem, J. *Carbohydr. Res.* **1999**, *317*, 180-190.



Esquema 126.

Además de reacciones sobre los grupos lisina, en ocasiones se han llevado a cabo glicosidaciones sobre otros aminoácidos de las proteínas, por ejemplo la formación de amidas por reacción de ácido glutámico con aminas derivadas de carbohidratos <sup>246</sup> reacción en la que se emplea clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDC) como reactivo de acoplamiento. En concreto han sido realizados experimentos de glicosidación de  $\alpha$ -Quimiotripsina y RNAsa A con glucosamina a pH 5.0 con buenos resultados.



Esquema 127.

Las cisteínas también han sido objetivo frecuente de reacciones de glicosidación, así es posible la reacción de la cisteína libre de BSA con un tioazúcar con el grupo SH activado dando lugar a una glicoproteína unida mediante un puente disulfuro, la activación del grupo SH del azúcar se lleva a cabo mediante la introducción de un grupo 5-nitropiridina-2-sulfonilo en el 1-tioglicósido, este disulfuro activado reacciona con la cisteína a pH 5.0 dando lugar a la glicoproteína deseada <sup>247</sup> (véase

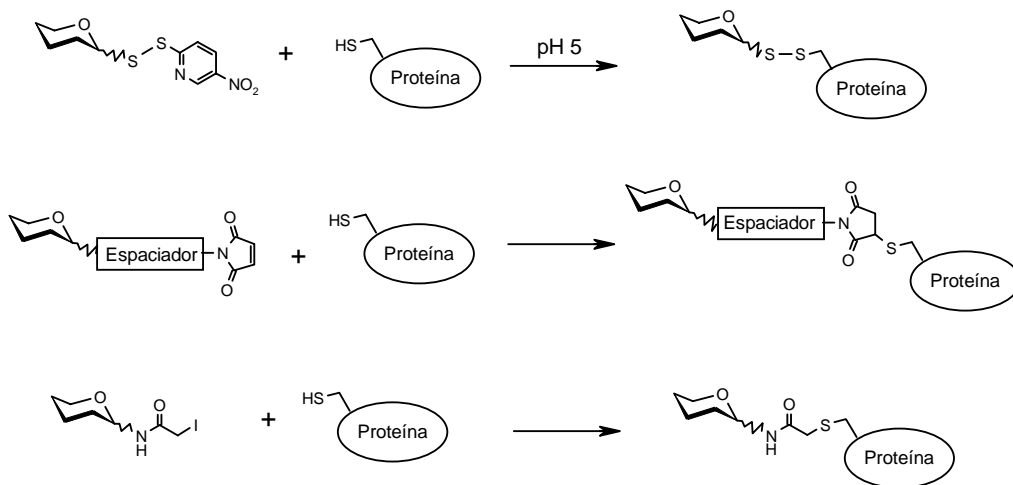
<sup>246</sup> a) Levashov, A. V.; Rariy, R. V.; Martinek, K.; Klyachko, N. L. *FEBS Lett.* **1993**, 336, 385-388.

b) Baek, W.-O.; Vijayalakshmi, M. A. *Biochim. Biophys. Acta* **1997**, 1336, 394-402.

c) Jiang, K.-Y.; Pitiot, O.; Anissimova, M.; Adenier, H.; Vijayalakshmi, M. A. *Biochim. Biophys. Acta* **1999**, 1433, 198-209.

<sup>247</sup> Macindoe, W. M.; van Oijen, A. H.; Boons, G.-J. *Chem. Commun.* **1998**, 847-848.

esquema 128). También es posible la glicosidación de proteínas mediante reacción de Michael entre la cisteína libre de BSA y maleimidas derivadas de azúcares<sup>248</sup> que permiten obtener la BSA monoglicosilada en una estrategia similar a la comentada anteriormente de Ragupathi y col.<sup>244b</sup> Las reacciones de desplazamiento nucleofílico de yodoacetamidas han sido empleadas en ocasiones de nuevo aprovechando la cisteína libre que posee la BSA.<sup>249</sup> El empleo de *N*-acetilglucosaminas derivatizadas en posición 1 con un grupo 2-yodoacetamido permite la obtención de glicoproteínas análogas a las glicoproteínas naturales *N*-glicosiladas con un espaciador un poco mayor debido al grupo CH<sub>2</sub>S.



Esquema 128.

Dado que las proteínas que poseen una cisteína libre son muy escasas la utilidad de estos métodos es limitada, sin embargo, es posible incrementar su utilidad de forma extraordinaria mediante el empleo de proteínas recombinantes en las que un grupo asparagina ha sido sustituido por un grupo cisteína. Mediante el empleo de ambas técnicas ha sido posible la obtención de una glicoproteína derivada de EPO.<sup>250</sup> Con anterioridad a este artículo las proteínas recombinantes habían sido empleadas por Davis y col.<sup>251</sup> para la síntesis de glicoproteínas monoglicosiladas, partiendo de proteínas con cisteínas libres a las que fueron unidas azúcares a través de un puente disulfuro (esquema 129). La reacción de tales proteínas con tiometanosulfonatos derivados de azúcares permite la obtención de estas glicoproteínas. En este caso el pH

<sup>248</sup> Shin, I.; Jung, H.-j.; Lee, M.-r. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 1325-1328.

<sup>249</sup> a) Davis, N. J.; Flitsch, S. L. *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 6793-6796.

b) Wong, S. Y. C.; Guille, G. R.; Dwek, R. A.; Arsequell, G. *Biochem. J.* **1994**, *300*, 843-850.

<sup>250</sup> Macmillan, D.; Bill, R. M.; Sage, K. A.; Fern, D.; Flitsch, S. L. *Chem. Biol.* **2001**, *8*, 133-145.

<sup>251</sup> a) Davis, B. G.; Lloyd, R. C.; Jones, J. B. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 9614-9615.

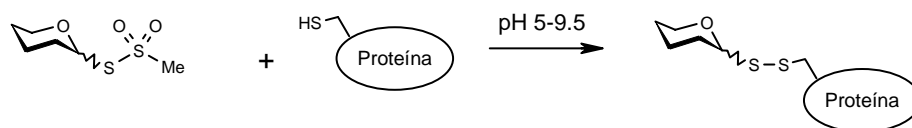
b) Davis, B. G.; Maughan, M. A. T.; Green, M. P.; Ullman, A.; Jones, J. B. *Tetrahedron-Asymmetry* **2000**, *11*, 245-262.

c) Davis, B. G. *Chem. Commun.* **2001**, 351-352.

d) Rendle, P. M.; Seger, A.; Rodrigues, J.; Oldham, N. J.; Bott, R. R.; Jones, J. B.; Cowan, M. M.; Davis, B. G. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 4750-4751.

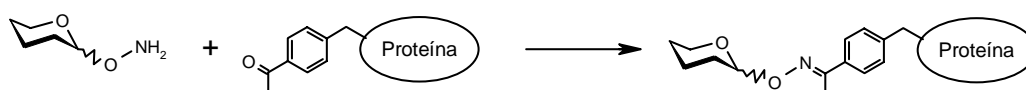


aparentemente no tiene efecto en la reacción pudiendo llevarse a cabo a pH que oscilan entre 5.5 y 9.5.



Esquema 129.

La incorporación de aminoácidos naturales a proteínas no es el único medio de obtener proteínas que pueden ser glicosiladas en una posición. Es posible la introducción de un aminoácido no natural en la secuencia peptídica de la proteína que posteriormente es glicosilada, así el grupo de Wong<sup>252</sup> ha incorporado el aminoácido *p*-acetil-L-fenilalanina que contiene un grupo cetona ausente en las proteínas naturales. Este grupo cetona puede reaccionar con diferentes aminooglicósidos para dar lugar, con buenos rendimientos, a glicoproteínas unidas a través de un enlace tipo oxima.



Esquema 130.

## Resultados y discusión

La obtención de glicoproteínas no naturales aún se halla lejos de una resolución satisfactoria. Las diferentes técnicas de glicosidación química de proteínas adolecen de una baja selectividad respecto a los aminoácidos que reaccionan, aunque es necesario admitir que las técnicas de monoglicosidación selectiva desarrolladas en los últimos años han supuesto un paso adelante en este tema, a pesar de la dificultad que supone la necesidad de partir de proteínas recombinantes. Las técnicas de glicosidación indiscriminada de proteínas tienen como problema adicional la caracterización detallada de esas glicoproteínas ya que, si bien es fácil determinar si la proteína ha sido glicosilada con éxito y el número medio de glicósidos incorporados a estas proteínas mediante técnicas tales como electroforesis o espectrometría de masas, es ciertamente mucho más complicado determinar qué aminoácidos de esa proteína han sido glicosilados.

Cuando decidimos emplear vinilsulfonas derivadas de azúcares para la glicosidación química de proteínas teníamos en mente estos problemas y para evitarlos en lo posible decidimos poner a punto esta técnica con una proteína modelo que facilitara en lo posible la determinación de los aminoácidos de la misma que

<sup>252</sup> Liu, H.; Wang, L.; Brock, A.; Wong, C.-H.; Schultz, P. G. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 1702-1203.

habían reaccionado. Pensamos que la cristalografía de rayos X era una técnica que nos permitiría la caracterización completa de la proteína, aunque para esta técnica es preciso disponer de cristales adecuados de dicha proteína. El reto era, por tanto, una vez glicosilada la proteína conseguir cristalizarla. Como proteína modelo elegimos la lisozima de clara de huevo de gallina que posee las siguientes características de interés para nosotros:

- Es comercial y fácilmente accesible.
- Su estructura es simple y conocida.
- Su peso molecular (14.3 kDa) no es muy alto ni tampoco excesivamente bajo.
- Es una proteína modelo en estudios cristalográficos, lo que hace más sencilla la búsqueda de condiciones de cristalización así como facilita la resolución de la estructura cristalina.
- Su punto isoelectrico es excepcionalmente alto. Como explicaremos más adelante, este hecho nos facilita el seguimiento del desarrollo de la reacción.

Como azúcar empleamos la vinilsulfona derivada de glucosa por ser de estructura simple y fácil de obtener.

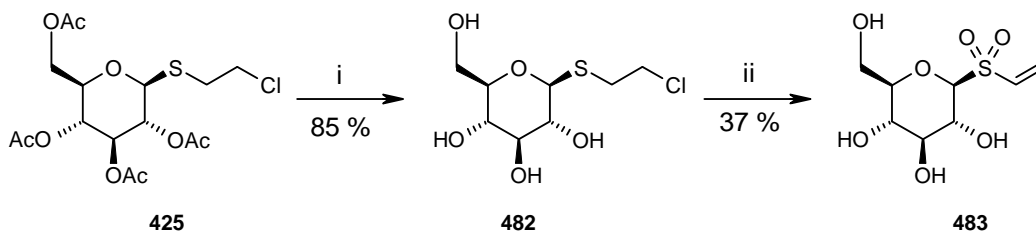
Además de los resultados de los experimentos de glicosidación de aminas primarias y grupos imidazol mediante vinilsulfonas de azúcares descritos en el capítulo anterior, ciertos artículos publicados con anterioridad nos hacen pensar que las glicosil vinilsulfonas pueden ser empleadas para la glicosidación de proteínas. Así Friedman y col.<sup>253</sup> procedieron a la modificación de varias proteínas como BSA y también los poliaminoácidos polilisina y polihistidina con metil vinilsulfona y etil vinilsulfona. Estas alquilaciones fueron realizadas en tampón borato a pH 9.5 tanto en agua como en mezclas DMSO/agua, la posterior hidrólisis de estas proteínas y análisis de los aminoácidos de las mismas permitieron determinar la desaparición de la lisina y la formación de dos nuevos compuestos que los autores atribuyeron a los productos de monoalquilación y dialquilación del grupo amino primario de la lisina. De la misma forma los grupos histidina también son alquilados pero la velocidad de esta reacción es muy inferior. Cuando estas proteínas son desnaturizadas mediante tratamiento con n-tributilfosfina con el objeto de reducir los puentes disulfuros y hechas reaccionar con metil o etil vinilsulfona se observa que los grupos cisteína también reaccionan con estas vinilsulfonas.

---

<sup>253</sup> a) Friedman, M.; Finley, J. W. *Int. J. Peptide Protein Res.* **1975**, 7, 481-486.  
b) Masri, M. S.; Friedman, M. J. *Protein Chem.* **1988**, 7, 49-54.

## Síntesis de etenil 1-tio-β-D-glucopiranosido S-dióxido

Para la síntesis de la vinilsulfona que precisamos para la glicosidación de la proteína seguimos un procedimiento de dos pasos a partir del compuesto **425** cuya síntesis se muestra en el capítulo anterior, la des-O-acetilación de este compuesto se realiza con Et<sub>3</sub>N en metanol lo que permite obtener el compuesto **482** con buen rendimiento. La oxidación del mismo realizada mediante H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y posterior tratamiento con K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> en acetona a reflujo permite la obtención de la vinilsulfona **483**.



**Esquema 131.** Condiciones: i) Et<sub>3</sub>N, MeOH, t. a.; ii) (a) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, AcOH, t. a.; (b) K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, acetona, reflujo.

## Glicosidación y caracterización de lisozima comercial

La glicosidación es realizada en mezcla de tampón PBS pH 7.7 e isopropanol 9:1 v/v, condiciones de reacción que son compatibles con la naturaleza biológica de las proteínas. Hemos elegido tampón fosfato porque además de ser efectivo a valores de pH comprendidos entre 6 y 9 no tiene posibilidad de reaccionar con la vinilsulfona al contrario que otros tampones que contienen aminas, como el TRIS, de uso general en Bioquímica.

La adición de alcohol altera la solubilidad de la proteína y además cambia la constante dieléctrica del medio, dicho cambio puede desnaturalizar la proteína. Para evaluar la estabilidad de la lisozima en el medio de reacción medimos la absorbancia de varias disoluciones de proteína a 280 nm para comprobar que no varía a lo largo del tiempo. La figura 36 muestra tales medidas. Como se puede observar esta absorbancia no varía en ninguna de las concentraciones evaluadas por lo que concluimos que en las condiciones empleadas para la reacción la lisozima no se ve afectada.

### Lisozima en PBS:iPrOH 9:1 v/v

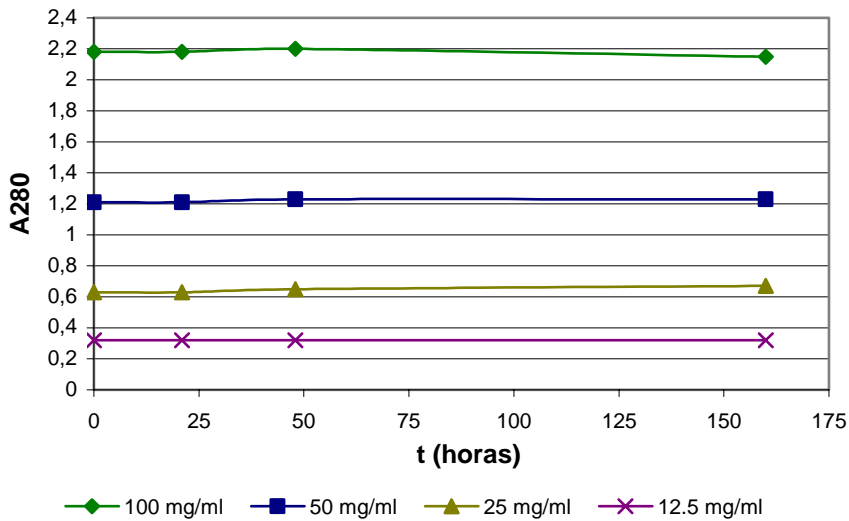


Figura 36. Absorbancia de diferentes concentraciones de taumatina en función del tiempo.

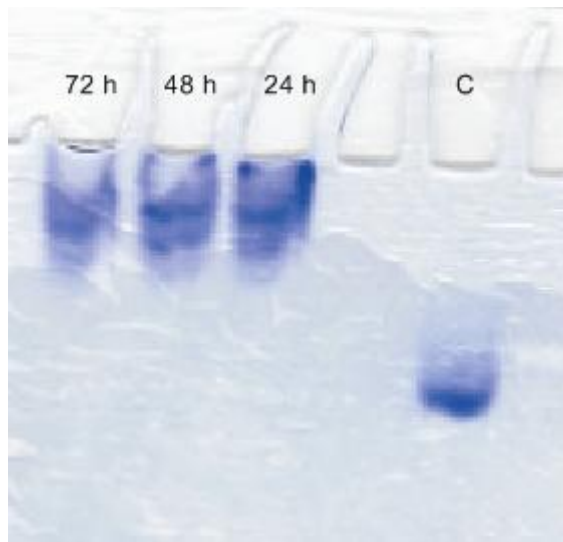
La concentración finalmente elegida para la reacción es 50 mg/mL de lisozima a la que se añadirán 21 equivalentes (19 mg/mL) de **483**. La reacción es controlada cada 24 horas. Para ello tomamos una parte alícuota, dializamos frente a tampón acetato a pH 4.5 y le realizamos electroforesis tanto nativa como SDS.

Tras la reacción se realiza la diálisis de la muestra con tampón a pH 4.5, esta diálisis nos permite conseguir un triple objetivo:

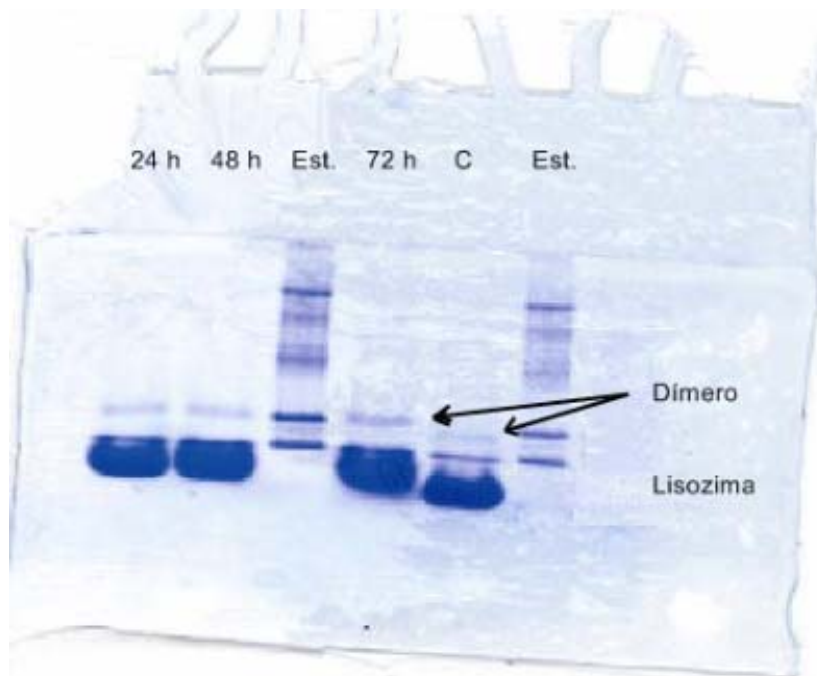
- Finalizar la reacción: A ese pH la reacción se detiene.
- Eliminar mediante diálisis el azúcar que no ha reaccionado.
- Cambiar el tampón: El tampón PBS es propenso a producir cristales con muchos de los contraiones más comunes.

Al emplear una proteína con un punto isoeléctrico tan elevado, cuando la hacemos reaccionar con vinilsulfona eliminamos carga positiva, con lo que su punto isoeléctrico disminuye de forma acusada. Cuando se realiza una electroforesis nativa de la misma es necesario emplear una polaridad inversa a la empleada habitualmente ya que al rango de pH de los tampones empleados en la electroforesis estas proteínas con tanta carga positiva migrarían en la dirección contraria a la habitual, saliéndose del gel de electroforesis.

Realizamos electroforesis nativa en gel de poliacrilamida con un 12 % de acrilamida (figura 37) así como electroforesis SDS (figura 38). La detección se realiza mediante tinción con azul de coomasie.



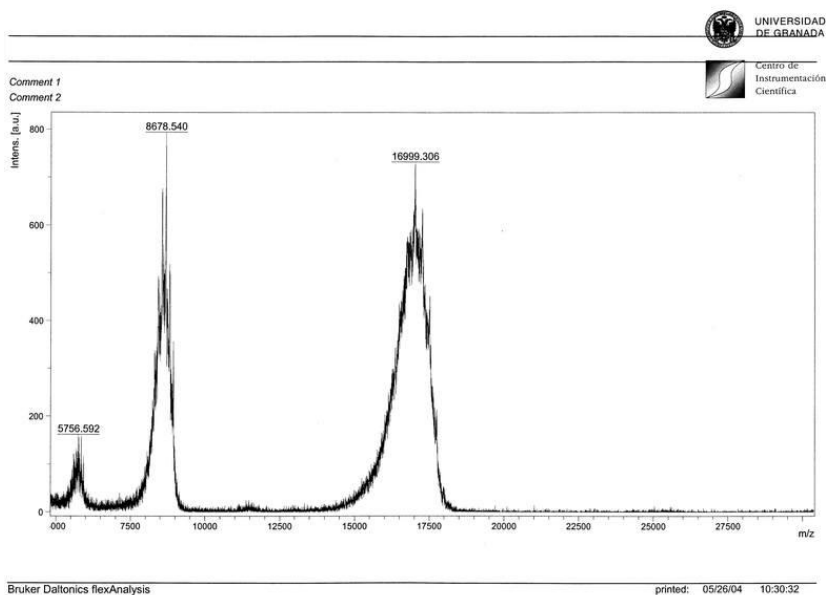
**Figura 37.** Electroforesis nativa. De izquierda a derecha las muestras de reacción a 72, 48 y 24 horas y la lisozima control sin glicosidar (C).



**Figura 38.** Electroforesis SDS en gel de poliacrilamida. De izquierda a derecha las muestras de reacción a 24 y 48 horas, estándar de peso molecular (Est.), reacción a 72 horas, control (C) y estándar de peso molecular (Est.)

En la electroforesis nativa se observa que la reacción parece finalizar en tan solo 24 horas, tras ese periodo de tiempo no hay apenas variación en el patrón de bandas. En la electroforesis SDS se puede observar que tras 24 horas la proteína migra ligeramente menos, esto se ve más claramente en la banda fina que aparece en todas las calles de lisozima y que corresponde con un dímero de lisozima que esta proteína comercial posee como impureza. Se observa como esta banda ha migrado ligeramente menos en la lisozima que ha sido hecha reaccionar y que se ha desplazado lo mismo a 24, 48 y 72 horas de reacción.

El espectro de masas MALDI-TOF del producto de reacción tras la diálisis muestra un pico molecular de 16999 de masa media.



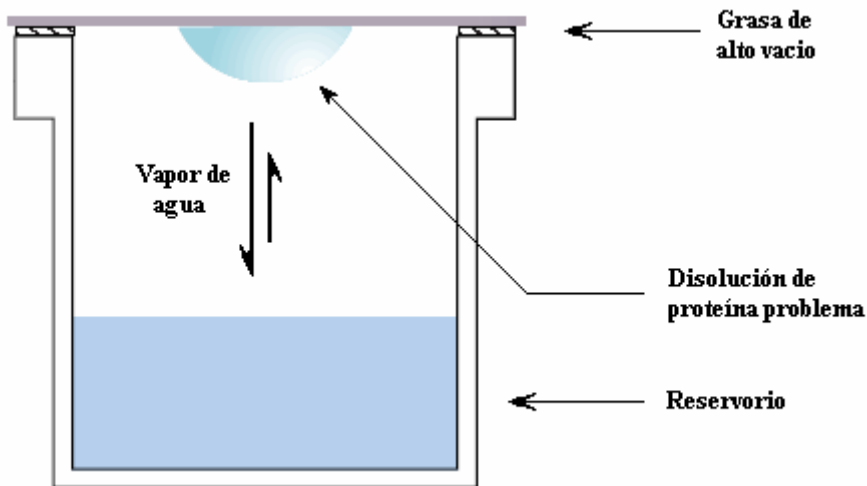
**Figura 39.** Espectro MALDI-TOF de la muestra de lisozima glicosilada.

Como paso previo a la resolución de la estructura por rayos X es preciso cristalizar la proteína. La lisozima comercial ha sido cristalizada en numerosas condiciones. Dependiendo de las condiciones de cristalización es posible obtener cristales de diferentes simetrías,<sup>254</sup> entre ellas tetragonal (grupo espacial  $P4_32_12$ ) y ortorrómbica (grupo espacial  $P2_12_12_1$ ). Los intentos cristalizar la glicoproteína obtenida por nosotros en condiciones en las que se consiguen cristales de simetría tetragonal (tampón acetato pH 4.5 y cloruro sódico) no han tenido éxito. Este hecho parece estar de acuerdo con el artículo publicado por Rypniewski y col.<sup>255</sup> en el que demuestran que la metilación de los residuos de lisina de la lisozima impide a ésta cristalizar con simetría tetragonal.

<sup>254</sup> Forsythe, E. L.; Snell, E. H.; Malone, C. C.; Pusey, M. L. *J. Cryst. Growth* **1999**, *196*, 332-343.

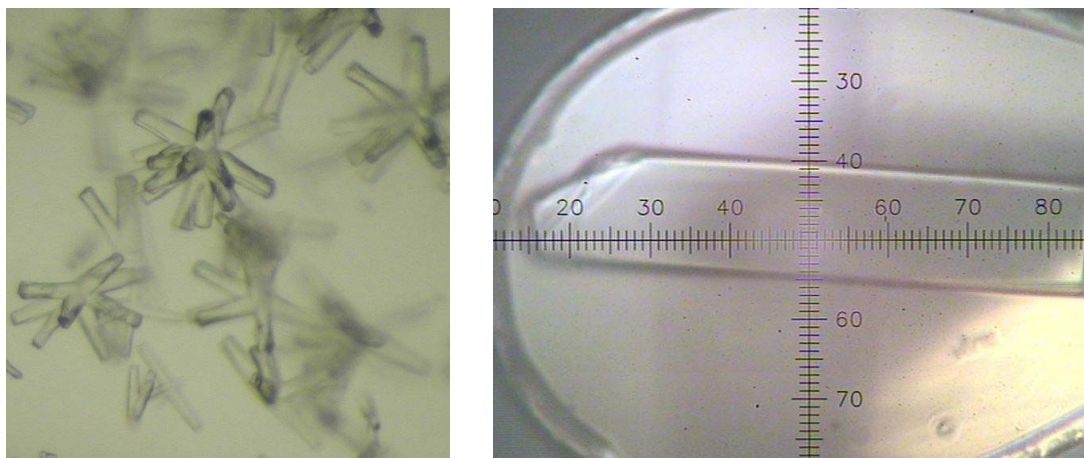
<sup>255</sup> Rypniewski, W. R.; Holden, H. M. Rayment, I. *Biochemistry* **1993**, *32*, 9851-9858.

La cristalización se realiza mediante la técnica de la gota colgante (figura 40). Una gota conteniendo 1.5  $\mu\text{L}$  de disolución de proteína (25 mg/mL) en tampón acetato a pH 4.5 y 1.5  $\mu\text{L}$  de disolución de  $\text{MgSO}_4$  (0.25 - 1.5 M) en tampón TRIS pH 6.9 procedente del reservorio son equilibradas frente a 500  $\mu\text{L}$  de disolución del reservorio. Tras tres semanas de equilibrio al reservorio se le añade 100  $\mu\text{L}$  de disolución NaCl 2 M y 5 días después aparecen cristales maclados en varias de las muestras.



**Figura 40.** Técnica de cristalización de la gota colgante.

Como se puede observar en la figura 41 los cristales obtenidos son maclas con una morfología y tamaño que permitieron aislar cristales únicos.



**Figura 41.** Cristales maclados obtenidos (izquierda) y fragmento que fue difractado (derecha).

El experimento de difracción se lleva a cabo con radiación sincrotrón en el ESRF de Grenoble. La alta intensidad de radiación empleada permite una elevada

resolución. La tabla 16 muestra los principales datos del experimento de difracción de rayos X llevado a cabo.

Valores entre paréntesis corresponden al intervalo de mayor resolución.

<b>Recogida de datos</b>	
Fuente de rayos X	BM16, ESRF
Longitud de onda (Å)	0.98
Nº de cristales	1
Temperatura de la recogida de datos (K)	100
Grupo espacial	P2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub>
Parámetros de la celdilla unidad (Å)	$a = 30.58, b = 32.97, c = 120.27$
<b>Colección de datos</b>	
Rango de resolución (Å)	15.00-1.6 (1.70-1.60)
Reflexiones medidas	85461 (14050)
Reflexiones únicas	16442 (2657)
Finalización [ $I/\sigma(I) \geq 0$ ] (%)	97.9 (97.0)
Finalización [ $I/\sigma(I) \geq 3$ ] (%)	91.6 (78.1)
R <sub>merge</sub> (%)	3.8 (15.3)
I/ $\sigma(I)$ medio	24.93 (10.71)

**Tabla 16.** Resumen del experimento de difracción.

Como hemos dicho anteriormente la lisozima comercial cristaliza en numerosos grupos espaciales. En el cristal difractado las moléculas de proteína se ordenan según una red ortorrómbica. Para el grupo espacial P2<sub>1</sub>2<sub>1</sub>2<sub>1</sub> las dimensiones de la celdilla se encuentran en el rango  $a = 30.4\text{-}30.9$  Å,  $b = 56.0\text{-}59.3$  Å,  $c = 65.2\text{-}73.8$  Å. En el caso de los cristales obtenidos por nosotros las dimensiones de la celdilla unidad son diferentes, lo cual es coherente con la glicosidación de la proteína.

Se ha llevado a cabo la resolución de la estructura de rayos X. En la siguiente tabla aparecen los diferentes aminoácidos que pueden ser glicosilados, si se encuentran libres o han sido glicosilados y la ocupancia de cada uno de los glicósidos que han sido introducidos.

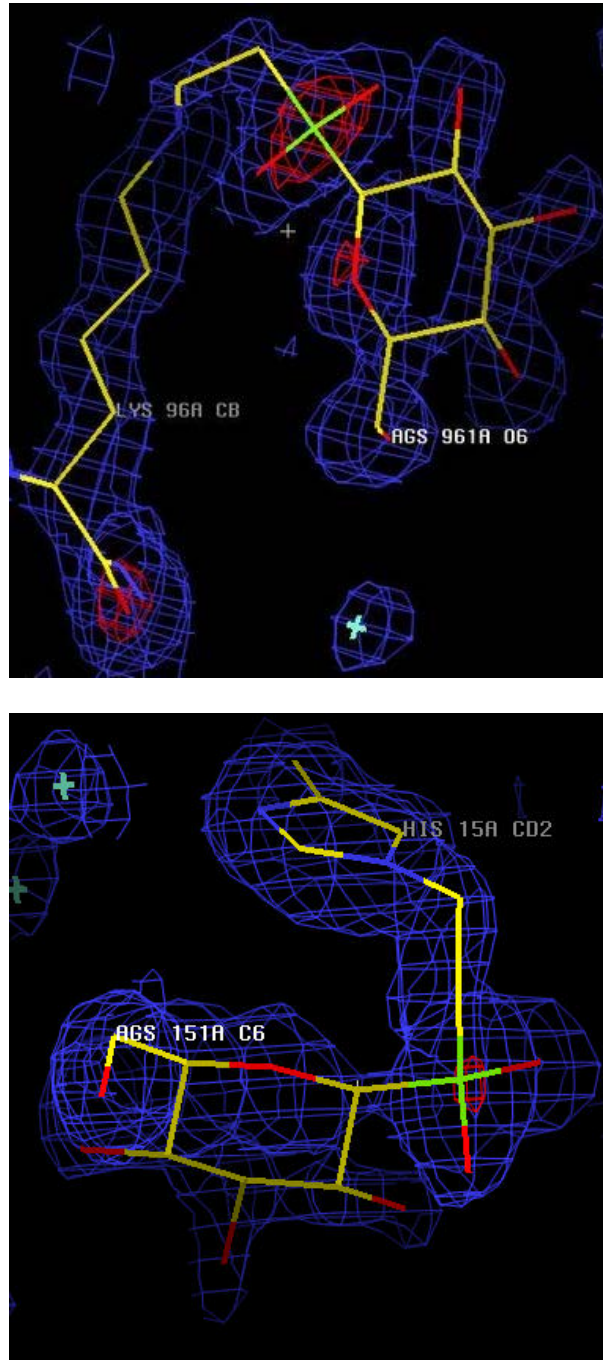
<b>Aminoácido</b>	<b>Estado</b>	<b>Ocupancia</b>
Extremo amino	No glicosilado	--
Lisina 1	No glicosilada	--
Lisina 13	No glicosilada	--
Histidina 15	Glicosilada	0.98
Lisina 33	No glicosilada	--
Lisina 96	Diglicosilada	1.00 y 0.98
Lisina 97	Monoglicosilada	1.00
Lisina 116	No glicosilada	--

**Tabla 17.**

Como puede observarse la histidina 15 (fig. 44 izquierda) ha sido glicosilada y también han sido glicosiladas dos lisinas: la lisina 96 (fig. 44 derecha) que ha sido modificada con dos restos de azúcar y la lisina 97 que ha reaccionado con una sola



glucopiranosil vinilsulfona. Sin embargo, ni el extremo amino de la proteína ni el resto de lisinas han sido glicosiladas. Como se puede observar en los valores de ocupancia la glicosilación producida ha sido muy homogénea: la mayoría de las proteínas de la muestra cristalina poseen 4 restos de azúcar en su estructura en las posición anteriormente mencionadas.



**Figura 42.** Mapa  $2F_o - F_c$  a  $1.2 \sigma$  (azul) y  $4 \sigma$  (rojo) que muestra la densidad electrónica que definen un azúcar unido a lisina 96 (arriba) e histidina 15 (abajo).

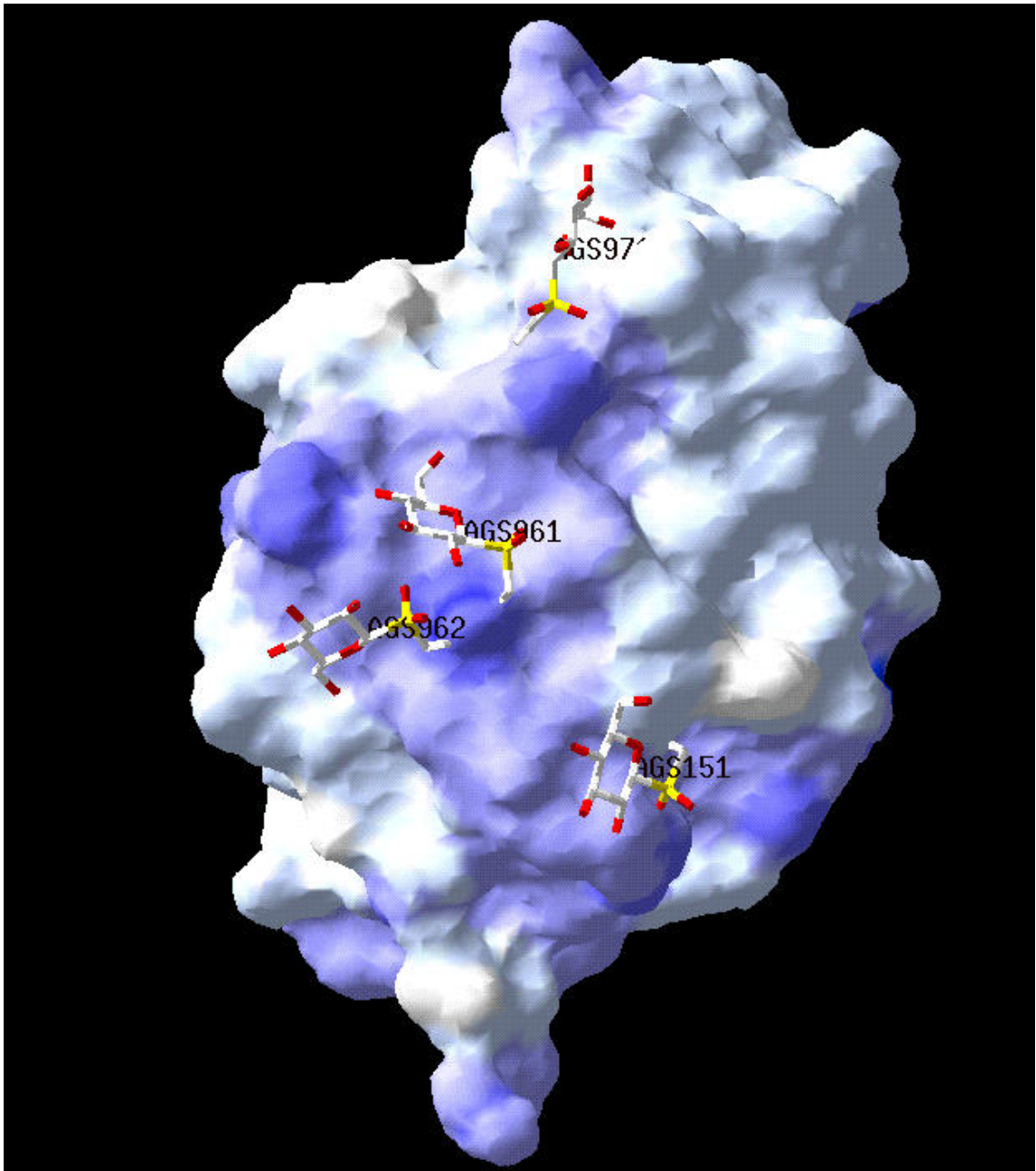


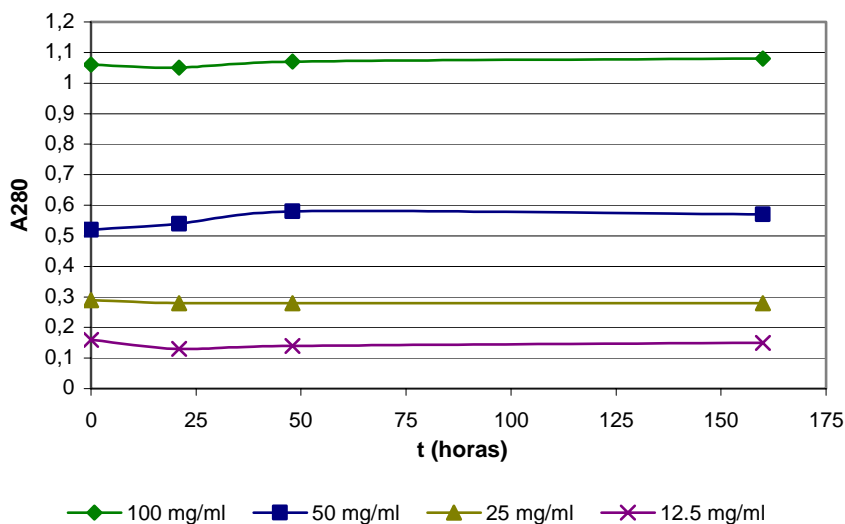
Figura 43. Estructura de la lisozima glicosilada.

## Glicosidación de otras proteínas: Taumatina

Para generalizar resultados hemos procedido a la glicosidación de la taumatina. Esta proteína tiene un peso molecular de 22.2 kDa, posee once lisinas y carece de histidinas.

La reacción se lleva a cabo en mezclas de tampón PBS pH 7.7 e isopropanol 9:1 v/v. Como en el caso de la lisozima procedemos a evaluar la estabilidad de esta proteína en el medio de reacción midiendo la absorbancia de varias disoluciones de proteína a 280 nm. En este caso se observa una fuerte variación de la absorbancia en las primeras horas para las disoluciones de mayor concentración. Esto puede ser debido a una desnaturalización de la taumatina. Por ello la concentración de proteína empleada es de 25 mg/mL.

### Taumatina en PBS:iPrOH 9:1 v/v

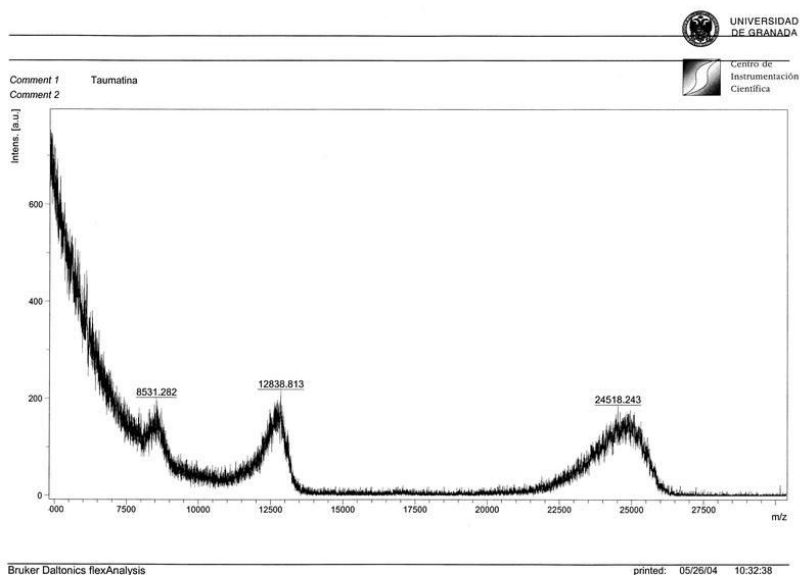


**Figura 44.** Absorbancia de diferentes concentraciones de taumatina en función del tiempo.

Debido a que la taumatina contiene 11 lisinas la cantidad de azúcar empleado es mayor, en concreto 36 equivalentes de azúcar por proteína lo que equivale a 10.5 mg/mL de agente glicosidante.

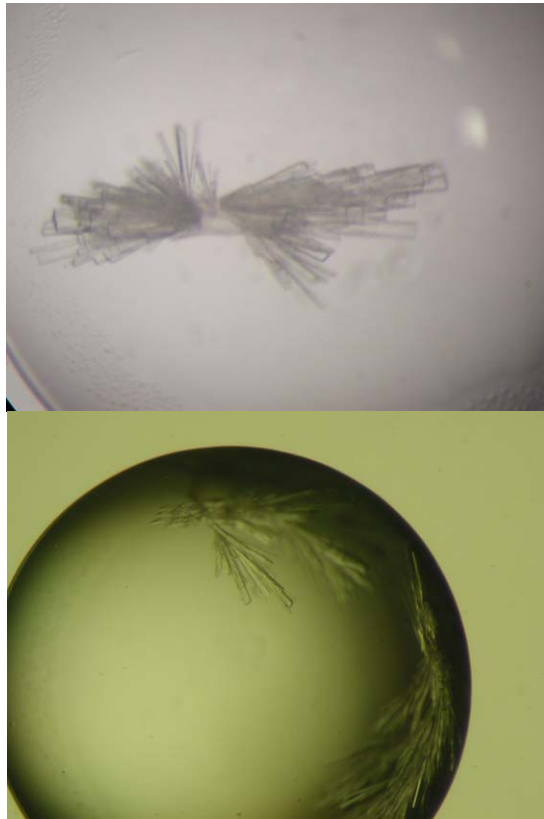
El seguimiento del progreso de la reacción se lleva a cabo, como en el caso de la lisozima, tomando una alícuota de la mezcla de reacción cada 24 horas, dializándola frente a tampón acetato pH 4.5 y realizando una electroforesis de la misma. Como en el caso de la lisozima se produce una disminución muy rápida de la taumatina de partida. A las 24 horas la taumatina de partida ha desaparecido completamente y tras un periodo de tiempo entre 24 y 48 horas no se observan cambios en el progreso de la reacción.

Tras 72 horas de reacción se procede a dializar la muestra frente a tampón acetato pH 4.5 y se realiza un espectro de masas MALDI-TOF (figura 45) que muestra un solo pico molecular de masa media 24518.



**Figura 45.** Espectro MALDI-TOF de la taumatina glicosilada.

La cristalización de la muestra se lleva a cabo mediante la técnica de la gota colgante. Tras un rastreo de diferentes condiciones de reacción se obtienen cristales muy maclados de los que no es posible aislar monocristales (figura 46). En estos momentos se está procediendo a la optimización de condiciones de cristalización que conduzcan a monocristales para la posterior resolución de su estructura mediante difracción de rayos X.



**Figura 46.** Cristales de taumatina glicosilada obtenidos en diferentes condiciones de cristalización.

### **Ventajas de la glicosidación de proteínas con glicosil vinilsulfonas**

- Se trata de un proceso post-purificación. En la mayoría de las técnicas biológicas de obtención de glicoproteínas es preciso aislar el clon que codifica la proteína para introducir sitios de glicosidación mediante mutagénesis dirigida y expresar la proteína en el vector apropiado para que sea glicosilada. Una vez expresada es necesario su purificación. La aproximación que hemos desarrollado, como en la mayoría de procedimientos de glicosidación química, parte de la proteína ya pura, con la ventaja adicional de que los grupos reactivos (lisinas e histidinas) se encuentran presentes en todas las proteínas sin necesidad de realizar mutagénesis dirigida.
- Las condiciones de reacción son compatibles con la naturaleza biológica de las proteínas.

- La reacción se lleva a cabo sin que sea preciso la adición de ningún otro reactivo aparte de la glicosil vinilsulfona. Esto hace que la reacción sea limpia y pueda ser llevada a cabo en cualquier laboratorio biológico.
- Las glicosil vinilsulfonas empleadas son compuestos que se sintetizan de forma muy sencilla a través de reacciones aplicables a numerosos carbohidratos. Por tanto nuestra aproximación puede ser generalizada para la mayoría de las proteínas y azúcares.
- En el caso de la lisozima, la glicosidación de la proteína es homogénea en el sentido de que todas las proteínas son glicosiladas en los mismos aminoácidos. Este hecho nos permite la obtención de proteínas glicosiladas con una pureza suficiente para ser cristalizadas.

## **VI. Conclusiones**





- 1) Se ha desarrollado un nuevo procedimiento de síntesis de 2-nitroetil glicósidos derivados de D-glucosa y D-manosa por reacción de las correspondientes glicopiranosas per-*O*-acetiladas y nitroetanol mediante catálisis de  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ .
- 2) Se ha desarrollado un nuevo procedimiento de síntesis de neoglicoconjugados multivalentes mediante cicloadición 1,3-dipolar de óxidos de nitrilo y alquinos terminales. Los correspondientes óxidos de nitrilo han sido generados *in-situ* a partir de nitroetilderivados y de oximas. Esta metodología ha permitido la obtención de sistemas divalentes, trivalentes y tetravalentes conteniendo *O*- o *C*-glicósidos. La adecuada elección de productos de partida ha permitido la obtención de sistemas homo y hetero-divalentes.
- 3) Se han realizado estudios de afinidad frente a la lectina *concanavalina A* de los neoglicoconjugados que poseen manosa, obtenidos mediante cicloadición 1,3-dipolar de óxidos de nitrilo y alquinos, siguiendo el procedimiento ELLA. Estos estudios ponen de manifiesto que se produce un aumento significativo de la afinidad por la lectina de los neoglicoconjugados divalentes de mayor rigidez estructural. Por otra parte, los resultados obtenidos revelan por vez primera que sistemas multivalentes conteniendo  $\beta$ -*C*-manósidos presentan afinidad por *concanavalina A*.
- 4) Se ha desarrollado una nueva metodología de síntesis de triazoles 1,4-disustituidos por reacción de cicloadición 1,3-dipolar de azidas y alquinos terminales ("*click-chemistry*"). Los estudios realizados han demostrado que estas cicloadiciones transcurren de forma regioselectiva, con altos rendimientos y en cortos periodos de tiempo cuando se emplean como catalizadores los complejos de  $\text{Cu(I)}$ ,  $(\text{Ph}_3\text{P})_3 \cdot \text{CuBr}$  y  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$ , solubles en disolventes orgánicos e irradiando con microondas.
- 5) Mediante la citada metodología han sido obtenidos numerosos neoglicoconjugados multivalentes (divalentes, trivalentes, tetravalentes, hexavalentes y heptavalentes) que contienen *O*-glicósidos o *S*-glicósidos.
- 6) Se han realizado estudios de afinidad frente a la lectina *concanavalina A* de los citados neoglicoconjugados siguiendo el procedimiento ELLA. Los resultados obtenidos ponen de manifiesto una mayor afinidad de los neoglicoconjugados que contienen *S*-manosidos respecto a los que contienen *O*-manosidos. También se observa un aumento de la afinidad al aumentar la valencia del neoglicoconjugado (efecto cluster).
- 7) Mediante "*click-chemistry*" se han sintetizado sistemas complejos tales como bis-ciclodextrinas, diversos sistemas mixtos bis-ciclodextrinas-calix[4]areno, y bis-éteres corona.
- 8) Se ha desarrollado una metodología eficiente para la síntesis de glicopiranosil vinilsulfonas derivadas de monosacáridos (glucosa y manosa) y disacáridos (lactosa).

- 9) Se ha realizado un estudio exhaustivo de la reactividad de estas glicopiranosil vinilsulfonas como aceptores de Michael frente a diversas aminas. Las aminas empleadas han sido monoaminas primarias y secundarias así como poliaminas conteniendo aminas primarias o primarias y secundarias. Estos estudios ponen de manifiesto que es posible modular la reactividad de las aminas primarias mediante una adecuada elección de la estequiometría de los reactivos y de las condiciones de reacción de tal manera que se puede obtener exclusivamente el producto de adición 1:1 o de adición 2:1 vinilsulfona-amina primaria. Esta metodología ha permitido obtener homoglicoconjugados y heteroglicoconjugados.
- 10) El uso de propargilamina y 2-azidoetilamina ha permitido obtener en las reacción de adición 1:2 tipo Michael con glicopiranosil vinilsulfonas sistemas divalentes conteniendo una función alquino terminal o azida, respectivamente. La reacción de cicloadición 1,3-dipolar de estos sintones con complementariedad funcional ha conducido a la síntesis de sistemas homotetravalentes.
- 11) El sistema divalente resultante de la adición 1:2 tipo Michael de propargilamina y manopiranosil vinilsulfona resulta ser un adecuado sintón de sistemas tetravalentes mediante reacciones de acoplamiento oxidativo tipo Glaser o reacciones tipo Sonogashira.
- 12) Con algunos de los neoglicoconjugados resultantes de las adiciones tipo Michael de manopiranosil vinilsulfonas y aminas se han llevado a cabo estudios de afinidad frente a la lectina *concanavalina A* empleando la técnica ELLA. Estos experimentos ponen de manifiesto que los sistemas monovalentes poseen una afinidad relativa superior a metil  $\alpha$ -D-manósido. Sin embargo, en los sistemas de adición 2:1 vinilsulfona-amina primaria la afinidad por resto de azúcar disminuye de forma considerable.
- 13) Se describe por primera vez un nuevo procedimiento de obtención de neoglicoproteínas basado en la reactividad de glicopiranosil vinilsulfonas. Como enzimas modelo se han utilizado lisozima y taumatina las cuales han sido tratadas con glucopiranosil vinilsulfona a temperatura ambiente y pH 7.7 En el caso de la lisozima se han podido aislar monocristales de una lisozima modificada. Los resultados previos de difracción de Rayos X pone de manifiesto que ha tenido lugar la ligación química de cuatro restos de azúcar a la cadena proteica. Esta reacción presenta como ventaja frente a otros procedimientos de glicosidación de proteínas el hecho de que no es necesario la adición de ningún reactivo aparte de la glicopiranosil vinil sulfona así como de que las condiciones de reacción son compatibles con la naturaleza biológica de las proteínas.

## **VII. Parte experimental**



## Materiales y métodos generales

Las cromatografías en capa fina fueron realizadas sobre hojas de aluminio con sílica gel 60 F<sub>254</sub> marca Merck utilizando para el revelado una disolución de ácido sulfúrico en etanol al 10% v/v, alternativamente también fueron empleados como reveladores una disolución de ninhidrina en etanol, sulfato cérico (1 % p/v) y sulfato amónico (2.5 % p/v) en ácido sulfúrico al 10 % v/v, yodo o luz ultravioleta cuando fue posible. La purificación de los productos obtenidos se llevó a cabo por cromatografía en columna de presión, utilizando sílica-gel marca Merck (230-400 mesh). Los puntos de fusión fueron realizados en un GallekaMP Melting Point y no están corregidos. Las medidas de rotación óptica fueron realizadas en un polarímetro Perkin-Elmer modelo 141 a temperatura ambiente. Los espectros de infrarrojo fueron realizados en un espectrómetro Satellite Mattson FTIR. Los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) de <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C se realizaron a temperatura ambiente en aparatos Bruker AM300 y AM400. Los desplazamientos químicos de <sup>1</sup>H-RMN se expresan en ppm y empleando como referencia interna CHCl<sub>3</sub> ( $\delta = 7.26$  ppm) del CDCl<sub>3</sub>. Los desplazamientos químicos de <sup>13</sup>C-RMN son expresados en ppm empleando como referencia interna la señal de CDCl<sub>3</sub> ( $\delta = 77.0$  ppm). Los valores de acoplamiento de señales (*J*) se dan en hertzios. Las asignaciones se han realizado basándose en experimentos COSY, HMQC, NOESY y DEPT. Los espectros de masas FAB+ han sido realizados en un aparato Fissons VG Autospec-Q utilizando como matrices tioglicerol, glicerol o ácido dihidroxibenzoico, los espectros de masa MALDI-TOF fueron realizados utilizando un aparato Bruker modelo Autoflex.

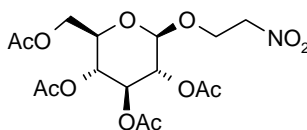
Todos los disolventes anhidros fueron preparados siguiendo procedimientos descritos.<sup>256</sup> Todos los reactivos empleados así como los disolventes fueron de alta pureza y se adquirieron a diferentes marcas comerciales (Aldrich, Sigma, Flucka, Merck...).

## Síntesis de neoglicoconjugados basados en isoxazoles

### Síntesis de los nitro derivados 203 y 210

A una disolución fría (0 °C) de **207** ó **209** (2 g, 5.13 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anhidro (50 mL) y 2-nitroetanol (2 mL, 28 mmol) fue añadido lentamente BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O (1 mL, 7.7 mmol). La disolución fue mantenida a t. a. con agitación magnética durante 16 h, tras lo cual fue lavada con una disolución acuosa saturada de NaHCO<sub>3</sub> (3 x 50 mL) y agua (50 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y fue evaporada para dar un crudo que fue purificado mediante cromatografía en columna (éter etílico-hexano 5:1).

### 2-Nitroetil 2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosido (203)



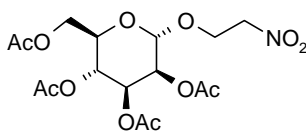
Aislado como sólido con un rendimiento del 71%:

P.F. 118-120 °C (lit. 114-115 °C)<sup>145</sup>;

<sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ 5.21 (t, 1 H, *J* = 9.5 Hz, H-3), 5.06 (t, 1 H, *J* = 9.7 Hz, H-4), 4.95 (dd, 1 H, *J* = 9.5 y 8.2 Hz, H-2), 4.61 (d, 1 H, *J* = 7.9 Hz, H-1), 4.65-4.50 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>NO<sub>2</sub>), 4.35-4.10 (m, 4 H, H-6, H-6' y CH<sub>2</sub>O), 3.77 (ddd, 1 H, *J* = 9.9, 4.4 y 2.4 Hz, H-5), 2.09, 2.02, 2.02, 2.00 (4 s, 12 H, Ac);

<sup>13</sup>C RMN (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz): δ 170.3, 169.8, 169.2, 169.1 (CO), 100.8 (C-1), 74.6 (CH<sub>2</sub>NO<sub>2</sub>), 72.2 (C-3), 71.7 (C-5), 70.5 (C-2), 68.0 (C-4), 65.2 (C-6), 61.5 (CH<sub>2</sub>O), 20.4, 20.3, 20.1 (CH<sub>3</sub>CO).

<sup>256</sup> Perrin, D. D.; Armarego, W. L. F. *Purification of Laboratory Chemicals*, 3<sup>a</sup> Ed., Pergamon, Oxford, 1988.

**2-Nitroetil 2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\alpha$ -D-manopiranosido (210)**

Aislado como sólido con un rendimiento del 74%:

P.F. 73-75°C;

$[\alpha]_D +41^\circ$  (c 1, cloroformo);

IR (KBr) 1747, 1557, 1371, 1225  $\text{cm}^{-1}$ ;

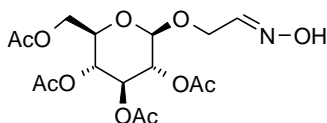
$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  5.28 (t, 1 H,  $J = 9.6$  Hz, H-4), 5.24 (d, 1 H,  $J = 3.0$  Hz, H-2), 5.22 (dt, 1 H,  $J = 9.6$  y 3.0 Hz, H-3), 4.88 (s, 1 H, H-1), 4.66 (ddd, 1 H,  $J = 14.4$ , 7.2 y 3.3 Hz,  $\text{CH}_2\text{NO}_2$ ), 4.59 (ddd, 1 H,  $J = 14.4$ , 5.5 y 3.5 Hz,  $\text{CH}_2\text{NO}_2$ ), 4.33 (ddd, 1 H,  $J = 15.5$ , 7.3 y 3.3 Hz,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 4.28 (dd, 1 H,  $J = 12.4$  y 5.4 Hz, H-6), 4.15 (dd, 1 H,  $J = 12.3$  y 2.4 Hz, H-6), 4.01 (ddd, 1 H,  $J = 11.5$ , 5.4 y 3.5 Hz,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 3.96 (ddd, 1 H,  $J = 10.8$ , 5.3 y 2.3 Hz, H-5), 2.16, 2.12, 2.05, 1.99 (4 s, 12 H, Ac);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.2, 169.9, 169.8 (CO), 98.0 (C-1), 74.1 ( $\text{CH}_2\text{NO}_2$ ), 69.3, 69.1, 68.8, 65.8 (C-2,3,4,5), 63.7 ( $\text{CH}_2\text{O}$ ), 62.3 (C-6), 20.8, 20.7, 20.7, 20.6 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ );

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{NO}_{12} + \text{Na}$ : 444.1118; enc.: 444.1116.

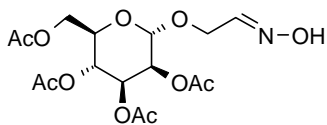
**Síntesis de las oximas 216 y 217**

Una disolución de **203** ó **210** (0.5 g, 1.19 mmol) en acetonitrilo (8 mL) fue añadida a una mezcla de  $\text{SnCl}_2$  (0.339g, 1.78 mmol), PhSH (0.56 mL, 5.3 mmol) y  $\text{Et}_3\text{N}$  (0.8 mL, 5.7 mmol) en acetonitrilo (12 mL). La mezcla de reacción fue mantenida bajo agitación magnética a t. a. durante 2.5 h. Tras la evaporación del disolvente se procedió a la purificación del producto mediante cromatografía en columna.

**2-Hidroximoiletil 2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosido (216)**

Cromatografía en columna (AcOEt-hexano 2:3) da **216** (0.351 g, 73%) como sustancia siruposa: El compuesto posee los datos de  $[\alpha]_D$ , IR y  $^1\text{H}$  RMN en completa concordancia con los bibliográficos<sup>257</sup>

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.4, 170.3, 170.2, 169.7, 169.5, 169.5, 147.6, 101.0, 100.0, 73.3, 72.0, 72.0, 71.2, 71.2, 69.9, 68.6, 68.4, 67.3, 66.2, 66.1, 62.0, 61.9, 20.7, 20.7, 20.6.

**2-Hidroximoiletil 2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-manopiranosido (217)**

Cromatografía en columna (éter etílico) da **217** (0.343 g, 71%) como sustancia siruposa:

IR (KBr) 3415, 1748, 1371, 1228, 1086, 1049  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  8.60 (sa, 0.4 H), 8.38 (sa, 0.6 H), 7.52 (t, 0.6 H,  $J = 5.8$  Hz), 6.94 (t, 0.4 H,  $J = 3.5$  Hz), 5.40-5.25 (m, 3 H), 4.89 (s, 0.6 H), 4.87 (s, 0.4 H), 4.56 (dd, 0.4 H,  $J = 16.0$  y 3.7 Hz), 4.43 (dd, 0.4 H,  $J = 15.9$  y 3.6 Hz), 4.32-3.96 (m, 4.2 H), 2.17, 2.16, 2.12, 2.11, 2.05, 2.01, 1.99 (6 s, 12 H);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.1, 170.0, 169.8, 149.1, 146.9, 97.8, 97.4, 69.4, 68.9, 66.1, 65.0, 62.5, 61.9, 20.9, 20.7.;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{NO}_{11} + \text{Na}$ : 428.1169; enc.: 428.1164.

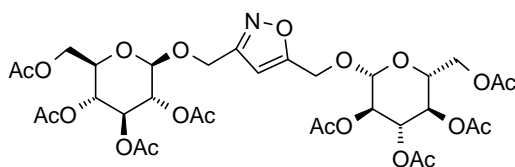
<sup>257</sup> Tronchet, J. M. J.; Zsely, M.; Geoffroy, M. *Carbohydr. Res.* **1995**, 275, 245-258.



### Síntesis de los neoglicoconjugados divalentes 218-221

A una disolución de la oxima **216** ó **217** (0.4 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 mL) se le añade *N*-clorosuccinimida (0.5 mmol). La mezcla de reacción se mantiene a t. a. durante 16 h. Tras este tiempo el disolvente es evaporado y el crudo es disuelto en tolueno (10 mL). A esta disolución se le añade una mezcla del alquino **61** ó **69** (1.8 mmol) y Et<sub>3</sub>N (1.8 mmol) en tolueno (10 mL), tras lo que es puesta a temperatura de reflujo durante 24 h. Tras la evaporación del disolvente se procede a purificar el crudo mediante cromatografía en columna (AcOEt-hexano 1:1 → 3:1).

#### 3,5-Bis(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-β-*D*-glucopiranosiloximetil)isoxazol (218)



Obtenido como sustancia siruposa en un 59% de rendimiento:

$[\alpha]_D -23^\circ$  (c 1, cloroformo);

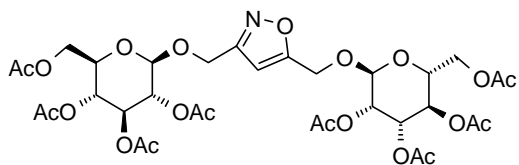
IR (film) 2924, 1754, 1368, 1222, 1040 cm<sup>-1</sup>;

<sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ 6.27 (s, 1 H), 5.22 (t, 1 H, *J* = 9.3 Hz), 5.20 (t, 1 H, *J* = 9.4 Hz), 5.10 (t, 1 H, *J* = 9.7 Hz), 5.09 (t, 1 H, *J* = 9.6 Hz), 5.02 (dd, 1 H, *J* = 9.6 y 7.9 Hz), 5.01 (dd, 1 H, *J* = 9.5 y 7.8 Hz), 4.90 (d, 1 H, *J* = 13.5 Hz), 4.86 (d, 1 H, *J* = 12.7 Hz), 4.76 (d, 1 H, *J* = 13.0 Hz), 4.75 (d, 1 H, *J* = 13.9 Hz), 4.63 (d, 1 H, *J* = 7.8 Hz), 4.59 (d, 1 H, *J* = 7.9 Hz), 4.27 (dd, 1 H, *J* = 12.4 y 1.8 Hz), 4.25 (dd, 1 H, *J* = 12.3 y 2.0 Hz), 4.14 (dd, 1 H, *J* = 12.4 y 2.4 Hz), 4.12 (dd, 1 H, *J* = 12.4 y 2.4 Hz), 3.8-3.7 (m, 2 H), 2.11, 2.10, 2.04, 2.03, 2.01 (5 s, 24 H);

<sup>13</sup>C RMN (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz): δ 170.7, 170.2, 169.4, 169.3, 125.6, 100.0, 72.8, 72.7, 72.2, 72.1, 71.2, 71.1, 68.4, 62.4, 61.9, 61.6, 20.8, 20.7;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para C<sub>33</sub>H<sub>43</sub>NO<sub>21</sub> + Na: 812.2225; enc.: 812.2225.

**3-(2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-β-D-glucopiranosiloximetil)-5-(2,3,4,6-tetra-O-acetil-α-D-manopiranosiloximetil)isoxazol (219)**



Obtenido como sustancia siruposa con un 61% de rendimiento:

$[\alpha]_D +11^\circ$ ,  $[\alpha]_{436} +21^\circ$  (*c* 1, cloroformo);

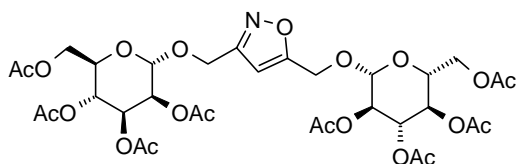
IR (film) 1751, 1370, 1224, 1045  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  6.34 (s, 1 H), 5.35-5.25 (m, 3 H), 5.20 (t, 1 H,  $J = 9.4$  Hz), 5.08 (t, 1 H,  $J = 9.7$  Hz), 5.02 (t, 1 H,  $J = 8.5$  Hz), 4.93 (s, 1 H), 4.90-4.65 (m, 4 H), 4.61 (d, 1 H,  $J = 7.9$  Hz), 4.30-4.05 (m, 4 H), 4.05-3.95 (m, 1 H), 3.72 (ddd, 1 H,  $J = 9.7, 4.7$  y  $2.4$  Hz), 2.14, 2.10, 2.08, 2.03, 2.02, 2.01, 1.97, 1.97 (8 s, 24 H);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.6, 169.4, 167.9, 160.8, 103.3, 99.8, 97.4, 72.7, 72.1, 71.1, 69.3, 69.2, 68.8, 68.3, 65.9, 62.3, 61.8, 60.1, 20.8, 20.8, 20.6, 20.5;

EMAR (*m/z*) (MALDI-TOF) calc. para  $\text{C}_{33}\text{H}_{43}\text{NO}_{21} + \text{Na}$ : 812.2225; enc.: 812.233.

**3-(2,3,4,6-Tetra-O-acetil-α-D-manopiranosiloximetil)-5-(2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosiloximetil)isoxazol (220)**



Obtenido como sustancia siruposa con un 58% de rendimiento:

$[\alpha]_D +16^\circ$ ,  $[\alpha]_{436} +30^\circ$  (*c* 1, cloroformo);

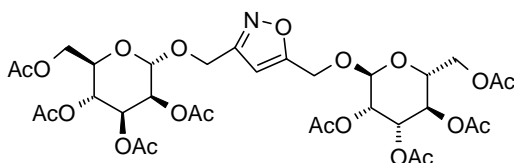
IR (film): 1751, 1370, 1225  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  6.37 (s, 1 H, H isoxazol), 5.37-5.28 (m, 2 H, H-3man, H-4man), 5.24 (m, 1 H, H-2man), 5.23 (t, 1 H,  $J = 9.4$  Hz, H-3glu), 5.11 (t, 1 H,  $J = 9.6$  Hz, H-4glu), 5.05 (dd, 1 H,  $J = 9.4$  y 7.8 Hz, H-2glu), 4.92 (d, 1 H,  $J = 1.7$  Hz, H-1man), 4.91 (d, 1 H,  $J = 12.5$  Hz,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 4.80 (d, 1 H,  $J = 14.0$  Hz,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 4.78 (d, 1 H,  $J = 12.7$  Hz,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 4.67 (d, 1 H,  $J = 8.0$  Hz, H-1glu), 4.66 (d, 1 H,  $J = 12.5$  Hz,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 4.29 (dd, 1 H,  $J = 12.3$  y 5.1 Hz, H-6man), 6.28 (dd, 1 H,  $J = 12.3$  y 4.1 Hz, H-6glu), 4.17 (dd, 1 H,  $J = 11.8$  y 2.3 Hz, H-6'glu), 4.12 (dd, 1 H,  $J = 12.3$  y 2.5 Hz, H-6'man), 4.03 (ddd, 1 H,  $J = 9.6$ , 5.4 y 2.3 Hz, H-5man), 3.76 (ddd, 1 H,  $J = 9.9$ , 4.6 y 2.3 Hz, H-5glu), 2.16, 2.12, 2.11, 2.06, 2.05, 2.03, 2.00 (7 s, 24 H, Ac);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.6, 170.2, 170.1, 169.89, 169.7, 169.4, 168.8 (CO), 160.1 (C-3 isoxazol), 103.0 (C-4 isoxazol), 99.7 (C-1glu), 97.1 (C-1man), 72.6 (C-2man), 72.1 (C-5glu), 71.0 (C-2glu), 69.4 (C-3glu), 69.0 (C-5man), 68.8, 66.0 (C-3man, C-4man), 68.2 (C-4glu), 62.4, 61.8. (C-6glu, C-6man), 61.4, 60.8 ( $\text{CH}_2\text{O}$ ), 20.8, 20.7, 20.7, 20.6 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ );

EMAR (m/z) (MALDI-TOF) calc. para  $\text{C}_{33}\text{H}_{43}\text{NO}_{21} + \text{Na}$ : 812.2225; enc.: 812.2240.

### 3,5-Bis(2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\alpha$ -D-manopiranosiloximetil)isoxazol (221)



Obtenido como sólido con un 65% rendimiento:

P.F. 120-121°C;

$[\alpha]_{\text{D}} + 66^\circ$  (c 1, cloroformo);

IR (KBr): 1752, 1376, 1221  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  6.42 (s, 1 H), 5.40-5.25 (m, 6 H), 4.97 (d, 1 H,  $J = 1.0$  Hz), 4.95 (d, 1 H,  $J = 1.2$  Hz), 4.82-4.65 (m, 4 H), 4.29 (dd, 2 H,  $J =$

12.3 y 5.2 Hz), 4.12 (dd, 1 H,  $J = 12.2$  y  $2.4$  Hz), 4.11 (dd, 1 H,  $J = 12.2$  y  $2.4$  Hz), 4.04 (ddd, 2 H,  $J = 10.0, 5.3$  y  $2.6$  Hz), 2.16, 2.12, 2.05, 1.99 (4 s, 24 H);

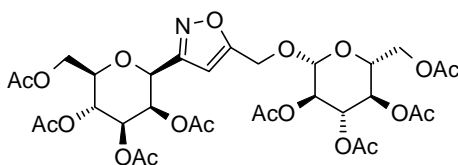
$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.6, 169.8, 169.7, 168.1, 160.1, 103.4, 97.3, 97.1, 69.2, 69.1, 69.0, 68.9, 68.8, 68.8, 65.9, 65.8, 62.3, 62.2, 60.7, 60.0, 20.7, 20.6, 20.6;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{33}\text{H}_{43}\text{NO}_{21} + \text{Na}$ : 812.2225; enc.: 812.2227.

### Síntesis de los neoglicoconjugados divalentes 222-223

Una disolución del alquino **61** ó **69** (0.2 mmol), el nitrocompuesto **189** (0.24 mmol), PhNCO (1.2 mmol) y  $\text{Et}_3\text{N}$  (0.1 mL) en tolueno (15 mL) fue puesto a temperatura de reflujo durante 60 h. Evaporación del disolvente da un crudo que fue purificado mediante cromatografía en columna (AcOEt-hexano 2:1).

#### 3-(2,3,4,6-Tetra-O-acetil- $\beta$ -D-glucopiranosil)-5-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-glucopiranosiloximetil)isoxazol (**222**)



Obtenido como sustancia siruposa con un 77% de rendimiento:

$[\alpha]_{\text{D}} -43^\circ$  (c 1, cloroformo);

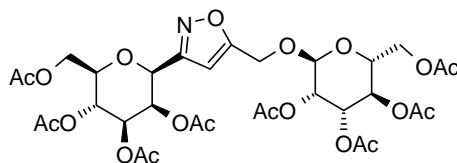
IR (film): 1749, 1369, 1225, 1054  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  6.32 (s, 1 H, H isoxazol), 5.67 (d, 1 H,  $J = 1.8$  Hz, H-2man), 5.33 (t, 1 H,  $J = 9.9$  Hz, H-4man), 5.25-5.15 (m, 2 H, H-3man, H-3glu), 5.10 (t, 1 H,  $J = 9.6$  Hz, H-4glu), 5.03 (t, 1 H,  $J = 8.7$  Hz, H-2glu), 4.94 (s, 1 H, H-1man), 4.90 (d, 1 H,  $J = 14.0$  Hz,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 4.72 (d, 1 H,  $J = 13.9$  Hz,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 4.61 (d, 1 H,  $J = 7.8$  Hz, H-1glu), 4.35-4.05 (m, 4 H, H-6man, H-6'man, H-6glu, H-6'glu), 4.9-4.8 (m, 1 H, H-5man), 4.8-4.7 (m, 1 H, H-5glu), 2.11, 2.10, 2.08, 2.08, 2.03, 2.03, 2.01, 2.00 (8 s, 24 H, Ac);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.6, 169.7, 168.4, 160.4 (CO), 102.5 (C-5 isoxazol), 100.0 (C-1glu), 76.9 (C-5man), 72.5 (C-3glu), 72.5 (C-1man), 72.1 (C-5glu), 71.8 (C-3man), 71.0 (C-2glu), 69.5 (C-2man), 68.2 (C-4glu), 65.7 (C-4man), 62.7 (C-6man), 61.7 (C-6glu), 61.6 ( $\text{CH}_2\text{O}$ ), 20.8, 20.7, 20.7 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ );

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{32}\text{H}_{41}\text{NO}_{20} + \text{Na}$ : 782.2120; enc.: 782.2113.

### 3-(2,3,4,6-Tetra-O-acetil- $\beta$ -D-glucopiranosil)-5-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\alpha$ -D-manopirano siloximetil)isoxazol (223)



Aislado como sustancia siruposa con un 80% de rendimiento:

$[\alpha]_{\text{D}} +10^\circ$ ,  $[\alpha]_{436} +20^\circ$  (c 1, cloroformo);

IR (film): 1751, 1372, 1226, 1051  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  6.39 (s, 1 H), 5.68 (d, 1 H,  $J = 3.0$  Hz), 5.34 (t, 1 H,  $J = 9.9$  Hz), 5.35-5.27 (m, 3 H), 5.22 (dd, 1 H,  $J = 10.0$  y 3.1 Hz), 4.94 (sa, 1 H), 4.92 (sa, 1 H), 4.76 (d, 1 H,  $J = 13.4$  Hz), 4.66 (d, 1 H,  $J = 13.4$  Hz), 4.34-4.27 (m, 2 H), 4.21 (dd, 1 H,  $J = 12.3$  y 1.7 Hz), 4.11 (dd, 1 H,  $J = 12.4$  y 1.9 Hz), 4.03 (m, 1 H), 3.84 (m, 1 H), 2.14, 2.10, 2.10, 2.06, 2.06, 2.03, 1.98, 1.98 (8 s, 24 H);

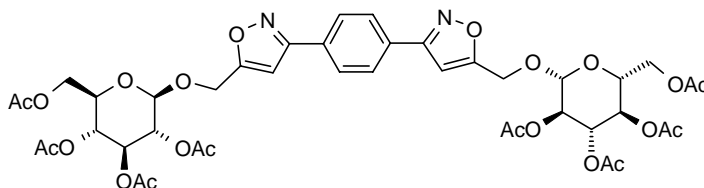
$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  169.7, 167.8, 160.5, 103.0, 97.3, 77.0, 72.5, 71.8, 69.5, 69.2, 68.8, 65.9, 65.8, 62.8, 62.3, 60.0, 20.8, 20.7;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{32}\text{H}_{41}\text{NO}_{20} + \text{Na}$ : 782.2120; enc.: 782.2118.

### Síntesis de los neoglicoconjugados divalentes 224 y 225

A una disolución de la oxima **211** (0.25 mmol) en DMF (2 mL) se le añadió *N*-clorosuccinimida (0.6 mmol). La disolución fue mantenida a t. a. durante 16 h. Tras este periodo de tiempo el disolvente fue evaporado y el crudo fue disuelto en tolueno (10 mL). Esta disolución fue añadida a una mezcla compuesta por el alquino **61** ó **69** (1.0 mmol) y Et<sub>3</sub>N (2.0 mmol) en tolueno (10 mL). La mezcla de reacción fue agitada a reflujo durante 48 h. A la evaporación del disolvente siguió la purificación del crudo mediante cromatografía de columna (AcOEt-hexano 1:1 → 3:1).

#### 1,4-Di-[5'-(2'',3'',4'',6''-tetra-*O*-acetil-β-*D*-glucopiranosiloximetil)-isoxazol-3'-il]benzeno (**224**)



Obtenido como sólido en un 61% de rendimiento:

P.F. 170-172°C;

$[\alpha]_D -40^\circ$  (c 1, cloroformo);

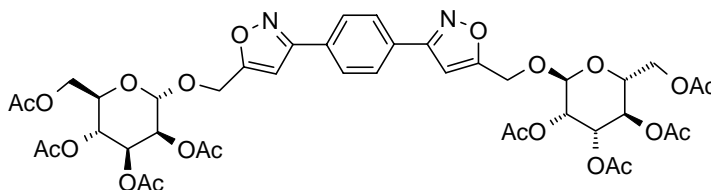
IR (film): 1754, 1368, 1223, 1041 cm<sup>-1</sup>;

<sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ 7.94 (s, 4 H), 6.66 (s, 2 H), 5.27 (t, 2 H, *J* = 9.3 Hz), 5.16 (t, 2 H, *J* = 9.4 Hz), 5.11 (t, 2 H, *J* = 8.6 Hz), 5.00 (d, 2 H, *J* = 13.9 Hz), 4.87 (d, 2 H, *J* = 13.9 Hz), 4.73 (d, 2 H, *J* = 7.8 Hz), 4.33 (dd, 2 H, *J* = 12.3 y 4.6 Hz), 4.21 (d, 2 H, *J* = 12.2 Hz), 3.80 (m, 2 H), 2.13, 2.08, 2.07, 2.04 (4 s, 24 H);

<sup>13</sup>C RMN (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz): δ 170.4, 170.2, 169.4, 168.8, 161.8, 130.4, 127.4, 101.6, 100.1, 72.7, 72.2, 71.1, 68.3, 61.8, 61.8, 20.7, 20.6;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para C<sub>42</sub>H<sub>48</sub>N<sub>2</sub>O<sub>22</sub> + Na: 955.2596; enc.: 955.2589.

**1,4-Di-[5'-(2'',3'',4'',6''-tetra-O-acetil- $\alpha$ -D-manopiranosiloximetil)-isoxazol-3'-il]benzeno (225)**



Obtenido como sustancia siruposa con un rendimiento del 64%:

$[\alpha]_D +67^\circ$  (*c* 1, cloroformo);

IR (film): 1748, 1371, 1226  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  7.94 (s, 4 H), 6.70 (s, 2 H), 5.50-5.25 (m, 6 H), 5.01 (sa, 2 H), 4.86 (d, 2 H,  $J = 13.6$  Hz), 4.78 (d, 2 H,  $J = 13.6$  Hz), 4.32 (dd, 2 H,  $J = 12.2$  y 5.1 Hz), 4.20-4.0 (m, 4 H), 2.17, 2.12, 2.06, 2.01 (4 s, 24 H);

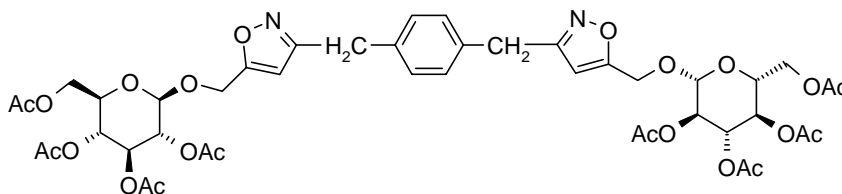
$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.6, 169.9, 169.7, 168.3, 161.9, 130.3, 127.5, 101.9, 97.5, 69.3, 68.9, 62.3, 60.3, 20.8, 20.7, 20.7, 20.6;

EMAR ( $m/z$ ) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{42}\text{H}_{48}\text{N}_2\text{O}_{22} + \text{Na}$ : 955.2596; enc.: 955.2591.

**Síntesis de los neoglicoconjugados divalentes 226 y 227**

Una disolución del alquino **61** ó **69** (2.2 mmol), del nitro derivado **212** (1.0 mmol), PhNCO (4.0 mmol) y  $\text{Et}_3\text{N}$  (0.4 mL) en tolueno (50 mL) fue calentada a temperatura de reflujo durante 60 h en presencia de tamices moleculares de 4 Å. Evaporación del disolvente da un crudo que fue purificado mediante cromatografía en columna (AcOEt-hexano 2:1  $\rightarrow$  3:1).

**1,4-Di-[5'-(2'',3'',4'',6''-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosiloximetil)-isoxazol-3'-il-metil] benceno (226)**



Aislado como sustancia siruposa con un rendimiento del 66%:

$[\alpha]_D - 27^\circ$  (c 1, cloroformo);

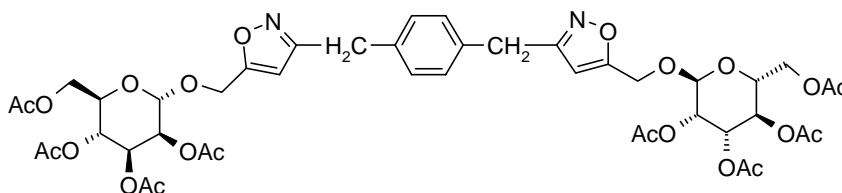
IR (film): 1755, 1368, 1224, 1041  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  7.17 (s, 4 H), 5.99 (s, 2 H), 5.17 (t, 2 H,  $J = 9.4$  Hz), 5.06 (t, 2 H,  $J = 9.6$  Hz), 4.98 (t, 2 H,  $J = 9.1$  Hz), 4.80 (d, 2 H,  $J = 13.9$  Hz), 4.67 (d, 2 H,  $J = 13.9$  Hz), 4.58 (d, 2 H,  $J = 7.7$  Hz), 4.23 (dd, 2 H,  $J = 12.5$  y 3.6 Hz), 4.10 (d, 2 H,  $J = 12.2$  Hz), 3.95 (s, 4 H), 3.69 (m, 2 H), 2.05, 2.00, 1.98, 1.93 (4 s, 24 H);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  169.4, 168.0, 162.9, 135.8, 129.2, 103.4, 100.0, 72.6, 72.1, 71.0, 68.2, 61.8, 61.7, 32.0, 20.7, 20.6;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{44}\text{H}_{52}\text{N}_2\text{O}_{22} + \text{Na}$ : 983.2909; enc.: 983.2905.

**1,4-Di-[5'-(2'',3'',4'',6''-tetra-O-acetil-α-D-manopiranosiloximetil)-isoxazol-3'-il-metil] benceno (227)**



Aislado como sustancia siruposa con un rendimiento del 58%:

$[\alpha]_D + 55^\circ$  (c 1, cloroformo);

IR (film) 3501, 1761, 1612, 1515, 1433, 1373, 1239, 1076  $\text{cm}^{-1}$ ;



$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  7.20 (s, 4 H), 6.07 (s, 2 H), 5.30, 5.26, 5.24 (3 m, 6 H), 4.90 (sa, 2 H), 4.69 (d, 2 H,  $J = 8.2$  Hz), 4.61 (d, 2 H,  $J = 8.2$  Hz), 4.25 (dd, 2 H,  $J = 12.2$  y 5.0 Hz), 4.03 (dd, 2 H,  $J = 12.2$  y 2.1 Hz), 3.98 (m, 2 H), 3.97 (s, 4 H), 2.13, 2.08, 2.02, 1.97 (4 s, 24 H);

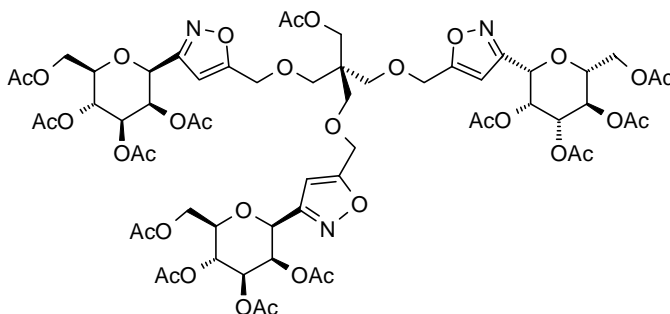
$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.4, 169.7, 169.5, 167.3, 162.9, 135.5, 129.1, 103.8, 97.4, 69.1, 68.9, 68.7, 65.8, 62.1, 60.1, 31.8, 20.7, 20.6, 20.5;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{44}\text{H}_{52}\text{N}_2\text{O}_{22} + \text{Na}$ : 983.2909; enc.: 983.2908.

### Síntesis de los neoglicoconjugados multivalentes **228** y **229**

Una disolución del alquino **215** ó **21** (0.2 mmol), del nitro compuesto **189** (2 equivalentes por función alquino),  $\text{PhNCO}$  (2 equivalentes por función alquino) y  $\text{Et}_3\text{N}$  (0.1 mL) en tolueno (15 mL) fue calentada a reflujo durante 60 h. Evaporación del disolvente dio un crudo que fue purificado mediante cromatografía en columna.

#### 1,1'-C-[[2-[(Acetiloxi)metil]-2-[[[3-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-manopiranosil)-5-isoxazolil]metoxi]metil]-1,3-propanodil]bis(oximetilen-5,3-isoxazoldiil)]bis[1,5-anhidro-2,2',3,3',4,4',6,6'-octaacetato-(1S,1'S)-D-manitol] (**228**)



Cromatografía en columna (AcOEt-hexano 1:1  $\rightarrow$  3:1) del crudo da **228** (94%) como sustancia siruposa:

$[\alpha]_{\text{D}} -28^\circ$  (c 1, cloroformo);

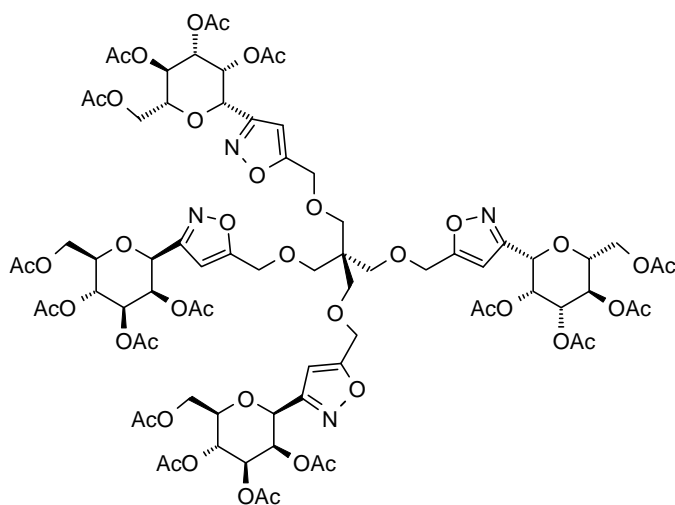
IR (film) 1748, 1370, 1227  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$ : 6.30 (s, 3 H), 5.68 (d, 3 H,  $J = 2.9$  Hz), 5.34 (t, 3 H,  $J = 9.9$  Hz), 5.25 (dd, 3 H,  $J = 10.0$  y 3.3 Hz), 4.98 (sa, 3 H), 4.51 (s, 6 H), 4.31 (dd, 3 H,  $J = 12.4$  y 5.6 Hz), 4.20 (dd, 3 H,  $J = 12.2$  y 2.1 Hz), 4.08 (d, 1 H,  $J = 11.0$  Hz), 4.05 (d, 1 H,  $J = 11.1$  Hz), 3.86 (ddd, 3 H,  $J = 9.9, 5.6$  y 2.1 Hz), 3.46 (sa, 6 H), 2.08, 2.08, 2.05, 2.00, 1.99 (5 s, 39 H);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz)  $\delta$ : 178.8, 169.8, 169.3, 160.3, 102.2, 76.7, 72.6, 71.9, 69.5, 69.2, 65.8, 64.0, 62.8, 44.4, 20.8, 20.7, 20.6;

EMAR (m/z) (MALDI-TOF) calc. para  $\text{C}_{61}\text{H}_{77}\text{N}_3\text{O}_{35} + \text{Na}$ : 1434.4235; enc.: 1434.2508.

**1,1'-C-[[2,2-Bis[[[3-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-manopiranosil)-5-isoxazolil]metoxi]metil]-1,3-propanodiil]bis(oximetilen-5,3-isoxazoldiil)]bis[1,5-anhidro-2,2',3,3',4,4',6,6'-octaacetato-(1S,1'S)-D-manitol] (229)**



Cromatografía en columna (AcOEt-hexano 1:1  $\rightarrow$  4:1) del crudo da **228** (92%) como sustancia siruposa:

$[\alpha]_{\text{D}} -16.5^\circ$  ( $c$  1, cloroformo);

IR (film): 1750, 1639, 1369, 1227  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$ : 6.31 (s, 4 H), 5.70 (s, 4 H), 5.35 (t, 4 H,  $J = 9.8$  Hz), 5.27 (dd, 4 H,  $J = 10.0$  y 3.1 Hz), 5.03 (s, 4 H), 4.50 (s, 8 H), 4.32 (dd, 4 H,  $J = 12.4$  y 5.5 Hz), 4.20 (da, 4 H,  $J = 12.2$  Hz), 3.89 (m, 4 H), 3.44 (sa, 8 H), 2.09, 2.09, 2.04, 1.99 (4 s, 48 H);

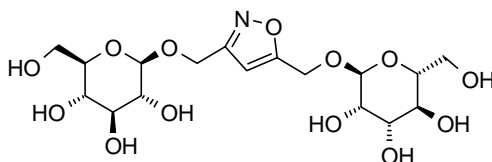
$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz)  $\delta$ : 170.0, 169.8, 169.2, 160.3, 102.3, 76.8, 72.6, 71.9, 69.5, 69.1, 65.9, 64.0, 62.8, 20.8, 20.8, 20.7;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{77}\text{H}_{96}\text{N}_4\text{O}_{44} + \text{Na}$ : 1803.5295; enc.: 1803.5300.

### Preparación de los derivados hidroxilados 230-238

Des-O-acetilación de Zemplen con  $\text{MeONa}/\text{MeOH}$  de los derivados acetilados **219-223**, **225** y **227-229** (0.2 mmol) seguida de evaporación del disolvente y purificación por cromatografía en columna permite obtener los productos hidroxilados puros que fueron posteriormente liofilizados.

#### 3-( $\beta$ -D-Glucopiranosiloximetil)-5-( $\alpha$ -D-manopiranosiloximetil) isoxazol (**230**)



Cromatografía en columna ( $\text{AcOEt}-\text{MeOH}$  1:1) y liofilización da **230** (100%) en forma de sólido delicuescente:

$[\alpha]_{\text{D}} +18^\circ$ ,  $[\alpha]_{436} +29^\circ$  ( $c$  0.36, agua);

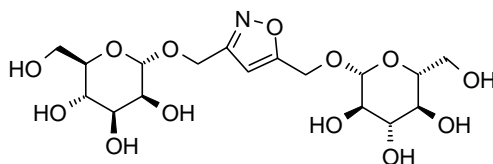
IR (film): 3404, 2926, 1638, 1421, 1133, 1077  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{DMSO}-d_6$ , 300 MHz) (señales seleccionadas):  $\delta$  6.63 (s, 1 H);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{DMSO}-d_6$ , 75 MHz):  $\delta$  168.7, 161.3, 103.7, 102.4, 99.4, 77.0, 76.6, 74.5, 73.3, 70.8, 70.0, 70.0, 66.8, 61.2, 61.2, 61.1, 58.2;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{17}\text{H}_{27}\text{NO}_{13} + \text{Na}$ : 476.1380; enc.: 476.1379.

### 3-( $\alpha$ -D-Manopiranosiloximetil)-5-( $\beta$ -D-glucopyranosiloximetil) isoxazol (**231**)



Cromatografía en columna (AcOEt-MeOH 2:1  $\rightarrow$  1:1) y liofilización da **231** (100%) en forma de sólido delicuescente:

$[\alpha]_D +21^\circ$  (c 0.36, agua);

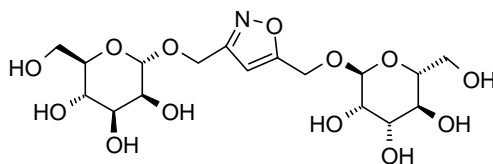
IR (film): 3411, 2928, 1638, 1133, 1078  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 300 MHz) (señales seleccionadas):  $\delta$  6.58 (s, 1 H);

$^{13}\text{C}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 75 MHz):  $\delta$  169.3, 160.9, 103.3, 102.3, 99.4, 77.1, 76.6, 74.5, 73.3, 70.8, 70.1, 66.9, 61.2, 61.1, 60.5, 59.0;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{17}\text{H}_{27}\text{NO}_{13} + \text{Na}$ : 476.1380; enc.: 476.1387.

### 3,5-Bis( $\alpha$ -D-manopiranosiloximetil) isoxazol (**232**)



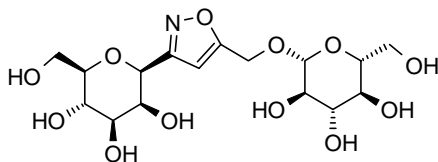
Cromatografía en columna (AcOEt-MeOH 2:1  $\rightarrow$  1:1) y liofilización da **232** (99%) en forma de sólido delicuescente:

$[\alpha]_D +80^\circ$  (c 1, agua);

IR (KBr): 3410, 2932, 1134, 1060  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 300 MHz) (señales seleccionadas):  $\delta$  6.54 (s, 1 H);

$^{13}\text{C}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 75 MHz):  $\delta$  169.0, 161.0, 103.3, 99.4, 74.4, 70.8, 70.0, 70.0, 66.9, 66.8, 61.2, 61.1, 59.0, 58.2.

**3-( $\beta$ -D-Manopiranosil)-5-( $\beta$ -D-glucopiranosiloximetil) isoxazol (233)**

Cromatografía en columna (AcOEt-MeOH 1:1) y liofilización da **233** (100%) en forma de sólido delicuescente:

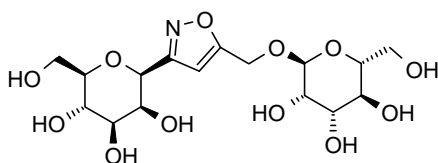
$[\alpha]_D -11^\circ$ ,  $[\alpha]_{436} -13^\circ$  (c 0.34, agua);

IR (film): 3385, 2923, 1439, 1075  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 300 MHz) (señales seleccionadas):  $\delta$  6.56 (s, 1 H), 4.87 (d, 1 H,  $J = 13.4$  Hz), 4.69 (d, 1 H,  $J = 13.4$  Hz), 4.62 (s, 1 H), 4.27 (d, 1 H,  $J = 7.7$  Hz);

$^{13}\text{C}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 75 MHz):  $\delta$  129.1, 128.4, 125.5, 104.3, 102.4, 81.8, 77.2, 76.9, 74.6, 73.6, 73.4, 71.6, 70.3, 67.1, 61.7, 61.4, 60.6;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{NO}_{12} + \text{Na}$ : 446.1274; enc.: 446.1276.

**3-( $\beta$ -D-Manopiranosil)-5-( $\alpha$ -D-manopiranosiloximetil) isoxazol (234)**

Cromatografía en columna (AcOEt-MeOH 2:1  $\rightarrow$  1:1) y liofilización da **234** (87%) en forma de sólido delicuescente:

$[\alpha]_D +50^\circ$  (c 1, agua);

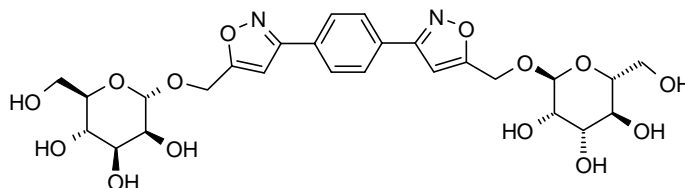
IR (film): 3412, 2928, 1638, 1095, 1061  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 300 MHz) (señales seleccionadas):  $\delta$  6.53 (s, 1 H);

$^{13}\text{C}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 75 MHz):  $\delta$  167.4, 163.1, 104.0, 99.1, 81.6, 74.3, 74.2, 73.0, 71.3, 70.8, 69.9, 66.8, 66.8, 61.4, 61.1, 58.0;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{NO}_{12} + \text{Na}$ : 446.1274; enc.: 446.1276.

### 1,4-Di-[5'-( $\alpha$ -D-manopiranosiloximetil)-isoxazol-3'-il]benceno (235)



Cromatografía en columna (AcOEt-MeOH 2:1) y liofilización da **235** (90%) en forma de sólido delicuescente:

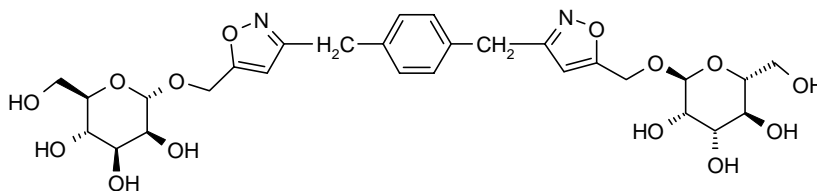
$[\alpha]_{\text{D}} +121^{\circ}$  (c 0.25, agua);

IR (film): 3394, 2932, 1426, 1134, 1060  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 300 MHz) (señales seleccionadas):  $\delta$  8.03 (s, 4 H), 7.18 (s, 2 H);

$^{13}\text{C}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 75 MHz):  $\delta$  169.9, 161.2, 130.0, 127.3, 102.0, 99.6, 74.5, 70.8, 70.0, 66.9, 61.2, 58.5.

### 1,4-Di-[5'-( $\alpha$ -D-manopiranosiloximetil)-isoxazol-3'-il-metil]benceno (236)



Cromatografía en columna (AcOEt-MeOH 2:1) y liofilización da **236** (89%) en forma de sólido:

P.F. 88-90  $^{\circ}\text{C}$ ;

$[\alpha]_{\text{D}} +70^{\circ}$  (c 0.5, agua);

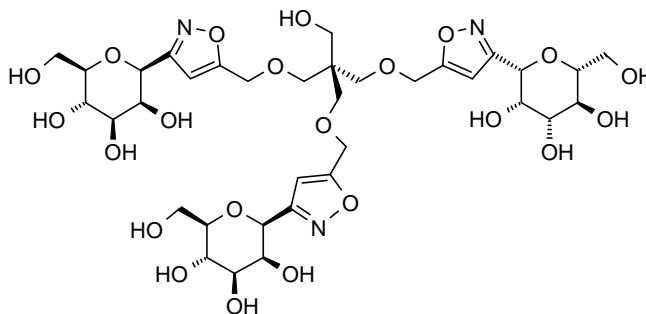
IR (KBr): 3392, 2929, 1611, 1423, 1133, 1060  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 300 MHz) (señales seleccionadas):  $\delta$  7.23 (s, 4 H), 6.34 (s, 2 H);

$^{13}\text{C}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 75 MHz):  $\delta$  168.6, 162.7, 135.7, 128.9, 103.5, 99.3, 74.3, 70.7, 69.9, 66.7, 61.0, 58.2, 30.9;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{28}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_{14}$  + Na: 647.2064; enc.: 647.2070.

**1,1'-C-[[2-[Hidroximetil]-2-[[[3-( $\beta$ -D-manopiranosil)-5-isoxazolil]metoxi]metil]-1,3-propanodiol]bis(oximetilen-5,3-isoxazoldiol)]bis[1,5-anhidro-(1S,1'S)-D-manitol](237)**



Cromatografía en columna (acetonitrilo- $\text{H}_2\text{O}$  9:1) y liofilización da **237** (85%) en forma de sólido delicuescente:

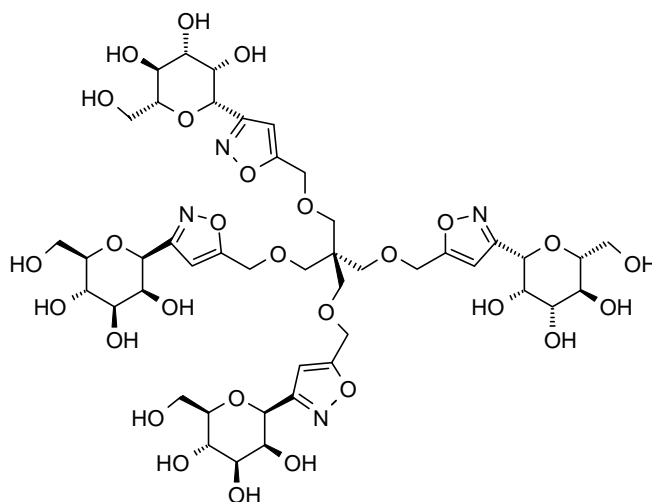
$[\alpha]_D +56^\circ$  (c 1, agua);

IR (film): 3420, 2927, 2884, 1096  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 300 MHz) (señales seleccionadas):  $\delta$  6.51 (s, 3 H);

$^{13}\text{C}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 75 MHz):  $\delta$  168.0, 162.9, 103.6, 81.6, 74.2, 73.0, 71.2, 69.4, 66.8, 63.4, 61.4, 45.4.

**1,1'-C-[[2,2-Bis[[[3-( $\beta$ -D-manopiranosil)-5-isoxazolil]metoxi]metil]-1,3-propanodiil]bis(oximetilen-5,3-isoxazoldiil)]bis[1,5-anhidro-(1S,1'S)-D-manitol] (238)**



Cromatografía en columna (acetonitrilo-H<sub>2</sub>O 3:1) y liofilización da **238** (99%) en forma de sólido delicuescente:

$[\alpha]_D +22^\circ$ ,  $[\alpha]_{436} +60^\circ$  ( $c$  0.5, agua);

IR (film): 3347, 2921, 1434, 1095 cm<sup>-1</sup>;

<sup>1</sup>H RMN (DMSO-d<sub>6</sub>, 300 MHz) (señales seleccionadas):  $\delta$  6.50 (s, 4 H);

<sup>13</sup>C RMN (DMSO-d<sub>6</sub>, 75 MHz):  $\delta$  168.3, 163.2, 103.9, 81.7, 74.4, 73.4, 71.5, 69.3, 67.1, 63.6, 61.7, 45.4;

EMAR (m/z) (MALDI-TOF) calc. para C<sub>48</sub>H<sub>70</sub>N<sub>4</sub>O<sub>28</sub> + Na: 1131.360; enc.: 1131.399.



## Síntesis de neoglicoconjugados basados en triazoles

### Procedimiento general de síntesis de los neoglicoconjugados 320-339

Procedimiento A: Una disolución de azida, alquino y una cantidad catalítica de  $(\text{Ph}_3\text{P})_3 \cdot \text{CuBr}$  en tolueno es irradiada con microondas durante el tiempo especificado más adelante, tras lo cual se evapora el disolvente y el crudo de reacción es purificado mediante cromatografía en columna para dar el producto deseado.

Procedimiento B: A una disolución de azida, alquino y diisopropiletilamina en tolueno se añade una cantidad catalítica de  $(\text{Ph}_3\text{P})_3 \cdot \text{CuBr}$ , esta mezcla de reacción se irradia con microondas. Tras finalizar la reacción se evapora el disolvente y el crudo de reacción es purificado mediante cromatografía en columna para obtener el producto deseado.

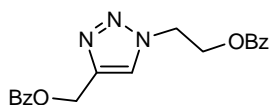
Procedimiento C: A una disolución de azida, alquino y DBU en tolueno se añade una cantidad catalítica de  $(\text{Ph}_3\text{P})_3 \cdot \text{CuBr}$ , esta mezcla de reacción es irradiada con microondas. Tras finalizar la reacción se evapora el disolvente y el crudo de reacción es purificado mediante cromatografía en columna para obtener el producto deseado.

Procedimiento D: A una disolución de azida, alquino y diisopropiletilamina en tolueno se añade  $\text{CuI}$  y cantidades catalíticas de  $(\text{Ph}_3\text{P})_3 \cdot \text{CuBr}$ , esta mezcla de reacción se irradia con microondas. Tras finalizar la reacción se evapora el disolvente y el crudo de reacción es purificado mediante cromatografía en columna para obtener el producto deseado.

Procedimiento E: A una disolución de azida, alquino y diisopropiletilamina en tolueno se añade una cantidad catalítica de  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$ , esta mezcla de reacción se irradia con microondas. Tras finalizar la reacción se evapora el disolvente y el crudo de reacción es purificado mediante cromatografía en columna para obtener el producto deseado.

Procedimiento F: Una disolución de azida, alquino, diisopropiletilamina y una cantidad catalítica de  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$  en tolueno es calentada a reflujo durante el tiempo especificado más adelante, tras lo cual se evapora el disolvente y el crudo de reacción es purificado mediante cromatografía en columna para dar el producto deseado.

Procedimiento G: A una disolución de azida, alquino y diisopropiletilamina en DMF se añade una cantidad catalítica de  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$ , esta mezcla de reacción se irradia con microondas. Tras finalizar la reacción se añaden  $\text{AcOEt}$  (50 mL) y se lava con agua (50 mL), la disolución acuosa se lava con  $\text{AcOEt}$  (50 mL), ambas fases orgánicas se reúnen y se lavan con agua (50 mL x 2) tras lo cual la fase orgánica se seca con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se evapora. El crudo de reacción es purificado mediante cromatografía en columna para obtener el producto deseado.

**1-(2'-Benzoiloxietil)-4-(benzoiloximetil)-1H-[1,2,3]-triazol (320)**


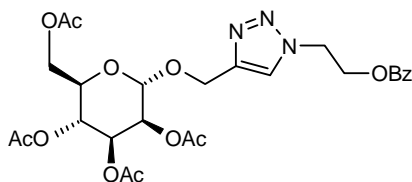
Se parte de 196 mg (1.03 mmol) de azida **307**, 172 mg (1.07 mmol) de alquino **319** y 90 mg (0.1 mmol) de  $(\text{Ph}_3\text{P})_3 \cdot \text{CuBr}$  en 20 mL de tolueno siguiendo el procedimiento experimental A. Tras 16 min. se evapora y purifica el crudo mediante cromatografía en columna (éter etílico) para dar **320** como un sólido con un rendimiento del 58 %:

IR (KBr): 3135, 1724, 1600, 1453, 1275, 1107  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  8.00 (d, 2 H,  $J = 7.7$  Hz, Ar), 7.95 (d, 2 H,  $J = 7.8$  Hz, Ar), 7.85 (s, 1 H, H-5), 7.53 (t, 2 H,  $J = 7.4$ , Ar), 7.40 (m, 4 H, Ar), 5.47 (s, 2 H,  $\text{CH}_2\text{OBz}$ ), 4.73 (m, 4 H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2$ );

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  166.3, 165.8, 143.2, 133.3, 133.1, 129.6, 129.5, 129.1, 128.4, 128.3, 124.6, 62.7, 58.0, 49.2;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_4 + \text{Na}$ : 374.1116; enc.: 374.1109.

**1-(2'-Benzoiloxietil)-4-(2'',3'',4'',6''-tetra-O-acetil- $\alpha$ -D-manopiranosiloximetil)-1H-[1,2,3]triazol (321)**


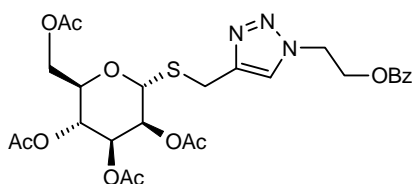
Una disolución de la azida **307** (150 mg, 0.79 mmol), el alquino **69** (250 mg, 0.65 mmol), diisopropiletilamina (0.66 mL) y  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$  (23 mg, 0.08 mmol) en 15 mL de tolueno se hace reaccionar según el procedimiento E, tras 24 min. de reacción esta se detiene. Cromatografía en columna (AcOEt:Hexano 5:1) permite obtener **321** como una sustancia siruposa en un 92% de rendimiento:

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  8.00 (d, 2 H,  $J = 7.2$  Hz, Ar), 7.24 (s, 1 H, H-triazol), 7.59 (t, 1 H,  $J = 7.5$  Hz, Ar), 7.46 (t, 2 H,  $J = 7.2$  Hz, Ar), 5.35-5.29

(m, 2 H, H-3, H-4), 5.24 (d, 1 H,  $J = 2.8$  y  $1.7$  Hz, H-2), 4.96 (d, 1 H,  $J = 1.5$  Hz, H-1), 4.90-4.65 (m, 6 H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2$  y  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 4.29 (dd, 1 H,  $J = 12.2$  y  $5.2$  Hz, H-6), 4.15-4.04 (m, 2 H, H-5 y H-6'), 2.13, 2.10, 2.03, 1.98 (4 s, 12 H, 4 Ac);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.6, 170.0, 169.8, 169.7, 143.8, 133.5, 129.6, 128.6, 123.5, 96.8, 69.4, 69.0, 68.7, 66.0, 62.8, 62.4, 60.9, 49.3, 20.8, 20.7, 20.6.

#### 4-(2',3',4',6'-Tetra-O-acetil- $\alpha$ -D-manopiranosiltiometil)-1-(2'-benzoiloxietil)-1H-[1,2,3]-triazol (322)



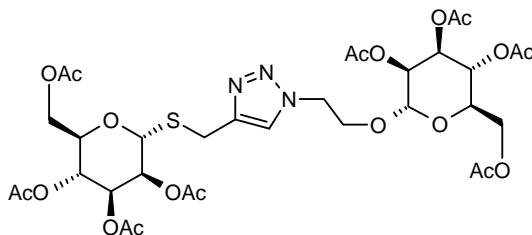
Una disolución de la azida **307** (115 mg, 0.6 mmol), el alquino **67** (201 mg, 0.5 mmol), DBU (229  $\mu\text{L}$ , 1.5 mmol) y  $(\text{Ph}_3\text{P})_3 \cdot \text{CuBr}$  (50 mg, 0.05 mmol) en tolueno se hacen reaccionar durante 30 min. siguiendo el procedimiento C. Cromatografía en columna ( $\text{AcOEt}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$  2:1) dan **322** como sólido en un 88 % de rendimiento. Alternativamente, las mismas cantidades de **307** y **67** junto DIPEA (258  $\mu\text{L}$ , 1.5 mmol) y  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$  (18 mg, 0.05 mmol) en tolueno reaccionan durante 30 min. siguiendo el procedimiento E permiten obtener el producto **322** con un rendimiento del 85 %:

IR (film): 1747, 1273, 1227, 1049  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  7.82 (dd, 2 H,  $J = 7.2$  y  $1.5$  Hz, Ar), 7.62 (s, 1 H, Hisoxazol), 7.60 (t, 1 H,  $J = 7.4$  y  $1.3$  Hz, Ar), 7.46 (t, 2 H,  $J = 7.3$  Hz, Ar), 5.32 (t, 1 H,  $J = 9.9$  Hz, H-4), 5.30 (m, 2 H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 5.29 (da, 1 H,  $J = 3.1$  Hz, H-2), 5.24 (dd, 1 H,  $J = 9.9$  y  $3.1$  Hz, H-3), 4.75 (m, 2 H,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 4.74 (d, 1 H,  $J = 1.4$  Hz, H-1), 4.37 (ddd, 1 H,  $J = 9.5$ ,  $5.2$  y  $2.3$  Hz, H-5), 4.28 (dd, 1 H,  $J = 12.2$  y  $5.1$  Hz, H-6), 4.08 (dd, 1 H,  $J = 12.2$  y  $2.4$  Hz, H-6'), 3.96 (d, 1 H,  $J = 14.6$  Hz,  $\text{CH}_2\text{S}$ ), 3.86 (d, 1 H,  $J = 14.6$  Hz,  $\text{CH}_2\text{S}$ ), 2.10, 2.08, 2.05, 1.98 (4 s, 12 H, 4 x Ac);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.0, 144.3, 136.6, 129.7, 128.6, 122.7, 81.6, 70.7, 69.6, 69.4, 66.3, 62.8, 62.4, 49.4, 24.8, 20.9, 20.8, 20.7, 20.6.

**1-(2',3',4',6'-Tetra-O-acetil- $\alpha$ -D-manopiranosiloxietil)-4-(2'',3'',4'',6''-tetra-O-acetil- $\alpha$ -D-manopiranosiltiometil)-1H-[1,2,3]-triazol (323)**



Una disolución del alquino **67** (121 mg, 0.3 mmol), la azida **316** (130 mg, 0.31 mmol), DIPEA (0.9 mL) y  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$  (36 mg, 0.1 mmol) en 20 mL de tolueno se hacen reaccionar durante 15 min. siguiendo el procedimiento E. Cromatografía en columna (AcOEt) permite dan 244 mg de **323** (99 %) como sólido:

P.F. 63-65 °C;

$[\alpha]_{\text{D}} +96^\circ$  (c 1.16, cloroformo);

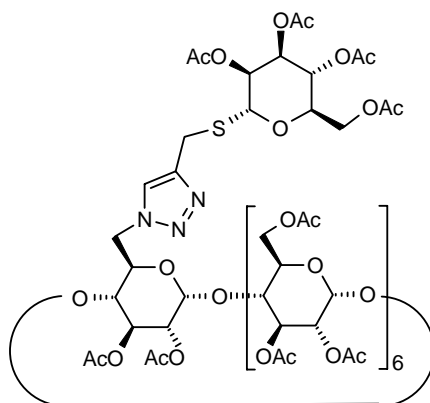
IR (KBr): 1751, 1228, 1050  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  7.64 (s, 1 H, Hisoxazol), 5.38-5.16 (m, 7 H, H-1a, H-2a, H-3a, H-4a, H-2b, H-3b, H-4b), 4.78 (d, 1 H,  $J = 1.5$  Hz, H-1b), 4.59 (t, 2 H,  $J = 5.3$  Hz,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 4.40 (ddd, 1 H,  $J = 9.5, 4.9$  y  $2.4$  Hz, H-5b), 4.31 (dd, 1 H,  $J = 12.2$  y  $4.9$  Hz, H-6b), 4.21 (dd, 1 H,  $J = 12.3$  y  $5.2$  Hz, H-6a), 4.15-4.02 (m, 3 H, H-6'a, H-6'b,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 3.99 (d, 1 H,  $J = 14.4$  Hz,  $\text{CH}_2\text{S}$ ), 3.88 (d, 1 H,  $J = 14.5$  Hz,  $\text{CH}_2\text{S}$ ), 3.86 (dd, 1 H,  $J = 10.3$  y  $5.4$  Hz,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 3.60 (ddd, 1 H,  $J = 9.6, 5.1$  y  $2.3$  Hz, H-5a), 2.13, 2.11, 2.09, 2.05, 2.00, 1.97 (6 s, 24 H, 8 Ac);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.0, 144.4, 123.5, 97.6 (C-1a), 81.9 (C-1b), 70.7 (C-3b), 69.6 (C-2a), 69.3 (C-5a, C-5b), 69.2 (C-3a), 68.9 (C-2b), 66.4 (C-4b), 66.2 ( $\text{CH}_2\text{O}$ ), 65.8 (C-4a), 62.4 y 62.3 (C-6a y C-6b), 49.8 ( $\text{CH}_2\text{N}$ ), 24.8 ( $\text{CH}_2\text{S}$ ), 20.9, 20.8, 20.7 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ );

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{33}\text{H}_{45}\text{N}_3\text{O}_{19}\text{S} + \text{Na}$ : 842.2265; enc.: 842.2261.

**Mono {(2<sup>I</sup>,3<sup>I</sup>-di-*O*-acetil)-6<sup>I</sup>-[4'-(2'',3'',4'',6''-tetra-*O*-acetil- $\alpha$ -D-manopiranosiltiometil)-1'<sup>H</sup>-[1',2',3']triazol-1-il]-6<sup>I</sup>-desoxy}hexakis(2,3,6,tri-*O*-acetil)ciclomaltoheptaosa (324)**



Una disolución de la azida **318** (250 mg, 0.125 mmol), el alquino **67** (77 mg, 0.19 mmol), DIPEA (0.36 mL) y  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$  (5 mg, 0.1 mmol) en 15 mL de tolueno se hacen reaccionar durante 180 min. siguiendo el procedimiento E. Cromatografía en columna (AcOEt:Hexano 20:1) dan 281 mg de **324** como sólido en un 97 % de rendimiento. Alternativamente, las mismas cantidades de **318**, **67**, DIPEA y  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$  en tolueno reaccionan durante 5 h. siguiendo el procedimiento F permiten obtener 230 mg de producto **324** con un rendimiento del 80 %:

P.F. 168-170°C;

$[\alpha]_{\text{D}} +143^\circ$  (*c* 1, cloroformo);

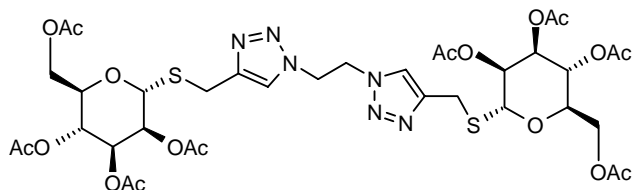
IR (KBr): 1750, 1373, 1237, 1049  $\text{cm}^{-1}$ ;

<sup>1</sup>H RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$ : (señales seleccionadas) 7.62 (s, 1 H), 5.65 (d, 1H, *J* = 3.8 Hz);

<sup>13</sup>C RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz)  $\delta$ : 170.8, 170.7, 170.5, 170.4, 169.6, 169.5, 143.7, 125.1, 97.1, 96.7, 96.5, 96.4, 81.6, 77.3, 77.1, 76.8, 76.5, 75.8, 71.6, 71.5, 71.2, 71.1, 70.8, 70.7, 70.5, 70.2, 70.0, 69.6, 69.4, 69.2, 66.3, 62.6, 62.4, 49.2, 24.6, 20.9, 20.8, 20.7, 20.7, 20.7, 20.6;

EMAR (*m/z*) (MALDI-TOF) calc. para  $\text{C}_{99}\text{H}_{131}\text{N}_3\text{O}_{63}\text{S} + \text{H}$ : 2402.694; enc.: 2402.586.

**1,2-Bis[4'-(2'',3'',4'',6''-tetra-*O*-acetil- $\alpha$ -D-manopiranosiltiometil)-1'H-[1',2',3']-triazol-1'-il]-etano (325)**



Una disolución del alquino **67** (405 mg, 1 mmol), la azida **308** (47 mg, 0.42 mmol), DIPEA (0.43 mL, 3 mmol) y  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$  (30 mg, 0.1 mmol) en 20 mL de tolueno se hacen reaccionar durante 20 min. siguiendo el procedimiento E. Cromatografía en columna (AcOEt:MeOH 20:1) permiten la obtención de 298 mg de **325** (77 %) como sólido:

P.F. 88-91 °C;

$[\alpha]_D^{25} +158$  (*c* 1, cloroformo);

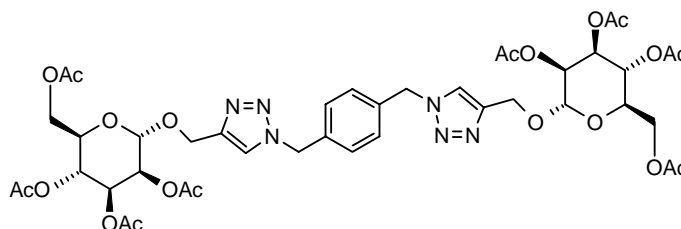
IR (KBr): 1748, 1371, 1228, 1050  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  7.34 (s, 2 H), 5.33 (t, 2 H,  $J = 9.8$  Hz), 5.28 (d, 2 H,  $J = 3.3$  Hz), 5.26 (s, 2 H), 5.21 (dd, 2 H,  $J = 10.0$  y 3.2 Hz), 4.91 (sistema AB, 4 H), 4.37 (m, 2 H), 4.29 (dd, 2 H,  $J = 12.2$  y 5.0 Hz), 4.09 (m, 2 H), 3.91 (d, 2 H,  $J = 14.6$  Hz) 3.80 (d, 2 H,  $J = 14.5$  Hz), 2.15, 2.11, 2.06, 1.99 (4 s, 24 H);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.5, 169.9, 169.7, 169.6, 144.3, 123.3, 81.4, 70.6, 69.5, 69.2, 66.1, 62.3, 49.5, 24.4, 20.8, 20.7, 20.6, 20.5;

EMAR ( $m/z$ ) (MALDI-TOF) calc. para  $\text{C}_{36}\text{H}_{49}\text{N}_6\text{O}_{18}\text{S}_2 + \text{Na}$ : 917.254; enc.: 917.205.

**1,4-Bis[4'-(2'',3'',4'',6''-tetra-O-acetil- $\alpha$ -D-manopiranosiloximetil)-1'H-[1',2',3']-triazol-1'-metil]-benceno (326)**



Una disolución de la azida **309** (94 mg, 0.5 mmol), el alquino **69** (463 mg, 1.2 mmol), DIPEA (0.5 mL, 3 mmol) y  $(\text{Ph}_3\text{P})_3 \cdot \text{CuBr}$  (50 mg, 0.05 mmol) en 30 mL tolueno se hacen reaccionar durante 12 min. siguiendo el procedimiento B. Cromatografía en columna (AcOEt) dan 355 mg de **322** como sólido (74 %):

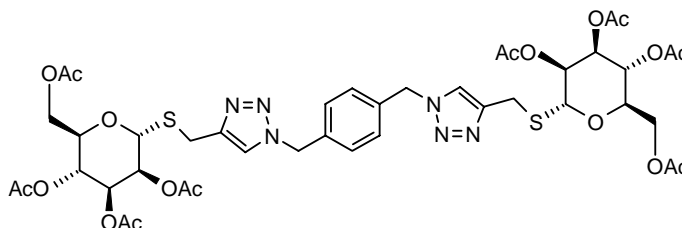
IR (KBr): 3142, 1755, 1373, 1245, 1135, 1079  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  7.58 (s, 2 H, Htriazol), 7.32 (s, 4 H, Ar), 5.56 (s, 4 H,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 5.31-5.27 (m, 4 H, H-3 y H-4''), 5.22 (sa, 2 H, H-2), 4.95 (s, 2 H, H-1), 4.82 (d, 2 H,  $J = 12.3$  Hz,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 4.67 (d, 2 H,  $J = 12.3$  Hz,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 4.27 (dd, 2 H,  $J = 12.5$  y 5.3 Hz, H-6), 4.15-4.00 (m, 4 H, H-5 y H-6'), 2.15, 2.10, 2.03, 1.98 (4 s, 24 H, 8 Ac);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.5, 169.8, 169.7, 169.5, 143.9, 135.1, 128.7, 122.9, 96.8, 69.3, 68.9, 68.6, 66.1, 62.2, 60.9, 53.5, 20.7, 20.6, 20.5;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{42}\text{H}_{52}\text{N}_6\text{O}_{20} + \text{Na}$ : 983.3134; enc.: 983.3140.

**1,4-Bis[4'-(2'',3'',4'',6''-tetra-O-acetil- $\alpha$ -D-manopiranosiltiometil)-1'H-[1',2',3']-triazol-1'-metil]-benceno (327)**



Una disolución de la azida **309** (94 mg, 0.5 mmol), el alquino **67** (482 mg, 1.2 mmol), DBU (0.46 mL, 3 mmol) y  $(\text{Ph}_3\text{P})_3 \cdot \text{CuBr}$  (50 mg, 0.05 mmol) en 30 mL tolueno se

hacen reaccionar durante 20 min. siguiendo el procedimiento C. Cromatografía en columna (AcOEt) dan 337 mg de **322** como sólido (68 %):

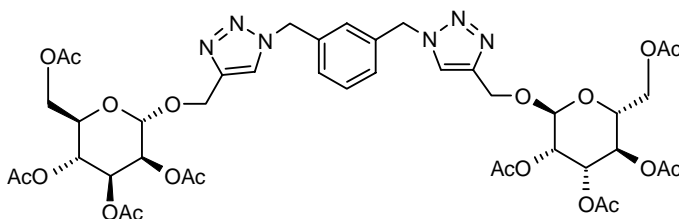
IR (film): 1747, 1370, 1228, 1108, 1050  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  7.50 (s, 2 H, Htriazol), 7.28 (s, 4 H, Ar), 5.52 (s, 4 H,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 5.32 (t, 2 H,  $J = 9.9$  Hz, H-4), 5.29 (s, 4 H, H-1 y H-2), 5.22 (dd, 2 H,  $J = 10.0$  y 2.9 Hz, H-3), 4.36 (ddd, 2 H,  $J = 9.8, 5.0$  y 2.0, H-5), 4.28 (dd, 2 H,  $J = 12.2$  y 5.1 Hz, H-6), 4.03 (dd, 2 H,  $J = 12.1$  y 2.1 Hz, H-6'), 3.93 (d, 2 H,  $J = 14.6$  Hz,  $\text{CH}_2\text{S}$ ), 3.82 (d, 2 H,  $J = 14.6$ ,  $\text{CH}_2\text{S}$ ), 2.13, 2.08, 2.05, 1.98 (4 s, 24 H, 8 Ac);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.4, 169.7, 169.6, 144.4, 135.2, 132.0, 131.9, 128.7, 128.6, 128.5, 128.3, 122.1, 81.6, 70.5, 69.4, 69.1, 66.1, 62.1, 53.5, 24.7, 20.9, 20.7, 20.6, 20.4;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{42}\text{H}_{52}\text{N}_6\text{O}_{18}\text{S}_2 + \text{Na}$ : 1015.2677; enc.: 1015.2679.

### 1,3-Bis{4'-(2'',3'',4'',6''-tetra-O-acetil- $\alpha$ -D-manopiranosiloximetil)-1'-H-[1',2',3']-triazol-1'-metil}-benceno (328)



Una disolución de la azida **310** (94 mg, 0.5 mmol), el alquino **69** (463 mg, 1.2 mmol), DIPEA (0.5 mL, 3 mmol) y  $(\text{Ph}_3\text{P})_3 \cdot \text{CuBr}$  (50 mg, 0.05 mmol) en 30 mL tolueno se hacen reaccionar durante 12 min. siguiendo el procedimiento B. Cromatografía en columna (AcOEt) dan 384 mg de **328** como sólido (80 %). Alternativamente, las mismas cantidades de **310**, **69** y DIPEA con  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$  (18 mg, 0.05 mmol) en 30 mL de tolueno reaccionan durante 6 h. siguiendo el procedimiento F y permiten obtener 389 mg de producto **328** lo que representa un rendimiento del 81 %:

P.F. 81-83  $^\circ\text{C}$ ;

$[\alpha]_{\text{D}} +16^\circ$  (c 1, metanol);



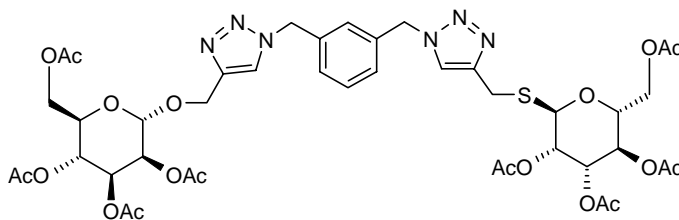
IR (KBr): 1746, 1457, 1371, 1227, 1135, 1048  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  7.55 (s, 2 H, H triazol), 7.41 (t, 1 H,  $J = 7.5$  Hz, Ar), 7.30-7.22 (m, 3 H, Ar), 5.60 (s, 4 H,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 5.31-5.26 (m, 4 H, H-3 y H-4), 5.21 (da, 2 H,  $J = 1.7$  Hz, H-2), 4.94 (d, 2 H,  $J = 1.7$  Hz, H-1), 4.84 (d, 2 H,  $J = 12.4$  Hz,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 4.67 (d, 2 H,  $J = 12.4$  Hz,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 4.28 (dd, 2 H,  $J = 12.2$  y  $5.1$  Hz, H-6), 4.12-4.00 (m, 4 H, H-5 y H-6'), 2.14, 2.10, 2.03, 1.99 (4 s, 24 H, 8 Ac);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.8, 170.1, 169.8, 144.0, 135.7, 130.2, 128.5, 127.6, 123.1, 97.0, 69.6, 69.1, 68.8, 66.2, 62.4, 61.2, 53.9, 20.9, 20.8, 20.7;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{42}\text{H}_{52}\text{N}_6\text{O}_{20} + \text{Na}$ : 983.3134; enc.: 983.3136.

### 1,3-Bis{4'-(2'',3'',4'',6''-tetra-O-acetil- $\alpha$ -D-manopiranosiltiometil)-1'H-[1',2',3']-triazol-1'-metil}-benceno (329)



Una disolución de la azida **310** (94 mg, 0.5 mmol), el alquino **67** (482 mg, 1.2 mmol), DBU (0.46 mL, 3 mmol) y  $(\text{Ph}_3\text{P})_3 \cdot \text{CuBr}$  (50 mg, 0.05 mmol) en 30 mL tolueno se hacen reaccionar durante 20 min. siguiendo el procedimiento C. Cromatografía en columna (AcOEt) dan 412 mg de **329** como sólido (83 %). Alternativamente, las mismas cantidades de **310** y **67** junto con DIPEA (0.5 mL, 3 mmol) y  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$  (18 mg, 0.05 mmol) en 30 mL de tolueno reaccionan durante 12 min. siguiendo el procedimiento E permiten obtener 427 mg de producto **329** lo que representa un rendimiento del 86 %:

P.F. 87-88  $^\circ\text{C}$ ;

$[\alpha]_{\text{D}} +112^\circ$  (c 1, cloroformo);

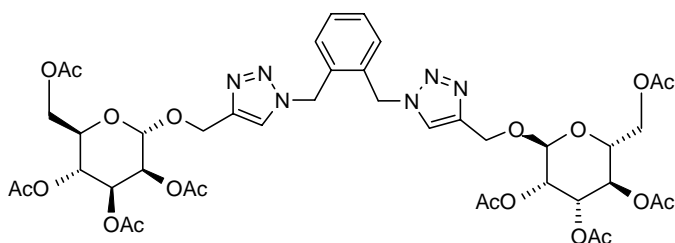
IR (KBr): 1749, 1371, 1228, 1050  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  7.48 (s, 2 H, H triazol), 7.25, 7.22 (sa, 4 H, Ar), 5.51 (s, 4 H,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 5.36-5.21 (m, 8 H, H-1, H-2, H-3 y H-4), 4.36 (ddd, 2 H,  $J = 9.8, 5.0$  y  $2.4$  Hz, H-5), 4.28 (dd, 2 H,  $J = 12.1$  y  $5.1$  Hz, H-6), 4.04 (dd, 2 H,  $J = 12.1$  y  $2.1$  Hz, H-6'), 3.95 (d, 2 H,  $J = 14.6$  Hz,  $\text{CH}_2\text{S}$ ), 3.84 (d, 2 H,  $J = 14.6$  Hz,  $\text{CH}_2\text{S}$ ), 2.14, 2.09, 2.05, 1.98 (4 s, 24 H, 8 Ac);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.6, 169.9, 169.8, 169.6, 144.6, 135.7, 132.1, 130.0, 128.5, 127.5, 122.1, 81.7, 70.7, 69.5, 69.3, 66.2, 62.2, 53.7, 24.8, 20.8, 20.7, 20.6;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{42}\text{H}_{52}\text{N}_6\text{O}_{18}\text{S}_2 + \text{Na}$ : 1015.2677; enc.: 1015.2670.

**1,2-Bis{4'-(2'',3'',4'',6''-tetra-O-acetil- $\alpha$ -D-manopiranosiloximetil)-1'H-[1',2',3']-triazol-1'-metil}-benceno (330)**



Una disolución de la azida **311** (94 mg, 0.5 mmol), el alquino **69** (463 mg, 1.2 mmol), DIPEA (0.5 mL, 3 mmol) y  $(\text{Ph}_3\text{P})_3 \cdot \text{CuBr}$  (50 mg, 0.05 mmol) en 30 mL tolueno se hacen reaccionar durante 8 min. siguiendo el procedimiento B. Cromatografía en columna (AcOEt) dan 432 mg de **330** como sólido (90 %):

$[\alpha]_{\text{D}} +39^\circ$  ( $c$  1, metanol);

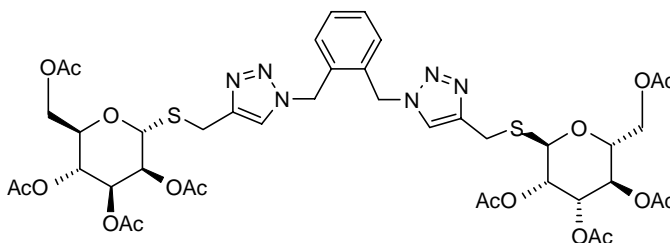
IR (KBr): 1747, 1438, 1372, 1227, 1135, 1048  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  7.59 (s, 2 H, H triazol), 7.42 (dd, 1 H,  $J = 5.7$  y  $3.4$  Hz, Ar), 7.29 (dd, 2 H,  $J = 5.6$  y  $3.4$  Hz, Ar), 5.68 (s, 4 H,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 5.30-5.25 (m, 4 H, H-3 y H-4), 5.22 (dd, 2 H,  $J = 2.8$  y  $1.6$  Hz, H-2), 4.95 (d, 2 H,  $J = 1.6$  Hz, H-1), 4.82 (d, 2 H,  $J = 12.4$  Hz,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 4.67 (d, 2 H,  $J = 12.4$  Hz,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 4.28 (dd, 2 H,  $J = 12.4$  y  $5.2$  Hz, H-6), 4.15-4.00 (m, 4 H, H-5 y H-6'), 2.14, 2.11, 2.03, 1.98 (4 s, 24 H, 8 Ac);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.6, 169.9, 169.8, 169.6, 143.9, 133.2, 130.4, 129.9, 123.2, 96.9, 69.4, 69.0, 68.7, 66.0, 62.3, 60.9, 51.2, 21.0, 20.8, 20.7, 20.6;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{42}\text{H}_{52}\text{N}_6\text{O}_{20}$  + Na: 983.3134; enc.: 983.3138.

**1,2-Bis{4'-(2'',3'',4'',6''-tetra-O-acetil- $\alpha$ -D-manopiranosiltiometil)-1'H-[1',2',3']-triazol-1'-metil}-benceno (331)**



Una disolución de la azida **311** (94 mg, 0.5 mmol), el alquino **67** (482 mg, 1.2 mmol), DBU (0.46 mL, 3 mmol) y  $(\text{Ph}_3\text{P})_3 \cdot \text{CuBr}$  (50 mg, 0.05 mmol) en 30 mL tolueno se hacen reaccionar durante 12 min. siguiendo el procedimiento C. Cromatografía en columna (AcOEt) dan 372 mg de **331** como sólido (75 %):

P.F. 88-89 °C;

$[\alpha]_{\text{D}} +185^\circ$  (c 1, cloroformo);

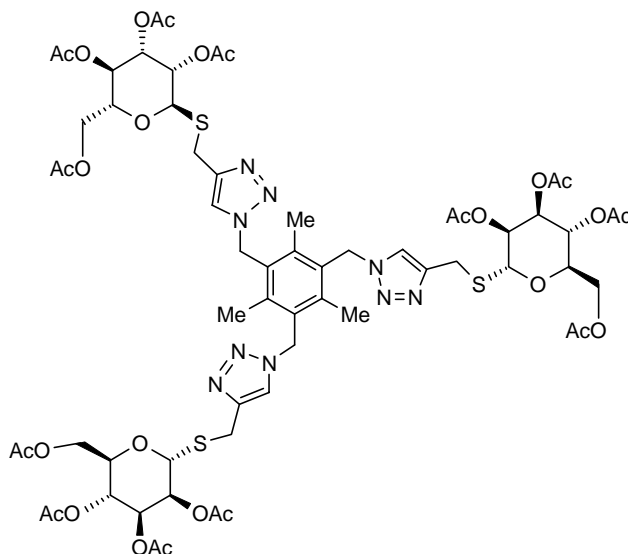
IR (KBr): 1750, 1371, 1229, 1050  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  7.47 (s, 2 H), 7.40-7.23 (m, 4 H), 5.62 (s, 4 H), 5.36-5.20 (m, 8 H), 4.36 (ddd, 2 H,  $J = 9.5, 5.0$  y  $2.3$  Hz), 4.28 (dd, 2 H,  $J = 12.2$  y  $5.0$  Hz), 4.06 (dd, 2 H,  $J = 12.2$  y  $2.2$  Hz), 3.94 (d, 2 H,  $J = 14.6$  Hz), 3.83 (d, 2 H,  $J = 14.6$  Hz), 2.13, 2.09, 2.05, 1.98 (4 s, 24 H);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.5, 169.8, 179.7, 169.6, 144.5, 133.2, 130.4, 129.7, 122.3, 81.6, 70.6, 69.5, 69.2, 66.2, 62.2, 51.2, 24.7, 20.8, 20.7, 20.6, 20.5;

EMAR (m/z) (MALDI-TOF) calc. para  $\text{C}_{42}\text{H}_{52}\text{N}_6\text{O}_{18}\text{S}_2$  + H: 993.286; enc.: 993.273. Calc. para  $\text{C}_{42}\text{H}_{52}\text{N}_6\text{O}_{18}\text{S}_2$  + Na: 1015.268; enc.: 1015.295.

**1,3,5-Tris[4'-(2'',3'',4'',6''-tetra-O-acetil- $\alpha$ -D-manopiranosiltiometil)-1H-[1',2',3']-triazol-1'-il-metil)-2,4,6-trimetilbenceno (332)**



Una disolución del alquino **67** (465 mg, 1.16 mmol), la azida **312** (100 mg, 0.35 mmol), DIPEA (0.53 mL, 3.15 mmol) y  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$  (37 mg, 0.1 mmol) en 20 mL de tolueno se hacen reaccionar durante 20 min. siguiendo el procedimiento E. Cromatografía en columna (AcOEt) permiten la obtención de 413 mg de **332** (78 %) como sólido:

P.F. 102-105 °C;

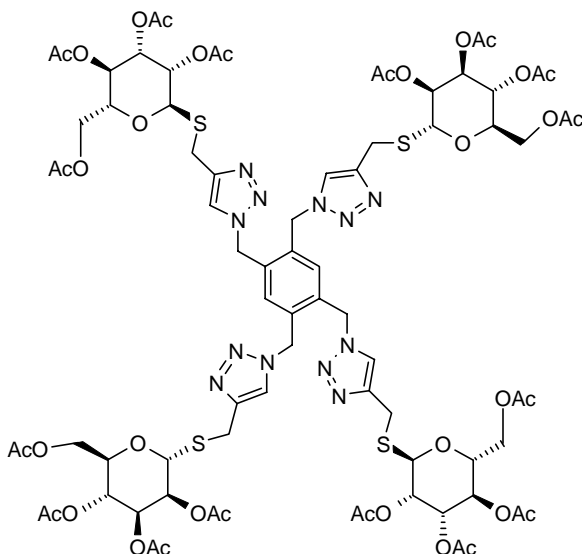
$[\alpha]_{\text{D}} +143^\circ$  (*c* 1, cloroformo);

IR (KBr): 1749, 1371, 1229, 1049  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  7.31 (s, 3 H), 5.66 (s, 6 H), 5.33 (t, 3 H,  $J = 9.8$  Hz), 5.28 (s, 1 H), 5.26 (d, 3 H,  $J = 3.4$  Hz), 5.21 (dd, 3 H,  $J = 9.9$  y 3.3 Hz), 4.37 (m, 3 H), 4.30 (dd, 3 H,  $J = 12.0$  y 5.1 Hz), 4.08 (da, 3 H,  $J = 12.0$  Hz), 3.93 (d, 3 H,  $J = 14.6$  Hz), 3.80 (d, 3 H,  $J = 14.6$  Hz), 2.41 (s, 9 H), 2.14, 2.09, 2.05, 1.99 (4 s, 36 H);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.5, 169.8, 169.7, 169.5, 144.1, 139.7, 130.5, 121.4, 81.5, 70.6, 69.4, 69.2, 66.0, 62.1, 49.0, 24.6, 10.8, 20.6, 20.5, 20.5, 16.5;

EMAR (*m/z*) (MALDI-TOF) calc. para  $\text{C}_{63}\text{H}_{81}\text{N}_9\text{O}_{27}\text{S}_3 + \text{H}$ : 1492.448; enc.: 1492.434.

**1,2,4,5-Tetrakis[4'-(2'',3'',4'',6''-tetra-O-acetil- $\alpha$ -D-manopiranosiltiometil)-1H-[1',2',3']-triazol-1'-il-metil)-benceno (333)**

Una disolución del alquino **67** (297 mg, 0.74 mmol), la azida **313** (50 mg, 0.17 mmol), DIPEA (0.35 mL, 2.04 mmol) y  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$  (24 mg, 0.07 mmol) en 20 mL de tolueno se hacen reaccionar durante 24 min. siguiendo el procedimiento E. Cromatografía en columna (AcOEt:MeOH 50:1) permiten la obtención de 246 mg de **333** (77 %) como sólido:

P.F. 112-115 °C;

$[\alpha]_{\text{D}} +144^\circ$  (c 1, cloroformo);

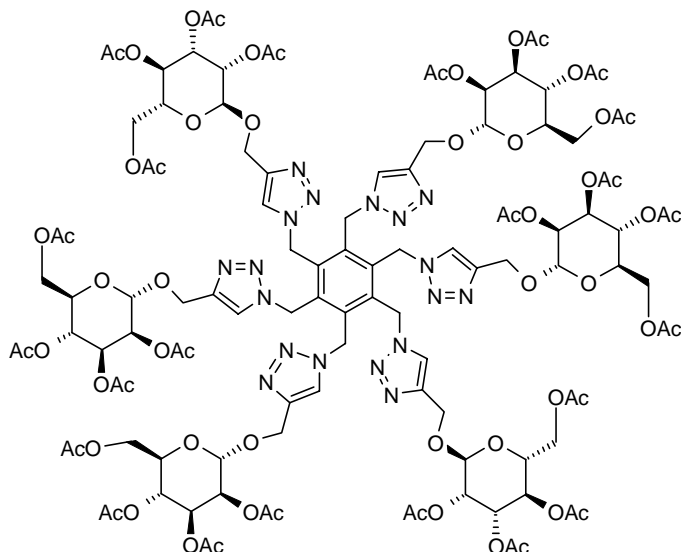
IR (KBr): 1748, 1372, 1230, 1050  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  7.51 (s, 4 H), 4.14 (s, 2 H), 5.60 (s, 8 H), 5.34 (t, 4 H,  $J = 9.8$  Hz), 5.31 (s, 4 H), 5.27 (d, 4 H,  $J = 3.3$  Hz), 5.21 (dd, 4 H,  $J = 10.0$  y 3.3 Hz), 4.35 (m, 4 H), 4.28 (dd, 4 H,  $J = 12.1$  y 4.8 Hz), 4.08 (dd, 4 H,  $J = 12.1$  y 2.1 Hz), 3.95 (d, 4 H,  $J = 14.7$  Hz), 3.83 (d, 4 H,  $J = 14.6$  Hz), 2.13, 2.10, 2.06, 1.98 4 s, 48 H);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.6, 169.9, 169.7, 169.6, 144.7, 134.8, 132.1, 122.6, 81.5, 70.6, 69.4, 69.2, 66.1, 62.1, 50.4, 24.5, 20.8, 20.7, 20.6, 20.5;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $C_{78}H_{98}N_{12}O_{36}S_4 + Na$ : 1929.499; enc.: 1929.496.

**1,2,3,4,5,6-Hexakis-[4-(2'',3'',4'',6''-tetra-O-acetil- $\alpha$ -D-manopiranosiloximetil)-1'H-[1',2',3']-1'-metil]benceno (334)**



Una disolución de la azida **314** (100 mg, 0.24 mmol), el alquino **69** (696 mg, 1.8 mmol), DIPEA (0.76 mL, 4.5 mmol) y  $(Ph_3P)_3 \cdot CuBr$  (50 mg, 0.05 mmol) en 30 mL tolueno se hacen reaccionar durante 30 min. siguiendo el procedimiento B. Cromatografía en columna ( $CH_2Cl_2$ :MeOH 100:1  $\rightarrow$  25:1) dan 392 mg de **334** como sólido (58 %):

P.F. 162-164 °C;

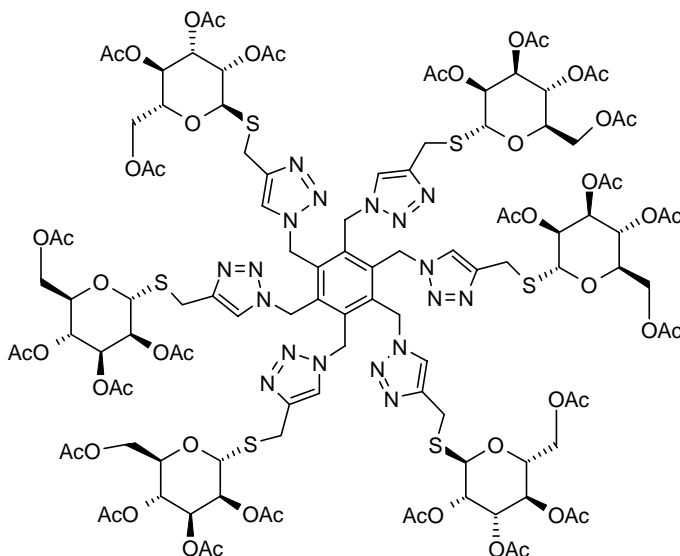
IR (KBr): 1749, 1371, 1228, 1135, 1080, 1048  $cm^{-1}$ ;

$^1H$  RMN ( $CDCl_3$ , 300 MHz):  $\delta$  7.56 (s, 1 H, H isoxazol), 5.85 (s, 2 H,  $CH_2N$ ), 5.27 (m, 2 H, H-3 y H-4), 5.16 (s, 1 H, H-2), 4.90 (s, 1 H, H-1), 4.72 (d, 1 H,  $J = 12.5$  Hz,  $CH_2O$ ), 4.59 (d, 1 H,  $J = 12.5$  Hz,  $CH_2O$ ), 4.25 (dd, 1 H,  $J = 11.9$  y 4.1 Hz, H-6), 4.05 (m, 2 H, H-5 y H-6'), 2.13, 2.10, 2.05, 1.98 (4 s, 12 H, 4 Ac);

$^{13}C$  RMN ( $CDCl_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.8, 170.1, 170.0, 169.7, 144.2, 137.5, 123.7, 96.9, 69.5, 69.0, 68.7, 66.1, 62.3, 60.7, 48.2, 20.9, 20.8, 20.7, 20.6;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $C_{114}H_{144}N_{18}O_{60} + Na$ : 2748.870; enc.: 2748.860.

**1,2,3,4,5,6-Hexakis-[4-(2'',3'',4'',6''-tetra-*O*-acetil- $\alpha$ -D-manopiranosiltiometil)-1'-H-[1',2',3']-1'-metil]benceno (335).**



Una disolución del alquino **67** (424 mg, 1.05 mmol), la azida **314** (50 mg, 0.12 mmol), DIPEA (0.38 mL, 2.21 mmol) y  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$  (26 mg, 0.07 mmol) en 5 mL de DMF se hacen reaccionar durante 40 min. siguiendo el procedimiento G. Cromatografía en columna ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH 25:1) permiten la obtención de 223 mg de **335** (65 %) como sólido:

P.F. 186-188 °C;

$[\alpha]_{\text{D}} +163^\circ$  (*c* 1, cloroformo);

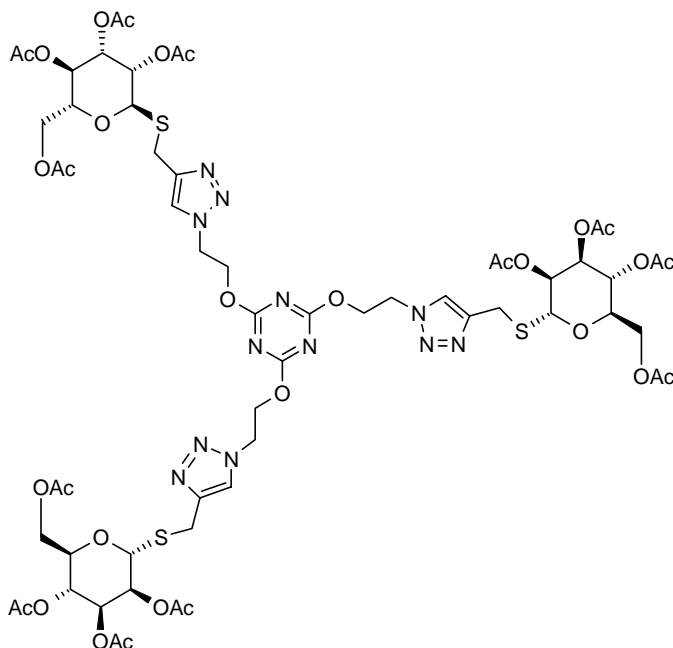
IR (KBr): 1749, 1371, 1229, 1050  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  7.34 (s, 6H), 5.82 (s, 12 H), 5.32 (t, 6 H,  $J = 9.5$  Hz), 5.23-5.17 (m, 18 H), 4.30 (m, 6 H), 4.26 (dd, 6 H,  $J = 12.1$  y 4.6 Hz), 4.09 (dd, 6 H,  $J = 11.8$  y 1.8 Hz), 3.85 (d, 6 H,  $J = 14.8$  Hz), 3.74 (d, 6 H,  $J = 14.8$  Hz), 2.14, 2.10, 2.08, 1.98 (4 s, 72 H);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.8, 170.1, 169.9, 169.7, 145.0, 137.4, 122.7, 81.7, 70.9, 69.5, 66.2, 62.3, 48.1, 24.7, 21.0, 20.8, 20.7, 20.6;

EMAR (*m/z*) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{114}\text{H}_{144}\text{N}_{18}\text{O}_{54}\text{S}_6 + \text{Na}$ : 2844.733; enc.: 2844.735.

**2,4,6-Tris{2-[4'-(2'',3'',4'',6''-tetra-*O*-acetil- $\alpha$ -D-manopiranosiltiometil)-1'-H-[1',2',3'] triazol-1'-il]-etoxi}-1,3,5-triazina (336)**



Una disolución del alquino **67** (70 mg, 0.21 mmol), la azida **315** (279 mg, 0.69 mmol), DIPEA (0.32 mL, 1.9 mmol) y  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$  (23 mg, 0.06 mmol) en 20 mL de tolueno se hacen reaccionar durante 10 min. siguiendo el procedimiento E. Cromatografía en columna (AcOEt:MeOH 50:1) permiten la obtención de 249 mg de **336** (84 %) como sólido:

P.F. 100-102 °C;

$[\alpha]_{\text{D}} +111^\circ$  (*c* 1, cloroformo);

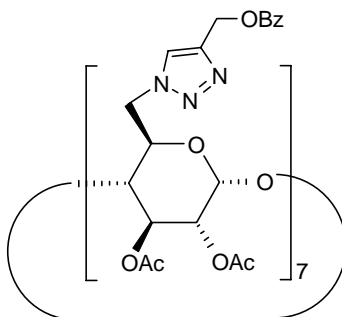
IR (KBr): 1749, 1560, 1372, 1333, 1229, 1050  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  7.67 (s, 3 H), 5.33 (t, 3 H,  $J = 9.9$  Hz), 5.29 (s, 6 H), 5.23 (dd, 3 H,  $J = 10.0$  y 2.9 Hz), 4.83 (t, 3 H,  $J = 4.8$  Hz), 4.78 (t, 3 H,  $J = 4.8$  Hz), 4.37 (ddd, 3 H,  $J = 9.5$ , 4.9 y 2.4 Hz), 4.29 (dd, 3 H,  $J = 12.0$  y 5.0 Hz), 4.09 (dd, 3 H,  $J = 12.1$  y 2.2 Hz), 3.97 (d, 3 H,  $J = 14.6$  Hz), 3.85 (d, 3 H,  $J = 14.6$  Hz), 2.14, 2.10, 2.05, 1.98 (4 s, 36 H);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  172.7, 171.4, 170.5, 169.7, 169.5, 144.1, 123.2, 81.5, 70.4, 69.4, 69.1, 69.1, 66.0, 62.1, 48.7, 24.5, 20.7, 20.6, 20.5, 20.4.



**Heptakis{2,3-di-O-acetil-6-desoxi-6-(4'-benzoiloximetil)-1'H-[1',2',3']-triazol-1-il} ciclomaltoheptaosa (337)**



Una disolución de la azida **317** (100 mg, 0.053 mmol), el alquino **319** (90 mg, 0.56 mmol), DIPEA (0.18 mL, 1.05 mmol) y  $(\text{Ph}_3\text{P})_3 \cdot \text{CuBr}$  (5 mg, 0.005 mmol) en 15 mL tolueno se hacen reaccionar durante 53 min. siguiendo el procedimiento B. Cromatografía en columna (AcOEt) dan 117 mg de **337** como sólido (74 %):

P.F. 157-159 °C;

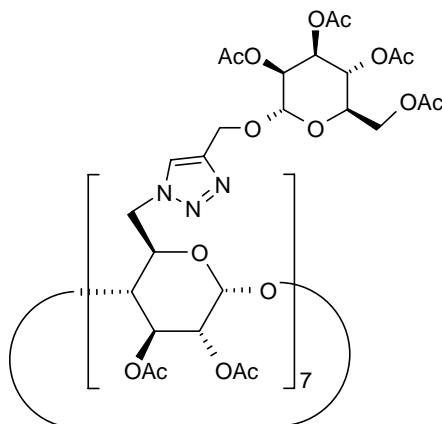
IR (KBr): 1752, 1720  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  7.92 (d, 14 H,  $J = 7.0$  Hz, Ar), 7.75 (s, 7 H, H-triazol), 7.44 (t, 7 H,  $J = 7.2$  Hz, Ar), 7.31 (t, 14 H,  $J = 7.2$  Hz, Ar), 5.50-5.20 (m, 28 H, H-2, H-3 y  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 4.74, 4.52 (2 m, 28 H, H-1, H-5 y  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 3.54 (m, 7 H, H-4), 2.06, 2.00 (2 s, 42 H, Ac);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.3, 169.4, 166.2, 142.6, 133.2, 132.0, 129.5, 128.4, 126.6, 96.3, 76.9, 70.5, 69.8, 69.5, 57.8, 50.1, 20.7;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{140}\text{H}_{147}\text{N}_{21}\text{O}_{56} + \text{Na}$ : 3040.9197; enc.: 3040.9150.

**Heptakis[2,3-di-O-acetil-6-desoxy-6-[4'-(2'',3'',4'',6''-tetra-O-acetil- $\alpha$ -D-manopiranosil oximetil)-1'H-[1',2',3']-triazol-1-il]]ciclomaltoheptaosa (338)**



Una disolución de la azida **317** (200 mg, 0.10 mmol), el alquino **69** (356 mg, 0.92 mmol), DIPEA (0.36 mL, 2.1 mmol),  $(\text{Ph}_3\text{P})_3 \cdot \text{CuBr}$  (60 mg, 0.064 mmol) y  $\text{CuI}$  (40 mg, 0.21 mmol) en 20 mL tolueno se hacen reaccionar durante 30 min. siguiendo el procedimiento D. Cromatografía en columna ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH 100:1  $\rightarrow$  50:1) dan 430 mg de **338** como sólido (89 %). Alternativamente, las mismas cantidades de **317** y **69** junto con DIPEA (0.36 mL, 2.1 mmol) y  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$  (40 mg, 0.11 mmol) en 20 mL de tolueno reaccionan durante 30 min. siguiendo el procedimiento E permiten obtener 457 mg de producto **338** lo que representa un rendimiento del 94 %:

P.F. 198-200 °C;

$[\alpha]_{\text{D}} + 58^\circ$  (c 1, cloroformo);

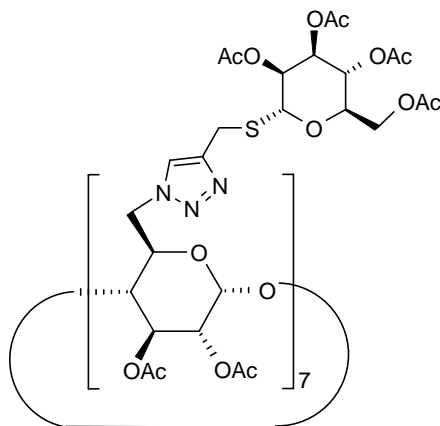
IR (KBr): 1751, 1773, 1229, 1048  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  7.87 (s, 7 H, H-triazol), 5.55 (d, 7 H,  $J = 3.7$  Hz, H-1CD), 5.41-5.18 (m, 28 H, H-3, H-2man, H-3man y H-4man), 4.98 (sa, 7 H, H-1man), 4.80 (dd, 7 H,  $J = 9.6$  y 3.5 Hz, H-2CD), 4.76 (d, 7 H,  $J = 12.5$  Hz,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 4.06 (d, 7 H,  $J = 7.4$  Hz,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 5.02-4.52 (m, 21 H, H-5CD, H-6CD y H-6'CD), 4.30 (dd, 7 H,  $J = 12.5$  y 4.5 Hz, H-6man), 4.10 (m, 14 H, H-5man y H-6man), 3.58 (t, 7 H,  $J = 9.0$  Hz, H-4CD), 2.09, 2.08, 2.03, 1.92, 1.78 (5 s, 126 H, Ac);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.6, 170.3, 169.9, 169.6, 169.5, 143.32, 126.2, 96.9, 96.6, 67.2, 69.3, 69.0, 68.6, 65.2, 62.3, 60.7, 50.2, 20.7, 20.6.

EMAR (m/z) (MALDI-TOF) calc. para  $C_{189}H_{245}N_{21}O_{112} + Na$ : 4626.05; enc.: 4625.36. Calc. para  $C_{189}H_{245}N_{21}O_{112} + K$ : 4642.1; enc.: 4641.52.

**Heptakis[2,3-di-O-acetil-6-desoxi-6-[4'-(2'',3'',4'',6''-tetra-O-acetil- $\alpha$ -D-manopiranosil tiometil)-1'H-[1',2',3']-triazol-1-il]]ciclomaltoheptaosa (339)**



Una disolución del alquino **67** (245 mg, 0.61 mmol), la azida **317** (137 mg, 0.07 mmol), DIPEA (0.26 mL, 1.5 mmol) y  $(EtO)_3P \cdot CuI$  (30 mg, 0.08 mmol) en 20 mL de tolueno se hacen reaccionar durante 30 min. siguiendo el procedimiento E. Cromatografía en columna ( $CH_2Cl_2$ :MeOH 50:1  $\rightarrow$  30:1) permiten la obtención de 247 mg de **339** (73 %) como sólido:

P.F. 200-202 °C;

$[\alpha]_D +122^\circ$  (c 1, cloroformo);

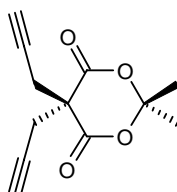
IR (KBr): 1751, 1229, 1049  $cm^{-1}$ ;

$^1H$  RMN ( $CDCl_3$ , 400 MHz)  $\delta$ : 7.75 (s, 7 H, H-triazol), 5.51 (sa, 7 H, H-1CD), 5.42 (s, 7 H, H-1man), 5.35 (t, 7 H,  $J = 9.5$  Hz, H-3CD) 5.33 (t, 7 H,  $J = 9.9$  Hz, H-4man), 5.27 (sa, 7 H, H-2man), 5.18 (dd, 7 H,  $J = 9.8$  y 3.0 Hz, H-3 man), 4.88 (da, 7 H,  $J = 14.2$  Hz, H-6CD), 4.75 (m, 14 H, H-2CD y H-6'CD), 4.48 (m, 7 H, H-5CD), 4.35 (m, 7 H, H-5man), 4.31 (dd, 7 H,  $J = 12.1$  y 4.1 Hz, H-6man), 4.12 (da, 7 H,  $J = 12.0$  Hz, H-6' man), 3.89 (d, 7 H,  $J = 14.2$  Hz,  $CH_2S$ ), 3.79 (d, 7 H,  $J = 14.4$  Hz,  $CH_2S$ ), 3.54 (t, 7 H,  $J = 8.7$  Hz, H-4CD), 2.12, 2.09, 2.05, 2.02, 1.95, 1.78 (6 s, 126 H, Ac);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$ : 170.6, 170.4, 169.9, 169.7 (CO), 144.0 (C<sub>triazol</sub>), 125.2 (CH<sub>triazol</sub>), 96.7 (C-1CD), 81.9 (C-1man), 76.8 (C-4CD), 70.1 (C-2man), 69.7-69.3 (C-2CD, C-3CD, C-5CD, C-2man, C-3man y C-5man), 66.2 (C-4man), 62.3 (C-6man), 50.1 (C-6CD), 24.8 ( $\text{CH}_2\text{S}$ ), 20.9, 20.8, 20.7, 20.6 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ );

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{189}\text{H}_{245}\text{N}_{21}\text{O}_{105}\text{S}_7 + \text{Na}$ : 4738.25; enc.: 4738.19.

### Síntesis de 2,2-dimetil-5,5-di-(prop-2'-inil)-1,3-dioxan-4,6-diona (**341**)



A una disolución de **340** (1 g, 6.9 mmol) y bromuro de propargilo (2.5 g, 20.8 mmol) en 10 mL de DMF se añaden 4.8 g (34.5 mmol) de  $\text{K}_2\text{CO}_3$ . La reacción se mantiene bajo agitación magnética a t. a. durante 4 h. tras lo cual se añaden 100 mL de AcOEt que se lavan con 30 mL de agua. La disolución acuosa se lava con 50 mL de AcOEt. Ambas fases orgánicas se reúnen y se lavan con agua (30 mL x 2) tras lo cual la fase orgánica se seca con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se evapora. Se obtiene un sólido que es cristalizado en éter etílico-hexano obteniéndose 1.16 g (76 %) de **341** como sólido:

IR (KBr): 3270, 1761, 1736, 1358, 1280  $\text{cm}^{-1}$ ;

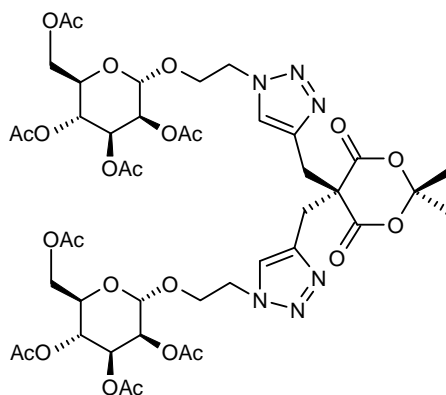
$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  2.88 (d, 4 H,  $J = 2.6$  Hz), 2.20 (t, 2 H,  $J = 2.6$  Hz), 1.85 (s, 6 H);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  167.0, 107.0, 77.5, 73.6, 53.5, 30.0, 27.8.

### Procedimiento general para la síntesis de los neoglicoconjugados 342 y 344.

A una disolución de la correspondiente azida (416 mg, 1 mmol) y **341** (100 mg, 0.45 mmol) en 15 mL de tolueno se añaden 16 mg (0.045 mmol) de  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$ . La reacción se mantiene a reflujo durante 4 h. tras lo cual se evapora el disolvente y el crudo de reacción se purifica mediante cromatografía en columna (AcOEt:MeOH 50:1  $\rightarrow$  25:1) para dar el correspondiente neoglicoconjugado.

#### 5,5-Bis[[1'- [2''-(2''',3''',4''',6'''-tetra-O-acetil- $\alpha$ -D-manopiranosiloxi)etil]-1'H-[1',2',3']-triazol-4'-il]metil]-2,2-dimetil-1,3-dioxan-4,6-diona (**342**)



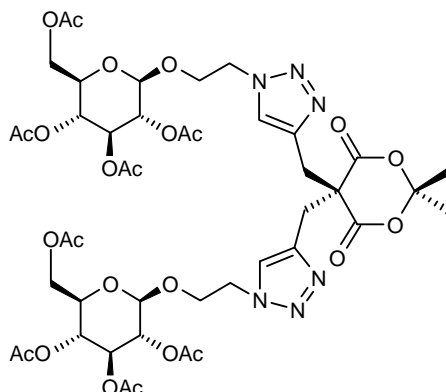
Se obtienen 433 mg de **342** (90 %) como sólido:

IR (KBr): 1749, 1373, 1228, 1090, 1049  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  7.55 (s, 2 H, H-triazol), 5.25-5.10 (m, 6 H, H-2, H-3 y H-4), 4.72 (s, 2 H, H-1), 4.51 (t, 4 H,  $J = 5.2$  Hz,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 4.15 (dd, 2 H,  $J = 12.3$  y 5.2 Hz, H-6), 4.10-4.00 (m, 2 H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2$ ), 3.98 (dd, 2 H,  $J = 12.3$  y 2.4 Hz, H-6'), 3.80 (dt, 2 H,  $J = 10.5$  y 5.2 Hz,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2$ ), 3.55-3.40 (m, 2 H, H-5), 3.48 (s, 4 H,  $\text{CH}_2$ -triazol), 2.14, 2.09, 2.06, 2.00 (4 s, 24 H, Ac), 1.49 (s, 6 H, isopropiliden);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.5, 169.9, 169.9, 169.7, 167.6 (COO), 141.6 (C-triazol), 124.1 (CH-triazol), 106.9 (C-isopropiliden), 97.5 (C-1), 69.3, 69.1, 68.8, 65.8 (C-2, C-3, C-4 y C-5), 66.2 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_2$ ), 62.3 (C-6), 54.0 (OOC-C-COO), 49.7 ( $\text{CH}_2\text{N}$ ), 34.0 ( $\text{CH}_2$ -triazol), 28.9 ( $\text{CH}_3$ -isopropiliden), 20.8, 20.8, 20.7 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ).

**5,5-Bis[1'-[2''-(2''',3''',4''',6'''-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosiloxi)etil]-1'H-[1',2',3']-triazol-4'-il]metil]-2,2-dimetil-1,3-dioxan-4,6-diona (344)**



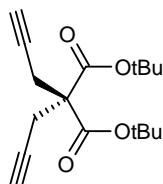
Se obtienen 437 mg de **344** (91 %) como sustancia siruposa:

IR (KBr): 1754, 1434, 1377, 1228, 1041  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  7.51 (s, 2 H), 5.19 (t, 2 H,  $J = 9.4$  Hz), 5.07 (t, 2 H,  $J = 9.6$  Hz), 4.97 (t, 2 H,  $J = 8.0$  Hz), 4.60-4.45 (m, 6 H), 4.30-4.05 (m, 6 H), 4.00-3.85 (m, 2 H), 3.73 (ddd, 2 H,  $J = 9.9$  y 2.4 Hz), 3.55 (d, 2 H,  $J = 14.7$  Hz), 3.49 (d, 2 H,  $J = 14.6$  Hz), 2.09, 2.04, 2.02, 1.99 (4 s, 24 H), 1.43 (s, 6 H);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.4, 169.9, 169.3, 169.1, 167.5, 141.1, 124.0, 106.8, 100.4, 72.4, 71.9, 70.9, 68.2, 67.5, 61.6, 53.9, 49.9, 34.1, 28.7, 20.6, 20.4.

**Síntesis de 2,2-di-(prop-2'-inil)-malonato de di-*terc*-butilo (346)**



A una disolución de malonato de di-*terc*-butilo (0.97 g, 4.38 mmol) y bromuro de propargilo (3.9 g, 26.2 mmol) en 7 mL de DMF se añaden 6.05 g (43.8 mmol) de  $\text{K}_2\text{CO}_3$ . La reacción se mantiene bajo agitación magnética a 50 °C durante 12 h. tras lo cual se añaden 75 mL de tolueno y 25 mL de éter etílico que se lavan con agua (30 mL x 2). La fase orgánica se seca con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se evapora. Se obtiene un crudo que es

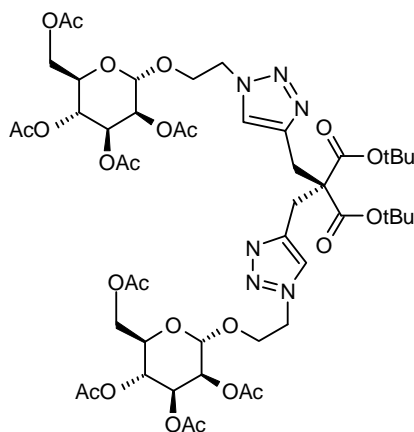
purificado mediante cromatografía en columna (Hexano-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 1:1) que permiten obtener **346** como sólido (1.07g, 82 %):

IR (KBr): 3277, 2983, 1726, 1372, 1249, 1146 cm<sup>-1</sup>;

<sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ 2.88 (d, 4 H, *J* = 2.7 Hz), 2.02 (t, 2 H, *J* = 2.6 Hz), 1.46 (s, 18 H);

<sup>13</sup>C RMN (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz): δ 167.8, 82.1, 78.9, 71.4, 57.0, 27.7, 22.3.

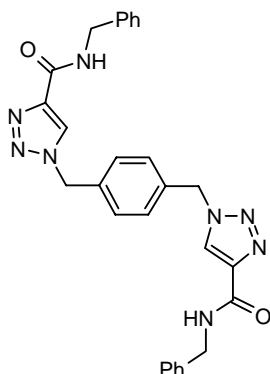
### Síntesis de 2,2-Bis[1'-[2''-(2'''',3''',4''',6'''-tetra-*O*-acetil- $\alpha$ -D-manopiranosiloxi)etil]-1'H-[1',2',3']-triazol-4'-il]metil]malonato de di-*terc*-butilo (**347**)



A una disolución de **316** (214 mg, 0.49 mmol) y **346** (65 mg, 0.23 mmol) en 15 mL de tolueno se añaden 8 mg (0.02 mmol) de (EtO)<sub>3</sub>P · CuI. La reacción se mantiene a reflujo durante 2 h. tras lo cual se evapora el disolvente y el crudo de reacción se purifica mediante cromatografía en columna (AcOEt) para dar **347** (249 mg, 95 %) como sólido:

IR (KBr): 1751, 1371, 1228, 1140, 1048 cm<sup>-1</sup>;

<sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ 7.70 (s, 2 H), 5.30-5.10 (m, 6 H), 4.81 (s, 2 H), 4.58 (t, 4 H, *J* = 5.4 Hz), 4.21 (dd, 2 H, *J* = 12.3 y 5.1 Hz), 4.18-4.10 (m, 2 H), 4.04 (dd, 2 H, *J* = 12.3 y 2.0 Hz), 3.90 (dt, 2 H, *J* = 10.5 y 5.2 Hz), 3.65-3.55 (m, 2 H), 3.20 (s, 4 H), 2.13, 2.09, 2.03, 1.97 (4 s, 24 H), 1.47 (s, 18 H).

**Síntesis de 1,4-Bis[4'-(bencilamida del ácido carboxílico)-1'H-[1',2',3']triazol-1'-metil]-benceno (349)**

Una disolución del alquino **348** (162 mg, 1 mmol), la azida **309** (76 mg, 0.40 mmol), DIPEA (0.43 mL, 2.5 mmol) y  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$  (15 mg, 0.04 mmol) en 15 mL de tolueno se hacen reaccionar durante 30 min. en microondas apareciendo un precipitado que se filtra y se lava con 20 mL de mezcla de tolueno y éter etílico 1:1 para dar **349** (152 mg, 74%) como sólido:

P.F. >300 °C;

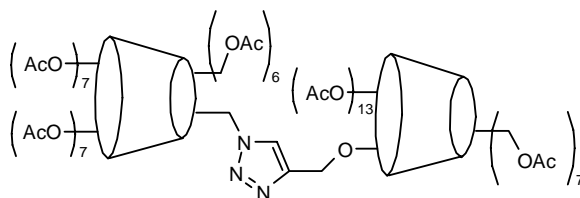
IR (KBr): 3330, 3105, 1649, 1573  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 300 MHz):  $\delta$  9.06 (t, 2 H,  $J = 6.3$  Hz, NH), 8.62 (s, 2 H, H triazol), 7.34-7.20 (m, 14 H, 2  $\text{C}_6\text{H}_5$ , 2  $\text{C}_6\text{H}_4$ ), 5.63 (s, 4 H,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 4.41 (d, 4 H,  $J = 6.3$  Hz,  $\text{CH}_2\text{NH}$ );

$^{13}\text{C}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 75 MHz):  $\delta$  159.5, 142.9, 139.5, 135.7, 128.4, 128.2, 127.2, 126.6, 52.6, 41.9;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{28}\text{H}_{26}\text{N}_8\text{O}_2 + \text{Na}$ : 529.2076; enc.: 529.2081.



**Síntesis de la 2,6'-Bis( $\beta$ -ciclodextrina) 351**

Una disolución de la azida **318** (54 mg, 27  $\mu$ mol), el alquino **350** (50 mg, 25  $\mu$ mol), DIPEA (100  $\mu$ L),  $(\text{Ph}_3\text{P})_3 \cdot \text{CuBr}$  (20 mg, 21  $\mu$ mol) y CuI (15 mg, 78  $\mu$ mol) en 10 mL tolueno se hacen reaccionar durante 2h. 30 min. con irradiación de microondas. El disolvente se evapora y el crudo de reacción se purifica mediante cromatografía en columna ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH 30:1  $\rightarrow$  15:1) dan 73 mg de **351** como sólido (73 %):

P.F. 193-195  $^\circ\text{C}$ ;

$[\alpha]_D +102$  (c 1, cloroformo);

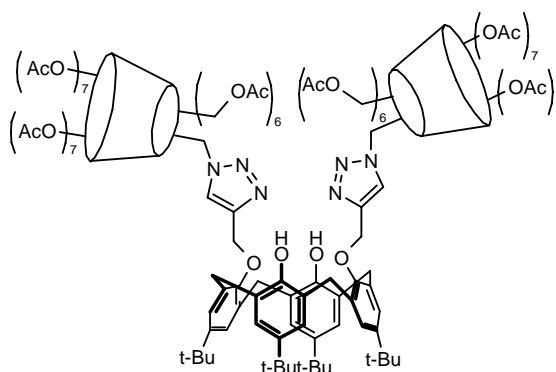
IR (KBr): 1747, 1239, 1041  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) (señales seleccionadas):  $\delta$  7.77 (s, 1 H, H-triazol), 5.67 (d, 1 H,  $J = 3.8$  Hz, H-1);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz) (señales seleccionadas):  $\delta$  144.0, 126.2, 98.3, 97.4, 97.2, 97.0, 96.9, 96.8, 96.6, 96.4, 49.2;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{167}\text{H}_{221}\text{N}_3\text{O}_{109} + \text{Na}$ : 4037.181; enc.: 4036.91.

### Síntesis de la Bis( $\beta$ -ciclodextrina) unida a calix[4]areno **353**



Una disolución de la azida **318** (213 mg, 0.106 mmol), el alquino **352** (35 mg, 0.048 mmol), DIPEA (100  $\mu$ L),  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$  (4 mg, 0.2 mmol) y CuI (30 mg, 0.16 mmol) en 15 mL tolueno se hacen reaccionar durante 1h. 30 min. con irradiación de microondas. El disolvente se evapora y el crudo de reacción se purifica mediante cromatografía en columna (AcOEt  $\rightarrow$  AcOEt:MeOH 50:1) para dar 213 mg de **353** como sólido (94 %):

P.F. 207-209  $^{\circ}\text{C}$ ;

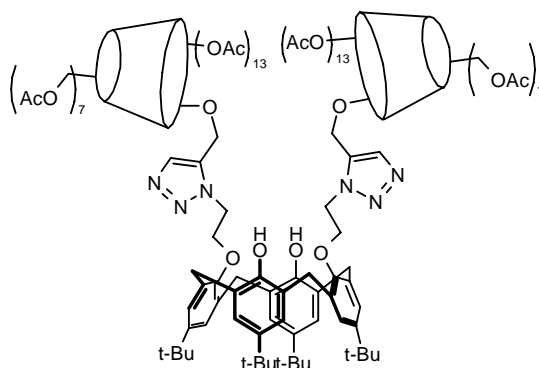
$[\alpha]_{\text{D}} + 92^{\circ}$  ( $c$  1, cloroformo);

IR (KBr): 1755, 1372, 1233, 1046  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) (señales seleccionadas):  $\delta$  7.81 (s, 2 H, H-triazol), 7.02 (s, 4 H, Ar), 6.74, 6.72 (2 s, 6 H, Ar, OH), 5.67 (d, 2 H,  $J = 3.7$  Hz, H-1 de la unidad I CD), 4.95 (dd, 7 H,  $J = 8.5$  y 3.8 Hz, H-2 de la unidad I CD), 3.20 (d, 4 H,  $J = 12.3$  Hz,  $\text{ArCH}_2\text{Ar}$ ), 3.16 (d, 4 H,  $J = 12.3$  Hz,  $\text{ArCH}_2\text{Ar}$ ), 2.20-2.00 (9 s, 120 H, Ac), 1.26 (s, 18 H,  $\text{Me}_3\text{C}$ ), 0.90 (s, 18 H,  $\text{Me}_3\text{C}$ );

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz):  $\delta$  170.8-170.4 (8 señales), 140.3, 149.5, 146.9, 143.2, 141.5, 132.1, 131.9, 128.5, 126.8, 125.5, 125.1, 97.3, 97.1, 96.9, 96.7, 96.4, 76.7, 71.7, 71.3, 71.0, 70.6, 70.5, 70.2, 70.1, 69.8, 69.7, 69.6, 69.4, 62.9, 62.6, 62.5, 62.3, 60.4, 51.1, 33.9, 33.8, 31.7, 31.6, 31.0, 21.0, 20.9, 20.8, 20.7, 20.6;

### Síntesis de la Bis( $\beta$ -ciclodextrina) unida a calix[4]areno **355**



Una disolución de la azida **354** (9 mg, 11  $\mu$ mol), el alquino **350** (50 mg, 25  $\mu$ mol), DIPEA (100  $\mu$ L),  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$  (4 mg, 0.2 mmol) y CuI (15 mg, 78  $\mu$ mol) en 10 mL tolueno se hacen reaccionar durante 1h. 30 min. con irradiación de microondas. El disolvente se evapora y el crudo de reacción se purifica mediante cromatografía en columna (AcOEt  $\rightarrow$  AcOEt:MeOH 50:1) para dan 44 mg de **355** como sólido (85 %):

P.F. 237-240  $^{\circ}\text{C}$ ;

$[\alpha]_{\text{D}} +72^{\circ}$  (c 1, cloroformo);

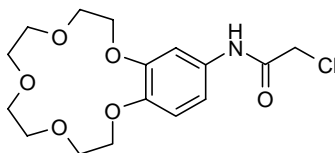
IR (KBr): 1752, 1237, 1045  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) (señales seleccionadas):  $\delta$  8.12 (s, 2 H, H-triazol), 7.04, 7.02, 6.68 (3 s, 8 H, Ar), 6.35 (sa, 2 H, 2 OH), 2.12-2.03 (8 s, 120 H, Ac), 1.28 (s, 18 H,  $\text{Me}_3\text{C}$ ), 0.86 (s, 18 H,  $\text{Me}_3\text{C}$ );

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.9-170.4 (9 señales), 150.2, 149.1, 147.6, 142.0, 133.2, 133.1, 131.9, 131.8, 128.6, 128.5, 127.8, 127.6, 125.8, 125.7, 125.3, 125.1, 124.3, 98.8, 97.3, 97.1, 96.8, 96.7, 96.6, 78.3, 78.1, 74.1, 73.0, 70.9, 70.7, 70.5, 70.2, 69.7, 69.6, 62.9, 62.6, 62.5, 60.4, 50.4, 33.9, 31.7, 31.2, 30.9, 21.1, 21.0, 20.8;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{218}\text{H}_{286}\text{N}_6\text{O}_{114} + \text{Na}$ : 4836.673; enc.: 4836.59.

### Síntesis de 4'-[(2-cloroacetil)-amino]benzo-15-crown-5 (357)



Una disolución de **356** (1.0 g, 3.53 mmol), anhídrido cloroacético (1.0 g, 5.85 mmol) y  $\text{Et}_3\text{N}$  (0.6 mL, 4.33 mmol) en 30 mL acetato de etilo (anh.) fue hecho reaccionar bajo agitación magnética a t. a. durante 1 h. A la mezcla de reacción se adicionaron 160 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , fue lavado con una disolución saturada de  $\text{NaHCO}_3$  (50 mL x 2) y secada con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . El disolvente fue evaporado y el crudo purificado mediante cristalización con hexano:éter etílico 1:1 para dar el producto **357** (1.21 g, 96 %) como sólido:

P.F. 139-140 °C;

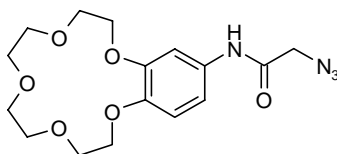
IR (KBr): 3416, 3270, 2933, 2876, 1670, 1515, 1241, 1132  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  8.15 (sa), 7.28 (d, 1 H,  $J = 2.3$  Hz), 6.94 (dd, 1 H,  $J = 8.5$  y 2.4 Hz), 6.84 (d, 1 H,  $J = 8.6$  Hz), 4.17(s, 2 H), 4.14 (m, 2 H), 3.90 (dd, 2 H,  $J = 4.7$  y 4.1 Hz), 3.76 (sa, 14 H);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  163.8, 146.5, 130.9, 114.6, 112.9, 107.2, 71.0, 70.6, 70.5, 69.6, 69.5, 69.0, 43.0;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{ClNO}_6 + \text{Na}$ : 382.1033; enc.: 382.1025.

### Síntesis de 4'-[(2-azidoacetil)-amino]benzo-15-crown-5 (358)



A una disolución de **357** (270 mg, 0.75 mmol) en 15 mL de metanol se le añade una disolución de  $\text{NaN}_3$  (172 mg, 2.63 mmol) en 5 mL de agua. La mezcla de reacción se mantiene bajo agitación a reflujo durante 8 horas tras lo cual se evapora el metanol, se

le añaden 10 mL de agua y se extrae con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (30 ml x 3). La fase orgánica se seca con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se evapora obteniéndose 258 mg de **358** (94 %) como sólido:

P.F. 117-119 °C;

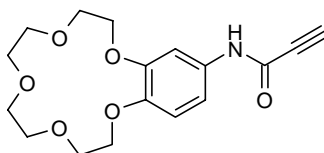
IR (KBr): 3302, 2932, 2101, 1663, 1609, 1547, 1517, 1416, 1263, 1133  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  8.05 (sa, 1H), 7.28 (d, 1 H,  $J = 2.3$  Hz), 6.93 (dd, 1 H,  $J = 8.5$  y 2.4 Hz), 6.81 (d, 1 H,  $J = 8.5$  Hz), 4.20-4.00, 3.95-3.85, 3.80-3.65 (3 m, 18 H);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  164.4, 149.1, 147.5, 131.0, 114.7, 112.7, 107.2, 71.1, 71.0, 70.6, 70.4, 69.7, 69.6, 69.5, 68.9, 52.9;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_6 + \text{Na}$ : 389.1437; enc.: 389.1438.

### Síntesis de 4'-[(2-etinilcarbonil)-amino]-benzo-15-crown-5 (**359**)



A una disolución de **356** (1.0 g, 3.53 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (anh.) fueron añadidos ácido propiónico (0.24 mL, 3.88 mmol) y DCC (800 mg, 3.88 mmol). Tras hacerlos reaccionar a t. a. durante 3 h. se filtra y el filtrado se evapora. El crudo fue purificado mediante cromatografía en columna (acetonitrilo:agua 15:1) para dar 1.12 g (94 %) del producto **359** como sólido:

P.F. 121-123 °C;

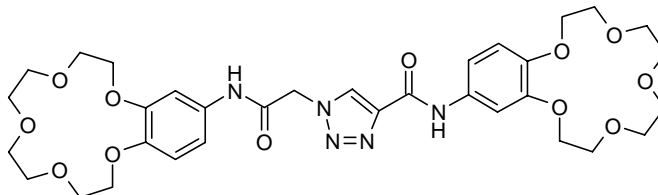
IR (KBr): 3282, 3191, 2929, 2858, 2100, 1643, 1525, 1431, 1239, 1139  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  8.84 (sa, 1 H), 7.29 (d, 1 H,  $J = 2.2$  Hz), 6.99 (dd, 1 H,  $J = 8.6$  y 2.0 Hz), 6.73 (d, 1 H,  $J = 8.7$  Hz), 4.20-3.70 (3 m, 16 H), 2.96 (s, 1 H);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  149.9, 148.9, 131.5, 114.1, 112.8, 107.0, 77.8, 74.2, 70.8, 70.7, 70.3, 70.2, 69.4, 69.3, 69.1, 68.6;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $C_{17}H_{21}NO_6 + Na$ : 358.1266; enc.: 358.1261.

**Síntesis de 1-[[[4'-benzo-15-crown-5)-aminocarbonil]-metil]-4-[[4''-benzo-15-crown-5)-aminocarbonil]-1H-[1,2,3]-triazol (360)**



Una disolución del alquino **359** (58 mg, 0.17 mmol), la azida **358** (62 mg, 0.17 mmol), DIPEA (103  $\mu$ L, 0.6 mmol) y  $(EtO)_3P \cdot CuI$  (10 mg, 0.02 mmol) en 4 mL de DMF es irradiada con microondas durante 8 min. tras lo cual el producto es precipitado con 50 mL de éter etílico, filtrado y purificado mediante cromatografía en columna para dar **360** (109 mg, 91 %) como sólido:

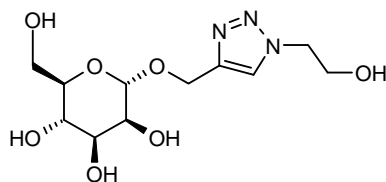
IR (KBr): 3448, 2929, 1626, 1515, 1244, 1129  $cm^{-1}$ ;

$^1H$  RMN ( $CDCl_3$ , 300 MHz):  $\delta$  9.45 (s, 1 H), 8.82 (s, 1 H), 7.85 (s, 1 H), 7.45 (s, 1 H), 7.17 (d, 1 H,  $J = 7.8$  Hz), 7.05 (s, 1 H), 6.90-6.65 (m, 4 H), 5.44 (s, 2 H), 4.20-3.70 (m, 32 H);

$^{13}C$  RMN ( $CDCl_3$ , 75 MHz):  $\delta$  164.0, 157.5, 149.3, 148.3, 145.6, 144.7, 143.0, 132.4, 132.1, 127.4, 114.9, 113.7, 111.8, 106.7, 105.2, 70.9, 70.8, 70.5, 70.4, 70.3, 69.8, 69.6, 69.4, 69.0, 68.6, 67.6, 67.6, 53.1.

**Procedimiento general para la síntesis de los glicoconjugados 321-336 y 339**

Des-O-acetilación de Zemplen con MeONa/MeOH de los correspondientes derivados acetilados (0.2 mmol) seguida de evaporación del disolvente y purificación por cromatografía en columna permite obtener los productos hidroxilados puros que fueron posteriormente liofilizados.

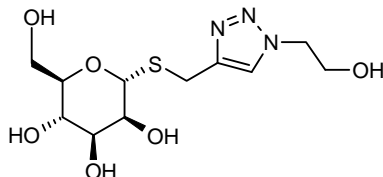
**1-(2'-Hidroxietyl)-4-( $\alpha$ -D-manopiranosiloximetil)-1H-[1,2,3]triazol (361)**

Cromatografía en columna (AcOEt:MeOH 2:1) y liofilización da **361** (82 %) en forma de sólido delicuescente:

$^1\text{H}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 300 MHz):  $\delta$  (señales seleccionadas) 8.03 (s, 1H), 4.80 (d, 1 H,  $J = 12.4$  Hz), 4.65 (d, 1 H,  $J = 12.4$  Hz), 4.50 (t, 2 H,  $J = 5.2$  Hz), 3.93 (t, 2 H,  $J = 5.2$  Hz);

$^{13}\text{C}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 75 MHz):  $\delta$  145.1, 126.0, 100.8, 74.9, 72.5, 72.0, 68.6, 63.0, 61.6, 60.7, 53.9;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{11}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_7 + \text{Na}$ : 328.1121; enc.: 328.1121.

**1-(2'-Hidroxietyl)-4-( $\alpha$ -D-manopiranosiltiometil)-1H-[1,2,3]-triazol (362)**

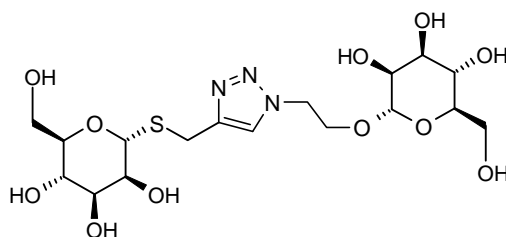
Cromatografía en columna (AcOEt:MeOH 2:1) y liofilización da **362** (93 %) en forma de sólido delicuescente:

$[\alpha]_{\text{D}}^{+77^\circ}$  (c 0.5, agua);

$^1\text{H}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 300 MHz)  $\delta$ : 7.94 (s, 1 H), 5.13 (s, 1 H), 4.98 (m, 2 H), 4.80 (d, 1 H,  $J = 4.4$  Hz), 4.67 (d, 1 H,  $J = 4.4$  Hz), 4.53 (t, 1 H,  $J = 5.4$  Hz), 3.86-3.38 (varios m, 12 H);

$^{13}\text{C}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 100 MHz)  $\delta$ : 143.8, 123.5, 83.8, 74.6, 71.7, 71.5, 67.3, 61.5, 60.3, 52.5, 23.4;

EMAR (m/z) (FAB +) calc. para  $\text{C}_{11}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_6\text{S} + \text{Na}$ : 344.0892; enc.: 344.0890.

**1-( $\alpha$ -D-Manopiranosiloxietil)-4-( $\alpha$ -D-manopiranosiltiometil)-1H-[1,2,3]-triazol (363)**


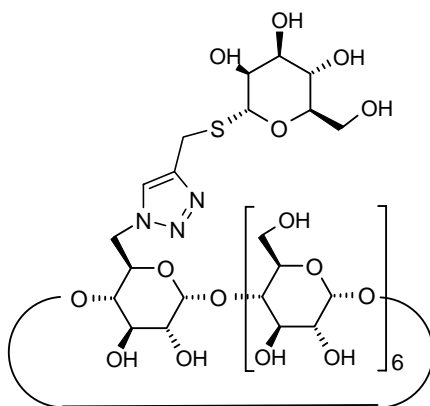
Cromatografía en columna (AcOEt:MeOH 1:3) y liofilización da **363** (100 %) en forma de sólido delicuescente:

$[\alpha]_D +103^\circ$  (c 1, agua);

$^1\text{H}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 300 MHz)  $\delta$ : (señales seleccionadas) 7.97 (s, 1 H), 5.10 (s, 1 H), 4.60 (s, 1 H), 3.83 (d, 1 H,  $J = 14.3$  Hz), 3.74 (d, 1 H,  $J = 14.2$  Hz);

$^{13}\text{C}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 75 MHz)  $\delta$ : 144.0, 123.4, 100.0, 83.9, 74.8, 74.2, 71.6, 71.4, 70.8, 70.0, 67.3, 66.8, 64.9, 61.1, 49.3, 23.5;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{17}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_{11}\text{S} + \text{Na}$ : 506.1421; enc.: 506.1426.

**Mono {6'-[4'-( $\alpha$ -D-Manopiranosiltiometil)-1'-H-[1',2',3']triazol-1-il]-6'-desoxi}hexakis ciclomaltoheptaosa (364)**


Cromatografía en columna (acetonitrilo:agua 2:1) y liofilización da **364** (98 %) en forma de sólido delicuescente:

$[\alpha]_D +116^\circ$  (c 1, agua);

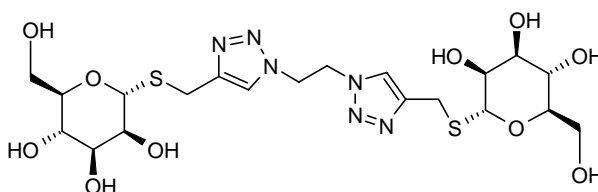


$^1\text{H}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 300 MHz):  $\delta$  (señales seleccionadas) 7.92 (s, 1 H);

$^{13}\text{C}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 75 MHz):  $\delta$  144.0, 101.9, 84.0, 81.5, 79.1, 74.6, 73.0, 72.3, 72.0, 71.6, 71.5, 67.3, 60.0;

EMAR (m/z) (MALDI-TOF) calc. para  $\text{C}_{51}\text{H}_{83}\text{O}_{39}\text{N}_3\text{S}$  + Na: 1416.422; enc.: 1416.419.

### 1,2-Bis{4'-( $\alpha$ -D-manopiranosiltiometil)-1'H-[1',2',3']-triazol-1'-il]-etano (365)



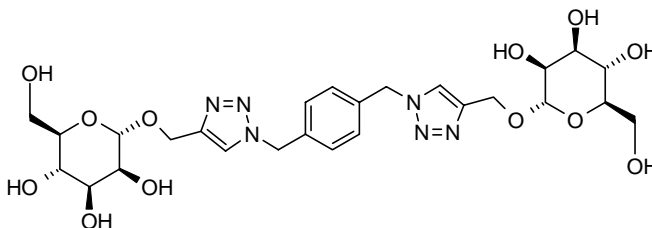
Cromatografía en columna (AcOEt:MeOH 1:3) y liofilización da **365** (79 %) en forma de sólido delicuescente:

$^1\text{H}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 300 MHz):  $\delta$  (señales seleccionadas) 7.78 (s, 2 H), 5.08 (s, 4 H), 4.84 (s, 6 H), 3.81 (d, 2 H,  $J = 14.4$  Hz), 3.72 (d, 2 H,  $J = 14.4$  Hz);

$^{13}\text{C}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 75 MHz):  $\delta$  146.1, 125.1, 84.8, 75.1, 73.1, 73.1, 68.8, 62.7, 50.9, 24.4;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{N}_6\text{O}_{10}\text{S}_2$  + Na: 603.1519; enc.: 603.1523.

### 1,4-Bis{4'-( $\alpha$ -D-manopiranosiloximetil)-1'H-[1',2',3']-triazol-1'-metil]-benceno (366)



Cromatografía en columna (AcOEt:MeOH 1:1) y liofilización da **366** (100 %) en forma de sólido delicuescente:

$[\alpha]_D +44^\circ$  (c 1, agua);

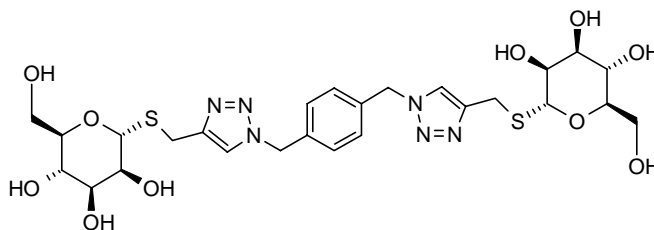
IR (KBr): 3372, 2926, 1566, 1411, 1130, 1052, 1024  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 300 MHz):  $\delta$  (señales seleccionadas) 8.15 (s, 2 H), 7.32 (s, 4 H), 5.57 (s, 4 H), 4.70 (s, 2 H), 4.65 (d, 2 H,  $J = 12.2$  Hz), 4.49 (d, 2 H,  $J = 12.2$  Hz), 3.67 (d, 2 H,  $J = 11.0$  Hz), 3.56 (s, 2 H);

$^{13}\text{C}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 75 MHz):  $\delta$  143.9, 136.0, 128.5, 124.2, 99.1, 74.2, 70.9, 70.2, 67.0, 62.3, 59.1, 52.5;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{26}\text{H}_{36}\text{N}_6\text{O}_{12} + \text{Na}$ : 647.2289; enc.: 647.2286.

### 1,4-Bis[4'-( $\alpha$ -D-manopiranosiltiometil)-1'H-[1',2',3']-triazol-1'-metil]-benceno (367)



Cromatografía en columna (AcOEt:MeOH 1:1) y liofilización da **367** (71 %) en forma de sólido delicuescente:

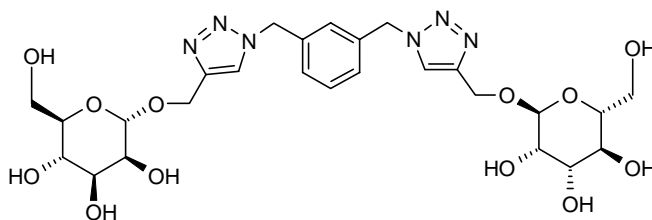
$[\alpha]_D +61^\circ$  (c 0.5, agua);

IR (KBr): 3402, 1647, 1438  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 300 MHz)  $\delta$ : 8.03 (s, 2 H), 7.29 (s, 4 H), 5.53 (s, 4 H), 5.11 (s, 2 H), 9.96 (d, 2 H,  $J = 4.3$  Hz), 4.73 (d, 2H,  $J = 4.5$  Hz), 4.66 (d, 2 H,  $J = 4.5$  Hz), 4.52 (t, 2 H,  $J = 5.8$  Hz), 3.85 (d, 2 H,  $J = 14.3$  Hz), 3.73 (d, 2 H,  $J = 14.5$  Hz), 3.65-3.60 (m, 6 H), 3.55-3.35 (m, 6 H);

$^{13}\text{C}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 75 MHz)  $\delta$ : 144.6, 136.0, 128.4, 83.9, 74.8, 71.6, 71.5, 67.3, 61.1, 52.4, 23.4;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{26}\text{H}_{36}\text{N}_6\text{O}_{10}\text{S}_2 + \text{Na}$ : 679.1832; enc.: 679.1833.

**1,3-Bis[4'-( $\alpha$ -D-manopiranosiloximetil)-1'H-[1',2',3']-triazol-1'-metil]-benceno (368)**

Cromatografía en columna (AcOEt:MeOH 1:1  $\rightarrow$  1:2) y liofilización da **368** (78 %) en forma de sólido delicuescente:

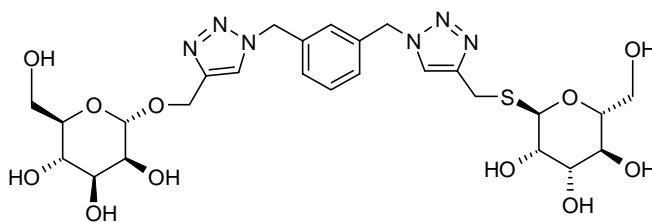
$[\alpha]_D +54^\circ$  (*c* 1, agua);

IR (KBr): 3393, 2930, 1131, 1058  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 300 MHz)  $\delta$ : (señales seleccionadas) 8.16 (s, 2 H), 7.38 (t, 1 H, *J* = 7.5 Hz), 7.34 (s, 1 H), 7.25 (d, 2 H, *J* = 7.4 Hz), 5.58 (s, 4 H), 4.71 (s, 2 H), 4.66 (d, 2 H, *J* = 12.3 Hz), 4.50 (d, 2 H, *J* = 12.2 Hz), 3.67 (d, 2 H, *J* = 11.2 Hz), 3.57 (s, 2 H);

$^{13}\text{C}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 75 MHz)  $\delta$ : 143.9, 136.6, 129.3, 127.8, 127.6, 124.3, 99.1, 74.2, 70.9, 70.2, 67.0, 61.3, 59.1, 52.6;

EMAR (*m/z*) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{26}\text{H}_{36}\text{N}_6\text{O}_{12}$  + Na: 647.2289; enc.: 647.2284.

**1,3-Bis[4'-( $\alpha$ -D-manopiranosiltiometil)-1'H-[1',2',3']-triazol-1'-metil]-benceno (369)**

Cromatografía en columna (AcOEt:MeOH 1:1  $\rightarrow$  1:2) y liofilización da **369** (80 %) en forma de sólido delicuescente:

$[\alpha]_D +165^\circ$  (*c* 1, agua);

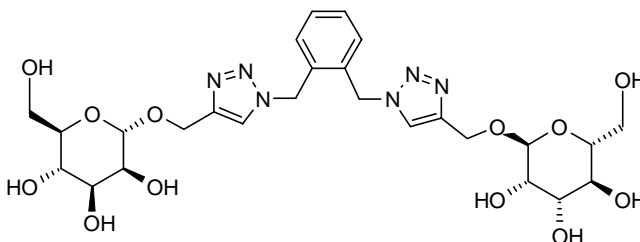
IR (KBr): 3409, 2929, 1071  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 300 MHz)  $\delta$ : (señales seleccionadas) 8.06 (s, 2 H), 7.37 (t, 1 H,  $J = 7.6$  Hz), 7.29 (s, 1 H), 7.13 (d, 2 H,  $J = 7.4$  Hz), 5.56 (s, 4 H), 3.84 (d, 2 H,  $J = 14.4$  Hz), 3.75 (d, 2 H,  $J = 14.4$  Hz);

$^{13}\text{C}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 75 MHz)  $\delta$ : 144.5, 136.7, 129.3, 127.6, 127.4, 123.4, 84.0, 74.8, 71.7, 71.5, 67.3, 61.1, 52.5, 23.5;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{26}\text{H}_{36}\text{N}_6\text{O}_{10}\text{S}_2 + \text{Na}$ : 679.1832; enc.: 679.1830.

### 1,2-Bis{4'-( $\alpha$ -D-manopiranosiloximetil)-1'H-[1',2',3']-triazol-1'-metil}-benceno (370)



Cromatografía en columna (AcOEt:MeOH 2:1  $\rightarrow$  1:1) y liofilización da **370** (75 %) en forma de sólido:

P.F. 111-113  $^{\circ}\text{C}$ ;

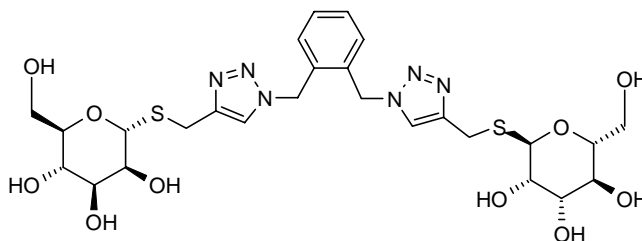
$[\alpha]_{\text{D}} +63^{\circ}$  (c 1, agua);

IR (KBr): 3433, 1132, 1058  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 300 MHz):  $\delta$  (señales seleccionadas) 8.16 (s, 2 H), 7.35 (bt, 2 H,  $J = 4.4$  Hz), 7.14 (bt, 2 H,  $J = 4.4$  Hz), 5.82 (s, 4 H), 4.73 (s, 2 H), 4.68 (d, 2 H,  $J = 12.3$  Hz), 4.52 (d, 2 H,  $J = 12.2$  Hz), 3.67 (d, 2 H,  $J = 11.3$  Hz), 3.58 (s, 2 H);

$^{13}\text{C}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 75 MHz):  $\delta$  144.0, 134.2, 129.2, 129.0, 124.5, 99.1, 74.2, 71.0, 70.2, 67.1, 61.3, 59.1, 50.0;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{26}\text{H}_{36}\text{N}_6\text{O}_{12} + \text{Na}$ : 647.2289; enc.: 647.2282.

**1,2-Bis{4'-( $\alpha$ -D-manopiranosiltiometil)-1'H-[1',2',3']-triazol-1'-metil}-benceno (371)**

Cromatografía en columna (AcOEt:MeOH 1:1  $\rightarrow$  1:3) y liofilización da **370** (100 %) en forma de sólido:

P.F. 150-152 °C (descompone);

$[\alpha]_D +133^\circ$  (*c* 1, agua);

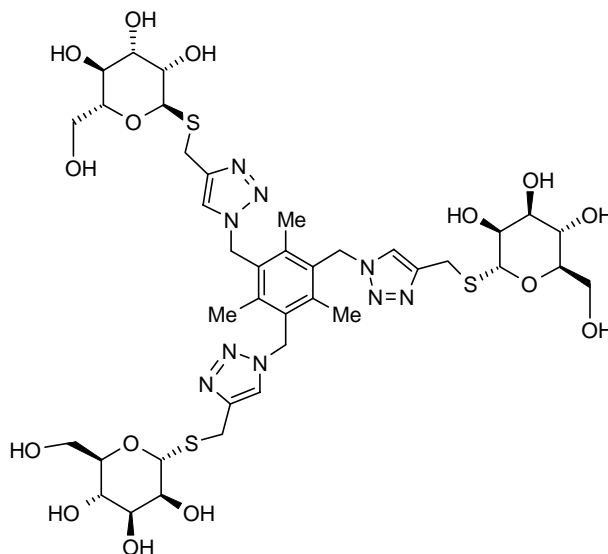
IR (KBr): 3421, 2929, 1071  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 300 MHz):  $\delta$  (señales seleccionadas) 7.85 (s, 2 H), 7.45-7.35 (m, 2 H), 7.35-7.20 (m, 2 H), 5.76 (s, 4 H), 3.85 (d, 2 H,  $J = 14.4$  Hz), 3.76 (d, 2 H,  $J = 14.4$  Hz);

$^{13}\text{C}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 75 MHz):  $\delta$  146.4, 135.0, 131.4, 130.7, 124.8, 85.3, 75.2, 73.2, 73.2, 68.9, 62.7, 52.0, 24.7;

EMAR ( $m/z$ ) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{26}\text{H}_{36}\text{N}_6\text{O}_{10}\text{S}_2 + \text{Na}$ : 679.1832; enc.: 679.1835.

**1,3,5-Tris{4'-( $\alpha$ -D-manopiranosiltiometil)-1H-[1',2',3']-triazol-1'-il-metil)-2,4,6-trimetilbenceno (372)**



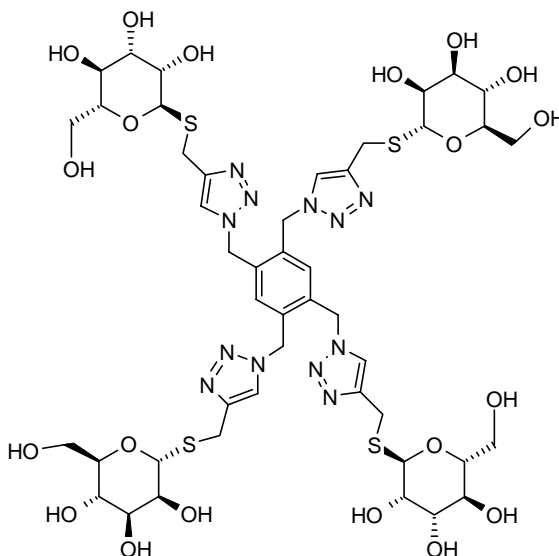
Cromatografía en columna (AcOEt:MeOH 1:2) y liofilización da **372** (95 %) en forma de sólido delicuescente:

$[\alpha]_D +154^\circ$  (*c* 1, agua);

$^1\text{H}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 300 MHz):  $\delta$  (señales seleccionadas) 7.85 (s, 3 H), 5.64 (s, 6 H), 5.13 (s, 3 H), 3.82 (d, 3 H,  $J = 14.3$  Hz), 3.72 (d, 3 H,  $J = 14.4$  Hz);

$^{13}\text{C}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 75 MHz):  $\delta$  144.1, 139.3, 130.9, 122.8, 84.0, 74.8, 71.6, 71.5, 67.3, 61.1, 56.0, 23.5, 16.4;

EMAR ( $m/z$ ) (MALDI-TOF) calc. para  $\text{C}_{39}\text{H}_{57}\text{N}_9\text{O}_{15}\text{S}_3 + \text{Na}$ : 1010.303; enc.: 1010.296.

**1,2,4,5-Tetrakis[4'-( $\alpha$ -D-manopiranosiltiometil)-1H-[1',2',3']-triazol-1'-il-metil)-benceno (373)**

Cromatografía en columna (AcOEt:MeOH 1:3) y liofilización da **373** (86 %) en forma de sólido delicuescente:

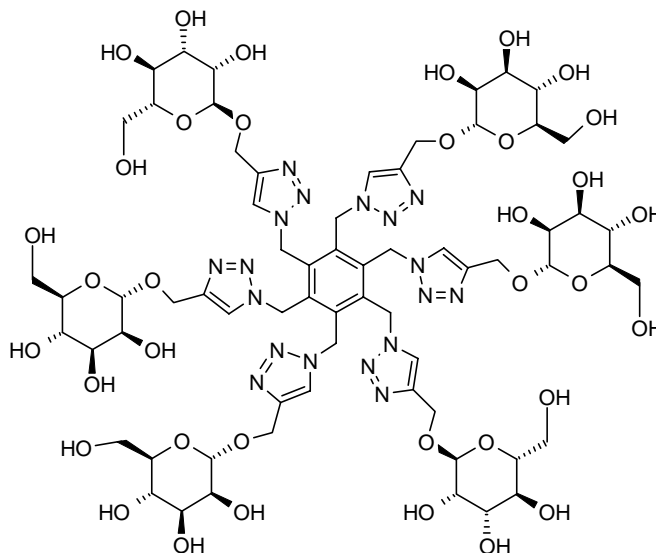
IR (KBr): 3401, 2926, 1638, 1228, 1073  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 300 MHz):  $\delta$  (señales seleccionadas) 7.78 (s, 4 H), 7.17 (s, 2 H), 5.74 (s, 8 H), 5.20 (s, 4 H);

$^{13}\text{C}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 75 MHz):  $\delta$  143.6, 131.8, 129.5, 121.6, 81.7, 70.6, 68.8, 68.6, 64.3, 58.0, 47.9, 21.3;

EMAR (m/z) (MALDI-TOF) calc. para  $\text{C}_{46}\text{H}_{66}\text{N}_{12}\text{O}_{20}\text{S}_4 + \text{Na}$ : 1257.330; enc.: 1257.335.

**1,2,3,4,5,6-Hexakis-[4-( $\alpha$ -D-manopiranosiloximetil)-1'H-[1',2',3']-1'-metil]benceno (374)**



Aparece un precipitado que es filtrado y lavado con metanol frío obteniéndose **374** en forma de sólido con un rendimiento del 92 %:

P.F. 178-180 °C;

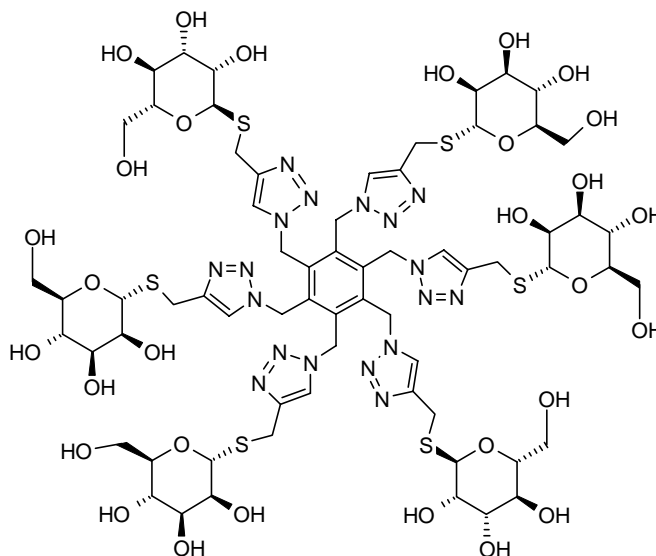
$[\alpha]_D +49^\circ$  (*c* 1, agua);

$^1\text{H}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 300 MHz):  $\delta$  (señales seleccionadas) 7.78 (s, 6 H), 4.76 (s, 12 H);

$^{13}\text{C}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 100 MHz):  $\delta$  143.3, 137.4, 124.1, 99.0, 74.0, 70.9, 70.1, 67.0, 61.3, 58.9, 47.7;

EMAR (*m/z*) (MALDI-TOF) calc. para  $\text{C}_{66}\text{H}_{96}\text{N}_{18}\text{O}_{36}$  + Na: 1739.613; enc.: 1739.52.



**1,2,3,4,5,6-Hexakis-[4'-( $\alpha$ -D-manopiranosiltiometil)-1'H-[1',2',3']-1'-metil]benceno (375)**

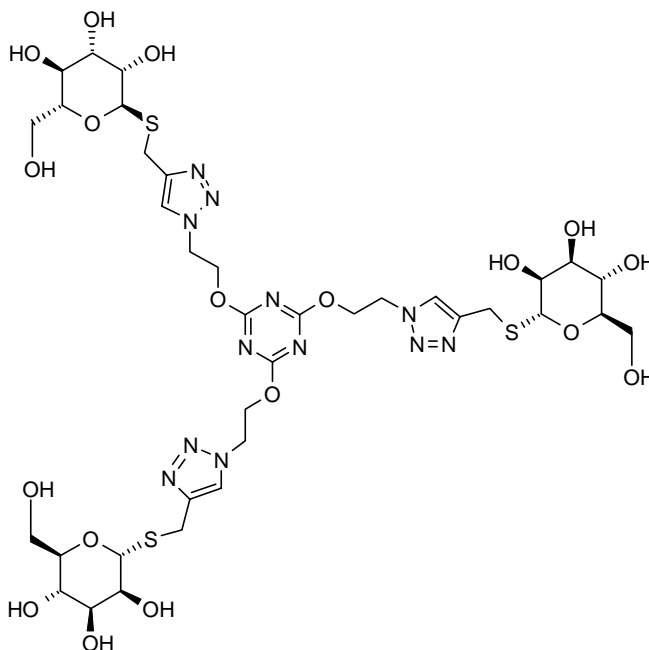
Aparece un precipitado que es filtrado y lavado con metanol frío obteniéndose **375** como sólido con un rendimiento del 82 %:

IR (KBr): 3392, 2929, 1073  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 300 MHz):  $\delta$  (señales seleccionadas) 7.67 (s, 6 H), 5.89 (s, 12 H), 5.11 (s, 6 H);

$^{13}\text{C}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 75 MHz):  $\delta$  143.9, 137.3, 123.1, 83.9, 74.6, 71.6, 71.4, 67.2, 61.1, 47.6, 23.4.

**2,4,6-Tris{2-[4'-( $\alpha$ -D-manopiranosiltiometil)-1'H-[1',2',3']triazol-1'-il]-etoxi}-1,3,5-triazina (376)**



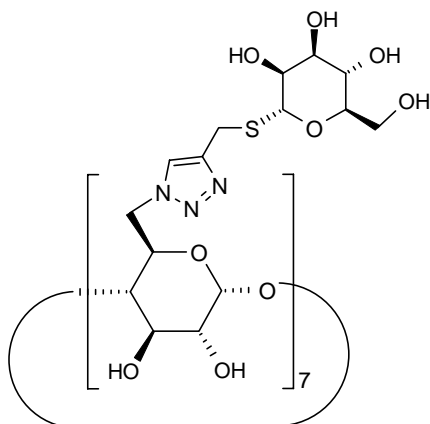
Cromatografía en columna (AcOEt:MeOH 1:1) y liofilización da **376** (85 %) en forma de sólido delicuescente:

$[\alpha]_D +170^\circ$  (*c* 1, agua);

IR (KBr): 3438, 2925, 1246, 1072  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 300 MHz):  $\delta$  (señales seleccionadas) 7.96 (s, 3 H), 5.14 (s, 3 H), 3.84 (s, 2 H,  $J = 14.3$  Hz), 3.74 (s, 2 H,  $J = 14.2$  Hz);

$^{13}\text{C}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 75 MHz):  $\delta$  155.9, 143.8, 123.5, 83.8, 74.7, 71.7, 71.4, 67.3, 61.1, 59.8, 52.1, 23.5.

**Heptakis[6-desoxi-6-[4'-( $\alpha$ -D-manopiranosiltiometil)-1'H-[1',2',3']-triazol-1-il]]  
ciclomaltoheptaosa (377)**

Aparece un precipitado que es filtrado y lavado con metanol frío obteniéndose **377** como sólido con un rendimiento del 92 %:

IR (KBr): 3425, 1637, 1289, 1271, 1105  $\text{cm}^{-1}$ ;

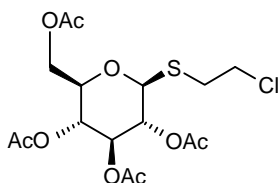
$^1\text{H}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 300 MHz)  $\delta$ : (señales seleccionadas) 7.82 (s, 7 H), 6.09 (s, 7 H);

$^{13}\text{C}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 75 MHz)  $\delta$ : 144.2, 84.5, 75.1, 72.2, 72.0, 67.8, 61.6;

EMAR (m/z) (MALDI-TOF) calc. para  $\text{C}_{105}\text{H}_{161}\text{N}_{21}\text{O}_{63}\text{S}_7 + \text{Na}$ : 2970.798; enc.: 2971.635.

## Síntesis de neoglicoconjugados empleando glicosil vinilsulfonas

### Síntesis de 2-cloroetil 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-1-tio- $\beta$ -D-glucopiranosido (**422**).



Procedimiento A: A una disolución de acetobromoglucosa (**203**) (500 mg, 1.22 mmol) y 2-mercaptoetanol (475 mg, 6.1 mmol) en 15 mL de acetonitrilo destilado se añaden 0.47 mL (3.1 mmol) de DBU, la mezcla de reacción se calienta a temperatura de reflujo durante 1 h. tras lo cual el disolvente es evaporado, disuelto  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  en (50 mL) y lavado con una disolución de HCl al 5 % (15 mL) y posteriormente con una disolución saturada de  $\text{NaHCO}_3$  (15 mL). La fase orgánica es secada con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y evaporada, tras lo cual el crudo es purificado mediante cromatografía en columna (éter etílico) obteniéndose 258 mg (0.63 mmol) de (2'-hidroxietil) 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-1-tio- $\beta$ -D-glucopiranosido. El producto así obtenido es disuelto en 10 mL de THF y a esta disolución se le agregan 185  $\mu\text{L}$  de cloruro de tionilo (2.53 mmol) y 0.41 mL de piridina (5.06 mmol). La mezcla de reacción se mantiene bajo agitación magnética a t. a. durante 30 min., tras lo que se concentra a vacío. El crudo se disuelve en 25 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y se lava con una disolución de HCl al 5 % (10 mL) y posteriormente con una disolución saturada de  $\text{NaHCO}_3$  (10 mL). La fase orgánica es secada con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y evaporada, tras lo cual el crudo es purificado mediante cromatografía en columna (AcOEt:hexano 1:1) obteniéndose 220 mg de **422** lo que representa un rendimiento global del 42 %.

Procedimiento B: A una disolución de  $\beta$ -D-glucosa per-*O*-acetilada (11.7 g, 30 mmol) y tiourea (2.53 g, 33 mmol) en 70 mL de acetonitrilo destilado, se añaden 8 mL de  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  (63 mmol), la mezcla se hace reaccionar a reflujo durante 3 h. tras lo cual se deja enfriar y se adicionan 5.9 mL de 1-bromo-2-cloroetano (69 mmol) y 13.5 mL de  $\text{Et}_3\text{N}$  (90 mmol). La mezcla de reacción se mantiene bajo agitación magnética a t. a. durante 12 h. Una vez ha finalizado la reacción el disolvente es evaporado a presión reducida. El crudo es disuelto en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (200 mL) y lavado con 100 mL de agua, la fase orgánica se seca con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se concentra. Cromatografía en columna ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2 \rightarrow \text{AcOEt:hexano}$  1:1) permite obtener **422** como sólido (10.6 g, 83 %).

Procedimiento C: A una disolución de  $\beta$ -D-glucosa per-*O*-acetilada (7.8 g, 20 mmol) y tiourea (1.66 g, 22 mmol) en 50 mL de acetonitrilo destilado, se añaden 5.3 mL de  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  (42 mmol), la mezcla se hace reaccionar a reflujo durante 2 h. 30 min. tras lo

cual se deja enfriar y se adicionan 4 mL de 2-bromoetanol (46 mmol) y 9 mL de Et<sub>3</sub>N (60 mmol). La mezcla de reacción se mantiene bajo agitación magnética a t. a. durante 3 h. Una vez ha finalizado la reacción el disolvente es evaporado a presión reducida. El crudo es disuelto en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100 mL) y lavado con 75 mL de agua, la fase orgánica se seca con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentra. Cromatografía en columna (éter etílico) permite obtener (2'-hidroxietil) 2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-tio-β-D-glucopiranosido (5.86 g, 14 mmol). Este producto es disuelto en 40 mL de THF y a esta disolución se le agregan 4 mL de cloruro de tionilo (56 mmol) y 9 mL de piridina (112 mmol), la mezcla de reacción se mantiene bajo agitación magnética a t. a. durante 30 min. tras lo que se concentra a vacío. El crudo se disuelve en 100 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y se lava con una disolución de HCl al 5 % (75 mL) y posteriormente con una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (75 mL). La fase orgánica es secada con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y evaporada, tras lo cual el crudo es purificado mediante cromatografía en columna (AcOEt:hexano 1:1) obteniéndose 4.90 g de **422** lo que representa un rendimiento global del 68 %.

Procedimiento D: A una disolución de β-D-glucosa per-O-acetilada (500 mg, 1.28 mmol) y tiourea (108 mg, 1.4 mmol) en 40 mL de acetonitrilo destilado, se añaden 0.34 mL de BF<sub>3</sub> · Et<sub>2</sub>O (2.7 mmol), la mezcla se hace reaccionar a reflujo durante 2 h. tras lo cual se deja enfriar y se adicionan 0.47 mL de 1,2-dicloroetano (3 mmol) y 0.58 mL de Et<sub>3</sub>N (3.84 mmol). La mezcla de reacción se mantiene bajo agitación magnética a t. a. durante 12 h. Una vez ha finalizado la reacción el disolvente es evaporado a presión reducida. El crudo es disuelto en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (200 mL) y lavado con 100 mL de agua, la fase orgánica se seca con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentra. Cromatografía en columna (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> → AcOEt:hexano 1:1) permite obtener **422** como sólido (350 mg, 60 %):

P.F. 100-102 °C (lit.<sup>258</sup> 97-98 °C);

[α]<sub>D</sub> -30° (c 1, cloroformo) [lit.<sup>258</sup> -38° (c 0.7, cloroformo)];

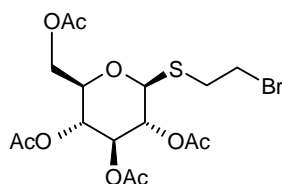
<sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ 5.24 (t, 1 H, J = 9.3 Hz), 5.07 (t, 1 H, J = 9.7 Hz), 5.03 (t, 1 H, J = 9.8 Hz), 4.55 (d, 1 H, J = 10.0 Hz), 4.30-4.10 (m, 2 H), 3.80-3.60 (m, 3 H, H-5), 3.09 (ddd, 1 H, J = 14.0, 9.8 y 6.1 Hz), 2.90 (ddd, 1 H, J = 14.1, 9.4 y 6.6 Hz), 2.10, 2.06, 2.04, 2.01 (4 s, 12 H);

<sup>13</sup>C RMN (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz): δ 169.4, 83.9, 76.1, 76.7, 69.8, 68.3, 62.1, 43.4, 32.7, 20.7, 20.6;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para C<sub>16</sub>H<sub>23</sub>ClO<sub>9</sub>S + Na: 449.065; enc.: 449.0632.

<sup>258</sup> Cerny, M.; Trmka, T.; Budesinsky, M. *Collect. Czech. Chem. Commun.* 1996, *61*, 1489-1500.

### Síntesis de 2-bromoetil 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-1-tio-β-D-glucopiranosido (**423**)



Procedimiento A: A una disolución de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-1-tio-β-D-glucosa (200 mg, 0.55 mmol) y 1,2-dibromoetano (0.47 mL, 5.5 mmol) en 15 mL de acetonitrilo destilado en atmósfera de argón se añaden 0.23 mL de Et<sub>3</sub>N (1.66 mmol) y se mantiene bajo agitación magnética a t. a. durante 2 h. tras lo cual se evapora el disolvente. El crudo así obtenido es disuelto en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50 mL) y lavado con 25 mL de agua, la fase orgánica se seca con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentra. Cromatografía en columna (éter etílico:hexano 2:1) permite obtener **423** como sólido (240 mg, 93 %).

Procedimiento B: A una disolución de β-D-glucosa per-*O*-acetilada (3.9 g, 10 mmol) y tiourea (83 g, 11 mmol) en 20 mL de acetonitrilo destilado, se añaden 2.65 mL de BF<sub>3</sub> · Et<sub>2</sub>O (21 mmol), la mezcla se hace reaccionar a reflujo durante 3 h. tras lo cual se deja enfriar y se adicionan 8.5 mL de 1,2-dibromoetano (100 mmol) y 4.5 mL de Et<sub>3</sub>N (30 mmol). La mezcla de reacción se mantiene bajo agitación magnética a t. a. durante 3 h. Una vez ha finalizado la reacción el disolvente es evaporado a presión reducida. El crudo es disuelto en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (200 mL) y lavado con 100 mL de agua. La fase orgánica se seca con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentra. Cromatografía en columna (éter etílico:hexano 3:1) permite obtener **423** como sólido (3.12 g, 66 %):

IR (KBr): 1745, 1374, 1229, 1043 cm<sup>-1</sup>;

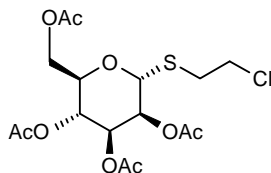
<sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 5.21 (t, 1 H, *J* = 9.4 Hz), 5.04 (t, 1 H, *J* = 9.8 Hz), 5.01 (t, 1 H, *J* = 9.6 Hz), 4.53 (d, 1 H, *J* = 10.0 Hz), 4.20-4.10 (m, 2 H), 3.71 (ddd, 1 H, *J* = 10.1, 4.6 y 3.1 Hz), 3.60-3.45 (m, 2 H), 3.15 (ddd, 1 H, *J* = 14.4, 10.8 y 5.8 Hz), 2.96 (ddd, 1 H, *J* = 14.3, 10.6 y 6.0 Hz), 2.09, 2.03, 2.01, 1.99 (4 s, 12 H);

<sup>13</sup>C RMN (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz): δ 170.2, 84.0, 76.1, 73.7, 69.8, 62.1, 32.7, 30.7, 20.8, 20.8, 20.7.

### Procedimiento general para la síntesis de 425 y 427

A una disolución de D-manosa per-*O*-acetilada o D-lactosa per-*O*-acetilada (30 mmol) y tiourea (33 mmol) en acetonitrilo seco (70 mL) se añade  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  (63 mmol) a t. a. La mezcla de reacción se calienta a reflujo durante 3 horas. Tras ser enfriada a temperatura ambiente se la añade 1-bromo-2-cloroetano (70 mmol) y  $\text{Et}_3\text{N}$  (90 mmol) y la reacción es mantenida bajo agitación durante 12 horas. El disolvente es evaporado tras lo cual la mezcla de reacción es disuelta en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (200 mL) y lavada con agua. La fase orgánica se seca con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , evaporada y el crudo resultante es purificado mediante cromatografía en columna.

### 2-Cloroetil 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-1-tio- $\alpha$ -D-manopiranosido (425)



Cromatografía en columna (éter etílico) permite obtener **425** como sólido con un 65 % de rendimiento:

P.F. 94-96 °C;

$[\alpha]_D +83^\circ$  (c 1, cloroformo);

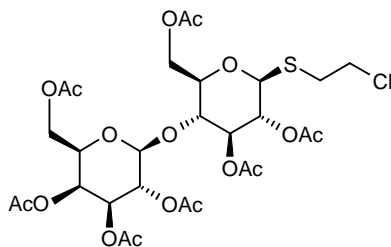
IR (KBr) 1744, 1245, 1051, 982  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  5.37-5.20 (m, 4 H), 4.39 (m, 1 H), 4.29 (dd, 1 H,  $J = 12.1$  y 6.3 Hz), 4.12 (dd, 1 H,  $J = 12.1$  y 1.9 Hz), 3.79-3.61 (m, 2 H), 3.09-2.91 (m, 2 H), 2.16, 2.11, 2.06, 1.99 (4 s, 12 H);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  83.3, 70.8, 69.4, 69.3, 62.6, 42.6, 34.0, 20.7;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{ClO}_9\text{S} + \text{Na}$ : 449.065; enc.: 449.065.

**2-Cloroetil 2',3',4',6'-tetra-O-acetil-β-D-galactopiranosil-(1→4)-2,3,6-tri-O-acetil-1-tio-β-D-glucopiranosido (427)**



Cromatografía en columna (AcOEt:hexano 1:1) permite obtener **427** como sólido con un 60 % de rendimiento:

$[\alpha]_D +18^\circ$  (c 1, cloroformo);

IR (KBr): 1752, 1372, 1232, 1051  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  5.36 (d, 1 H,  $J = 3.0$  Hz), 5.22 (t, 1 H,  $J = 9.1$  Hz), 5.11 (dd, 1 H,  $J = 10.4$  y 7.7 Hz), 5.00-4.90 (m, 2 H), 4.60-4.40 (m, 3 H), 4.20-4.00 (m, 3 H), 3.90-3.55 (m, 5 H), 3.05 (ddd, 1 H,  $J = 14.1, 10.0$  y 5.6 Hz), 2.88 (ddd, 1 H,  $J = 14.0, 10.0$  y 5.9 Hz), 2.15, 2.14, 2.07, 2.05, 1.97 (5 s, 21 H);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.4, 170.1, 170.1, 169.7, 169.1, 101.2, 83.9, 77.0, 76.3, 73.6, 71.0, 70.9, 70.3, 69.2, 66.7, 62.1, 60.9, 43.3, 32.8, 20.8, 20.7, 20.5;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{28}\text{H}_{39}\text{ClO}_{17}\text{S} + \text{Na}$ : 737.1494; enc.: 737.1496.

**Procedimiento general para la síntesis de las vinil sulfonas **429**, **430** y **431****

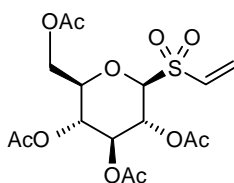
Una disolución del cloroetil 1-tioglicósido **422**, **425** ó **427** (9 mmol) en AcOH (40 mL) fue tratada con  $\text{H}_2\text{O}_2$  (20 mL) a t. a. durante 2 días en ausencia de luz. Tras lo cual se le añadió  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (200 mL) a la mezcla de reacción y esta disolución fue lavada sucesivamente con agua,  $\text{NaHCO}_3$  (disolución saturada) y agua. La fase orgánica fue secada mediante  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y evaporada para dar un sólido. A una disolución de éste en THF (150 mL) se añade  $\text{Et}_3\text{N}$  (18 mmol) y la mezcla de reacción es dejada reaccionar durante 4 horas a temperatura ambiente con agitación magnética. El disolvente fue



evaporado a vacío dando un crudo que fue purificado mediante cromatografía de columna.

Alternativamente es posible aislar los 1-cloroetilsulfonas **428** y **432** recristalizando los sólidos obtenidos tras la oxidación con mezclas éter etílico:hexano. Posterior oxidación de estas 1-cloroetilsulfonas (1 mmol) con yoduro de tetrabutilamonio (369 mg, 1 mmol) y resinas de intercambio catiónico Dowex Monosphere 550A (3 g) en 30 mL de THF a t. a. durante 9 h., filtración de las resinas, evaporación del disolvente y purificación por cromatografía en columna permiten obtener las correspondientes vinilsulfonas **429** y **431** con un rendimiento del 87 % y 84 % respectivamente.

### 1-Etenil 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-1-tio- $\beta$ -D-glucopiranosido *S*-dióxido (**429**)



Cromatografía en columna (éter etílico:hexano 1:1  $\rightarrow$  éter etílico) permite la obtención de **429** como sólido con un rendimiento del 91 %:

P.F. 142-144 °C;

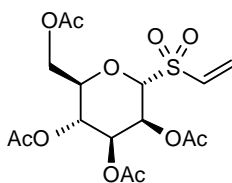
$[\alpha]_D^{+20}$ ,  $[\alpha]_{436}^{+9}$  (c 1, cloroformo);

IR (KBr): 1752, 1227, 1111, 1037, 984, 739  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  6.70 (dd, 1 H,  $J = 16.7$  y 9.9 Hz), 6.50 (d, 1 H,  $J = 16.7$  Hz), 6.37 (d, 1 H,  $J = 12.8$  Hz), 5.34 (t, 1 H,  $J = 9.2$  Hz), 5.27 (t, 1 H,  $J = 9.1$  Hz), 5.08 (t, 1 H,  $J = 9.6$  Hz), 4.39 (d, 1 H,  $J = 9.5$  Hz), 4.30 (dd, 1 H,  $J = 12.7$  y 4.8 Hz), 4.17 (dd, 1 H,  $J = 12.6$  y 3.2 Hz), 3.81 (ddd, 1 H,  $J = 12.7$ , 4.8 y 2.3 Hz), 2.09, 2.09, 2.04, 2.02 (4 s, 12 H);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.5, 170.0, 169.4, 169.3, 134.9, 132.0, 88.7, 76.7, 73.3, 67.5, 66.9, 61.4, 20.7, 20.6, 20.5;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_{11}\text{S} + \text{Na}$ : 445.078; enc.: 445.078.

**1-Etenil 2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-tio- $\alpha$ -D-manopiranosido S-dióxido (430).**

Cromatografía en columna (éter etílico) permite la obtención de **430** como sólido con un rendimiento del 81 %.

P.F. 107-109 °C;

$[\alpha]_D +48^\circ$  (*c* 1, cloroformo);

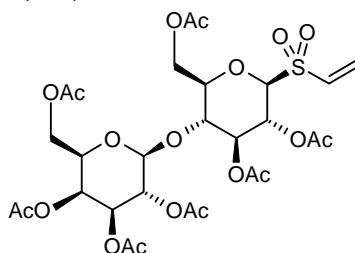
IR (KBr): 3125, 3077, 1753, 1237, 1119, 1050, 801, 724  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  6.75 (dd, 1 H,  $J = 16.6$  y 9.6 Hz), 6.58 (d, 1 H,  $J = 16.7$  Hz), 6.36 (d, 1 H,  $J = 9.6$  Hz), 5.95 (t, 1 H,  $J = 2.4$  Hz), 5.61 (dd, 1 H,  $J = 9.0$  y 3.6 Hz), 5.30 (t, 1 H,  $J = 9.4$  Hz), 4.79 (d, 1 H,  $J = 2.0$  Hz), 4.64 (ddd, 1 H,  $J = 8.0, 5.4$  y 2.3 Hz), 4.28 (dd, 1 H,  $J = 12.5$  y 5.5 Hz), 4.13 (dd, 1 H,  $J = 12.5$  y 2.3 Hz), 2.16, 2.10, 2.07, 2.03 (4 s, 12 H);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  134.1, 133.5, 89.3, 73.6, 68.8, 65.5, 65.0, 62.3, 20.7, 20.6.

EMAR (*m/z*) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_{11}\text{S} + \text{Na}$ : 445.078; enc.: 445.078.

**1-Etenil 2',3',4',6'-tetra-O-acetil-β-D-galactopiranosil-(1→4)-2,3,6-tri-O-acetil-1-tio-β-D-glucopiranosido S-dióxido (431)**



Cromatografía en columna (AcOEt:hexano 2:1) permite la obtención de **431** como sólido con un rendimiento del 88 %.

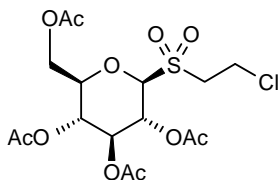
$[\alpha]_D -3^\circ$ ,  $[\alpha]_{436} = -8^\circ$  (*c* 1, cloroformo);

IR (KBr): 1755, 1372, 1326, 1230, 1134, 1056  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  6.67 (dd, 1 H,  $J = 16.7$  y 9.1 Hz,  $\text{SO}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 6.47 (d, 1 H,  $J = 16.7$  Hz,  $\text{HCH}$  vinilo), 6.31 (d, 1 H,  $J = 9.8$  Hz,  $\text{HCH}$  vinilo), 5.35 (d, 1 H,  $J = 3.1$  Hz, H-4gal), 5.30-5.20 (m, 2 H, H-2glu y H-3glu), 5.11 (dd, 1 H,  $J = 10.4$  y 3.3 Hz, H-3gal), 4.96 (dd, 1 H,  $J = 10.4$  y 3.3 Hz, H-3gal), 4.56 (d, 1 H,  $J = 12.2$  Hz, H-6), 4.50 (d, 1 H,  $J = 7.9$  Hz, H-1gal), 4.37 (d, 1 H,  $J = 9.0$  Hz, H-1glu), 4.20-4.00 (m, 3 H, H-6, H-6' y H-6'), 3.9-3.75 (m, 2 H, H-4glu y H-5gal), 3.75-3.65 (m, 1 H, H-5glu), 2.15, 2.12, 2.07, 2.06, 2.04, 1.97 (6 s, 21 H, 7 Ac);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.5, 170.3, 170.2, 170.2, 169.7, 169.6, 169.1, 134.4, 132.4, 101.1, 88.5, 77.4, 75.3, 73.1, 71.0, 70.9, 69.1, 66.9, 66.6, 61.2, 60.8, 20.9, 20.8, 20.7, 20.6;

EMAR ( $m/z$ ) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{O}_{19}\text{S} + \text{Na}$ : 733.1626; enc.: 733.1629.

**2-Cloroetil 2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-tio-β-D-glucopiranosido S-dióxido (428)**


P.F. 190 °C (descompone);

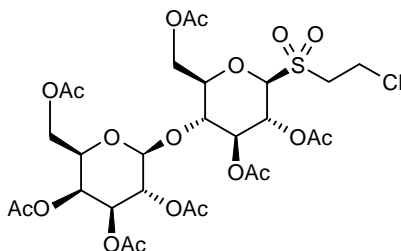
$[\alpha]_D -6^\circ$ ,  $[\alpha]_{436} = -15^\circ$  (c 1, cloroformo);

IR (KBr): 3454, 1751, 1385, 1326, 1267, 1239  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  5.52 (t, 1 H,  $J = 9.5$ , H-3), 5.33 (t, 1 H,  $J = 9.3$  Hz, H-2), 5.12 (t, 1 H,  $J = 9.9$  Hz, H-4), 4.58 (d, 1 H,  $J = 9.9$  Hz, H-1), 4.3-4.2 (m, 2 H, H-6 y H-6'), 4.0-3.9 (m, 2 H,  $\text{CH}_2\text{Cl}$ ), 3.84 (dt, 1 H,  $J = 10.1$  y 3.7, H-5), 3.8-3.6 (m, 1 H,  $\text{CH}_2\text{SO}_2$ ), 3.50-3.30 (m, 1 H,  $\text{CH}_2\text{SO}_2$ ), 2.11, 2.07, 2.05, 2.03 (4 s, 12 H, Ac);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  88.7, 77.0, 73.1, 67.5, 66.3, 61.5, 52.4, 35.7, 20.6;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{ClO}_{11}\text{S} + \text{Na}$ : 481.0547; enc.: 481.0545.

**2-Cloroetil 2',3',4',6'-tetra-O-acetil-β-D-galactopiranosil-(1→4)-2,3,6-tri-O-acetil-1-tio-β-D-glucopiranosido S-dióxido (432)**


$[\alpha]_D -6^\circ$ ,  $[\alpha]_{436} = -12^\circ$  (c 1, cloroformo) ;

IR (KBr): 3440, 1752, 1373, 1229, 1055  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  5.46 (t, 1 H,  $J = 9.3$  Hz, H-2glu), 5.36 (da, 1 H,  $J = 4.0$  Hz, H-4gal), 5.30 (t, 1 H,  $J = 8.9$  Hz, H-3glu), 5.12 (dd, 1 H,  $J = 10.4$  y 7.7 Hz, H-2gal), 4.908 (dd, 1 H,  $J = 10.3$  y 3.4 Hz, H-3gal), 4.62 (dd, 1 H,  $J = 12.2$  y 2.0 Hz, H-6), 4.57 (d, 1 H,  $J = 9.6$  Hz, H-1glu), 4.51 (d, 1 H,  $J = 7.8$  Hz, H-1gal), 4.2-4.0 (m, 3 H, H-6, H-6' y H-6'), 4.0-3.8 (m, 4 H,  $\text{CH}_2\text{Cl}$ , H-4glu y H-5gal), 3.8-3.7 (m, 1 H, H-5glu), 3.69 (dd, 1 H,  $J = 15.0$  y 7.7 Hz,  $\text{CH}_2\text{SO}_2$ ), 3.37 (dt, 1 H,  $J = 14.7$  y 6.4 Hz,  $\text{CH}_2\text{SO}_2$ ), 2.14, 2.12, 2.06, 2.05, 2.04, 2.04, 1.95 (7 s, 21 H, 7 Ac);

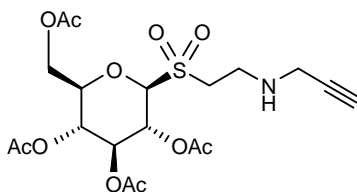
$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.4, 170.3, 170.1, 170.1, 169.7, 169.3, 169.1 (CO), 101.1 (C-1gal), 88.4 (C-1glu), 77.7 (C-5glu), 75.3 (C-4glu), 73.0 (C-3glu), 71.0 y 70.9 (C-3gal y C-5gal), 69.2 (C-2gal), 66.7 (C-4gal), 61.3 y 60.9 (C-6glu y C-6gal), 52.6 ( $\text{CH}_2\text{SO}_2$ ), 35.8 ( $\text{CH}_2\text{Cl}$ ), 20.8, 20.7, 20.6, 20.5 (Ac);

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{28}\text{H}_{39}\text{ClO}_{19}\text{S} + \text{Na}$ : 769.1392; Enc.: 769.1400.

### Síntesis de los neoglicoconjugados 434, 435 y 437

Una disolución de amina **433** (1 mmol) y vinilsulfona **429**, **430** ó **431** (1 mmol) en 2-propanol (30 mL) y THF (15 mL) se mantienen bajo agitación magnética a t. a. durante 16 horas, tras lo cual se evapora el disolvente a vacío y se purifica el crudo mediante cromatografía de columna.

#### 1-Desoxi-1-[2'-(prop-2''-inilamino)-etanosulfonil]-2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-glucopiranosido (**434**)



Cromatografía en columna (AcOEt:hexano 5:1) permiten obtener el compuesto **434** como sólido con un rendimiento del 89 %:

P.F. 111-113 °C;

$[\alpha]_{\text{D}} +2.6^\circ$ ,  $[\alpha]_{436} +3.3^\circ$  (c 1, cloroformo);

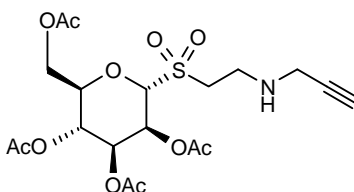
IR (KBr): 3431, 1751, 1226  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  5.60 (t, 1 H,  $J = 9.6$  Hz, H-2), 5.33 (t, 1 H,  $J = 9.4$  Hz, H-3), 5.11 (t, 1 H,  $J = 9.9$  Hz, H-4), 4.77 (d, 1 H,  $J = 10.0$  Hz, H-1), 4.27 (dd, 1 H,  $J = 12.6$  y 2.6 Hz, H-6), 4.20 (dd, 1 H,  $J = 12.6$  y 5.1 Hz, H-6'), 3.85 (ddd, 1 H,  $J = 10.1$ , 5.0 y 2.5 Hz, H-5), 3.55-3.42 (m, 3 H,  $\text{CH}_2\text{NHCH}_2$ ), 3.30-3.08 (m, 3 H,  $\text{SO}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 2.31 (t, 1 H,  $J = 2.4$  Hz,  $\text{C}\equiv\text{CH}$ ), 2.11, 2.06, 2.05, 2.03 (4 s, 12 H, Ac);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.3, 170.0, 169.2, 169.1, 88.1, 81.1, 76.4, 73.2, 72.3, 67.5, 66.1, 66.6, 49.6, 41.5, 37.5, 20.6, 20.5, 20.4;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{NO}_{11}\text{S} + \text{Na}$ : 500.120; enc.: 500.120.

**1-Desoxi-1-[2'-(prop-2''-inilamino)-etanosulfonil]-2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\alpha$ -D-mano piranosido (435)**



Cromatografía en columna (AcOEt:hexano 5:1) permiten obtener el compuesto **435** como sólido con un rendimiento del 70 %:

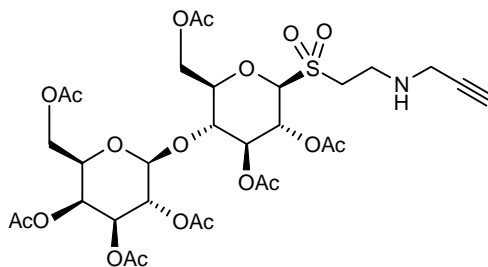
IR (KBr): 3325, 3294, 1757, 1370, 1247, 1112, 1051  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  5.96 (dd, 1 H,  $J = 3.6$  y 2.1 Hz, H-2), 5.57 (dd, 1 H,  $J = 9.3$  y 3.7, H-3), 5.31 (t, 1 H,  $J = 9.6$  Hz, H-4), 5.22 (d, 1 H,  $J = 2.0$  Hz, H-1), 4.66 (ddd, 1 H,  $J = 9.7$ , 5.4 y 2.5 Hz, H-5), 4.27 (dd, 1 H,  $J = 12.5$  y 5.4 Hz, H-6) 4.18 (dd, 1 H,  $J = 12.5$  y 2.5 Hz, H-6'), 3.52-3.40 y 3.32-3.12 (2 m, 6 H,  $\text{SO}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$  y  $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}$ ), 2.26 (t, 1 H,  $J = 2.3$  Hz,  $\text{C}\equiv\text{CH}$ ), 2.17, 2.12, 2.06, 2.01 (4 s, 12 H, Ac);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.7, 169.6, 169.3, 89.5, 81.1, 73.6, 72.3, 68.9, 65.4, 64.7, 62.4, 50.4, 41.5, 37.5, 20.7, 20.7, 20.5;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{NO}_{11}\text{S} + \text{Na}$ : 500.1203; enc.: 500.1202.

**1-Desoxi-1-[2''-(prop-2'''-inilamino)-etanosulfonil]-2',3',4',6'-tetra-O-acetil-β-D-galactopiranosil-(1→4)-2,3,6-tri-O-acetil-β-D-glucopiranosido (437)**



Cromatografía en columna (AcOEt:hexano 10:1) permiten obtener el compuesto **437** como sólido con un rendimiento del 69 %:

P.F. 89-91 °C;

$[\alpha]_D^{-1}$ ,  $[\alpha]_{436} = -2^\circ$  (c 1, cloroformo);

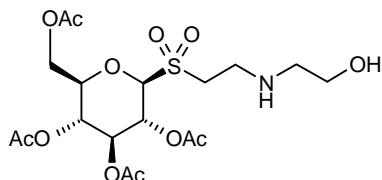
IR (KBr): 3280, 2942, 1754, 1372, 1231, 1055  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$ : 5.50 (t, 1 H,  $J = 9.5$  Hz, H-2glu), 5.35 (d, 1 H,  $J = 4.1$  Hz, H-4gal), 5.32 (t, 1 H,  $J = 8.9$  Hz, H-3glu), 5.11 (dd, 1 H,  $J = 10.4$  y 7.8 Hz, H-2gal), 4.99 (dd, 1 H,  $J = 10.4$  y 3.4 Hz, H-3gal), 4.78 (d, 1 H,  $J = 9.8$  Hz, H-1glu), 4.63 (dd, 1 H,  $J = 12.3$  y 1.8 Hz, H-6), 4.55 (d, 1 H,  $J = 7.8$  Hz, H-1gal), 4.3-4.0 (m, 3 H, H-6, H-6' y H-6'), 3.9-3.8 (m, 2 H, H-4glu y H-5gal), 3.74 (ddd, 1 H,  $J = 9.7$ , 5.3 y 1.8, H-5glu), 3.55-3.35 (m, 3H), 3.30-3.10 (m, 2 H), 3.04 (ddd, 1 H,  $J = 14.5$ , 5.3 y 4.0 Hz), 2.29 (t, 1 H,  $J = 2.3$  Hz,  $\text{C}\equiv\text{CH}$ ), 2.16, 2.13, 2.08, 2.07, 2.05, 2.05, 1.97 (7 s, 21 H, 7 Ac);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz)  $\delta$ : 170.5, 170.3, 170.2, 170.1, 169.8, 169.4, 169.2, 101.2, 88.0, 81.3, 77.2, 75.6, 73.3, 72.4, 70.9, 70.8, 69.2, 66.7, 66.2, 61.6, 60.9, 49.6, 41.7, 37.6;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{31}\text{H}_{43}\text{NO}_{19}\text{S} + \text{Na}$ : 788.2048; enc.: 788.2052.

### Síntesis de 1-desoxi-1-[2'-(2''-hidroxietilamino)-etanosulfonil]-2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-glucopiranosido (**439**)



Procedimiento A: A una disolución de vinilsulfona **429** (123 mg, 0.29 mmol) en 16 mL de 2-propanol:THF 2:1 se añaden 18 mg (0.29 mmol) de amina **438** recientemente destilada, tras 4 h. de reacción a t. a. el disolvente es evaporado dando un crudo que es purificado mediante cromatografía en columna (AcOEt:MeOH 5:1  $\rightarrow$  3:1) lo que permite la obtención de **439** (110 mg, 78 %) como sólido.

Procedimiento B: A una disolución de cloroetilsulfona **428** (253 mg, 0.60 mmol) en 16 mL de 2-propanol:THF 2:1 se añaden 37 mg (0.60 mmol) de amina **438** recientemente destilada, tras 5 h. de reacción a t. a. el disolvente es evaporado dando un crudo que es purificado mediante cromatografía en columna (AcOEt:MeOH 5:1  $\rightarrow$  3:1) lo que permite la obtención de **439** (163 mg, 61 %) como sólido:

IR (KBr): 3435, 1747, 1254, 1226  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz):  $\delta$  5.64 (t, 1 H,  $J = 9.6$  Hz), 5.32 (t, 1 H,  $J = 9.3$  Hz), 5.14 (t, 1 H,  $J = 9.8$  Hz), 4.72 (d, 1 H,  $J = 10.0$  Hz), 4.25 (m, 2 H), 3.88 (dt, 1 H,  $J = 10.0$  y 3.6 Hz), 3.71 (t, 2 H,  $J = 5.2$  Hz), 3.50-3.30 (m, 1 H), 3.30-3.10 (m, 3 H), 2.90-2.75 (m, 2 H), 2.24 (sa, 2 H), 2.10, 2.07, 2.05, 2.03 (4 s, 12 H);

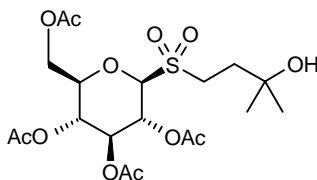
$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.6, 170.1, 169.4, 88.5, 76.5, 73.3, 67.6, 66.4, 61.5, 61.1, 50.9, 49.9, 42.3, 20.7, 20.7, 20.6.

### Síntesis de los azúcares **440** y **441**

Una disolución de vinilsulfona **429** ó **430** (50 mg, 0.118 mmol) en 6 mL de 2-propanol es calentada a reflujo durante 30 min. tras lo cual el disolvente es evaporado y el crudo es purificado mediante cromatografía en columna (AcOEt:hexano 5:1).



**1'-(3'-hidroxi-3'-metilbutil) 2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-tio-β-D-glucopiranosido S-dióxido (440)**



Obtenido como sólido en un 81 % de rendimiento (46 mg):

P.F. 181-183 °C;

$[\alpha]_D -18^\circ$  (c 1, cloroformo);

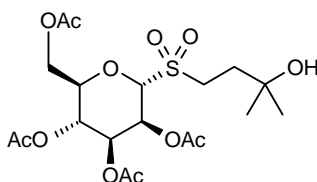
IR (KBr): 3511, 2979, 1747, 1371, 1225, 1112, 1037  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  5.51 (t, 1 H,  $J = 9.5$  Hz), 5.33 (t, 1 H,  $J = 9.3$  Hz), 5.13 (t, 1 H,  $J = 9.8$  Hz), 5.10 (d, 1 H,  $J = 9.4$  Hz), 4.30-4.20 (m, 2 H), 3.85 (dt, 1 H,  $J = 10.0$  y 3.6 Hz), 3.35-3.20 (m, 2 H), 2.10, 2.06, 2.05, 2.03 (4 s, 12 H), 2.05-1.90 (m, 2 H), 1.29 (s, 6 H);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  87.9, 76.9, 73.3, 69.8, 67.6, 66.6, 61.5, 45.6, 33.9, 29.6, 29.1, 20.8, 20.7, 20.6;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{19}\text{H}_{30}\text{O}_{12}\text{S} + \text{Na}$ : 505.1356; enc.: 505.1354.

**1'-(3'-hidroxi-3'-metilbutil) 2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-tio-α-D-manopiranosido S-dióxido (441)**



Obtenido como sustancia siruposa en un 82 % de rendimiento (47 mg):

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  5.95 (dd, 1 H,  $J = 3.5$  y 2.3 Hz, H-2), 5.58 (dd, 1 H,  $J = 9.2$  y 3.7 Hz, H-3), 5.29 (t, 1 H,  $J = 9.4$  Hz, H-4), 4.90 (d, 1 H,  $J = 2.1$  Hz, H-1), 4.66 (ddd, 1 H,  $J = 9.7$ , 5.6 y 2.4 Hz, H-5), 4.28 (dd, 1 H,  $J = 12.5$  y 5.7 Hz, H-6), 4.17 (dd, 1 H,  $J = 12.4$  y 2.5 Hz, H-6'), 3.40-3.25 (m, 2 H), 3.16

(sa, 1 H), 2.17, 2.11, 2.07, 2.02 (4 s, 12 H, Ac), 2.10-1.90 (m, 2 H), 1.28 (s, 6 H, CH<sub>3</sub>);

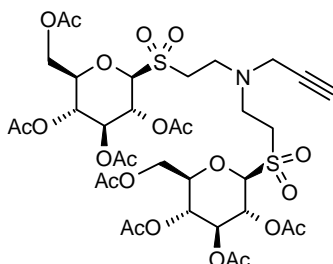
<sup>13</sup>C RMN (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz): δ 87.8, 73.5, 69.6, 68.9, 65.5, 64.8, 62.5, 46.9, 34.4, 29.4, 29.3, 20.7, 20.6;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para C<sub>19</sub>H<sub>30</sub>O<sub>12</sub>S + Na: 505.1356; enc.: 505.1354.

### Síntesis de los neoglicoconjugados divalentes **442**, **443** y **445**

Una disolución de amina **433** (0.25 mmol) y de vinil sulfona **429**, **430** ó **431** (0.55 mmol) en 15 mL de 2-metil-2-propanol se mantienen bajo agitación magnética a 60 °C durante 24 h. tras lo que la disolución es calentada a reflujo durante otras 48 h. tras lo cual se evapora el disolvente a vacío y se purifica el crudo mediante cromatografía de columna.

#### Bis-[2-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-β-*D*-glucopiranosilsulfonil)-etil](prop-2'-inil)amina (**442**)



Cromatografía en columna (AcOEt:hexano 2:1) permite la obtención de **442** en forma de sólido con un rendimiento del 83 %:

P.F. 177-179 °C;

[α]<sub>D</sub> -6.1°, [α]<sub>436</sub> -13.7° (c 1, cloroformo);

IR (KBr) 1751, 1373, 1321, 1226 cm<sup>-1</sup>;

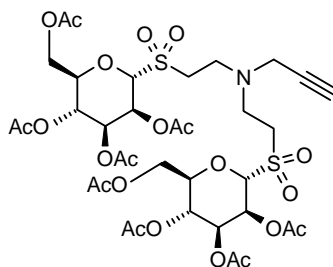
<sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ 5.54 (d, 2 H, J = 9.5 Hz), 5.34 (t, 2 H, J = 9.4 Hz), 5.11 (t, 2 H, J = 9.9 Hz), 4.79 (d, 2 H, J = 9.9 Hz), 4.29 (dd, 2 H, J = 12.7 y 2.1 Hz), 4.19 (dd, 2 H, J = 12.7 y 5.1 Hz), 3.91 (ddd, 2 H, J = 10.1, 5.0 y 2.2

Hz), 3.64 (sa, 2 H), 3.60-3.40, 3.20-3.00 (2 m, 8 H), 2.34 (t, 1 H,  $J = 2.0$  Hz), 2.11, 22.08, 2.04, 2.02 (4 s, 24 H);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.5, 170.0, 169.4, 169.3, 88.0, 76.5, 73.1, 77.6, 66.2, 75.1, 61.6, 47.1, 46.8, 39.6, 20.7, 20.6, 20.6, 20.5;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{35}\text{H}_{49}\text{NO}_{22}\text{S}_2 + \text{Na}$ : 922.208; enc.: 922.209.

**Bis-[2-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- $\alpha$ -D-manopiranosilsulfonil)-etil](prop-2'-inil)amina (443)**



Cromatografía en columna (AcOEt:hexano 2:1) permite la obtención de **443** en forma de sólido con un rendimiento del 70 %:

P.F. 85-87 °C;

$[\alpha]_{\text{D}} +53^\circ$  (c 1, cloroformo);

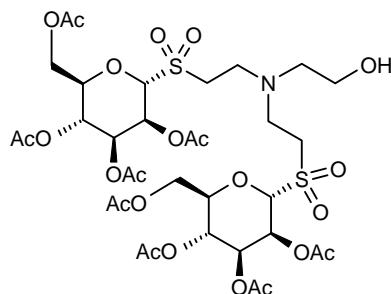
IR (KBr): 3468, 2966, 1751, 1373, 1246, 1230, 1114, 1090, 1049  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  5.91 (dd, 2 H,  $J = 3.6$  y 1.5 Hz, H-2), 5.53 (dd, 2 H,  $J = 9.7$  y 3.7 Hz, H-3), 5.30 (t, 2 H,  $J = 9.9$  Hz, H-4), 5.10 (sa, 2 H, H-1), 4.60 (m, 2 H, H-5), 4.20 (m, 4 H, H-6), 3.62-3.42 (m, 4 H,  $\text{CH}_2\text{SO}_2$ ), 3.18-2.98 (m, 6 H,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 2.28 (sa, 1 H), 2.15, 2.11, 2.05, 1.99 (4 s, 12 H, Ac);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.2, 169.4, 169.3, 169.2, 89.7, 77.1, 74.6, 73.3, 68.8, 65.1, 64.0, 62.4, 47.4, 46.3, 41.5, 30.5, 20.5, 20.4, 20.3.

EMAR (m/z) (MALDI-TOF) calc. para  $\text{C}_{35}\text{H}_{49}\text{NO}_{22}\text{S}_2 + \text{Na}$ : 922.208; enc.: 922.40.



**Síntesis de Bis-[2-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\alpha$ -D-manopiranosilsulfonil)etil]-(2'-hidroxi etil)amina (446)**

Una disolución de amina **438** recientemente destilada (45 mg, 0.74 mmol) y vinilsulfona **430** (685 mg, 1.62 mmol) en 10 mL de 2-metil-2-propanol se deja reaccionar durante 24 h. a temperatura de reflujo tras lo cual se evapora el disolvente y el crudo de reacción se purifica mediante cromatografía de columna (AcOEt) obteniéndose 693 mg (100 %) de **446** como sólido:

P.F. 79-82 °C;

$[\alpha]_D +44^\circ$  (c 1, cloroformo);

IR (KBr): 3476, 2964, 1752, 1373, 1229, 1117, 1050  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  5.91 (dd, 2 H,  $J = 3.6$  y 2.8 Hz, H-2), 5.52 (dd, 2 H,  $J = 9.5$  y 3.7 Hz, H-3), 5.33 (t, 2 H,  $J = 9.7$  Hz, H-4) 5.15 (d, 2 H,  $J = 1.5$  Hz, H-1), 4.61 (dt, 2 H,  $J = 9.7$  y 3.8 Hz, H-5), 4.24 (d, 4 H,  $J = 3.8$  Hz, H-6 y H-6'), 3.9-3.4 (m, 4 H), 3.3-3.1 (m, 4 H), 3.0-2.8 (m, 2 H), 2.8-2.5 (m, 2 H), 2.15, 2.11, 2.06, 2.00 (4 s, 24 H, 4 Ac);

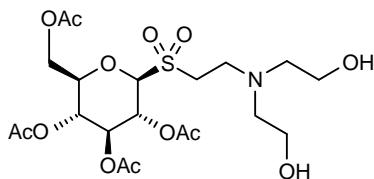
$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  169.7, 89.5, 73.7, 69.1, 65.3, 64.4, 62.3, 59.3, 56.0, 47.8, 47.4, 20.8, 20.7, 20.6;

EMAR (m/z) (MALDI-TOF) calc. para  $\text{C}_{34}\text{H}_{51}\text{NO}_{23}\text{S}_2 + \text{Na}$ : 928.22; enc.: 928.2. Calc. para  $\text{C}_{34}\text{H}_{51}\text{NO}_{23}\text{S}_2 + \text{K}$ : 944.19; enc.: 944.2.

### Síntesis de los sistemas monovalentes 448-450

Una disolución de amina **447** (0.4 mmol) y vinilsulfona **429-431** (0.4 mmol) en 10 mL de 2-metil-2-propanol se hace reaccionar a temperatura de reflujo durante 2 h. tras lo cual el disolvente es evaporado y el crudo se purifica mediante cromatografía en columna.

#### 1-Deoxi-[2'-[bis-(2''-hidroxietil)-amino]-etanosulfonil]-2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosido (**448**)



Purificación del crudo mediante cromatografía de columna (AcOEt → AcOEt:MeOH 5:1) permite obtener **448** en forma de sólido con un rendimiento del 100%:

P.F. 82-84 °C;

$[\alpha]_D + 4.8^\circ$ ,  $[\alpha]_{436} + 8.4^\circ$  (*c* 1, cloroformo);

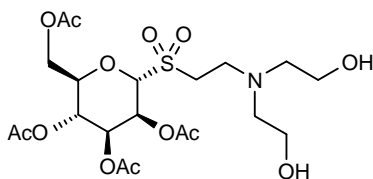
IR (KBr): 3436, 1748, 1255, 1224  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  5.46 (t, 1 H,  $J = 9.5$  Hz, H-2), 5.32 (t, 1 H,  $J = 9.3$  Hz, H-3), 5.11 (t, 1 H,  $J = 9.7$  Hz, H-4), 4.88 (d, 1 H,  $J = 9.9$  Hz, H-1), 4.30-4.18 (m, 2 H, H-6 y H-6'), 4.04 (dt,  $J = 10.1$  y 3.7 Hz, H-5), 3.80-3.72, 3.68-3.61 (2 m, 4 H,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 3.56-3.47, 3.25-3.09, 3.03-2.93 (3 m, 4 H,  $\text{SO}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2.77 (ddd, 2 H,  $J = 11.8, 7.9$  y 3.8 Hz,  $\text{NCH}_2$ ), 2.53 (ddd, 2 H,  $J = 8.2, 4.8$  y 3.4 Hz,  $\text{NCH}_2$ ), 2.10, 2.06, 2.04, 2.02 (4 s, 12 H, Ac);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  88.0 (C-1), 76.4 (C-5), 73.2 (C-3), 77.6 (C-4), 66.2 (C-2), 61.7 (C-6), 59.4 ( $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 56.0 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ), 48.0 y 47.0 ( $\text{SO}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 20.8, 20.6 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ );

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{20}\text{H}_{33}\text{NO}_{13}\text{S} + \text{Na}$ : 550.157; enc.: 550.157.

**1-Deoxi-[2'-[bis-(2''-hidroxietil)-amino]-etanosulfonil]-2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\alpha$ -D-manopiranosido (449)**



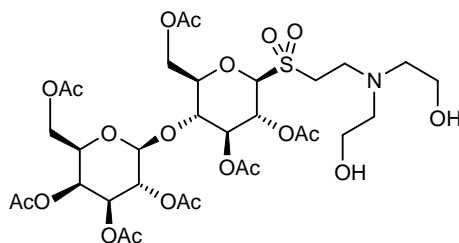
Purificación del crudo mediante cromatografía de columna (AcOEt:MeOH 5:1) permite obtener **449** en forma de sólido con un rendimiento del 98 %:

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  5.92 (dd, 1 H,  $J = 3.6$  y 2.3 Hz, H-2), 5.53 (dd, 1 H,  $J = 9.3$  y 3.6 Hz, H-3), 5.39 (d, 1 H,  $J = 1.9$  Hz, H-1), 5.32 (t, 1 H,  $J = 9.6$  Hz, H-4), 4.64 (dt, 1 H,  $J = 9.8$  y 3.8 Hz, H-5), 4.24 (m, 2 H, H-6 y H-6'), 3.70-3.60 (m, 4 H,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 3.55-3.42, 3.25-3.12 y 3.05-2.98 (3 m, 4 H,  $\text{SO}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2.73-2.55 (m, 4 H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ), 2.16, 2.12, 2.07, 2.02 (4 s, 12 H, Ac);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.7, 169.8, 169.6, 169.1, 88.9, 73.6, 68.8, 65.3, 64.6, 62.2, 59.5, 56.2, 48.4, 48.3, 20.7, 20.6, 20.5;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{20}\text{H}_{33}\text{NO}_{13}\text{S} + \text{Na}$ : 550.1570; enc.: 550,1572.

**1-Deoxi-[2''-[bis-(2'''-hidroxietil)-amino]-etanosulfonil]-2',3',4',6'-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri-O-acetil-1-tio- $\beta$ -D-glucopiranosido (450)**



Purificación del crudo mediante cromatografía de columna (AcOEt  $\rightarrow$  AcOEt:MeOH 10:1) permite obtener **450** en forma de sólido con un rendimiento del 74%:

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  5.43 (t, 1 H,  $J = 9.4$  Hz), 5.36 (d, 1 H,  $J = 3.2$  Hz), 5.30 (t, 1 H,  $J = 8.9$  Hz), 5.10 (dd, 1 H,  $J = 10.4$  y 7.7 Hz), 4.99 (dd, 1 H,  $J = 10.4$  y 3.4 Hz), 4.93 (d, 1 H,  $J = 9.7$  Hz), 4.65 (dd, 1 H,  $J = 12.2$  y 1.5 Hz), 4.55 (d, 1 H,  $J = 7.7$  Hz), 4.15-4.05 (m, 3 H), 4.00-3.80 (m, 3 H), 3.80-3.60 (m,

4 H), 3.55-3.45 (m, 1 H), 3.25-3.05 (m, 2 H), 3.00-2.90 (m, 1 H), 2.85-2.75 (m, 2 H), 2.52 (dt, 1 H,  $J = 13.5$  y  $3.7$  Hz), 2.16, 2.13, 2.08, 2.07, 2.05, 2.05, 1.97 (7 s, 21 H);

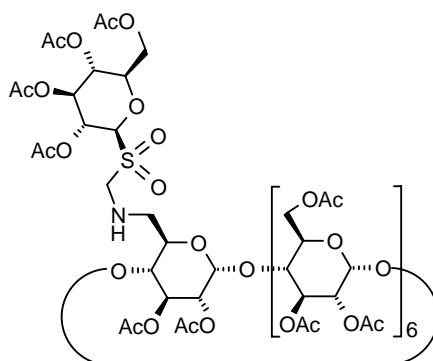
$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.4, 170.4, 170.1, 170.0, 169.8, 169.5, 169.2, 100.9, 87.4, 76.8, 75.2, 73.1, 70.9, 70.8, 69.1, 66.7, 66.3, 61.4, 60.8, 59.2, 55.8, 47.8, 47.2, 20.8, 20.7, 20.6, 20.4;

EMAR (m/z) (MALDI-TOF) calc. para  $\text{C}_{32}\text{H}_{49}\text{NO}_{21}\text{S} + \text{Na}$ : 838.242; enc.: 838.252. Calc. para  $\text{C}_{32}\text{H}_{49}\text{NO}_{21}\text{S} + \text{K}$ : 854.215; enc.: 854.138.

### Síntesis de las glicociclodextrinas 452 y 453

Una disolución de vinilsulfona **429** ó **430** (42 mg, 0.10 mmol) y la aminociclodextrina **451** (197 mg, 0.10 mmol) en una mezcla de 2-metil-2-propanol (30 mL) y acetonitrilo (15 mL) se hacen reaccionar bajo agitación magnética a reflujo durante 24 horas, tras lo cual se evapora el disolvente a vacío y se purifica el crudo mediante cromatografía de columna (AcOEt).

#### $\beta$ -Ciclodextrina-6A-deoxi-6A-[2'-[6-[(2'',3'',4'',6''-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-glucopiranosil sulfonil)-etil]amino]-2A,2B,2C,2D,2E,2F,2G,3A,3B,3C,3D,3E,3F,3G,6B,6C,6D,6E,6F,6G-eicosaacetato (452)



Se obtiene **452** como sólido con un rendimiento del 74 %:

P.F. 172-174 °C;

$[\alpha]_{\text{D}} +94^\circ$  (c 1, cloroformo);

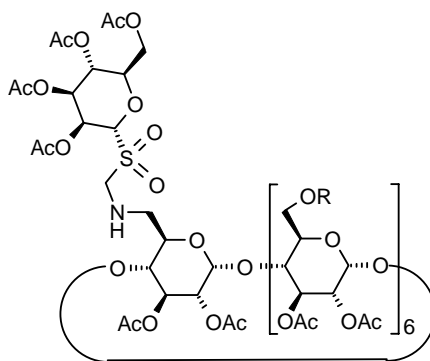
IR (KBr): 3483, 1750, 1372, 1238, 1044  $\text{cm}^{-1}$ ;



$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  171.0, 170.9, 170.9, 170.8, 170.7, 170.6, 170.6, 170.5, 170.5, 170.4, 170.2, 169.6, 169.5, 169.4, 169.3, 97.3, 97.1, 96.9, 96.9, 96.7, 96.6, 96.5, 88.3, 77.4, 77.1, 76.8, 76.7, 76.6, 76.5, 76.5, 76.4, 73.3, 71.9, 71.5, 71.0, 70.9, 70.8, 70.7, 70.4, 70.2, 69.7, 69.7, 69.6, 69.5, 69.4, 69.4, 67.5, 66.5, 63.0, 62.6, 62.5, 61.5, 49.8, 47.9, 42.3, 20.9, 20.9, 20.8, 20.8, 20.6, 20.6;

EMAR (m/z) (MALDI-TOF) calc. para  $\text{C}_{98}\text{H}_{133}\text{NO}_{65}\text{S}$  + Na: 2418.675; enc.: 2418.414.

**$\beta$ -Ciclodextrina-6A-deoxi-6A-[6-[2'- (2'',3'',4'',6''-tetra-O-acetil- $\alpha$ -D-manopiranosil sulfonil)-etil]amino]-2A,2B,2C,2D,2E,2F,2G,3A,3B,3C,3D,3E,3F,3G,6B,6C,6D,6E, 6F,6G-ecosacetato (453)**



Se obtiene **453** como sustancia siruposa con un rendimiento del 65 %:

$[\alpha]_{\text{D}} +96^{\circ}$  (*c* 1, cloroformo);

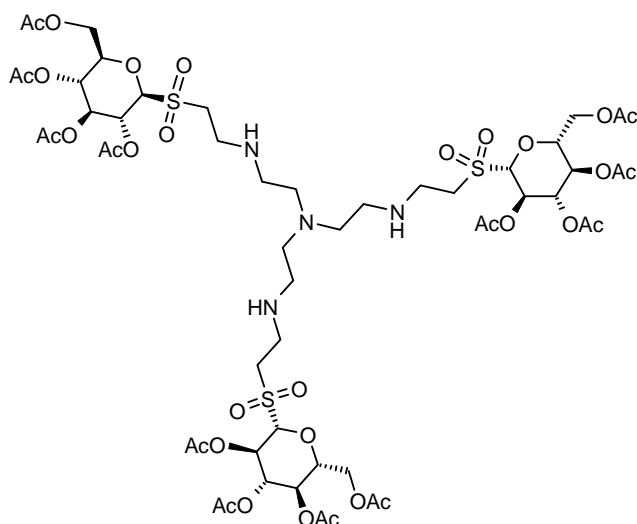
IR (KBr): 3483, 2967, 1751, 1374, 1237, 1049  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  (señales seleccionadas) 5.95 (dd, 1 H,  $J = 3.5$  y 1.8 Hz, H-2man), 5.56 (dd, 1 H,  $J = 10.0$  y 4.0 Hz, H-3man);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.8, 170.6, 170.5, 169.6, 169.5, 169.4, 169.3, 97.2, 97.0, 96.7, 96.4, 88.7, 77.7, 76.8, 76.6, 73.4, 71.5, 71.2, 70.9, 70.7, 70.5, 69.9, 69.4, 68.9, 65.2, 64.7, 62.5, 62.2, 48.0, 42.4, 20.7, 20.6, 20.5;

EMAR (m/z) (MALDI-TOF) calc. para  $\text{C}_{98}\text{H}_{133}\text{O}_{65}\text{NS}$  + Na: 2418.7; enc.: 2418.5.

**Síntesis de *N*-(2-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- $\beta$ -D-glucopiranosil)-sulfonil-etil)-*N,N'*-bis-[2-(2-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- $\beta$ -D-glucopiranosil)-sulfonil-etilamino)-etil]-etano-1,2-diamina (455)**



Una disolución de amina **27** (36 mg, 0.236 mmol) y de vinil sulfona **429** (299 mg, 0.71 mmol) en una mezcla de 2-propanol (14 mL) y THF (7 mL) se hacen reaccionar bajo agitación magnética a temperatura ambiente durante 3 horas, tras lo cual se evapora el disolvente a vacío y se purifica el crudo mediante cromatografía de columna (AcOEt:MeOH 3:1  $\rightarrow$  1:1) obteniéndose 250 mg de **455** como sólido delicuescente con un rendimiento del 75 %:

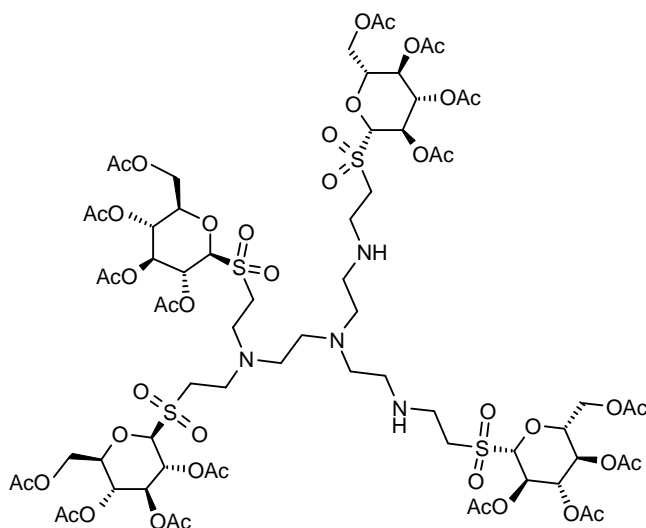
IR (film): 3458, 1756, 1371, 1320, 1226  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  5.57 (t, 3 H,  $J = 9.5$  Hz), 5.36 (t, 3 H,  $J = 9.3$  Hz), 5.17 (t, 3 H,  $J = 9.7$  Hz), 4.74 (d, 3 H,  $J = 9.9$  Hz), 4.26 (m, 6 H), 3.92, (dt, 3 H,  $J = 10.2$ , 6.4 y 3.0 Hz), 3.40-3.25, 3.20-3.06 (2 m, 12 H), 2.75-2.50 (m, 12 H), 2.09, 2.07, 2.05, 2.03 (4 s, 36 H);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.6, 169.2, 87.8, 76.4, 73.3, 67.4, 66.3, 61.4, 54.5, 49.8, 47.2, 41.9, 20.7, 20.6, 20.6;

EMAR (m/z) (MALDI-TOF) calc. para  $\text{C}_{54}\text{H}_{84}\text{N}_4\text{O}_{33}\text{S}_3 + \text{Na}$ : 1435.4008; enc.: 1435.434.

**Síntesis de 2-[Bis-(2-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- $\beta$ -D-glucopiranosilsulfonil)-etil)-amino]-etil]-{2-bis-[2-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- $\beta$ -D-glucopiranosilsulfonil)-etilamino-etil]}-amina (456)**



Una disolución de amina **27** (33 mg, 0.22 mmol) y de vinil sulfona **429** (557 mg, 1.32 mmol) en una mezcla de 2-propanol (14 mL) y THF (7 mL) se hacen reaccionar a t. a. durante 24 horas, tras lo cual se evapora el disolvente a vacío y se purifica el crudo mediante cromatografía de columna (AcOEt  $\rightarrow$  AcOEt:MeOH 1:1) obteniéndose 250 mg (60 %) de **456** como sólido:

P.F. 101-103 °C;

$[\alpha]_D -10.6^\circ$  (c 1, cloroformo);

IR (KBr): 3439, 1753, 1226  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  5.56 (t, 2 H,  $J = 9.5$  Hz, H-2), 5.52 (t, 2 H,  $J = 9.7$  Hz, H-2), 5.36 (t, 2 H,  $J = 9.4$  Hz, H-3), 5.35 (t, 2 H,  $J = 9.4$  Hz, H-3), 5.17 (t, 4 H,  $J = 9.8$  Hz, H-4), 4.72 (d, 2 H,  $J = 9.9$  Hz, H-1), 4.66 (d, 2 H,  $J = 9.8$  Hz, H.1), 4.33-4.23 (m, 8 H, H-6 y H-6'), 3.94, 3.91 (m, 4 H, H-5), 3.47-3.25, 3.25-3.00, 2.69, 2.58 (4 m, 28 H, 4  $\text{SO}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$  y 3  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2.10, 2.07, 2.07, 2.05, 2.03, 2.03 (6 s, 48 H, 16 Ac);

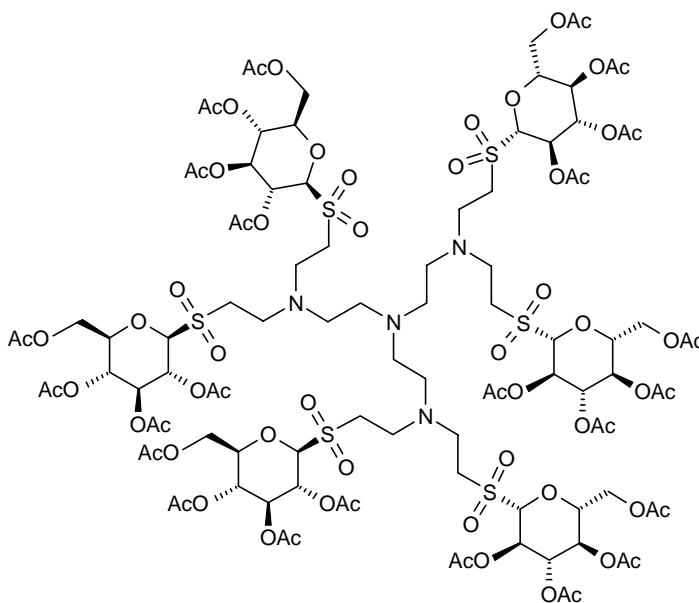
$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.8, 170.2, 169.4, 169.4, 87.8, 76.4, 73.3, 73.3, 67.4, 66.3, 61.4, 61.2, 47.0, 46.7, 45.8, 20.9, 20.7, 20.6;

EMAR (m/z) (MALDI TOF) calc. for  $C_{70}H_{106}N_4O_{44}S_4 + H$ : 1835.514; enc.: 1835.504.

### Síntesis de los neoglicoconjugados hexavalentes **457**, **458** y **460**

Una disolución de amina **22** (20 mg, 0.13 mmol) y vinilsulfona **429-431** (0.94 mmol) en 15 mL de mezcla 2-metil-2-propanol:acetonitrilo 2:1 se hacen reaccionar bajo agitación magnética a temperatura de reflujo durante 72 h. tras lo cual el disolvente es evaporado y el crudo es purificado mediante cromatografía en columna.

#### [2-(Bis-[2-[bis-(2-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-glucopiranosilsulfonil)-etil)-amino]-etil]-amino)-etil]-bis-(2-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-glucopiranosilsulfonil)-etil)-amina (**457**)



Cromatografía en columna (AcOEt  $\rightarrow$  AcOEt:MeOH 50:1) permite la obtención de **457** como sólido con un rendimiento del 81%:

P.F. 162-164 °C;

$[\alpha]_D -14^\circ$  (c 1, cloroformo);

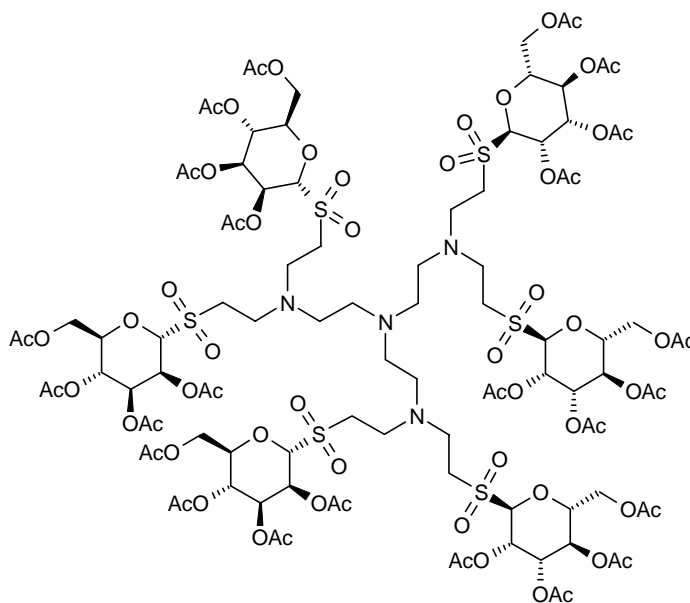
IR (KBr): 3550, 3400, 1757, 1373, 1321, 1227, 1117, 1038  $cm^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  5.54 (t, 6 H,  $J = 9.5$  Hz, H-2), 5.39 (t, 6 H,  $J = 9.4$  Hz, H-3), 5.18 (t, 6 H,  $J = 9.8$  Hz, H-4), 4.69 (d, 6 H,  $J = 9.9$  Hz, H-1), 4.34 (dd, 6 H,  $J = 12.9$  y 2.3 Hz, H-6), 4.25 (dd, 6 H,  $J = 12.8$  y 3.9 Hz, H-6'), 3.97 (ddd, 6 H,  $J = 9.5$ , 3.3 y 2.7 Hz, H-5), 3.40-3.22, 3.20-3.00 (2 m, 24 H, 6  $\text{SO}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2.74-2.50 (m, 12 H, 3  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2.07, 2.06, 2.05, 2.04 (4 s, 72 H, 24 Ac);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.7, 170.1, 169.3 (CO), 87.7 (C-1), 76.2 (C-5), 73.3 (C-2), 67.4 (C-3), 66.2 (C-4), 61.2 (C-6), 52.5, 51.3, 47.1, 46.0 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}$  y  $\text{SO}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 20.8, 20.7, 20.6 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ).

EMAR (m/z) (MALDI-TOF) calc. para  $\text{C}_{102}\text{H}_{150}\text{N}_4\text{O}_{66}\text{S}_6 + \text{H}$ : 2679.691; enc.: 2679.712. Calc. para  $\text{C}_{102}\text{H}_{150}\text{N}_4\text{O}_{66}\text{S}_6 + \text{Na}$ : 2701.673; enc.: 2701.647. Calc. para  $\text{C}_{102}\text{H}_{150}\text{N}_4\text{O}_{66}\text{S}_6 + \text{K}$ : 2717.647; enc.: 2717.627.

**[2-(Bis-[2-[bis-(2-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\alpha$ -D-manopiranosilsulfonil)-etil)-amino]-etil)-amino)-etil]-bis-(2-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\alpha$ -D-manopiranosilsulfonil)-etil)-amina (458)**



Cromatografía en columna (AcOEt:hexano 5:1  $\rightarrow$  AcOEt) permite la obtención de **458** como sólido amorfo con un rendimiento del 87%:

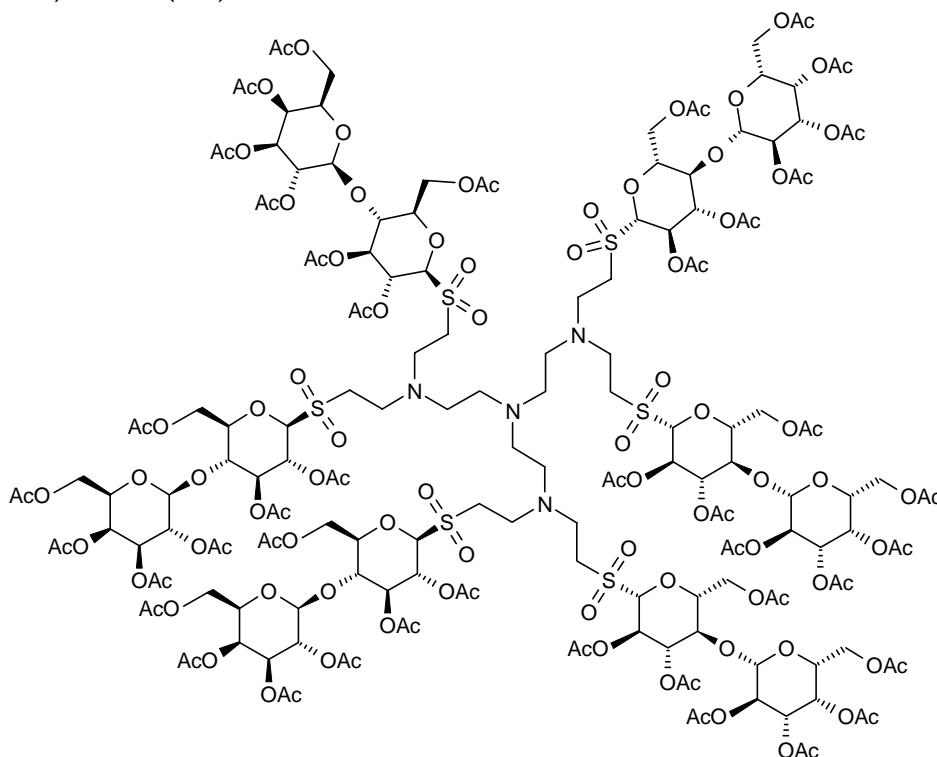
IR (KBr): 3483, 2964, 1753, 1373, 1227, 1117  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  5.89 (d, 6 H,  $J = 3.9$  Hz, H-2), 5.51 (dd, 6 H,  $J = 9.9$  y 3.6 Hz, H-3), 5.35 (t, 6 H,  $J = 9.9$  Hz, H-4), 5.11 (sa, 6 H, H-1), 4.58 (dt, 6 H,  $J = 9.7$  y 3.6 Hz, H-5) 4.21 (dd, 6 H,  $J = 12.8$  y 4.6 Hz, H-6), 4.14 (dd, 6 H,  $J = 12.7$  y 2.5 Hz, H-6'), 3.6-3.4 (m, 6 H), 3.3-3.1 (m, 12 H). 3.0-2.8 (m, 6 H), 2.8-2.5 (m, 9 H), 2.4-2.3 (m, 3 H), 2.16, 2.11, 2.06, 1.99 (4 s, 72 H, Ac);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.4, 169.5, 169.4, 89.4, 73.3, 69.0, 64.9, 64.3, 62.4, 51.8, 51.8, 47.5, 46.8, 20.6, 20.5, 20.4;

EMAR (m/z) (MALDI-TOF) calc. para  $\text{C}_{102}\text{H}_{150}\text{N}_4\text{O}_{66}\text{S}_6 + \text{Na}$ : 2679.7; enc.: 2678.3.

**[2-(Bis-[2-[bis-(2-(2',3',4',6'-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri-O-acetil- $\beta$ -D-glucopiranosilsulfonil)-etil)-amino]-etil)-amino)-etil]-bis-(2-(2',3',4',6'-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri-O-acetil- $\beta$ -D-glucopiranosil sulfonil)-etil)-amina (460)**



Cromatografía en columna (AcOEt  $\rightarrow$  AcOEt:MeOH 50:1) permite la obtención de **460** como sólido con un rendimiento del 86%:

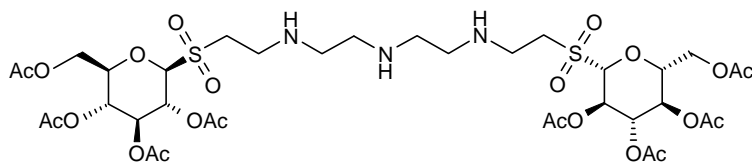
IR (KBr): 1754, 1372, 1229, 1056  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$ : 5.43 (t, 6 H,  $J = 9.4$  Hz, H-2glu), 5.36 (d, 6 H,  $J = 3.9$  Hz, H-4gal), 5.32 (t, 6 H,  $J = 9.0$  Hz, H-3glu), 5.10 (dd, 6 H,  $J = 10.3$  y 7.7 Hz, H-2gal), 5.00 (dd, 6 H,  $J = 10.4$  y 3.3 Hz, H-3gal), 4.69 (da, 6 H,  $J = 11.7$  Hz, H-6), 4.64 (d, 6 H,  $J = 9.6$  Hz, H-1glu), 4.58 (d, 6 H,  $J = 7.8$  Hz, H-1gal), 4.20-4.00 (m, 18 H, H-6, H-6' y H-6'), 3.95-3.85 (m, 12 H, H-5gal), 3.81 (da, 6 H,  $J = 8.7$  Hz, H-5glu), 3.40-2.90 (m, 24 H), 2.75-2.50 (m, 12H), 2.16, 2.13, 2.08, 2.07 2.06, 2.05, 1.97 (7 s, 126 H, Ac) ;

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz)  $\delta$ : 170.5, 170.4, 170.2, 170.1, 169.8, 169.5, 169.1, 101.2, 87.6, 77.1, 75.3, 73.2, 71.1, 70.8, 69.2, 66.7, 66.3, 61.2, 60.8, 47.1, 46.1, 21.0, 20.8, 20.7, 20.5;

EMAR (m/z) (MALDI-TOF) calc. para  $\text{C}_{174}\text{H}_{246}\text{N}_4\text{O}_{114}\text{S}_6 + \text{H}$ : 4411.2; enc.: 4410.5. Calc. para  $\text{C}_{174}\text{H}_{246}\text{N}_4\text{O}_{114}\text{S}_6 + \text{Na}$ : 4433.1; enc.: 4433.0. Calc. para  $\text{C}_{174}\text{H}_{246}\text{N}_4\text{O}_{114}\text{S}_6 + \text{K}$ : 4449.3; enc.: 4449.3.

### Síntesis de (2-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-glucopiranosil)-sulfonil-etil)-[2-[2-(2-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-glucopiranosil)-sulfonil-etilamino)-etilamino]-etil]-amina (462)



Una disolución de amina **461** (57 mg, 0.525 mmol) y de vinil sulfona **429** (443 mg, 1.05 mmol) en una mezcla de 2-propanol (18 mL) y THF (9 mL) se hacen reaccionar bajo agitación magnética a temperatura ambiente durante 5 horas, tras lo cual se evapora el disolvente a vacío y el producto se purifica mediante cristalización en éter etílico:hexano obteniéndose 470 mg de **462** como sólido delicuescente con un rendimiento del 95 %:

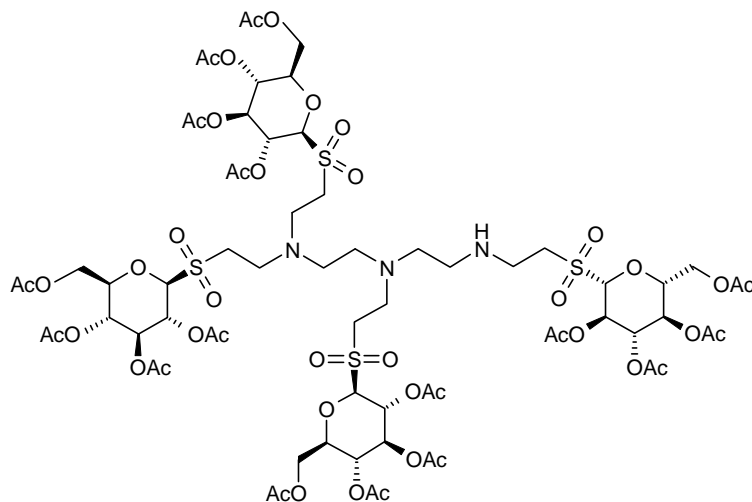
IR (KBr): 3455, 1757, 1374, 1227  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{MeOH-d}_4$ , 300 MHz):  $\delta$  5.58 (t, 2 H,  $J = 9.6$  Hz), 5.42 (t, 2 H,  $J = 9.4$  Hz), 5.15 (t, 2 H,  $J = 9.6$  Hz), 4.95 (d, 2 H,  $J = 9.8$  Hz), 4.63 (m, 4 H), 4.08 (m, 2 H), 3.47-3.27 (m, 4 H), 3.10 (m, 4 H), 2.75 (m, 8 H), 2.07, 2.03, 1.98 (3 s, 24 H);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{MeOH-d}_4$ , 75 MHz):  $\delta$  171.8, 171.3, 170.7, 170.5, 88.6, 77.2, 74.5, 68.6, 67.5, 50.7, 49.0, 48.5, 42.7, 20.7, 20.6;

EMAR (m/z) (MALDI-TOF) calc. para  $C_{36}H_{57}N_3O_{22}S_2 + Na$ : 970.277; enc.: 970.126.

**Síntesis de {2-[[2-[Bis-(2-(2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosilsulfonil)-etil)-amino]-etil]-(2-(2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosilsulfonil)-etil)-amino]-etil}-(2-(2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosilsulfonil)-etil)-amina (463)**



Una disolución de la amina **461** (17 mg, 0.157 mmol) y la vinilsulfona **429** (350 mg, 0.83 mmol) en 18 mL de mezcla 2-propanol:THF 2:1 es hecha reaccionar a t. a. durante 16 h. tras lo cual el disolvente es evaporado y el crudo se purifica mediante cromatografía en columna (AcOEt → AcOEt:MeOH 10:1) obteniéndose 165 mg de **463** (59 %) como sólido:

P.F. 96-98 °C;

$[\alpha]_D -11.9^\circ$  (c 1, cloroformo);

IR (KBr): 3455, 2958, 1757, 1374, 1227, 1037  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  5.57 (t, 1 H,  $J = 9.5$  Hz, H-2), 5.52 (t, 2 H,  $J = 9.5$  Hz, 2 H-2), 5.51 (t, 1 H,  $J = 9.5$  Hz, H-2), 5.36 (t, 1 H,  $J = 9.3$  Hz, H-3), 5.35 (t, 3 H,  $J = 9.3$  Hz, 3 H-3), 5.17 (ta, 4 H,  $J = 9.8$  Hz, 4 H-4), 4.72 (d, 1 H,  $J = 9.9$  Hz, H-1), 4.65 (d, 2 H,  $J = 9.8$  Hz, 2 H-1), 4.63 (d, 1 H,  $J = 9.7$  Hz, H-1), 4.33-4.23 (m, 8 H, 4  $\text{CH}_2\text{OAc}$ ), 3.99-3.88 (m, 4 H, 4 H-5), 3.45-3.20, 3.20-2.98, 2.74, 2.58 (3 m, 24 H, 4  $\text{SO}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ , 2  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2.10, 2.06, 2.05, 2.03 (4 s, 48 H, 16 Ac);



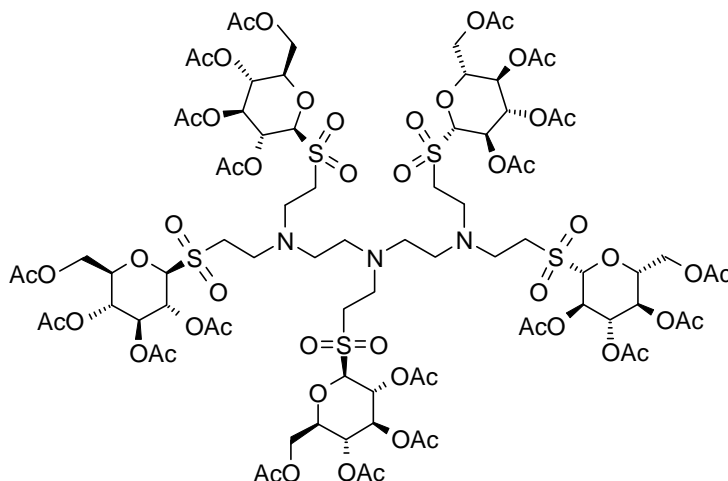
$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.7, 170.3, 170.2, 170.1, 169.6, 169.4, 169.3, 87.9, 87.8, 76.4, 76.3, 73.3, 73.2, 67.5, 67.4, 66.3, 61.4, 61.2, 51.7, 51.6, 49.6, 46.7, 46.6, 46.1, 46.0, 42, 2, 20.8, 20.7, 20.6, 20.6.

EMAR (m/z) (MALDI-TOF) calc. para  $\text{C}_{68}\text{H}_{101}\text{N}_3\text{O}_{44}\text{S}_4$  + H: 1792.472; enc.: 1792.410.

### Síntesis de los neoglicoconjugados pentavalentes **464**, **465** y **467**

Una disolución de amina **461** (23 mg, 0.21 mmol) y vinilsulfona **429-431** (1.27 mmol) en 30 mL de mezcla 2-metil-2-propanol:acetonitrilo 2:1 se hacen reaccionar bajo agitación magnética a temperatura de reflujo durante 72 h. tras lo cual el disolvente es evaporado y el crudo es purificado mediante cromatografía en columna.

**{2-[[2-[Bis-(2-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-glucopiranosilsulfonil)-etil)-amino]-etil]-2-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-glucopiranosilsulfonil)-etil)-amino]-etil}-bis-(2-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-glucopiranosilsulfonil)-etil)-amina (**464**)**



Cromatografía en columna (AcOEt:hexano 5:1  $\rightarrow$  AcOEt) da **464** como sólido (88 %):

P.F. 177-179  $^{\circ}\text{C}$ ;

$[\alpha]_{\text{D}} -14^{\circ}$  ( $c$  1, cloroformo);

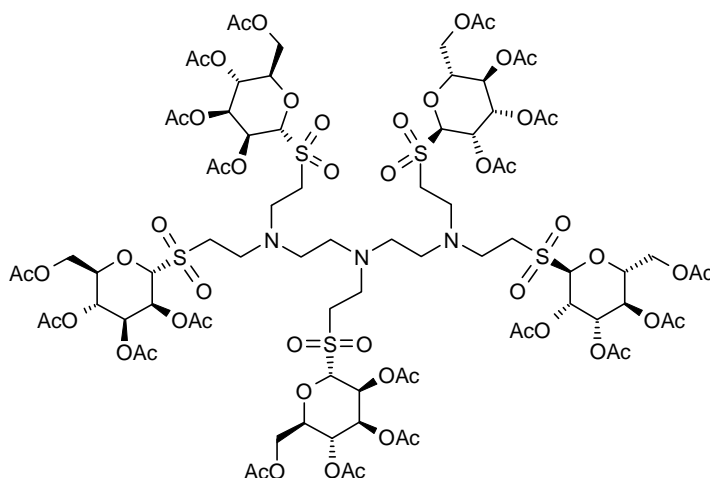
IR (KBr): 1756, 1374, 1321, 1226  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  5.53 (t, 4 H,  $J = 9.5$  Hz), 5.52 (t, 1 H,  $J = 9.4$  Hz), 5.37 (t, 4 H,  $J = 9.3$  Hz), 5.36 (t, 1 H,  $J = 9.3$  Hz), 5.17 (t, 5 H,  $J = 9.8$  Hz), 4.67 (d, 4 H,  $J = 9.7$  Hz), 4.64 (d, 1 H,  $J = 9.6$  Hz), 4.32 (dd, 5 H,  $J = 13.1$  y 2.3 Hz), 4.25 (dd, 5 H,  $J = 13.1$  y 3.9 Hz), 3.94 (dt, 5 H,  $J = 10.0$ , 4.0 y 2.0 Hz), 3.42-3.24, 3.18-3.00, 2.75-2.55 (3 m, 28 H), 2.10, 2.06, 2.05, 2.03 (4 s, 60 H);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.7, 170.1, 169.3, 169.3, 87.7, 76.3, 73.2, 67.3, 66.2, 61.2, 51.8, 51.2, 46.8, 46.0, 20.8, 20.6, 20.6;

EMAR (m/z) (MALDI-TOF) calc. para  $\text{C}_{84}\text{H}_{123}\text{N}_3\text{O}_{55}\text{S}_5 + \text{Na}$ : 2236.542; enc.: 2236.549.

**{2-[[2-[Bis-(2-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- $\alpha$ -D-manopiranosilsulfonil)-etil)-amino]-etil)-(2-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- $\alpha$ -D-manopiranosilsulfonil)-etil)-amino]-etil]-bis-(2-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- $\alpha$ -D-manopiranosilsulfonil)-etil)-amina (465)}**



Cromatografía en columna (AcOEt:hexano 5:1  $\rightarrow$  AcOEt) da **465** como sólido (92 %):

P.F. 105-107  $^\circ\text{C}$ ;

IR (KBr): 3482, 2968, 1752, 1372, 1227, 1117, 1049  $\text{cm}^{-1}$ ;

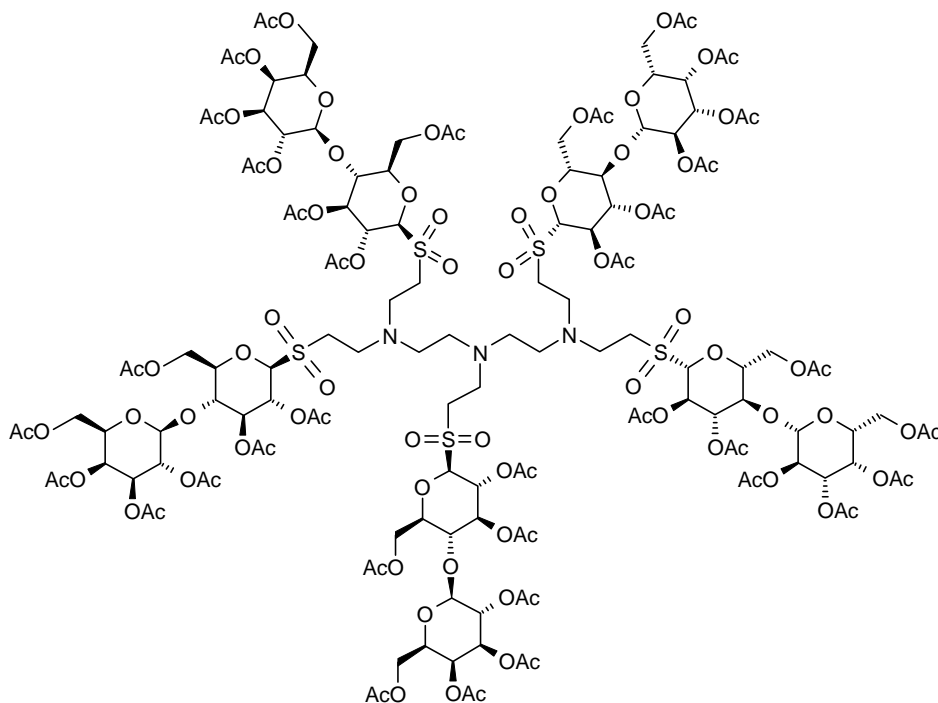
$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$ : 5.89 (d, 5 H,  $J = 3.6$ , H-2a y H-2b), 5.55 (dd, 1 H,  $J = 9.7$  y 3.8 Hz, H-3b), 5.51 (dd, 4 H,  $J = 9.7$  y 3.6, H-3a), 5.37 (t, 1 H,  $J = 9.7$  Hz, H-4b), 5.35 (t, 4 H,  $J = 9.8$  Hz, H-4a), 5.10 (sa, 4 H, H-1a), 5.04 (d, 1 H,  $J = 1.2$  Hz, H-1b), 4.63 (ddd, 5 H,  $J = 9.8$ , 4.5 y 2.8 Hz, H-5a y H-5b), 4.26 (dd, 5 H,  $J = 12.5$  y 4.7 Hz, H-6a y H-6b), 4.19 (dd, 5 H,  $J = 12.5$  y 2.7

Hz, H-6'a y H-6'b), 3.5-2.5 (m, 28 H), 2.17, 2.16, 2.07, 2.06, 2.05, 2.01, 1.99 (7 s, 60 H, Ac);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz)  $\delta$ : 170.5, 169.6, 169.5, 89.5, 89.4, 73.5, 69.1, 65.1, 64.9, 64.4, 62.4, 51.8, 51.5, 47.9, 47.5, 47.0, 20.8, 20.6, 20.5;

EMAR (m/z) (MALDI-TOF) calc. para  $\text{C}_{84}\text{H}_{123}\text{N}_3\text{O}_{55}\text{S}_5 + \text{H}$ : 2214.56; enc.: 2214.4.

**{2-[[2-[Bis-(2-(2',3',4',6'-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri-O-acetil- $\beta$ -D-glucopiranosilsulfonil)-etil)-amino]-etil]-(2-(2',3',4',6'-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri-O-acetil- $\beta$ -D-glucopiranosilsulfonil)-etil)-amino]-etil]-bis-(2-(2',3',4',6'-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri-O-acetil- $\beta$ -D-glucopiranosilsulfonil)-etil)-amina (467)**



Cromatografía en columna (AcOEt) da **467** como sólido (65 %):

IR (KBr): 1753, 1372, 1229, 1056  $\text{cm}^{-1}$ ;

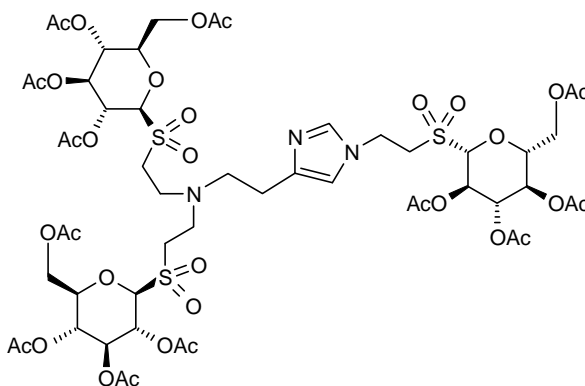
$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  5.43 (t, 5 H,  $J = 9.3$  Hz), 5.36 (d, 5 H,  $J = 3.8$  Hz), 5.32 (t, 5 H,  $J = 9.0$  Hz), 5.10 (dd, 5 H,  $J = 10.3$  y 7.8 Hz), 5.05-4.95 (m, 5 H), 4.70 (da, 5 H,  $J = 11.4$  Hz), 4.63 (d, 5 H,  $J = 9.6$  Hz), 4.58 (d, 5 H,  $J = 7.6$  Hz).

Hz), 4.25-4.05 (m, 15 H), 4.00-3.75 (m, 15 H), 3.40-2.90 (m, 20 H), 2.70-2.55 (m, 8 H), 2.16, 2.13, 2.08, 2.07, 2.06, 2.05, 1.97 (7 s, 105 H);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.4, 170.3, 170.1, 170.0, 169.7, 169.1, 101.1, 87.5, 77.0, 75.1, 73.1, 70.9, 70.6, 69.0, 66.6, 66.1, 61.0, 60.6, 46.8, 45.9, 20.9, 20.7, 20.6, 20.5;

EMAR (m/z) (MALDI-TOF) calc. para  $\text{C}_{144}\text{H}_{203}\text{N}_3\text{O}_{95}\text{S}_5$  + Na: 3676.96; enc.: 3676.6.

**Síntesis de bis-[2-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-glucopiranosilsulfonil)-etil]-[2-[1-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-glucopiranosilsulfonil)-etil]-1H-imidazol-4-il]-etil]-amina (469)**



A una disolución de diclorhidrato de histamina (45 mg, 0.24 mmol) y la vinsulfona **429** (330 mg, 0.78 mmol) en 10 mL de mezcla 2-propanol:agua 2:1 se le añaden 68  $\mu\text{L}$  de  $\text{Et}_3\text{N}$  (0.5 mmol) y se mantiene con agitación magnética t. a. durante 16 h. tras lo cual el disolvente es evaporado y el crudo se purifica mediante cromatografía en columna ( $\text{AcOEt} \rightarrow \text{AcOEt}:\text{MeOH}$  10:1) obteniéndose 180 mg de **469** (54 %) como sólido delicuescente:

$[\alpha]_{\text{D}} -9^\circ$ ,  $[\alpha]_{436} -20^\circ$  (*c* 1, cloroformo);

IR (KBr): 1756, 1375, 1323, 1227  $\text{cm}^{-1}$ ;

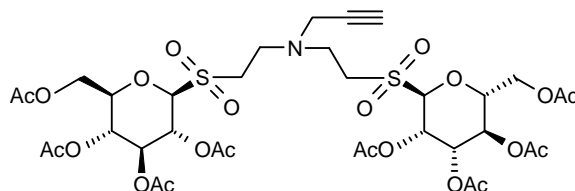
$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  7.55 (sa, 1 H), 6.89 (sa, 1 H), 5.51 (t, 2 H,  $J = 9.6$  Hz), 5.46 (t, 1 H,  $J = 9.6$  Hz), 5.31 (t, 2 H,  $J = 9.4$  Hz), 5.29 (t, 1 H,  $J = 9.3$  Hz), 5.14 (t, 2 H,  $J = 9.6$  Hz), 5.13 (t, 1 H,  $J = 9.6$  Hz), 4.61 (d, 3 H,  $J = 9.9$  Hz), 4.43 (m, 2 H), 4.35-4.20 (m, 6 H), 3.98 (dt, 2 H,  $J = 10$  y 3.4 Hz), 3.77

(ddd, 1 H,  $J = 10.1, 4.0$  y  $2.7$  Hz), 3.71-3.62, 3.56-3.47, 3.42-3.30, 3.20-2.70 (4 m, 14 H), 2.10, 2.09, 2.07, 2.05, 2.04, 2.03, 2.02 (7s, 36 H);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.7, 170.6, 170.2, 169.3, 169.2, 137.0, 116.3, 88.5, 88.0, 76.8, 76.4, 73.2, 73.0, 67.5, 67.3, 66.3, 66.2, 61.3, 61.1, 52.7, 50.6, 46.9, 46.1, 39.9, 25.8, 20.8, 20.7, 20.6, 20.5;

EMAR (m/z) (MALDI-TOF) calc. para  $\text{C}_{53}\text{H}_{75}\text{N}_3\text{O}_{33}\text{S}_3 + \text{H}$ : 1378.352; enc.: 1378.352. Calc. para  $\text{C}_{53}\text{H}_{75}\text{N}_3\text{O}_{33}\text{S}_3 + \text{Na}$ : 1400.334; enc.: 1400.317.

### Síntesis de [2-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- $\beta$ -D-glucopiranosilsulfonil)-etil]-[2-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- $\beta$ -D-manopiranosilsulfonil)-etil]-(prop-2'-inil)-amina (470)



Una disolución de amina **434** (80 mg, 0.168 mmol) y vinilsulfona **430** (78 mg, 0.256 mmol) en 10 mL de 2-metil-2-propanol se mantienen bajo agitación magnética a reflujo durante 72 h. tras lo cual se evapora el disolvente a vacío y se purifica el crudo mediante cromatografía de columna (AcOEt:hexano 1:1  $\rightarrow$  2:1) obteniéndose 100 mg de **470** como sólido con un rendimiento del 67 %:

P.F. 70-72 °C;

$[\alpha]_{\text{D}} +12^\circ$  ( $c$  1, cloroformo);

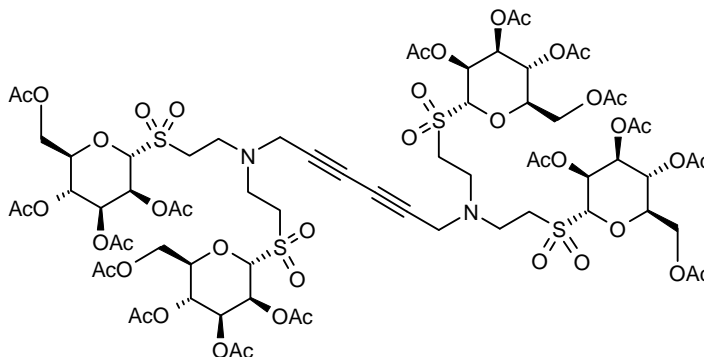
IR (KBr): 1753, 1372, 1227, 1117, 1041  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  5.92 (dd, 1 H,  $J = 3.5$  y  $1.5$  Hz), 5.57 (dd, 1 H,  $J = 9.5$  y  $3.6$  Hz), 5.53 (t, 1 H,  $J = 9.6$  Hz), 5.53 (t, 2 H,  $J = 9.3$  Hz), 5.18 (d, 1 H,  $J = 1.3$  Hz), 5.17 (t, 1 H,  $J = 9.7$  Hz), 4.66 (d, 1 H,  $J = 9.9$  Hz), 4.66 (m, 1 H), 4.32-4.18 (m, 4 H), 3.89 (ddd, 1 H,  $J = 9.9, 4.4$  y  $2.8$  Hz), 3.62-3.00 (m, 10 H), 2.32 (sa, 1 H), 2.20, 2.12, 2.11, 2.09, 2.08, 2.07, 2.05, 2.02 (8 s, 24 H);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.1, 170.0, 169.7, 89.4, 88.0, 76.5, 74.9, 73.5, 73.1, 68.9, 67.6, 66.1, 65.3, 64.7, 62.5, 61.7, 47.6, 47.0, 46.8, 46.7, 41.2, 20.7, 20.6, 20.5;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $C_{35}H_{49}NO_{22}S_2$  + Na: 922.208; enc.: 922.209.

**Síntesis de *N,N,N',N'*-tetrakis-[2-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- $\alpha$ -D-manopiranosilsulfonil)-etil] -hexin-2,4-diin-1,6-diamina (**471**)**



A una disolución de **443** (270 mg, 0.3 mmol) en 7 mL de DMF:Et<sub>3</sub>N 1:2 se le añaden 58 mg (0.3 mmol) de CuI y 21 mg (0.03 mmol) de Pd(Ph<sub>3</sub>P)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. La mezcla de reacción se mantiene a t. a. bajo agitación magnética durante 90 min. tras lo cual se evapora la Et<sub>3</sub>N. A la disolución resultante se añaden 75 mL de AcOEt que se lava con 30 mL de agua, esta fase acuosa es lavada con 75 mL de AcOEt. Ambas fracciones orgánicas se unen y se lavan con agua (30 mL x 2). La fase orgánica se seca con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se evapora. El crudo así obtenido se purifica mediante cromatografía en columna (AcOEt:hexano 10:1) obteniéndose 206 mg (76 %) de **471** como sólido:

P.F. 112-114 °C;

$[\alpha]_D^{+43}$  (c 1, cloroformo);

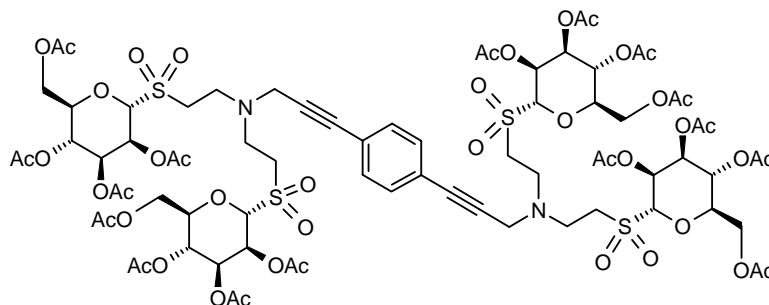
IR (KBr): 3450, 2963, 1753, 1638, 1373, 1315, 1228, 1117, 1048 cm<sup>-1</sup>;

<sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):  $\delta$  5.90 (dd, 4 H, *J* = 3.7 y 1.1 Hz, H-2), 5.52 (dd, 4 H, *J* = 9.8 y 3.7 Hz, H-3), 5.32 (t, 4 H, *J* = 9.9 Hz, H-4), 5.09 (sa, 4 H, H-1), 4.59 (ddd, 4 H, *J* = 9.9, 4.8 y 3.1 Hz, H-5), 4.30-4.10 (m, 8 H, H-6 y H-6'), 3.67 (d, 2 H, *J* = 18.8 Hz), 3.61 (d, 2 H, *J* = 18.9 Hz), 3.60-3.45 (m, 4 H), 3.20-3.00 (m, 12 H), 2.16, 2.12, 2.06, 2.00 (4 s, 48 H, Ac);

<sup>13</sup>C RMN (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz):  $\delta$  170.4, 169.6, 169.5, 89.9, 73.5, 72.6, 70.4, 69.0, 65.1, 64.1, 62.5, 47.5, 46.7, 42.5, 20.7, 20.6, 20.5;

EMAR (m/z) (MALDI-TOF) calc. para  $C_{70}H_{96}N_2O_{44}S_4 + Na$ : 1819.41; enc.: 1819.42. Calc. para  $C_{70}H_{96}N_2O_{44}S_4 + K$ : 1835.39; enc.: 1835.39.

### Síntesis de 1,4-Bis[*N,N'*-bis-2-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- $\alpha$ -D-manopiranosilsulfonil)etil]-3-aminopropin-1-il]-benceno (473)



Una disolución de 1,4-diyodobenceno (51 mg, 0.15 mmol) y **443** (297 mg, 0.33 mmol) en 4 mL de DMF y 4 mL de  $Et_3N$  es desgasificada mediante una corriente de argón. Tras lo cual se le añaden 18 mg (0.015 mmol) de  $Pd(Ph_3P)_4$  y se hace reaccionar durante 5 h. a 60 °C. Una vez finalizada la reacción la  $Et_3N$  es evaporada y a la disolución resultante se añaden AcOEt (50 mL) y se lava con agua (30 mL), la disolución acuosa se lava con AcOEt (50 mL), ambas fases orgánicas se reúnen y se lavan con agua 350 mL x 2) tras lo cual la fase orgánica se seca con  $Na_2SO_4$  y se evapora. El crudo de reacción es purificado mediante cromatografía en columna (AcOEt:hexano 5:1) para obtener el producto **473** (189 mg, 68 %) como sólido:

P.F. 133-135 °C;

$[\alpha]_D^{+39}$  (c 1, cloroformo);

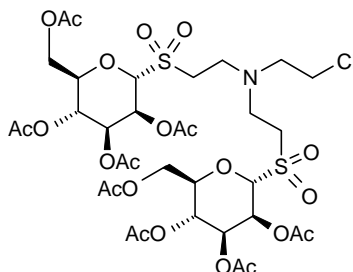
IR (KBr): 3462, 1753, 1372, 1227, 1117, 1049  $cm^{-1}$ ;

$^1H$  RMN ( $CDCl_3$ , 300 MHz):  $\delta$  7.37 (s, 4 H, CH-arom), 5.92 (d, 4 H,  $J = 3.8$  Hz, H-2), 5.54 (dd, 4 H,  $J = 9.7$  y 3.7 Hz, H-3), 5.32 (t, 4 H,  $J = 9.8$  Hz, H-4), 5.15 (s, 4 H, H-1), 4.62 (ddd, 4 H,  $J = 9.6, 4.9$  y 3.3 Hz, H-5), 4.30-4.05 (m, 12 H, H-6 y H-6'), 3.85-3.70 (m, 4 H), 3.70-3.40 (m, 4 H), 3.30-3.00 (m, 12 H), 2.15, 2.11, 2.06, 1.99 (4 s, 48 H);

$^{13}C$  RMN ( $CDCl_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.4, 169.6, 169.4, 131.7, 122.5, 89.8, 86.1, 84.2, 73.4, 69.0, 65.1, 64.1, 62.5, 47.5, 46.6, 42.5, 20.7, 20.7, 20.6, 20.5;

EMAR (m/z) (MALDI-TOF) calc. para  $C_{76}H_{100}N_2O_{44}S_4 + Na$ : 1895.44; enc.: 1895.42. Calc. para  $C_{76}H_{100}N_2O_{44}S_4 + K$ : 1911.42; enc.: 1911.44.

### Síntesis de Bis-[2-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\alpha$ -D-manopiranosilsulfonil)-etil]-(2'-cloroetil)-amina (475)



A una disolución de **446** (407 mg, 0.45 mmol) y piridina (145  $\mu$ L, 1.8 mmol) en 15 mL de THF se añaden 66  $\mu$ L (0.90 mmol) de cloruro de tionilo y se mantiene bajo agitación a t. a. durante 2 h., tras lo cual se añaden 100 mL de  $CH_2Cl_2$  y se lava con agua (30 mL), HCl 5 % (30 mL) y agua (30 mL) tras lo cual la fase orgánica se seca con  $Na_2SO_4$  y se concentra. El crudo así obtenido se purifica mediante cromatografía en columna (AcOEt:hexano 10:1) dando 285 mg (69 %) de producto como sólido:

P.F. 81-84  $^{\circ}C$ ;

$[\alpha]_D +121^{\circ}$  (c 1, cloroformo);

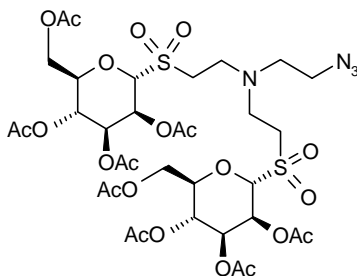
IR (KBr): 3447, 296, 1752, 1372, 1228, 1117, 1049  $cm^{-1}$ ;

$^1H$  RMN ( $CDCl_3$ , 300 MHz):  $\delta$  5.92 (dd, 2 H,  $J = 3.7$  y 1.5 Hz, H-2), 5.53 (dd, 2 H,  $J = 9.6$  y 3.7 Hz, H-3), 5.32 (t, 2 H,  $J = 9.7$  Hz, H-4), 5.18 (sa, 2 H, H-1), 4.61 (dt, 2 H,  $J = 9.9$  y 4.0 Hz, H-5), 4.21 (da, 4 H,  $J = 3.9$  Hz, H-6 y H-6'), 3.7-3.5 (m, 4H), 3.3-3.05 (m, 4 H), 2.95-2.75 (m, 4 H), 2.16, 2.11, 2.06, 2.00 (4 s, 24 H, 8 Ac);

$^{13}C$  RMN ( $CDCl_3$ , 75 MHz):  $\delta$  169.5, 161.1, 89.5, 73.5, 69.0, 65.2, 64.2, 62.5, 55.7, 47.5, 47.3, 41.1, 20.7, 20.7, 20.6, 20.5;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $C_{34}H_{50}ClNO_{22}S_2 + Na$ : 946.1852; enc.: 946.1841.



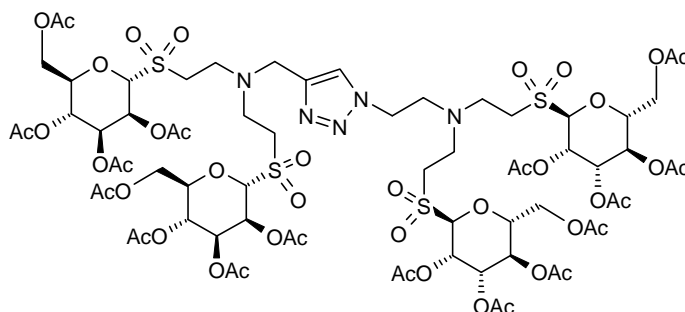
**Síntesis de Bis-[2-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\alpha$ -D-manopiranosilsulfonil)-etil]-(2'-azidoetil)-amina (476)**

Una disolución de **475** (160 mg, 0.173 mmol) y  $\text{NaN}_3$  (34 mg, 0.52 mmol) en 5 mL de DMF es calentada a 100 °C durante 3 h. Tras este periodo se añaden 100 mL de AcOEt y se lava con agua (50 mL), la fase acuosa se lava con 50 mL de AcOEt. Las fases orgánicas se unen y son lavadas con agua (2 x 30 mL), se secan con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se concentran a vacío. El crudo obtenido se purifica mediante cromatografía en columna (AcOEt:hexano 4:1) dando 146 mg (91 %) de **476** como sustancia siruposa:

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  5.91 (d, 2 H,  $J = 3.7$  Hz), 5.52 (dd, 2 H,  $J = 9.6$  y 3.8 Hz), 5.33 (t, 2 H,  $J = 9.8$  Hz), 5.17 (s, 2 H), 4.61 (dt, 2 H,  $J = 10.0$  y 3.7 Hz), 4.22 (d, 4 H,  $J = 3.7$  Hz), 3.6-3.4 (m, 4 H), 3.3-3.0 (m, 4 H), 2.9-2.8 (m, 2 H), 2.75 (dt, 1 H,  $J = 13.8$  y 6.7 Hz), 2.59 (dt, 1 H,  $J = 13.7$  y 5.2 Hz), 2.16, 2.11, 2.06, 2.00 (4 s, 24 H);

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{34}\text{H}_{50}\text{N}_4\text{O}_{22}\text{S}_2 + \text{Na}$ : 953.2256; enc.: 953.2260.

**Síntesis de 1-[N,N-bis-[2-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\alpha$ -D-manopiranosilsulfonil)etil]-2-aminoetil]-4-[N',N'-bis-[2-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\alpha$ -D-manopiranosilsulfonil)etil]aminometil]-1H-[1,2,3]-triazol (477)**



A una disolución del alquino **443** (91 mg, 0.10 mmol) y la azida **476** (94 mg, 0.10 mmol) en 10 mL de tolueno se añaden 4 mg (0.01 mmol) de  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$  y se hacen reaccionar durante 1 h. con irradiación de microondas tras lo cual se concentra y el crudo resultante es purificado mediante cromatografía en columna para dar 150 mg (81 %) de **477** como sustancia siruposa:

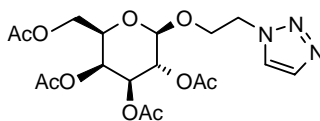
$[\alpha]_{\text{D}} +40^\circ$  (*c* 1, cloroformo);

IR (KBr): 3483, 2965, 1752, 1373, 1314, 1228, 1117, 1050  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  7.75 (s, 1 H), 5.90 (m, 4 H), 5.55-5.45 (m, 4 H), 5.40-5.25 (m, 4 H), 5.18 (s, 2 H), 5.08 (s, 2 H), 4.75-4.60 (m, 4 H), 4.60-4.45 (m, 2 H), 4.45-4.10 (m, 8H), 3.93 (d, 1 H,  $J = 14.8$  Hz), 3.81 (d, 1 H,  $J = 14.6$  Hz), 3.65-3.50 (m, 2 H), 3.50-3.30 (m, 2 H), 3.30-2.80 (m, 14 H), 2.18, 2.09, 2.07, 2.06, 2.04, 2.02, 2.00, 1.99 (8 s, 48 H);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz):  $\delta$  170.5, 169.6, 143.7, 89.6, 89.4, 73.6, 73.4, 69.1, 69.0, 65.0, 64.4, 62.2, 53.9, 48.3, 47.5, 46.9, 46.1, 20.7, 20.6, 20.5;

EMAR (*m/z*) (MALDI-TOF) calc. para  $\text{C}_{69}\text{H}_{99}\text{N}_5\text{O}_{44}\text{S}_4 + \text{H}$ : 1830.46; enc.: 1830.38. Calc. para  $\text{C}_{69}\text{H}_{99}\text{N}_5\text{O}_{44}\text{S}_4 + \text{Na}$ : 1852.44; enc.: 1852.38. Calc. para  $\text{C}_{69}\text{H}_{99}\text{N}_5\text{O}_{44}\text{S}_4 + \text{K}$ : 1868.42; enc.: 1868.37.

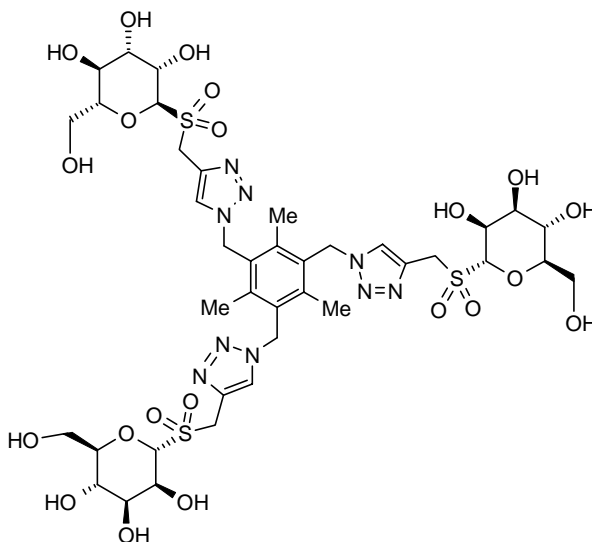
**Síntesis de 1-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\alpha$ -D-galactopiranosiloxietil)-1H-[1,2,3]-triazol (480)**

Una disolución de la azida **479** (52 mg, 0.125 mmol) y la glicosil vinilsulfona **429** (53 mg, 0.125 mmol) en 10 mL de mezcla 2-metil-2-propanol:acetonitrilo 2:1 es hecha reaccionar a temperatura de reflujo durante 24 h. tras lo cual el disolvente es evaporado y se purifica mediante cromatografía en columna (AcOEt) para dar 21 mg (36 %) de **480** en forma de sustancia siruposa:

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  7.69 (s, 1 H), 7.65 (s, 1 H), 5.39 (d, 1 H,  $J = 3.3$  Hz), 5.20 (dd, 1 H,  $J = 10.4$  y 8.0 Hz), 4.98 (dd, 1 H,  $J = 10.5$  y 3.4 Hz), 4.68 (ddd, 1 H,  $J = 14.5$ , 4.0 an 3.4 Hz), 4.55 (ddd, 1 H,  $J = 14.5$ , 9.0 y 3.3 Hz), 4.42 (d, 1 H,  $J = 8.0$  Hz), 4.27 (dt, 1 H,  $J = 10.2$  y 3.9 Hz), 4.20-4.05 (m, 2 H), 3.95-3.85 (m, 2 H), 2.16, 2.05, 1.98, 1.94 (4 s, 12 H);

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz):  $\delta$  170.4, 170.2, 170.1, 169.6, 133.7, 125.1, 101.0, 70.9, 70.6, 68.5, 67.9, 66.9, 49.9, 20.8, 20.7, 20.7, 20.6.

**Síntesis de 1,3,5-Tris[4'-( $\alpha$ -D-manopiranosilsulfonilmetil)-1H-[1',2',3']-triazol-1'-il-metil)-2,4,6-trimetilbenceno (481)**



A una disolución de **372** (224 mg, 0.227 mmol) en 6 mL de AcOH se le añaden 3 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, la mezcla se hace reaccionar durante 2 días a t. a. en ausencia de luz tras lo cual se evapora y el crudo es purificado mediante cromatografía en columna (AcOEt:metanol 1:4) para dar 125 mg (51 %) de **481** como sólido:

$[\alpha]_D +71^\circ$  (c 1, agua);

IR (KBr): 3401, 2930, 1603, 1403, 1310, 1111 cm<sup>-1</sup>;

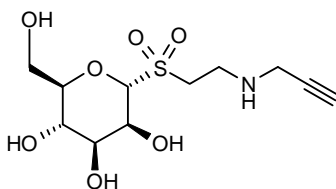
<sup>1</sup>H NMR (DMSO, 300 MHz):  $\delta$  8.07 (s, 3 H), 5.70 (s, 6 H), 5.45 (sa, 3 H), 5.08 (sa, 6 H), 5.0-4.9 (m, 3 H), 4.74 (d, 3 H,  $J = 14.7$  Hz), 4.53 (d, 3 H,  $J = 14.7$  Hz), 4.12 (sa, 3 H) 4.0-3.9 (m, 3 H), 3.7-3.6 (m, 6 H), 3.5-3.3 (m, 9 H), 2.41 (s, 9 H) ;

<sup>13</sup>C NMR(DMSO, 75 MHz):  $\delta$  139.4, 134.5, 130.7, 125.6, 90.4, 79.1, 71.1, 65.9, 64.6, 61.2, 48.5, 46.6, 16.3;

EMAR (m/z) (MALDI-TOF) calc. para C<sub>39</sub>H<sub>57</sub>O<sub>21</sub>N<sub>9</sub>S<sub>3</sub> + Na: 1106.27; enc.: 1106.2.

**Procedimiento general para la síntesis de los compuestos 436, 444, 454, 459, 466, 474 y 478**

A una disolución de los correspondientes glicoconjugados acetilados (0.2 mmol) en 10 mL de metanol se le añade 1 mL de Et<sub>3</sub>N. Tras finalizar la reacción el disolvente es evaporado a vacío y el crudo obtenido es purificado mediante cromatografía en columna para dar los correspondientes productos hidroxilados puros que fueron posteriormente liofilizados.

**1-Desoxi-1-[2'-(prop-2''-inilamino)-etanosulfonil]- $\alpha$ -D-manopiranososa (436)**

Cromatografía en columna (AcOEt:MeOH 2:1) permite obtener **436** como sólido delicuescente con un rendimiento del 67 %:

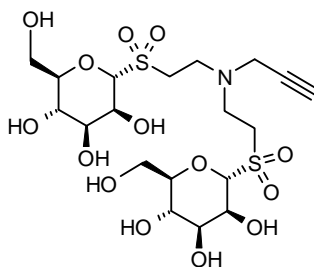
$[\alpha]_D +73^\circ$  (c 1, agua);

IR (KBr): 3392, 1311, 1115 cm<sup>-1</sup>;

<sup>1</sup>H RMN (DMSO-d<sub>6</sub>, 300 MHz):  $\delta$  5.33 (d, 1 H,  $J = 4.6$  Hz), 4.97 (m, 2 H), 4.92 (d, 1 H,  $J = 5.7$  Hz), 4.64 (sa, 1 H), 4.25 (sa, 1 H), 3.90 (ta, 1 H,  $J = 7.5$  Hz), 3.75-3.65 (m, 2 H), 3.5-3.4 (m, 3 H), 3.35-3.30 (m, 2 H), 3.25-3.15 (m, 1 H), 3.1-2.9 (m, 3 H), 2.24 (sa, 1 H);

<sup>13</sup>C RMN (DMSO-d<sub>6</sub>, 75 MHz):  $\delta$  92.2, 82.5, 78.9, 74.0, 71.2, 66.0, 61.4, 49.0, 40.9, 36.9;

EMAR (m/z) (FAB+) calc. para C<sub>11</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>7</sub>S + Na: 332.0780; enc.: 332.0778.

**Bis-[2-( $\alpha$ -D-manopiranosilsulfonil)-etil](prop-2'-inil)amina (444)**

Cromatografía en columna (AcOEt:MeOH 1:2) permite obtener **444** en un 60 % de rendimiento en forma de sólido delicuescente:

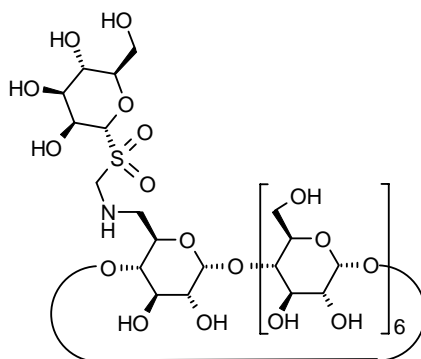
$[\alpha]_D +87^\circ$  (*c* 1, agua);

IR (KBr): 3416, 2932, 1304, 1112, 1025  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 300 MHz)  $\delta$ : 5.35 (d, 2 H,  $J = 4.4$  Hz), 4.98 (d, 2 H,  $J = 5.1$  Hz), 4.92 (s, 2 H), 4.65 (t, 2 H,  $J = 5.6$  Hz), 4.26 (s, 2 H), 4.00-3.80 (m, 2 H), 3.80-3.70 (m, 3 H), 3.60-3.20 (m, 14 H), 3.18 s, 1 H), 2.92 (t, 3 H,  $J = 7.0$  Hz);

$^{13}\text{C}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 75 MHz)  $\delta$ : 92.2, 78.8, 76.4, 71.1, 65.9, 64.8, 6.12, 47.4, 45.8, 41.1;

EMAR ( $m/z$ ) (FAB+) calc. para  $\text{C}_{19}\text{H}_{33}\text{O}_{14}\text{NS}_2 + \text{Na}$ : 586.1240; enc.: 586.1240.

**6A-Deoxi-6A-[[6-[2'-( $\alpha$ -D-manopiranosilsulfonil)-etil]amino]- $\beta$ -ciclodextrina (454)**

Cromatografía en columna (acetonitrilo:agua 2:1) permite obtener **454** como sólido con un 68 % de rendimiento:

P.F. >250°C;

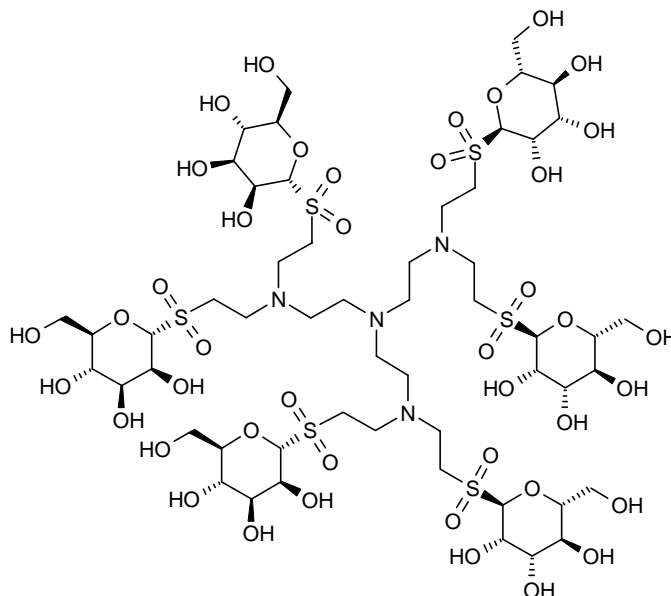
$[\alpha]_D +48^\circ$  (c 0.5, agua);

IR (KBr): 3410, 2930, 1155, 1111, 1080, 1031  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^{13}\text{C}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 100 MHz)  $\delta$ : 101.9, 91.9, 83.7, 82.9, 82.3, 82.1, 81.5, 81.3, 78.8, 73.0, 72.4, 72.2, 72.0, 71.1, 70.6, 65.9, 64.8, 61.3, 59.9, 49.7, 48.5, 42.2;

EMAR (m/z) (MALDI-TOF) calc. para  $\text{C}_{50}\text{H}_{85}\text{O}_{41}\text{NS} + \text{Na}$ : 1410.42; enc.: 1410.27.

**[2-(Bis-[2-[bis-(2-( $\alpha$ -D-manopiranosilsulfonil)-etil)-amino]-etil]-amino)-etil]-bis-(2-( $\alpha$ -D-manopiranosilsulfonil)-etil)-amina (459)**



Cromatografía en columna (acetonitrilo:agua 3:1 → 1:1) permite obtener **459** como sólido delicuescente con un 74 % de rendimiento:

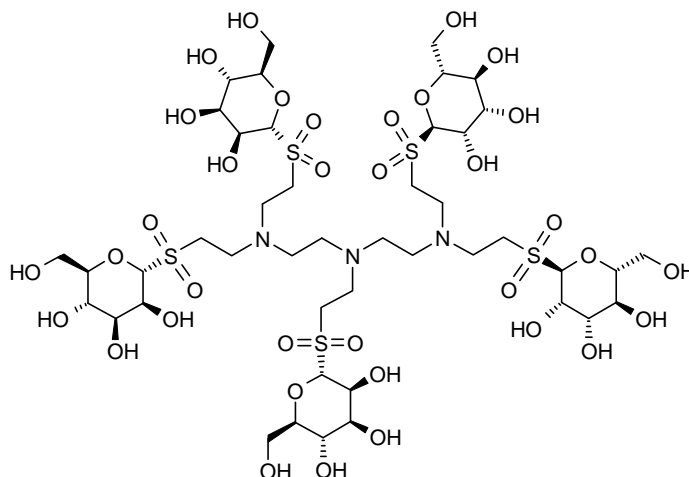
$[\alpha]_D +62^\circ$  (*c* 1, agua);

IR (KBr): 3426, 2923, 1290, 1151, 1093, 1025  $\text{cm}^{-1}$ ;

<sup>13</sup>C RMN (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 75 MHz):  $\delta$  92.1, 78.8, 71.1, 65.9, 64.8, 61.3, 52.1, 50.7, 46.9, 45.9;

EMAR (*m/z*) (MALDI-TOF) calc. para C<sub>54</sub>H<sub>102</sub>O<sub>42</sub>N<sub>4</sub>S<sub>6</sub> + Na: 1693.42; enc.: 1693.4.



**{2-[[2-[Bis-(2-( $\alpha$ -D-manopiranosilsulfonil)-etil)-amino]-etil]-2-( $\alpha$ -D-manopiranosil sulfonil)-etil)-amino]-etil}-bis-(2-( $\alpha$ -D-manopiranosilsulfonil)-etil)-amina (466)**

Cromatografía en columna (acetonitrilo:agua 3:1) permite obtener **466** como sólido delicuescente con un 88 % de rendimiento:

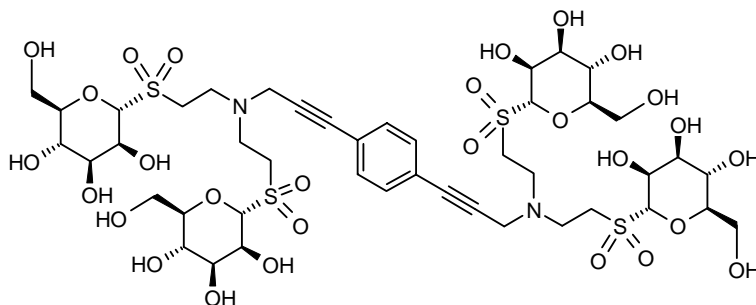
$[\alpha]_D^{+9}$  (c 0.5, agua);

IR (KBr): 3421, 1300, 1111  $\text{cm}^{-1}$ ;

<sup>13</sup>C RMN (DMSO, 75 MHz)  $\delta$ : 92.0, 78.7, 71.1, 65.9, 64.8, 61.2, 51.0, 50.3, 46.9, 46.6, 45.8;

EMAR (m/z) (MALDI-TOF) calc. para  $\text{C}_{44}\text{H}_{83}\text{O}_{35}\text{N}_3\text{S}_5 + \text{Na}$ : 1396.33; enc.: 1396.3.

**1,4-Bis[*N,N'*-bis-[2-( $\alpha$ -D-manopiranosilsulfonil)-etil]-3-aminopropin-1-il]-benceno (474)**



Cromatografía en columna (acetonitrilo:agua 4:1) permite obtener **474** como sólido con un 100 % de rendimiento:

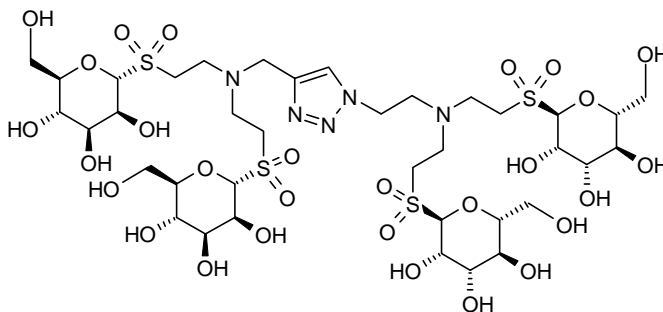
P.F. 133-135 °C;

IR (KBr): 3390, 2931, 1638, 1303, 1111  $\text{cm}^{-1}$ ;

$^1\text{H}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 300 MHz):  $\delta$  7.44 (s, 4 H), 5.37 (d, 4 H,  $J = 4.4$  Hz), 5.0-4.9 (m, 12 H), 4.67 (t, 4 H,  $J = 5.6$  Hz), 4.26 (sa, 4 H), 4.0-3.6 (m, 16 H), 3.6-3.2 (m, 16 H), 3.1-2.9 (m, 8 H);

$^{13}\text{C}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 75 MHz):  $\delta$  131.6, 122.2, 92.2, 86.6, 84.8, 78.8, 71.0, 65.9, 64.7, 61.2, 47.3, 46.0;

EMAR (m/z) (MALDI-TOF) calc. para  $\text{C}_{44}\text{H}_{68}\text{O}_{28}\text{N}_2\text{S}_4 + \text{Na}$ : 1223.27; enc.: 1223.17. Calc. para  $\text{C}_{44}\text{H}_{68}\text{O}_{28}\text{N}_2\text{S}_4 + \text{K}$ : 1239.25; enc.: 1239.14.

**1-{N,N-bis-[2-( $\alpha$ -D-manopiranosilsulfonil)etil]-2-aminoetil}-4-{N',N'-bis-[2-( $\alpha$ -D-manopiranosilsulfonil)etil] aminometil}-1H-[1,2,3]-triazol (478)**

Cromatografía en columna (acetonitrilo:agua 3:1) permite obtener **478** como sólido con un 86 % de rendimiento:

P.F. 138-140 °C;

$[\alpha]_D +29^\circ$  (c 0.5, agua);

IR (KBr): 3413, 2934, 1295, 1110  $\text{cm}^{-1}$ ;

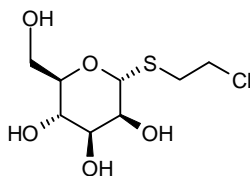
$^1\text{H}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 300 MHz):  $\delta$  (señales seleccionadas) 8.04 (s, 1 H);

$^{13}\text{C}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 75 MHz):  $\delta$  142.1, 124.4, 92.0, 78.8, 71.0, 65.8, 64.7, 61.3, 51.9, 47.1, 46.9, 46.3, 45.7, 45.4;

EMAR (m/z) (MALDI-TOF) calc. para  $\text{C}_{37}\text{H}_{67}\text{O}_{28}\text{N}_5\text{S}_4 + \text{Na}$ : 1180.28; enc.: 1180.2.

## Síntesis de glicoproteínas

### Síntesis de 2-cloroetil $\alpha$ -D-glucopiranosido (**482**)



A una disolución de **425** (3 g, 7.03 mmol) en 60 mL de metanol se le añaden 15 mL de  $\text{Et}_3\text{N}$ , la reacción se mantiene con agitación magnética a una temperatura de 40 °C durante 8 h. tras lo cual se evapora el disolvente y el crudo así obtenido se purifica mediante cromatografía en columna (AcOEt:MeOH 9:1) obteniéndose 1.56 g de **482** como sólido (86 %):

P.F. 88-90 °C;

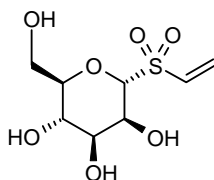
$[\alpha]_{\text{D}} -42^\circ$  (c 1, metanol);

$^1\text{H}$  RMN (MeOH- $d_4$ , 300 MHz):  $\delta$  4.42 (d, 1 H,  $J = 9.7$  Hz), 3.86 (dd, 1 H,  $J = 12.0$  y 1.2 Hz), 3.80-3.60 (m, 5 H), 3.18 (t, 1 H,  $J = 8.7$  Hz), 3.10 (ddd, 1 H,  $J = 14.0, 9.6$  y 6.0 Hz), 2.96 (ddd, 1 H,  $J = 13.9, 9.6$  y 6.2 Hz) ;

$^{13}\text{C}$  RMN (MeOH- $d_4$ , 75 MHz):  $\delta$  87.4, 82.1, 79.6, 74.4, 71.5, 62.9, 44.8, 33.7;

EMAR (m/z) (FAB+) Calc. para  $\text{C}_8\text{H}_{15}\text{ClO}_5\text{S} + \text{Na}$ : 281.0226; enc.: 281.0222.

### Síntesis de 2-etenil $\alpha$ -D-glucopiranosido S-dióxido (**483**)



Una disolución de **482** (1.56 g, 6.02 mmol) en 30 mL de AcOH y 15 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  se hacen reaccionar a t. a. en ausencia de luz durante 2 días, tras este periodo de tiempo el disolvente es liofilizado obteniéndose un crudo que es disuelto en 60 mL de acetona y al que se añaden 2.4 g (17.5 mmol) de  $\text{K}_2\text{CO}_3$ . Esta mezcla se hace reaccionar durante

8 h. a temperatura de reflujo tras lo que el disolvente se evapora y el crudo se purifica mediante cromatografía en columna (AcOEt:MeOH 10:1) obteniéndose un producto que es liofilizado para dar **483** como sustancia siruposa (0.5 g, 37 %):

$[\alpha]_D -8.9^\circ$ ,  $[\alpha]_{436} = -16^\circ$  (*c* 1, agua);

$^1\text{H}$  RMN (MeOH- $d_4$ , 300 MHz):  $\delta$  6.97 (dd, 1 H,  $J = 16.7$  y 10.0 Hz), 6.43 (d, 1 H,  $J = 16.7$  Hz), 6.30 (d, 1 H,  $J = 10.0$  Hz), 4.78 (s, 3 H), 4.34 (d, 1 H,  $J = 9.5$  Hz), 3.86 (dd, 1 H,  $J = 12.5$  y 2 Hz), 3.69 (t, 1 H,  $J = 9.1$  Hz), 3.68 (dd, 1 H,  $J = 12.6$  y 5.3 Hz), 3.45 (t, 1 H,  $J = 8.8$  Hz), 3.40 (ddd, 1 H,  $J = 9.6, 5.5$  y 2.1 Hz), 3.34 (s, 1 H), 3.31 (t, 1 H,  $J = 9.3$  Hz);

$^{13}\text{C}$  RMN (MeOH- $d_4$ , 75 MHz):  $\delta$  136.2, 132.4, 92.6, 82.8, 78.8, 71.0, 70.5, 62.4;

EMAR (m/z) (FAB +) calc. para  $\text{C}_8\text{H}_{14}\text{O}_7\text{S} + \text{Na}$ : 277.0358; enc.: 277.0356.

### Procedimiento para la glicosidación de lisozima

A una disolución de 25 mg (1.7  $\mu\text{mol}$ ) de lisozima en 0.45 mL de tampón fosfato 100 mM pH = 7.7 y 50  $\mu\text{L}$  de 2-propanol se le añaden 10.5 mg (41  $\mu\text{mol}$ ) de **483**. La reacción se mantiene durante 72 horas a t. a. Para eliminar el exceso de vinilsulfona y detener la reacción la mezcla de reacción es transvasada a una membrana de diálisis con un peso de corte nominal de 3500 Da (Spectrum) y dializada tres veces frente a un volumen total de 1500 mL de tampón acetato 20 mM pH = 4.5 (3 x 500 mL). La reacción es seguida cada 24 h. mediante electroforesis tanto nativa como SDS con un aparato BioRad en polaridad inversa y revelado con azul coomasie.

### Procedimiento para la glicosidación de taumatina

La reacción se lleva a cabo de la misma forma que la anterior partiendo de 12.5 mg (0.56  $\mu\text{mol}$ ) de taumatina y 5.1 mg (20  $\mu\text{mol}$ ) de **483**.

## Ensayos tipo ELLA

Los experimentos fueron realizados por triplicado y llevados a cabo empleando un medidor de densidad óptica Metertech  $\Sigma 960$ . Las placas de microvaloración (NUNC F96 Maxisorp) son incubadas con 100  $\mu\text{L}$ /celdilla de una disolución 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de

manano de *S. cerevisiae* en tampón PBS (10 mM pH 7.4) durante 2 h. a 37 °C. Tras lo cual las celdillas son lavadas dos veces con tampón PBS (10 mM, pH 7.4) conteniendo 0.5 % (v/v) de Tween 20 y una vez con tampón PBS (10 mM, pH 7.4). Este procedimiento de lavado es repetido tras cada periodo de incubación. Las celdillas son bloqueadas con 300 µL/celdilla de BSA al 1 % (p/v) en tampón PBS (10 mM, pH 7.4).

Por otro lado se prepara una serie de disoluciones del metil  $\alpha$ -D-manopiranosido empleado como inhibidor de referencia y también de los diferentes neoglicoconjugados en PBS (10 mM, pH 6.8, conteniendo 0.1 mM de  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$ ). A estas disoluciones se le añade un volumen igual de disolución ConA-HRP (5 µg/mL) en PBS (10 mM, pH 6.8, conteniendo 0.1 mM de  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$ ) y se incuban durante 1 hora. Tras lo cual las disoluciones de inhibidor son transferidas a las placas de microvaloración (100 µL/celdilla) e incubadas durante 2 horas a 37 °C.

Tras esto se añaden 50 µL/celdilla de una disolución de diclorhidrato de *o*-fenilendiamina (0.4 mg/mL) en tampón citrato-fosfato pH 5.0 conteniendo un 0.4 % de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Las placas son incubadas durante 30 min. a 37 °C tras lo que la reacción enzimática es detenida por adición de 50 µL/celdilla de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1.25 M. La densidad óptica (O.D.) es medida a una longitud de onda de 492 nm.

El porcentaje de inhibición para cada disolución de inhibidor fue calculado según la ecuación:

$$\% \text{Inhibición} = \frac{[D.O.(\text{sin inhibidor}) - D.O.(\text{con inhibidor})]}{D.O.(\text{sin inhibidor})} \times 100$$

Los resultados así obtenidos son ajustados según una regresión no lineal empleando el software Origin 6.1, a partir de esta regresión se obtienen los valores de concentración necesarios para obtener un 50 % de inhibición de la unión entre el manano que recubre las placas de microvaloración y la lectina ConA-HRP ( $\text{IC}_{50}$ ).

La afinidad relativa de cada uno de los neoglicoconjugados es calculada empleando como referencia el valor de  $\text{IC}_{50}$  de metil  $\alpha$ -D-manopiranosido según la expresión:

$$\text{Afinidad relativa} = \frac{\text{IC}_{50}(\text{Me - man})}{\text{IC}_{50}(\text{inhibidor})}$$

---

La afinidad relativa por resto de azúcar se calcula como relación entre la afinidad relativa del neoglicoconjugado y el número de restos de manosa del mismo.





**Anexo I:**  
**Referencias**



- 1a Taylor, M. E.; Drickamer, K. *Introduction to Glycobiology*, Oxford University Press Inc., New York, **2003**.
- 1b *Essentials of Glycobiology* ( Varki, A.; Cummings, R.; Esko, J.; Freeze, H.; Hart, G.; Marth, J. eds.) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, **1999**.
- 1c Dwek, R. A. *Chem. Rev.* **1996**, 96, 683-720.
- 2 Lis, H.; Sharon, N. *Chem.Rev.*, **1998**, 98, 637-674.
- 3 Smith, A. E.; Helenius, A. *Science* **2004**, 304, 237-242.
- 4 Karlsson, K.-A. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1995**, 5, 622-635.
- 5 Skehel, J. J.; Wiley, D. C. *Annu. Rev.Biochem.* **2000**, 69, 531-569.
- 6 Sharon, N.; Lis, H. *Science* **1989**, 246, 227-234.
- 7 Brewer, C. F.; Miceli, M. C.; Baum, L. G. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2002**, 12, 616-623.
- 8 Hughes, R. C. *Biochimie* **2001**, 83, 667-676.
- 9 Liu, F.-T. *Clin. Immunol.* 2000, 97, 79-88.
- 10 Powell, L. *Essentials of Glycobiology* ( Varki, A.; Cummings, R.; Esko, J.; Freeze, H.; Hart, G.; Marth, J. eds.) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, **1999**, 363-378.
- 11 Crocker, P. R. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2002**, 12, 609-615.
- 12 McEver, R. P. *Curr. Opin. Cell. Biol.* **2002**, 14, 581-586.
- 13 Simanek, E. E.; McGarvey, G. J.; Jablonowski, J. A.; Wong, C.-H. *Chem. Rev.* **1998**, 98, 833-862.
- 14 Helenius, A.; Aebi, M. *Science* **2001**, 291, 2364-2369.
- 15 Dam, T. K.; Brewer, C. F. *Chem. Rev.* **2002**, 102, 387-429.
- 16 Rini, J. N. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **1995**, 24, 551-577.
- 17 Loris, R.; Hamelryck, T.; Bouckaert, J.; Wyns, L. *Biochim. Biophys. Acta* **1998**, 1383, 9-36.
- 18 Naismith, J. H.; Field, R. A. *J. Biol. Chem.* **1996**, 271, 972-976.
- 19 Lee, Y. C.; Lee, R.T. *Acc. Chem. Res.* **1995**, 28, 321-327.
- 20 Lee, R. T.; Lee, Y. C. en *Neoglycoconjugates: Preparation and Applications* (Lee, Y. C.; Lee, R. T. eds) Academic Press Inc., San Diego, California, **1994**, 23-50.
- 21 Lee, Y. C. *Biochem. Soc. Trans.* **1993**, 21, 460-463.
- 22a Fan, J.-Q.; Quesenberry, M. S.; Takegawa, K.; Iwahara, S.; Kondo, A.; Kato, I.; Lee, Y.C. *J. Biol. Chem.* **1995**, 270, 17730-17735.
- 22b Quesenberry, M. S.; Lee, R. T.; Lee, Y.C. *Biochem.* **1997**, 36, 2724-2732.
- 23 Roy, R.; Pagé, D.; Perez, D. F.; Bencomo, V.V. *Glycoconjugate J.* **1998**, 15, 251-263.
- 24 Lee, R. T.; Lee, Y. C. *Glycoconjugate J.* **2000**, 17, 543-551.

- 25 Kiessling, L. L.; Gestwicki, J. E.; Strong, L. E. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2000**, *4*, 696-703.
- 26 Pohl, N. L.; Kiessling, L. L. *Synthesis* **1999**, 1515-1519.
- 27 Yi, D.; Lee, R. T.; Longo, P.; Boger, E. T.; Lee, Y. C.; Petri Jr., W. A.; Schnaar, R. L. *Glycobiology* **1998**, *8*, 1037-1043.
- 28 Saccettini, J. C.; Baum, L. G.; Brewer, C. F. *Biochem.* **2001**, *40*, 3009-3015.
- 29a Mulder, A.; Huskens, J.; Reinhoudt, D. N. *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 3409-3424.
- 29b Houseman, B. T.; Mrksich, M. *Topics Curr. Chem.* **2002**, *218*, 1-44.
- 30 Mammen, M.; Choi, S.-K.; Witesides, G. M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2754-2794.
- 31 Lundquist, J. J.; Toone, E. J. *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 555-578.
- 32a *Neoglycoconjugates: Preparation and Applications* (Lee, Y. C.; Lee, R. T. eds) Academic Press Inc., San Diego, California, **1994**.
- 32b Choi, S.-K. *Synthetic Multivalent Molecules: concepts and biomedical applications* John Wiley and Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, **2004**.
- 32c Roy, R. *Trends Glycosci. Gly.* **2003**, *15*, 291-310.
- 32d Turnbull, W. B.; Stoddart, J. F. *Rev. Mol. Biotechnol.* **2002**, *90*, 231-255.
- 32e Fulton, D. A.; Stoddart, J. F. *Bioconj. Chem.* **2001**, *12*, 655-672.
- 32f Ortiz Mellet, C.; Defaye, J.; García Fernández, J. M. *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 1982-1990.
- 32g Ladmiral, V.; Melia, E.; Haddleton, D. M. *Eur. Polym. Chem.* **2004**, *40*, 431-449.
- 32h Okada, M. *Prog. Polym. Sci.* **2001**, *26*, 67-104.
- 32i Davis, B. G. *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 579-601.
- 33 Collins, B. E.; Paulson, J. C. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2004**, *8*, 617-625.
- 34a Biessen, E. A. J.; Beuting, D. M.; Roelen, H. C. P. F.; van de Marel, G. A.; van Boom, J. H.; van Berkel, T. J. C. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 1538-1546.
- 34b Biessen, E. A. J.; Boxterman, H.; van Boom, J. H.; van Berkel, T. J. C. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 1846-1852.
- 34c Sliedregt, L. A. J. M.; Rensen, P. C. N.; Rump, E. T.; van Santbrink, P. J.; Bijsterbosch, M. K.; Valentijn, A. R. P. M.; van der Marel, G. A.; van Boom, J. H.; van Berkel, T. J. C.; Biessen E. A. L. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 609-618.
- 35 Vaino, A. R.; Depew, W. T.; Szarek, W. A. *Chem. Commun.* **1997**, 1871-1872.
- 36 Lindhorst, T. K.; Dubber, M.; Krallmann-Wenzel, U.; Ehlers, E. *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 2027-2034.
- 37a Liu, B.; Roy, R. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **2001**, 773-779.
- 37b André, S.; Liu, B.; Gabius, H.-J.; Roy, R. *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 3909-3916.
- 38 Liu, B.; Roy, R. *Chem. Commun.* **2002**, 594-595.

- 39 Hanessian, S.; Huynh, H. K.; Reddy, G. V.; Duthaler, R. O.; Katopodis, A.; Streiff, M. B.; Kinzy, W.; Oehrlein, R. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 3281-3290.
- 40 Kalovidouris, S. A.; Blixt, O.; Nelson, A.; Vidal, S.; Turnbull, W.B.; Paulson, J. C.; Stoddart, J. F. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 8485-8493.
- 41 Gómez-García, M.; Benito, J. M.; Rodríguez-Lucena, D.; Yu, J.-X.; Chmurski, K.; Ortiz Mellet, C.; Gutiérrez Gallego, R.; Maestre, A.; Defaye, J.; García-Fernández, J. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 7970-7971.
- 42 Calvo-Flores, F. G.; Isac-García, J.; Hernández Mateo, F.; Pérez-Balderas, F.; Calvo-Asín, J. A.; Sanchez-Vaquero, E.; Santoyo-González, F. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 2499-2502.
- 43a André, S.; Cejas Ortega, P. J.; Alaminio Perez, M.; Roy, R.; Gabius, H.-J. *Glycobiology* **1999**, *9*, 1253-1261.
- 43b Baek, M.-G.; Rittenhouse-Olson, K.; Roy, R. *Chem. Commun.* **2001**, 257-258.
- 43c Woller, E. K.; Cloninger, M. J. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 7-10.
- 44 Kensinger, R. D.; Yowler, B. C.; Benesi, A. J.; Schengrund, C.-L. *Bioconjugate Chem.* **2004**, *15*, 349-358.
- 45 Tomalia, D. A. *Aldrichim. Acta* **2004**, *37*, 39-57.
- 46a Lindhorst, T.K.; Kieburg, C. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 1953-1956.
- 46b Bezouska, K.; Kren, V.; Kieburg, C.; Lindhorst, T. K. *FEBS Lett.* **1998**, *426*, 243-247.
- 46c Zanini, D.; Roy, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 2088-2095.
- 47a Zanini, D.; Roy, R. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 7348-7354.
- 47b Llinares, M.; Roy, R. *Chem. Commun.* **1997**, 2119-2120.
- 48a Kieburg, C.; Lindhorst, T. K. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 3885-3888.
- 48b Turnbull, W. B.; Kalovidouris, S. A.; Stoddart, J. F. *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 2988-3000.
- 48c Kalovidouris, S. A.; Turnbull, W. B.; Stoddart, J. F. *Can. J. Chem.* **2002**, *80*, 983-991.
- 48d Ichikawa, Y.; Nishiyama, T.; Isobe, M. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 2621-2627.
- 48e Ichikawa, Y.; Matsukawa, Y.; Nishiyama, T.; Isobe, M. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 586-591.
- 49 König, B.; Fricke, T.; Wassmann, A.; Krallmann-Wenzel, U.; Lindhorst, T. K. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 2307-2310.
- 50a Fan, E.; Zhang, Z.; Minke, W. E.; Hou, Z.; Verlinde, C. L. M. J.; Hol, W. G. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 2663-2664.
- 50b Zhang, Z.; Pickens, J. C.; Hol, W. G. J.; Fan, E. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 1377-1380.
- 51 André, J. P.; Geraldés, C. F.G.C.; Martins, J. A.; Merbasch, A. E.; Prata, M. I. M.; Santos, A. C.; Lima, J. J. P.; Tóth, E. *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 5804-5816.

- 52 Roy, R.; Das, S. K.; Santoyo-González, F.; Hernandez-Mateo, F.; Dam, T. K.; Brewer, C. F. *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 1757-1762.
- 53 Kort, M.; Correa, V.; Valentijn, A. R. P. M.; van der Marel, G. A.; Potter, B. V. L.; Taylor, C. W.; van Boom, J. H. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 3295-3303.
- 54 Sengupta, S.; Sadhukhan, S. K. *Carbohydr. Res.* **2001**, *332*, 215-219.
- 55 Jayaraman, N.; Stoddart, J. F. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 6767-6770.
- 56 Ashton, P. R.; Hounsell, E. F.; Jayaraman, N.; Nilsen, T. M.; Spencer, N.; Stoddart, J. F.; Young, M. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 3429-3437.
- 57 Dimick, S. M.; Powell, S. C.; McMahan, S. A.; Moothoo, D. N.; Naismith, J. H.; Toone, E. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 10286-10296.
- 58 McWatt, M.; Boons, G.-J. *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 2535-2545.
- 59 André, S.; Pieters, R. J.; Vrasidas, I.; Kalner, H.; Kuwabara, I.; Liu, F.-T.; Liskamp, R. M. J.; Gabius, H.-J. *ChemBioChem* **2001**, *2*, 822-830.
- 60 Roy, R.; Park, W. K. C.; Wu, Q.; Wang, S.-N. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 4377-4380.
- 61 Barberá, J.; Garcés, A. C.; Jayaraman, N.; Omenat, A.; Serano, J. L.; Stoddart, J. F. *Adv. Mater.* **2001**, *13*, 175-180.
- 62 Tosin, M.; Müller-Bunz, H.; Murphy, P. V. *Chem. Commun.* **2004**, 494-495.
- 63 Thoma, G.; Katopodis, A. G.; Voelcker, N.; Duthaler, R. O.; Streiff, M. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 3195-3198.
- 64a Kaufman, R. J.; Sidhu, R. S. *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 4941-4947.
- 64b Roy, R.; Das, S. K.; Dominique, R.; Trono, C.; Hernández-Mateo, F.; Santoyo-González, F. *Pure Appl. Chem.* **1999**, *71*, 565-571.
- 65a Sakai, S.; Shigemasa, Y.; Sasaki, T. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 8145-8148.
- 65b Hasegawa, T.; Yonemura, T.; Matsuura, K.; Kobayashi, K. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 3898-3992.
- 65c Hasegawa, T.; Yonemura, T.; Matsuura, K.; Kobayashi, K. *Bioconjugate Chem.* **2003**, *14*, 728-737.
- 65d Roy, R.; Kim, J. M. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 3881-3893.
- 66 Gan, Z.; Roy, R. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 1155-1158.
- 67 Roy, R.; Das, S. K.; Hernández-Mateo, F.; Santoyo-González, F.; Gan, Z. *Synthesis* **2001**, 1049-1052.
- 68 Dominique, R.; Das, S. K.; Roy, R. *Chem. Commun.* **1998**, 2437-2438.
- 69 Dominique, R.; Roy, R. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 395-398.
- 70a Dubber, M.; Lindhorst, T. K. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 5275-5281.
- 70b Dubber, M.; Lindhorst, T. K. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 4019-4022.
- 70c Dubber, M.; Lindhorst, T. K. *J. Carbohydr. Chem.* **2001**, *20*, 755-760.

- 70d Köhn, M.; Benito, J. M.; Ortiz Mellet, C.; Lindhorst, T. K.; García Fernández, J. M. *ChemBioChem* **2004**, *5*, 771 – 777.
- 71 Sadalapure, K.; Lindhorst, T. K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 2010-2013.
- 72 Kitov, P. I.; Sadowska, J. M.; Mulvey, G.; Armstrong, G. D.; Ling, H.; Pannu, N. S.; Read, R. J.; Bundle, D. R. *Nature* **2000**, *403*, 669-672.
- 73a Fugedi, P.; Nanasi, P.; Szejtli, J. *Carbohydr. Res.* **1988**, *175*, 173-181.
- 73b Defaye, J.; Gabelle, A.; Guiller, A.; Darcy, R.; O'Sullivan, T. *Carbohydr. Res.* **1989**, *192*, 251-258.
- 73c Cottaz, S.; Driguez, H. *Synthesis* **1989**, 755-758.
- 74 Parrot-Lopez, H.; Leary, E.; Coleman, A. W. *Supramol. Chem.* **1993**, *3*, 37-42.
- 75 de Robertis, L.; Lancelon-Pin, C.; Driguez, H.; Attioui, F.; Bonaly, R.; Marsura, A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1994**, *4*, 1127-1130.
- 76 Lainé, V.; Coste-Sarguet, A.; Gabelle, A.; Defaye, J.; Perly, B.; Djedaïni-Pilard, F. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1995**, 1479-1487.
- 77 Fulton, D. A.; Pease, A. R.; Stoddart, J. F. *Isr. J. Chem.* **2000**, *40*, 325-333.
- 78 Ortiz-Mellet, C.; Benito, J. M.; García Fernández, J. M.; Law, H.; Chmurski, K.; Defaye, J.; O'Sullivan, M. L.; Caro, H. N. *Chem. Eur. J.* **1998**, *4*, 2523-2531.
- 79 Furuike, T.; Aiba, S. *Chem. Lett.* **1999**, 69-70.
- 80 Furuike, T.; Aiba, S.; Nishimura, S.-I. *Tetrahedron* **2000**, *56*, 9909-9915.
- 81 Furuike, T.; Sadamoto, R.; Niikura, K.; Monde, K.; Sakairi, N.; Nishimura, S.-I. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 1737-1742.
- 82 Sallas, F.; Niikura, K.; Nishimura, S.-I. *Chem. Commun.* **2004**, 597-597.
- 83 García-López, J. J.; Hernández-Mateo, F.; Isac-García, J.; Kim, J. M.; Roy, R.; Santoyo-González, F.; Vargas-Berenguel, A. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 522-531.
- 84 García-López, J. J.; Santoyo-Gonzalez, F.; Vargas-Berenguel, A.; Giménez-Martínez, J. J. *Chem. Eur. J.* **1999**, *5*, 1775-1784.
- 85 Ortega-Caballero, F.; Giménez-Martínez, J. J.; García-Fuentes, L.; Ortiz-Salmerón, E.; Santoyo-González, F.; Vargas-Berenguel, A. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 7786-7795.
- 86 Vargas-Berenguel, A.; Ortega-Caballero, F.; Santoyo-González, F.; García-López, J. J.; Giménez-Martínez, J. J.; García-Fuentes, L.; Ortiz-Salmeron, E. *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 812-827.
- 87 Roy, R.; Hernández-Mateo, F.; Santoyo-González, F. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 8743-8746.
- 88 Ortega-Caballero, F.; Giménez-Martínez, J. J.; Vargas-Berenguel, A. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 2389-2392.
- 89a Fulton, D. A.; Stoddart, J. F. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 1113-1116.
- 89b Fulton, D. A.; Stoddart, J. F. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 8309-8319.

- 90 Mazzaglia, A.; Forde, D.; Garozzo, D.; Malvagana, P.; Ravoo, B. J.; Darcy, R. *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 957-960.
- 91 Lancelon-Pin, C.; Driguez, H. *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 3125-3128.
- 92a Baussanne, I.; Benito, J. M.; Ortiz Mellet, C.; García Fernández, J. M.; Law, H.; Defaye, J. *Chem. Commun.* **2000**, 2741-2742.
- 92b Benito, J. M.; Gómez-García, M.; Ortiz Mellet, C.; Maussanne, I.; Defaye, J.; García Fernández, J. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 10355-10363.
- 93 Roy, R.; Kim, J. M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 369-372.
- 94 Fujimoto, T.; Shimizu, C.; Hayashida, O.; Aoyama, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 6676-6677.
- 95a Marra, A.; Scherrmann, M.-C.; Dondoni, A.; Casnati, A.; Minari, P.; Ungaro, R. *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.* **1994**, *33*, 2479-2481.
- 95b Dondoni, A.; Marra, A.; Scherrmann, M.-C.; Casnati, A.; Sansone, F.; Ungaro, R. *Chem. Eur. J.* **1997**, *3*, 1774-1782.
- 95c Dondoni, A.; Kleban, M.; Hu, X.; Marra, A. Banks, H. D. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 4722-4733.
- 96a Marra, A.; Dondoni, A.; F. Sansone *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 5155-5158.
- 96b Dondoni A.; Marra, A. *Chem. Commun.* **1999**, 2133-2145.
- 97 Dondoni, A.; Kleban, M.; Marra, A. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 7801-7804.
- 98 Félix, C.; Parrot-López, H.; Kalchenko V.; Coleman, A. W. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 9171-9174.
- 99 Meunier, S. J. ; Roy, R. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 5469-5472.
- 100 Budka, J.; Tkadlecová, M.; Lhoták, P.; Stibor, I. *Tetrahedron* **2000**, *56*, 1883-1887.
- 101 Pérez-Balderas, F.; Santoyo-González, F. *Synlett* **2001**, 1699-1702.
- 102 Saitz-Barria, C.; Torres-Pinedo, A.; Santoyo-Gonzalez, F. *Synlett* **1999**, 1891-1894.
- 103 Sansone, F.; Chierici, E.; Casnati, A.; Ungaro, R. *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 1802-1809.
- 104 Consoli, G. M. L.; Cunsolo, F.; Geraci, C.; Mecca, T.; Neri, P. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 7467-7470.
- 105 Consoli, G. M. L.; Cunsolo, F.; Geraci, C.; Sgarlata, V. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 4163-4166.
- 106 Hayashida, O.; Nishiyama, K.; Matsuda, Y.; Aoyama Y. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 3407-3410.
- 107 Ashton, P. R.; Balzani, V.; Clemente-León, M.; Colonna, B.; Credi, A.; Jayaraman, N.; Raymo, F. M.; Stoddar, J. F.; Venturi, M. *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 673-684.
- 108 Casas-Solvas, J. M.; Vargas-Berenguel, A.; Capitán-Vallvey, L. F.; Santoyo-González, F. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3687-3690.



- 109 Ballardini, R.; Colonna, B.; Gandolfi, M. T.; Kalovidouris, S. A.; Orzel, L.; Raymo, F. M.; Stoddart, J. F. *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 288-294.
- 110a Matsuoka, K.; Terabatake, M.; Esumi, Y.; Terunuma, D.; Kuzuhara, H. *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 7839-7842.
- 110b Matsuoka, K.; Kurosawa, H.; Esumi, Y.; Terunuma, D.; Kuzuhara, H. *Carbohydr. Res.* **2000**, 329, 765-772.
- 110c Matsuoka, K.; Oka, H.; Koyama, T.; Esumi, Y.; Terunuma, D. *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42, 3327-3330.
- 110d Matsuoka, K.; Ohtawa, T.; Hinou, H.; Koyama, T.; Esumi, Y.; Nishimura, S.-I.; Hatano, K.; Terunuma, D. *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 3617-3620.
- 111a Feher, F. J.; Wyndham, K. D.; Knauer, D. J. *Chem. Commun.* **1998**, 2393-2394.
- 111b Gao, Y.; Eguchi, A.; Kakehi, K.; Lee, Y. C. *Org. Lett.* **2004**, 6, 3457-3460.
- 112a Cardullo, F.; Diederich, F.; Echegoyen, L.; Habicher, T.; Jayaraman, N.; Leblanc, R. M.; Stoddart, J. F.; Wang, S. *Langmuir* **1998**, 14, 1955-1959.
- 112b Isobe, H.; Mashima, H.; Yorimitsu, H.; Nakamura, E. *Org. Lett.* **2003**, 5, 4461-4463.
- 113 Himoto, F.; Lovell, T.; Hilgraf, R.; Rostovtsev, V. V.; Noodleman, L.; Sharpless, K. B.; Fokin, V. V. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 210-216.
- 114 Sammelson, R. E.; Miller, R. B.; Kurth, M. J. *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 2225-2228.
- 115 Basel, Y.; Hassner, A. *Synthesis* **1997**, 309-312.
- 116 Li, C.-S.; Lacasse, E. *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 3565-3568.
- 117 Giacomelli, G.; De Luca, L.; Porcheddu, A. *Tetrahedron* **2003**, 59, 5437-5440.
- 118 Grundmann, C.; Dean, J. M. *J. Org. Chem.* **1965**, 30, 2809-2812.
- 119 Mukaiyama, T.; Hoshino, T. *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, 82, 5339-5342.
- 120 Kantorowski, E. J.; Brown, S. P.; Kurth, M. J. *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 5272-5274.
- 121 Bachman, G. B.; Strom, L. E. *J. Org. Chem.* **1963**, 28, 1150-1152.
- 122 Yoshioka, T.; Yamamoto, K.-I.; Shimauchi, Y.; Fukagawa, Y.; Ishikura, T. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1984**, 1513-1514.
- 123 Shimizu, T.; Hayashi, Y.; Shibafuchi, H.; Teramura, K. *Bull. Chem. Soc. Jap.* **1986**, 59, 2827-2831.
- 124 Shimizu, T.; Hayashi, Y.; Teramura, K. *Bull. Chem. Soc. Jap.* **1984**, 57, 2531-2534.
- 125 Maugein, N.; Wagner, A.; Mioskowski, C. *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 1547-1550.
- 126 Syassi, B.; Bougrin, K.; Soufiaoui, M. *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 8855-8858.
- 127 Kumaran, G.; Kulkarni, G. H. *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 1516-1520.
- 128a Huisgen, R.; Mack, W.; Anneser, E. *Angew. Chem.* **1961**, 73, 656-657.
- 128b Bast, K.; Christl, M.; Huisgen, R.; Mack, W.; Sustman, R. *Chem. Ber.* **1973**, 106, 3258-3274.
- 129 Lenaers, R.; Eloy, F. *Helv. Chim. Acta* **1963**, 46, 1067-1073.

- 130 Kanemasa, S.; Kobayashi, S.; Nishiuchi, M.; Yamamoto, H.; Wada, E. *Tetrahedron Lett.* **1991**, *44*, 6367-6370.
- 131 Moriya, O.; Urata, Y.; Endo, T. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1991**, 17-18.
- 132 Grundmann, C.; Richter, R. *J. Org. Chem.* **1968**, *33*, 476-478.
- 133 Hassner, A.; Rai, K. M. L. *Synthesis* **1989**, 57-59.
- 134 De la Cruz, P.; Espildora, E.; García, J. J.; De la Hoz, A.; Langa, F.; Martín, N.; Sánchez, L. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 4889-4892.
- 135 Tronchet, J. M. J.; Perret, F. *Carbohydr. Res.* **1974**, *38*, 169-175.
- 136 Tronchet, J. M. J.; Gonzalez, A.; Zumwald, J. B.; Perret, F. *Helv. Chim. Acta* **1974**, *57*, 1505-1510.
- 137 Horton, D.; Tsai, J.-H. *Carbohydr. Res.* **1978**, *67*, 357-370.
- 138 Kozikowski, A. P.; Goldstein, S. *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 1139-1141.
- 139a Dawson, I. M.; Johnson, T.; Paton, R. M.; Rennie, R. A. C. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1988**, 1339-1340.
- 139b Paton, R. M.; Young, A. A. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1997**, 629-635.
- 139c Baker, K. W. J.; Gibb, A.; March, A. R.; Paton, R. M. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 4065-4068.
- 139d Baker, K. W. J.; March, A. R.; Paton, R. M.; Stewart, G. W. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 8505-8513.
- 140 Dondoni, A.; Giovannini, P. P.; Massi, A. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 2929-2932.
- 141 Ghorai, S.; Mukhopadhyay, R.; Kundu, A. P.; Bhattachariya, A. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 2999-3012.
- 142 Pal, A.; Bhattacharjee, A.; Bhattachariya, A. *Synthesis* **1999**, 1569-1572.
- 143 Mereyala, H. B.; Gurralla, S. R. *Carbohydr. Res.* **1998**, *307*, 351-354.
- 144a Sowden, J. C.; Bowers, C. H.; Hough, L.; Shute, S. H. *Chem. Ind. (London)* **1962**, 1827-1828.
- 144b Foertsch, A.; Kogelberg, H.; Koell, P. *Carbohydr. Res.* **1987**, *164*, 391-402.
- 145 Garegg, P. J.; Kvarnström, I. *Acta Chem. Scand.* **1977**, *B31*, 509-513.
- 146 Kim, B. H.; Jeong, E. J.; Hwang, G. T.; Venkatesan, N. *Synthesis* **2001**, 2191-2002.
- 147 Kilway, K. V.; Siegel, J. S. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 3615-3627.
- 148 Bartra, M.; Romea, P.; Urpí, F.; Vilarrasa, J. *Tetrahedron* **1990**, *46*, 587-594.
- 149 Bertozzi, C.; Bednarski, M. *Carbohydr. Res.* **1992**, *223*, 243-253.
- 150 Scriven, E. F. V.; Turnbull, K. *Chem. Rev.* **1988**, *88*, 297-368.
- 151 Köhn, M.; Breinbauer, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 3106-3116.
- 152 Hang, H. C.; Bertozzi, C. R. *Acc. Chem. Res.* **2001**, *34*, 727-736.
- 153 Saxon, E.; Bertozzi, C. R. *Science* **2000**, *287*, 2007-2010.
- 154 Saxon, E.; Armstrong, J. I.; Bertozzi, C. R. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 2141-2143.

- 155 Nilsson, B. L.; Kiessling, L. L.; Raines, R. T. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 9-12.
- 156 Trost, B. M.; Pearson, W. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 2483-2485.
- 157 L'abbé, G. *Chem. Rev.* **1969**, *69*, 345-363.
- 158 Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004-2021.
- 159 Hlasta, D. J.; Ackerman, J. H. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 6184-6189.
- 160 Wijnen, J. W.; Steiner, R. A.; Engberts, J. B. F. N. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 5389-5392.
- 161 Wang, Z.-X.; Qin, H.-L. *Chem. Commun.* **2003**, 2450-2451.
- 162 Mock, W. L.; Irra, T. A.; Wepsiec, J. P.; Adhya, M. J. *Org. Chem.* **1989**, *54*, 5302-5308.
- 163 Krasia, T. C.; Steinke, J. H. G. *Chem. Commun.* **2002**, 22-23.
- 164 Tuncel, D.; Steinke, J. H. G. *Chem. Commun.* **2002**, 496-497.
- 165 Chen, J.; Rebeck, J., Jr. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 327-329.
- 166 Zanirato, P. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1991**, 2789-2796.
- 167 Melai, V.; Brillante, A.; Zanirato, P. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1998**, 2447-2449.
- 168 Howell, S. J.; Spencer, N.; Philp, D. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 4945-4954.
- 169 Hager, C.; Miethchen, R.; Reinke, H. *J. Fluor. Chem.* **2000**, *104*, 135-142.
- 170a Lewis, W. G.; Green, L. G.; Grynszpan, F.; Radic, Z.; Carlier, P. R.; Taylor, P.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 1053-1057.
- 170b Manetsch, R.; Krasinski, A.; Radic, Z.; Raushel, J.; Taylor, P.; Sharpless, K. B.; Kolb, H. C. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 12809-12818.
- 170c Krasinski, A.; Radic, Z.; Manetsch, R.; Raushel, J.; Taylor, P.; Sharpless, K. B.; Kolb, H. C. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 6686-6692.
- 171 Kasinski, A.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 1237-1240.
- 172 Tornøe, C. W.; Christensen, C.; Meldal, M. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057-3064.
- 173 Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596-2599.
- 174 Pérez-Balderas, F.; Ortega-Muñoz, M.; Morales-Sanfrutos, J.; Hernández-Mateo, F.; Calvo-Flores, F. G.; Calvo-Asín, J. A.; Isac-García, J.; Santoyo-González, F. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 1951-1954.
- 175 Feldman, A. K.; Colasson, B.; Fokin, V. V. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3897-3899.
- 176 Appukkuttan, P.; Dehaen, W.; Fokin, V. V.; Van der Eycken, E. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 4223-4225.
- 177 Houk, K. N.; González, J.; Li, Y. *Acc. Chem. Res.* **1995**, *28*, 81-90.
- 178 Norris, P.; Horton, D.; Levine, B. R. *Heterocycles* **1996**, *43*, 2643-2656.
- 179 Ewing, D. F.; Goethals, G.; Mackenzie, G.; Martin, P.; Ronco, G.; Vanbaelinghen, L.; Villa, P. *J. Carbohydr. Chem.* **1999**, *18*, 441-450.

- 180 Talekar, R. R.; Wightman, R. H. *Tetrahedron* **1997**, *53*, 3831-3842.
- 181 Hoffmann, B.; Bernet, B.; Vasella, A. *Helv. Chim. Acta* **2002**, *85*, 265-287.
- 182 Bodine, K. D.; Gin, D. Y.; Gin, M. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 1638-1639.
- 183a Al-Masoudi, N. A.; Al-Soud, Y. A. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 4021-4022.
- 183b Al-Masoudi, N. A.; Al-Soud, Y. A. *Nucleos. Nucleot.* **2002**, *21*, 361-375.
- 184 Bröder, W.; Kunz, H. *Synlett* **1990**, 251-252.
- 185 Bröder, W.; Kunz, H. *Carbohydr. Res.* **1993**, *249*, 221-241.
- 186 Bröder, W.; Kunz, H. *Bioorg. Med. Chem.* **1997**, *5*, 1-19.
- 187 Moore, M.; Norris, P. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 7027-7030.
- 188 Fazio, F.; Bryan, M. C.; Blixt, O.; Paulson, J. C.; Wong, C.-H. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 14397-14402.
- 189 Kuijpers, B. H. M.; Groothuys, S.; Keereweer, A. R.; Quaedflieg, P. J. L. M.; Blaauw, R. H.; van Delft, F. L.; Rutjes, F. P. J. T. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3123-3126.
- 190 Lin, H.; Walsh, C. T. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 13998-14003.
- 191 Billing, J. F.; Nilsson, U. J. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 4847-4850.
- 192 Ballell, L.; Alink, K. J.; Slijper, M.; Versluis, C.; Liskamp, R. M. J.; Pieters, R. J. *ChemBioChem* **2005**, *6*, 291-295.
- 193 Chittaboina, S.; Xie, F.; Wang, Q. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 2331-2336.
- 194 Bezouska, K. *Rev. Mol. Biotech.* **2002**, *90*, 269-290.
- 195 Theocharis, A. B.; Alexandrou, N. E.; Terzis, A. *J. Heterocycl. Chem.* **1990**, *27*, 1741-1744.
- 196 Gilbert, E. E. Patent N° US-138, 1984 USA (CA: 106:158921).
- 197a Boger, J.; Corcoran, R. J.; Lehn, J. M. *Helv. Chim. Acta* **1978**, *6*, 2190-2218.
- 197b Roehri-Stoeckel, C.; Dangles, O.; Brouillard, R. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 1551-1554.
- 198 Zhang, L. F.; Wong, Y. C.; Chen, L.; Ching, C. B.; Ng, S. C. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 1815-1818.
- 199 Chernyak, A. Y.; Sharma, G. V. M.; Kononov, L. O.; Krishna, P. R.; Levinsky, A. B.; Kochetkov, N. K.; Rao, A. V. R. *Carbohydr. Res.* **1992**, *223*, 303-309.
- 200 Gujadhur, R.; Venkataraman, D.; Kintigh, J. T. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 4791-4793.
- 201 Ziegler, F. E.; Fowler, K. W.; Rodgers, W. B.; Wester, R. T. *Organic Syntheses; Wiley: New York*, **1993**; Collect. Vol. VIII, 586-592.
- 202a Helavi, V. B.; Solabannavar, S. B.; Desai, U. V.; Mane, R. B. *J. Chem. Res., Synop.* **2003**, 174-175.
- 202b Benschafut, R.; Haran, A.; Shvarts, D.; Schneider, B. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 4040-4044.
- 203 Katritzky, A. R.; Singh, S. K. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 9077-9079.

- 204 Breslow, R.; Halfon, S.; Zhang, B. *Tetrahedron* **1995**, *51*, 377-388.
- 205a Liu, Y.; Song, Y.; Chen, Y.; Li, X.-Q.; Ding, F.; Zhong, R.-Q. *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 3685-3696.
- 205b Liu, Y.; Yang, Y.-W.; Yang, E.-C.; Guan, X.-D. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 6590-6602.
- 206 Breslow, R.; Zhang, B. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 8495-8496.
- 207 Venema, F.; Nelissen, H. F. M.; Berthault, P.; Birlirakis, N.; Rowan, A. E.; Feiters, M. C.; Nolte, R. J. M. *Chem. Eur. J.* **1998**, *4*, 2237-2250.
- 208 Zang, B.; Breslow, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 9353-9354.
- 209a French, R. R.; Holzer, P.; Leuenberger, M. G.; Woggon, W.-D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 1267-1269.
- 209b French, R. R.; Holzer, P.; Leuenberger, M. G.; Nold, M. C.; Woggon, W.-D. *J. Inorg. Biochem.* **2002**, *88*, 295-304.
- 210 Wilson, D.; Perlson, L.; Breslow, R. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 2649-2653.
- 211a Zang, B.; Breslow, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 1676-1681.
- 211b Yang, J.; Breslow, R. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 2059-2062.
- 212 Charbonnier, F.; Marsura, A.; Pintér, I. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 6581-6583.
- 213a Venema, F.; Baselier, C. M.; van Dienst, E.; Ruël, B. H. M.; Feiters, M. C.; Engbersen, J. F. J.; Reinhoudt, D. N.; Nolte, R. J. M. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 1773-1776.
- 213b Mulder, A.; Jukovic, A.; Lucas, L. N.; van Esch, J.; Feringa, B. L.; Huskens, J.; Reinhoudt, D. N. *Chem. Commun.* **2002**, 2734-2735.
- 214 Lecourt, T.; Mallet, J.-M.; Sinaÿ, P. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 5533-5536.
- 215 Okabe, Y.; Yamamura, H.; Obe, K.-i.; Ohta, K.; Kawai, M.; Fujita, K. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1995**, 581-582.
- 216 Liu, Y.; Chen, Y.; Li, L.; Huang, G.; You, C.-C.; Zhang, H.-Y.; Wada, T.; Inoue, Y. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 7209-7215.
- 217a Carr, R. V. C.; Williams, R. V.; Paquette, L. A. *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 4976-4986.
- 217b Barton, D. H. R.; Li, W.; Smith, J. A. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 7055-7058.
- 217c Alonso, D. A.; Nájera, C.; Varea, M. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 3459-3461.
- 217d Choudary, B. M.; Bharathi, B.; Reddy, C. V.; Kantam, M. L. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **2002**, 209-2074.
- 217e Baciocchi, E.; Gerini, M. F.; Lapi, A. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 3586-3589.
- 218a Brace, N. O. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 4506-4508.
- 218b Bera, S.; Sakthivel, K.; Pathak, T.; Langley, G. J. *Tetrahedron* **1995**, *51*, 7857-7866.
- 218c Barker, J. E.; Ren, T. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 4681-4683.
- 218d Temmen, O.; Uguen, D.; De Cian, A.; Gruber, N. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 3175-3179.
- 218e Block, E.; Jeon, H. R.; Putman, D.; Zhang, S.-Z. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 7525-7541.

- 219 Krishna, P. R.; Lavanya, B.; Jyothi, Y.; Sharma, G. V. M. *J. Carbohydr. Chem.* **2003**, *22*, 423-431.
- 220 Verboom, W.; Meijer, J.; Brandsma, L. *Synthesis* **1978**, 577-578.
- 221 Smith, M. B. *Synth. Commun.* **1986**, *16*, 85-90.
- 222 Ager, D. J. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1984**, 486-488.
- 223 Sas, W. J. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1984**, 862-863.
- 224 Vernon, A.; Stirling, C. J. M. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1993**, 1609-1610.
- 225 Cassidy, J. F.; Williams, J. M. *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 4355-4358.
- 226a Sakakibara, T.; Takai, I.; Tachimori, Y.; Yamamoto, A.; Ishido, Y.; Sudoh, R. *Carbohydr. Res.* **1987**, *160*, C3-C5.
- 226b Sakakibara, T.; Takai, I.; Yamamoto, A.; Tachimori, Y.; Sudoh, R.; Ishido, Y. *Carbohydr. Res.* **1987**, *169*, 189-199.
- 227 Takai, I.; Yamamoto, A.; Ishido, Y.; Sakakibara, T.; Yagi, E. *Carbohydr. Res.* **1991**, *220*, 195-207.
- 228a Sanki, A. K.; Suresh, C. G.; Falune, U. D.; Pathak, T. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 1285-1288.
- 228b Sanki, A. K.; Pathak, T. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 7203-7214.
- 229 Ravindran, B.; Deshpande, S. G.; Pathak, T. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 1093-1098.
- 230 Bera, S.; Langley, G. J.; Pathak, T. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 1754-1760.
- 231 Alonso-Cruz, C. R.; León, E. I.; Ortiz-López, F. J.; Rodríguez, M. S.; Suárez, E. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 5265-5268.
- 232a Simpkins, N. S. *Tetrahedron* **1990**, *46*, 6951-6984.
- 232b Simpkins, N. S. *Sulfones in Organic Synthesis* Pergamon Press: Oxford, **1993**.
- 233 Knapp, S.; Myers, D. S. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 3636-3638.
- 234 Ibatullin, F. M.; Shabalin, K. A.; Jänis, J. V.; Shavva, A. G. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 7961-7964.
- 235a Ogura, K.; Kayano, A.; Sumitani, N.; Akazome, M.; Fujita, M. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 1106-1107.
- 235b Kayano, A.; Akazome, M.; Fujita, M.; Ogura, K. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *53*, 12101-12114.
- 236 Maya, I.; López, O.; Maza, S.; Fernández-Bolaños, J. G.; Fuentes, J. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 8539-8543.
- 237 Khmelnitsky, Y. L. *J. Mol. Cat. B* **2004**, *31*, 73-81.
- 238a McBroom, C. R.; Samanen, C. H.; Goldstein, I. J. *Methods Enzymol.* **1972**, *28*, 212-219.
- 238b Smith, D. F.; Ginsburg, V. *J. Biol. Chem.* **1980**, *255*, 55-59.
- 238c Amer, H.; Hofinger, A.; Kosma, P. *Carbohydr. Res.* **2003**, *338*, 35-45.
- 239 Lee, Y. C.; Stowell, C. P.; Krantz, M. J. *Biochem.* **1976**, *15*, 3956-3963.

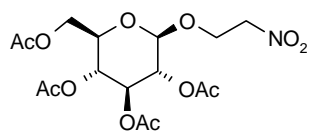
- 240 Ashwell, G. *Methods Enzymol.* **1972**, 28, 219-222.
- 241 Lemieux, R. U.; Bundle, D. R.; Baker, D. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, 97, 4076-4083.
- 242a Nitz, M.; Bundle, D. R. *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 8411-8423.
- 242b Saksena, R.; Ma, X.; Kovac, P. *Carbohydr. Res.* **2003**, 338, 2591-2603.
- 243 Wu, X.; Ling, C.-C.; Bundle, D. R. *Org. Lett.* **2004**, 6, 4407-4410.
- 244a Bernstein, M. A.; Hall, L. D. *Carbohydr. Res.* **1980**, 78, C1-C3.
- 244b Ragupathi, G.; Koganti, R. R.; Qiu, D.; Loyd, K. O.; Livingston, P. O. *Glycoconjugate J.* **1998**, 15, 217-221.
- 244c Zhang, J.; Yergey, A.; Kowalak, J.; Kovac, P. *Tetrahedron Lett.* **1998**, 54, 11783-11792.
- 244d Xue, J.; Pan, Y.; Guo, Z. *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 1599-1602.
- 244e Clausen, M. H.; Madsen, R. *Carbohydr. Res.* **2004**, 339, 2159-2169.
- 245a Fernández-Santana, V.; González-Lio, R.; Sarracent-Pérez, J.; Verez-Bencomo, V. *Glycoconjugate J.* **1998**, 15, 549-553.
- 245b Gonzalez-Lio, R.; Thiem, J. *Carbohydr. Res.* **1999**, 317, 180-190.
- 246a Levashov, A. V.; Rariy, R. V.; Martinek, K.; Klyachko, N. L. *FEBS Lett.* **1993**, 336, 385-388.
- 246b Baek, W.-O.; Vijayalakshmi, M. A. *Biochim. Biophys. Acta* **1997**, 1336, 394-402.
- 246c Jiang, K.-Y.; Pitiot, O.; Anissimova, M.; Adenier, H.; Vijayalakshmi, M. A. *Biochim. Biophys. Acta* **1999**, 1433, 198-209.
- 247 Macindoe, W. M.; van Oijen, A. H.; Boons, G.-J. *Chem. Commun.* **1998**, 847-848.
- 248 Shin, I.; Jung, H.-j.; Lee, M.-r. *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42, 1325-1328.
- 249a Davis, N. J.; Flitsch, S. L. *Tetrahedron Lett.* **1991**, 32, 6793-6796.
- 249b Wong, S. Y. C.; Guille, G. R.; Dwek, R. A.; Arsequell, G. *Biochem. J.* **1994**, 300, 843-850.
- 250 Macmillan, D.; Bill, R. M.; Sage, K. A.; Fern, D.; Flitsch, S. L. *Chem. Biol.* **2001**, 8, 133-145.
- 251a Davis, B. G.; Lloyd, R. C.; Jones, J. B. *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 9614-9615.
- 251b Davis, B. G.; Maughan, M. A. T.; Green, M. P.; Ullman, A.; Jones, J. B. *Tetrahedron-Asymmetry* **2000**, 11, 245-262.
- 251c Davis, B. G. *Chem. Commun.* **2001**, 351-352.
- 251d Rendle, P. M.; Seger, A.; Rodrigues, J.; Oldham, N. J.; Bott, R. R.; Jones, J. B.; Cowan, M. M.; Davis, B. G. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 4750-4751.
- 252 Liu, H.; Wang, L.; Brock, A.; Wong, C.-H.; Schultz, P. G. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 1702-1203.
- 253a Friedman, M.; Finley, J. W. *Int. J. Peptide Protein Res.* **1975**, 7, 481-486.
- 253b Masri, M. S.; Friedman, M. J. *Protein Chem.* **1988**, 7, 49-54.

- 
- 254 Forsythe, E. L.; Snell, E. H.; Malone, C. C.; Pusey, M. L. *J. Cryst. Growth* **1999**, 196, 332-343.
- 255 Rypniewski, W. R.; Holden, H. M. Rayment, I. *Biochemistry* **1993**, 32, 9851-9858.
- 256 Perrin, D. D.; Armarego, W. L. F. *Purification of Laboratory Chemicals*, 3<sup>a</sup> Ed., Pergamon, Oxford, **1988**.
- 257 Tronchet, J. M. J.; Zsely, M.; Geoffroy, M. *Carbohydr. Res.* **1995**, 275, 245-258.
- 258 Cerny, M.; Trnka, T.; Budesinsky, M. *Collect. Czech. Chem. Commun.* 1996, 61, 1489-1500.

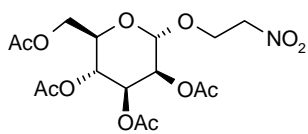


**Anexo II:**  
**Productos sintetizados**

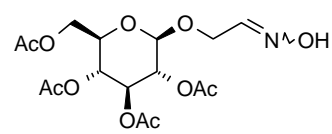




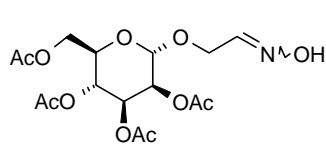
203



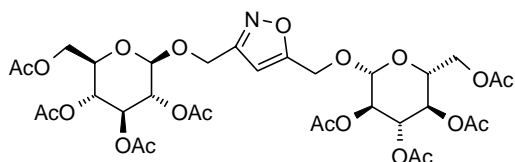
210



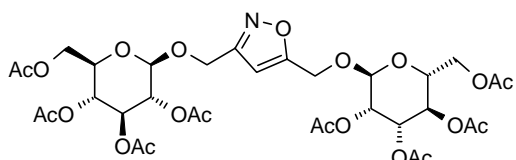
216



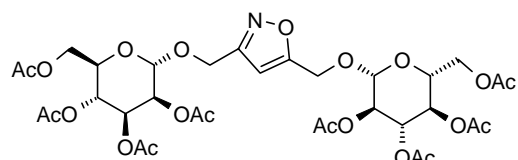
217



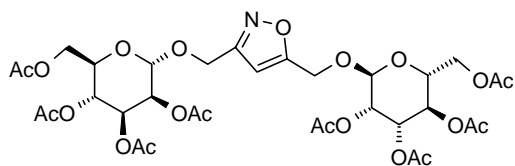
218



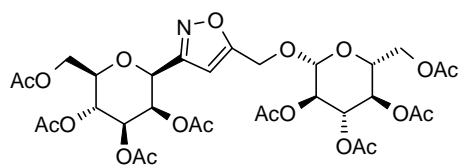
219



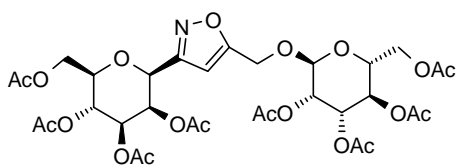
220



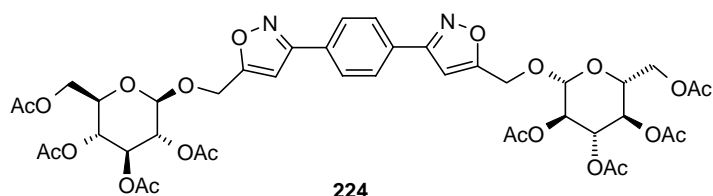
221



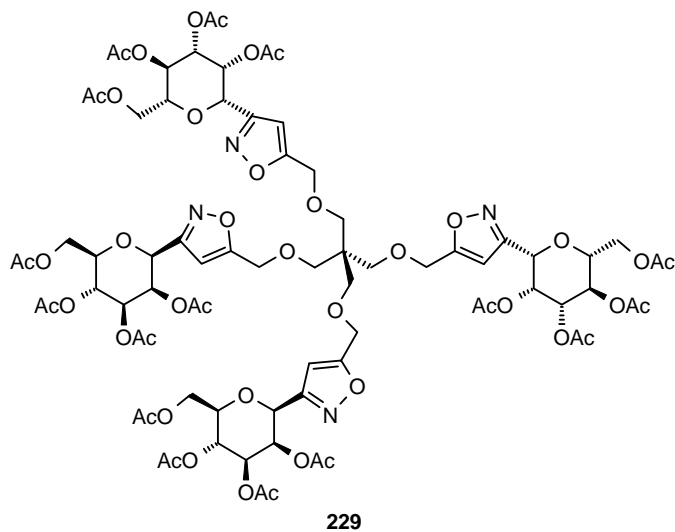
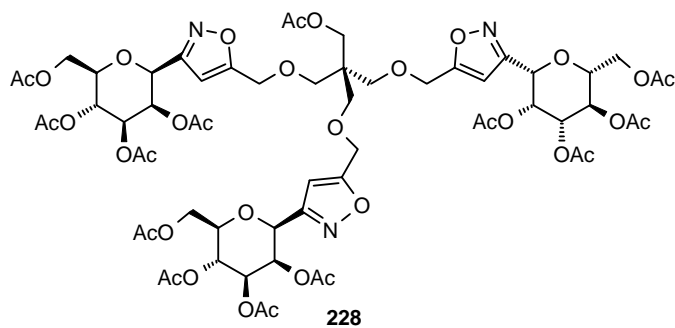
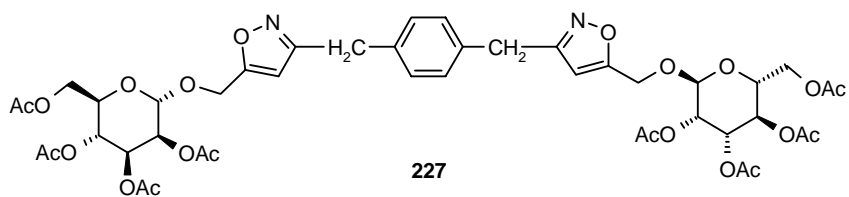
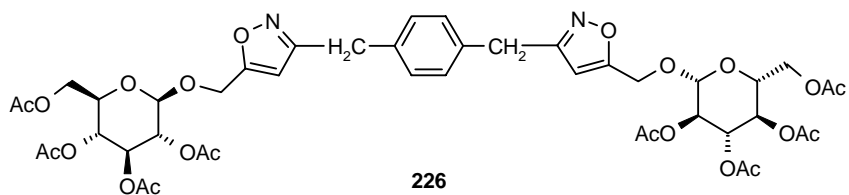
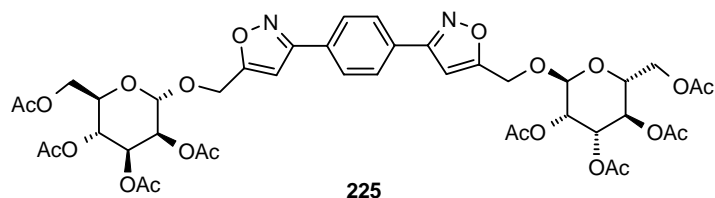
222

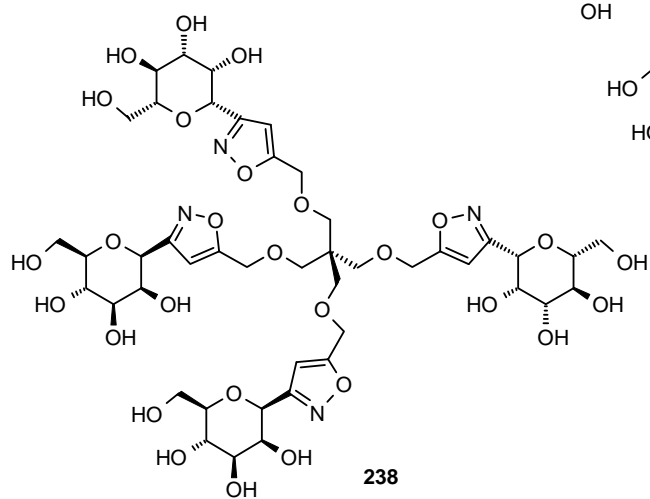
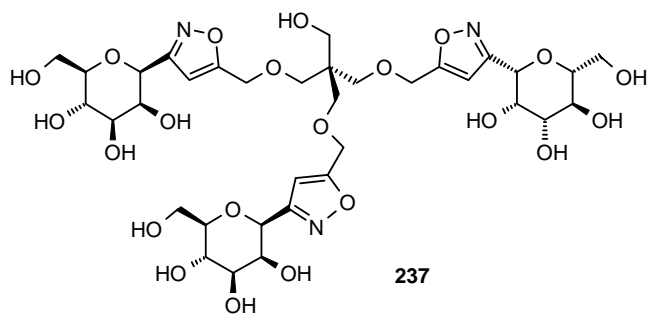
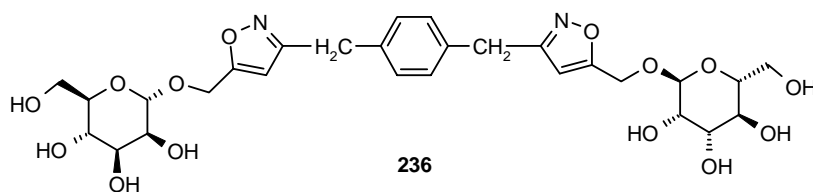
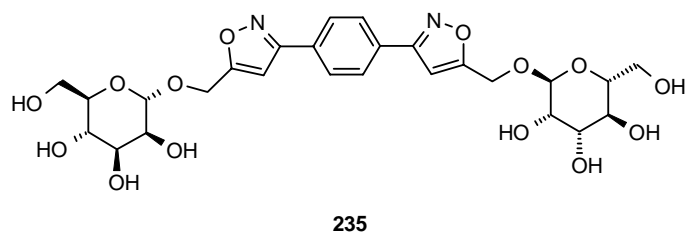
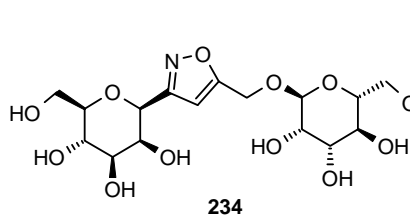
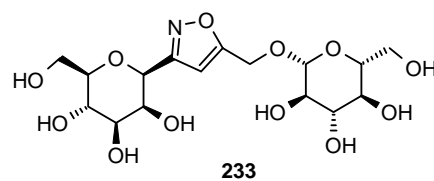
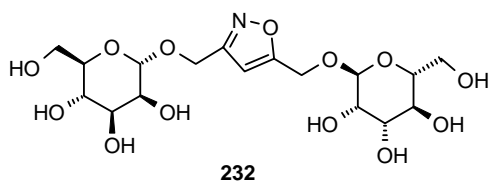
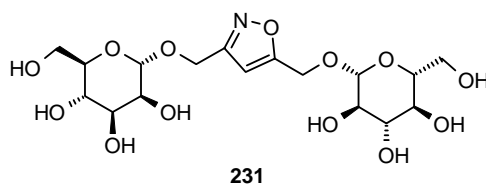
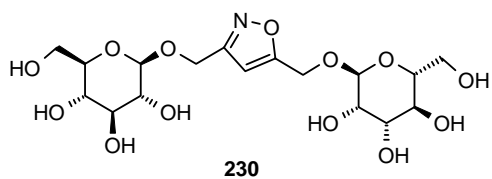


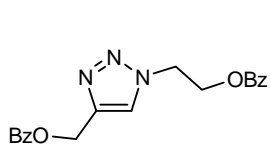
223



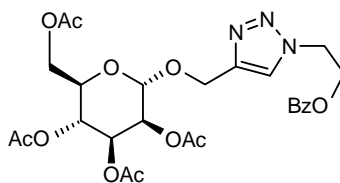
224



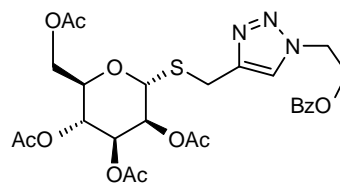




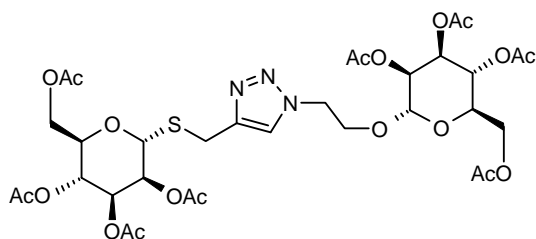
320



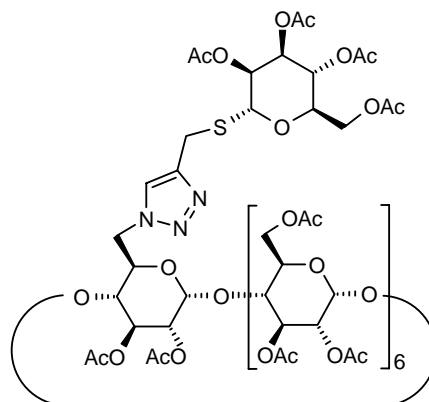
321



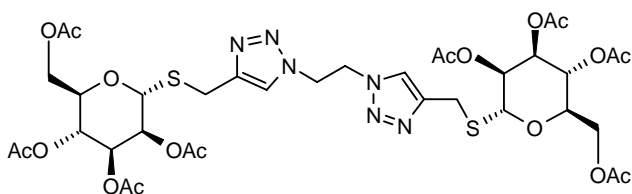
322



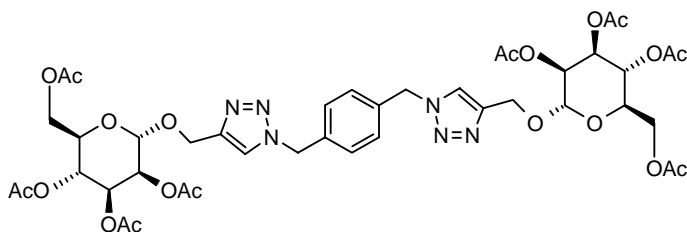
323



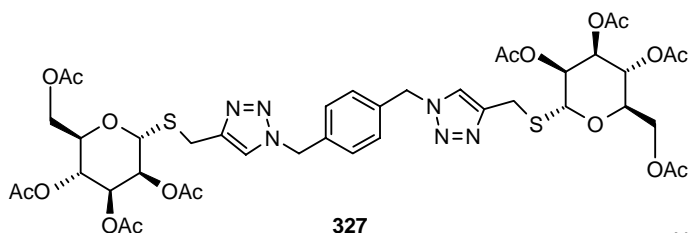
324



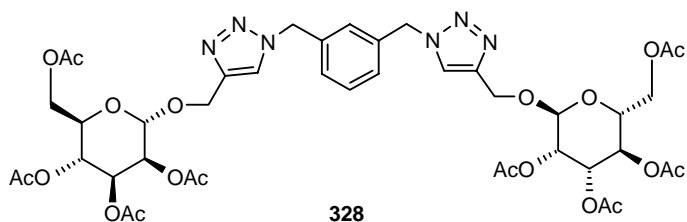
325



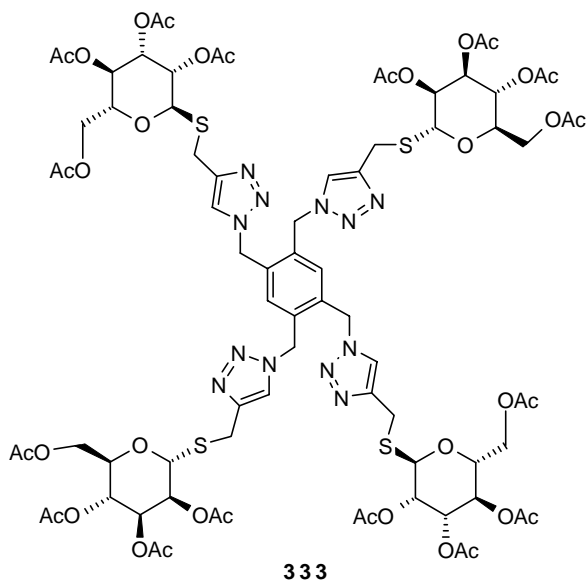
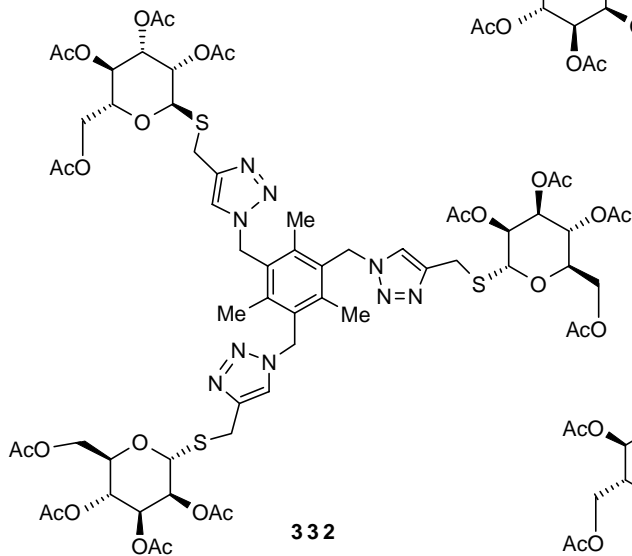
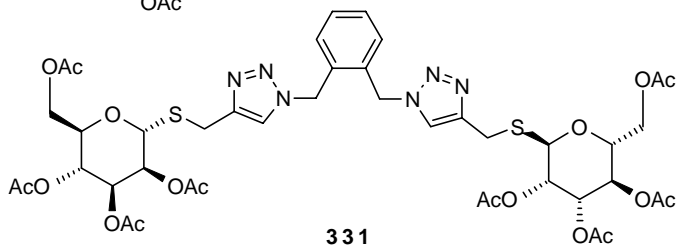
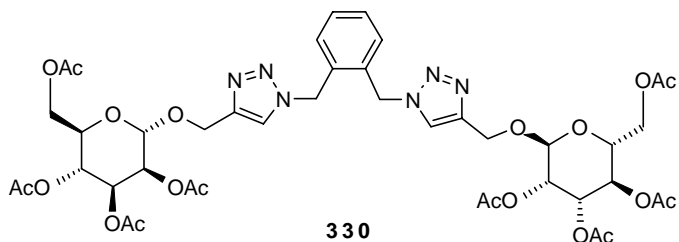
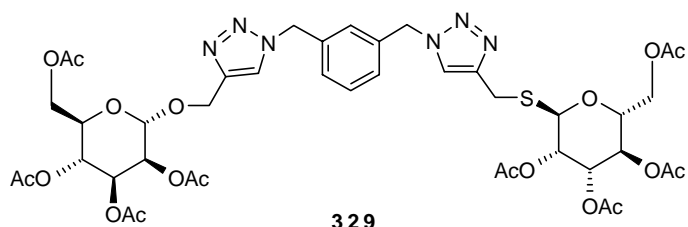
326

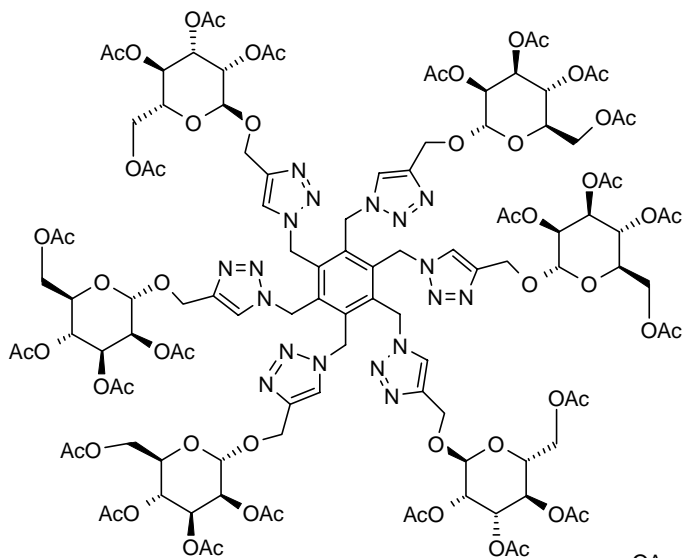


327

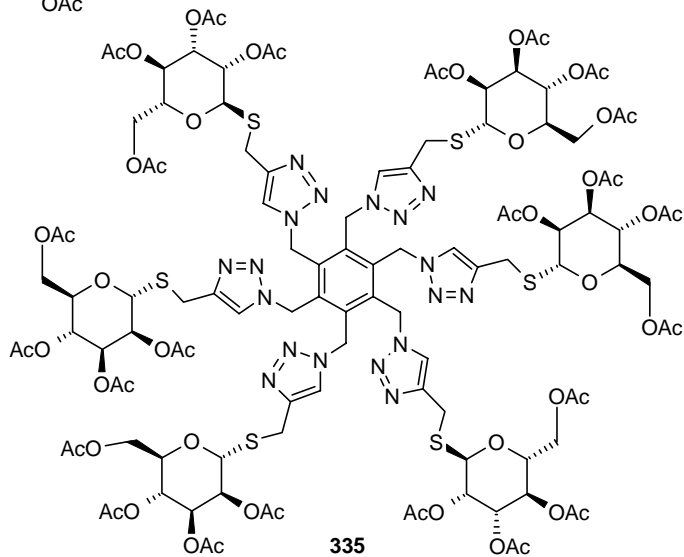


328

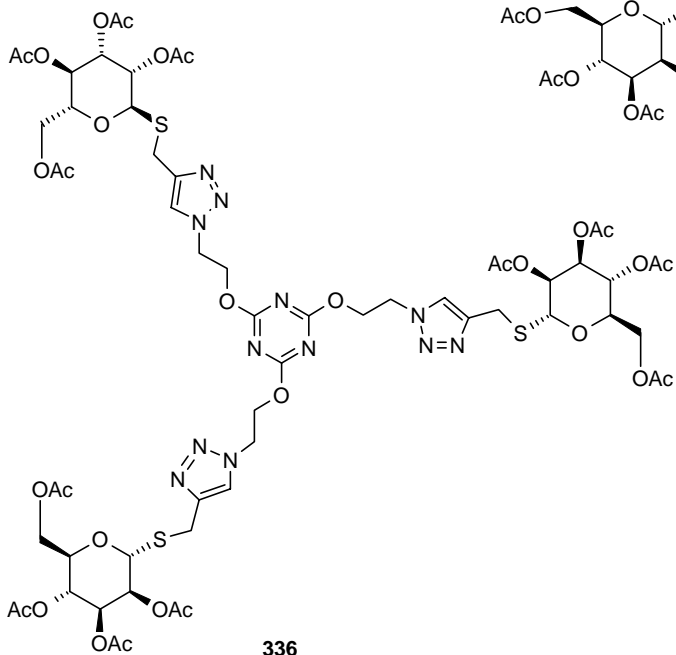




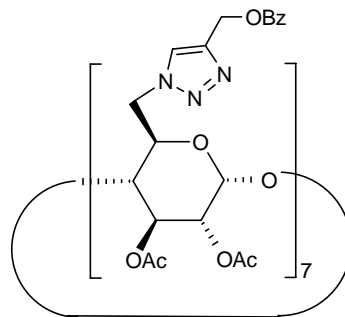
334



335

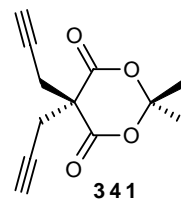
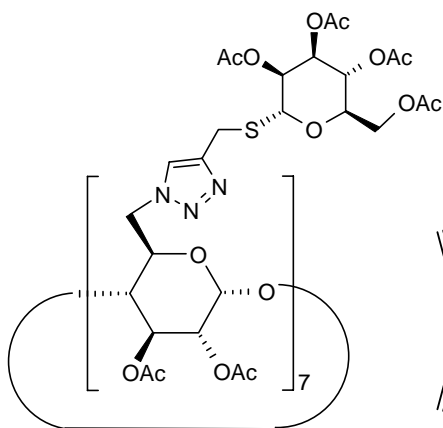
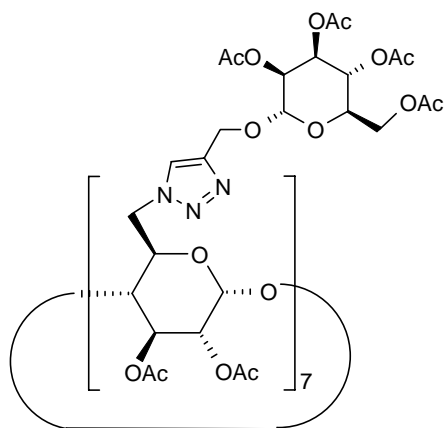


336



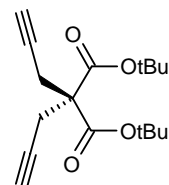
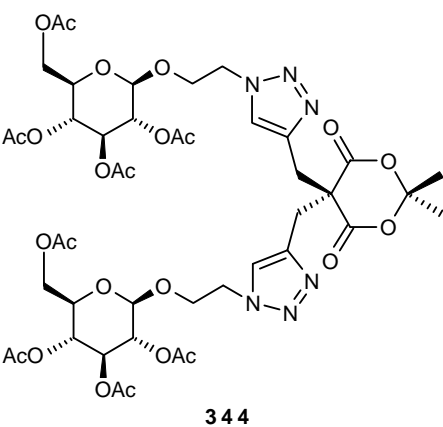
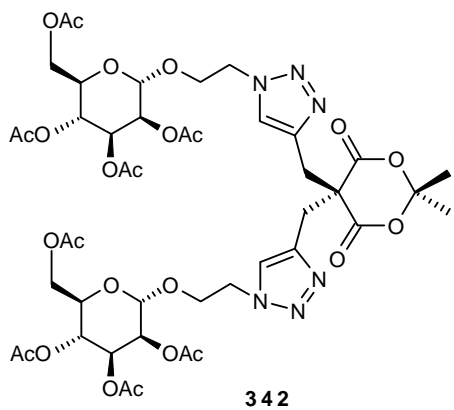
337





338

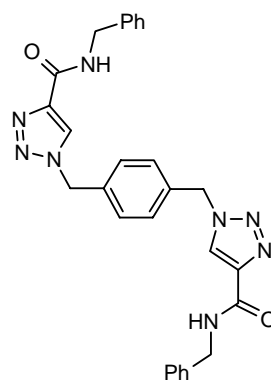
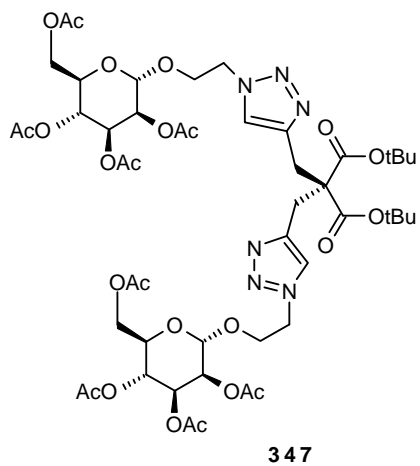
339



342

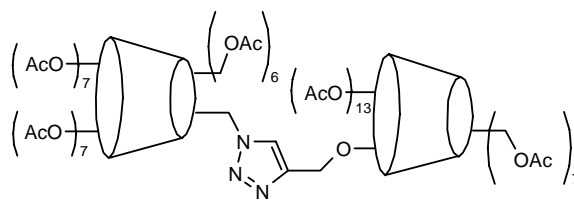
344

346

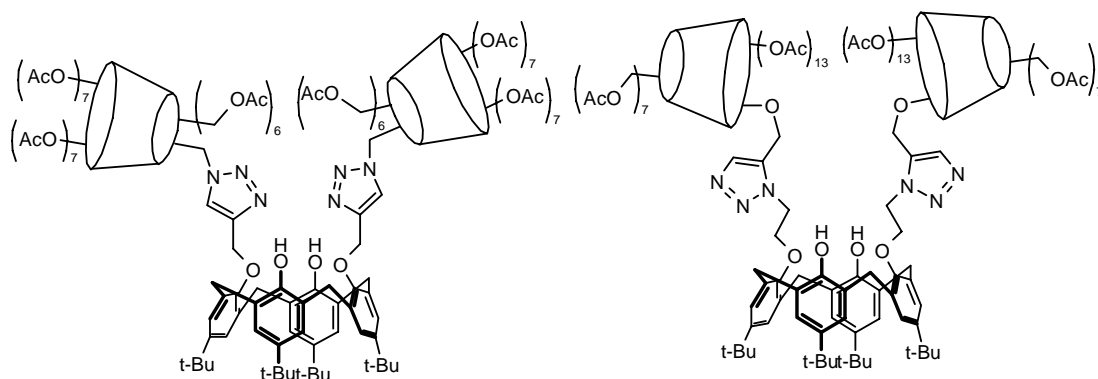


347

349

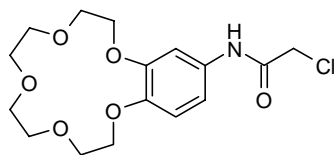
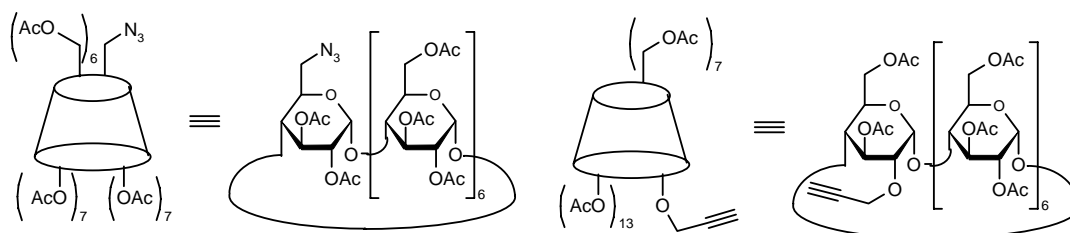


351

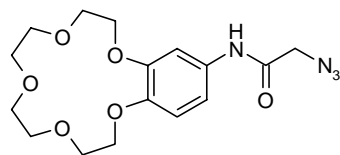


353

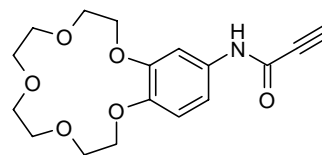
355



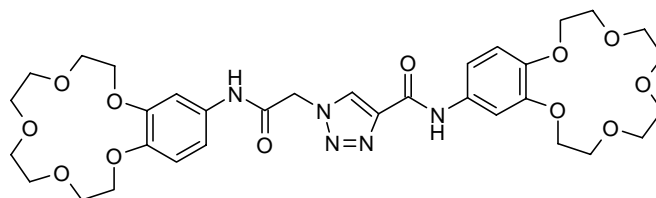
357



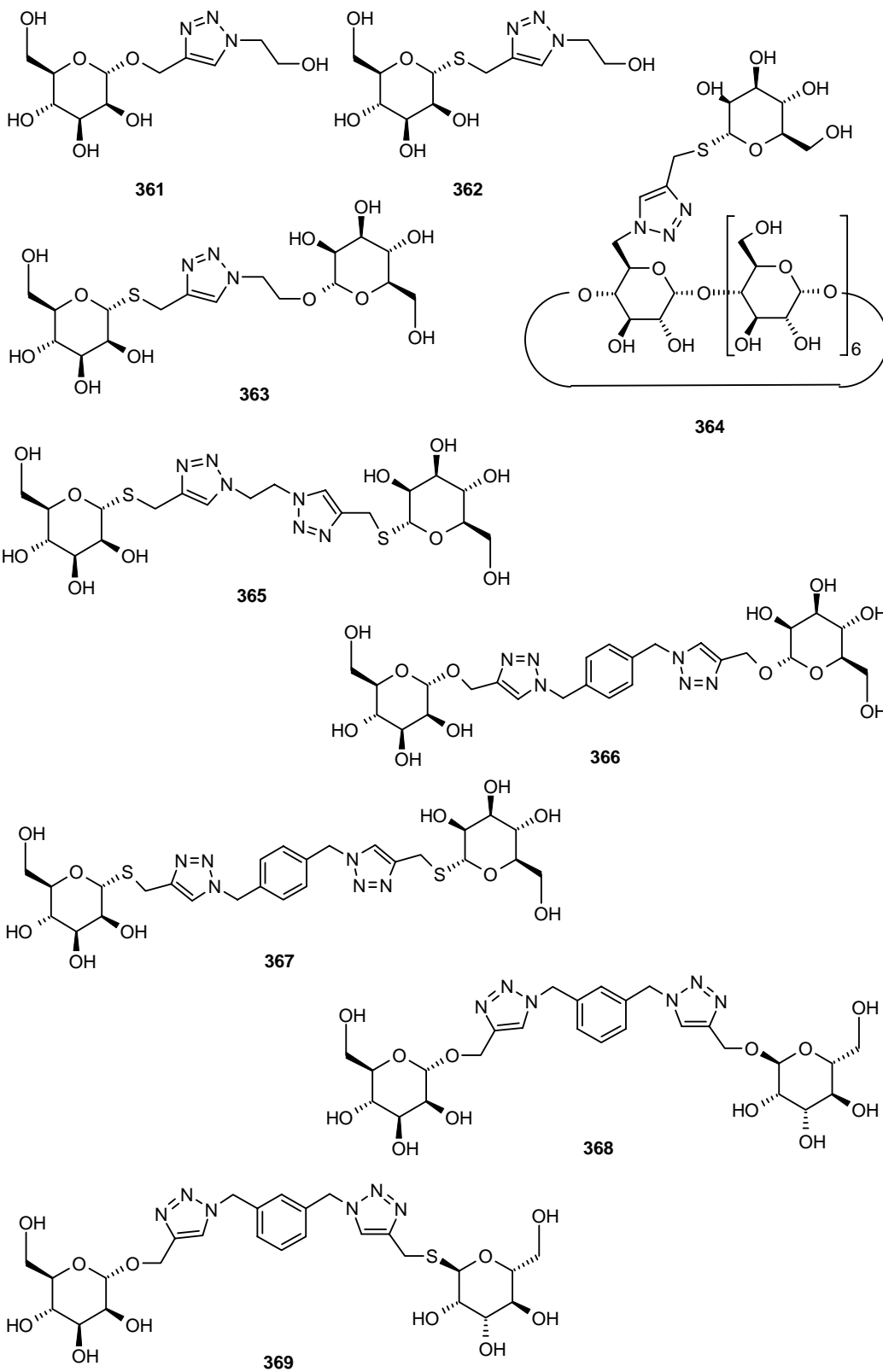
358

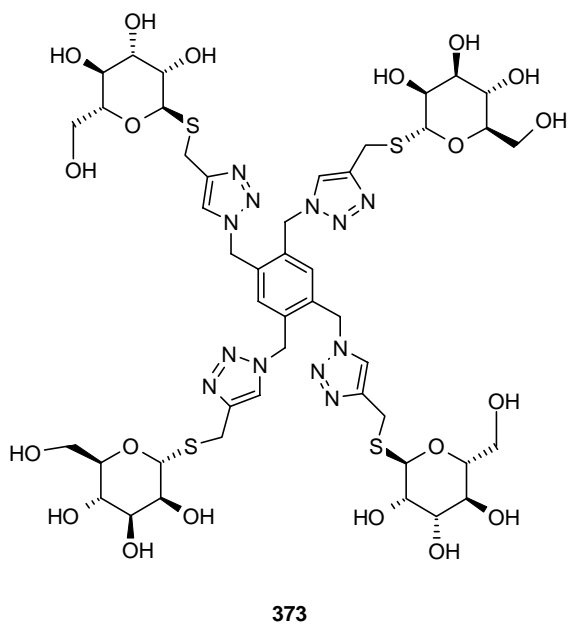
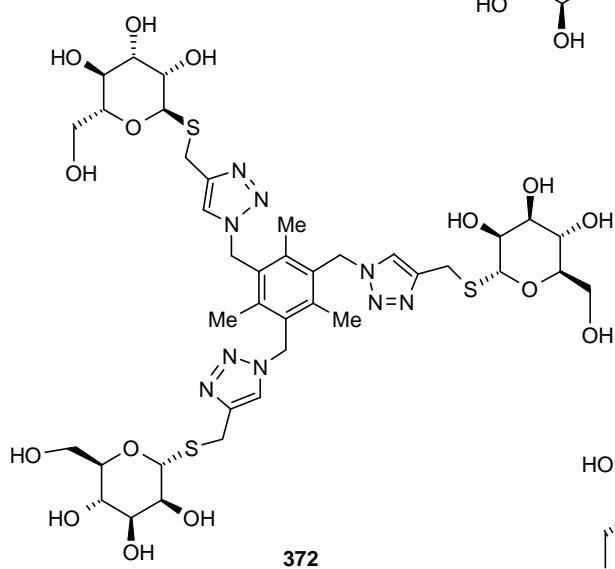
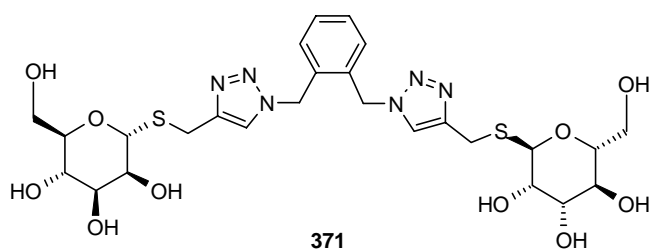
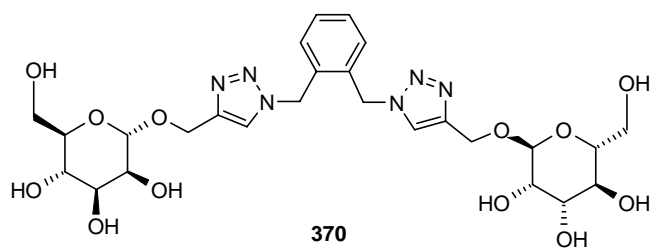


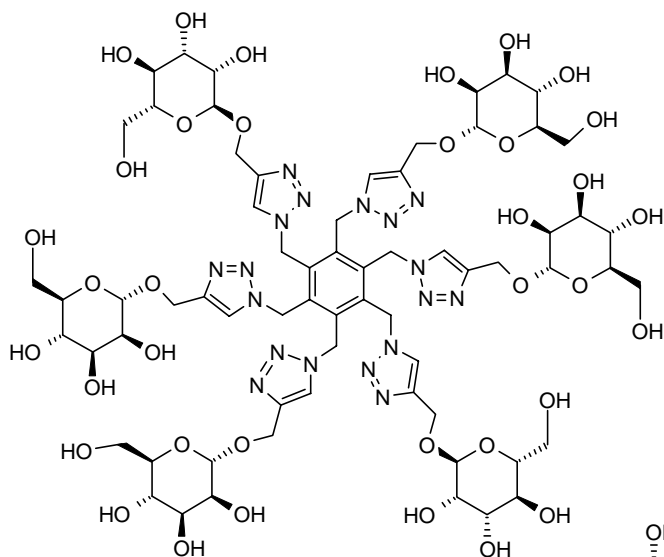
359



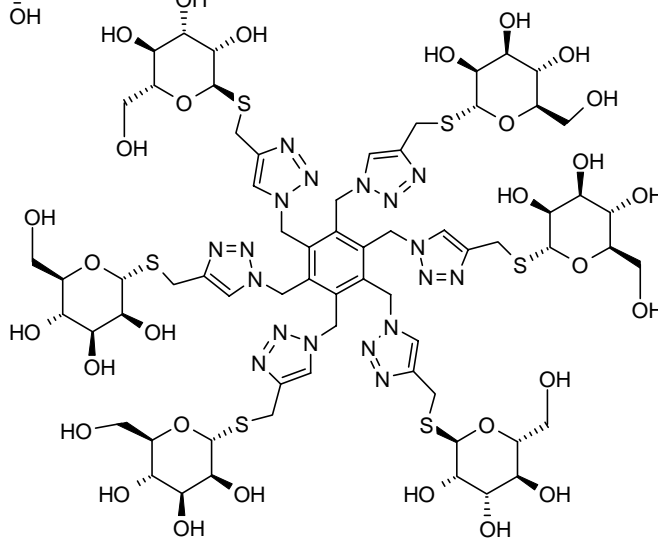
360



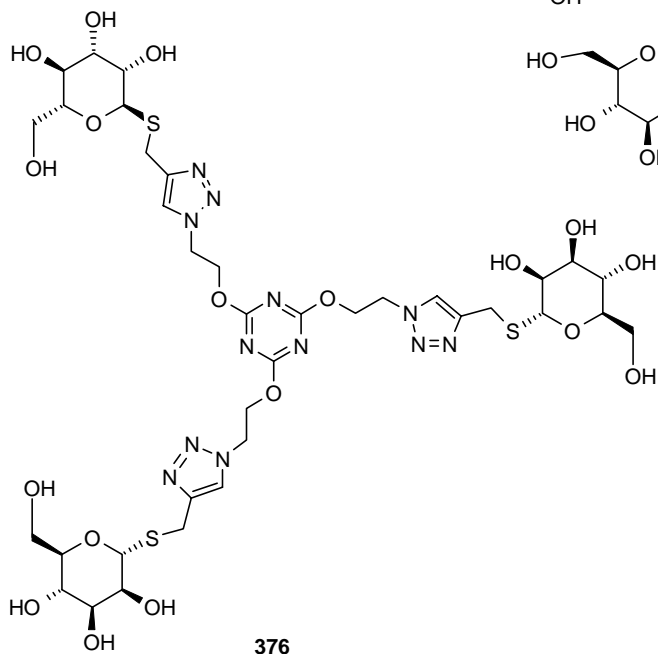




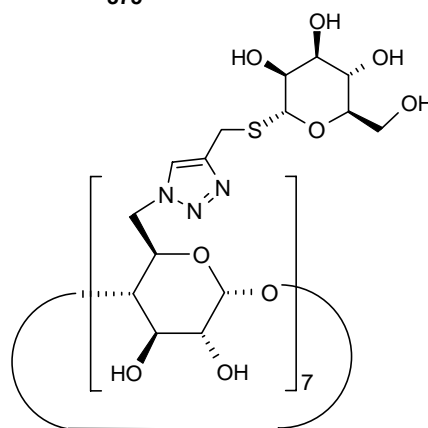
374



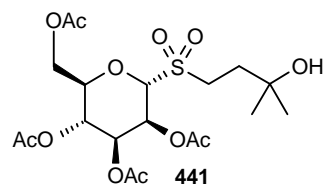
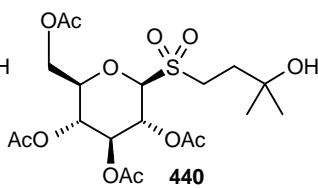
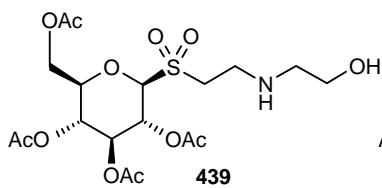
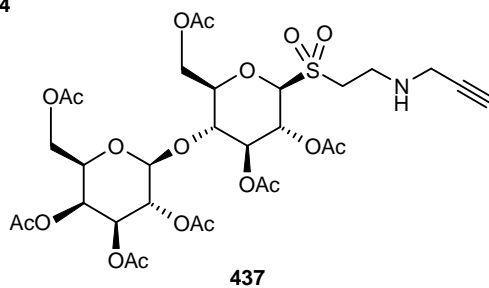
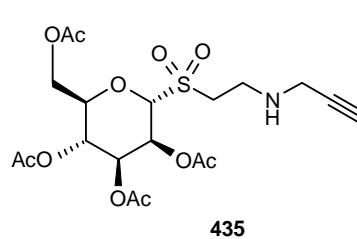
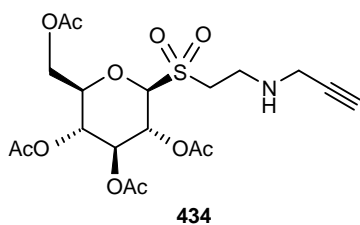
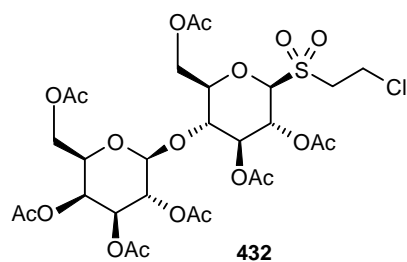
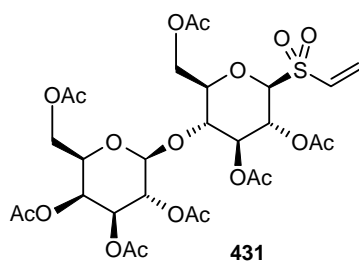
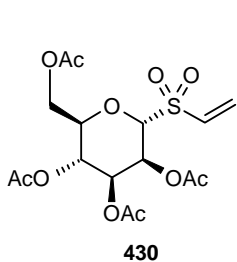
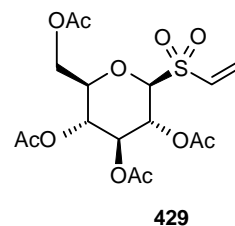
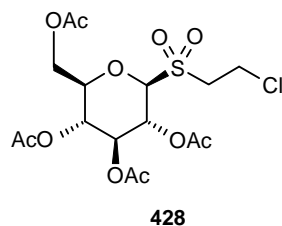
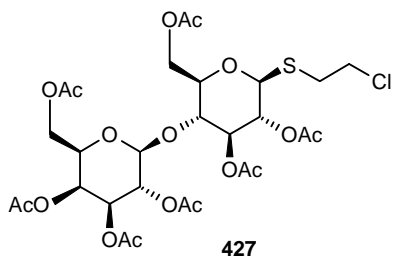
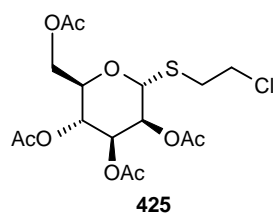
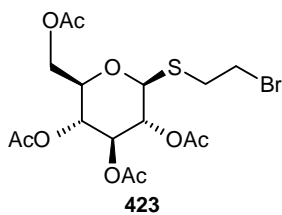
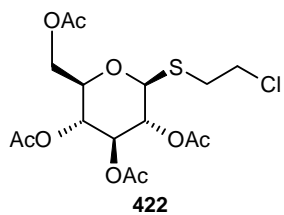
375

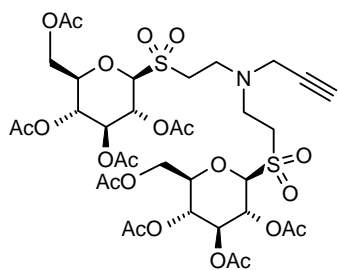


376

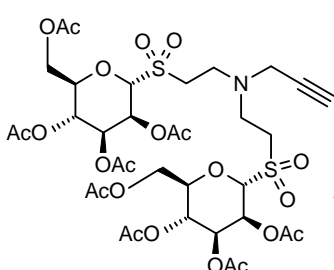


377

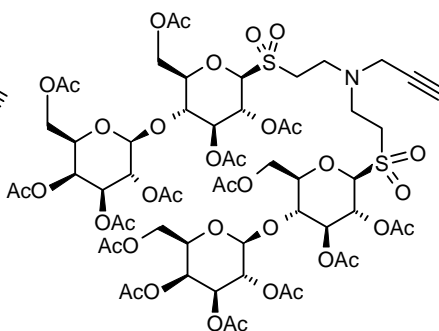




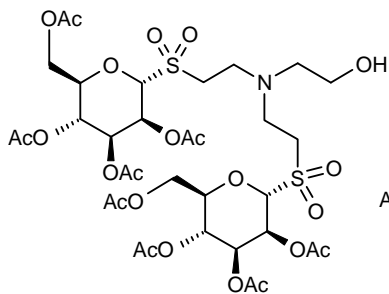
442



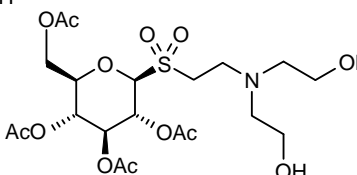
443



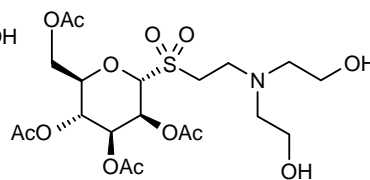
445



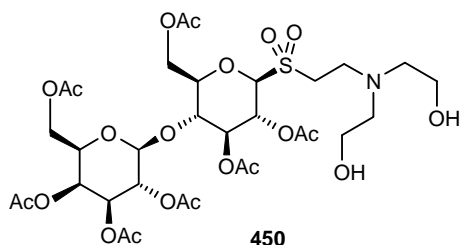
446



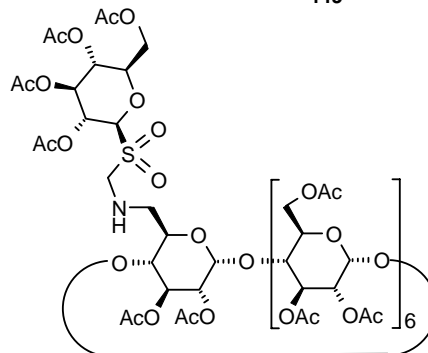
448



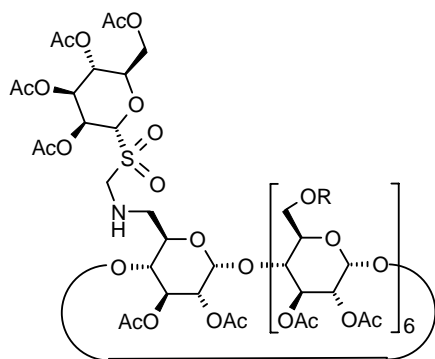
449



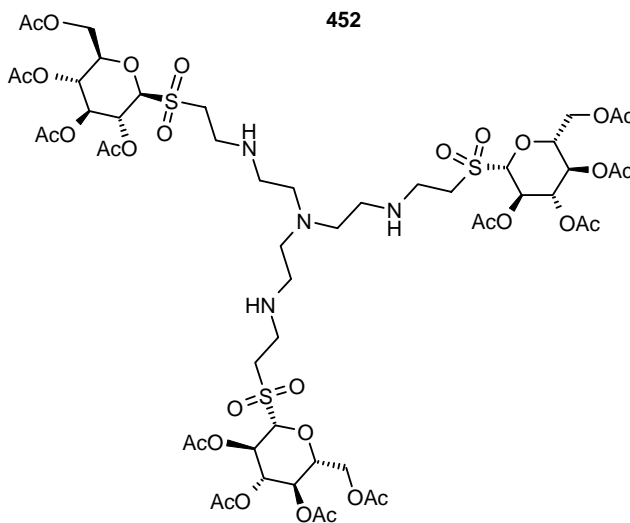
450



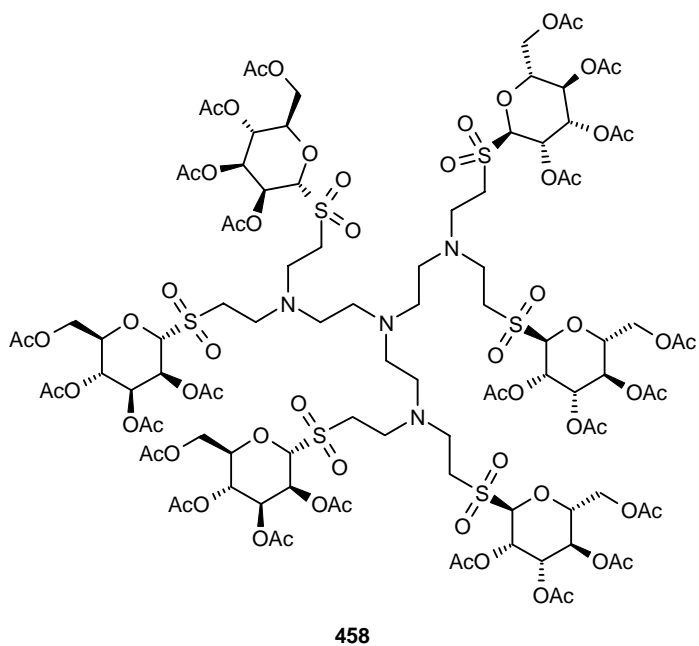
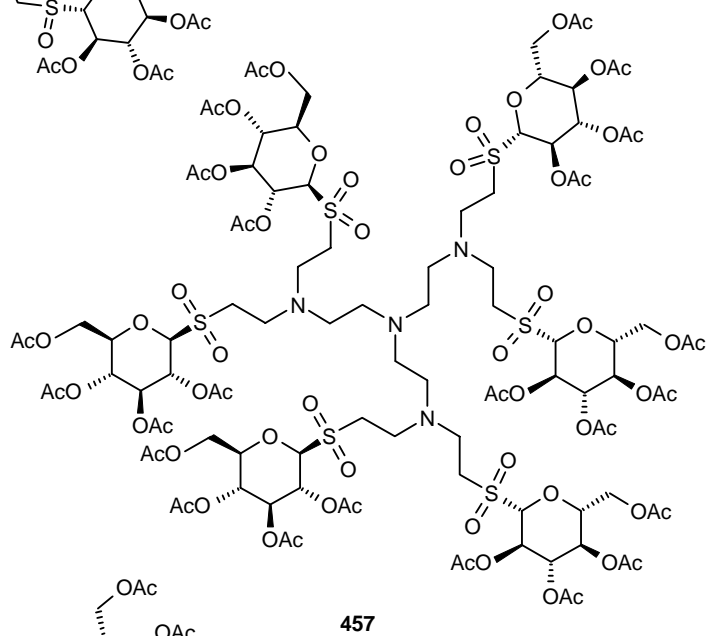
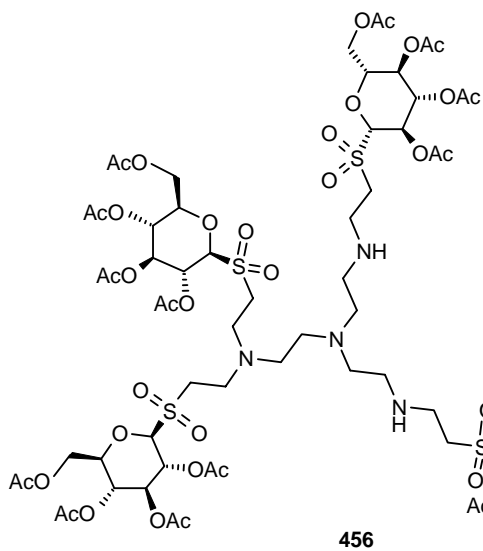
452



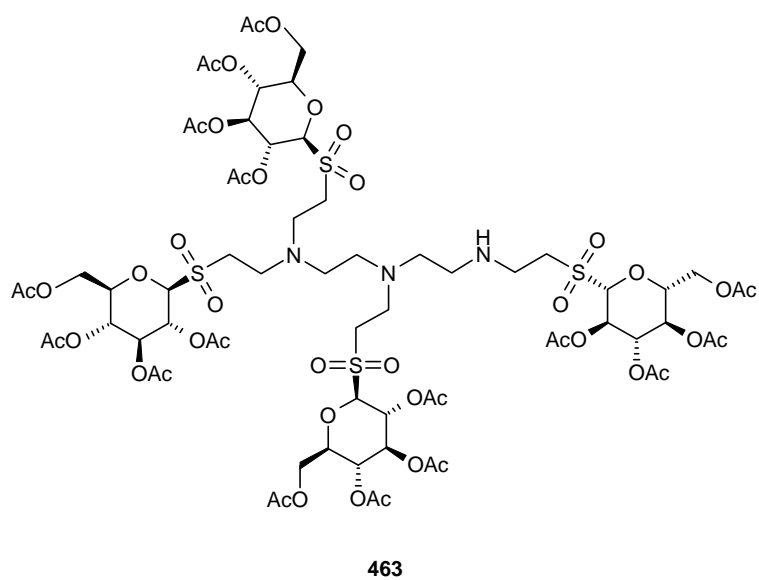
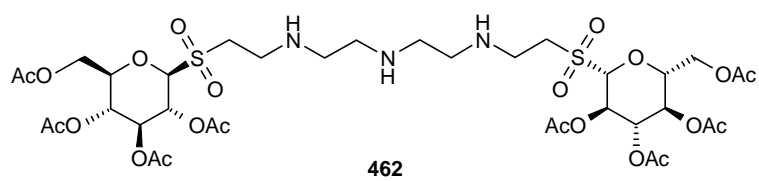
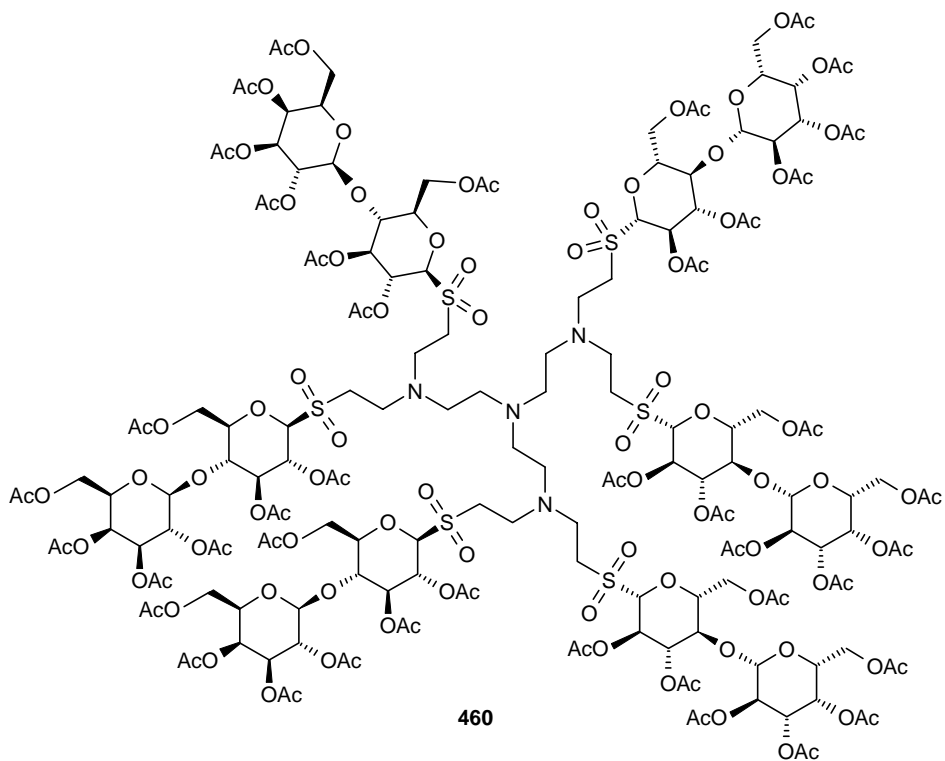
453

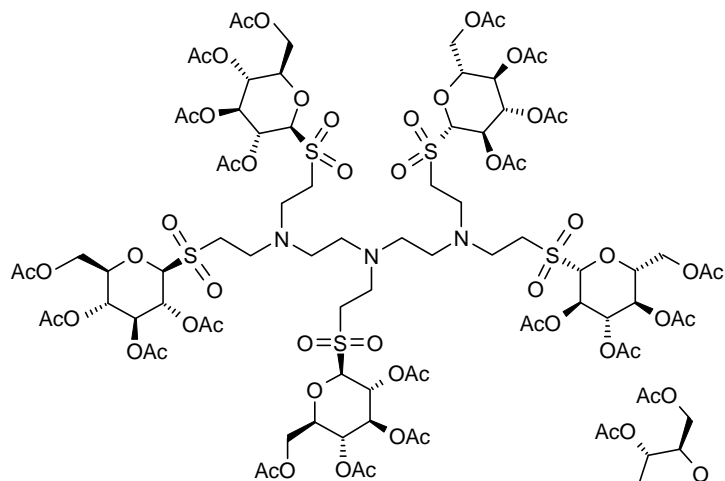


455

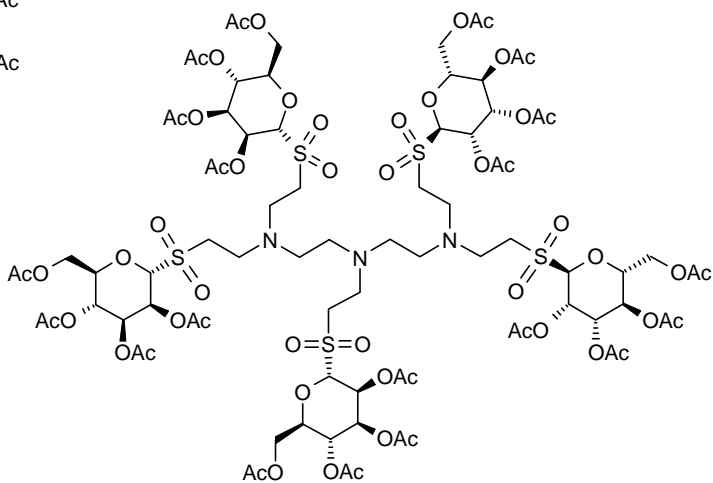




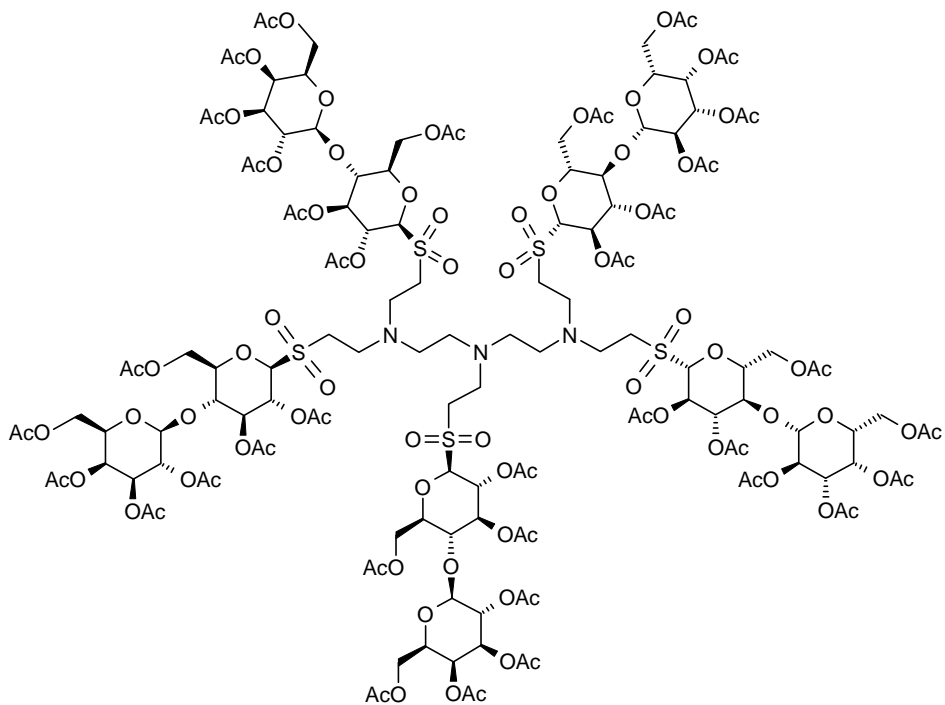




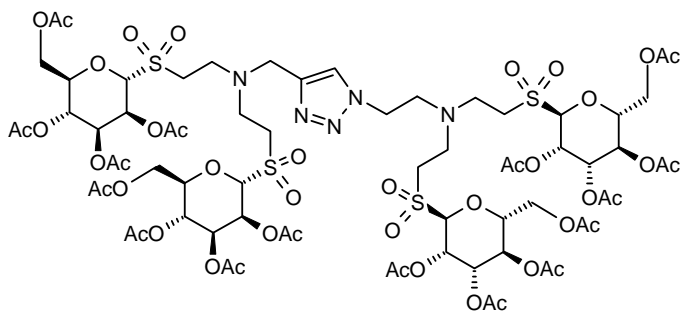
464



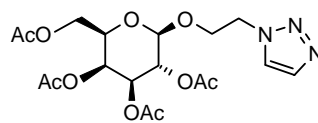
465



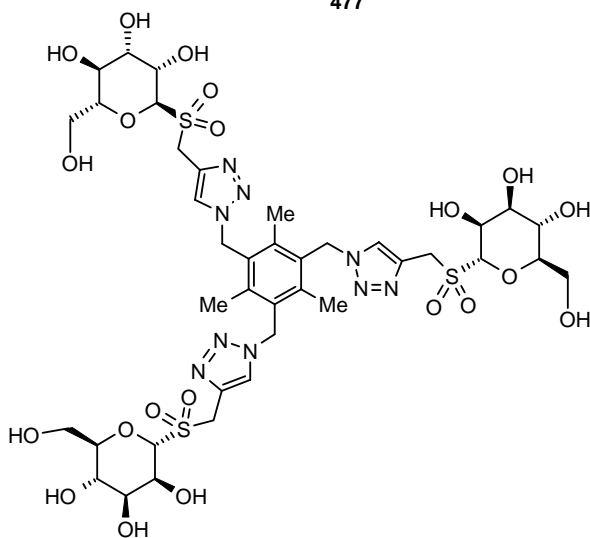
467



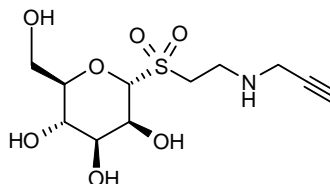
477



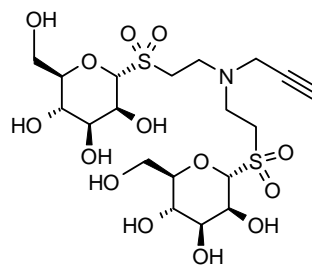
480



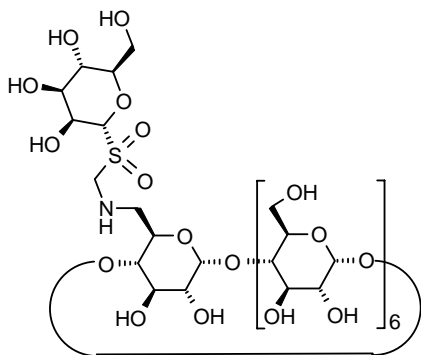
481



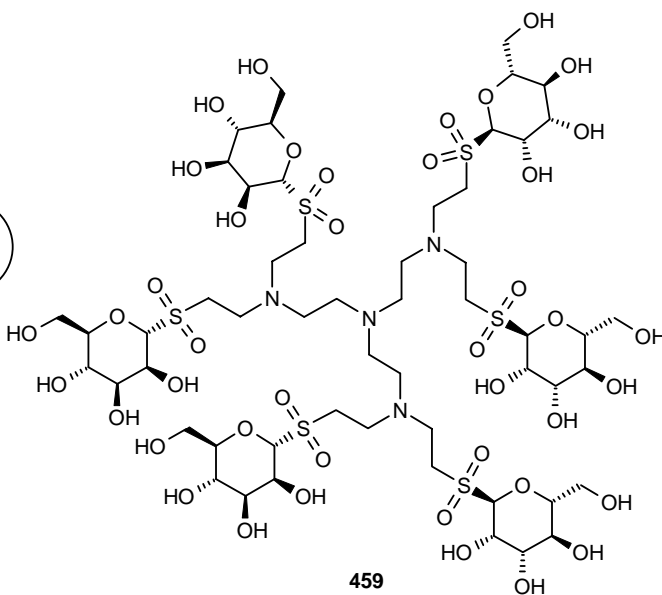
436



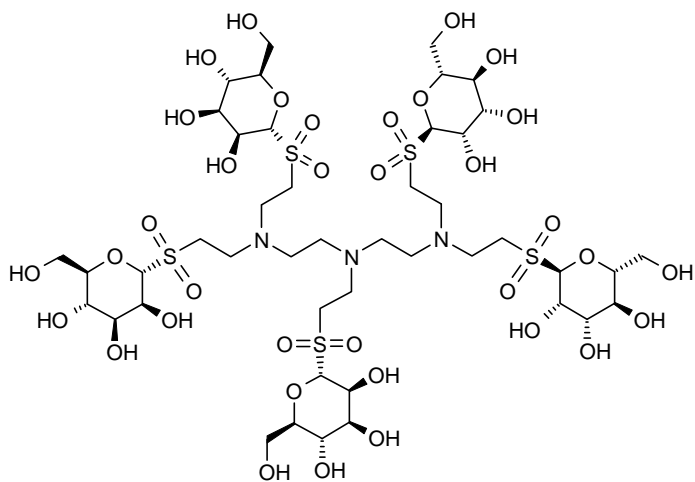
444



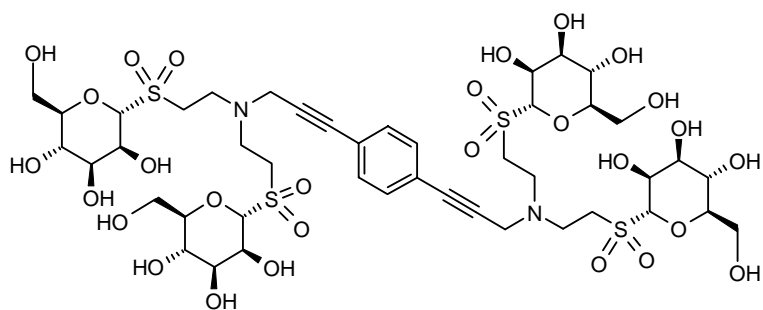
454



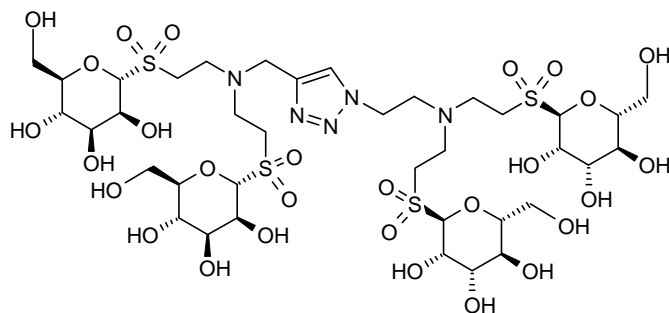
459



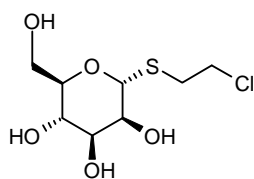
466



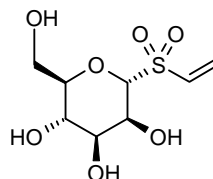
474



478



482



483