

OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

⑪ Número de publicación: **2 113 963**

⑤① Int. Cl.<sup>6</sup>: C07H 3/06

A61K 31/70

⑫

## TRADUCCION DE PATENTE EUROPEA

T3

⑧⑥ Número de solicitud europea: **92923821.0**

⑧⑥ Fecha de presentación : **13.11.92**

⑧⑦ Número de publicación de la solicitud: **0 618 215**

⑧⑦ Fecha de publicación de la solicitud: **05.10.94**

⑤④ Título: **Oligosacáridos utilizados para inhibir la mitosis de los astrocitos y de las células tumorales del sistema nervioso; y procedimiento de obtención de estos oligosacáridos.**

③⑩ Prioridad: **13.11.91 ES 9102522**

④⑤ Fecha de la publicación de la mención BOPI:  
**16.05.98**

④⑤ Fecha de la publicación del folleto de patente:  
**16.05.98**

⑦③ Titular/es: **Consejo Superior de  
Investigaciones Científicas  
Serrano, 117  
E-28006 Madrid, ES**

⑦② Inventor/es: **Santos Benito, Fernando F.;**  
**Nieto Sampedro, Manuel;**  
**Fernández-Mayoralas, Alfonso y**  
**Martín Lomas, Manuel**

⑦④ Agente: **Ungría López, Javier**

**Aviso:** En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (artº 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCION

La invención se refiere a oligosacáridos y a preparaciones medicinales que contienen ingredientes orgánicos activos.

La muerte o lesión neuronal está siempre asociada con un aumento en el número, tamaño y apariencia fibrosa de los astrocitos. La transición de los astrocitos del estado quiescente al estado reactivo tiene gran importancia desde el punto de vista clínico porque da lugar a la formación de la cicatriz glial, un proceso que es uno de los principales problemas con que se enfrenta la recuperación funcional del sistema nervioso central. Después de una lesión, la proliferación de astrocitos precede al crecimiento de axones e inhibe su paso a través del área afectada, lo que hace imposible el restablecimiento de las sinapsis. Por tanto, la reparación del sistema nervioso central requiere la intervención externa para modificar el desarrollo relativo de la proliferación glial y el crecimiento axonal. Así, resulta de gran importancia la purificación de las sustancias naturales involucradas en el control de la división de las células gliales o en la síntesis de moléculas similares a dichas sustancias naturales.

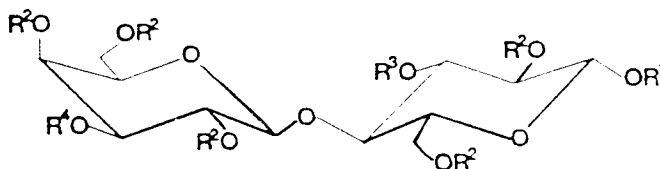
En estudios recientes hemos demostrado la existencia en el cerebro de rata sana de inhibidores de la mitosis de astrocitos cuyos niveles disminuyen considerablemente después de la aparición de una lesión. También hemos postulado que el dominio estructural responsable de tal inhibición podría ser un carbohidrato complejo relacionado con los grupos sanguíneos A H o Lewis (Nieto-Sampedro, M. y Broderick, J.T. (1988). A soluble brain molecule related to epidermal growth factor receptor is a mitogen inhibitor for astrocytes. *J. Neurosci. Res.* 22: 28-35). Además hemos comprobado que oligosacáridos de estructuras similares a los grupos sanguíneos son capaces de inhibir la proliferación de astrocitos "in vitro".

La patente Europea EP 0394971 (31 de Octubre de 1990) reivindica el uso de "inhibidores, conteniendo oligosacáridos, del crecimiento de células endoteliales y angiogénesis". La patente se refiere a compuestos que contienen 6-8 sacáridos en su molécula. Puede también citarse la patente Europea EP 0208623 (14 de Enero de 1987) titulada "The use of O- poly- and oligosaccharides for the obtention of active medicaments for the pathology of conjunctival tissues".

Los compuestos de la presente invención son nuevos y por consiguiente no hay nada publicado hasta ahora referente a su síntesis.

La presente invención se refiere, según se reivindica, a oligosacáridos que actúan como inhibidores de la mitosis de astrocitos y células tumorales del sistema nervioso, análogos probablemente de inhibidores naturales, y describe su actividad inhibidora así como métodos para obtener los oligosacáridos.

Se han preparado trisacáridos de fórmula general 8 y tetrasacáridos de fórmula general 13 a partir de  $\beta$ -lactósidos de fórmula general 1. Los intermediarios comunes para la síntesis de productos de tipo 8 y 13 (compuestos de fórmula general 2) han sido los 3'-O-*alil*- $\beta$ -lactósidos obtenidos a partir de la fórmula general 1 después de la activación selectiva de la posición 3' con óxidos de alquil estaño y posterior alilación. La bencilación controlada de los compuestos de tipo 2 da lugar a la aparición de compuestos perbencilados (3) y a productos parcialmente bencilados (4). Los compuestos de tipo 3 se han utilizado en la síntesis de los trisacáridos de tipo 8, mientras que los compuestos de tipo 4 se han utilizado en la síntesis de los tetrasacáridos de tipo 13.



- (1)  $R^1 = C_1-C_8$  n-alquilo, o  $(CH_2)_7-CO_2Me$ , o  $(CH_2)_7NCBz$ , o arilo  
 $R^2 = R^3 = R^4 = H$
- (2)  $R^1 = C_1-C_8$  n-alquilo, o  $(CH_2)_7-CO_2Me$ , o  $(CH_2)_7NCBz$ , o arilo  
 $R^2 = R^3 = H$ ,  $R^4 =$  alilo
- (3)  $R^1 = C_1-C_8$  n-alquilo, o  $(CH_2)_7-CO_2Me$ , o  $(CH_2)_7NCBz$ , o arilo  
 $R^2 = R^3 =$  bencilo,  $R^4 =$  alilo

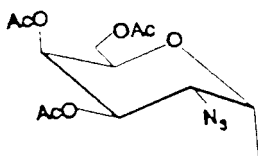
## ES 2 113 963 T3

(4)  $R^1 = C_1-C_8$  n-alquilo, o  $(CH_2)_7-CO_2Me$ , o  $(CH_2)_7NCBz$ , o arilo  
 $R^2 =$  bencilo,  $R^3 = H$ ,  $R^4 =$  alilo

(5)  $R^1 = C_1-C_8$  n-alquilo, o  $(CH_2)_7-CO_2Me$ , o  $(CH_2)_7NCBz$ , o arilo  
 $R^2 = R^3 =$  bencilo,  $R^4 = H$

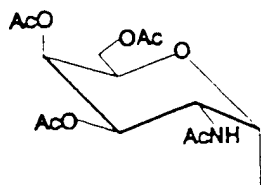
(6)  $R^1 = C_1-C_8$  n-alquilo, o  $(CH_2)_7-CO_2Me$ , o  $(CH_2)_7NCBz$ , o arilo

$R^2 = R^3 =$  bencilo,  $R^4 =$



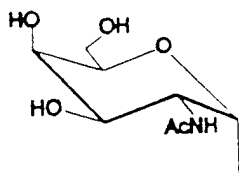
(7)  $R^1 = C_1-C_8$  n-alquilo, o  $(CH_2)_7-CO_2Me$ , o  $(CH_2)_7NCBz$ , o arilo

$R^2 = R^3 = H$ ,  $R^4 =$



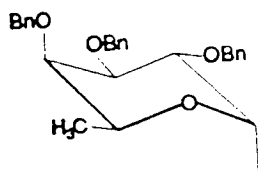
(8)  $R^1 = C_1-C_8$  n-alquilo, o  $(CH_2)_7-CO_2Me$ , o  $(CH_2)_7NCBz$ , o arilo

$R^2 = R^3 = H$ ,  $R^4 =$



(9)  $R^1 = C_1-C_8$  n-alquilo, o  $(CH_2)_7-CO_2Me$ , o  $(CH_2)_7NCBz$ , o arilo

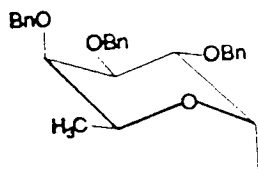
$R^2 =$  bencilo,  $R^3 =$



$R^4 =$  alilo

(10)  $R^1 = C_1-C_8$  n-alquilo, o  $(CH_2)_7-CO_2Me$ , o  $(CH_2)_7NCBz$ , o arilo

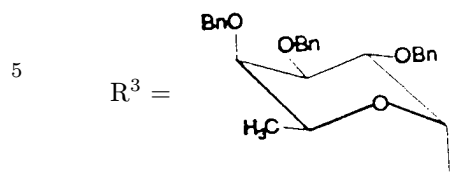
$R^2 =$  bencilo,  $R^3 =$



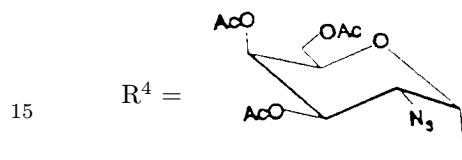
$R^4 = H$

ES 2 113 963 T3

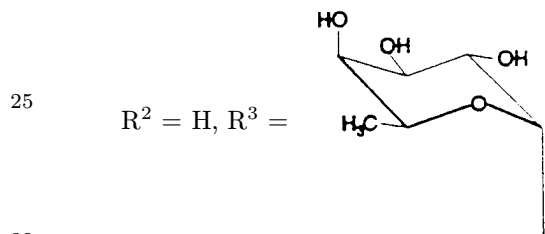
(11)  $R^1 = C_1-C_8$  n-alquilo, o  $(CH_2)_7-CO_2Me$ , o  $(CH_2)_7NCBz$ , o arilo,  $R^2 =$  bencilo,



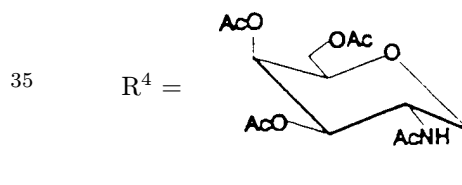
10



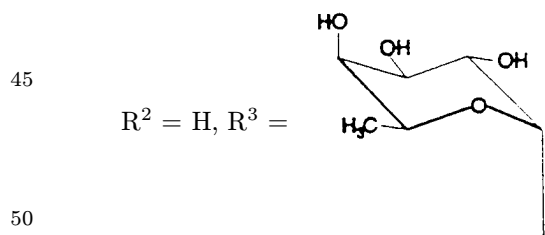
20 (12)  $R^1 = C_1-C_8$  n-alquilo, o  $(CH_2)_7-CO_2Me$ , o  $(CH_2)_7NCBz$ , o arilo



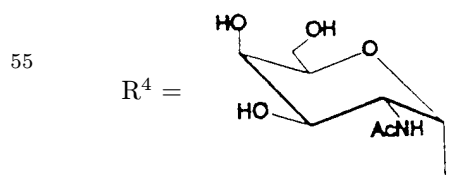
30



40 (13)  $R^1 = C_1-C_8$  n-alquilo, o  $(CH_2)_7-CO_2Me$ , o  $(CH_2)_7NCBz$ , o arilo



50



60

Los compuestos de fórmula general 3 se han sometido a desalilación para obtener compuestos de tipo 5 que se han glicosilado con un donador de 2-azida-2-desoxi-alfa-D-galactopiranosilo, dando los trisacáridos

protegidos de tipo 6. La reducción del grupo azida junto con la desbencilación y acetilación simultánea del grupo amino dio lugar a intermedios del tipo 7 que, tras O-desacetilación, condujeron a la formación de los trisacáridos de tipo 8.

5 Los compuestos de fórmula general 4 se han glicosilado con un donador de alfa-D-fucopiranosilo para dar los trisacáridos protegidos de tipo 9 que por desalilación han conducido a los compuestos de fórmula general 10. Los compuestos de tipo 10 se han sometido a una segunda reacción de glicosilación con un donador de 2-azida-2-desoxi-alfa-D-galactopiranosilo para dar los tetrasacáridos protegidos de tipo 11. La desbencilación de los productos de tipo 11 con reducción concomitante del grupo azida y la N-acetilación  
10 simultánea del grupo amino condujo a los intermedios de tipo 12 que por O-desacetilación dieron lugar finalmente, a los tetrasacáridos de tipo 13.

La actividad inhibitoria de los oligosacáridos sintetizados se ha investigado analizando sus efectos sobre la incorporación de timidina al ADN en diferentes células del sistema nervioso durante el proceso de  
15 división celular. Los resultados indican que los compuestos de este tipo tienen una potencial aplicación como inhibidores de la división celular, particularmente para el control de la aparición de la cicatriz glial y en el tratamiento de tumores del sistema nervioso.

Los siguientes ejemplos ilustran realizaciones del proceso sintético y muestran las mediciones de la  
20 actividad biológica con algunos de los productos preparados.

Ejemplos

#### *Preparación del trisacárido 8*

25 Una mezcla de metil  $\beta$ -lactósido (1 con  $R^1 = \text{Me}$ , 15,26 g, 45,24 mmoles), óxido de dibutilestano (14,62 g, 58,75 mmoles) y un tamiz molecular tipo 3A (58 g) en acetonitrilo (975 ml) se calentó a reflujo con agitación durante 14 h. Posteriormente, se añadieron bromuro de tetrabutilamonio (7,21 g, 22,38 mmoles) y bromuro de alilo (55,2 g, 0,45 moles) y se llevó a cabo el proceso de calentamiento. Al cabo de  
30 9 horas, se añadió más bromuro de tetrabutilamonio (2,4 g, 7,5 mmoles) y bromuro de alilo (19 g, 0,15 mmoles) y se dejó continuar la reacción durante 14 horas adicionales. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado obtenido se concentró en condiciones de sequedad. Al residuo se adicionó acetato de etilo y el precipitado sólido de metil 3'-alil- $\beta$ -lactósido (2 con  $R^1 = \text{Me}$ , 7,27 g) se filtró. El filtrado se concentró y al residuo resultante se adicionó metanol hasta la aparición de un sólido cristalino que fue filtrado y  
35 desechado. El filtrado se evaporó hasta sequedad y se fraccionó en una columna de gel de sílice empleando acetato de etilo-metanol (6:1  $\rightarrow$  3:2) como eluyente. Se obtuvo una fracción que contiene 2 (5,82 g) que se juntó con la cantidad obtenida anteriormente.

El compuesto 2 (5 g, 14 mmoles) se trató con cloruro de bencilo (30 ml) en presencia de hidróxido  
40 de potasio (9 g) y la mezcla se calentó a 100°C durante 30 minutos. Transcurrido este tiempo, se dejó enfriar, se diluyó con cloroformo (150 ml) y se lavó sucesivamente con agua,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1 M y agua. La disolución clorofórmica se secó ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) y evaporó. El residuo se pasó a través de una columna de gel de sílice empleando hexano-acetato de etilo (1:0  $\rightarrow$  4:1) como eluyente. Se obtuvo primero el compuesto 3 ( $R^1 = \text{Me}$ ) (4,90 g, 41 %) y a continuación el compuesto 4 ( $R^1 = \text{Me}$ ) (2,92 g, 28 %).  
45

El compuesto 3 (5 g, 5,34 mmoles) se disolvió en una mezcla de acetato de etilo-etanol-ácido acético-agua (2:2:1:1, 60 ml) y se calentó a 80-90°C con agitación en presencia de catalizador de Pd al 10 % sobre carbón activo (200 mg). Al cabo de 10 horas, el Pd/C se filtró, se lavó con cloroformo y el filtrado y las aguas de lavado se juntaron y lavaron con una solución acuosa de  $\text{NaHCO}_3$  y, posteriormente, con agua.  
50 La fase orgánica se concentró y el residuo se cromatografió en una columna de gel de sílice (hexano-acetato de etilo 5:1  $\rightarrow$  3:1) para obtener 5 ( $R^1 = \text{Me}$ ) (2,61 g, 55 %).

Una mezcla de 5 (1,5 g, 1,67 mmoles), cianuro de mercurio (2,41 g, 9,53 mmoles), bromuro de mercurio (3,48 g, 9,65 mmoles) y tamiz molecular tipo 4A en diclorometano (85 ml), se agitó a temperatura  
55 ambiente bajo atmósfera de argón durante 1 hora. Al cabo de este tiempo, se adicionó 3,4,6-tri-O-acetil-2-azida-desoxi-alfa-D-galactopiranosilo (0,77 g, 1,95 mmoles) disuelto en diclorometano (5 ml) mientras continuaba la agitación. Pasadas 13 y 22 horas, se adicionó más galactopiranosilo (0,85 g, en cada adición) y la reacción se dejó estar durante 60 horas, tras lo cual se filtró y el filtrado se lavó sucesivamente con soluciones acuosas de NaI al 10 %,  $\text{NaHCO}_3$  saturada y agua. La fase orgánica se secó ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) y eva-  
60 poró. El jarabe resultante se pasó a través de una columna de gel de sílice (hexano-acetato de etilo 3:1  $\rightarrow$  7:4 para dar lugar a 6 ( $R^1 = \text{Me}$ ) (1,7 g, 87 %) como un jarabe.  $[\alpha]_D + 61,2^\circ$  ( $c = 0,7$ , cloroformo).

El compuesto 6 (1,75 g, 1,45 mmoles) disuelto en etanol (100 ml), en presencia de anhídrido acético (2 ml) se hidrogenó empleando catalizador de paladio sobre carbón activo (1 g) durante 4 días. La suspensión se filtró sobre Celita<sup>®</sup> y el filtrado se concentró a sequedad para dar un jarabe que se purificó sobre una columna de gel de sílice (cloroformo-metanol 8:1). Se obtuvo el compuesto 7 ( $R^1 = \text{Me}$ ) (0,75 g, 75%). P.f. 149-151°C,  $[\alpha]_D + 94,0^\circ$  ( $c = 0,6$ , metanol). Este compuesto se disolvió en una solución 0,1 M de metóxido de sodio en metanol (4 ml) a temperatura ambiente y se dejó estar durante 30 minutos; a continuación se trató con Amberlita<sup>®</sup> IR-120 ( $H^+$ ) hasta que alcanzó un punto neutro; también se filtró y se concentró a sequedad para dar el trisacárido 8 ( $R^1 = \text{Me}$ ) (0,54 g, 95%), como un sólido. P.f. 293-298°C,  $[\alpha]_D + 124,5^\circ$  ( $c = 0,5$ , agua).

#### Preparación del tetrasacárido 13

Una mezcla de 4 ( $R^1 = \text{Me}$ ) (2,94 g, 3,48 mmoles) (obtenido de la bencilación de 2), bromuro de mercurio (0,4 g, 1,11 mmoles), tamiz molecular 4Å (5,7 g) en diclorometano (40 ml) se agitó a temperatura ambiente durante una hora. Pasado este tiempo, se adicionó lentamente bromuro de 2,3,4-tri-O-bencil-L-fucopiranosilo (2,4 g, 4,83 mmoles) disuelto en diclorometano (40 ml) durante 5 horas y se continuó la agitación durante 1 hora adicional, tras lo cual, la mezcla de reacción se filtró sobre Celita<sup>®</sup>, se lavó sucesivamente con soluciones acuosas de KI al 10%,  $\text{NaHCO}_3$  saturada y agua. La fase orgánica se secó ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) y evaporó a sequedad. El residuo siruposo se pasó a través de una columna de gel de sílice (hexano-acetato de etilo 5:1) para obtener 9 ( $R^1 = \text{Me}$ ) (3,94 g, 84%) como un jarabe.  $[\alpha]_D - 40,3^\circ$  ( $c = 0,7$ , cloroformo).

El compuesto 9 (3,57 g, 2,83 mmoles) disuelto en acetato de etilo (28 ml) y etanol 95% (140 ml), se trató con ácido p-toluensulfónico (0,28 g) y un catalizador de paladio sobre carbón activado (0,52 g). La mezcla se calentó a 80°C con agitación durante 1 hora y media, después de lo cual se filtró sobre Celita<sup>®</sup>, y se evaporó después de la adición de trietilamina (0,5 ml). El jarabe resultante se cromatógrafió sobre una columna de gel de sílice (hexano-acetato de etilo 4:1) dando lugar a 10 ( $R^1 = \text{Me}$ ) (2,24 g, 65%),  $[\alpha]_D - 40,8^\circ$  ( $c = 0,6$ , cloroformo).

Una mezcla de 10 (2,12 g, 1,73 mmoles), cianuro de mercurio (2,1 g, 8,31 mmoles), bromuro de mercurio (3,04 g, 8,43 mmoles), tamiz molecular de 4Å (11,4 g) en diclorometano (76 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, tras la cual, se añadió una solución de bromuro de 3,4,6-tri-O-acetil-2-azida-2-desoxi-alfa-D-galactopiranosilo (2 g, 5,907 mmoles) disuelto en diclorometano (40 ml) mientras se continuó la agitación. Al cabo de 20, 30, 52 y 76 horas, se adicionó más bromuro de galactopiranosilo (0,4, 0,43, 0,23 y 0,2 g, respectivamente) y, después de 92 h, más  $\text{Hg}(\text{CN})_2$  y  $\text{HgBr}_2$  (1,05 y 1,52 g, respectivamente). Pasadas 120 h, la mezcla de reacción se filtró sobre Celita<sup>®</sup> y se lavó con soluciones acuosas de KI al 10%,  $\text{NaHCO}_3$  saturada y agua. La solución orgánica se evaporó hasta sequedad y el residuo se pasó a través de una columna de gel de sílice (hexano-acetato de etilo 3:1  $\rightarrow$  7:4). Se obtuvo entonces el compuesto 11 ( $R^1 = \text{Me}$ ) (2,22 g), impurificado con bromuro de galactopiranosilo, que se aplicó en la siguiente etapa. Esta fracción (2,17 g) se disolvió en etanol absoluto (100 ml) conteniendo anhídrido acético (1,5 ml) y se trató con hidrógeno en presencia de un catalizador de paladio sobre carbón activo (0,5 g) durante 60 h. La suspensión se filtró sobre Celita<sup>®</sup> y se evaporó hasta sequedad. El residuo se fraccionó en una columna de gel de sílice (cloroformo-metanol 6:1) y se obtuvo 12 ( $R^1 = \text{Me}$ ) (0,86 g, 74%) como un sólido. P.f. 162-167°C,  $[\alpha]_D + 28,2^\circ$  ( $c = 0,9$ , metanol).

El compuesto 12 (0,81 g, 0,97 mmoles) se trató con una solución 0,1 M de metóxido de sodio en metanol (150 ml) durante 30 minutos. La mezcla de reacción se neutralizó con Amberlita<sup>®</sup> IR-120 ( $H^+$ ) y se evaporó. Se obtuvo el compuesto 13 ( $R^1 = \text{Me}$ ) (0,69 g, 100%), como un sólido. P.f. 165-167°C,  $[\alpha]_D + 33,8^\circ$  ( $c = 0,4$ , agua).

#### Actividad biológica de los compuestos 8 y 13

La inhibición de la mitosis producida por los oligosacáridos sintetizados se comprobó in vitro midiendo la incorporación de timidina tritiada (Nieto-Sampedro, M. (1987). Astrocyte mitogenic activity in aged normal and Alzheimer's human brain. *Neurobiol. Aging*. 8: 249-2-52) en cultivos de astrocitos preparados según el método de McCarthy y de Vellis (McCarthy, K.D. y de Vellis, J. (1980). Preparation of separate astroglial and oligodendroglial cell cultures from rat cerebral tissue. *J. Cell. Biol.* 85: 890-902) y en cultivos de células tumorales del sistema nervioso. Las Tablas 1 y 2 muestran los ejemplos concretos de las inhibiciones producidas por los compuestos 8 y 13 a diferentes concentraciones sobre astrocitos y sobre las líneas celulares A7 (glioma), N2A y N1E 115 (neuroblastomas).

# ES 2 113 963 T3

TABLA 1

*Inhibición de la incorporación de timidina (% respecto al control) producida en diferentes células por el compuesto 8 ( $R^1 = Me$ )*

5

Conc (nM)	Astrocitos	A7	N2A	N1E 115
1000,0	89,2	79,5	72,1	87,3
500,0	69,6	55,9	53,2	73,8
250,0	51,3	41,3	45,7	54,4
125,0	40,3	19,8	21,6	21,8
62,5	24,8	7,7	9,6	11,3
31,3	16,0	0,0	0,0	0,0
15,6	9,9	0,0	0,0	0,0

10

15

TABLA 2

*Inhibición de la incorporación de timidina (% respecto al control) producida en diferentes células por el compuesto 13 ( $R^1 = Me$ )*

25

Conc (nM)	Astrocitos	A7	N2A	N1E 115
1000,0	100,0	90,5	100,0	100,0
500,0	95,4	79,2	95,1	96,4
250,0	83,1	69,4	73,8	64,4
125,0	57,8	36,5	46,3	40,8
62,5	47,9	23,1	38,2	22,6
31,3	35,2	18,8	11,2	8,9
15,6	18,7	9,8	4,1	0,0

30

35

40

45

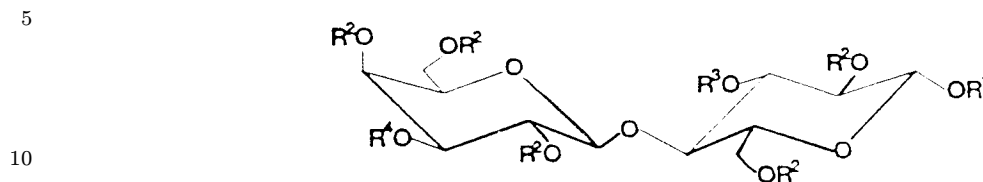
50

55

60

## REIVINDICACIONES

1. Oligosacáridos de fórmula general:



donde

15  $R^1 = C_1-C_8$  n-alquilo, o  $(CH_2)_7-CO_2Me$ , o  $(CH_2)_7NCBz$ , o arilo

$R^2 = H$ ,

20  $R^3 = H$ , o



y

35  $R^4 =$



2. Proceso para preparar oligosacáridos de fórmula según la reivindicación 1, **caracterizado** porque comprende las etapas de:

(a) alilación selectiva de un  $\beta$ -lactósido de fórmula general  $\beta$ -D-Gal-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-Glc-R, donde Gal = galactosa, Glc = glucosa, R es seleccionado de  $C_1-C_8$  n-alquilo, o  $(CH_2)_7-CO_2Me$  o  $(CH_2)_7NCBz$  o arilo, en la posición 3';

(b) bencilación de los 3'-O-alil  $\beta$ -lactósidos resultantes para formar dos tipos de productos, siendo alguno de los cuales bencilados totalmente por la utilización en la preparación de trisacáridos de fórmula general  $\alpha$ -D-GalNAc-(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-Gal-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-Glc-R donde GalNAc=N-acetilgalactosamina, siendo otros parcialmente bencilados, no siendo bencilada la posición 3, para utilización en la preparación de tetrasacáridos de fórmula general  $\alpha$ -D-GalNAc-(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-Gal-(1 $\rightarrow$ 4)-[ $\alpha$ -L-Fuc-(1 $\rightarrow$ 3)]- $\beta$ -D-Glc-R, donde Fuc=fucosa;

(c) desalilación de los  $\beta$ -lactósidos totalmente bencilados;

(d) sometimiento del producto de etapa (c) a  $\alpha$ -glicosilación estereoselectiva de la posición 3' con un donador de 2-azida-2-desoxi- $\alpha$ -D-galactopiranosilo, para formar trisacáridos protegidos de fórmula general



## ES 2 113 963 T3

$\alpha$ -D-GalN<sub>3</sub>-(1→3)- $\beta$ -D-Gal-(1→4)- $\beta$ -D-Glc-R, donde GalN<sub>3</sub>=2-azida-2-desoxigalactosa;

(e) reducción de los trisacáridos protegidos;

5 (f) desbencilación, N-acetilación y O-desacetilación para formar trisacáridos de fórmula general  $\alpha$ -D-GalNAc-(1→3)- $\beta$ -D-Gal-(1→4)- $\beta$ -D-Glc;

(g) sometimiento de los  $\beta$ -lactósidos no bencilados en la posición 3 a una  $\alpha$ -glicosilación estereoselectiva para formar trisacáridos protegidos de fórmula  $\beta$ -D-Gal-(1→4)-[ $\alpha$ -L-Fuc-(1→3)]- $\beta$ -D-Glc-R;

10

(h) desalilación de los trisacáridos;

(i)  $\alpha$ -glicosilación estereoselectiva con un donador de 2-azida-2-desoxi- $\alpha$ -D-galactopiranosilo para formar tetrasacáridos protegidos de fórmula  $\alpha$ -D-GalN<sub>3</sub>-(1→3)- $\beta$ -D-Gal-(1→4)-[ $\alpha$ -L-Fuc-(1→3)]- $\beta$ -D-Glc-R;

15

(j) desbencilación, reducción y N-acetilación de los productos de la etapa (i) para formar tetrasacáridos de fórmula general  $\alpha$ -D-GalNAc-(1→3)- $\beta$ -D-Gal-(1→4)-[ $\alpha$ -L-Fuc-(1→3)]- $\beta$ -D-Glc-R.

20 3. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 2, **caracterizado** porque en la etapa (a) la posición 3' de los  $\beta$ -lactósidos, preferiblemente del metil  $\beta$ -lactósido, se alila selectivamente con un haluro de alilo, preferiblemente bromuro de alilo, en acetonitrilo, después de la activación con óxidos de alquil estaño en presencia de un tamiz molecular.

25 4. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 2, **caracterizado** porque en la etapa (b) los 3'-O-alil- $\beta$ -lactósidos son protegidos de manera controlada empleando un haluro de bencilo, preferiblemente cloruro de bencilo, en presencia de una base, preferiblemente hidróxido de potasio, a una temperatura de 100°C.

30 5. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 2, **caracterizado** porque en la etapa (c) el 3-O-alil  $\beta$ -lactósido bencilado es disuelto en una mezcla homogénea de solventes y calentando a 80-90°C en presencia de rodio, iridio, o paladio sobre carbón activo.

35 6. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 2, **caracterizado** porque en la etapa (d) se lleva a cabo una  $\alpha$ -glicosilación con haluro o tricloroacetimidato de 3,4,6-tri-O-acil-2-azida-2-desoxi-D-galactopiranosilo en presencia de ácidos de Lewis, particularmente trifluoruro de boro eterato o triflato de trimetil sililo.

40 7. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 2, **caracterizado** porque las etapas (e) y (f) comprenden la desbencilación y reducción simultáneas del grupo azida y la acetilación de la amina resultante por la acción del hidrógeno en presencia de un catalizador de paladio sobre carbón activo y de anhídrido acético.

45 8. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 2, **caracterizado** porque la etapa (f) comprende la O-desacetilación con metóxido de sodio en metanol, para obtener el trisacárido correspondiente.

50 9. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 2, **caracterizado** porque la etapa (g) comprende la  $\alpha$ -fucosilación selectiva por un haluro o tricloroacetimidato de 2,3,4-tri-O-bencil fucopiranosilo en presencia de un catalizador de plata o mercurio o de un ácido de Lewis, particularmente trifluoruro de boro eterato o triflato de trimetil sililo.

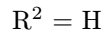
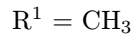
10. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 2, **caracterizado** porque la etapa (h) comprende la desalilación de los trisacáridos por un catalizador de rodio, un catalizador de iridio o un catalizador de paladio sobre carbón activo, en presencia de ácido p-toluensulfónico.

55 11. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 2, **caracterizado** porque la etapa (i) comprende la glicosilación por un haluro o tricloroacetimidato de 3,4,6-tri-O-acil-2-desoxi-D-galactopiranosilo, en presencia de un ácido de Lewis, particularmente trifluoruro de boro eterato o triflato de trimetil sililo.

60 12. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 2, **caracterizado** porque la etapa (j) comprende la desbencilación y reducción simultánea del grupo azida y la acetilación de la amina resultante por la acción del hidrógeno en presencia de un catalizador de paladio y anhídrido acético.

13. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 2, **caracterizado** porque comprende además la O-desacetilación con metóxido de sodio en metanol, en presencia de Amberlita<sup>®</sup>, para la obtención del tetrasacárido correspondiente.

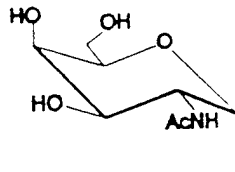
5 14. Oligosacáridos de acuerdo con la reivindicación 1, donde



10  $R^3 = H$



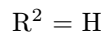
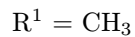
15



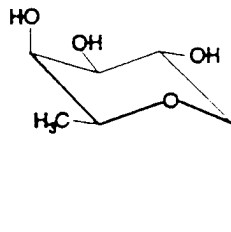
20

15. Oligosacáridos de acuerdo con la reivindicación 1, donde

25



30  $R^3 =$

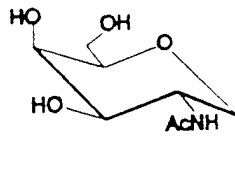


35

40



45



50

55 16. Composiciones farmacéuticas útiles para el tratamiento de células tumorales del sistema nervioso que contienen un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1, 14 ó 15.

17. Composiciones farmacéuticas útiles para el tratamiento de la cicatriz glial que contienen un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1, 14 ó 15.

60 18. Composiciones farmacéuticas útiles para la inhibición de la mitosis de los astrocitos que contienen un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1, 14 ó 15.

19. Utilización de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1, 14 ó 15, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de células tumorales del sistema nervioso.

20. Utilización de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1, 14 ó 15, en la  
5 fabricación de un medicamento útil para el tratamiento de la cicatriz glial.

21. Utilización de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1, 14 ó 15, en la fabricación de un medicamento útil para la inhibición de la mitosis de los astrocitos.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

---

**NOTA INFORMATIVA:** Conforme a la reserva del art. 167.2 del Convenio de Patentes Europeas (CPE) y a la Disposición Transitoria del RD 2424/1986, de 10 de octubre, relativo a la  
55 aplicación del Convenio de Patente Europea, las patentes europeas que designen a España y solicitadas antes del 7-10-1992, no producirán ningún efecto en España en la medida en que confieran protección a productos químicos y farmacéuticos como tales.

60

Esta información no prejuzga que la patente esté o no incluida en la mencionada reserva.

---