



**Facultad de Química
Departamento de Química Orgánica
Universidad de Sevilla**

**Síntesis de Ciclodextrinas Multivalentes y
Evaluación de sus propiedades como Sistemas
Transportadores de Fármacos.**

Marta Gómez García
Sevilla, Febrero 2005



**Facultad de Química
Departamento de Química Orgánica
Universidad de Sevilla**

**Síntesis de Ciclodextrinas Multivalentes y
Evaluación de sus propiedades como Sistemas
Transportadores de Fármacos.**

Memoria presentada por la
Licenciada Marta Gómez García
para optar al grado de Doctor en Química.

Sevilla, Febrero 2005

El presente trabajo ha sido realizado por la Lcda. Marta Gómez García en el Departamento de Química Orgánica de la Facultad de Química de la Universidad de Sevilla, bajo la dirección la Dra. Carmen Ortiz Mellet, Profesora Titular de la Universidad de Sevilla, y del Dr. José Manuel García Fernández, Investigador Científico del Consejo Superior de Investigaciones Científicas.

La directora del trabajo

El director del trabajo

Fdo.: Dra. Carmen Ortiz Mellet

Fdo: Dr. José Manuel García Fernández

Deseo expresar mi agradecimiento:

A mis directores, la Dra. Carmen Ortiz Mellet, Profesora Titular del Departamento de Química Orgánica de la Facultad de Química, de la Universidad de Sevilla y el Dr. Jose Manuel García Fernández, Investigador Científico del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, por la ayuda que me han prestado para la realización de esta Tesis Doctoral, y sobre todo por la amplia dedicación que han mostrado en todo momento. Asimismo, quisiera agradecerles por todo lo que de ellos he aprendido durante estos años, que me ha permitido la realización de este trabajo de investigación.

A mis compañeros, Jose Luis, Juanma, Enrique, David, Puri, Patricia, Carlos, Matilde, Alejandro y en especial a Maribel y Paula por toda su ayuda y sus buenos consejos. Gracias a todos por los buenos momentos que hemos pasado juntos en el laboratorio durante estos años.

Al Dr. Ricardo Gutiérrez Gallego del Instituto Municipal de Investigación Médica en Barcelona (IMIM) y del Departamento de Ciencias de la Salud y Experimentales de la Universidad Pompeu Fabra (UPF) por la realización de los espectros de masas (MALDI-TOF).

Al Dr. Antonio Márquez Cabeza, Profesor Titular del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Química, de la Universidad de Sevilla, y a los miembros de su grupo por las facilidades dadas para la realización de los ensayos biológicos.

Al Dr. Antonio Navío Santos, Profesor Titular del Departamento de Inorgánica de la Facultad de Química, de la Universidad de Sevilla y al Dr. Gerardo Colón Ibáñez del Instituto de Investigaciones Químicas del CSIC por las facilidades prestadas para los experimentos de irradiación ultravioleta.

A los servicios de Microanálisis, Espectrometría de Masas y Resonancia Magnética Nuclear del CSIC y de la Universidad de Sevilla.

A mis compañeros del Departamento por las animadas charlas que hemos tenido durante este tiempo.

A mis amigas de la Facultad, Cristina, Laura, y Esther por su amistad y cariño.

A mis padres, Antonio y Lola, y mis hermanos, Nela y Antonio, por todo el cariño con el que me han ayudado, ya no sólo durante el tiempo de preparación de ésta Tesis Doctoral, sino en todos los pasos que he tenido que seguir hasta aquí.

Me gustaría hacer un agradecimiento especial a mi novio Javier por estar a mi lado en todo momento y por todo su cariño que me ha sido fundamental durante estos años.

Esta Tesis ha sido realizada gracias a la financiación del proyecto BMC2001-2366-C03-03 del Ministerio de Educación y Ciencia. También quisiera agradecer al MEC por la concesión de una beca del Programa de Formación de Profesorado Universitario.

A mis padres

ABREVIATURAS.

Ac: acetilo.

Az: azúcar.

ABTS: ácido 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico).

AIBN: azo-bis(isobutironitrilo).

Boc: *terc*-butoxicarbonil.

BSA: albúmina de suero bovino.

c.c.f.: cromatografía en capa fina.

CDs: ciclodextrinas.

GPC: cromatografía de permeación sobre gel.

Con A: Concanavalina A.

Con A-HRP: Concanavalina A marcada con peroxidasa de rábano picante.

Cbz: benciloxicarbonil.

COSY: Correlated Spectroscopy.

DHB: ácido 2,5-dihidroxibenzoico.

DMAP: 4-(*N,N*-dimetilamino)piridina.

DMF: *N,N*-dimetilformamida.

DMSO: dimetilsulfóxido.

ELLA: Enzyme Linked Lectin Assay.

EM (CI): Espectrometría de Masas (Ionización Química).

EM (FAB): Espectrometría de Masas (Bombardeo con Átomos Rápidos).

EM (MALDI): Espectrometría de Masas (Desorción/Ionización con Láser Asistida por Matriz).

EM (ESI): Espectrometría de Masas (Ionización por Electrospray).

h ν : irradiación con luz ultravioleta.

HSQC: ¹H-detection mode Hetero Single-Quantum Correlation.

IR: Espectroscopía Infrarroja.

m/z: relación masa/carga.

Me: metilo.

MW: microondas.

NIS: *N*-yodosuccinimida.

Ph: fenilo.

Py: piridina.

PBS: disolución tampón fosfato.

PBST: disolución de Tween 20 en tampón fosfato.

Rend.: rendimiento.

RMN: Resonancia Magnética Nuclear.

ROESY: Rotating Frame Overhauser Enhancement Spectroscopy.

t.a.: temperatura ambiente.

TFA: ácido trifluoroacético.

TfOTMS: triflato de trimetilsililo.

Tf₂O: anhídrido triflico.

TMS: tetrametilsilano.

TPP: trifenilfosfina.

TOCSY: Totally Correlated Spectroscopy.

TREN: tris(2-aminoetil)amina.

ÍNDICE GENERAL.

1.	INTRODUCCIÓN.	1
2.	CONJUGADOS DE CICLODEXTRINAS. ANTECEDENTES.	31
2.1.	CICLODEXTRINAS MONOSUSTITUIDAS.	33
2.2.	CICLODEXTRINAS POLISUSTITUIDAS.	40
2.3.	CICLODEXTRINAS DENDRÍTICAS.	47
3.	CICLODEXTRINAS DENDRÍTICAS. NUEVAS INVESTIGACIONES.	55
3.1.	SÍNTESIS.	57
3.2.	EVALUACIÓN DE LA AFINIDAD FRENTE A LA LECTINA CONCAVALINA A.	58
3.3.	EFEECTO DE LA VALENCIA Y LA DENSIDAD DE LOS GLICOLIGANDOS EN LA AFINIDAD POR LA LECTINA.	61
3.4.	EFEECTO DEL RECEPTOR EN LA AFINIDAD POR LA LECTINA.	63
3.5.	PROPIEDADES DE SOLUBILIZACIÓN Y TRANSPORTE DE FÁRMACOS DE CDS DENDRÍTICAS.	64

4.	CICLODEXTRINAS DIMÉRICAS. ANTECEDENTES.	69
5.	CONJUGADOS DE CICLODEXTRINAS DIMÉRICAS. NUEVAS INVESTIGACIONES.	79
5.1.	SÍNTESIS.	81
5.2.	EVALUACIÓN DE LAS CAPACIDADES DE TRANSPORTE DEL DOCETAXEL Y DE ASOCIACIÓN FRENTE A LA CONCAVALINA A.	98
5.3.	ESTUDIO COMPARATIVO DE LAS PROPIEDADES DE TRANSPORTE DE CDS DENDRÍTICAS Y DIMÉRICAS.	100
5.4.	EXPERIMENTOS DE TRANSPORTE DE CONJUGADOS POLIMANOSILADOS DE CDS DENDRÍTICAS Y DIMÉRICAS A MACRÓFAGOS.	102
6.	SISTEMAS MODELO PARA EL ESTUDIO DE INTERACCIONES CARBOHIDRATO-PROTEÍNA. ANTECEDENTES.	107
6.1.	SISTEMAS MULTIVALENTES HOMOGÉNEOS.	111
6.2.	SISTEMAS MULTIVALENTES HETEROGÉNEOS.	122
7.	CICLODEXTRINAS HIPERRAMIFICADAS COMO MODELOS DEL GLICOCÁLIX. NUEVAS INVESTIGACIONES.	125
7.1.	PREPARACIÓN DE HETEROGLICODENDRONES.	128
7.2.	REACTIVIDAD DE HETEROGLICODENDRONES DERIVADOS DEL	

	PENTAERITRITOL. SÍNTESIS DE DERIVADOS MONOCONJUGADOS.	133
7.3.	DERIVADOS DE LA CISTEAMINA. SÍNTESIS DE CICLODEXTRINAS HIPERRAMIFICADAS.	136
7.4.	EVALUACIÓN DE INTERACCIONES SECUNDARIAS EN EL PROCESO DE RECONOCIMIENTO CARBOHIDRATO-PROTEÍNA. EL EFECTO HETEROCLUSTER.	153
7.5.	PROPIEDADES DE INCLUSIÓN DE CICLODEXTRINAS HIPERRAMIFICADAS.	158
8.	CONCLUSIONES.	161
9.	PARTE EXPERIMENTAL.	165
9.1.	MÉTODOS GENERALES.	167
9.2.	SUSTANCIAS DE PARTIDA.	173
9.2.1.	Preparación de 6¹-amino-6¹-desoxiciclomaltoheptaosa.	173
9.2.2.	Preparación de Ciclodextrinas dendríticas y modelos.	175
9.2.3.	Preparación de [2-(<i>terc</i>-butoxicarbonilamino)etil-bis(2-isotiocianatoetil)]amina.	175
9.2.4.	Preparación de tris(2,3,4,6-tetra-<i>O</i>-acetil-α-D-manopiranosil-oximetil)metil isotiocianato.	177
9.2.5.	Preparación de [2-azidoetil bis(2-aminoetil)]amina.	179
9.2.6.	Preparación de 2,2,2-tris(2-oxapent-4-enil)etanol.	182
9.2.7.	Preparación de 4-oxahept-6-en-1-ol.	183

9.3.	NUEVOS PRODUCTOS.	184
9.3.1.	Preparación del transportador dimérico funcionalizado y modelo.	184
9.3.2.	Preparación de glicodendrones manosilados con un núcleo de tris(2-aminoetil)amina.	188
9.3.3.	Preparación de conjugados diméricos manosilados.	192
9.3.4.	Preparación de glicodendrones tioglicosilados homovalentes.	208
9.3.5.	Preparación de glicodendrones tioglicosilados heterovalentes y precursores.	216
9.3.6.	Preparación de conjugados monorramificados <i>S</i> -glicosídicos homovalentes.	232
9.3.7.	Preparación de conjugados monorramificados <i>S</i> -glicosídicos heterovalentes.	240
9.3.8.	Preparación de per-(C-6)-cisteaminil β CD y modelo.	249
9.3.9.	Preparación de conjugados manosilados <i>N</i> - y <i>O</i> -glicosídicos hiperramificados.	251
9.3.10.	Preparación de conjugados <i>S</i> -glicosídicos homovalentes hiperramificados.	257
9.3.11.	Preparación de conjugados <i>S</i> -glicosídicos heterovalentes hiperramificados.	279
10.	BIBLIOGRAFÍA.	289
11.	FIGURAS.	307

1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN.

Las células presentan en su superficie una serie de oligosacáridos unidos de modo covalente a lípidos (glicolípidos) o proteínas (glicoproteínas). La porción glucídica de estos glicoconjugados, el “glicocáliz”, codifica una información biológica específica, determinada por su estructura tridimensional, y está implicada en una gran variedad de procesos de comunicación entre la célula y el medio que la rodea. La célula utiliza los oligosacáridos del glicocáliz para identificar desde una toxina a otra célula, pasando por bacterias y virus (Figura 1). El reconocimiento de carbohidratos por otras moléculas o biomoléculas, especialmente receptores proteicos (lectinas), está relacionado con procesos biológicos y patológicos como la defensa inmunológica, la replicación vírica, la adhesión celular, la inflamación, la transducción de señales bioquímicas y los procesos de adhesión de agentes microbianos a la superficie de las células huéspedes potenciales.¹

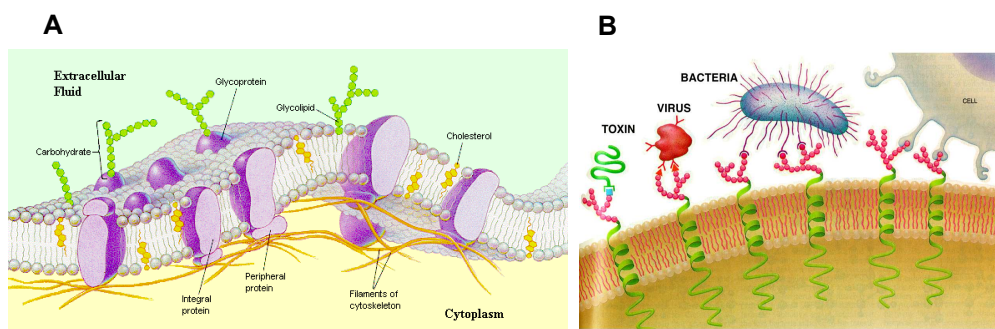


Figura 1. Representaciones esquemáticas de la membrana celular mostrando el glicocáliz (A) y la participación de los oligosacáridos que lo constituyen en diferentes procesos de comunicación celular (B).

La toma de conciencia de la función que desempeñan los carbohidratos como portadores de información biológica ha desencadenado un importante esfuerzo

investigador dirigido a la elucidación de los mecanismos que intervienen en su reconocimiento por lectinas, tanto a nivel molecular como atómico. Las conclusiones se han traducido en el desarrollo de glicofármacos diseñados para interferir en dichos procesos,² para provocar la agregación y eliminación de agentes patogénicos³ o para el tratamiento del cáncer.⁴ Un aspecto que ha despertado un interés creciente en los últimos años es la síntesis y caracterización de derivados de carbohidratos que no sólo actúen como ligandos de receptores celulares específicos, sino que al mismo tiempo puedan actuar como transportadores de fármacos. Los compuestos de este tipo podrían utilizarse como vectores “inteligentes” para conducir un determinado principio activo al órgano o tejido en el que debe actuar, minimizando los posibles efectos secundarios.

Para alcanzar el objetivo anterior deben combinarse varios componentes diseñados para el encapsulamiento del fármaco, su solubilización, estabilización, vectorización, reducción del carácter inmunogénico y de la toxicidad y mejora de la actividad farmacológica entre otros. Algunos de los métodos utilizados son la conjugación de glicoligandos biorreconocibles con proteínas u otros polímeros, la polimerización de monómeros glicosilados o la formación de liposomas a partir de glicolípidos o neoglicolípidos.⁵ Si bien estas aproximaciones han tenido cierto éxito, los productos resultantes tienen una composición y estructura ambiguos, lo que supone un problema a la hora de reproducir los resultados biológicos. Además, esta heterogeneidad impide frecuentemente la posibilidad de desarrollar estudios sistemáticos que permitan racionalizar las consecuencias de modificaciones estructurales en los diferentes componentes del sistema sobre las propiedades finales del mismo.

Una alternativa para la preparación de vectores de fármacos basados en carbohidratos consiste en la unión de los glicoligandos sobre receptores macrocíclicos para obtener compuestos homogéneos de estructura bien definida y un número preciso de epítomos biorreconocibles.⁶ En este contexto, las ciclodextrinas (ciclomaltooligosacáridos, CDs), presentan características únicas especialmente apropiadas para este fin.

Las CDs son carbohidratos no inmunogénicos de origen natural y de alta simetría, esencialmente biocompatibles, y permiten la preparación de una gran variedad de derivados selectivamente funcionalizados a partir de los correspondientes hexa-, hepta- y octámeros (α , β y γ CD, respectivamente; Figura 2) comercialmente asequibles a escala industrial y a precios razonables. Su cavidad hidrofóbica puede incluir otras moléculas orgánicas de tamaño adecuado que, de ese modo, podrían solubilizarse y estabilizarse en agua.

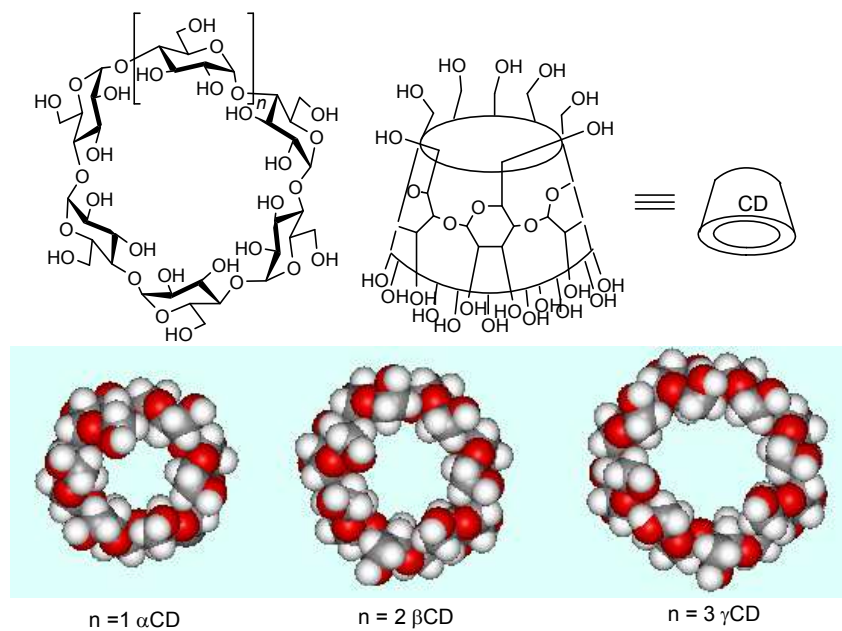


Figura 2. Estructura de las ciclodextrinas (CDs).

Estas características favorables han sido, de hecho, explotadas en la formulación de medicamentos para mejorar la biodisponibilidad de fármacos poco solubles y para proteger la molécula activa de procesos de degradación o evitar que reaccione con otros componentes. Algunos efectos secundarios desagradables, tales como la irritación de

tejidos, el mal sabor o el mal olor, pueden evitarse también usando CDs como transportadores.⁷

A pesar de que las posibilidades de uso de las CDs en la industria farmacéutica son muy elevadas, como también lo es el número de compuestos activos susceptibles de beneficiarse de propiedades farmacocinéticas mejores o de una presentación más apropiada tras su inclusión en una ciclodextrina, el número de formulaciones con CDs actualmente en el mercado no es tan elevado como cabría esperar. Esto se debe a la existencia de inconvenientes asociados al uso de CDs que se derivan fundamentalmente de dos hechos:

(i) una solubilidad en agua de los correspondientes complejos de inclusión demasiado baja, en muchos casos, para aplicaciones biomédicas; y

(ii) el carácter hemolítico de las CDs, sobre todo de la β CD, la más interesante desde el punto de vista industrial.

Para ampliar el rango de aplicaciones posibles, se han desarrollado una serie de CDs modificadas químicamente que se conocen como CDs de segunda generación. Actualmente en el mercado se proponen los derivados metilados de la β CD (DIMEB, TRIMEB y RAMEB), las hidroxipropil- β CDs (HPBCD) y las sulfobutil β CDs (Captisol®), que a su vez han dado lugar a nuevas formulaciones de medicamentos⁸ (Figura 3). En cualquier caso, tanto las CDs canónicas (CDs de primera generación), como las de segunda generación están lejos de poder considerarse transportadores ideales. Éstas últimas se presentan en forma de mezclas de isómeros, lo que supone un inconveniente para usos farmacológicos, y en cualquier caso el transporte sería esencialmente inespecífico, ya que las CDs no poseen en sí mismas la capacidad de reconocimiento a nivel de receptores biológicos en el organismo.

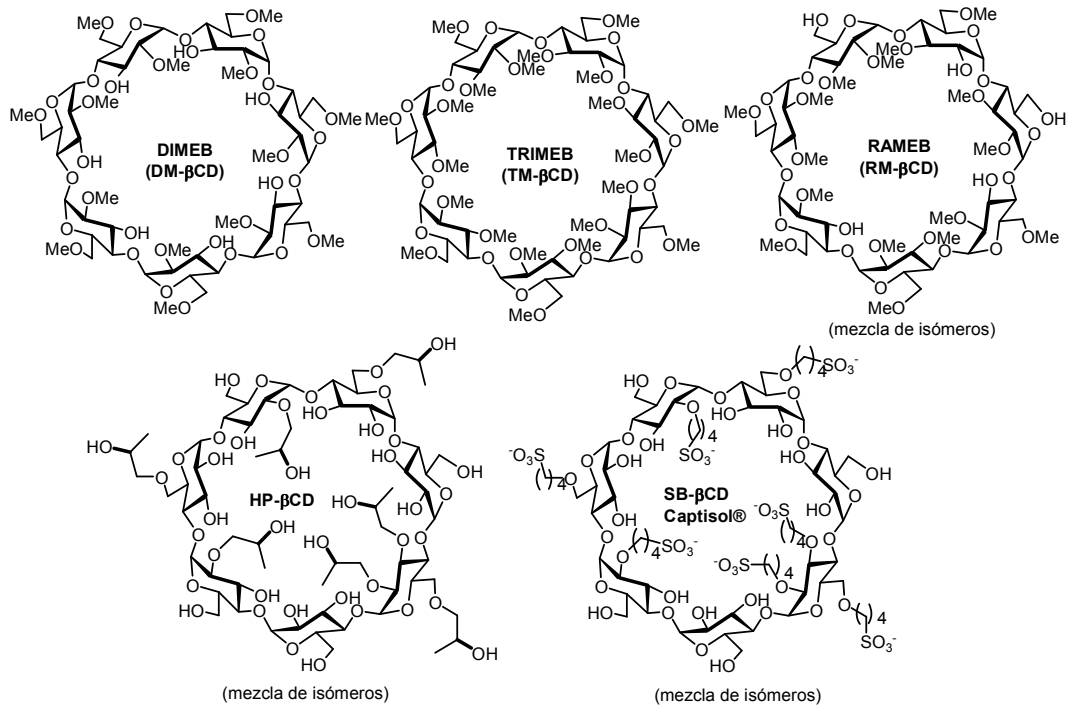


Figura 3. Ciclodextrinas de segunda generación.

Con objeto de superar estas limitaciones se han desarrollado diversas aproximaciones que combinan el desarrollo de métodos selectivos de funcionalización de las CDs con la incorporación de marcadores de reconocimiento biológico, especialmente glucídicos. Los conjugados de tipo CD-glicoligando resultantes (CDs de tercera generación) pueden formar complejos ternarios CD-fármaco-receptor biológico con interacciones simultáneas de tipo receptor-huésped en la cavidad de la CD y carbohidrato-proteína en la membrana de la célula diana (Figura 4).⁹

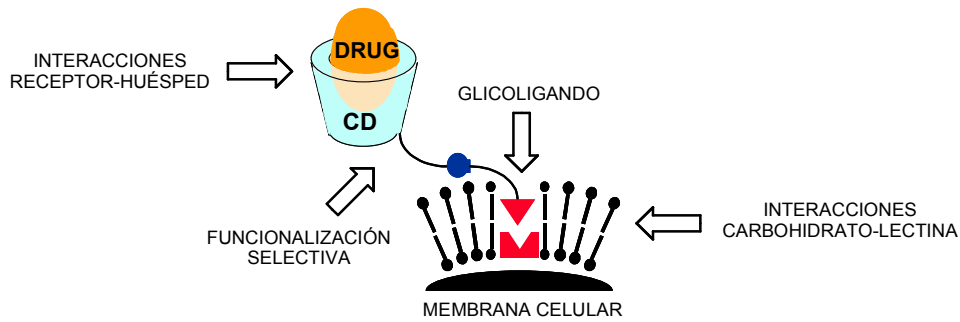


Figura 4. Representación esquemática de las ciclodextrinas de tercera generación y su uso en el transporte vectorizado de medicamentos.

El trabajo realizado en esta Tesis se enmarca en esta estrategia general para el desarrollo de nuevos transportadores específicos de medicamentos basados en la capacidad de inclusión de las ciclodextrinas y la capacidad de reconocimiento de los carbohidratos por lectinas específicas. En concreto, se proponen tres nuevos tipos de ciclodextrinas de tercera generación: CDs dendríticas, conjugados de CDs diméricas y CDs hiperramificadas (Figura 5). Las nuevas investigaciones han conllevado tanto el diseño de los marcadores glucídicos de reconocimiento celular como el desarrollo de nuevos derivados de ciclodextrinas apropiados para su conjugación.

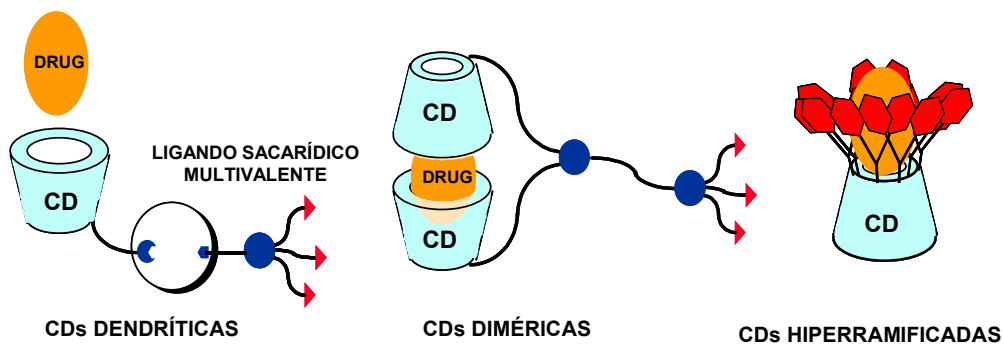


Figura 5. Representación esquemática de los diferentes tipos de conjugados de ciclodextrinas descritos en esta Tesis.

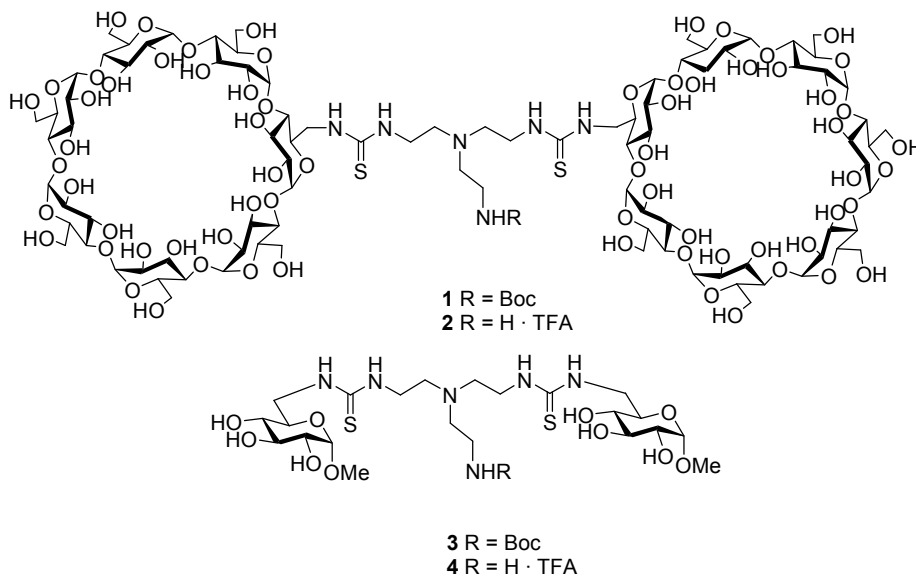
Los objetivos sintéticos se han centrado en el desarrollo de metodologías eficaces y flexibles, que permitan acceder a un número importante de estructuras con un coste sintético relativamente bajo. Esto nos ha permitido realizar estudios de estructura-capacidad de reconocimiento por lectinas y estructura-capacidad de inclusión de fármacos. Las conclusiones apuntan no sólo al elevado potencial de las CDs de tercera generación para la vectorización de medicamentos (anticancerosos en nuestro caso) sino también a la oportunidad que ofrecen las CDs como plataformas especialmente bien adaptadas para el diseño de glicoclústeres y su aplicación en estudios básicos de interacción carbohidrato-proteína.

La preparación de CDs dendríticas ha sido ya objeto de una Tesis Doctoral en nuestro grupo de investigación (ver apartado 9.2.2). En esta Tesis se han vuelto a sintetizar para completar la evaluación de sus propiedades como transportadores de fármacos y realizar un estudio comparativo de las mismas con las nuevas arquitecturas moleculares propuestas.

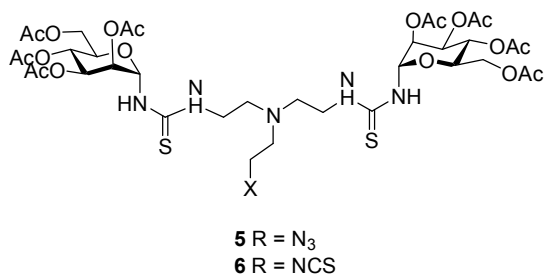
En concreto, las estructuras de los nuevos conjugados de CDs descritos en esta Tesis, así como de los correspondientes precursores y compuestos modelo utilizados en los estudios de evaluación biológica, se recogen a continuación:

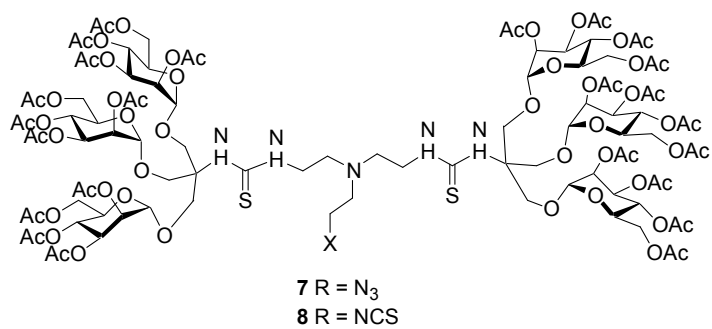
Ciclodextrinas diméricas y modelos.

Transportador dimérico funcionalizado y modelo.

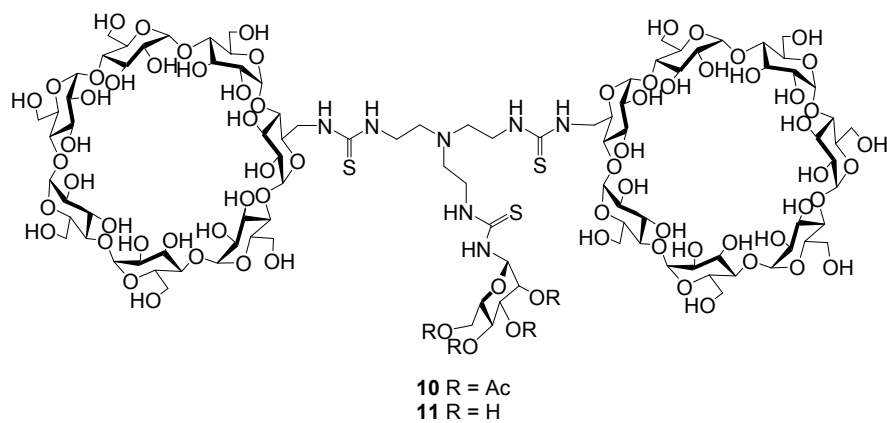
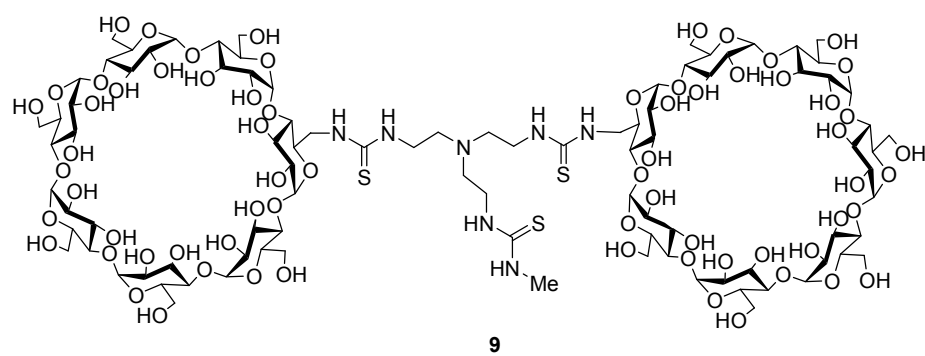


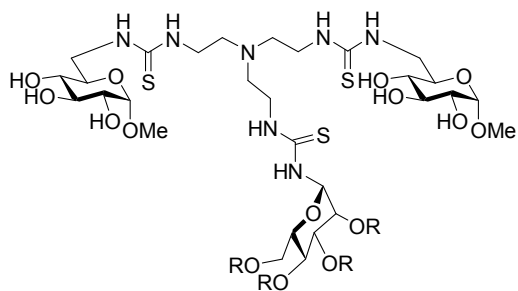
Glicodendrones manosilados con un núcleo de tris(2-aminoetil)amina.



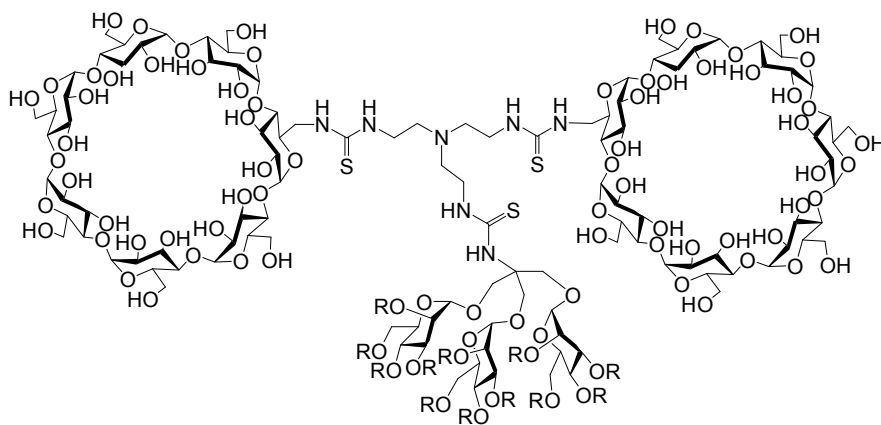


Conjugados diméricos.

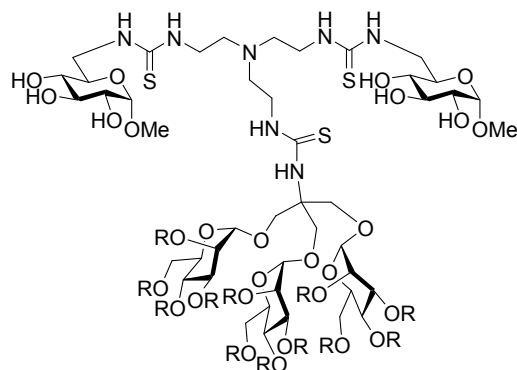




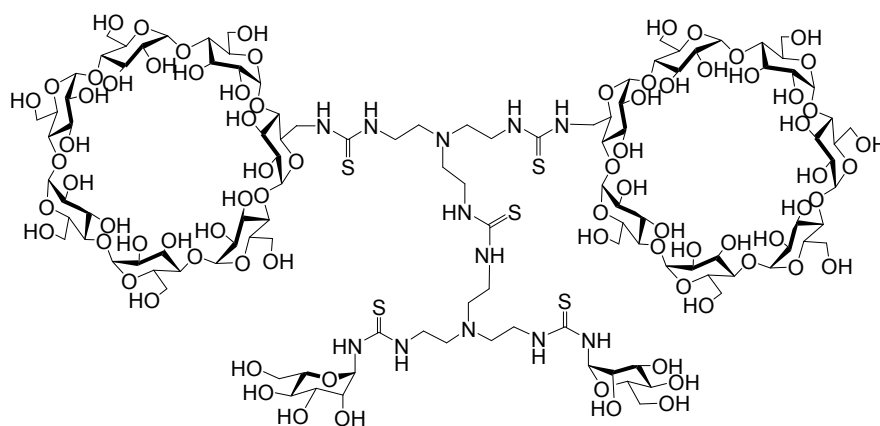
12 R = Ac
13 R = H



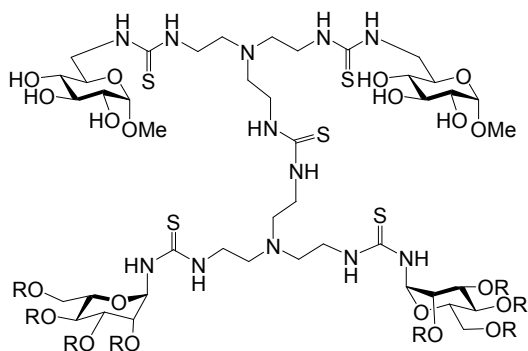
14 R = Ac
15 R = H



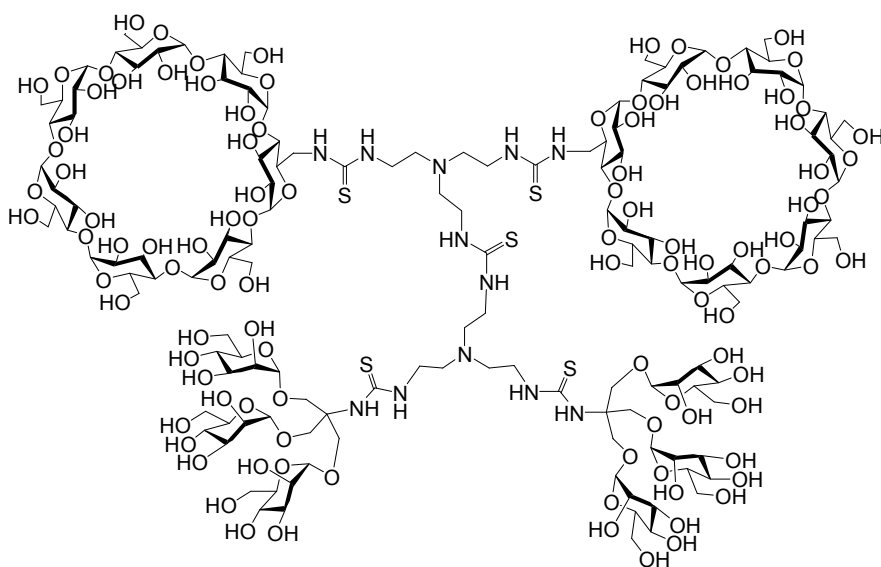
16 R = Ac
17 R = H



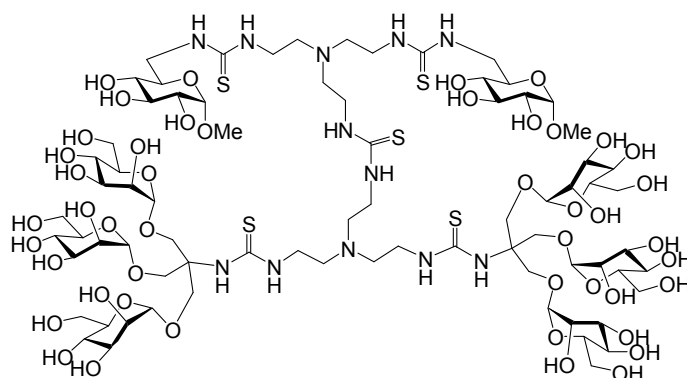
18



19 R = Ac
20 R = H



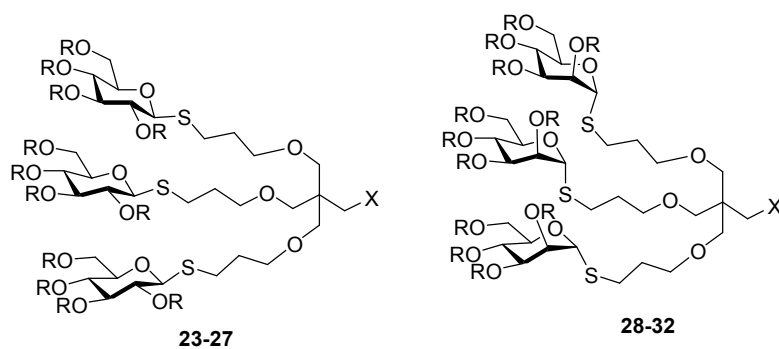
21



22

Ciclodextrinas hiperramificadas y modelos.

Glicodendrones S-glicosídicos homovalentes.



23-27

28-32

23, 28 R = Ac; X = OH

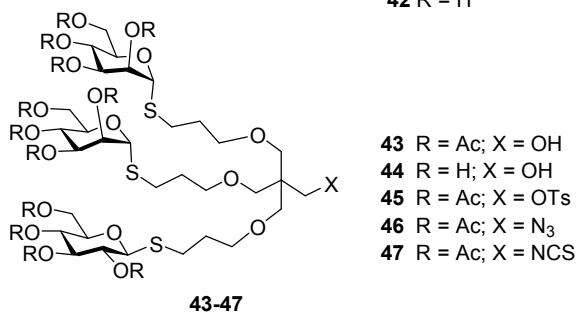
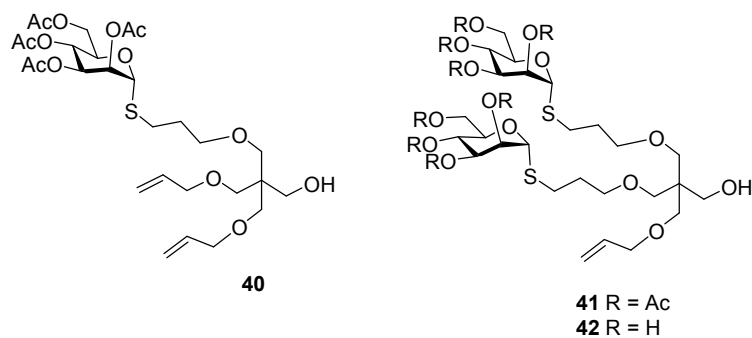
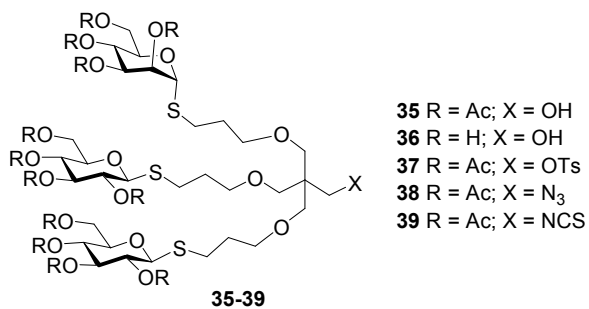
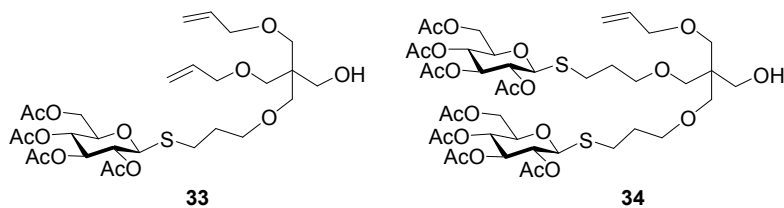
24, 29 R = H; X = OH

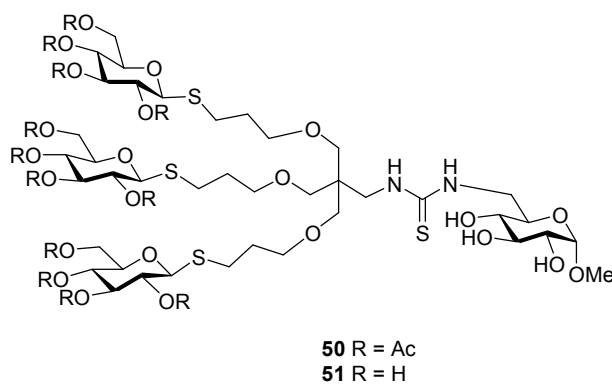
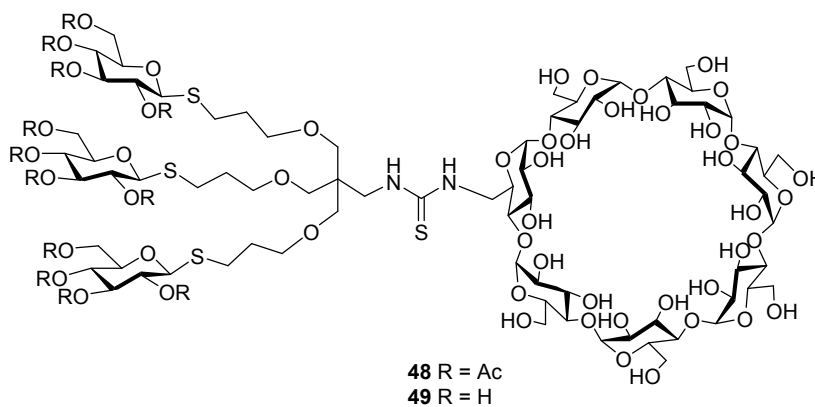
25, 30 R = Ac; X = OTs

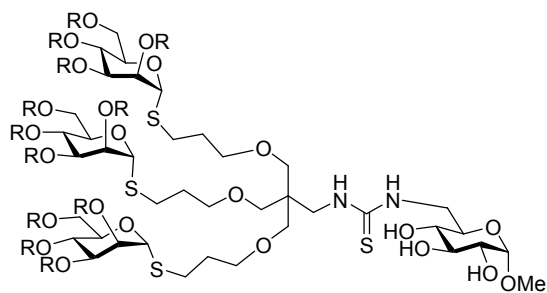
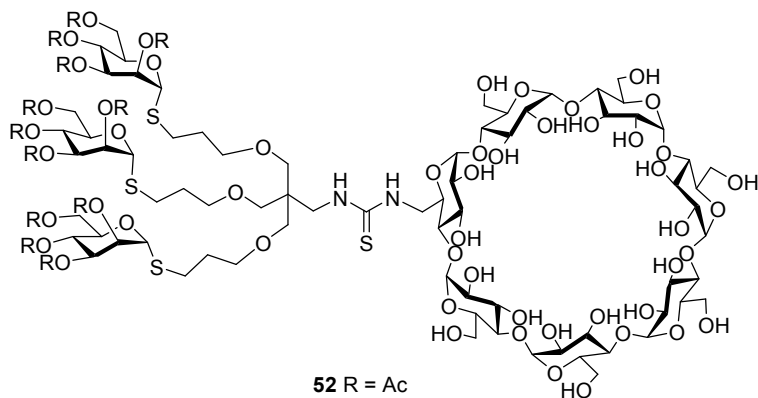
26, 31 R = Ac; X = N₃

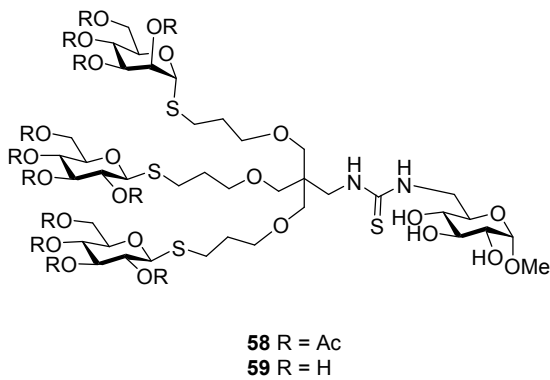
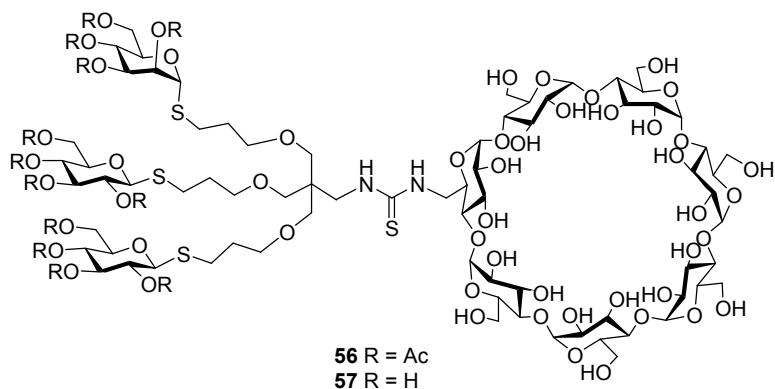
27, 32 R = Ac; X = NCS

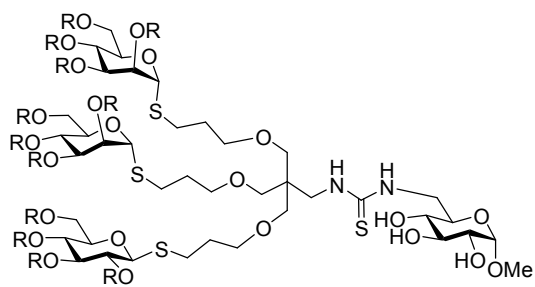
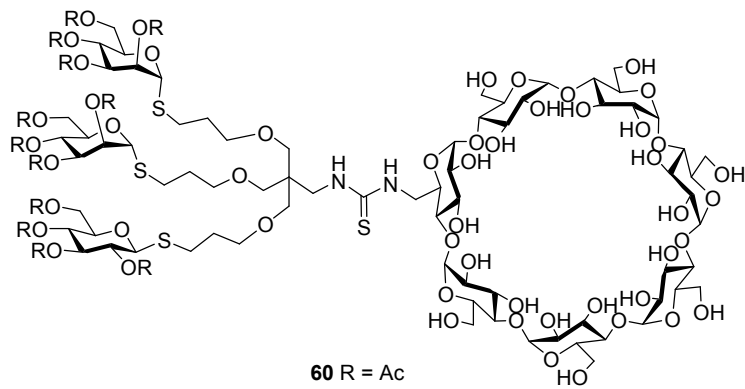
Glicodendrones S-glicosídicos heterovalentes y precursores

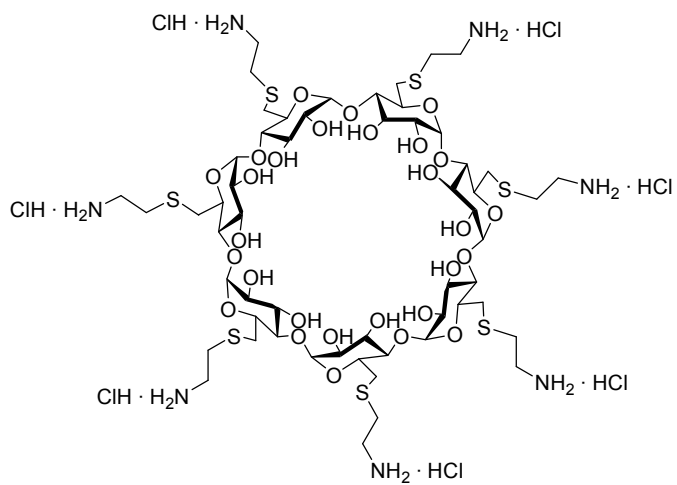


Conjugados monoramificados S-glicosídicos homovalentes

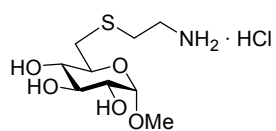


Conjugados monoramificados S-glicosídicos heterovalentes



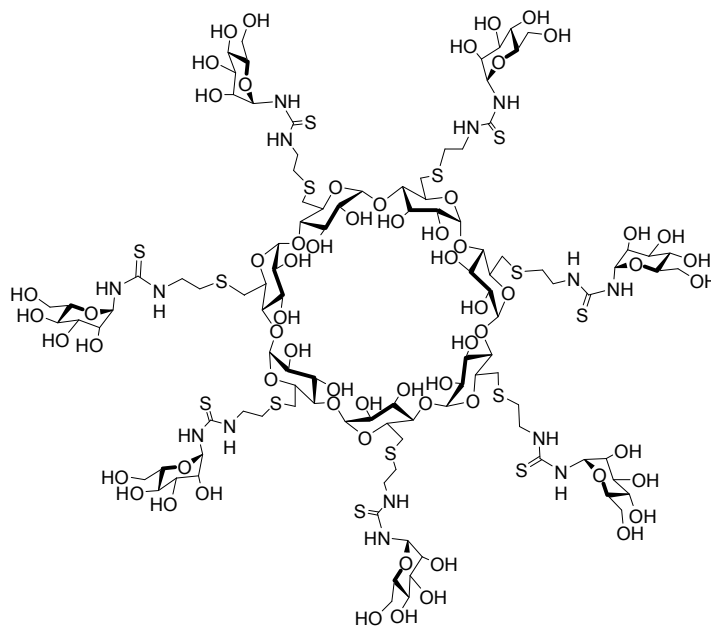
Per-(C-6)cisteaminil β CD y modelo.

64

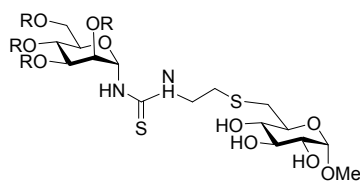


65

Conjugados manosilados N- y O-glicosilados hiperramificados.

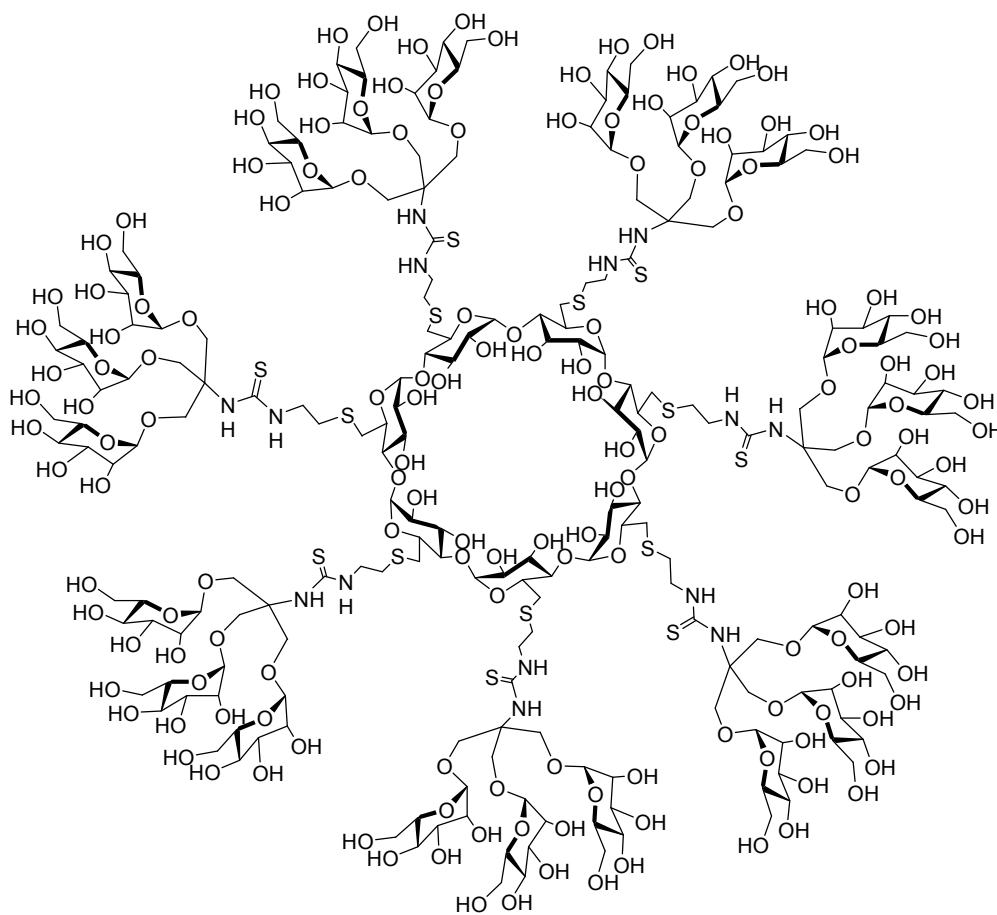


66

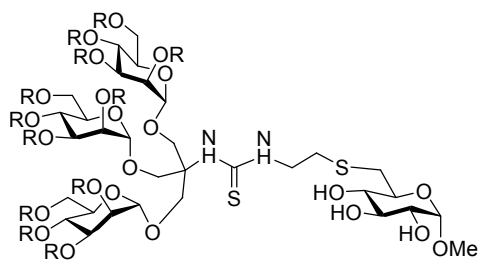


67 R = Ac

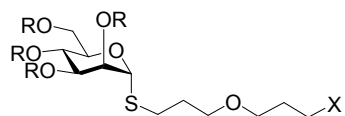
68 R = H



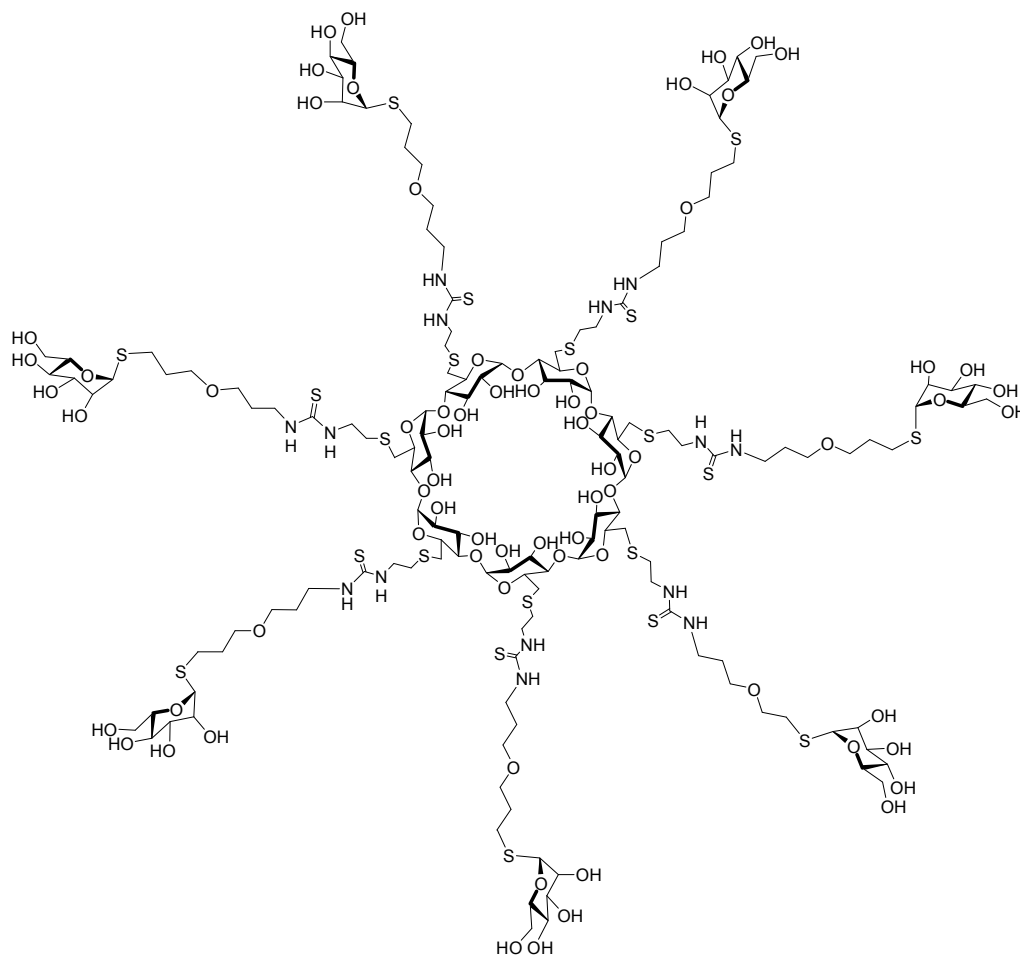
69



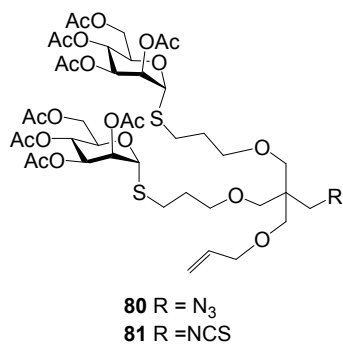
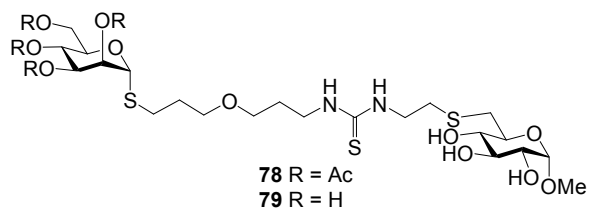
70 R = Ac
71 R = H

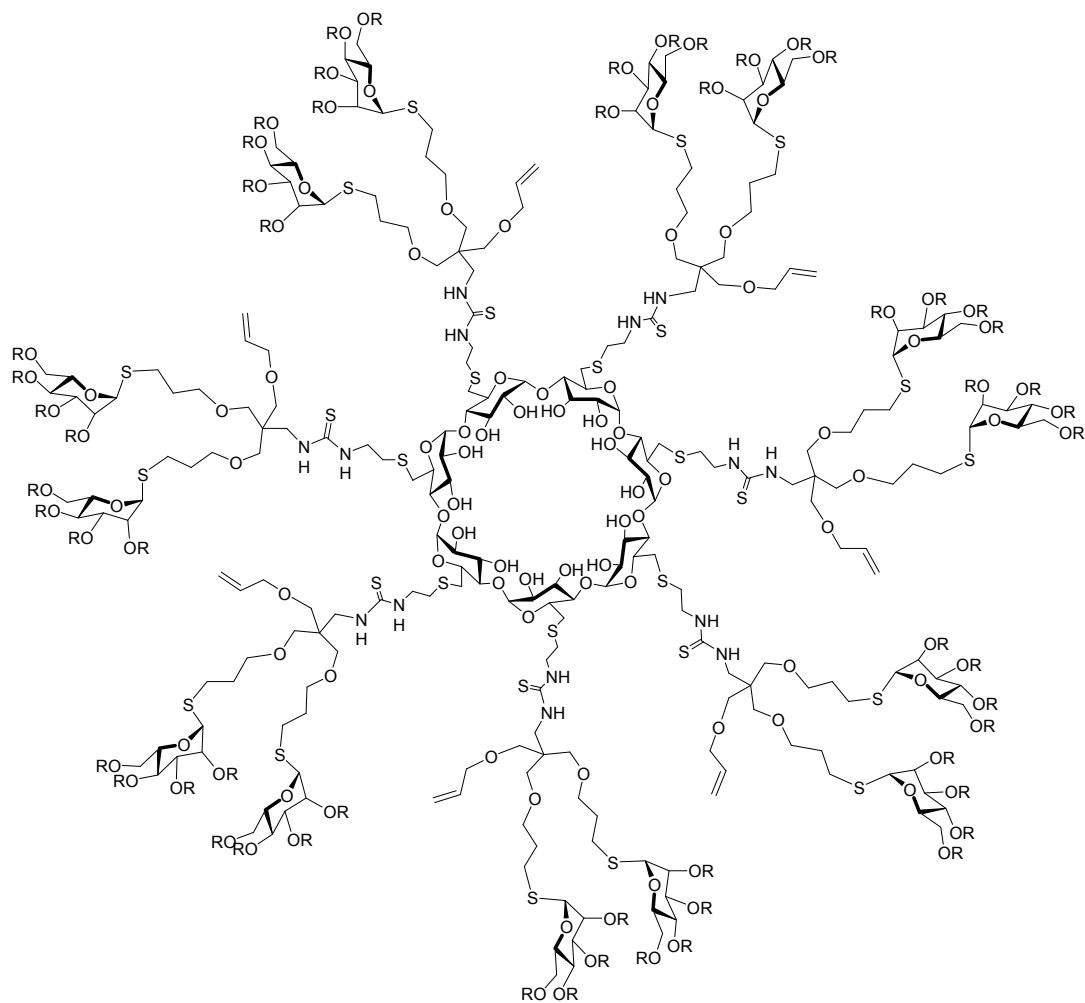
Conjugados S-glicosilados homovalentes hiperramificados

- 72** R = Ac, X = OH
73 R = H, X = OH
74 R = Ac, X = OTs
75 R = Ac, X = N₃
76 R = Ac, X = NCS

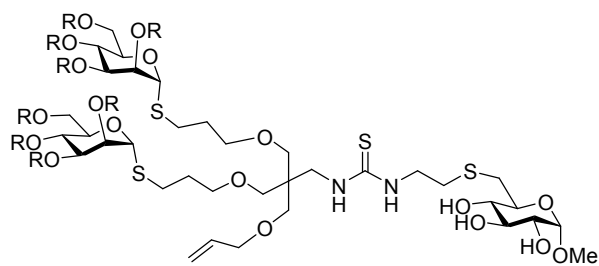


77

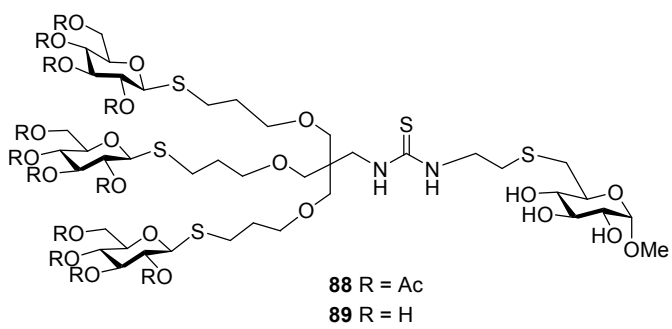
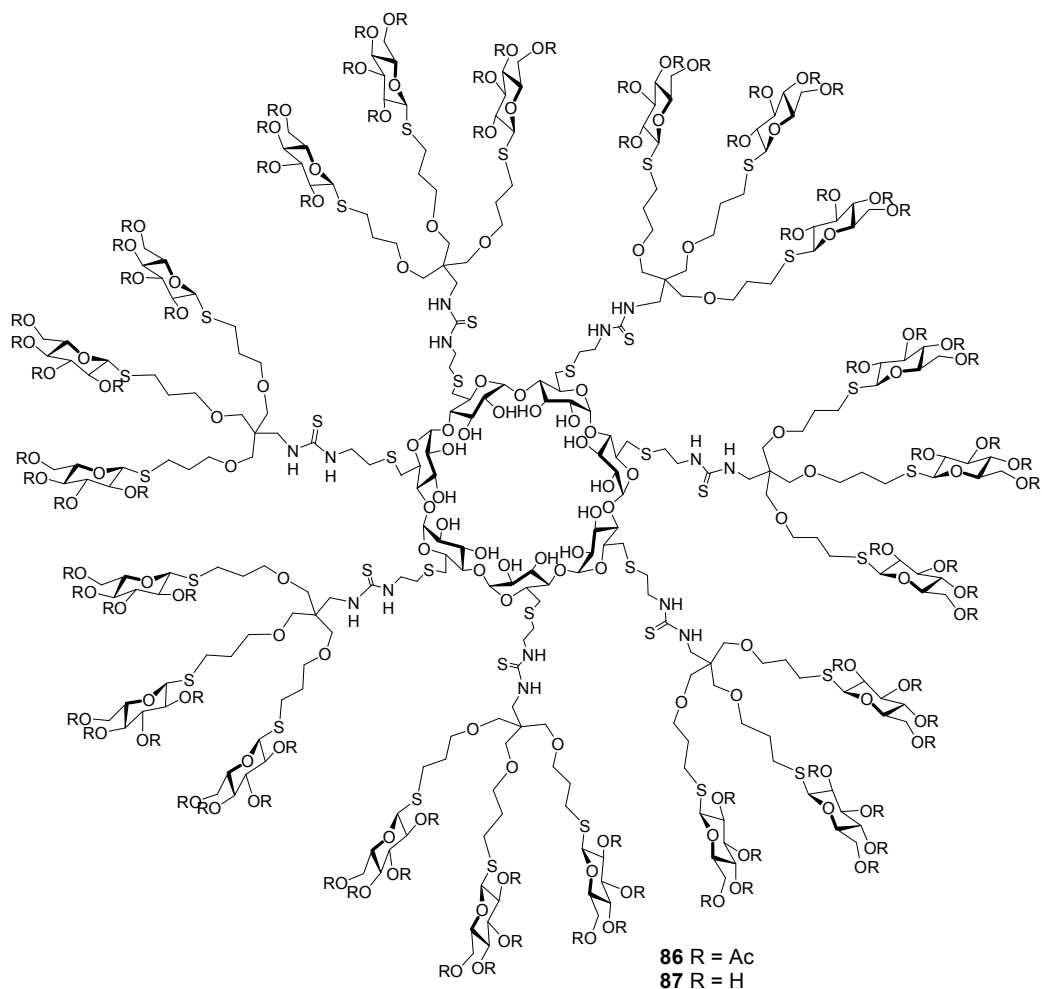


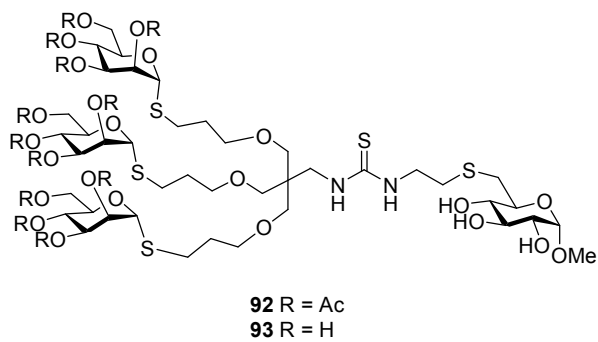
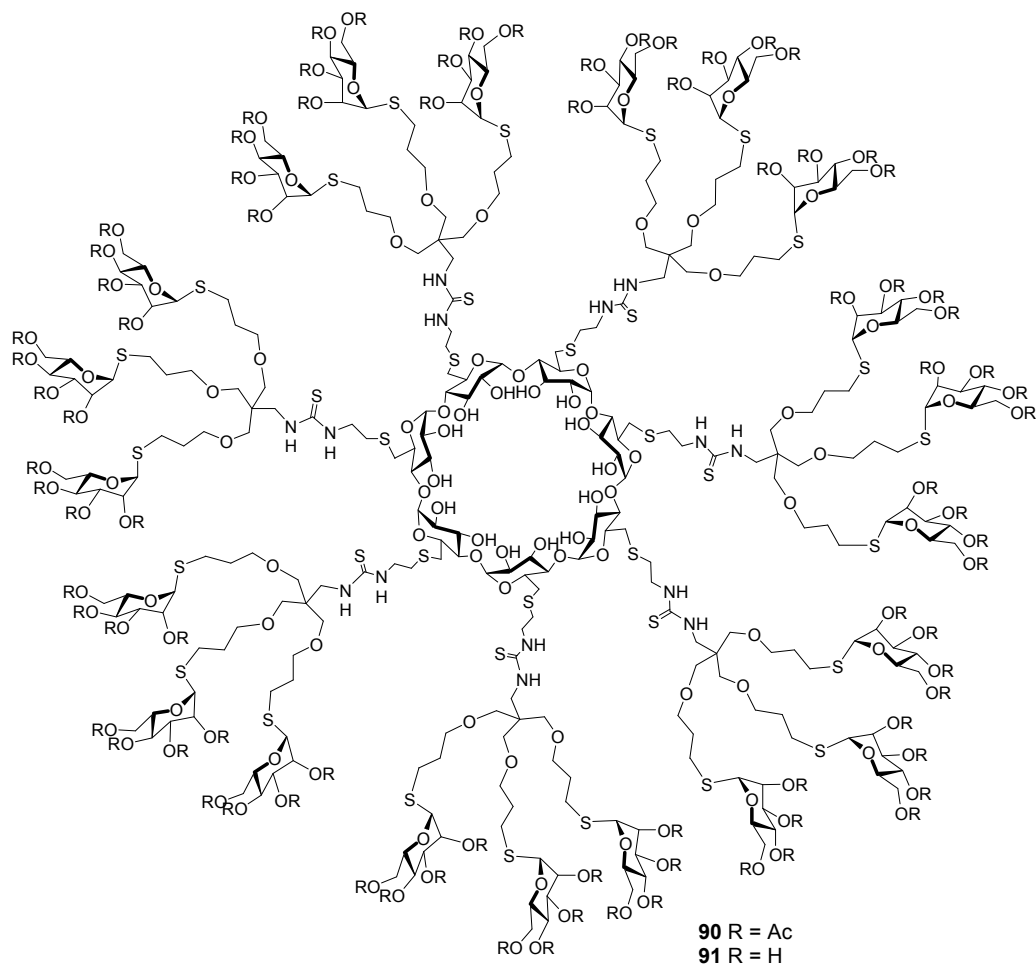


82 R = Ac
83 R = H

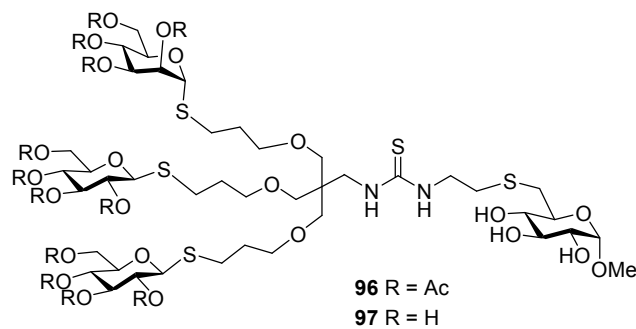
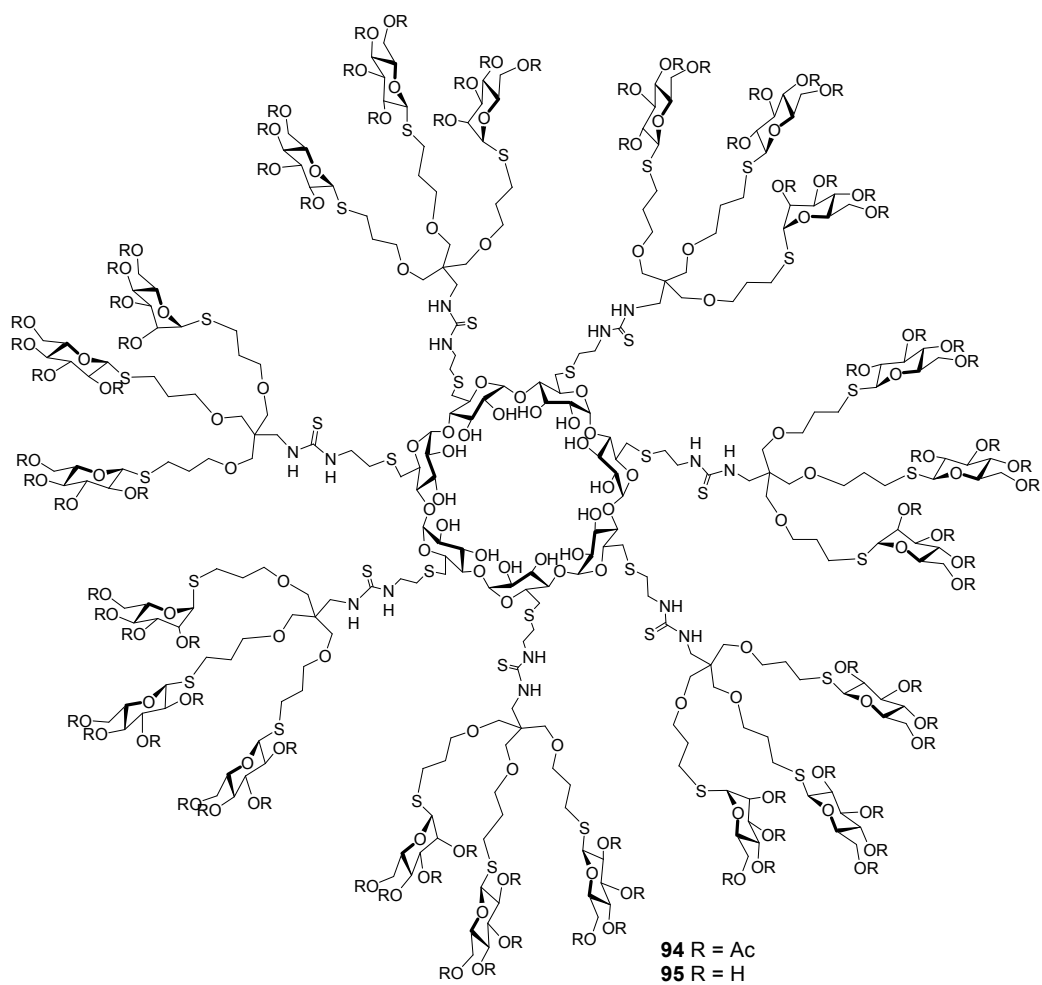


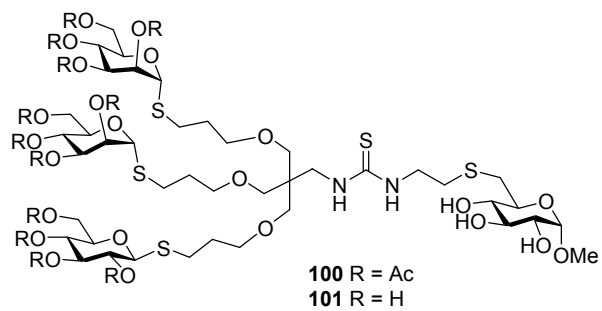
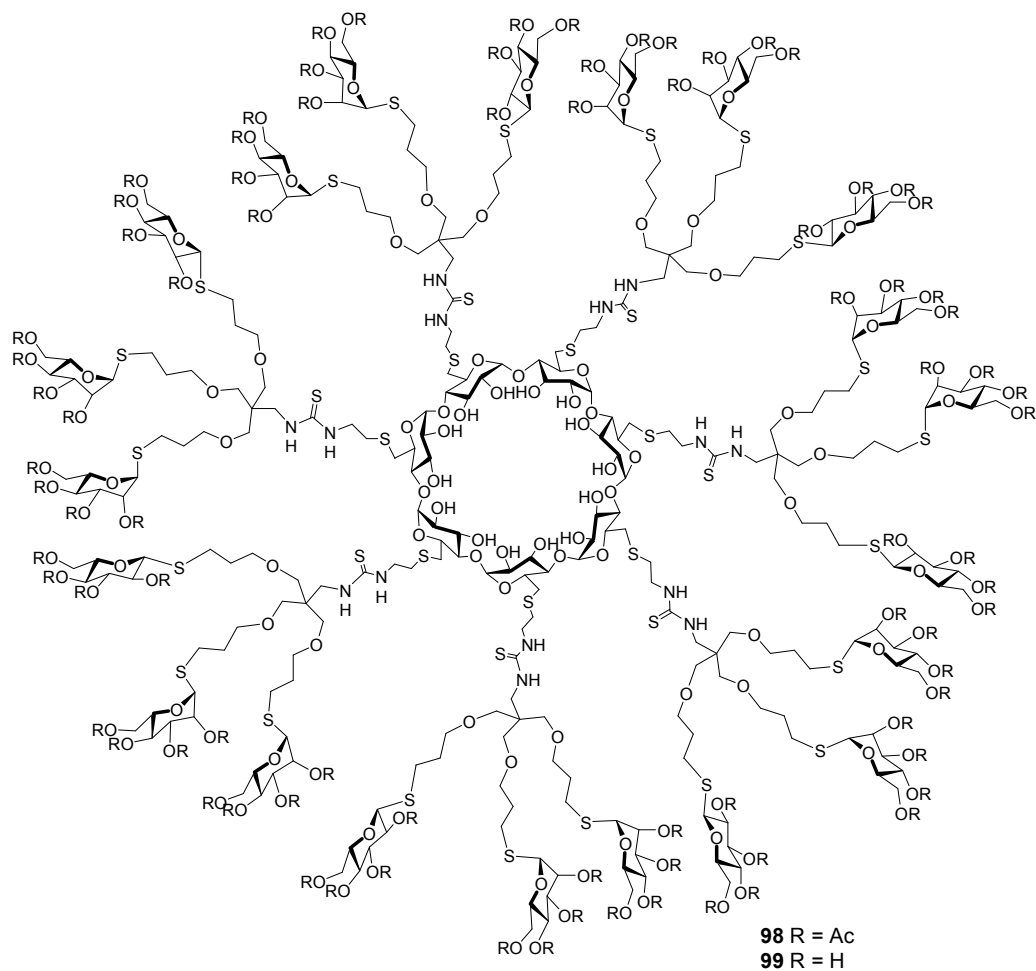
84 R = Ac
85 R = H





Conjugados S-glicosilados heterovalentes hiperramificados.





2. CONJUGADOS DE CICLODEXTRINAS. ANTECEDENTES.

2. CONJUGADOS DE CICLODEXTRINAS. ANTECEDENTES.

Los ejemplos de derivados de ciclodextrinas que incorporan sustituyentes glucídicos recogidos en la bibliografía responden básicamente a dos modelos: (a) ciclodextrinas monosustituidas en una posición primaria (C-6) y (b) ciclodextrinas polisustituidas. La gran mayoría de los policonjugados de ciclodextrinas son compuestos homogéneamente modificados en la cara primaria y que conservan la simetría C_n de la correspondiente forma canónica (Figura 6), si bien recientemente se han descrito otros tipos de arquitecturas que implican la modificación de la cara secundaria. En este apartado se recogen las diferentes estrategias desarrolladas para acceder a ambos tipos de conjugados de ciclodextrina así como los correspondientes estudios de reconocimiento por lectinas y propiedades de inclusión.

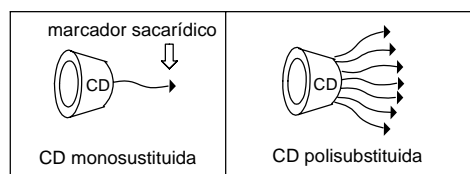


Figura 6. Representación esquemática de los dos modelos de conjugados de ciclodextrinas más extendidos: derivados monosustituidos en una posición primaria y derivados polisustituidos en la cara primaria.

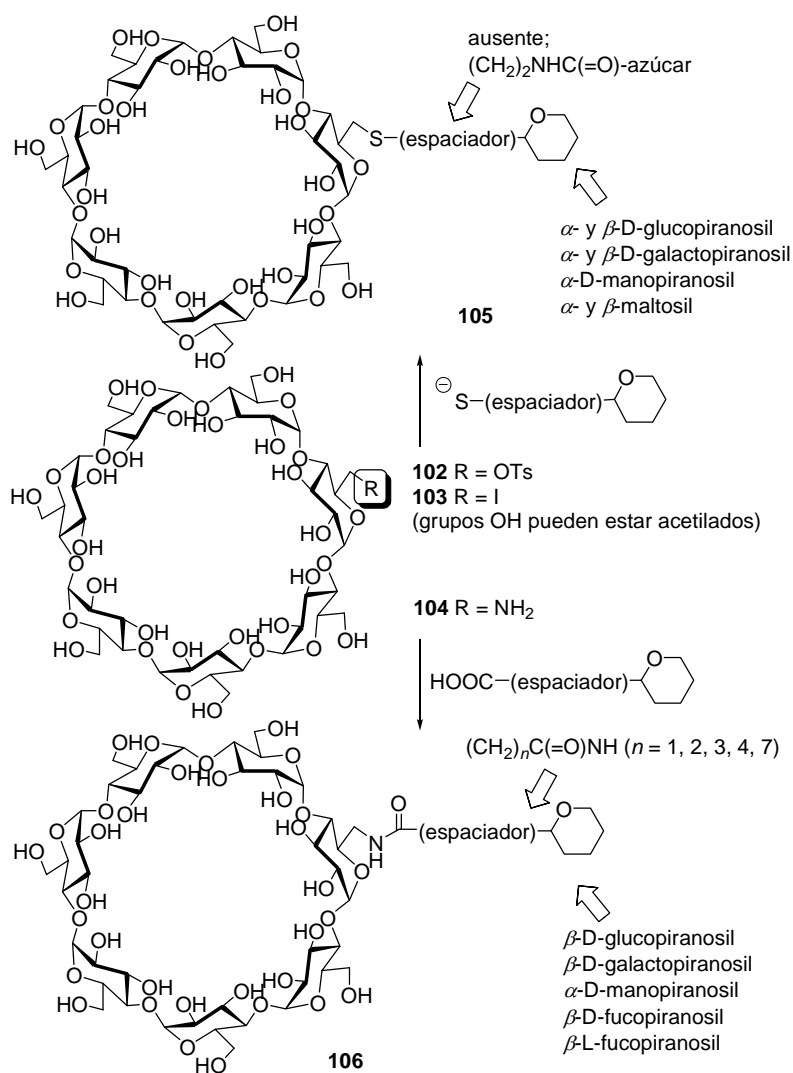
2.1. CICLODEXTRINAS MONOSUSTITUIDAS.

Para la preparación de los gliconjugados monovalentes derivados de ciclodextrinas, el precursor clave es la 6^l-desoxi-6^l-*O*-*p*-tosil- β CD **102**, para el que nuestro grupo ha descrito recientemente una síntesis en una sola etapa,¹⁰ cuya reactividad fue explotada en primer lugar por Defaye y colaboradores¹¹ para la preparación de 6^l-S-

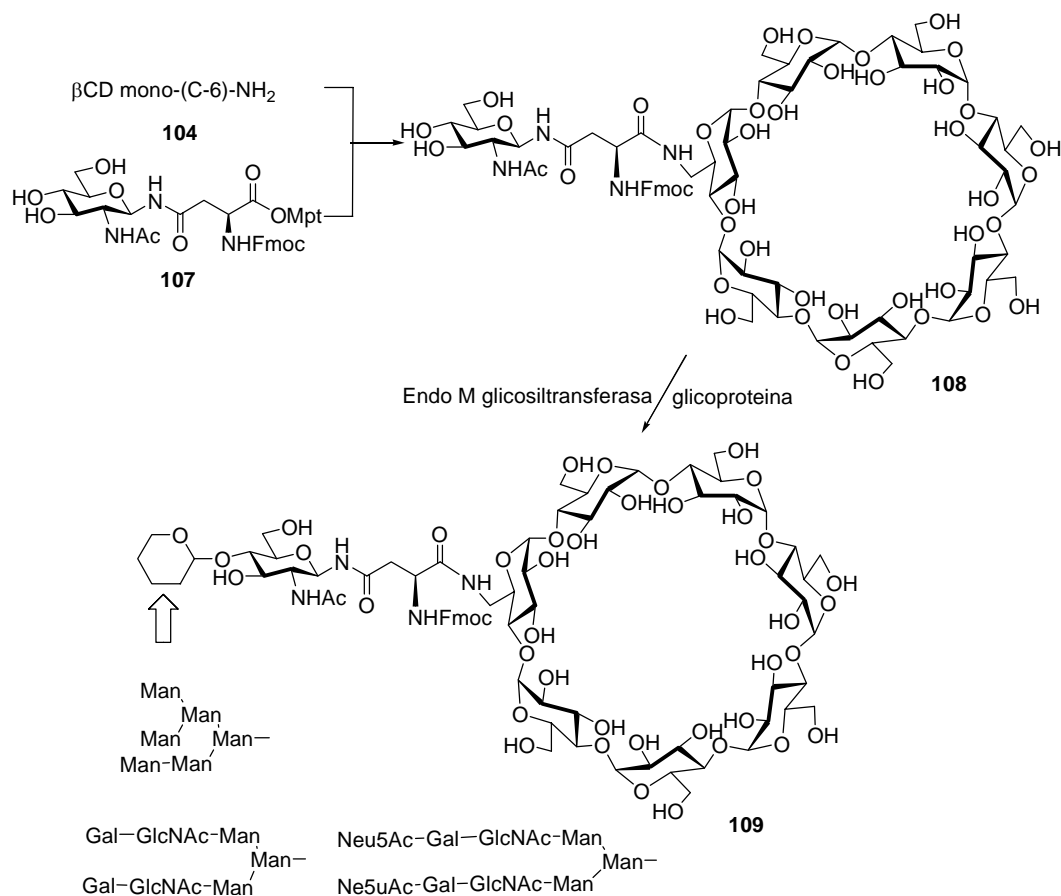
glicosil-6^l-tiociclomaltoheptaosas (**105**) usando como nucleófilos la sal sódica de la 1-tio- α - y β -D-glucopiranosas. La metodología se extendió posteriormente a la síntesis de los análogos monovalentes de la α - y β -tiomaltosil β CD.¹² Siguiendo una estrategia similar, Driguez empleó la 6^l-desoxi-6^l-yodo- β CD peracetilada (**103**) y 1-tioglicosas peracetiladas de configuración β -D-*gluco*, β -D-*galacto* y α -D-*mano* como nucleófilos.¹³ Posteriormente, Hattori ha descrito una estrategia sintética que permite la incorporación de un brazo espaciador entre el núcleo de CD y el marcador sacarídico mediante una estrategia sintética que implica: i) el acoplamiento entre la gluconolactona y la cisteamina; y ii) la introducción del fragmento resultante, con estructura de galactosil gluconoamida etanotiol, en la posición C-6^l de la β CD (Esquema 1).¹⁴

Una segunda aproximación general consiste en la reacción de amidación entre la 6^l-amino-6^l-desoxi- β CD **104** y marcadores sacarídicos que incorporen un grupo funcional ácido carboxílico (\rightarrow **106**). Esta estrategia ha sido ampliamente utilizada por los grupos de Parrot-Lopez¹⁵ y Hattori (Esquema 1).¹⁶

Los mismos autores^{17,18} describen otro procedimiento de preparación de conjugados monovalentes que combina procesos químicos y enzimáticos consistente en: i) la reacción de amidación de la 6^l-amino-6^l-desoxi- β CD **104** con un derivado de la *N*-acetilglucosamina provisto de un residuo de ácido carboxílico (**107**) y ii) la glicosilación enzimática del conjugado resultante **108** (\rightarrow **109**). Esta estrategia permite la incorporación de oligosacáridos naturales complejos derivados de manosa así como derivados de ácidos siálicos. La transferencia desde las glicoproteínas al aceptor fue catalizada por la endo- β -*N*-acetil-glucosaminidasa de *Mucor hiemalis* (Endo M) (Esquema 2).



Esquema 1. Metodología sintética general para la preparación de neoglicoconjugados monovalentes derivados de β CD empleando uniones de tipo tioéter o amida.



Esquema 2. Síntesis quimio-enzimática de conjugados monovalentes de β CD.

Recientemente, Djedaini-Pilard y colaboradores han descrito la preparación de monoconjugados manosilados de la β CD que incorporan un espaciador de tipo l-tirosinilsuccinimido **110** y **111**.¹⁹ Estos compuestos fueron diseñados para imitar la porción glicopeptídica de la glicoproteína gp120, implicada en el proceso de infección de macrófagos por el virus VIH. Los autores demuestran que, a pesar de la existencia de fenómenos de autoinclusión en agua, esto no impide la formación de complejos de inclusión con otros huéspedes (Figura 7).

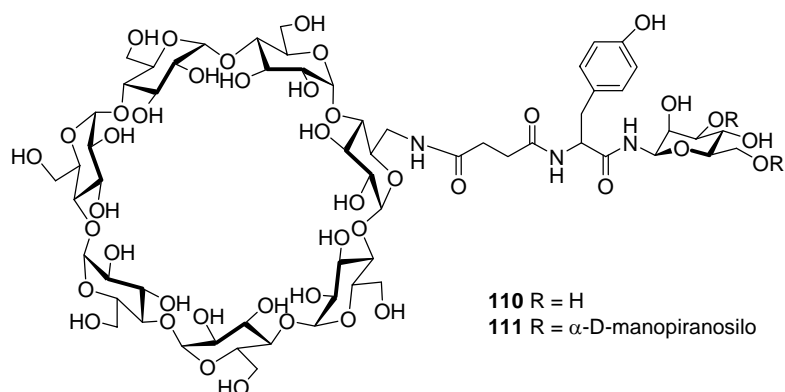
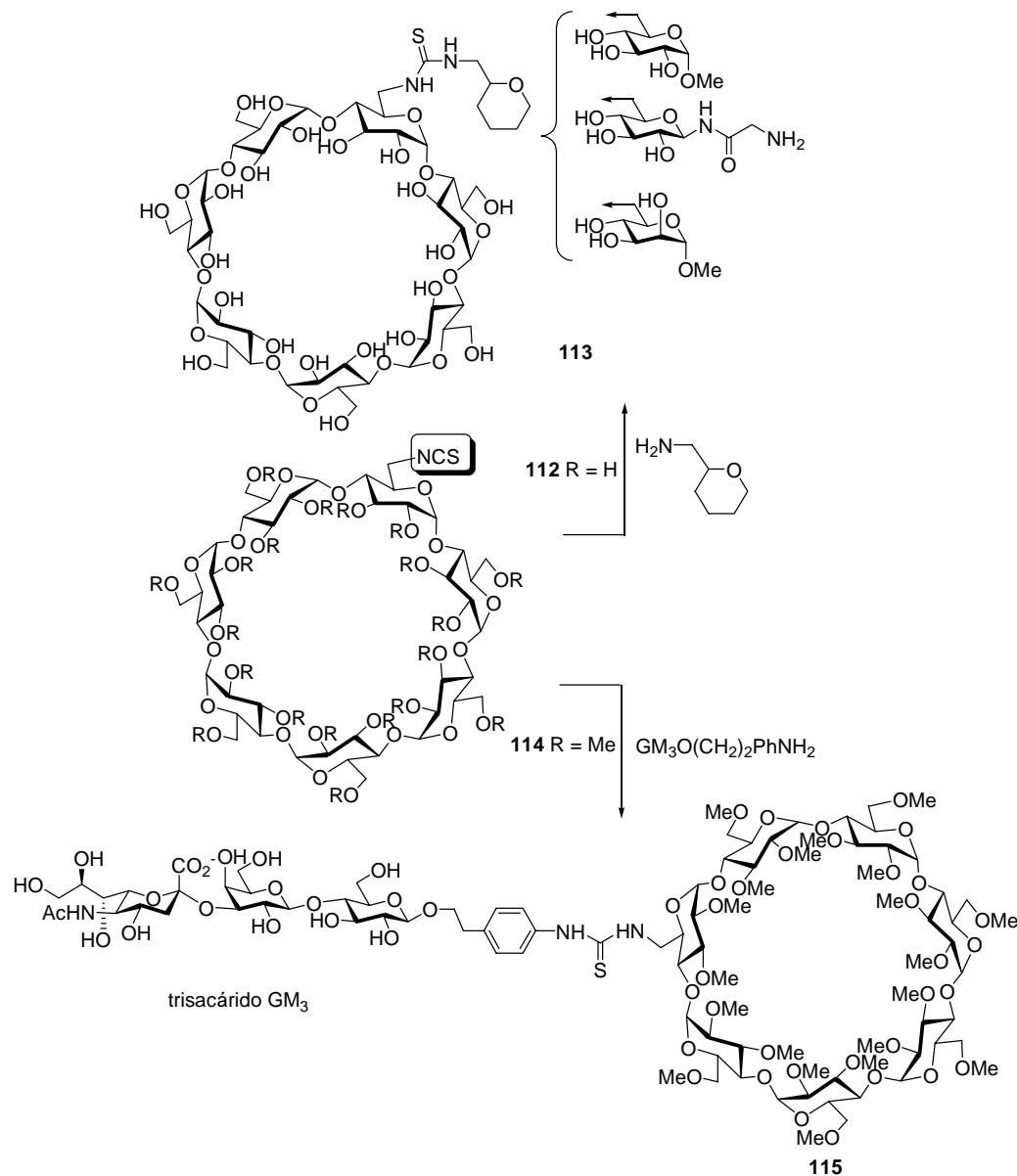


Figura 7. Conjugados de ciclodextrina con espaciador de tipo L-tirosinilsuccinimido.

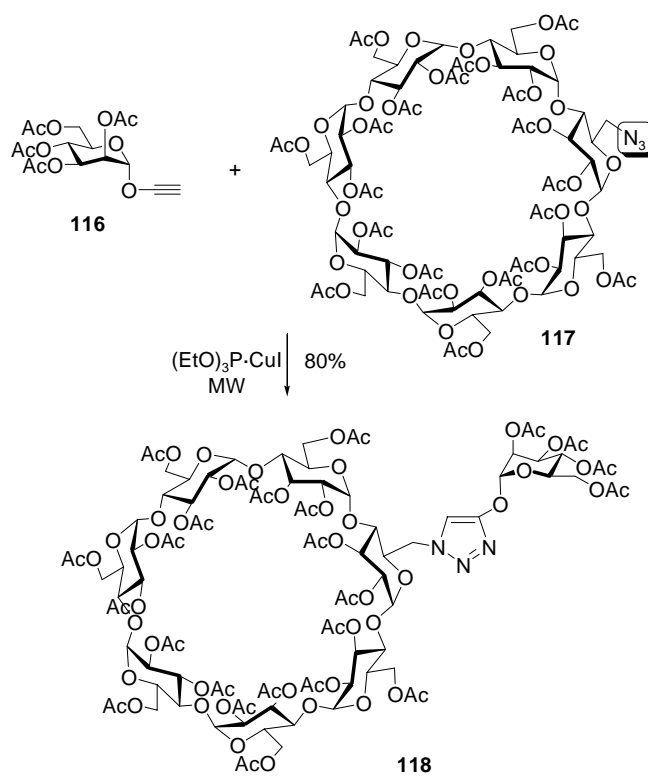
Como alternativa a la reacción de formación de amidas, nuestro grupo de investigación describió en 1996 la preparación de neoglicoconjugados de la β CD mediante la formación de puentes de tiourea por reacción de la 6^l-desoxi-6^l-isotiocianatociclomaltoheptaosa **112** con aminodesoxiazúcares (\rightarrow **113**).²⁰ Posteriormente, Haque y Diakur²¹ han empleado esta aproximación usando el derivado permetilado **114** en combinación con un derivado del trisacárido GM₃ (\rightarrow **115**). La metodología inversa, consistente en el acoplamiento de la 6^l-amino-6^l-desoxi- β CD **104** con glicosilisotiocianatos per-*O*-protegidos ha resultado ser más conveniente para la preparación de conjugados con puente de (1 \rightarrow 6)-tiourea, siendo además compatible con la presencia de espaciadores de tipo alquilo y arilo lo que permite preparar un gran número de estructuras.^{22,23} Además, los aductos con puente de tiourea muestran una solubilidad en agua hasta 40 veces superior a la de la β CD nativa, aún incorporando sustituyentes hidrofóbicos, y una disminución de hasta 8 veces en el carácter hemolítico al tiempo que conservan la capacidad de inclusión del núcleo de ciclodextrina (Esquema 3).



Esquema 3. Síntesis de conjugados monovalentes de β CD con espaciadores de tiourea.

Santoyo-González y colaboradores han publicado una nueva estrategia para la preparación de conjugados de CDs que explota la reacción de cicloadición 1,3-dipolar entre el alquino glicosilado **116** y la azidociclodextrina **117**, con formación de 1,2,3-

triazoles (“click chemistry”).²⁴ Las condiciones de reacción óptimas implican el uso de $(\text{EtO})_3\text{P}\cdot\text{CuI}$ como catalizador y la irradiación con microondas. En estas condiciones, el compuesto **118** se obtuvo con un 80% de rendimiento (Esquema 4).



Esquema 4. Preparación de conjugados de la β CD por reacción de alquinos glicosilados y azidociclodextrinas.

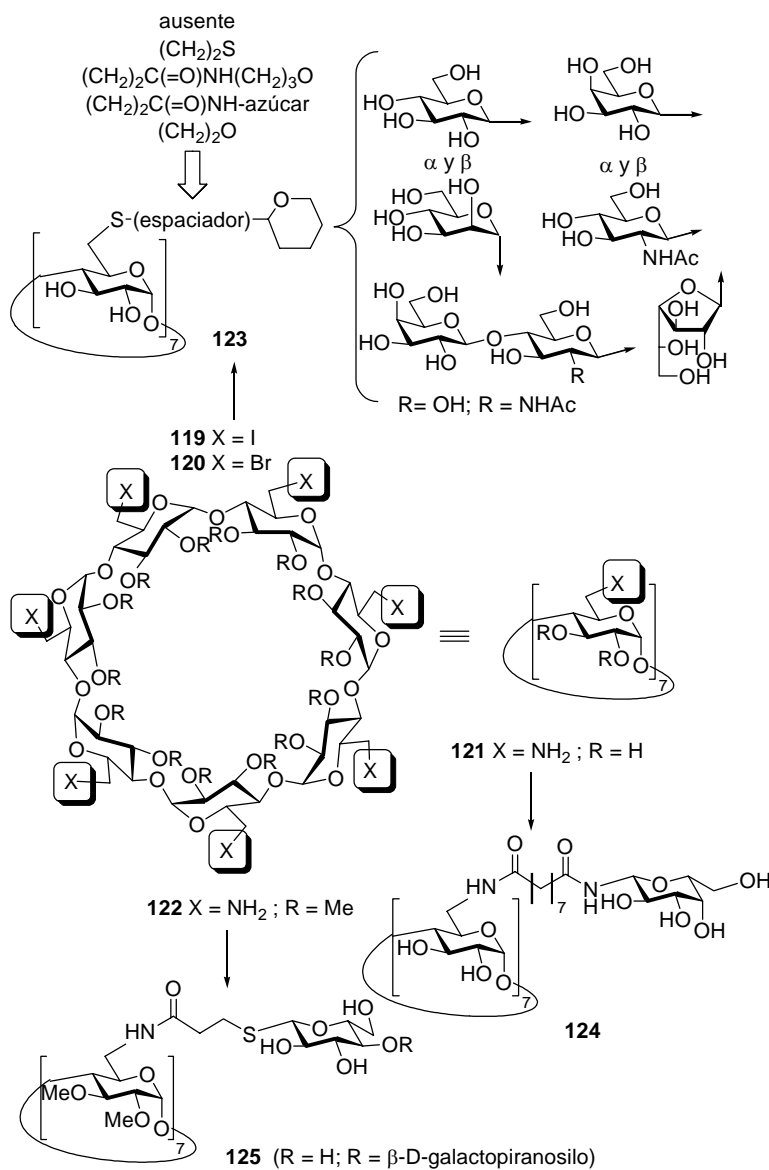
2.2. CICLODEXTRINAS POLISUSTITUIDAS.

Para alcanzar afinidades biológicamente útiles entre ligandos sacarídicos y receptores proteicos es necesario una presentación multivalente de los epítomos de reconocimiento. La disposición de éstos en forma de múltiples copias sobre un soporte adecuado, ya sea molecular, dendrítico o polimérico, permite imitar el modo en que la naturaleza aumenta la intensidad de la asociación entre carbohidratos y lectinas, lo que resulta en afinidades mayores que las esperables de la simple suma de las interacciones individuales. Este concepto se conoce de manera genérica como “efecto cluster”. Una discusión más detallada de los mecanismos que intervienen en el mismo se recoge en el apartado 6.

En el campo de las ciclodextrinas de tercera generación, la necesidad de una presentación multivalente de un marcador sacarídico se ha abordado siguiendo diversas aproximaciones. Una posibilidad sería disponer de manera adecuada varias unidades de CD monosustituidas. Recientemente, Nelson y Stoddart²⁵ han propuesto un sistema de tipo pseudorrotaxano en el que un derivado de β CD que incorpora un resto de β -lactosilo sobre una posición C-6 se ensarta en un polímero lineal. Aunque de interés para estudios teóricos sobre interacciones carbohidrato-proteína, este modelo dinámico de multivalencia no es compatible con la posibilidad de inclusión de otras moléculas en la cavidad de la CD.

Dada la existencia de varios métodos que permiten funcionalizar selectivamente las posiciones primarias de las CDs, la mayor parte de los ejemplos de policonjugados de ciclodextrinas son del tipo per-(C-6)-sustituidas. Esta aproximación requiere el empleo de reacciones de acoplamiento eficaces que no conduzcan a mezclas de regioisómeros con diferente grado de sustitución, cuya purificación supondría un serio inconveniente. Básicamente, se utilizan las metodologías sintéticas comentadas para los derivados monosustituidos: desplazamiento por tior de un buen grupo saliente, formación de uniones amida a partir de la per-6-amino-6-desoxi- β CD **121** o reacción de esta última con

isotiocianatos. El desarrollo de estos métodos ha requerido un procedimiento eficaz de síntesis de los precursores per-(C-6)-halogenados **119** y **120** (R = H) (Esquema 5).^{26,27}



Esquema 5. Metodología sintéticas empleadas para la preparación de neoglicoconjugados heptavalentes de βCD con uniones de tipo tioéter y amida.

Los grupos de Defaye¹² y Driguez^{13b,28} han descrito la preparación de neoglicoconjugados derivados de β CD per-(C-6)-tioglicosilados **123**, para lo que emplean tiolatos de 1-tioglicopiranosas como nucleófilos. Adicionalmente, pueden utilizarse espaciadores que incorporan una función tiolato terminal. Parrot-Lopez^{15c} y Stoddart²⁹ han explotado la estrategia de la amidación usando el acoplamiento de la heptaamina de la β CD **121** o de su derivado permetilado **122** con derivados de D-galactosa (**124**), D-glucosa o lactosa (**125**). La estrategia inversa, consistente en el acoplamiento de aminas derivadas de azúcares con el heptacarboxilato resultante de la oxidación de los grupos hidroxilos primarios de la β CD, condujo a una mezcla de compuestos de sustitución parcial de la que no se pudieron aislar compuestos puros (Esquema 5).³⁰

Los grupos de Santoyo-González, Vargas-Berenguel y Roy,^{31,32} con objeto de ampliar la diversidad de espaciadores, han descrito algunas modificaciones de este esquema general que incluyen: i) el uso de sales de isotiouonio como nucleófilos en lugar de tiolatos, ii) la preparación de la heptaquis(6-cloroacetamido-6-desoxi)ciclomaltoheptaosa **126** como precursor para reacciones de acoplamiento y iii) la síntesis de derivados de β CD de tipo per-(C-6)-tioéter con un grupo cloro o amino terminal (**127**, **128**). Todos estos métodos requieren la protección de los grupos hidroxilo tanto en el precursor de β CD como en el marcador sacarídico (Figura 8).

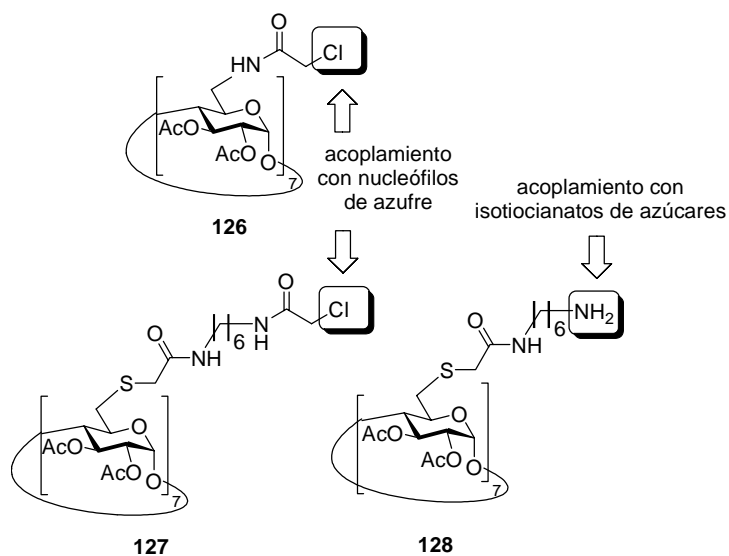
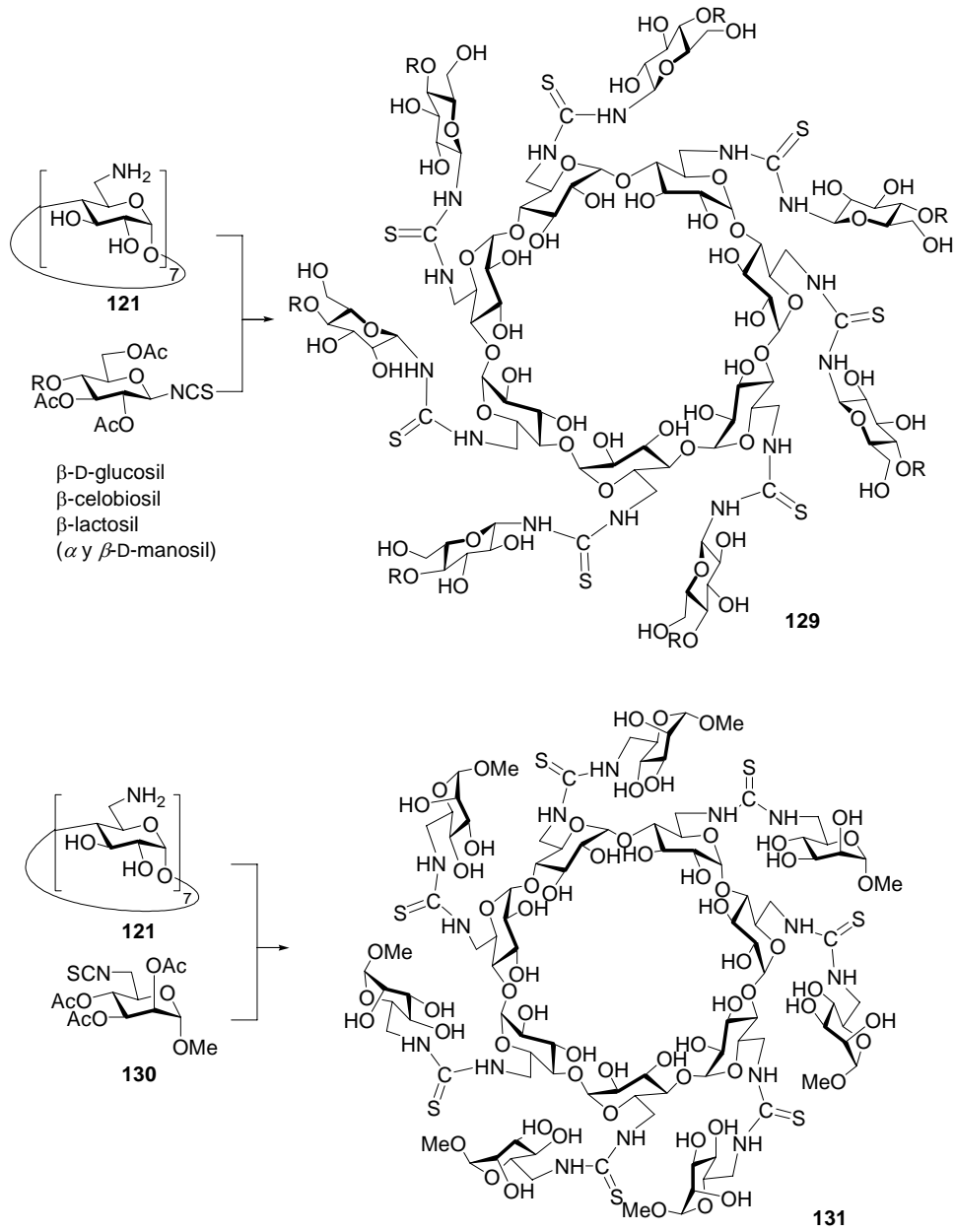


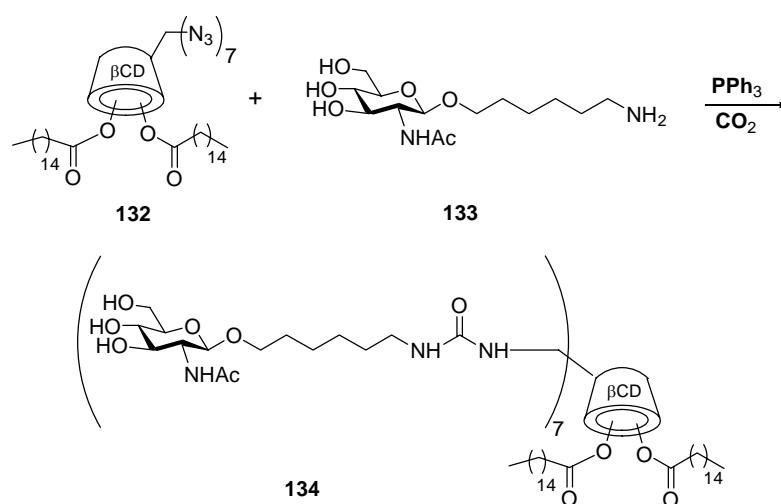
Figura 8. Derivados heptavalentes de β CD con diversos espaciadores.

En nuestro grupo de investigación hemos empleado la estrategia de la formación de uniones de tiourea para la preparación de conjugados heptavalentes **129** y **131**.²² La reacción de per-6-amino-6-desoxi- β CD **121** con isotiocianatos derivados de mono y disacáridos transcurre de modo suave y con quimioselectividad total en agua/acetona a pH 8 (NaHCO_3), presentando la ventaja adicional de que la purificación de los aductos puede llevarse a cabo por cromatografía en columna con gel de sílice (Esquema 6).



Esquema 6. Preparación de neoglicoconjugados de β CD con puentes de tiourea.

Nishimura y colaboradores han descrito la síntesis de conjugados per-(C-6)-sustituidos de la β CD mediante la formación de uniones de tipo urea, en lugar de tiourea.³³ En este caso, el acoplamiento implica la reacción de Staudinger de un derivado per-(C-6)-azido **132** con trifenilfosfina seguido de la reacción in situ de la fosfinimina intermedia con CO_2 . Éste origina la formación de un isocianato que es atrapado por grupos amino presentes en el marcador sacarídico **133**. De esta manera se prepararon derivados ambifílicos de la β CD **134** con sustituyentes de *N*-acetilglucosamina que fueron luego incorporados a liposomas y modificados enzimáticamente con una β -(1,4)-galactosiltransferasa (Esquema 7).

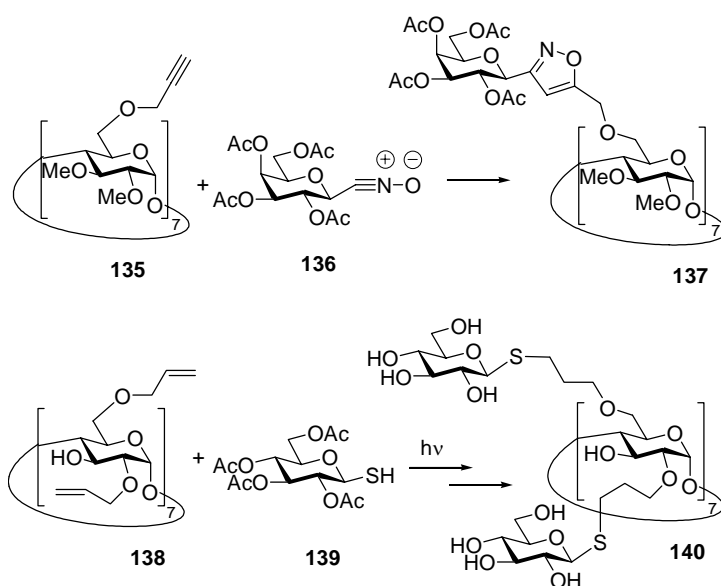


Esquema 7. Síntesis de conjugados ambifílicos de la β CD por formación de uniones de urea.

Santoyo-González³⁴ ha descrito la preparación de un neoglicoconjugado heptavalente con un espaciador heterocíclico formado por cicloadición 1,3-dipolar del óxido del per-*O*-acetil- β -D-galactopiranosilnitrilo (**136**) y la per-(2,3-di-*O*-metil-6-*O*-propargil)- β CD (**135**). Los mismos autores extendieron la reacción de formación de 1,2,3-triazoles a partir de alquinos glicosilados y azidociclodextrinas a la preparación de

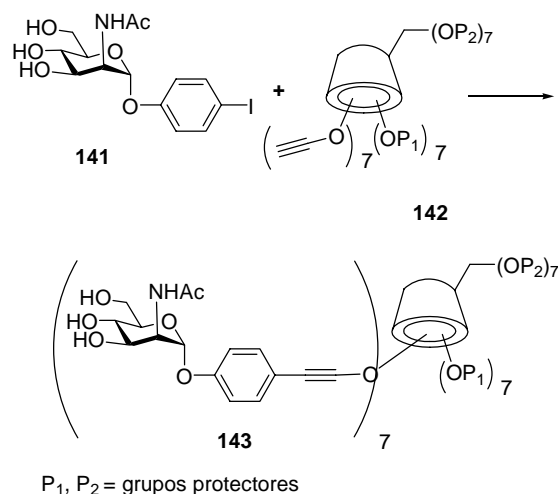
derivados hepta-(C-6)-sustituidos de la β CD, utilizando la correspondiente per-(C-6)-azida per-*O*-acetilada como precursor.²³

Stoddart y Fulton³⁵ describieron la adición fotoquímica de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-1-tio- β -D-glucopiranososa **139** a los dobles enlaces del derivado alilado de β CD **138**. Esta estrategia se ha extendido posteriormente a derivados per-*O*-alilados en O-2 y en O-6 dando lugar a los primeros ejemplos de neoglicoconjugados heptavalentes ramificados en la cara secundaria (Esquema 8).



Esquema 8. Síntesis de conjugados heptavalentes a partir de éteres insaturados.

Una estrategia alternativa, desarrollada por el grupo de Vargas-Berenguel,³⁶ ha sido la reacción de Sonogashira entre *p*-yodofenil glicósidos **141** y derivados propargilados de la β CD (**142**). Mediante este procedimiento los autores prepararon conjugados de simetría C_7 modificados en C-2 (**143**), en C-3, en C-2 y C-6 y en C-2, C-3 y C-6.



Esquema 9. Esquema general de formación de conjugados de CDs mediante reacción de Sonogashira.

2.3. CICLODEXTRINAS DENDRÍTICAS.

De los estudios de interacciones con lectinas y de propiedades de inclusión de los conjugados de ciclodextrinas monosustituidas y polisustituidas recogidos en la bibliografía, se extraen tres conclusiones principales: (i) la arquitectura de la ciclodextrina, con una diferenciación facial muy bien definida, resulta particularmente apropiada para estudios de interacciones entre glicoclústeres y lectinas; (ii) los derivados poliglicosilados muestran mayores afinidades por lectinas específicas que los monosustituidos, como cabe esperar del efecto cluster; y (iii) la polisustitución puede resultar en una disminución importante de la capacidad de inclusión y estabilización de complejos de huéspedes potenciales debido a dificultades para acceder a la cavidad hidrófoba, pérdida de interacciones estabilizantes con el huésped incluido y a posibles distorsiones de la cavidad como consecuencia de interacciones estéricas.⁹ Nuestros propios resultados²³ indican una disminución de 10 veces en la capacidad de

solubilización en agua de moléculas huésped de carácter hidrofóbico para las β CDs heptasustituidas.

Un transportador de fármacos ideal basado en CDs debe combinar las ventajas de la mosustitución en cuanto a la eficacia en la capacidad de inclusión y de una presentación multivalente del ligando requerido para que la afinidad hacia la lectina sea óptima. En nuestro grupo, hemos explorado la posibilidad de alcanzar este objetivo mediante el diseño de un nuevo tipo de derivados multivalentes de ciclodextrinas que conjugan un receptor de β CD monosustituido y un ligando glicodendrítico (Figura 9).³⁷⁻³⁹

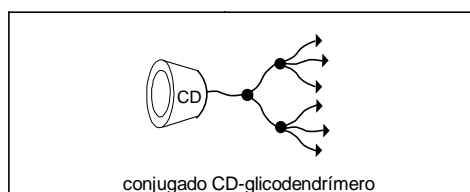
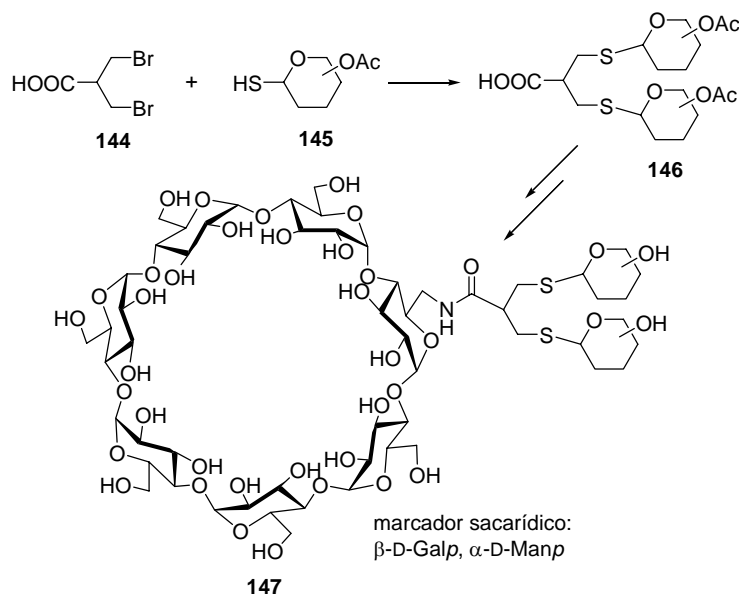


Figura 9. Representación esquemática de un conjugado ciclodextrina-glicodendrímico.

Aunque la bibliografía sobre glicodendrones y glicodendrímicos, tanto en relación con su uso como herramientas para el estudio de interacciones carbohidrato-proteína como con su aplicación en biomedicina, es muy amplia (una información más detallada al respecto se recoge en el apartado 6), sólo hemos encontrado una publicación en la que se describen derivados de CD monosustituidas con valencia mayor de 1.²⁸ Se trata de derivados divalentes de manosa y galactosa (**147**) resultantes de desplazar los átomos de bromo en el ácido 3-bromo-2-(bromometil)propiónico **144** por el correspondiente 1-tioazúcar (**145**) y posterior reacción de amidación de la C-6 monoamina de la β CD **104** (Esquema 10).



Esquema 10. Preparación de conjugados monosustituídos divalentes de la βCD .

En una Tesis Doctoral realizada con anterioridad en nuestro grupo de investigación, se desarrolló una estrategia muy eficaz para la síntesis de conjugados de ciclodextrinas y glicodendrimeros que responden a la estructura general de la Figura 9. Para construir la estructura en árbol típica de los dendrimeros sobre el anillo primario de la βCD , se seleccionaron una serie de elementos de base que pueden combinarse de manera iterativa y modular con un coste sintético relativamente bajo. Los monómeros clave son la 6^l-amino-6^l-desoxi- βCD (**104**)^{10b} como elemento de transporte, el derivado selectivamente protegido del 1,2,3-triaminopropano **148** como elemento de ramificación,⁴⁰ y los derivados de $\alpha\text{-D}$ -manopiranosilo funcionalizados con grupos isotiocianato **149**^{41,42} y **151**^{10b} como elementos de reconocimiento biológico. Este último se preparó por reacción de isotiocianación de la correspondiente amina **150** con tiofosgeno.⁴⁵ Con objeto de garantizar la accesibilidad de los epítomos biorreconocibles en fenómenos de reconocimiento molecular, también se consideró la intercalación de un puente de seis átomos de carbono, usando para ello el cloruro de 6-azidohexanoilo **152**

como elemento espaciador bifuncional.⁴⁶ Alternativamente, se utilizó el metil 6-amino-6-desoxi- α -D-glucopiranosido **153**⁴⁷ como un modelo apropiado de la unidad de glucopiranosilo monofuncionalizada en la β CD. La metodología de acoplamiento hace uso de la reacción entre monómeros funcionalizados con grupos isotiocianato y amina para dar aductos de tiourea, aprovechando la eficacia de la reacción de transformación del grupo azido terminal en el espaciador en una funcionalidad isotiocianato mediante la secuencia de reacciones de tipo Staudinger-aza-Wittig con trifenilfosfina y disulfuro de carbono.⁴⁸ La formación de enlaces amida también se utilizó para unir el espaciador al fragmento dendrítico (Figura 10).

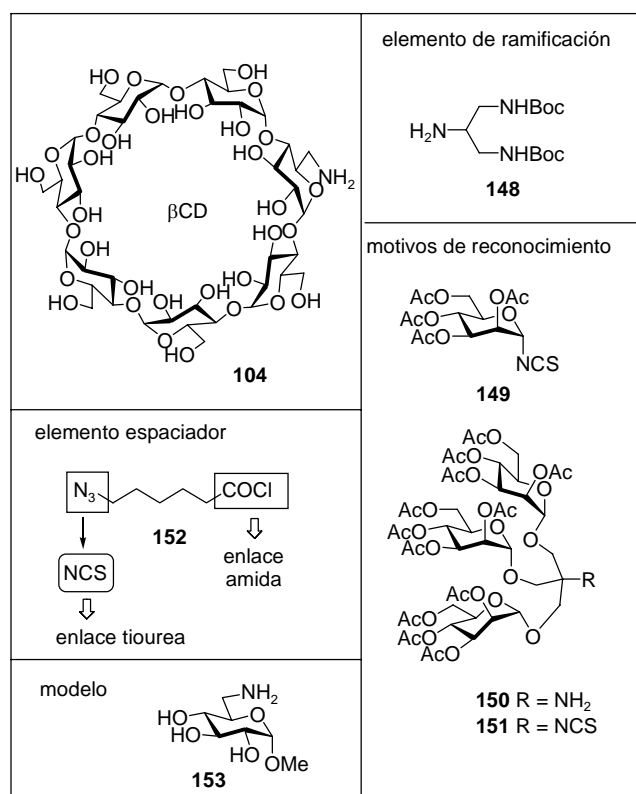
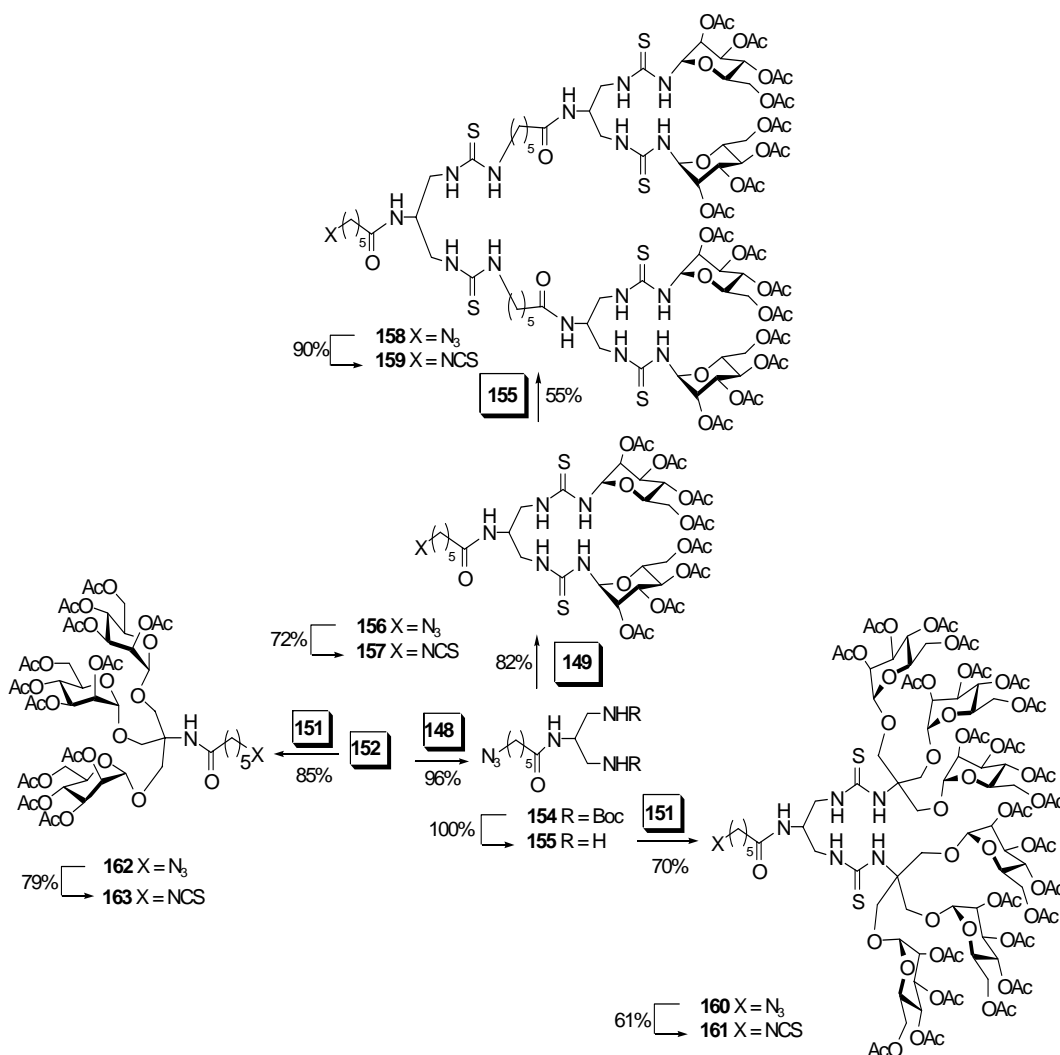


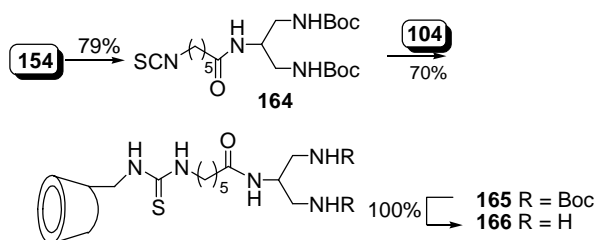
Figura 10. Elementos de base utilizados en la preparación de ciclodextrinas monosustituidas multivalentes.

Para la preparación de este nuevo tipo de neoglicoconjugados híbridos se pusieron a punto tanto aproximaciones convergentes como divergentes. En el primer caso, se utilizaron glicodendrones portando un grupo isotiocianato terminal (**157**, **159**, **161**, **163**), que se hicieron reaccionar con la monoamina β CD. El número y la densidad de uniones de manopiranosilo puede controlarse seleccionando la combinación adecuada de los diferentes elementos de base, como se indica en el Esquema 11.



Esquema 11. Síntesis de glicodendrones manosilados portando un grupo isotiocianato terminal.

La aproximación divergente comienza por el acoplamiento del elemento de transporte **104** (o el correspondiente modelo **153**) y el elemento de ramificación al que previamente se ha unido el espaciador (**164**). La hidrólisis de los grupos carbamato en el correspondiente aducto **165** (\rightarrow **166**) genera dos grupos amino libres adecuados para su acoplamiento con glicodendrones funcionalizados con grupos isotiocianato (Esquema 12).



Esquema 12. Síntesis de precursores para la preparación de conjugados glicodendrímico-βCD.

Una ventaja fundamental de esta metodología es que permite obtener compuestos con características estructurales variables pero perfectamente definidas. Partiendo de estos trabajos, en esta Tesis hemos vuelto a preparar una serie de conjugados de tipo ciclodextrinas dendríticas y hemos estudiado el efecto de la presencia del receptor CD en las propiedades de reconocimiento del sistema por una lectina específica, en función de la densidad y de la valencia de los epítomos de reconocimiento. La lectina que hemos utilizado como modelo es la Concanavalina A (Con A),⁴⁹ que reconoce específicamente unidades de α-D-manopiranosilo. La afinidad de la interacción ha sido evaluada mediante el ensayo ELLA (Enzyme-Linked Lectin Assay),⁵⁰ que proporciona información sobre la afinidad intrínseca lectina-ligando, desprovista de los efectos de agregación.^{50a,51}

Para los sistemas más eficaces en el estudio indicado, se ha examinado la influencia de la formación de un complejo de inclusión en la afinidad por la lectina, usando el docetaxel (DTX, Taxotero®), uno de los fármacos más eficaces utilizados en la actualidad en quimioterapia del cáncer de mama y de ovario,⁵² como molécula huésped.

La capacidad de estos compuestos de actuar como transportadores de fármacos se investigó, además, en colaboración con el grupo del Prof. J. Defaye (CNRS-Université Joseph Fourier, Grenoble 1), usando macrófagos que expresan en su superficie el receptor específico de manosa/fucosa, una lectina de interés terapéutico.

3. CICLODEXTRINAS DENDRÍTICAS. NUEVAS INVESTIGACIONES.

3. CICLODEXTRINAS DENDRÍTICAS. NUEVAS INVESTIGACIONES.

3.1. SÍNTESIS.

Con objeto de evaluar las propiedades de reconocimiento e inclusión de neoglicoconjugados que combinan una subunidad de β CD y una estructura glicodendrítica, así como la influencia de la arquitectura del sistema en dichas propiedades, hemos preparado la serie de compuestos que se recoge en la Figura 11. Todos ellos se sintetizaron siguiendo la metodología anteriormente desarrollada por nuestro grupo y su estructura se confirmó por RMN, espectrometría de masas en modo FAB o MALDI-TOF y por comparación con los datos y muestras disponibles de preparaciones anteriores. La purificación se efectuó por cromatografía en columna de gel de sílice para los aductos parcialmente acetilados (**167-172**). Tras la desacetilación, los compuestos libres (**173-178**) se obtuvieron con elevada pureza.⁵³ No obstante, en todos los casos las muestras se sometieron a un proceso de purificación final por cromatografía de permeación sobre gel antes de realizar los ensayos de evaluación biológica. El ligando monovalente **173** y los ligandos conjugados modelo **179-184** sirvieron como compuestos de control en los estudios de afinidad.

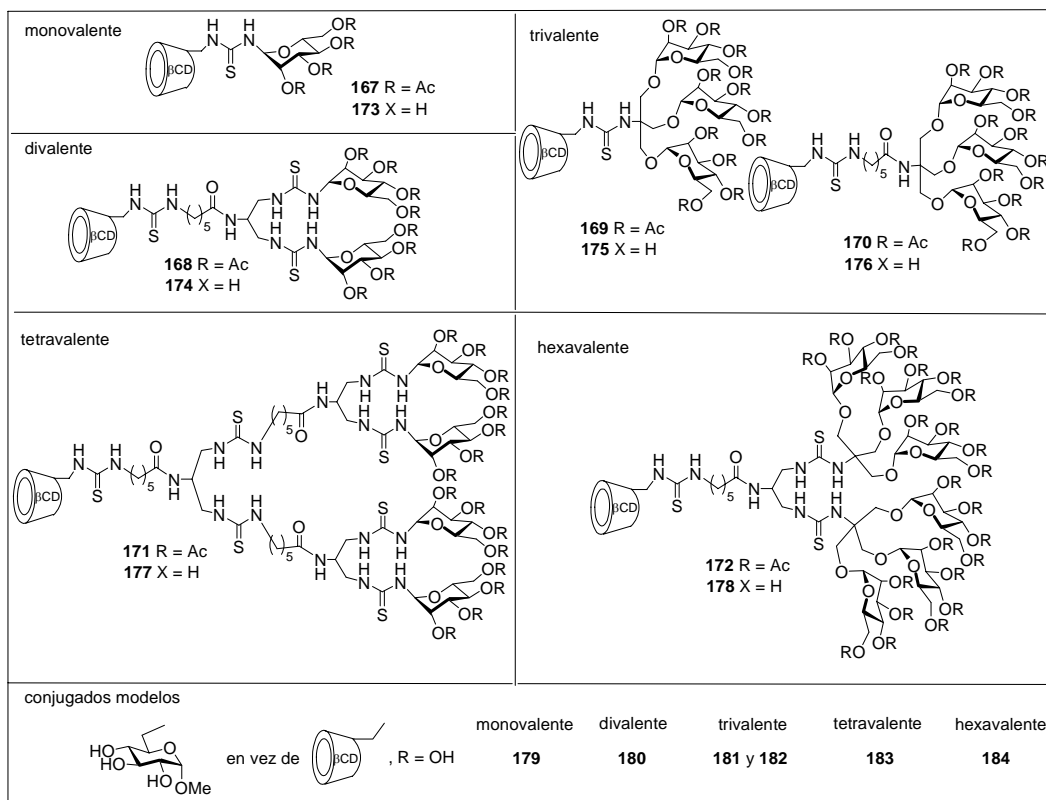


Figura 11. Estructuras de los conjugados β CD—glicodendrimeros preparados en este estudio y de los correspondientes compuestos modelo en los que la subunidad de β CD ha sido reemplazada por una subunidad de metil α -D-glucopiranosido.

3.2. EVALUACIÓN DE LA AFINIDAD FRENTE A LA LECTINA CONCAVALINA A.

Para la evaluación de la afinidad de los conjugados de la β CD **173-178** frente a la lectina específica de α -D-manopiranosilo Con A se utilizó el método ELLA.⁵⁰ Esta técnica mide la capacidad de un ligando sacarídico soluble de inhibir la asociación entre una lectina marcada y un ligando polimérico fijado en los pocillos de la placa de

microvaloración. En nuestro caso, hemos utilizado Con A marcada con la enzima peroxidasa de rábano picante y manano de levadura, respectivamente. En estas condiciones, la concentración necesaria para alcanzar un 50% de inhibición (IC_{50}) se considera inversamente proporcional a la energía libre de la asociación lectina-glicoligando. Paralelamente, con objeto de determinar la influencia de la porción ciclooligosacarídica en el proceso de reconocimiento lectina-ligando, se evaluaron los conjugados polimanosilados análogos **179-189** en los que el núcleo de β CD ha sido sustituido por una subunidad de metil α -D-glucopiranosido. Los resultados de estos ensayos, expresados en forma de valores de IC_{50} , están recogidos en la Tabla 1 y en la Figura 12.

Tabla 1. Resultados de inhibición del reconocimiento de la Con A marcada con la peroxidasa de rábano picante y el manano de levadura por los conjugados manosilados de β CD **173-178** y de metil α -D-glucopiranosido **179-184**.

Comp.	Valencia	IC₅₀ (μM)^a	Potencia relativa	Potencia relativa (molar)
173	1	800	1.7	1.7
179	1	1360	1.0	1.0
174	2	780	1.75	0.87
180	2	710	1.9	0.96
175	3	91	14.9	4.98
176	3	180	7.6	2.52
181	3	190	7.2	2.39
182	3	186	7.3	2.44
177	4	95	14.3	3.58
183	4	110	12.4	3.09
178	6	10	136	22.7
184	6	12	113	18.8

^aSe toma como referencia el valor para el metil 6-desoxi-6-(*N'*- α -D-manopiranosiltioureido)- α -D-glucopiranosido **179** (1360 μ M).

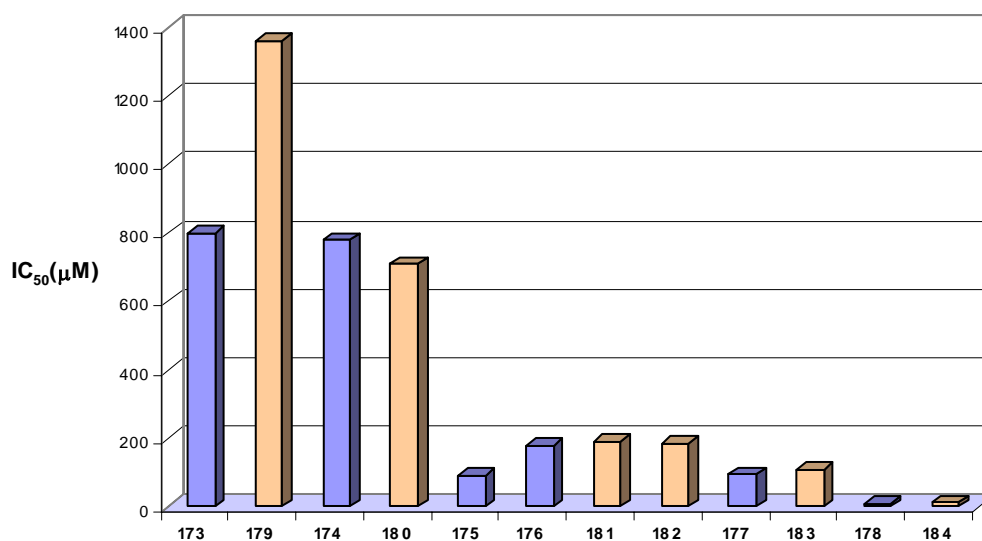


Figura 12. Inhibición de la unión de la lectina Con A marcada con peroxidasa de rábano picante al manano de levadura por las ciclodextrinas y modelos dendríticos manosilados.

3.3. EFECTO DE LA VALENCIA Y LA DENSIDAD DE LOS GLICOLIGANDOS EN LA AFINIDAD POR LA LECTINA.

Los valores de IC_{50} obtenidos para la inhibición de la asociación ConA-manano de levadura reflejan la amplificación de la eficacia de la interacción esperada para los conjugados de mayor valencia (hasta 22 veces por mol de manosa en el caso de derivados hexavalentes en comparación con los análogos monovalentes), lo que es indicativo de un fuerte efecto cluster.^{54,55} La afinidad del conjugado monosustituido hexavalente **178** ($IC_{50} = 10 \mu\text{M}$) resultó ser incluso superior a la encontrada previamente para los derivados de βCD heptamosilados ($IC_{50} > 70 \mu\text{M}$),²³ lo que apoya la existencia de una fuerte dependencia del modo de presentación de los motivos de reconocimiento en el proceso de interacción con la lectina.⁵⁶ No se observaron en cambio diferencias apreciables entre los

conjugados mono- y divalente o entre los tri- y tetravalentes. De hecho, de nuestro estudio se deduce que el incremento en la afinidad está asociado fundamentalmente a la incorporación de triadas de ligandos de manopiranosilo.

Es interesante destacar que el ensayo ELLA proporciona información de la interacción entre los glicoclústeres y un único sitio de reconocimiento de la lectina, ya que la presencia de la proteína de marcaje, la peroxidasa de rábano, muy voluminosa (70 kD), impide que las unidades de Con A puedan aproximarse lo suficiente como para que se den procesos de entrecruzamiento, al menos en el caso de distancias relativamente cortas entre los epítomos de reconocimiento. Por otra parte, una posible contribución del efecto quelato (ver apartado 6 para una descripción del mismo) queda también excluida a la vista de la separación entre las unidades de manopiranosilo, muy inferior a la existente entre dos sitios de reconocimiento en la forma tetramérica de la Con A (aproximadamente 50 Å). Puede concluirse, por tanto, que el efecto de densidad observado opera en el ámbito del llamado “efecto microcluster”, un término con el que se hace referencia al aumento de afinidad entre glicoligandos de valencia relativamente baja y lectinas, por contraposición al “efecto macrocluster”, que implica glicopolímeros o glicoclústeres de tamaño elevado.⁵⁷ Mientras que optimizar el efecto macrocluster tiene una gran importancia en el diseño de inhibidores o efectores de determinadas funciones biológicas, la optimización de la afinidad intrínseca por un receptor biológico puede ser particularmente relevante en el diseño de vectores que tengan ese receptor por diana. El efecto microcluster puede alcanzar valores biológicamente relevantes para un número relativamente bajo de motivos de reconocimiento, pero es muy sensible a consideraciones estructurales (orientación, densidad, geometría, etc).

El mecanismo que puede operar en nuestro caso para explicar el aumento en la afinidad por la lectina debido a la agrupación en triadas de las unidades de manopiranosilo es, todavía, desconocido. Lehn y colaboradores han observado también este efecto al evaluar librerías dinámicas de glicodendrones frente a la Con A.⁵⁸ Estos autores proponen que las triadas puedan actuar como miméticos del motivo trisacárido

3,6-di-*O*-(α -D-manopiranosil)- α -D-manopiranosido, que es el ligando más eficaz de la Con A,⁵⁹ aunque también es posible que se produzcan interacciones secundarias con otras zonas de la proteína. En cualquier caso, nuestros datos subrayan la importancia de disponer de estrategias sintéticas flexibles que permitan introducir variabilidad molecular para identificar y optimizar la estructura de los glicoligandos.

3.4. EFECTO DEL RECEPTOR EN LA AFINIDAD POR LA LECTINA.

La comparación de los datos de ELLA para los derivados de β CD **173-178** y los derivados del metil α -D-glucopiranosido **179-184** permitió evaluar la influencia del receptor en el reconocimiento por la lectina, no encontrándose diferencias significativas entre ambas series de compuestos cuando el espaciador de seis átomos de carbono está presente en la estructura. Sin embargo, los valores de IC₅₀ para los aductos monovalente **173** y trivalente **175** (800 y 91 mM, respectivamente), en los que el ligando manosilado está unido directamente al núcleo de CD, indican un aumento del 85-90% en la eficacia de la interacción en comparación con los correspondientes compuestos modelo **179** y **181** (1360 y 190 μ M, respectivamente).

La diferencia entre una y otra serie debe atribuirse, esencialmente, a una interacción adicional estabilizante que implica al receptor cicloheptasacárido. Es probable que una vez que el ligando manosilado se ha acomodado en el sitio de reconocimiento de la Con A, la subunidad de β CD quede lo suficientemente próxima como para poder interactuar con aminoácidos presentes en la superficie de la proteína. Una situación similar se ha encontrado previamente en el caso del complejo formado por un conjugado de gastrina- β CD y el receptor CCK-B de humanos.⁶⁰ La comparación de los datos ELLA para los compuestos **175** y **176**, que difieren exclusivamente en la presencia del espaciador de seis átomos de carbono, muestra de manera inequívoca que esta interacción depende de la proximidad entre el transportador β CD y los ligandos

sacarídicos biorreconocibles. La contribución de la interacción β CD-Con A a la energía libre de asociación total puede estimarse, comparando los valores de IC_{50} ,^{50b} en unas $\sim 0.35 \text{ kcal mol}^{-1}$ en las condiciones particulares del ensayo ELLA. Este resultado puede tener relevancia en relación con el uso de estos sistemas como transportadores de medicamentos, en el supuesto de que la interacción CD-receptor biológico implique la cavidad de la CD. En este caso podría inducirse la liberación de un fármaco incluido al alcanzar la diana terapéutica.

3.5. PROPIEDADES DE SOLUBILIZACIÓN Y TRANSPORTE DE FÁRMACOS DE CDS DENDRÍTICAS.

Los conjugados glicodendríticos de β CD preparados mostraron valores de solubilidad en agua unas 20 veces superior al de la β CD nativa (15 mM). Además, los experimentos de solubilización en agua del docetaxel (**DTX**) indicaron valores similares a los obtenidos previamente para CDs monovalentes, significativamente más altos que los encontrados para derivados per-(C-6)-sustituidos.²³ Por ejemplo, hasta 4.5 y 4.7 g L^{-1} de Taxotero® se solubilizaron en disoluciones acuosas de los conjugados **175** y **176**, respectivamente, a una concentración 25 mM a 25 °C, lo que supone un incremento de más de 1000 veces en comparación con la solubilidad en agua del fármaco (0.004 g L^{-1}).^{52a} Estos datos apoyan el potencial de las ciclodextrinas dendríticas como sistemas vectorizados de transporte de fármacos en comparación con los derivados monovalentes o polisustituidos.

La capacidad de los complejos docetaxel:**175** y docetaxel:**176** para ser reconocidos por la lectina específica Con A se evaluó mediante la técnica ELLA usando liofilizados que contenían el fármaco huésped y el receptor en proporción molar 1:5. Previamente, se confirmó que no se detectaba interacción con la lectina en el caso del complejo docetaxel: β CD utilizando una proporción molar idéntica. Las curvas de inhibición de la asociación ConA-manano de levadura para los conjugados trimanosilados

de la β CD **175** y **176** así como para los correspondientes complejos con docetaxel se muestran en la Figura 13. En ningún caso se observó precipitación en las condiciones experimentales utilizadas, lo que descarta la disociación del complejo con el fármaco insoluble tras la unión a la lectina. Los resultados son indicativos de un aumento en la afinidad por la Con A de unas dos veces para los complejos (valores de IC_{50} de 43 y 51 μ M) en comparación con los receptores individuales (valores de IC_{50} de 91 y 180 μ M para **175** y **176**, respectivamente). Un efecto idéntico se observó en el caso del conjugado hexavalente **178** (IC_{50} de 6 μ M para el complejo **178:DTX** comparado con 10 μ M para **178**).

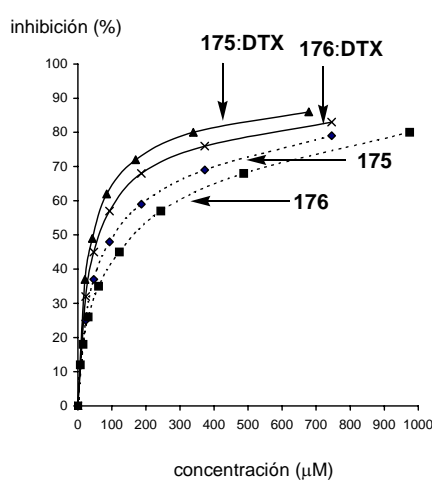


Figura 13. Comparación de los datos de inhibición de los conjugados **175** y **176** y de los complejos **175:DTX** y **176:DTX** frente a la Con A.

El resultado anterior parece indicar la existencia de interacciones adicionales entre el fármaco incluido y el receptor proteico en el complejo ternario. Sin embargo, el aumento de afinidad observado es independiente de la distancia entre el sistema de transporte y el marcador biorreconocible, lo que sugiere un mecanismo diferente. Posiblemente, la presencia de dos anillos aromáticos en la molécula de docetaxel,

susceptibles de incluirse en la cavidad de la β CD, permite la formación de especies supramoleculares con una estequiometría huésped-receptor 1:2, por tanto con una valencia formal doble (Figura 14). Esto supone la existencia de un proceso de clusterización del transportador multivalente en presencia del fármaco, un mecanismo biomimético que podría suponer una nueva aproximación en el transporte vectorizado de medicamentos.

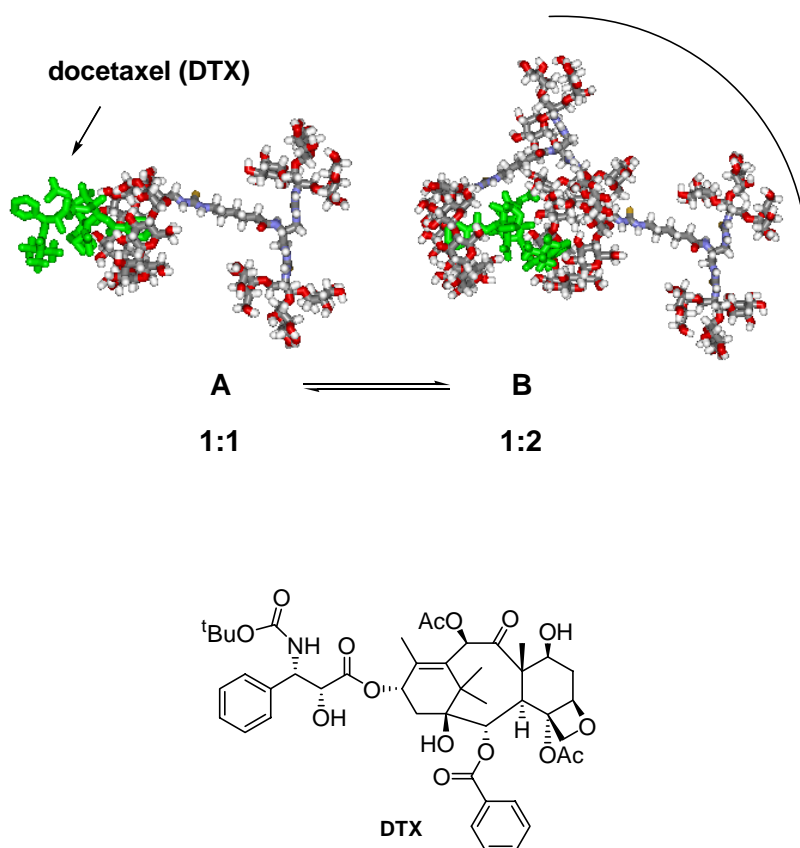


Figura 14. Modelo molecular correspondiente a los complejos 1:1 y 2:1 de la ciclodextrina dendrítica hexavalente **178** y el docetaxel. Estructura química del docetaxel

El estudio realizado sobre las propiedades de inclusión y transporte del anticanceroso docetaxel por CDs dendríticas apunta a que derivados de CDs diméricas,

capaces de interactuar simultáneamente con los dos anillos aromáticos de la molécula para formar un complejo tipo “sandwich”, de estequiometría 1:1, podrían ser transportadores aún más eficaces para este tipo particular de fármacos. El siguiente objetivo de esta Tesis ha sido desarrollar esta idea, para lo que hemos preparado una nueva familia de ciclodextrinas de tercera generación diseñadas “a medida” para interactuar óptimamente tanto con una determinada lectina como con un determinado fármaco. En los apartados que siguen se recogen las investigaciones en este sentido.

4. CICLODEXTRINAS DIMÉRICAS. ANTECEDENTES.

4. CICLODEXTRINAS DIMÉRICAS. ANTECEDENTES.

En numerosas ocasiones las constantes de asociación entre las ciclodextrinas canónicas y las moléculas orgánicas son demasiado débiles para su utilización práctica, ya sea como transportadores de medicamentos, reactivos de separación, miméticos de enzimas o sensores fotoquímicos. La conexión de dos ciclodextrinas mediante un espaciador permite acceder a dímeros que tienen la ventaja de poseer dos sitios de unión en una sola molécula. En estos derivados diméricos pueden tener lugar interacciones cooperativas que impliquen las dos cavidades hidrófobas, dando lugar a asociaciones más fuertes que las que se alcanzan con especies monoméricas. Cabe esperar que la formación de complejos con moléculas ditópicas; es decir, moléculas que posean dos subunidades cada una de ellas susceptible de incluirse en la cavidad de una ciclodextrina, esté especialmente favorecida. Además, esta estrategia permite aumentar la selectividad de la asociación en comparación con las ciclodextrinas monoméricas, que en general no son muy selectivas en su unión con moléculas huéspedes.

El aumento en la eficacia de la asociación y en la selectividad mediante el uso de ciclodextrinas diméricas se atribuye al llamado “efecto quelato”, que de manera general se refiere al hecho de que la asociación de ligandos bidentados esté favorecida en relación con dos ligandos monodentados equivalentes. Hay dos situaciones a considerar a la hora de racionalizar este fenómeno. Por una parte, la energía libre implicada en la asociación de un ligando bidentado puede ser simplemente el doble que la correspondiente al ligando monodentado. Pero además, la diferencia entre uno y otro caso puede ser superior al doble debido a que la interacción con el segundo sitio de unión del ligando bidentado presente ventajas entrópicas. Una vez que se ha producido la asociación con uno de los sitios de unión, el segundo está en la proximidad y puede interactuar sin el coste de entropía translacional y rotacional de la primera interacción (Figura 15).

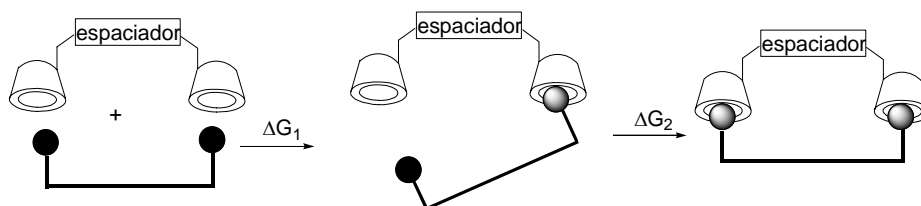


Figura 15. Representación esquemática del efecto quelato en la interacción de ciclodextrinas diméricas con moléculas ditópicas.

En la práctica, aunque los argumentos del efecto quelato son entrópicos, estudios termodinámicos con ciclodextrinas diméricas han mostrado efectos entálpicos favorables e incluso contribuciones entrópicas desfavorables en comparación con especies monoméricas. Estos resultados reflejan, probablemente, efectos de solvatación. En cualquier caso, la utilización de receptores diméricos permite alcanzar asociaciones con huéspedes ditópicos de geometría adecuada mucho más robustas que en el caso de receptores monoméricos.

Los primeros ejemplos de ciclodextrinas diméricas se remontan a los años setenta-ochenta y fueron preparados por los grupos de Breslow,⁶¹⁻⁶³ Tabushi,⁶⁴ Harada⁶⁵ y Fujita.⁶⁶ Desde entonces se ha desarrollado una intensa investigación en este campo, dirigida especialmente al diseño de miméticos de enzimas y de sensores moleculares, con contribuciones muy destacables de los grupos de Breslow,^{62,67} Lawrence,⁶⁸ Liu,⁶⁹ Nolte⁷⁰ y Reindhout,⁷¹ entre otros. Las estructuras descritas son muy variadas (Figura 16) y abarcan tanto homodímeros (ej. **185-188**) como heterodímeros (ej. **189**) en los que las dos unidades oligosacáridicas se conectan a través de sus caras primarias (ej. **185-187**) o secundarias (ej. **188, 189**) mediante espaciadores sencillos (ej. **186-189**) o dobles (ej. **185**).⁷² La unión del espaciador a las ciclodextrinas puede realizarse a través de un átomo de oxígeno (ej. **188**), azufre (ej. **185**), nitrógeno (ej. **186, 189**) o selenio (ej. **187**).

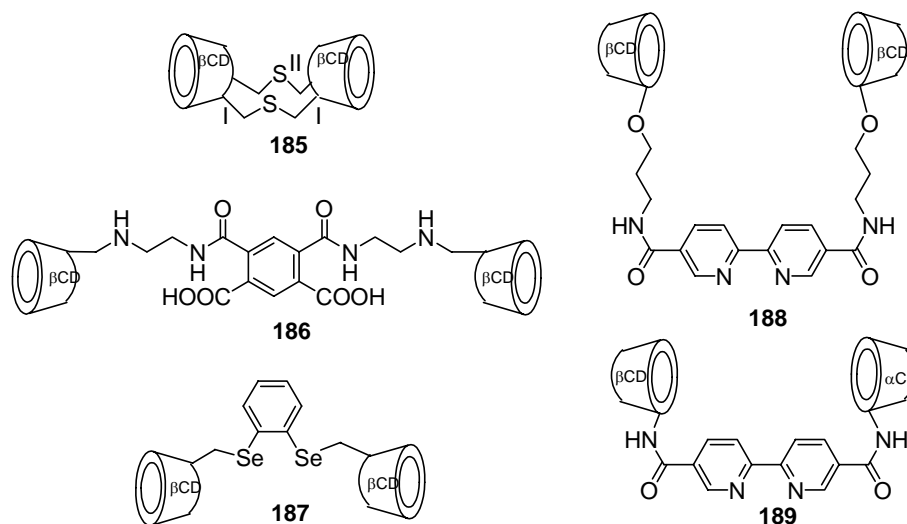
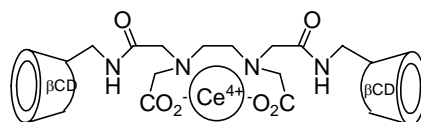


Figura 16. Ejemplos de ciclodextrinas diméricas con diferentes espaciadores y tipos de unión: **185** (ref. 72), **186** (ref. 69a), **187** (ref. 69d), **188** (ref. 70a) y **189** (ref. 70d). El compuesto **185** es el único ejemplo de CD dimérica para el que se conoce su estructura cristalina.

Una revisión exhaustiva de los diferentes dímeros de ciclodextrinas descritos en la bibliografía resultaría demasiado extensa para su inclusión en esta Memoria. En nuestro caso, el interés se centra en el diseño de ciclodextrinas diméricas con espaciadores funcionalizados de tal manera que permitan la incorporación de una subunidad adicional. Muchos de los ejemplos de miméticos de enzimas basados en CDs diméricas presentan ligandos apropiados para el anclaje de cationes metálicos (Figura 17) que van a actuar como centros catalíticos⁷³ (Ej. **190**).⁷⁴



190

Figura 17. Ejemplo de derivado de CD dimérica capaz de coordinar cationes metálicas. En este caso, el complejo de Ce^{4+} cataliza la reacción quimioluminiscente del luminal con H_2O_2 .

Los ejemplos de ciclodextrinas diméricas que permiten la unión covalente de otros elementos a la estructura son, sin embargo, bastante más escasos. Recientemente, Reindhout y colaboradores⁷⁵ y Hamada y colaboradores⁷⁶ han publicado la síntesis de sensores orgánicos basados en ciclodextrinas diméricas que incorporan una o dos unidades de dansilo como sondas fluorescentes (Figura 18). En ambos casos los sensores se unen a grupos amino presentes en el espaciador, ya sea mediante la formación de una sulfonamida (**191**) o de una amida (**192**). Mientras que en el primer caso los autores escogen una estrategia de tipo convergente, realizando la unión entre la unidad de dansilo y el espaciador antes de la reacción de dimerización, en el segundo se siguió una estrategia divergente en la que la etapa final es el acoplamiento de dos unidades de dansilo con dos grupos amino presentes en el dímero. En nuestro caso, hemos utilizado este tipo de estrategia divergente, considerando la ciclodextrina como núcleo inicial, en la preparación de los dímeros de ciclodextrinas que se describen en esta Tesis.

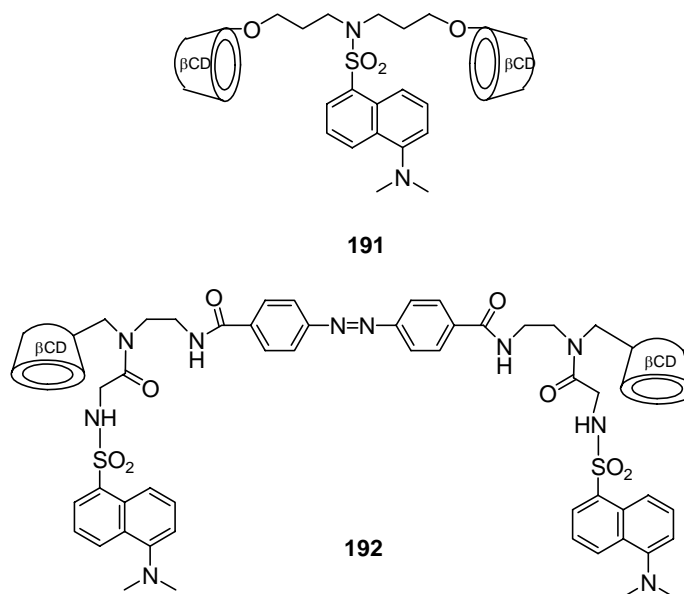


Figura 18. Ejemplos de ciclodextrinas diméricas que incorporan unidades de dansilo como sondas fluorescentes: **191**⁷⁵ y **192**⁷⁶.

Si bien es conocido que numerosos compuestos farmacológicamente activos tienen tendencia a formar complejos de estequiometría 2:1 (CD:huésped), no hemos encontrado muchos ejemplos en los que estructuras de tipo CD diméricas se propongan como transportadores de medicamentos. Darcy y colaboradores^{77,78} han observado que los derivados diméricos **193** y **194** forman complejos 1:1 con el análogo de clofazimina **195** con una elevada selectividad frente a otros derivados estructuralmente relacionados (Figura 19).

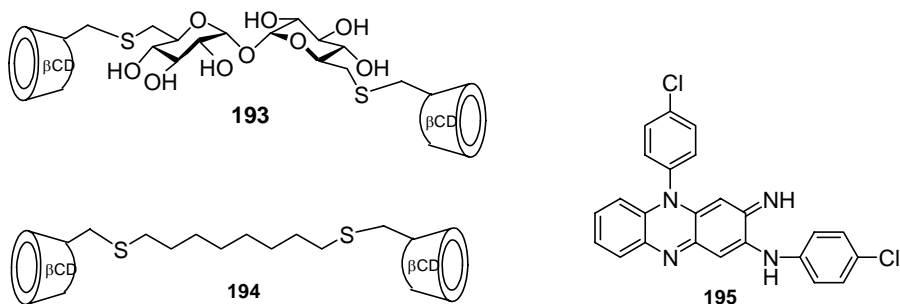


Figura 19. Ciclodextrinas diméricas (**193**, **194**) que han mostrado selectividad en la complejación del análogo de clofazimina **195**.

Welch y colaboradores⁷⁹ diseñaron el dímero de β-ciclodextrina **196**, con un espaciador derivado del 2,6-naftalenoditiol, como transportador del azacoronando **197**. El sistema formado por **196** y el complejo de cobre (II) de **197** es adecuado para el marcaje de tumores en radioterapia (Figura 20).

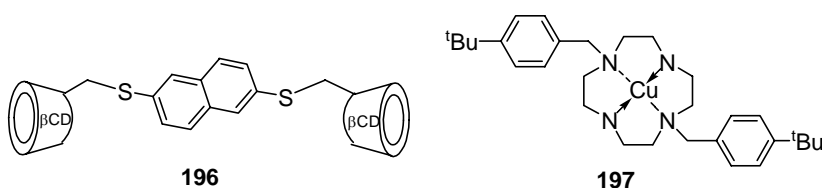


Figura 20. Ciclodextrina dimérica (**196**) diseñada para el transporte del azacoronando **197** y su uso en el marcaje de tumores para radioterapia.

También en relación con la terapia del cáncer, recientemente se han descrito dos ejemplos de derivados diméricos de la βCD para la complejación y solubilización del antimitótico paclitaxel (Taxol) **200** (Figura 21). En el primero⁸⁰ (**198**) las cavidades se

unen a través de las caras secundarias. El compuesto resultante forma un complejo 1:1 muy fuerte con el medicamento (**200**) por lo que puede utilizarse como agente de detoxificación. En el segundo ejemplo⁸¹ (**199**), las unidades de ciclodextrinas se unen a través de sus caras primarias. Los estudios de complejación indican la formación en este caso de complejos de estequiometría 1:2 (dímero de CD:paclitaxel) que mostraron una actividad elevada frente a células de leucemia K562 (Figura 21).

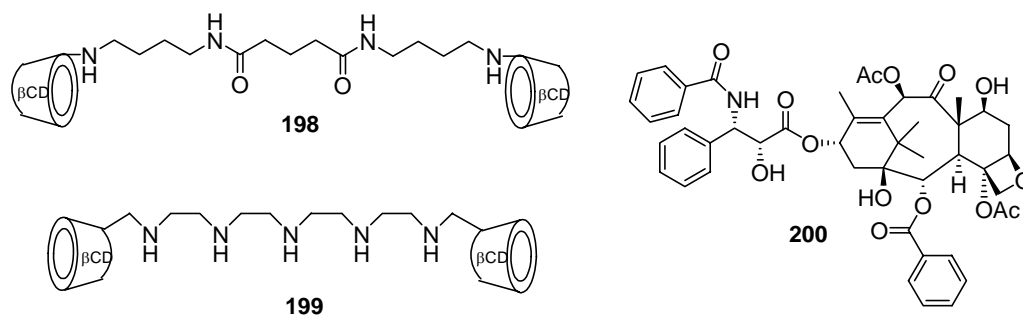


Figura 21. Ejemplos de ciclodextrinas diméricas (**198** y **199**) que forman complejos de inclusión con el paclitaxel (**200**).

5. CONJUGADOS DE CICLODEXTRINAS DIMÉRICAS. NUEVAS INVESTIGACIONES.

5. CONJUGADOS DE CICLODEXTRINAS DIMÉRICAS. NUEVAS INVESTIGACIONES.

5.1. SÍNTESIS.

Los resultados de la evaluación de la capacidad de inclusión y transporte de conjugados dendríticos de la β CD frente al anticanceroso docetaxel, comentados en el apartado 3.5, sugieren que este fármaco podría interactuar simultáneamente con dos cavidades de β CD, por lo que un receptor ditópico podría ser, en principio, un transportador más eficaz para el mismo. La preparación de receptores politópicos, diseñados a medida, que satisfagan los requerimientos necesarios tanto para la formación de compuestos de tipo sándwich como para una interacción eficaz con el receptor biológico diana es, consecuentemente, un objetivo interesante en el campo del diseño de vectores específicos de medicamentos.

La estructura general de los nuevos sistemas que proponemos está representada esquemáticamente en la Figura 22. En realidad, la posibilidad de generar diversidad molecular en la región que actúa como receptor dentro de la arquitectura de tipo CD glicodendrítica, para optimizar la interacción receptor-huésped, estaba implícita intencionadamente en la estrategia sintética modular que habíamos desarrollado. Aprovechando la experiencia anterior en la preparación de conjugados de ciclodextrinas mediante la reacción de formación de puentes de tiourea, hemos puesto a punto una metodología convergente para la síntesis de ciclodextrinas diméricas que también incorporan un marcador de reconocimiento biológico glicodendrítico. Estos compuestos constituyen los primeros ejemplos de ciclodextrinas diméricas de tercera generación.

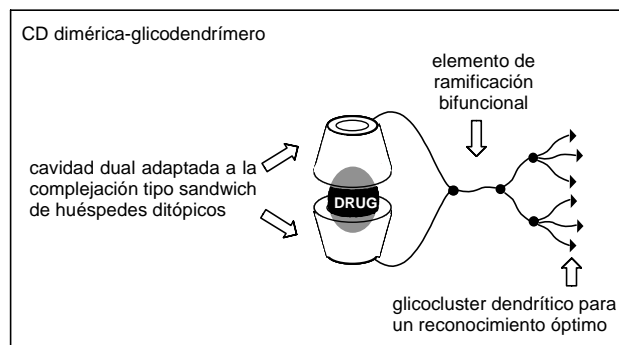


Figura 22. Representación esquemática de CDs diméricas de tercera generación.

En el diseño molecular de las CD diméricas que se describen en esta Tesis, hemos conservado los elementos estructurales que ya se identificaron como especialmente favorables en el estudio de las CDs dendríticas, esto es: (i) una presentación dendrítica de los elementos de manopiranosilo biorreconocibles, (ii) la agrupación de estos epítomos en triadas, y (iii) el uso de unidades de β CD monosustituidas en posición primaria. Igualmente, la estrategia sintética es de tipo modular y se basa en la utilización de elementos de base relativamente sencillos que pueden acoplarse de manera iterativa mediante la formación de uniones de tiourea para generar una amplia variedad de estructuras. De hecho, los elementos de base que proporcionan las subestructuras que actuarán como receptor y como glicoligandos biorreconocibles son los mismos que ya utilizamos en el caso de los sistemas análogos monotópicos. Sin embargo, en este caso hemos seleccionado como elemento de ramificación, y simultáneamente espaciador, el derivado selectivamente protegido de la tris(2-aminoetil)amina (TREN) **203** (Figura 23).

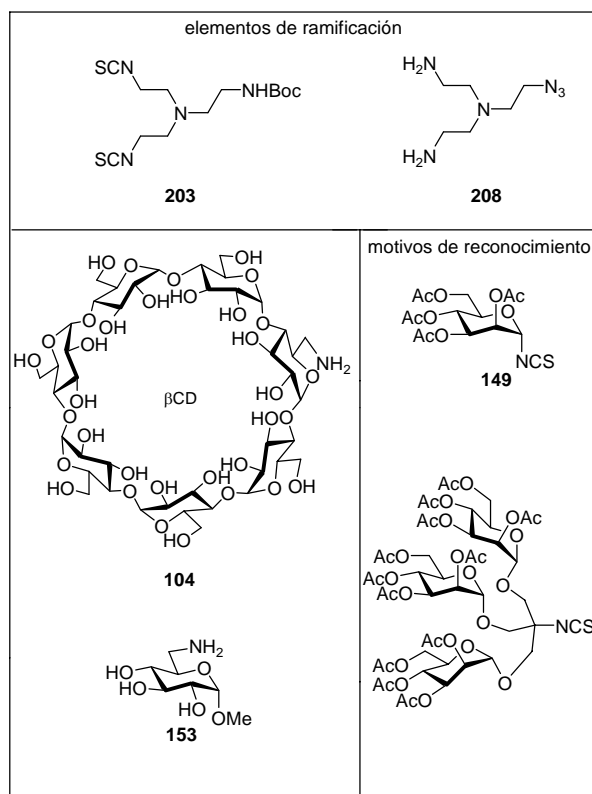


Figura 23. Elementos de base utilizados en la preparación de ciclodextrinas diméricas.

La elección de elementos de ramificación derivados de la TREN en el diseño sintético responde a dos consideraciones importantes: (i) de acuerdo con cálculos de modelización molecular, la longitud del correspondiente elemento de unión que se generaría al enlazar dos unidades de β CD mediante puentes de tiourea se corresponde con la distancia entre los dos anillos aromáticos en el docetaxel, permitiendo una orientación apropiada de las dos cavidades para una complejación óptima (Figura 24); (ii) el uso de elementos de ramificación con un átomo central de nitrógeno, en lugar de carbono, evita fenómenos de diastereotopismo en los espectros de RMN de los conjugados finales, facilitando el análisis por espectroscopía.

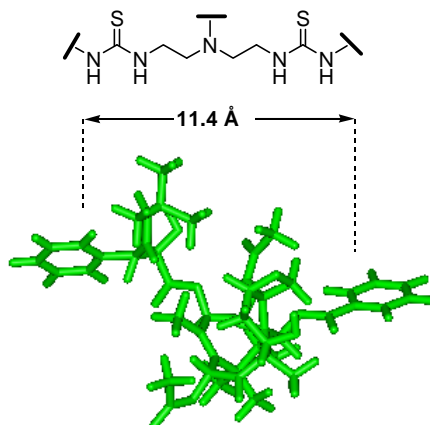
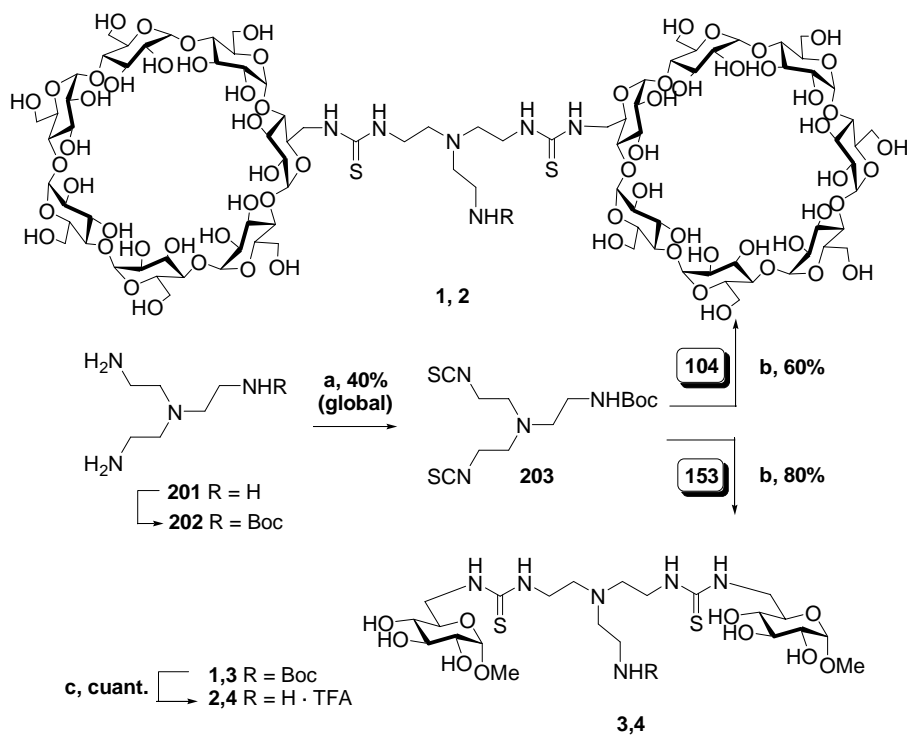


Figura 24. Representación tridimensional de la molécula de docetaxel con indicación de la distancia entre los dos anillos aromáticos. El espaciador derivado de la TREN que se indica en la figura permitiría salvar esta distancia.

La estrategia sintética que hemos adoptado se basa en el acoplamiento de un bloque consistente en un derivado dimérico de la β CD (el bloque de inclusión), funcionalizado con un grupo amino, con un derivado glicodendrítico (el bloque de biorreconocimiento) funcionalizado con un grupo isotiocianato. Ambos bloques quedarán unidos en el sistema final por un puente de tiourea. En todos los casos se prepararon paralelamente los correspondientes compuestos modelo en los que el bloque de inclusión ha sido reemplazado por un dímero del metil α -D-glucopiranosido. Este método sistemático de trabajo, ya utilizado en el caso de las CDs dendríticas permite realizar la optimización de las condiciones de reacción sobre compuestos menos costosos de obtener y permite realizar estudios de RMN que facilitan enormemente el análisis de los correspondientes espectros para los derivados de CD diméricos, mucho más complejos. Además, disponer de ambas series de compuestos es de utilidad para determinar si el bloque de inclusión tiene o no alguna influencia en el proceso de asociación entre el

bloque de biorreconocimiento glicodendrítico y el correspondiente receptor específico (lectina).

La preparación de la ciclodextrina dimérica funcionalizada **2** y del derivado α -D-glucopiranosídico modelo **4** se describe en el Esquema 13.



Esquema 13. Síntesis de precursores para la preparación de conjugados diméricos. Reactivos y condiciones: a, i) Boc_2O , dioxano, t.a., 16 h; ii) CSCl_2 , CaCO_3 , $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-H}_2\text{O}$, t.a., 1 h; b, piridina, 40°C ; c, TFA- H_2O 1:1, t.a., 1 h.

La protección selectiva de uno de los grupos amino de la tris(2-aminoetil)amina **201** como el correspondiente *tert*-butil carbamato (**202**), seguida de la isotiocianación de los dos grupos amino restantes empleando tiofosgeno, permite aislar el elemento de ramificación bifuncionalizado **203**^{23b}. La reacción de acoplamiento de **203** con la β CD

monoamina **104** o con el metil 6-amino-6-desoxi- α -D-glucopiranosido **153** en piridina proporcionó los derivados diméricos **1** y **3** con rendimientos del 60 y 80%, respectivamente. La hidrólisis con ácido trifluoroacético del grupo protector *N*-Boc condujo a los compuestos **2** y **4**, que presentan un grupo amino libre adecuado para una reacción de acoplamiento posterior.

Nuestro siguiente objetivo, antes de proceder a la síntesis de estructuras biorreconocibles, ha sido examinar la reactividad del compuesto **2** en reacciones de adición nucleófila a un grupo isotiocianato y confirmar la idoneidad de nuestro diseño de β CD dimérica para la solubilización eficaz del Taxotero®. Para ello, realizamos en primer lugar la reacción de acoplamiento de **2** con el metil isotiocianato. La reacción transcurrió a temperatura ambiente en agua-acetona a pH 8 para dar el correspondiente aducto **9** con un 70% de rendimiento.

El dímero **9**, con tres grupos tiourea, presenta una elevada solubilidad en agua (325 gL^{-1}), mucho mayor que la de la β CD. Utilizando una disolución 10 mM, se solubilizaron hasta 8.3 gL^{-1} de docetaxel. Si bien la baja solubilidad en agua del fármaco no permitió un cálculo de la constante de asociación (K_{as}) mediante técnicas de titración por RMN, los datos de solubilidad permiten estimar un valor de $K_{as} > 10^5$ para una estequiometría 1:1, lo que está de acuerdo con la validez de nuestro diseño de transportador.

Si bien **9** no posee elementos de biorreconocimiento, sus propiedades de solubilización y la relativa simplicidad de su síntesis le convierten en un buen candidato para su desarrollo como transportador de medicamentos. Su análogo monomérico, la 6-desoxi-6-metiltioureido- β CD (**204**, 6-MTU) ha mostrado buenas propiedades toxicológicas en ensayos de hemólisis y se encuentra en fase de preparación en planta piloto para completar los estudios de toxicología y propiedades farmacológicas de sus complejos (Figura 25).^{82a,b} El derivado dimérico **9**, para el que se ha depositado una patente^{82c}, se ha incorporado recientemente a este programa que ejecuta bajo licencia la empresa Biocydex (Poitiers, Francia), encontrándose su síntesis en fase de escalado.

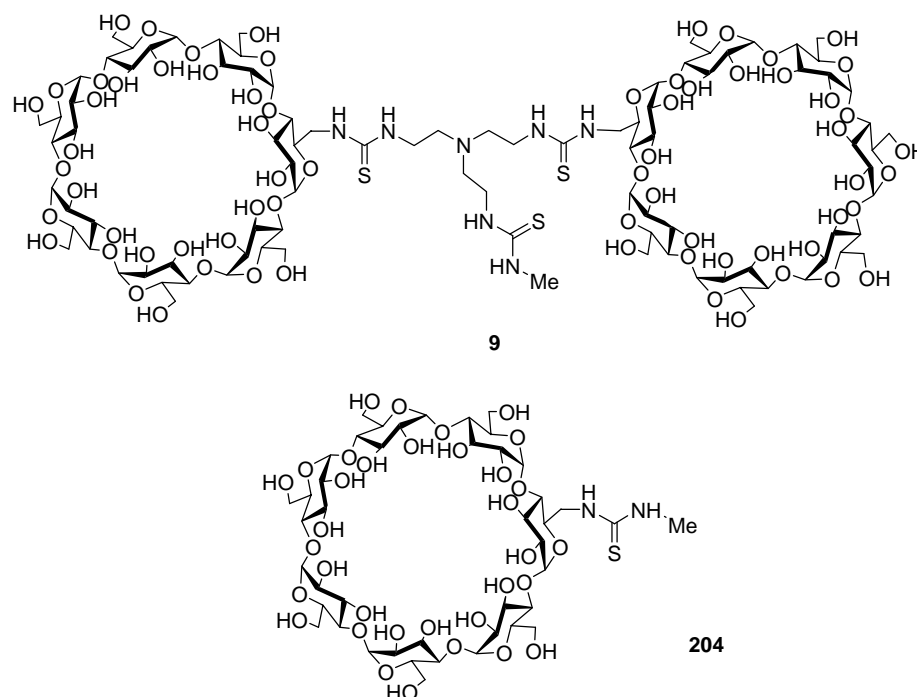


Figura 25. Ciclodextrina dimérica **9** y su análogo monomérico **204** (6-MTU).

A la vista de estos resultados, abordamos la preparación de una serie de conjugados de tipo CD diméricas biorreconocibles que nos permitiese evaluar las posibilidad de dirigir estos sistemas a receptores de membrana específicos. Con objeto de poder comparar los resultados con los obtenidos previamente en la serie de las CDs dendríticas monoméricas, nos hemos centrado en sistemas polimanosilados. En concreto, las estructuras preparadas han sido las que se recogen en la Figura 26.

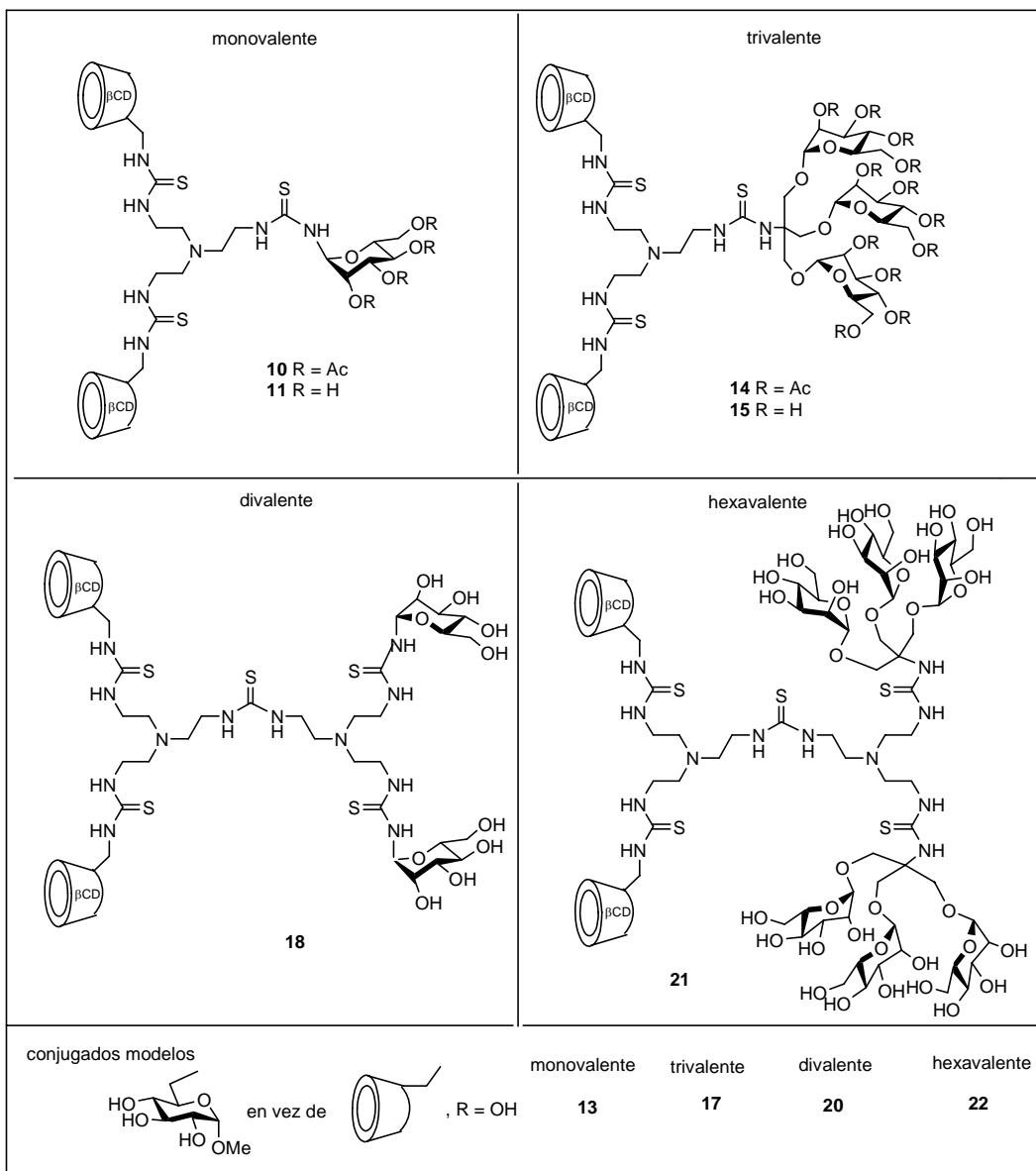
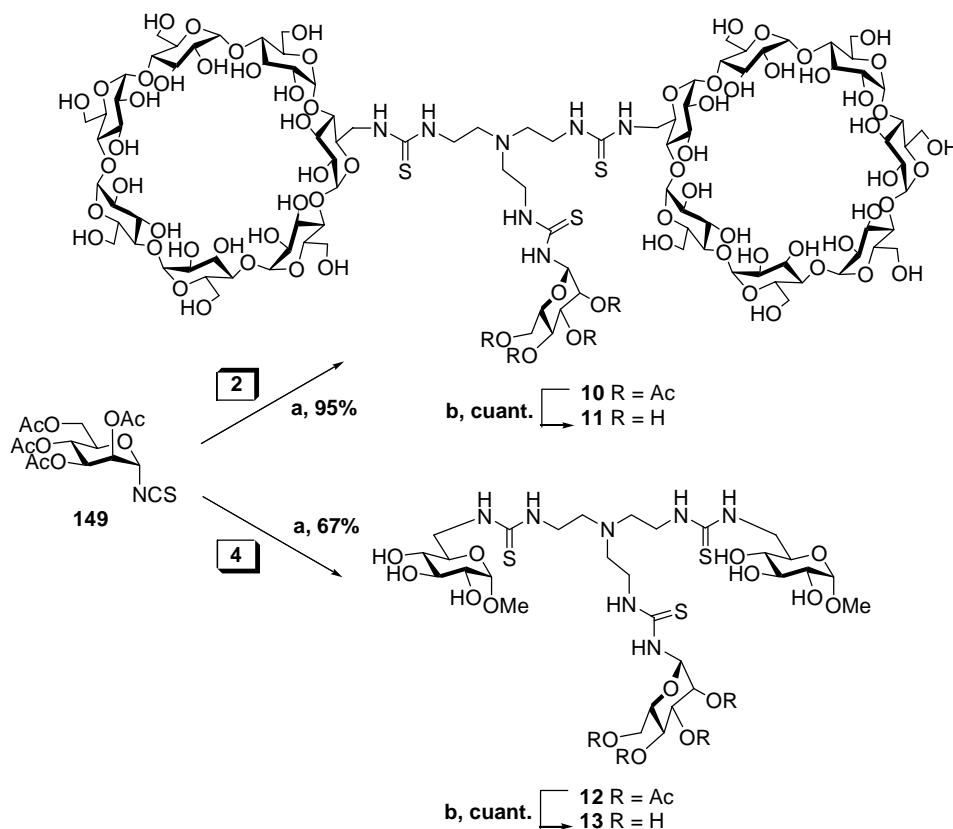


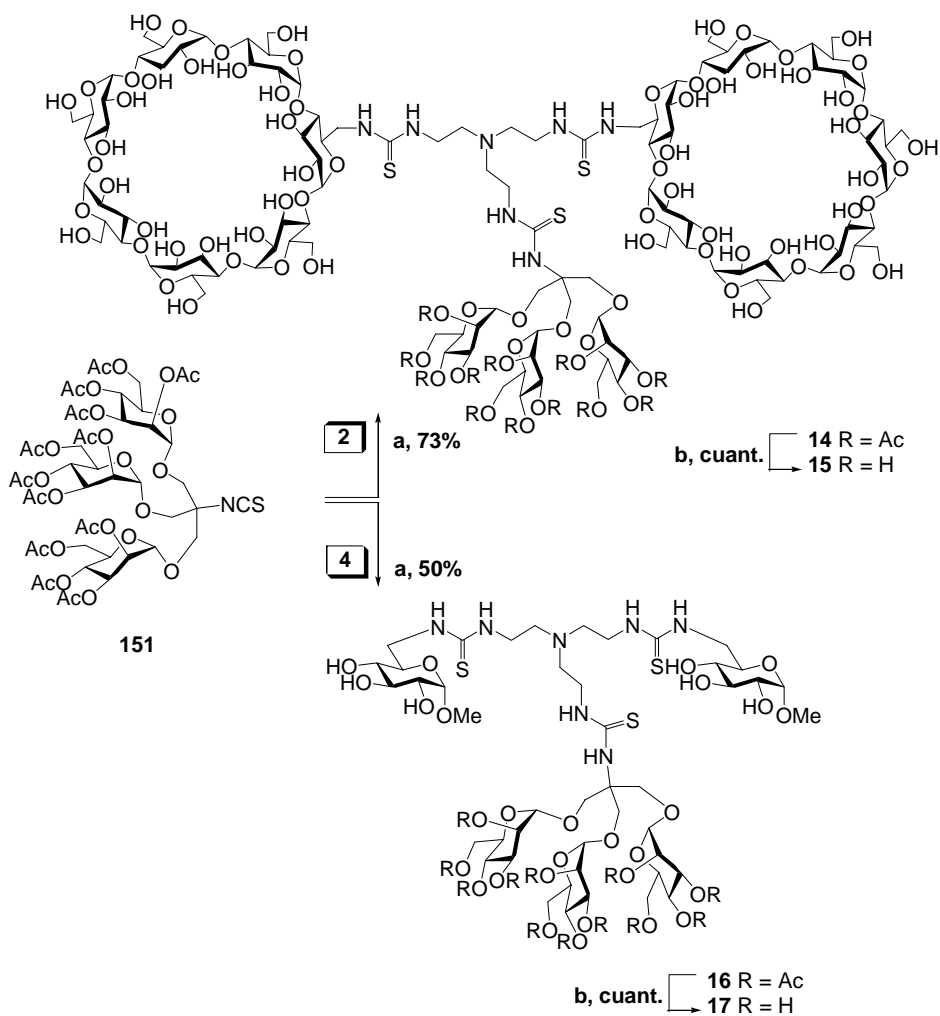
Figura 26. Estructuras de los conjugados diméricos de β CD preparados en este estudio y de los correspondientes compuestos modelo.

La preparación de los conjugados diméricos monomanosilados **11** y **13** se llevó a cabo de modo análogo al comentado para la síntesis del derivado metiltioureido, por acoplamiento de las aminas **2** y **4** con el 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-manopiranosil isotiocianato **149** (\rightarrow **10** y **12**, respectivamente) como se muestra en el Esquema 14. La desacetilación de **10** y **12**, efectuada a 0 °C para evitar reacciones de anomerización⁵³, conduce a los compuestos desprotegidos finales **11** y **13**.



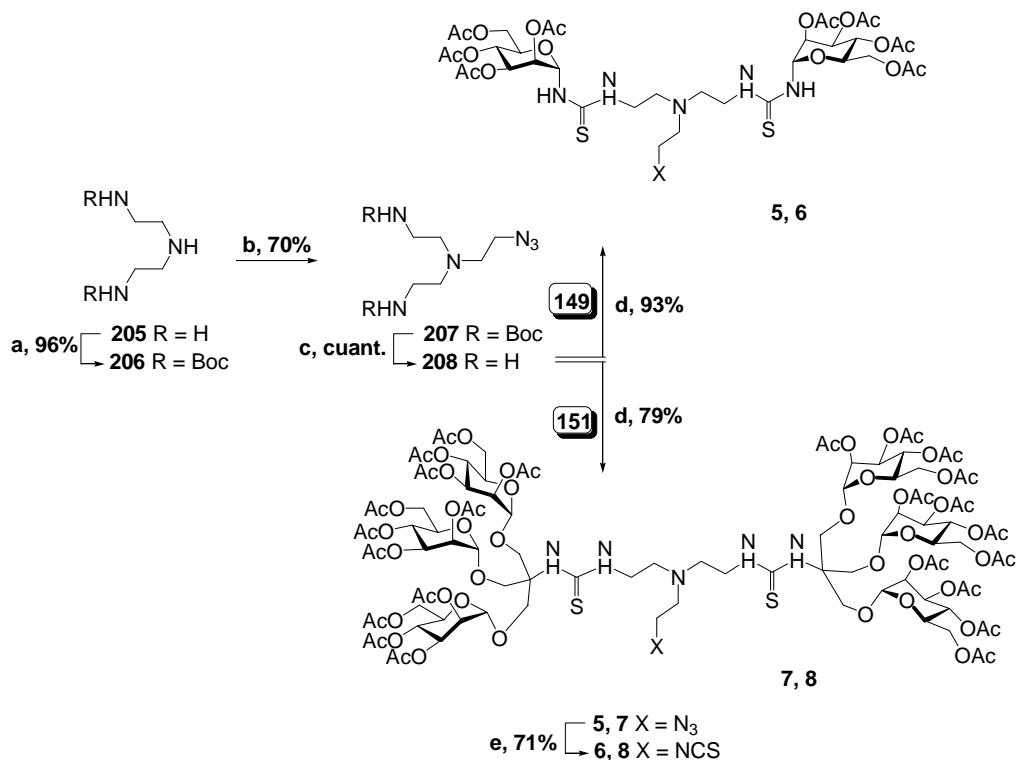
Esquema 14. Síntesis de conjugados diméricos monomanosilados. Reactivos y condiciones: a, H₂O-acetona, pH 8 (NaHCO₃), t.a.; b, NaMeO, MeOH, H₂O, 0 °C, Amberlite IR-120 (H⁺), Duolite MB 6113 (H⁺, OH⁻); c, NaMeO, MeOH, 0 °C, Amberlite IR-120 (H⁺).

Igualmente, los derivados diméricos trimanosilados de β CD **15** y de metil α -D-glucopiranosido **17** se prepararon por acoplamiento de las aminas **2** y **4** con el isotiocianato trimanosilado **151** seguido de desacetilación convencional (Esquema 15).



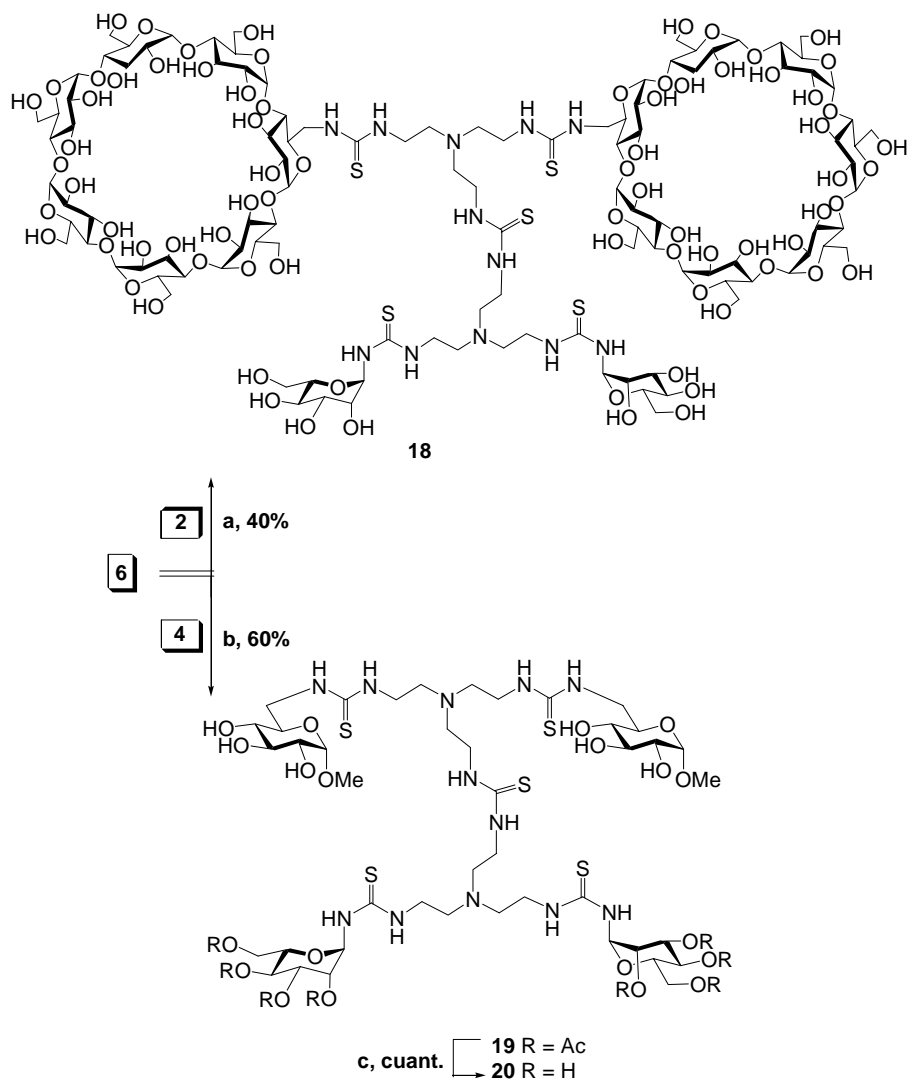
Esquema 15. Síntesis de conjugados diméricos trimanosilados. Reactivos y condiciones: a, H₂O-acetona, pH 8 (NaHCO₃), t.a., 16 h; b, NaMeO, MeOH, H₂O, Amberlite IR-120 (H⁺), Duolite MB 6113 (H⁺, OH⁻).

La aplicación de una estrategia equivalente para la síntesis de los conjugados divalentes (**18** y **20**) y hexavalentes (**21** y **22**) requiere la preparación previa de los correspondientes glicodendrones convenientemente funcionalizados con un grupo isotiocianato. El elemento de ramificación se construyó en este caso a partir de la dietilentriamina comercial **205**. En primer lugar, se protegieron selectivamente los dos grupos amino primarios como los correspondientes *tert*-butil carbamatos (\rightarrow **206**). La alquilación del grupo amino secundario restante con el tosilato de 2-azidoetilo condujo al derivado bifuncionalizado **207** que se transformó en la correspondiente diamina **208** por hidrólisis de los grupos carbamato en condiciones ácidas. El glicodendrón manosilado divalente **6** se ha preparado por acoplamiento de la diamina y el manopiranosil isotiocianato (**149**) seguido de transformación del aducto correspondiente en isotiocianato por reacción tipo Staudinger—aza-Wittig usando el sistema trifenilfosfina/disulfuro de carbono. Un esquema de reacción similar pero empleando el marcador trivalente **151** conduce al glicodendrón hexavalente **8** (Esquema 16).

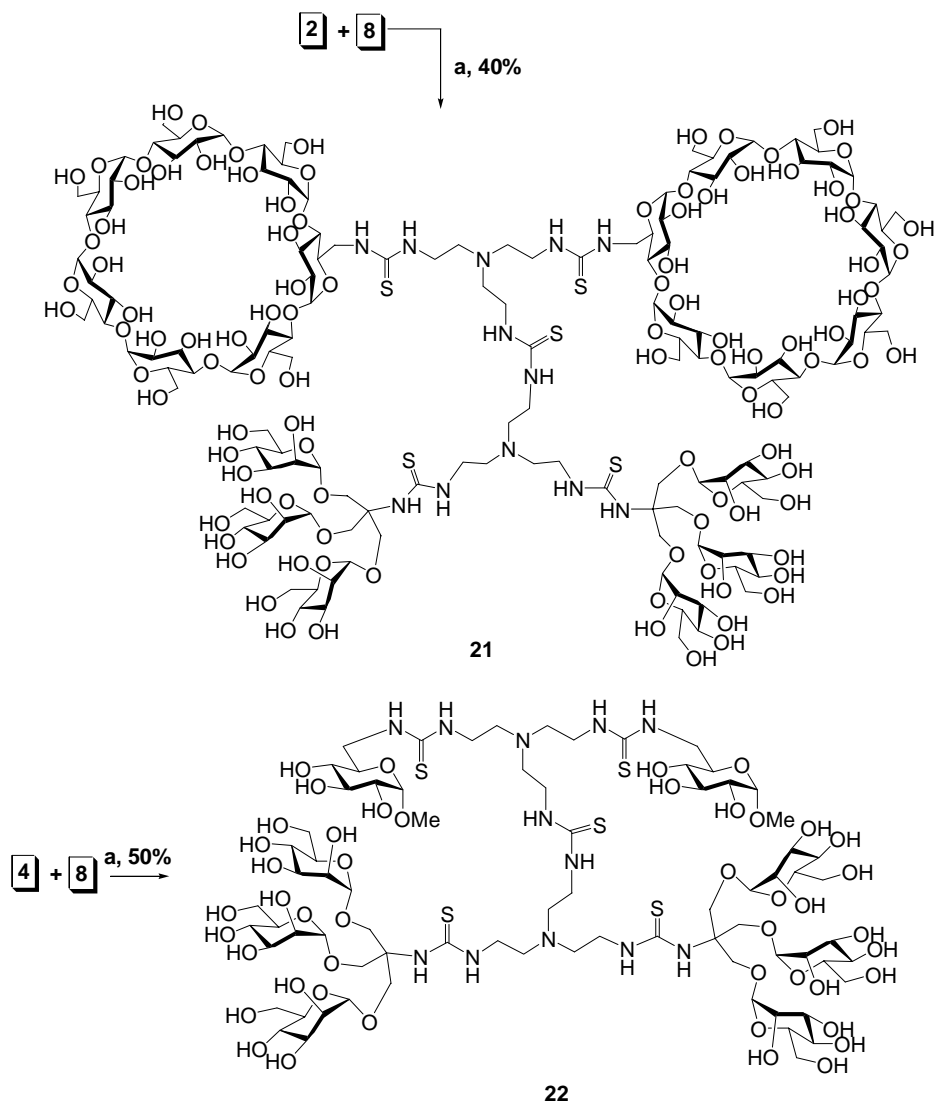


Esquema 16. Síntesis de glicodendrones di- y hexamansilados. Reactivos y condiciones: a, i) Boc-ON, THF, 0 °C, 1 h; b, N₃CH₂CH₂OTs, DMF, 60 °C, 16 h; c, TFA- H₂O 1:1, 50 °C, 1 h; d, H₂O-acetona, pH 8 (NaHCO₃), t.a.; e, TPP, CS₂, dioxano, t.a., 16 h.

La reacción de acoplamiento de los glicodendrones birramificados **6** y **8** con las aminas diméricas **2** y **4** requirió tiempos de reacción más largos que en los casos anteriores, observándose saponificación parcial de los grupos acetato. Sólo en el caso de la reacción entre **4** y **6** (\rightarrow **19**) se pudo aislar el correspondiente aducto hemiacetilado **19** puro. En cualquier caso, la purificación en columna de productos de saponificación parcial condujo, tras la etapa subsiguiente de desacetilación a los correspondientes conjugados desprotegidos (**18**, **20**, **21** y **22**) con elevada pureza (Esquemas 17 y 18).



Esquema 17. Síntesis de conjugados diméricos dimanosilados. Reactivos y condiciones: a, i) H₂O-acetona, pH 8 (NaHCO₃), t.a., 4 d, ii) NaMeO, MeOH, H₂O, 0 °C, Amberlite IR-120 (H⁺), Duolite MB 6113 (H⁺, OH⁻), b, H₂O-acetona, pH 8 (NaHCO₃), t.a., 4 h, c, NaMeO, MeOH, 0 °C, Amberlite IR-120 (H⁺).



Esquema 18. Síntesis de conjugados diméricos hexamansilados. Reactivos y condiciones: a, i) H₂O-acetona, pH 8 (NaHCO₃), t.a., 4 d, ii) NaMeO, MeOH, H₂O, , Amberlite IR-120 (H⁺), Duolite MB 6113 (H⁺, OH⁻), i) b, H₂O-acetona, pH 8 (NaHCO₃), t.a., 4 h, ii) NaMeO, MeOH, H₂O, Amberlite IR-120 (H⁺), Duolite MB 6113 (H⁺, OH⁻).

La estructura de los nuevos conjugados de CD diméricos preparados (**11**, **15**, **18** y **21**) se ha confirmado mediante sus datos microanalíticos, de espectrometría de masas en modo FAB o MALDI-TOF y a partir de los datos de RMN. Los espectros de ^1H y ^{13}C RMN registrados a temperatura ambiente muestran el ensanchamiento característico de líneas debido a la rotación restringida alrededor de los enlaces pseudoamida $\text{NH}-\text{C}(=\text{S})$. La asignación de las señales pudo resolverse por combinación de experimentos de RMN 1D y 2D y comparación de los espectros con los de los conjugados modelo derivados del metil α -D-glucopiranosido (**13**, **17**, **20** y **22**). La presencia de las uniones de tipo tiourea quedó confirmada por las resonancias de ^{13}C RMN de los carbonos tiocarbonílicos ($\delta_{\text{C}=\text{S}}$) a 183-184 ppm y el desplazamiento químico a campo alto del átomo de carbono $\text{C}-6^1$ así como los correspondientes a los átomos de carbonos unidos a nitrógeno en los elementos de ramificación. Las señales de $\text{C}-4^1$ y $\text{C}-5^1$ mostraron los desplazamientos característicos a campo bajo y alto, respectivamente, respecto a las unidades sin sustituir. Las resonancias de los átomos de carbono anoméricos ($\delta_{\text{C}-1'}$) de las unidades de monosacárido se observaron a 80-82 ppm para las unidades de manopiranosiltiourea y 99-100 ppm para los *O*-manopiranosidos (Figuras 27 y 28).

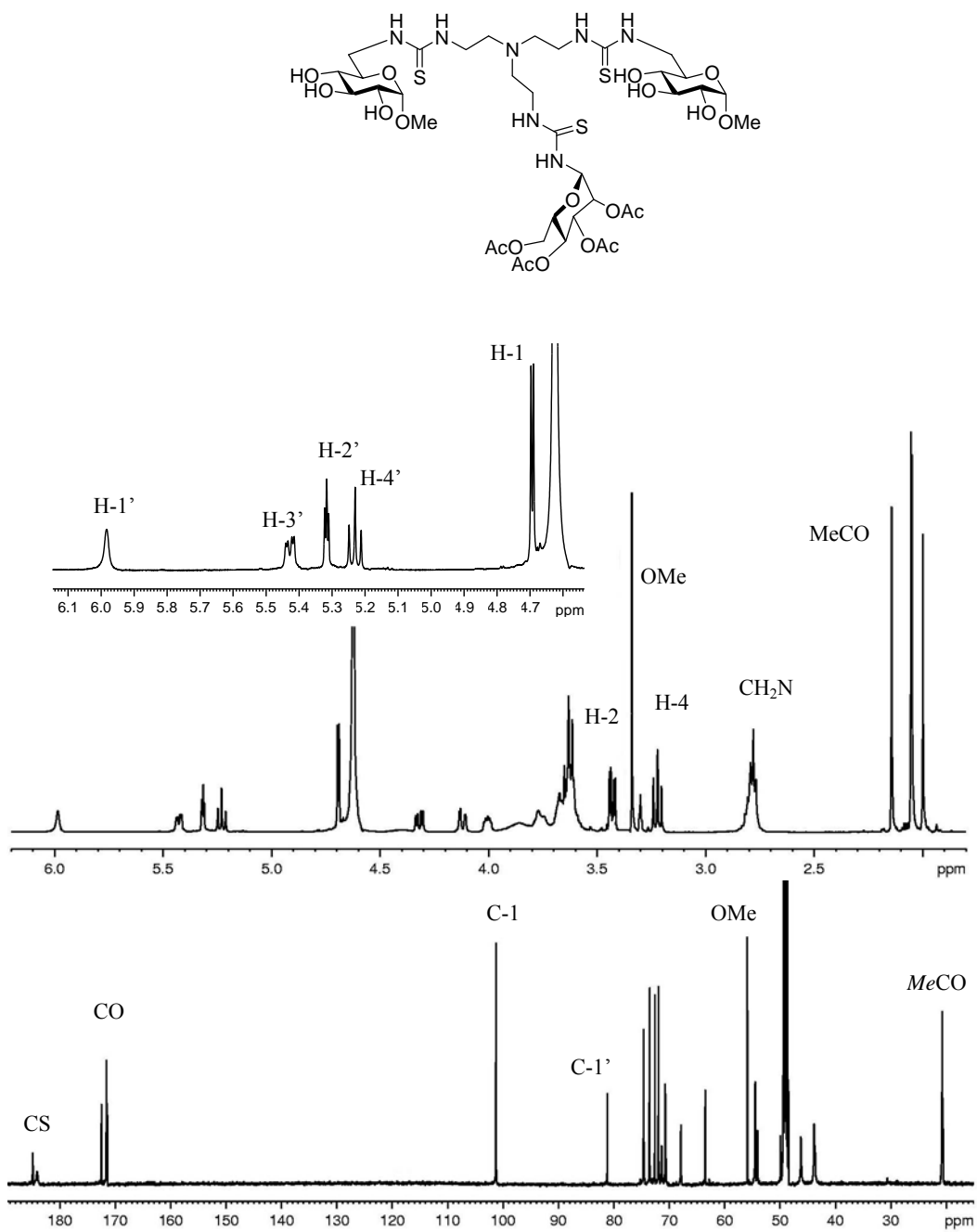


Figura 27. Espectros de ^1H RMN (500 MHz, CD_3OD) y de ^{13}C RMN (125.7 MHz, CD_3OD) del compuesto **12**.

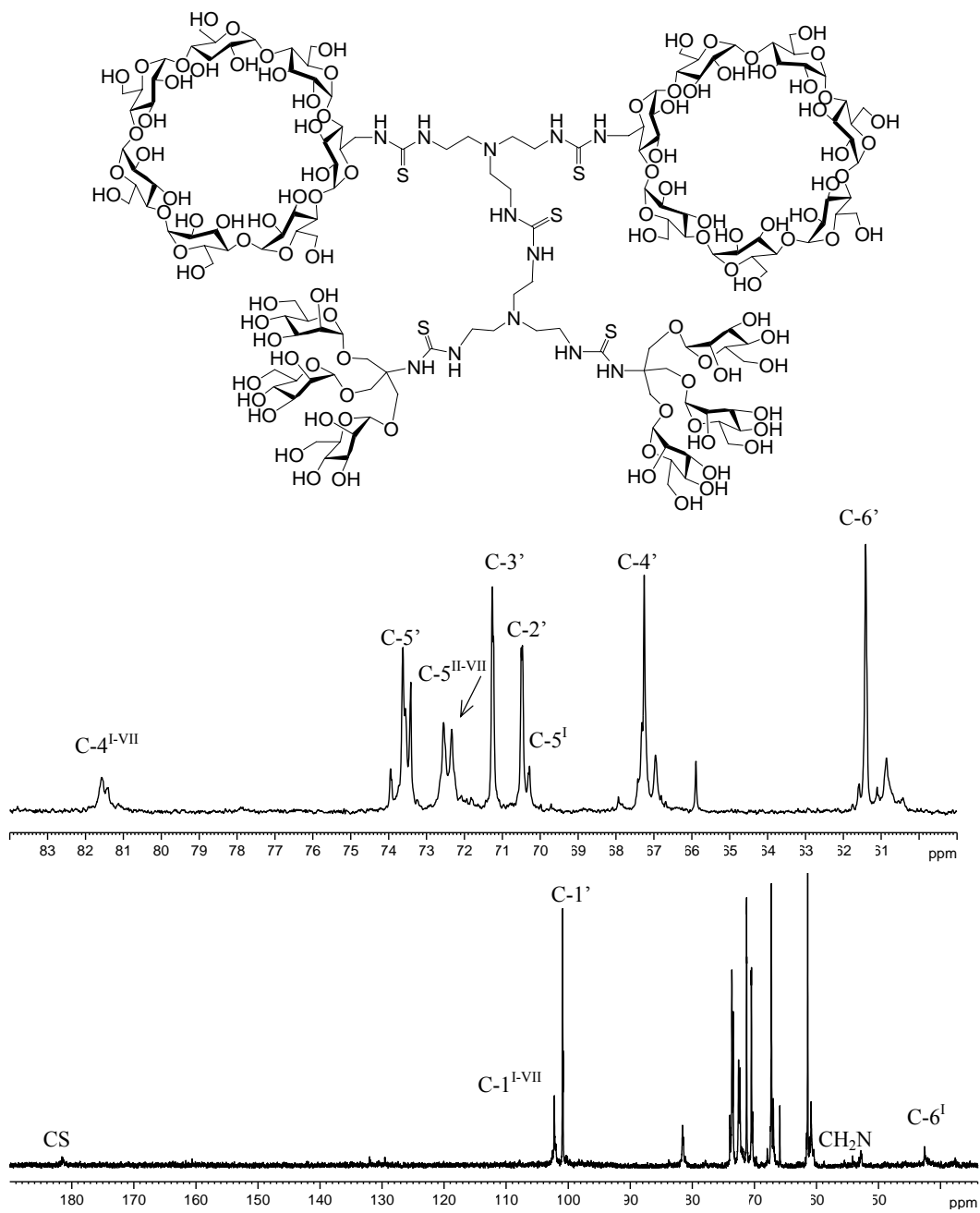


Figura 28. Espectro de ^{13}C RMN (125.7 MHz, D_2O , 333 K) del compuesto 21.

5.2. EVALUACIÓN DE LAS CAPACIDADES DE TRANSPORTE DEL DOCETAXEL Y DE ASOCIACIÓN FRENTE A LA CONCANAVALINA A.

La afinidad de los conjugados polimanosilados de CDs diméricas preparadas (**15**, **18** y **21**) se ha evaluado mediante la técnica ELLA. El derivado monovalente **11** y los correspondientes conjugados modelo **13**, **17**, **20** y **22** se han incluido en el estudio como compuestos de control para determinar el efecto de la multivalencia y de la presencia del bloque de inclusión dimérico en el proceso de reconocimiento por la lectina. Los datos obtenidos, expresados como la concentración de conjugado necesaria para inhibir la asociación Con A-manano de levadura fijado en la placa de microvaloración (IC_{50}) se recogen en la Tabla 2 y en la Figura 29.

Tabla 2. Resultados de la inhibición del reconocimiento de la Con A marcada con la peroxidasa de rábano.

Comp.	Valencia	$IC_{50}(\mu M)^a$	Potencia relativa	Potencia relativa (molar)
11	1	1370	1.0	1.0
13	1	1356	1.0	1.0
18	2	1020	1.3	0.67
20	2	970	1.4	0.70
15	3	210	6.5	2.2
17	3	205	6.7	2.3
21	6	13	10.5	17.6
22	6	14	9.8	16.3

^aSe toma como referencia el valor para el compuesto **13**.

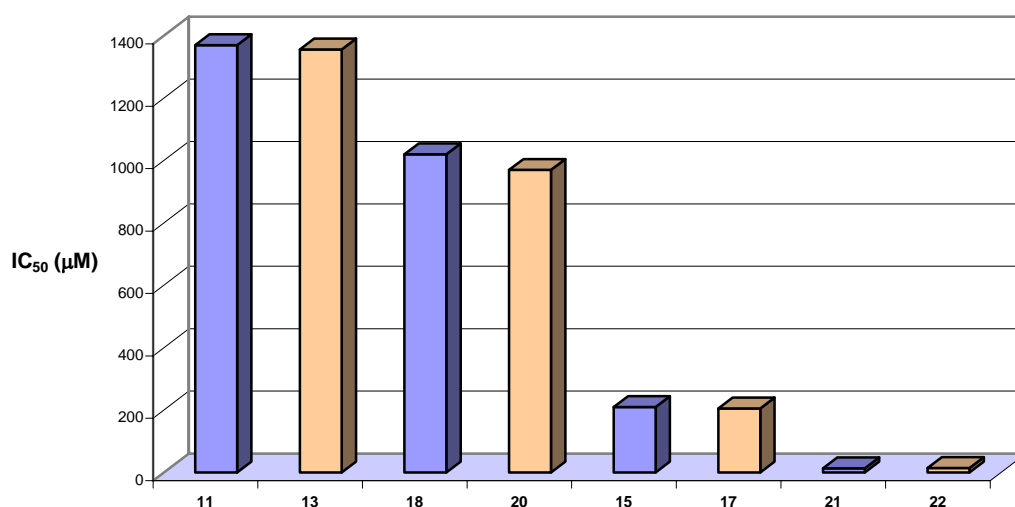


Figura 29. Inhibición de la unión de la lectina Con A marcada con peroxidasa de rábano picante al manano de levadura por las ciclodextrinas y modelos diméricos manosilados.

Los resultados de la tabla muestran el incremento esperado en la inhibición para los compuestos con mayor valencia. El valor de IC_{50} disminuye en el sentido mono > di > tri > hexavalente, observándose cambios significativos al pasar de aductos divalentes a trivalentes (valores de IC_{50} de 1020 μ M y 210 μ M para **18** y **15**, respectivamente) y de trivalente a hexavalente (valores de IC_{50} de 210 μ M y 13 μ M para **15** y **21**, respectivamente). No se encuentra diferencia significativa en la afinidad de asociación para los derivados monovalentes y divalentes (valores de IC_{50} de 1370 μ M y 1020 μ M para **11** y **18**, respectivamente). De hecho, los conjugados divalentes son menos eficaces en términos de potencia relativa por unidad de manopiranosilo que los monovalentes. El aumento de afinidad asociado a la incorporación de grupos de tres unidades de manosa, ya se había observado previamente en los derivados monoméricos multivalentes.

La comparación de datos ELLA para los conjugados derivados de β CD (**11**, **15**, **18** y **21**) y de metil α -D-glucopiranosido (**13**, **17**, **20** y **22**) no mostró diferencias significativas entre las dos series de compuestos. Una vez que el bloque glicodendrítico se ha unido a la lectina, el receptor dimérico debe quedar suficientemente alejado de la proteína como para que no se produzcan interacciones adicionales, favorables o no favorables, con la misma.

5.3. ESTUDIO COMPARATIVO DE LAS PROPIEDADES DE TRANSPORTE DE CDS DENDRÍTICAS Y DIMÉRICAS.

Con objeto de validar nuestra hipótesis de la mejor adecuación de los receptores diméricos para complejar el fármaco anticanceroso docetaxel en relación con los receptores monoméricos, hemos llevado a cabo un estudio comparativo de las propiedades de inclusión de los mismos para los sistemas hexavalentes **178** y **21**. Asimismo, hemos evaluado la afinidad de los correspondientes complejos supramoleculares con el docetaxel por la lectina Con A.

Ambos receptores aumentan dramáticamente la solubilidad del fármaco en agua. Las constantes de asociación (K_{as}) estimadas de los datos de solubilidad son de 4000 y $1.5 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}$, respectivamente, suponiendo una estequiometría 1:1. El aumento de 37.5 veces en el valor de K_{as} para el derivado de β CD dimérico con respecto al receptor monomérico **178** está de acuerdo con la interacción simultánea del fármaco con las dos cavidades de **21** en un complejo tipo sandwich. Experimentos de modelización molecular (MACROMODEL 6.0, MM2*) indicaron que el anillo de benzoilo se encuentra, probablemente, fuertemente incluido en una de las cavidades, mientras que el anillo de bencilo se incluiría más débilmente en la segunda subunidad de β CD debido al impedimento estérico que supone el grupo *terc*-butoxicarbonil vecino (Figura 30).

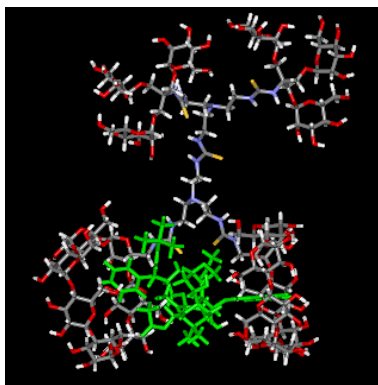


Figura 30. Modelo molecular correspondiente al complejo 1:1 de la ciclodextrina dimérica hexavalente **21** y el docetaxel.

Tanto el conjugado dimérico **21** como el monomérico **178** presenta una fuerte afinidad por la lectina Con A en ensayos ELLA, con valores similares de IC_{50} (13 y 10 μM para **21** y **178**, respectivamente), de acuerdo con el hecho de que en ninguno de los casos el bloque de inclusión interfiere en el proceso de reconocimiento glicodendrímero-proteína. Sin embargo, la evaluación comparativa de las propiedades de reconocimiento por la lectina de los correspondientes complejos con docetaxel evidenció diferencias significativas. Así, mientras que en el caso del complejo que implica el derivado monomérico **178**:docetaxel se observó un aumento de aproximadamente dos veces en la afinidad por la Con A en relación al receptor libre, en el caso del derivado dimérico **21** la afinidad no se afectó por la formación del complejo. Este resultado apoya nuestra hipótesis de que el docetaxel actúa clusterizando el receptor dendrítico monomérico **178**, un mecanismo que estaría inhibido en el caso del derivado dimérico **21** debido a una organización supramolecular de tipo sandwich.

Los datos comentados también indican que ambos tipos de arquitecturas de CDs de tercera generación, dendríticas y diméricas, son reconocidas eficazmente por receptores específicos no sólo como tales, sino también tras incluir un producto activo,

Además, la afinidad por la lectina puede modularse en cierta extensión actuando sobre el bloque de inclusión, favoreciendo o inhibiendo procesos de clusterización.

5.4. EXPERIMENTOS DE TRANSPORTE DE CONJUGADOS POLIMANOSILADOS DE CDS DENDRÍTICAS Y DIMÉRICAS A MACRÓFAGOS.

Los resultados comentados en los apartados anteriores ilustran el concepto de que arquitecturas que combinan ciclodextrinas monosustituidas con biomarcadores glicodendríticos junto con una metodología sintética versátil y diseñada para poder introducir diversidad molecular, permite el estudio sistemático de los diferentes factores que influyen tanto la interacción carbohidrato-lectina como la interacción receptor-huésped. De estos resultados se obtiene una información valiosa para el diseño de nuevos sistemas para el transporte, dirigido por carbohidratos, de principios activos específicos a receptores biológicos. Puesto que lectinas que son capaces de reconocer el mismo motivo glucídico pueden diferir significativamente en la arquitectura del sitio de reconocimiento, en su estructura cuaternaria o en los mecanismos de interacción preferidos, las conclusiones que se obtienen para un receptor particular, como por ejemplo la lectina de plantas Con A en el caso de esta Tesis, deben considerarse con precaución cuando se considere un receptor proteico diferente. Consecuentemente, la evaluación biológica de los sistemas preparados frente a una lectina de mamífero es deseable para determinar su verdadero potencial como vectores de fármacos.

Entre los receptores presentes en la superficie de los macrófagos, el receptor específico de manosa/fucosa es particularmente interesante como diana terapéutica y, además, se encuentra bien caracterizado. Resultados de la bibliografía, usando liposomas manosilados, evidencian la existencia de un paralelismo entre la afinidad por la Con A y la afinidad por la superficie de macrófagos. Con objeto de estudiar el comportamiento de nuestros sistemas frente a macrófagos peritoneales de ratón, que presentan la lectina específica de manosa/fucosa en su superficie, en colaboración con el grupo del Dr.

Defaye (CNRS y Universidad Joseph Fourier, Grenoble 1, Francia), se enviaron muestras de los conjugados hexavalentes **21** y **178** para su evaluación in vitro. La asociación de los polimanósidos de la β CD mono y dimérico y del compuesto control (β CD nativa) a las células se cuantificó fluorimétricamente siguiendo el método de Muller y Schuber⁸³ para liposomas manosilados, utilizando el ácido 6-*p*-toluidino-2-naftalensulfónico (TNS) como sonda fluorescente. El TNS forma un complejo 1:1 muy fuerte con la β CD ($K = 1.8 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$) y también con los conjugados **21** ($K = 1.2 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$) y **178** ($K = 9.5 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}$).

Con objeto de determinar la especificidad de la interacción con la superficie del macrófago, los experimentos se efectuaron a 4 °C, una temperatura a la que no se producen fenómenos de fagocitosis. Las células se incubaron a esta temperatura con tres concentraciones diferentes de los complejos 1:1 **21**:TNS ó **178**:TNS (en el rango 0.1-80 μmol en 2 mL de disolución Eagle modificado de Dulbecco) y la cantidad de complejo asociado a las células se determinó fluorimétricamente.

Los resultados indicaron una asociación más de 20 veces superior para los conjugados hexamanosilados en comparación con el control TNS: β CD a una concentración de 650 nM (Figura 31). La asociación se inhibe en presencia de concentraciones crecientes de los receptores libres. A partir de los datos de inhibición, se determinaron valores de IC_{50} de 45 y $48 \pm 5 \mu\text{M}$ para **178** y **21**, respectivamente, a una concentración de 40 μM de los correspondientes complejos con TNS. Estos resultados son consistentes con la asociación reversible de los derivados manosilados de β CD mono y dimérico (**178** y **21**) a la superficie celular del macrófago en las condiciones experimentales, con el receptor libre y el complejo de inclusión compitiendo por el mismo sitio de unión. Por el contrario no se observó competencia cuando se añadió β CD a los complejos **178**:TNS o **21**:TNS.

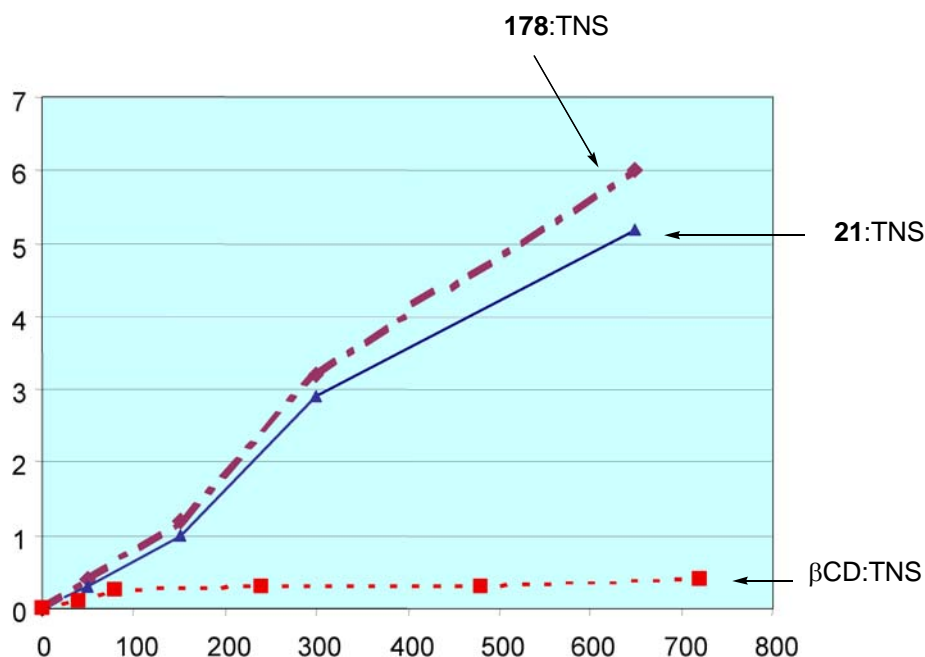


Figura 31. Representación de nanomoles de compuesto enlazados a la células en función de la concentración nanomolar de los complejos β CD:TNS, **178**:TNS y **21**:TNS.

Cuando se utilizó el complejo docetaxel:**178** (liofilizado conteniendo una proporción 1:5 receptor:huésped) como agente de competición, se obtuvo un valor de IC_{50} de $30 \pm 5 \mu M$ en las mismas condiciones del ensayo anterior, lo que indica una afinidad hacia la superficie del macrófago mayor que la del receptor libre **178**. No se observó, en cambio, ningún efecto de inhibición cuando el complejo docetaxel: β CD, lo que descarta una contribución del fármaco incluido a la asociación con el receptor sobre el macrófago. Estos resultados son paralelos a los discutidos en el apartado para la asociación de CDs dendríticas manosiladas y los correspondientes complejos con docetaxel con la Con A, apoyando la existencia de un mecanismo de clusterización del receptor por el fármaco que da lugar a especies supramoleculares de mayor valencia y, consecuentemente, con mayor afinidad por receptores de manosa. En el caso del receptor dimérico **21**, un experimento de competición análogo no mostró ninguna diferencia entre el receptor libre

y el correspondiente complejo con docetaxel, de acuerdo con la estructura tipo sandwich propuesta para este último.

En resumen, nuestros resultados indican que es posible alcanzar afinidades hacia receptores de interés terapéutico biológicamente útiles utilizando glicoclusteres relativamente pequeños de geometría adecuada, a pesar de que la contribución del fenómeno de entrecruzamiento debe estar fuertemente limitada para espaciadores cortos como los utilizados en este estudio. Nuestro estudio sugiere que los sistemas que combinan CDs y glicodendrimeros tienen un potencial de utilización prometedor para el transporte de fármacos o sondas moleculares a superficies biológicas. Además hemos puesto de manifiesto que la metodología de síntesis modular basada en la formación quimioselectiva de puentes de tiourea permite explorar los diferentes factores que intervienen en las interacciones carbohidrato-proteína, en particular el efecto cluster.

En el siguiente bloque de esta Tesis hemos profundizado en este último aspecto, aprovechando la estructura particular de la β CD para preparar nuevos glicoclusteres diseñados para evaluar la influencia de interacciones secundarias en el proceso de reconocimiento de azúcares por lectinas específicas.

6. SISTEMAS MODELO PARA EL ESTUDIO
DE INTERACCIONES CARBOHIDRATO-
PROTEÍNA. ANTECEDENTES.

6. SISTEMAS MODELO PARA EL ESTUDIO DE INTERACCIONES CARBOHIDRATO-PROTEÍNA. ANTECEDENTES.

Aunque la magnitud de la interacción individual carbohidrato-proteína es débil, a menudo en el rango milimolar o incluso micromolar, la presentación de los ligandos sacarídicos en una disposición de tipo multivalente da lugar a asociaciones efectivas y que muestran una alta especificidad. Los trabajos pioneros del grupo de Lee^{55c} pusieron de manifiesto la importancia de la multivalencia en la interacción de carbohidratos con lectinas en sus trabajos sobre el receptor Gal/GalNAc de la asialoglicoproteína hepática (Figura 32). Empleando glicoconjugados sintéticos (**209-211**) observó que un incremento lineal en el número de restos glucídicos conducía a un incremento logarítmico en la interacción con el receptor proteico y denominó a este efecto “efecto cluster”.⁵¹

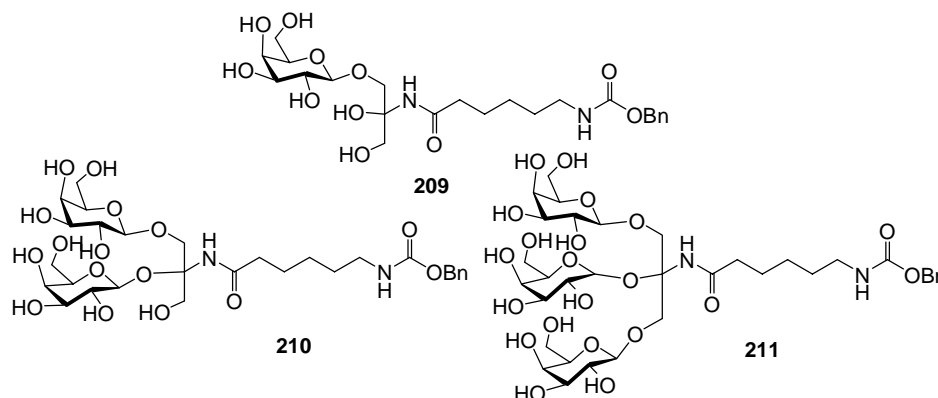


Figura 32. Ligandos mono- (**209**), di- (**210**) y trigalactosilados (**211**) empleados por Lee.

El estudio de estas interacciones polivalentes ha impulsado el desarrollo de diversos sistemas modelo.⁸⁴ Los glicoconjugados sintéticos presentan, frente a los de origen biológico, la ventaja de que permiten modificar de modo sistemático la estructura de la plataforma empleada así como la identidad, el número y la disposición de los elementos

de reconocimiento. Los ligandos multivalentes presentan a menudo una afinidad aparente respecto al receptor muy superior a la del correspondiente ligando monovalente. Entre los diversos mecanismos que pueden contribuir al incremento de esta potencia se encuentran:

(a) El efecto quelato. Se debe al hecho de que los ligandos multivalentes pueden interactuar de modo simultáneo con receptores oligoméricos de la superficie celular, con lo que la disminución entrópica sólo es importante en la primera de las interacciones. En el caso de un ligando divalente, por ejemplo, la unión del primer motivo de reconocimiento al receptor aumenta la probabilidad de que se una el segundo motivo. La efectividad del efecto quelato requiere que la distancia entre los diferentes motivos sea análoga a la de los sitios de reconocimiento del receptor.

(b) Los ligandos multivalentes pueden promover también un agrupamiento (“clustering”) de los sitios de reconocimiento del receptor, incluso en receptores que no son oligoméricos.

(c) Otra posibilidad es que los ligandos multivalentes pueden interactuar con sitios de reconocimiento secundarios del receptor.

(d) El efecto estadístico, debido a la alta concentración local de elementos de reconocimiento, puede resultar en afinidades aparentes más altas.

(e) La unión de un ligando multivalente a un receptor puede también conducir a una estabilización de tipo estérica que impide interacciones posteriores con otros ligandos al bloquear el acceso a los sitios de unión.

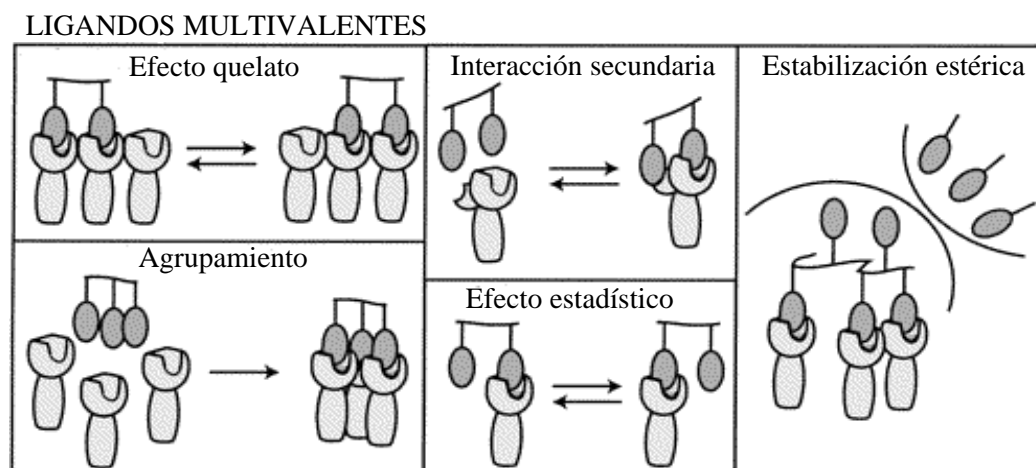


Figura 33. Posibles modos de acción de ligandos multivalentes. (a) Efecto quelato. (b) Agrupamiento de los sitios de unión del receptor. (c) Unión a sitios secundarios del receptor. (d) Efecto estadístico. (e) Estabilización estérica.

6.1. SISTEMAS MULTIVALENTES HOMOGÉNEOS.

Para obtener información sobre los diferentes factores que intervienen en los mecanismos comentados, se ha propuesto una amplia variedad de sistemas modelo que imitan las regiones del glicocálix donde se produce la transferencia de información biológica mediante la sobreexpresión de un determinado glicoligando. Estos policonjugados pueden clasificarse en dos grupos: **sistemas modelo de alta valencia** y **sistemas modelo de baja valencia**. Los primeros tienen un núcleo supramolecular o resultan de la organización supramolecular de monómeros monovalentes. Entre estos sistemas se encuentran las *neoglicoproteínas*, los *neoglicopolímeros* solubles o inmobilizados, los *liposomas* o las *monocapas autoensambladas*. Estas arquitecturas multivalentes han encontrado aplicación en glicobiología no sólo en estudios de la

interacción carbohidrato-proteína, sino también en el desarrollo de vacunas y dispositivos de diagnóstico miniaturizados (“*microarrays*”).⁸⁵

Los llamados **sistemas modelo de baja valencia**, entre los que se encontrarían los ejemplos que se proponen en esta Tesis, tienen carácter molecular y permiten, típicamente, la incorporación de dos a veinte ligandos derivados de carbohidrato y presentan la ventaja de mostrar una estructura bien definida que puede además modificarse mediante estrategias sintéticas sencillas que permiten variar el tamaño, la naturaleza y la valencia de los carbohidratos. Entre estos sistemas se incluyen *glicoconjugados multivalentes* como *glicoclústeres* y *glicodendrimeros* y derivados de macrociclos conformacionalmente rígidos como *calixarenos*, *ciclopéptidos*, *éteres corona* y *ciclodextrinas*, que son particularmente eficaces en el diseño de ligandos sacarídicos reconocibles por receptores proteicos (lectinas). Generalmente la unión del elemento de reconocimiento al sistema rígido se establece mediante un espaciador.

Los *calixarenos*, oligómeros cíclicos de anillos aromáticos sustituidos, presentan la capacidad de incluir moléculas orgánicas hidrofóbicas de tamaño apropiado y pueden modificarse de modo controlado con ligandos sacarídicos en una de las caras de la molécula con un control total de la distancia entre ligandos (Figura 34).

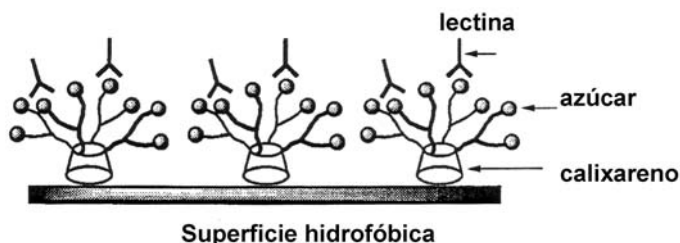


Figura 34. Representación esquemática de la estructura de ligandos multivalentes calixareno-carbohidrato sobre una superficie de poliestireno.

Roy y Kim^{6f} han preparado una serie de *p-terc*-butilcalix[4]arenos que presentan de cuatro a dieciséis ligandos de *N*-acetilgalactosamina **212** (Figura 34) y han evaluado mediante la técnica ELLA la afinidad de los ligandos preparados frente a la aglutinina de *Vicia villosa* (VVA), una lectina previamente empleada en estudios de afinidad hacia derivados de α -D-GalNAc. Los resultados obtenidos indicaron que el conjugado hexadecavalente mostró una potencia 12 veces superior ($IC_{50} = 13.4 \mu M$) a la del alil α -D-GalNAc ($IC_{50} = 158.3 \mu M$). Aoyama y col. han descrito un derivado de calix[4]areno funcionalizado con ocho galactósidos **213** capaz de transportar una sonda fluorescente a hepatocitos de rata, que contienen receptores capaces de reconocer residuos terminales de galactosa de asialoglicoproteínas (Figura 35).⁸⁶

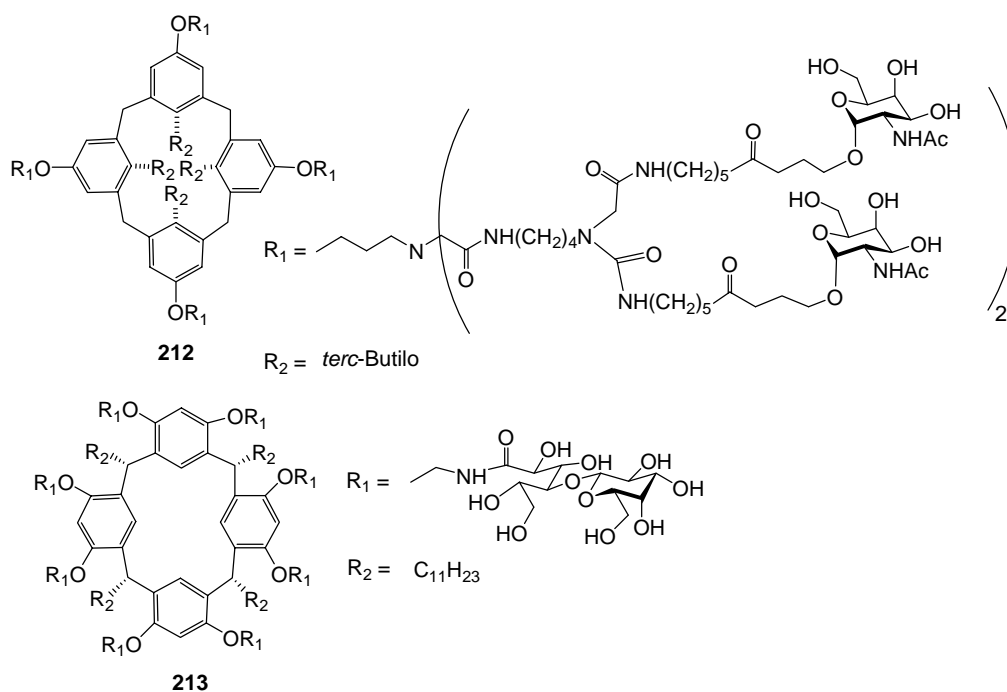


Figura 35. Calixarenos dendríticos conteniendo *N*-acetilgalactosaminas y galactósidos.

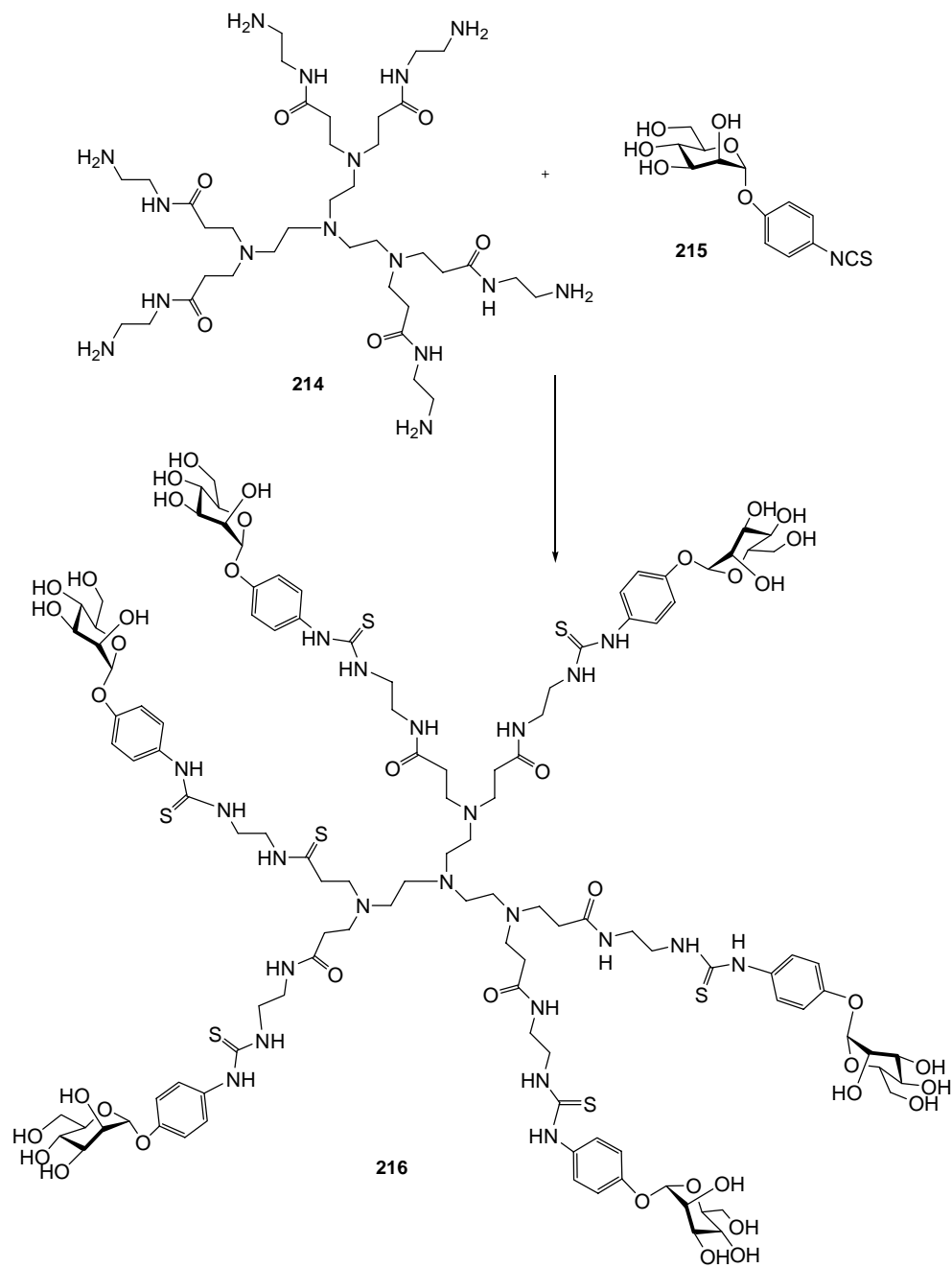
Los *dendrimeros*, descritos de modo independiente por Newkome y Tomalia en 1985, son estructuras oligoméricas que se preparan mediante una secuencia iterativa de etapas a partir de un núcleo que se modifica con unidades regulares hiperramificadas.^{87,88} Los sistemas glicodendríticos permiten una gran flexibilidad para ajustar la valencia, el tamaño e incluso la forma. Generalmente se emplean cuatro aproximaciones para su preparación:

- (a) glicosilación de polioles ramificados.⁸⁹
- (b) desplazamiento nucleofílico de moléculas cloroacetiladas.⁹⁰
- (c) formación de enlaces peptídicos.⁹¹

(d) formación de derivados de tipo tiourea. Dentro de esta última aproximación, los dendrímeros basados en un núcleo de poli(amidoamino) (PAMAM) constituyen el grupo más importante de glicodendrimeros (Esquema 19)⁹²

El esqueleto de PAMAM presenta la ventaja de que son asequibles comercialmente dendrímeros de diferentes tamaños, aunque pueden ocurrir β -eliminaciones inducidas por bases durante la manipulación sintética. Generalmente se utilizan derivados de carbohidratos provistos de grupos carboxilato o isotiocianato que permiten la preparación de ligandos de valencia muy alta. Empleando esta metodología, Roy⁹³ ha descrito la síntesis de dendrímeros de PAMAM con 128 unidades de lactosa y Okada, la incorporación de GlcNAc en un dendrímero de octava generación con 1000 grupos amino.⁹⁴

Se han descrito varias síntesis convergentes de glicodendrimeros basadas en anillos aromáticos. Stoddart ha preparado varios derivados de tipo dendrítico polivalentes empleando una aproximación convergente que se basa en un núcleo aromático de 1,3,5-tricarbonilbenceno **218**, incorporando hasta 36 residuos de glucosa, agrupadas en triadas, que presentan un microambiente equivalente (Figura 36).^{95,96}



Esquema 19. Síntesis de dendrímeros manosilados basados en PAMAM con puentes de tiourea.

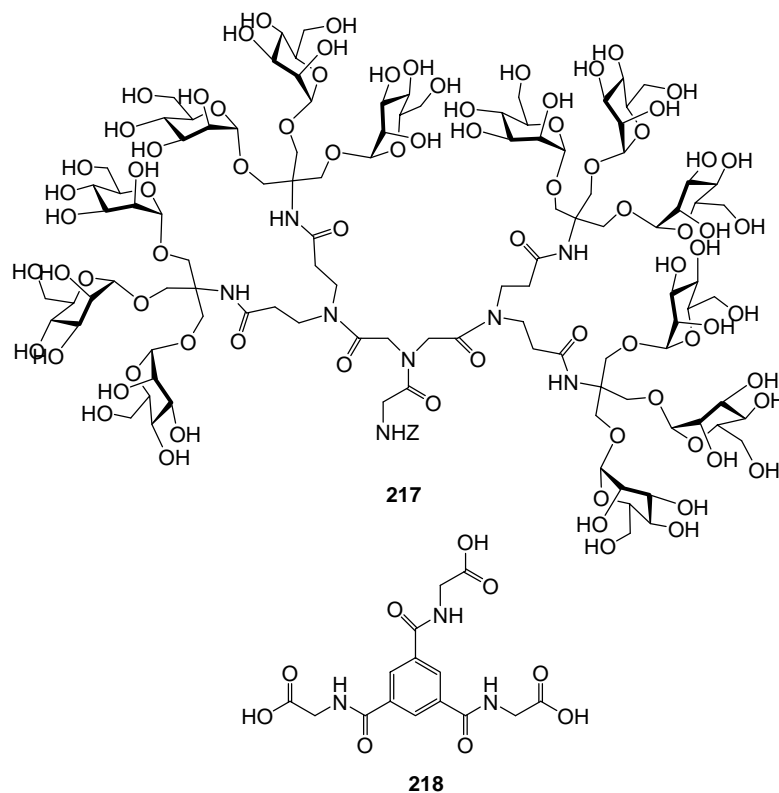


Figura 36. Síntesis de glicodendrimeros con núcleo aromático. El acoplamiento del glicodendrón dodecavalente **217** al núcleo aromático trivalente **218** con DCC proporciona el correspondiente conjugado de valencia 36.

Los grupos de Ley⁹⁷ y Parquette⁹⁸ han preparado ligandos dendríticos basados en un núcleo de pentaeritritol. En el primer caso se realizó el acoplamiento de mono- y oligosacáridos al núcleo tetrarramificado a través de espaciadores de propilenglicol, para obtener compuestos del tipo de **219**. En el segundo caso, se utilizó el derivado hiperramificado **220** (Figura 37).

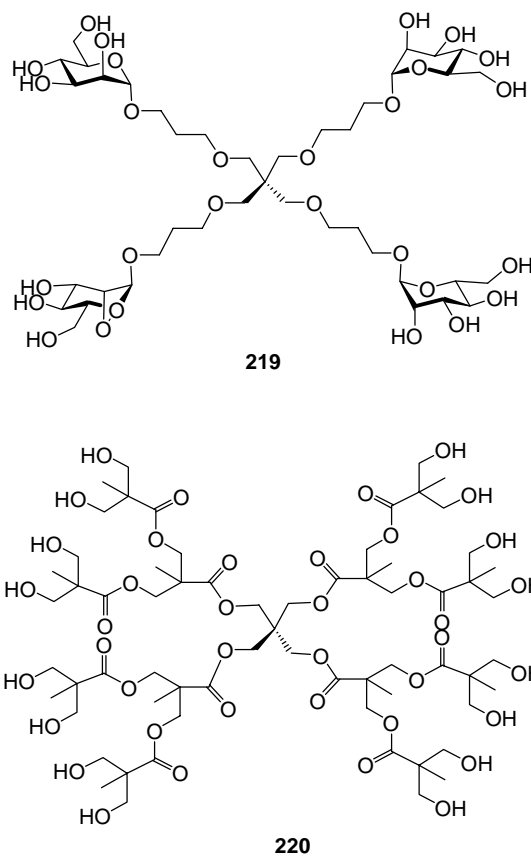


Figura 37. Estructuras dendríméricas basadas en pentaeritritol (**219**).

Recientemente se han descrito algunos ejemplos de glicoclusteres multivalentes de valencia baja con núcleos macrocíclicos. Burke y Kiessling prepararon glicoconjugados trimanosilados (**221**) empleando un núcleo macrocíclico trivalente.⁹⁹ Wittman y Seeberger prepararon un sistema de estructura análoga (**222**) aplicando la síntesis en fase sólida a la obtención de estructuras macrocíclicas que incorporan residuos de lisina glicosilados (Figura 38).^{100,101}

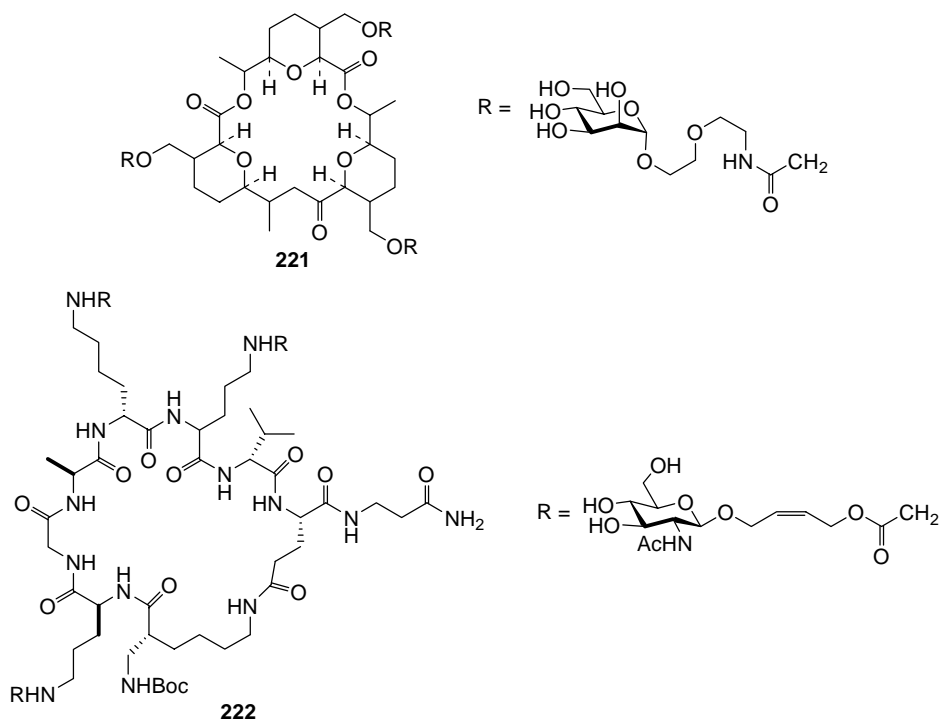


Figura 38. Estructuras de sistemas multivalentes macrocíclicos de valencia baja.

Otras aproximaciones utilizan la quelación por metales para organizar fragmentos multivalentes dentro de estructuras de valencia relativamente alta. Así, Takahashi describe la preparación de un ligando de estructura dendrítica que presenta de cuatro a doce unidades de glucosa en presencia de gadolinio (III), que permite asegurar alta sensibilidad en los experimentos de resonancia magnética de imagen (MRI).¹⁰² Roy, utilizando una estrategia similar, prepara ligandos tetravalentes usando oro (II) o cobre (II) y ligandos de bipyridilo.¹⁰³

Algunos de los sistemas polivalentes de baja valencia más eficaces se han diseñado en base a datos estructurales precisos de los complejos carbohidrato-proteína. Recientemente, se ha empleado esta aproximación para la preparación de inhibidores sintéticos de la familia de las toxinas de origen bacteriano AB₅, responsables de un gran número de enfermedades, entre las que se encuentran la enterotoxina (LT-1) y la toxina

shiga (SLT-I). Estas toxinas invaden las células gracias a interacciones multivalentes de la subunidad B a residuos de carbohidratos localizados en los gangliósidos, por lo que una estrategia conveniente consiste en la preparación de ligandos multivalentes que puedan ocupar de modo simultáneo los cinco sitios idénticos de reconocimiento que poseen carbohidratos. Fan y colaboradores, aplicando esta estrategia, han descrito inhibidores de LT-1 que incorporan residuos de galactosa a un núcleo pentavalente (**223**) (Figura 39). Mediante la evaluación de diferentes ligandos con espaciadores que varían de 32 a 83 átomos (50 a 175 Å), los autores lograron identificar un inhibidor de la toxina LT-1, que es 10^5 veces más activo que la galactosa.^{2a}

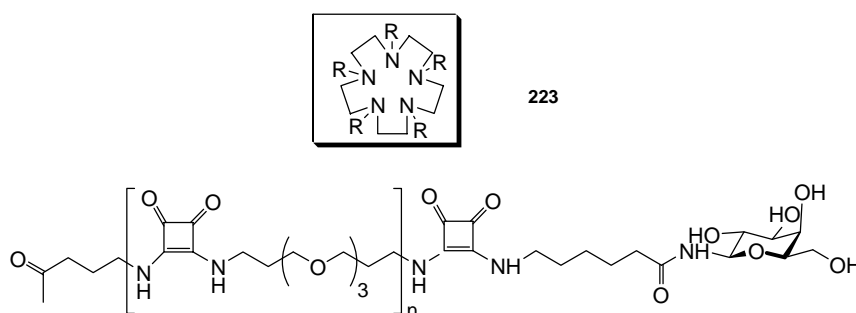


Figura 39. Estructura de un ligando pentavalente de la enterotoxina LT-1 de *E. coli*.

Bundle,^{2b} basándose en la misma aproximación, ha preparado una serie de conjugados decavalentes (**224**), basados en un núcleo de glucosa, como sistemas inhibidores de la unión de la toxina Shiga, producida por *Shigella dysenteriae* tipo I, a gangliósidos de la superficie celular, encontrando que el sistema más potente, denominado STARFISH (Figura 40), es un sistema oligovalente, soluble en agua, que muestra una actividad inhibitoria subnanomolar (IC_{50} de $4 \times 10^{-10} M^{-1}$), 10^6 veces más eficaz que el correspondiente ligando monomérico. La glucosa central se derivatiza en

forma de pentaalil éter y, de este modo, permite la incorporación de diez copias del trisacárido P^k que también es ligando de la toxina.

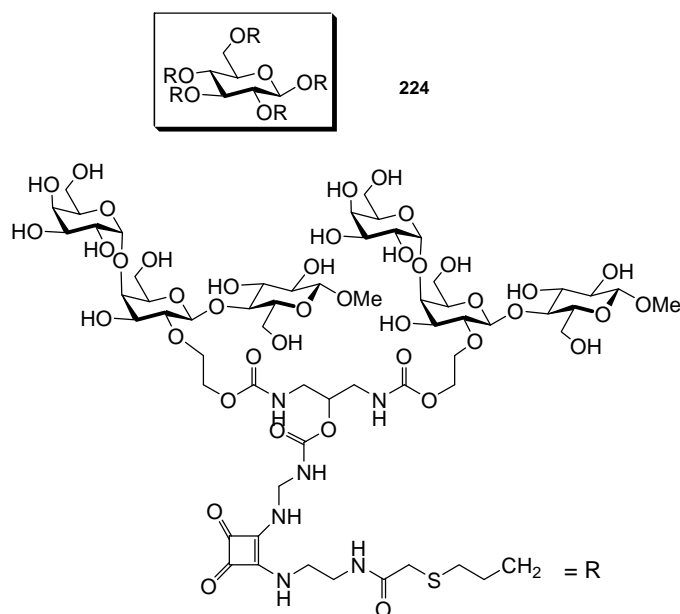
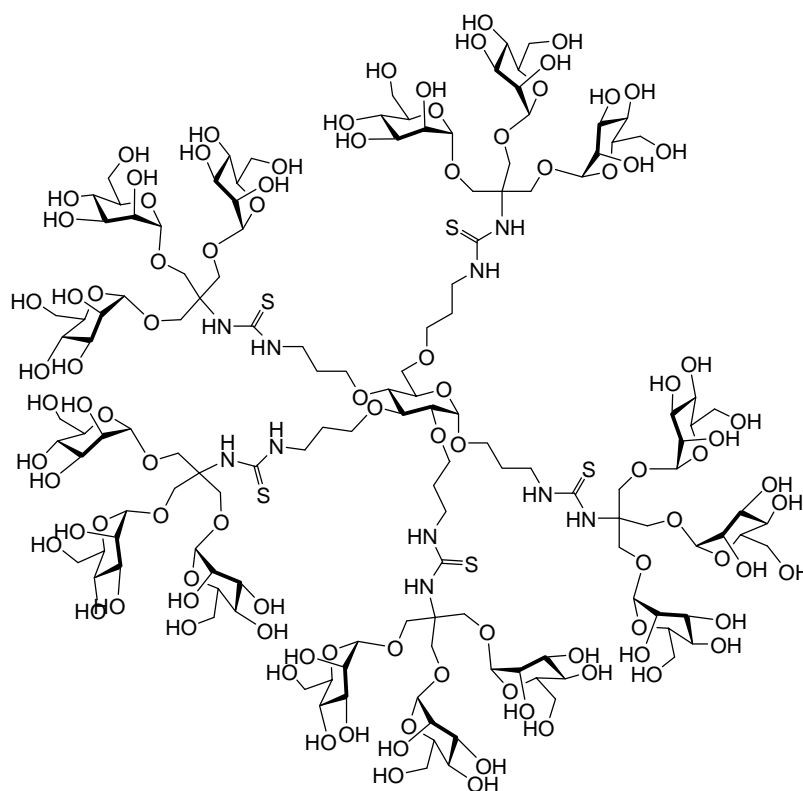


Figura 40. Estructura de un ligando decavalente inhibidor de la toxina SLT (STARFISH).

Los glicoclústeres en los que el propio núcleo sobre el que se organiza la presentación multivalente de los epítomos de reconocimiento es un derivado glucídico, como los del ejemplo anterior, constituyen un tipo especialmente interesante de sistema modelo para el estudio de interacciones carbohidrato-proteína.¹⁰⁴⁻¹⁰⁸ Recientemente nuestro grupo de investigación, en colaboración con el grupo de Lindhorst (Kiel, Alemania), ha descrito la preparación de glicodendrimeros manosilados basados en un núcleo de glucosa funcionalizada con diversos grupos reactivos (**225**). Empleando la técnica ELLA y la Con A como lectina modelo, se han evaluado derivados de tipo *O*-, *S*- y *N*- glicosídicos, con objeto de determinar la influencia no sólo del núcleo sino además de la configuración anomérica, de la valencia y de la naturaleza del puente en las propiedades de reconocimiento (Figura 41).¹⁰⁹



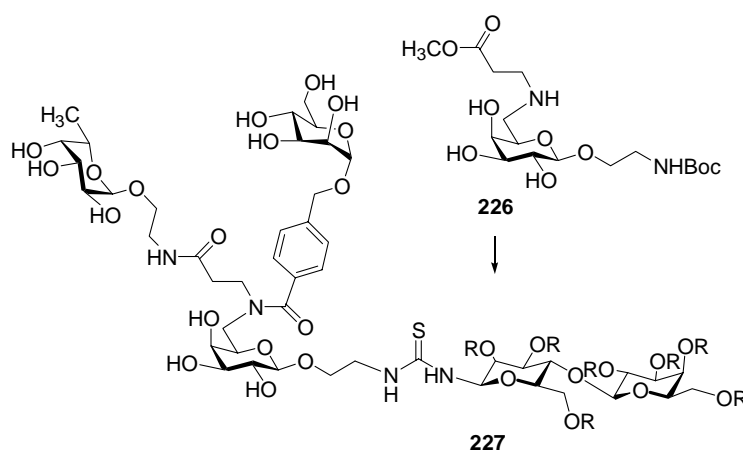
225

Figura 41. Estructura de un dendrímtero 15-valente basado en un núcleo de glucosa.

Los glicoclústeres basados en ciclodextrinas son, en realidad, un ejemplo particular de glicoclúster con núcleo de carbohidrato.^{6d,9} En esta Tesis hemos examinado la posibilidad de explotar las propiedades de estos sistemas, en particular las que se refieren a la facilidad de funcionalización selectiva y control de las propiedades estructurales, en el diseño de modelos del glicocálix. En concreto, proponemos la construcción de CDs hiperrramificadas en su cara primaria para el estudio de las interacciones secundarias entre carbohidratos y proteínas en un ambiente heterogéneo.

6.2. SISTEMAS MULTIVALENTES HETEROGÉNEOS.

La gran mayoría de los glicoconjugados sintéticos empleados para el estudio de las interacciones multivalentes carbohidrato-proteína recogidos en el párrafo anterior incorporan, generalmente, múltiples copias de un mismo ligando oligo- o monosacárido sobre un núcleo de naturaleza molecular, dendrítica o polimérica. Sin embargo, los procesos de reconocimiento biológico que ocurren en la superficie celular tienen lugar en un ambiente heterogéneo donde coexisten diferentes motivos oligosacáridos. Las modificaciones en la proporción relativa de estos oligosacáridos pueden afectar a las afinidades individuales carbohidrato-lectina debido a interacciones secundarias.¹¹⁰ A pesar de ello, se han descrito muy pocos procedimientos sintéticos que permitan la incorporación de carbohidratos de diferente naturaleza en glicoconjugados de estructura bien definida. Lindhorst¹¹¹ ha descrito la síntesis de glicomiméticos oligosacáridos de tipo mixto basados en un núcleo de galactosa trifuncionalizada (**226**) que permite el acoplamiento sucesivo de diferentes unidades de azúcar. La derivatización ortogonal del núcleo de galactosa permite acceder a un mimético de pentasacárido (**227**) de naturaleza compleja empleando dos uniones de tipo peptídico y un puente de tiourea (Esquema 20).



Esquema 20. Obtención de heterogliclústeres con un núcleo de D-galactosa.

Otro ejemplo reciente puede encontrarse en una publicación de Katajisto que ha descrito la síntesis de un derivado de α,α -bis(aminometil)- β -alanina protegido de forma ortogonal (**228**) que permite la construcción de conjugados peptídicos triantennados empleando fase sólida. El método implica la eliminación de los grupos protectores de los grupos amino en el orden Fmoc, Boc y Alloc y el posterior acoplamiento con pentafluorofenil ésteres derivados de galactosa (**229**), glucosa (**230**), manosa (**231**) y ribosa (**232**) (Figura 42).¹¹²

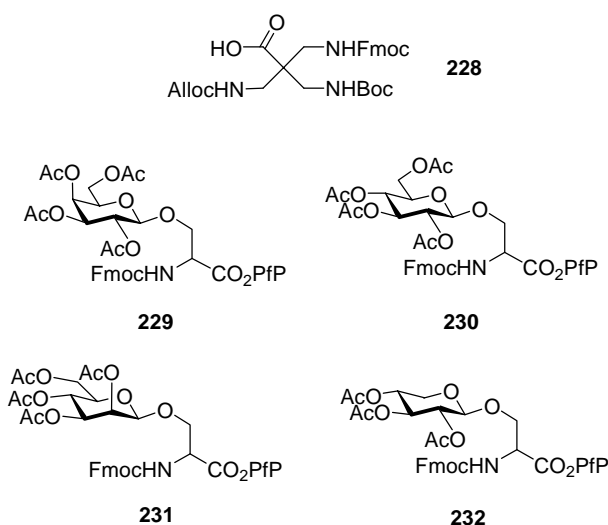


Figura 42. Elementos de base utilizados en la construcción de heteroglicoclusteres con un núcleo de α,α -bis(aminometil) β -alanina.

La química combinatoria dinámica (DCC, Dynamic Combinatorial Chemistry) constituye una herramienta muy eficaz para la identificación rápida de ligandos derivados de carbohidratos. Lehn,¹¹³ utilizando éste método, ha identificado un nuevo manósido tritópico (**233**) con una afinidad hacia la Concanavalina A comparable al ligando trimanosídico natural. La librería se genera por formación de enlaces de tipo

acilhidrazona a partir de aldehídos derivados de azúcares de seis configuraciones diferentes y una serie de oligohidrazidas de diferente geometría (Figura 43).

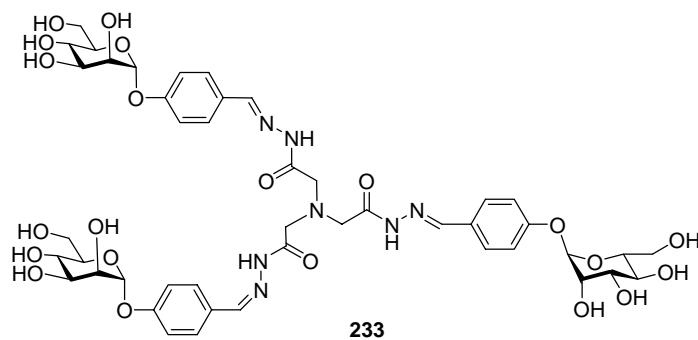


Figura 43. Estructura de un glicocluster trivalente obtenido mediante DCC.

7. CICLODEXTRINAS HIPERRAMIFICADAS
COMO MODELO DEL GLICOCÁLIX.
NUEVAS INVESTIGACIONES.

7. CICLODEXTRINAS HIPERRRAMIFICADAS COMO MODELOS DEL GLICOCÁLIX. NUEVAS INVESTIGACIONES.

Un sistema modelo que permita estudiar los fenómenos de reconocimiento que implican disposiciones heterogéneas de los oligosacáridos de la membrana celular, debe satisfacer los requerimientos de polivalencia y elevada densidad característicos de las interacciones carbohidrato-proteína. En esta Tesis hemos abordado la preparación de ciclodextrinas hiperramificadas en su cara primaria con este fin. Con el término ciclodextrina hiperramificada se hace referencia a conjugados que presentan un mayor número de ramificaciones que el que corresponde a las posiciones sustituidas en el núcleo ciclooligosacárido. Recientemente, los grupos de Vargas-Berenguel y Santoyo-González han descrito derivados de la β CD per-(C-6)-sustituidos con glicodendrones divalentes, utilizando la reacción de desplazamiento de halógeno por tiolato como métodos de acoplamiento.¹¹⁴

A la vista de los buenos resultados obtenidos con anterioridad en la preparación de monoconjugados dendríticos de la β CD¹¹⁵ mediante la formación de puentes de tiourea, nos planteamos la posibilidad de extender esta estrategia a la síntesis de (C-6)-heptaconjugados hiperramificados utilizando derivados heptaaminados de la β CD y glicodendrones convenientemente funcionalizados con un grupo isotiocianato como precursores. Los aductos resultantes presentarían simetría C_7 , facilitando su análisis por RMN. Además, el anclaje de los glicoligandos sobre la base menor de la estructura troncocónica del núcleo de β CD proporciona una arquitectura bien definida, elevada densidad y orientación apropiada para la interacción con un receptor biológico. En principio, nos hemos centrado en el desarrollo de glicodendrones trivalentes por dos motivos: primero, porque la agrupación de glicoligandos en triadas había demostrado ser especialmente favorable en los estudios precedentes con la Con A, y segundo porque cálculos preliminares indicaban que los conjugados hiperramificados 21-valentes que

resultarían tendrían dimensiones del orden de 4-5 nm, en el rango de las de la propia Con A, comportándose como modelos nanométricos del glicocáliz.

El plan de trabajo consistió en: (i) puesta a punto de una metodología para acceder a heteroglicodendrones trianténados que permitan su funcionalización con grupos isotiocianato, (ii) estudio de la viabilidad de la reacción de formación de uniones tiourea para acceder a estructuras hiperramificadas centradas en la β CD, y (iii) estudio comparativo de las propiedades de reconocimiento por lectinas para homoglicoclusteres y heteroglicoclusteres. El objetivo es determinar la posible existencia de interacciones secundarias en el reconocimiento carbohidrato-proteína derivadas de la presencia de azúcares que, en principio, no son ligandos de la lectina en estudio. El único precedente de un estudio análogo corresponde a una publicación de Whitesides y Khane¹¹⁰ que pusieron de manifiesto que la variación en las concentraciones superficiales relativas de diferentes glicoligandos en monocapas autoensambladas puede resultar en cambios en la selectividad de unión frente a lectinas debido a interacciones secundarias.

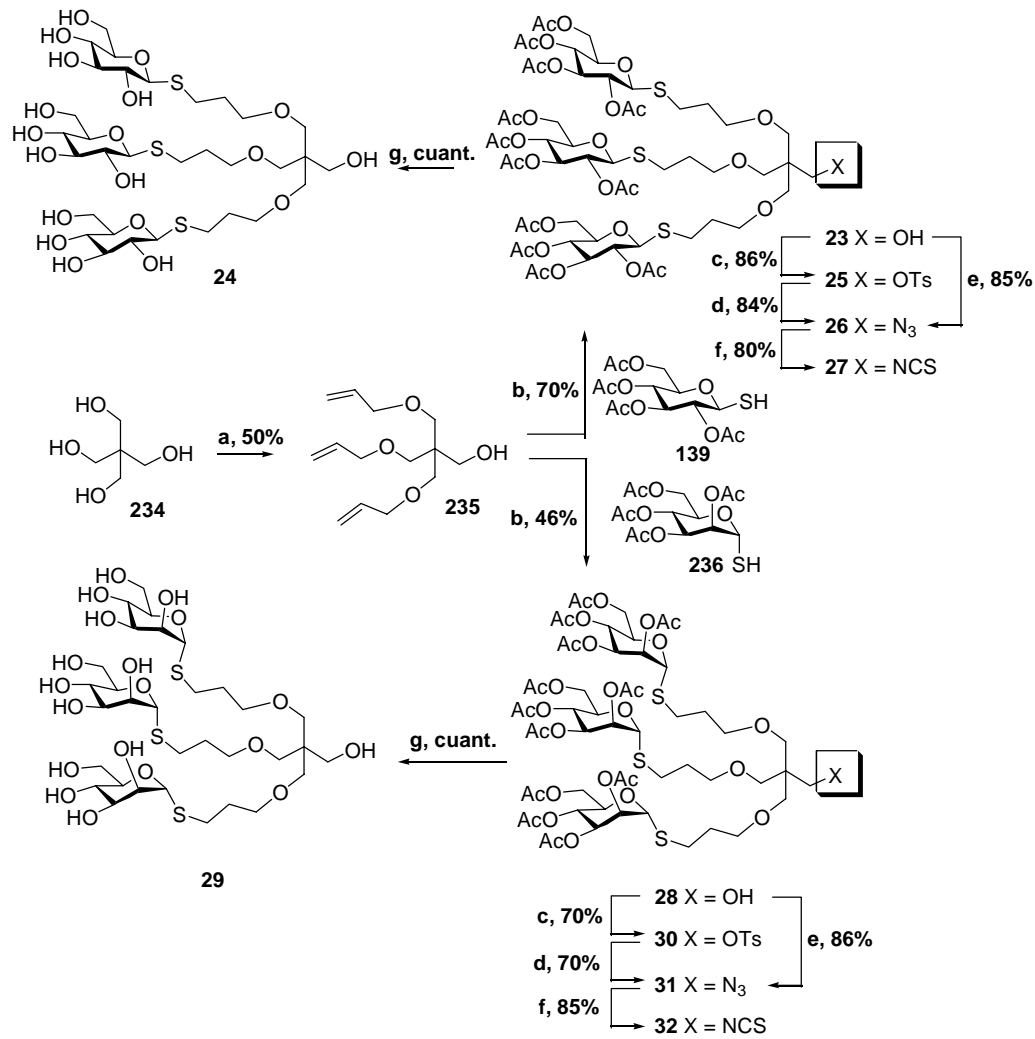
7.1. PREPARACIÓN DE HETEROGLICODENDRONES.

Los pocos métodos descritos para la preparación de heteroglicodendrones, comentados en el apartado anterior, no permiten la funcionalización de los mismos para su posterior conjugación a un núcleo polifuncional. En esta Tesis hemos diseñado una estrategia general compatible con la activación final de los glicoligandos, tanto homovalentes como heterovalentes, que partiendo del pentaeritritol se basa en la posibilidad de realizar la adición de tioles a dobles enlaces de manera secuencial y controlada. Si bien esta reacción ha sido utilizada con anterioridad en química de azúcares para la obtención de glicoclústeres,^{35,109,116} su potencial en esquemas de síntesis orientados a introducir diversidad molecular no había sido examinado.

Como elementos de base para explorar el alcance de esta aproximación, hemos considerado el derivado triálilado del pentaeritritol **235**, obtenido por reacción del

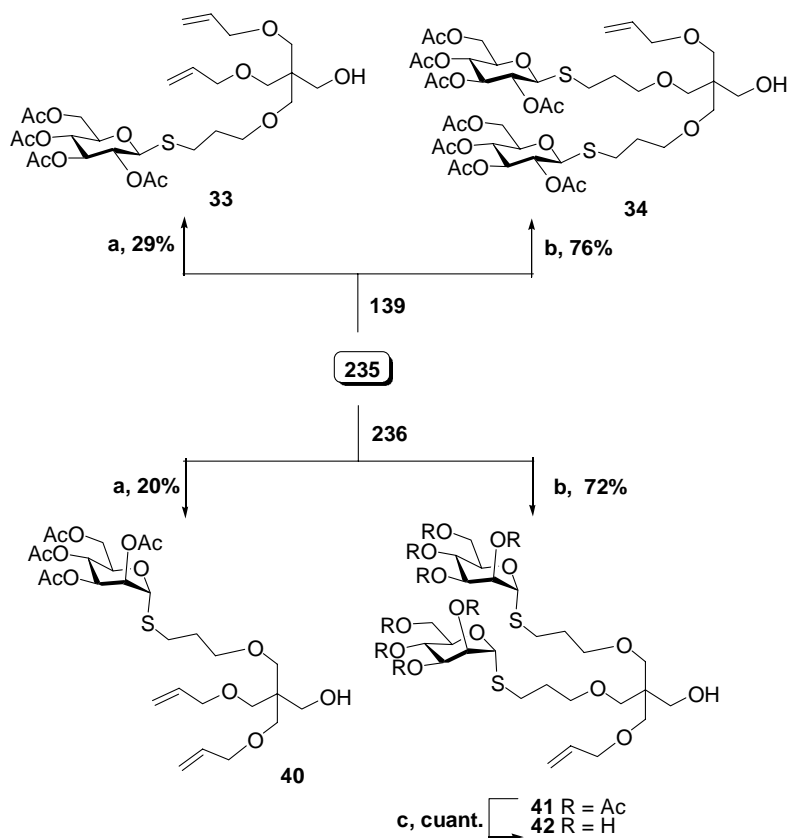
pentaeritritol **234** con bromuro de alilo e hidróxido sódico siguiendo un procedimiento descrito en la bibliografía (rendimiento 50%)¹¹⁷ y las 1-tioglicosas per-*O*-acetiladas de configuración β -D-glucosidato (**139**)¹¹⁸ y α -D-manosidato (**236**)¹¹⁹. Mientras que los derivados de α -D-manopiranosilo son reconocidos específicamente por la lectina Con A, los derivados de β -D-glucopiranosilo no son ligandos de esta lectina. La preparación de sistemas mixtos con diferente densidad de uno y otro motivo glucídico permitiría determinar la existencia o no de interacciones secundarias derivadas de un entorno heterogéneo. Además, estudios previos de nuestro grupo habían indicado que los ligandos tiomanosilados son reconocidos por la Con A con una eficacia comparable a la de los ligandos *O*-glicosídicos, muy superior a la de los ligandos *N*-glicosídicos¹⁰⁹.

En primer lugar se prepararon los correspondientes homoglicodendrones **23** y **28** por adición radicalaria de **139** ó **236**, respectivamente, al alilo **235**, promovida por irradiación con luz ultravioleta. Alternativamente, se empleó azo-bis(isobutironitrilo) (AIBN) como iniciador de radicales. Esta reacción origina los aductos de tipo anti-Markovnikov **23** y **28** con total regioselectividad. La desacetilación convencional de los mismos conduce a los correspondientes derivados trivalentes libres **24** y **29**, que se utilizaron como compuestos de referencia en ensayos de evaluación biológica. Paralelamente, el grupo hidroxilo primario de **23** y **28** se transformó en azida vía el correspondiente tosilato (**25** ó **30**) o triflato, obteniéndose **26** ó **31** con rendimientos del 86 y 84%, respectivamente. La reacción de Staudinger de las azidas **26** y **31** con trifenilfosfina y el acoplamiento in situ de la fosfinimina intermedia con disulfuro de carbono proporciona los derivados funcionalizados con un grupo isotiocianato **27** y **32** (Esquema 21).



Esquema 21. Síntesis de glicodendrones homogéneos. Reactivos y condiciones: a, bromuro de alilo, NaOH 40%, 70-75 °C, 6 h; b, hv (250 nm), MeOH, Ar, t.a.; c, TsCl, piridina, t.a., 16 h; d, NaN₃, DMF, 120 °C, 6 h; e, i) Tf₂O, CH₂Cl₂, piridina, N₂, -25 °C, 20 min ii) NaN₃, DMF, t.a., 3 h; f, TPP, CS₂, dioxano, Ar, t.a., 24 h; g, NaMeO, MeOH, Amberlite IR 120 (H⁺), t.a., 1 h.

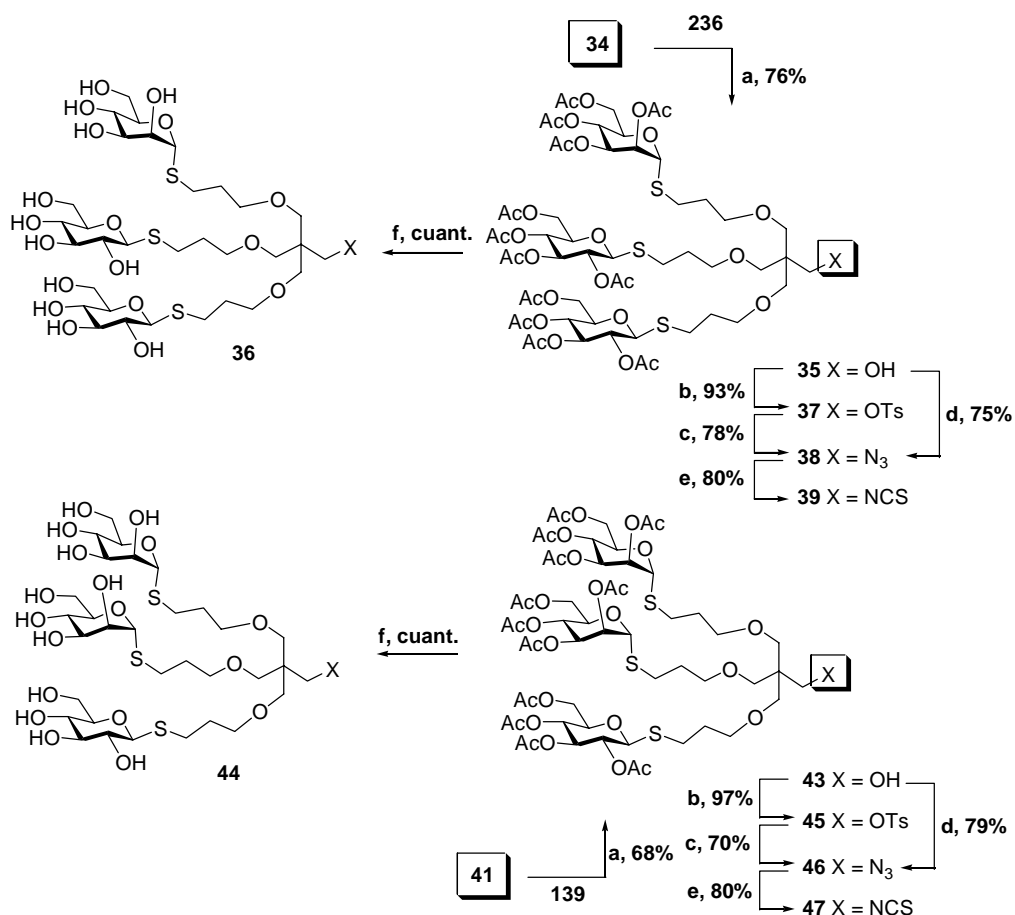
La reacción de adición de las tioglicosas per-*O*-acetiladas **139** y **236** al trialilo **235** puede realizarse de manera controlada, ajustando las condiciones de reacción, para obtener de manera preferente los productos de monoaddición (**33** y **40**) o de diaddición (**34** y **41**) (Esquema 22).



Esquema 22. Síntesis de glicodendrones heterogéneos. Reactivos y condiciones: a, AIBN, Ar, dioxano, 75 °C; b, hv (250 nm), MeOH, Ar, t.a.; c, NaMeO, MeOH, Amberlite IR 120 (H⁺).

Estos segundos se aislaron con mejores rendimientos, por lo que se utilizaron en la preparación de glicodendrones heterogéneos (**35** y **43**) mediante la adición, en una segunda etapa, del tioazúcar de configuración diferente al resto glucídico ya unido al núcleo de pentaeritritol. Una secuencia de reacciones análoga a la ya comentada para los

homoglicodendrones **23** y **28** permitió sintetizar los compuestos **39** y **47**, armados con un grupo isotiocianato reactivo (Esquema 23). Los derivados **41**, **35** y **43** también fueron transformados en los correspondientes glicodendrones libres **42**, **36** y **44** para ensayos de afinidad con la Con A.



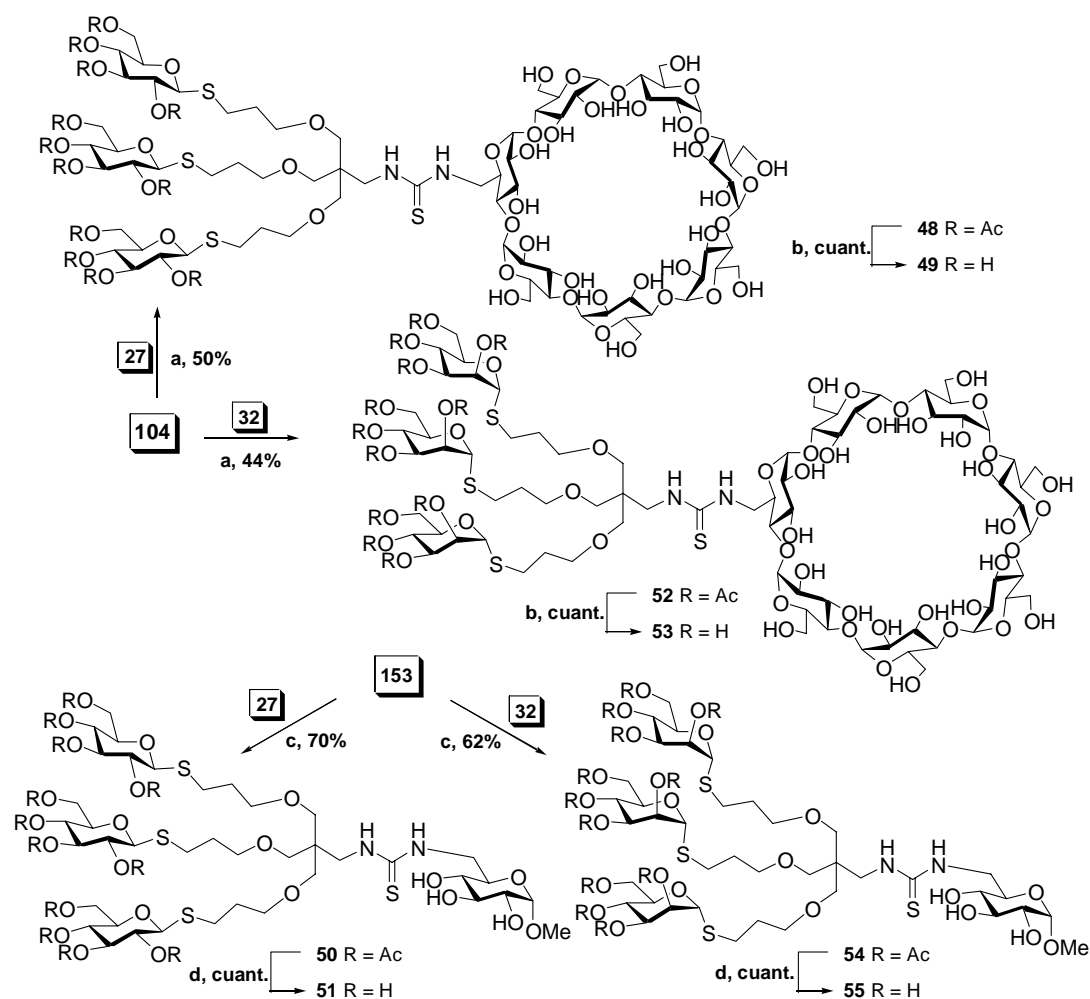
Esquema 23. Síntesis de glicodendrones heterogéneos. Reactivos y condiciones: a, hv (250 nm), Ar, MeOH, t.a.; b, TsCl, piridina, t.a., 16 h; c, NaN₃, DMF, 120 °C, 6 h; d, i) Tf₂O, CH₂Cl₂, piridina, N₂, -25 °C, ii) NaN₃, DMF, t.a., 3 h; e, TPP, CS₂, dioxano, Ar, t.a., 24 h; f, NaMeO, MeOH, Amberlite IR 120 (H⁺), t. a., 1 h.

7.2. REACTIVIDAD DE GLICODENDRONES DERIVADOS DEL PENTAERITRITOL. SÍNTESIS DE DERIVADOS MONOCONJUGADOS.

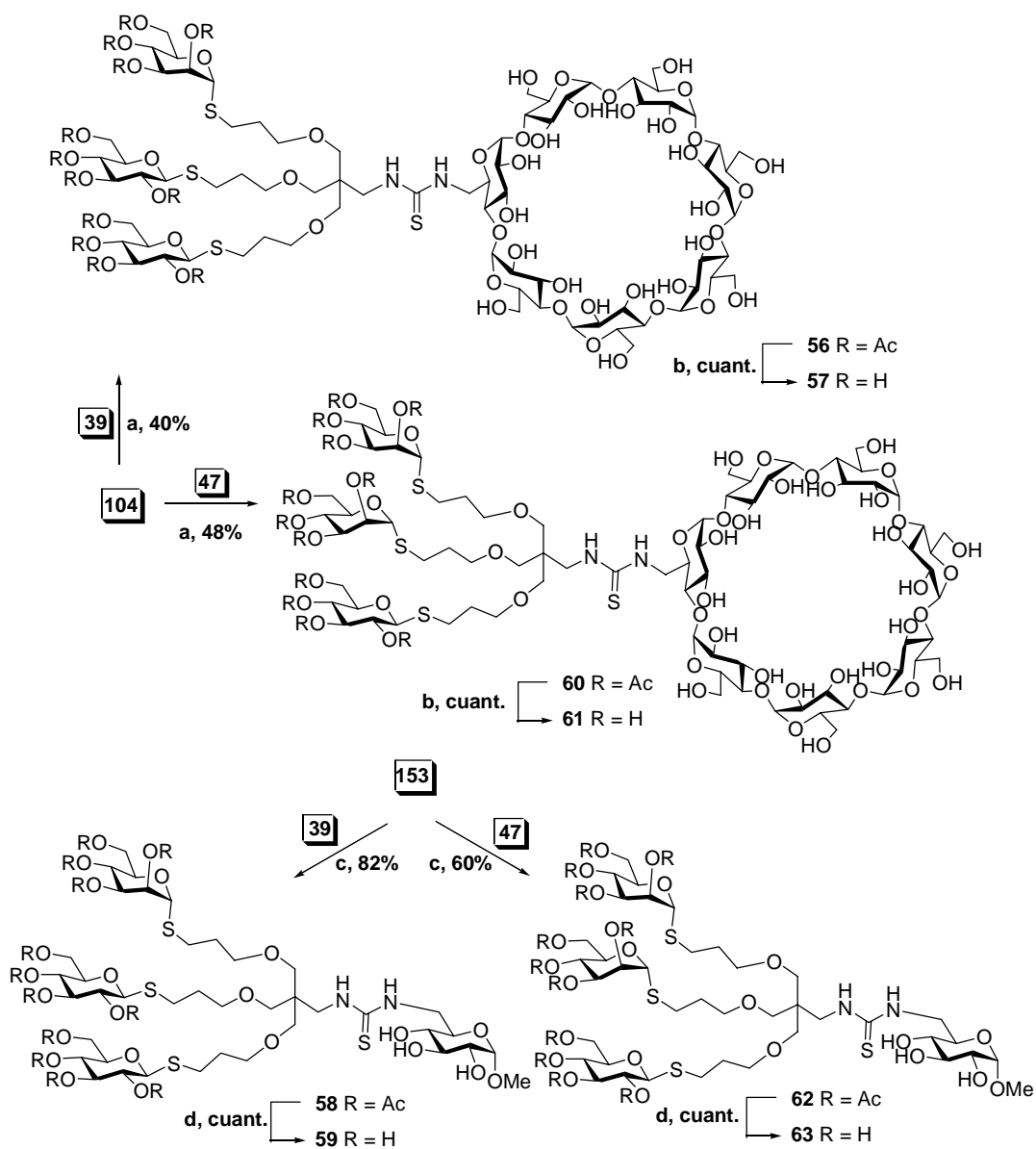
A la hora de evaluar las posibles interacciones secundarias en procesos de reconocimiento carbohidrato-proteína y la influencia de factores estructurales en las mismas, es importante disponer de muestras adecuadas para ensayos de control. En nuestro caso, pretendemos determinar, por una parte, el efecto debido a una presentación multivalente de alta densidad de los glicoligandos en un modelo de glicocálix nanométrico (homogéneo y heterogéneo), en comparación con una presentación de baja densidad. Por otra parte, es necesario identificar posibles efectos asociados al núcleo utilizado para construir el glicocluster, en nuestro caso la β CD. Para conseguir estos objetivos, y por analogía con los estudios realizados con anterioridad sobre CDs dendríticas y diméricas, nos propusimos, en principio, la síntesis de tres series de conjugados: monoconjugados derivados de la 6^l-amino-6^l-desoxi- β CD **104**, monoconjugados del metil 6-amino-6-desoxi- α -D-glucopiranosido **153** y heptaconjugados de la heptaquis(6-amino-6-desoxi) β CD (**121**).

La reacción de adición nucleófila del grupo amino primario de **104** y **153** al grupo heterocumulénico de los glicodendrones derivados del pentaeritritol, tanto homogéneos (**27**, **32**) como heterogéneos (**39**, **47**) transcurrió con buenos rendimientos en piridina a 40 °C para dar los correspondientes aductos de tiourea que, por desacetilación convencional, condujeron a los compuestos libres objetivo (Esquemas 24 y 25). Sin embargo, los intentos de extender esta estrategia a la preparación de estructuras hiperramificadas derivadas de la per-(C-6)-amina de la β CD **121** condujeron a mezclas de productos de adición parcial, incluso utilizando agua-acetona a pH 8 como disolvente, empleando grandes excesos de reactivo y con tiempos de reacción prolongados. Probablemente, la proximidad de los centros nucleófilos a la estructura ciclooligosacáridica origina tensiones estéricas que dificultan la accesibilidad a los mismos. A la vista de este

resultado, decidimos modificar nuestra estrategia original para acceder a estructuras hiperramificadas mediante la inserción de un espaciador entre el núcleo de β CD y los grupos amino. Las investigaciones en este sentido se recogen en el siguiente apartado.



Esquema 24. Síntesis de conjugados multivalentes homogéneos y compuestos modelo. Reactivos y condiciones: a, piridina, 40 °C, 24 h; b, NaMeO, MeOH, agua, Amberlite IR 120 (H⁺), Duolite MB 6113 (H⁺, OH⁻); c, piridina, t.a., 16 h; d, NaMeO, MeOH, Amberlite IR 120 (H⁺).



Esquema 25. Síntesis de conjugados multivalentes heterogéneos y compuestos modelo. Reactivos y condiciones: a, piridina, 40 °C, 24 h; b, NaMeO, MeOH, agua, Amberlite IR 120 (H⁺), Duolite MB 6113 (H⁺, OH⁻); c, piridina, t.a., 16 h; d, NaMeO, MeOH, Amberlite IR 120 (H⁺).

7.3. DERIVADOS DE LA CISTEAMINA. SÍNTESIS DE CICLODEXTRINAS HIPERRAMIFICADAS.

Para conservar un esquema de síntesis convergente, en el que la última etapa consiste en el acoplamiento de glicodendrones que portan grupos isotiocianato con un heptanucleófilo aminado derivado de la β CD, que permita acceder a ciclodextrinas hiperramificadas, nos planteamos la preparación de nuevos derivados per-(C-6)-funcionalizados de la β CD con grupos amino en la periferia. Dado que la sustitución de los hidroxilos primarios en la β CD comercial por halógeno puede efectuarse en una sola etapa y con un elevado rendimiento, metodologías que implican reacciones de sustitución nucleófila de tipo S_N2 sobre estos intermedios resultan especialmente adecuadas. Con estas consideraciones, nuestra molécula objetivo, como núcleo para la construcción de glicoclusteres, ha sido la heptaquis[6-(2-aminoetil)tió]6-desoxi] β CD **64**, que resultaría de reemplazar los siete hidroxilos primarios en la β CD canónica por sustituyentes cisteaminilo.

Aunque se han descrito algunos ejemplos de ciclodextrinas modificadas con sustituyentes derivados de la cisteamina,¹²⁰ el derivado de simetría C_7 **64** no había sido preparado con anterioridad. Su síntesis se efectuó por tratamiento de la per-(6-bromo-6-desoxi) β CD **120**^{27b} con hidrocloreuro de cisteamina en dimetilformamida, aislándose con un rendimiento del 86% como el correspondiente heptahidrocloreuro (Esquema 26). La eficacia de este procedimiento, que es extensible a otros aminotioles y que permite acceder en tan sólo dos etapas a derivados poliaminados de estructura regular, es notable y ha sido objeto de una patente.¹²¹ En comparación con la síntesis de la per-(6-amino-6-desoxi) β CD generalmente utilizada, se evita el uso de azidas, siempre problemático a gran escala, y se suprime la etapa de reducción que también resulta muy costosa. Los espectros de 1H y ^{13}C RMN del compuesto **64** se muestran en la Figura 44.

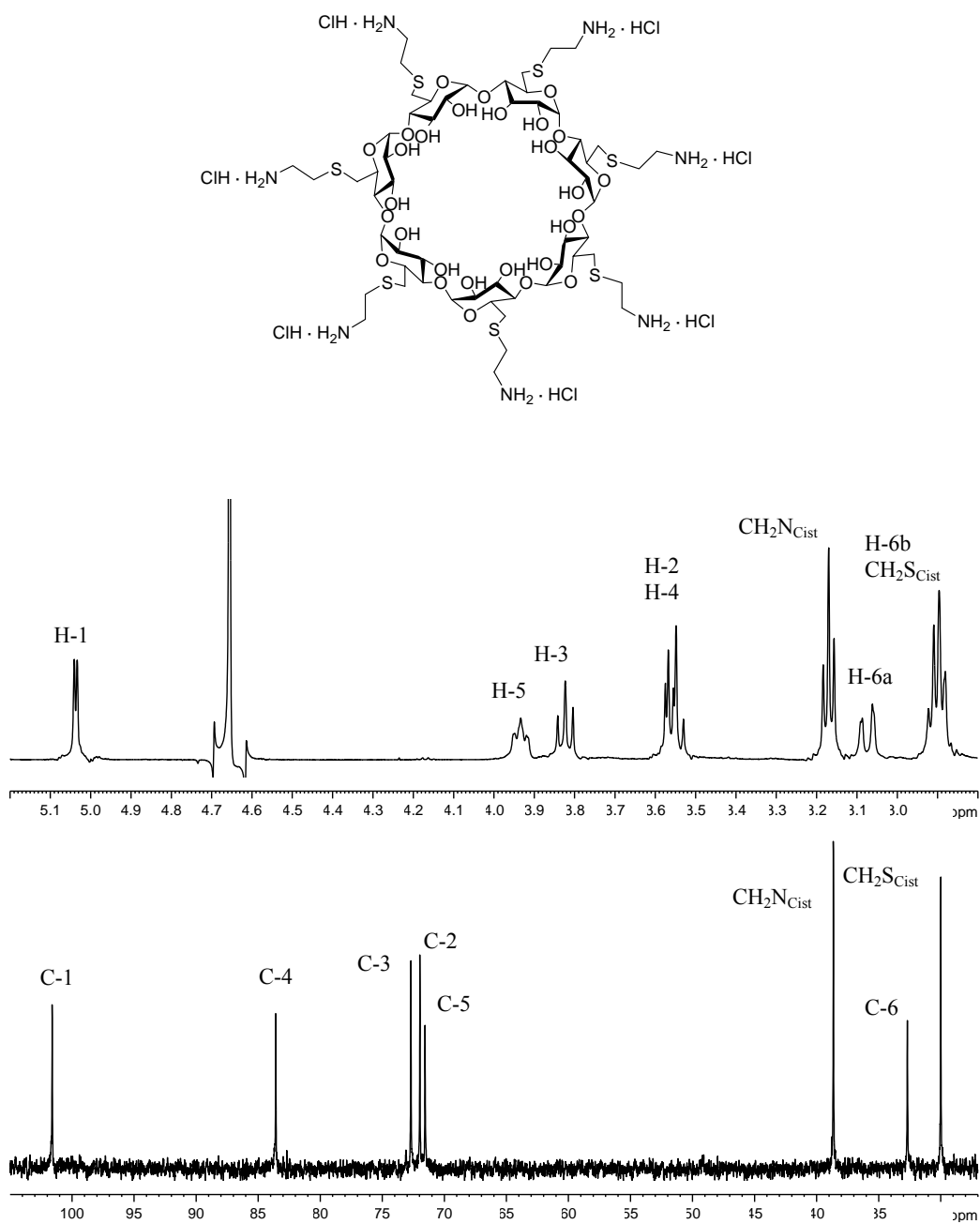
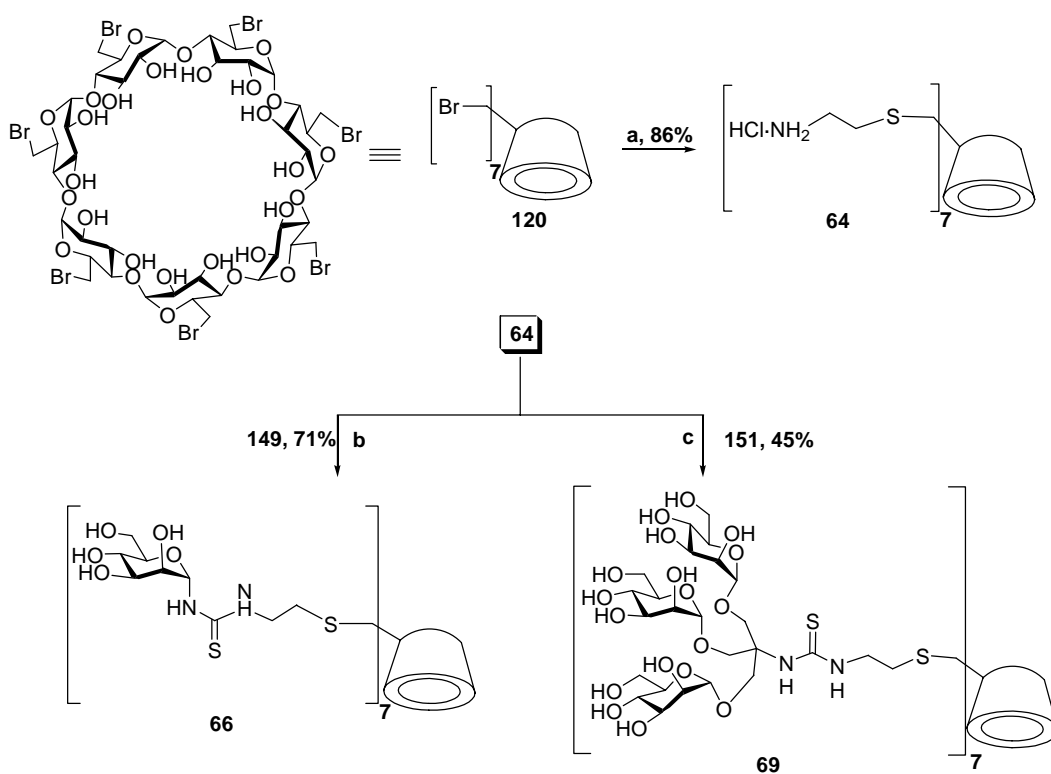


Figura 44. Espectros de ^1H RMN (500 MHz, D_2O) y ^{13}C RMN (125.7 MHz, D_2O) del compuesto 64.

El derivado **64** resultó ser un excelente heptanucleófilo, muy adecuado para acceder a derivados heptasustituidos de la β CD. Así, la reacción con el α -D-manopiranosil isotiocianato per-*O*-acetilado **149** condujo, tras desacetilación a 0 °C del aducto hemiacetilado intermedio, al heptaconjugado **66** con un 71% de rendimiento. El séptuple acoplamiento funcionó incluso en el caso del glicodendrón trivalente derivado del TRIS **151**, a pesar de tratarse en este caso de un grupo isotiocianato unido a un carbono terciario (Esquema 26).



Esquema 26. Síntesis de conjugados hiperramificados. Reactivos y condiciones: a, $\text{HSCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{HCl}$, DMF, Et_3N , Ar, t.a., 48 h; b, i) H_2O , acetona pH 8 (NaHCO_3) ii) NaMeO , MeOH , agua, 0 °C, Amberlite IR 120 (H^+), Duolite MB 6113 (H^+ , OH^-); c, NaMeO , MeOH , agua, Amberlite IR 120 (H^+), Duolite MB 6113 (H^+ , OH^-).

El heptaconjugado desprotegido **69** constituye el primer ejemplo de ciclodextrina hiperramificada homogéneamente en su cara primaria con valencia 21. En la Figura 45 se muestra una imagen tridimensional de su estructura. La orientación espacial que proporciona la estructura troncocónica de la β CD da lugar a una arquitectura de tipo “medusa”, con los brazos manosilados dirigidos hacia la misma región espacial. La cavidad de la β CD permanecería en principio accesible en su base mayor. En el otro extremo se disponen los ligandos manosilados que generan una superficie de elevada densidad que imita el glicocáliz celular. Las dimensiones de esta superficie, aproximadamente 40 Å, se acercan a las de las macromoléculas proteicas que actuarían como receptores de los glicoligandos.

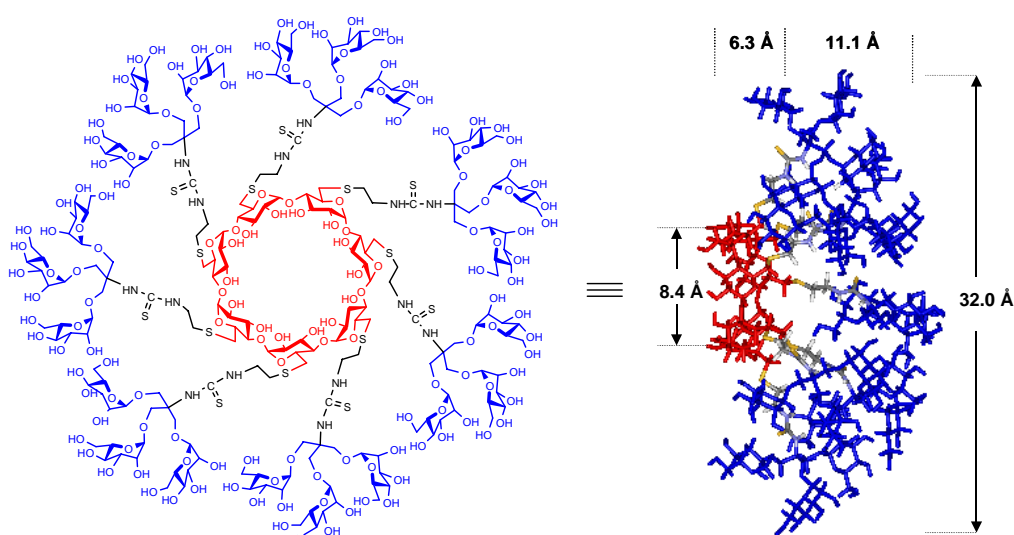
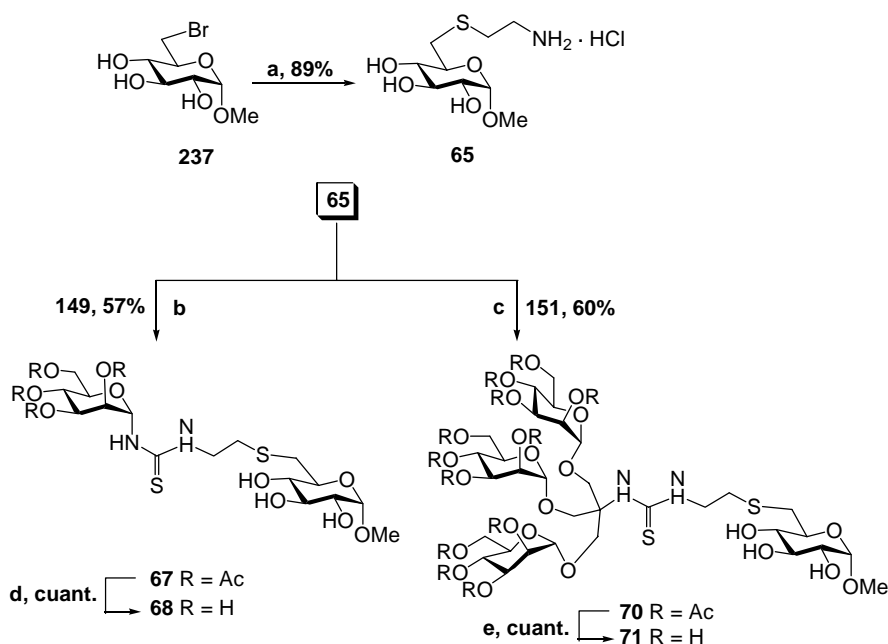


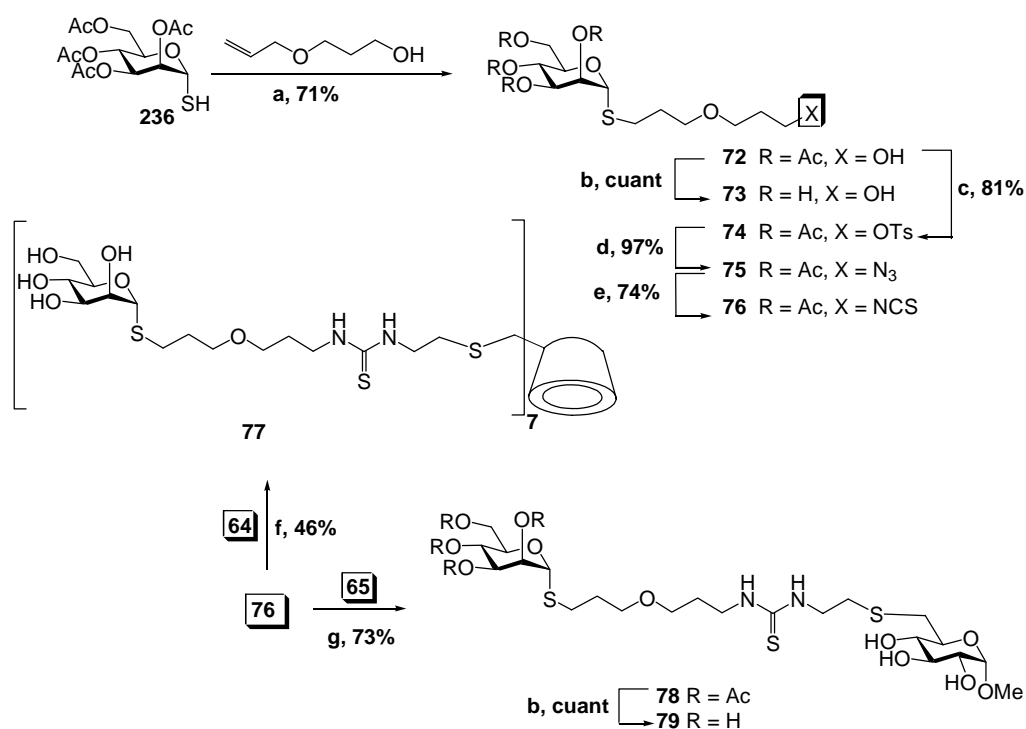
Figura 45. Representación tridimensional del derivado de β CD hiperramificada **69** con indicación de las dimensiones moleculares.

Dados los buenos resultados obtenidos con **64**, se abordó de manera paralela la preparación de compuestos modelo derivados del metil α -D-glucopiranosilo que incorporan el espaciador de cisteamina. Además de servir como control en los ensayos con lectina, estos conjugados más sencillos resultan muy útiles a la hora de facilitar la interpretación de los espectros de RMN de los análogos derivados de la β CD. La síntesis del derivado de tipo cisteaminilo **65** se realizó a partir del metil 6-bromo-6-desoxi- α -D-glucopiranosido¹²² **237** por desplazamiento del átomo de bromo con cisteamina. Un esquema de reacciones análogo al comentado para el caso de los conjugados de la β CD permitió acceder a los aductos manosilados monovalente y trivalente **68** y **71** (Esquema 27).



Esquema 27. Síntesis de conjugados hiperramificados. Reactivos y condiciones: a, HSCH₂CH₂NH₂·HCl, DMF, Et₃N, Ar, t.a., 24 h; b, H₂O, acetona pH 8 (NaHCO₃), t.a., 4 h; c, piridina, Et₃N, 4 h; d, NaMeO, MeOH, 0 °C, Amberlite IR 120 (H⁺); e, NaMeO, MeOH, agua, Amberlite IR 120 (H⁺), Duolite MB 6113 (H⁺, OH⁻).

Los compuestos **66** y **69** incorporan sustituyentes *N*- y *O*-manopiranosídicos, respectivamente. Dado que nuestro diseño de glicodendrones para el estudio de interacciones con heteroglicoclústeres implica glicoligandos de tipo *S*-manopiranosídicos, resulta conveniente disponer de compuestos de referencia que pertenezcan a esta serie. Con este fin se diseñó el derivado 1-tiomanopiranosídico **76** que, además, incorpora un brazo espaciador equivalente al que proporciona el núcleo de pentaeritritol en los glicodendrones triantenados **27**, **32**, **39** y **47**. Esto permitió descartar posibles interferencias del espaciador en los resultados de evaluación biológica.

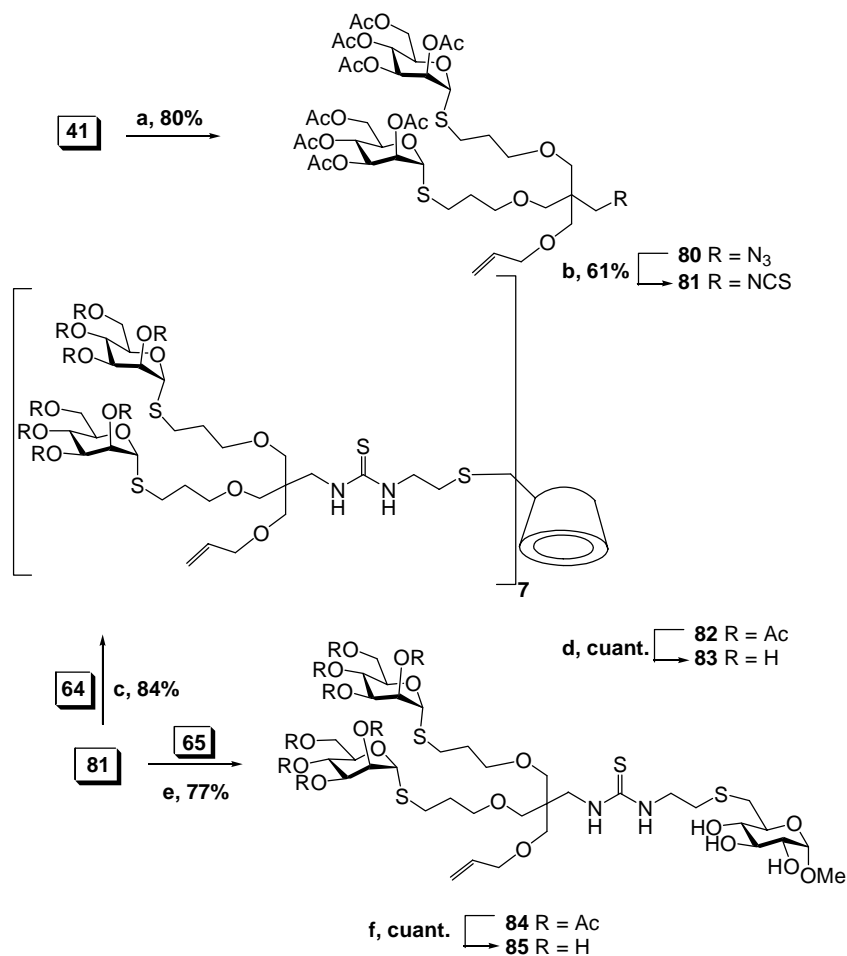


Esquema 28. Síntesis de conjugados hiperramificados. Reactivos y condiciones: a, AIBN, dioxano, Ar, 75 °C, 45 min; b, NaMeO, MeOH, Amberlite IR 120 (H⁺); c, TsCl, CH₂Cl₂, DMAP, t.a., 24 h; d, NaN₃, DMF, 80 °C, 4 h; e, TPP, CS₂, dioxano, t.a., 16 h; f, i) H₂O, acetona pH 8 (NaHCO₃), t.a., 16 h; ii) NaMeO, MeOH, agua, Amberlite IR 120 (H⁺), Duolite MB 6113 (H⁺, OH⁻); g, piridina, Et₃N, t.a., 16 h.

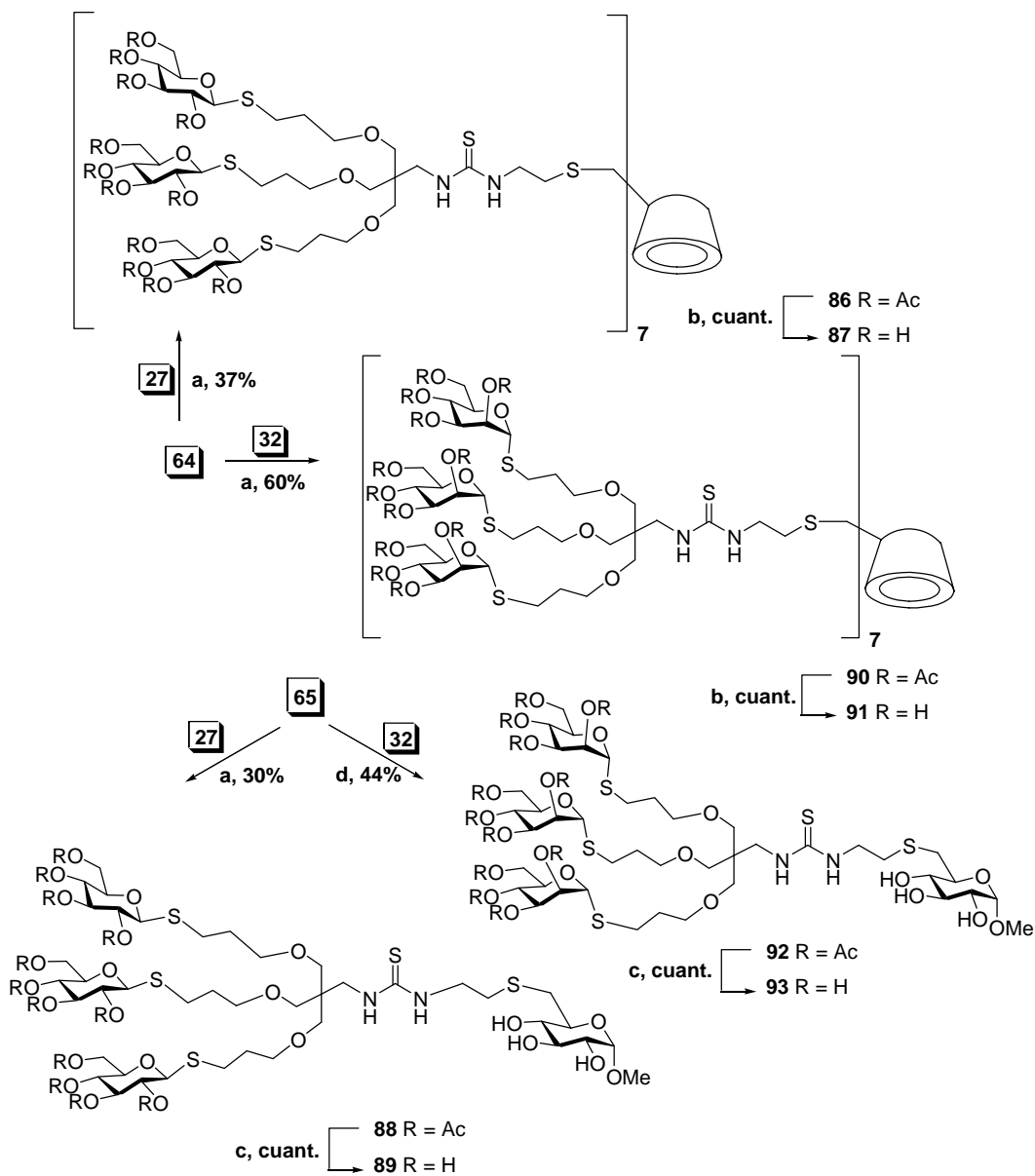
La síntesis de **76** se realizó por adición radicalaria de la 1-tiomanosa per-*O*-acetilada **236** al alil 2-hidroxipropil éter **238** (\rightarrow **72**) que a su vez se obtuvo por alilación selectiva del 1,3-propanodiol con bromuro de alilo en tetrahidrofurano (40% de rendimiento), seguido de transformación del grupo alcohol en isotiocianato (**76**) via tosilato (**74**) y azida (**75**). El acoplamiento de **76** con los derivados cisteaminilados **64** y **65** proporcionó los correspondientes conjugados heptavalentes **77** y monovalente **79** (Esquema 28).

Una ventaja esencial de la metodología desarrollada es que permite acceder a series de compuestos con diferente densidad de los glicoligandos, con un control total de la misma y con la posibilidad de modular la proporción relativa de los azúcares constituyentes (α -D-manopiranosilo y β -D-glucopiranosilo en el presente estudio). La preparación del conjugado hiperramificado que incorpora catorce unidades de manosa **83** y del correspondiente compuesto modelo **85** se describe en el Esquema 29. El acoplamiento del isotiocianato **81**, obtenido mediante reacción de tipo aza-Wittig a partir de la azida **80**, con los cisteaminil derivados **64** y **65** (\rightarrow **82** y **84**, respectivamente) seguido de desacetilación condujo a los conjugados **83** y **85**.

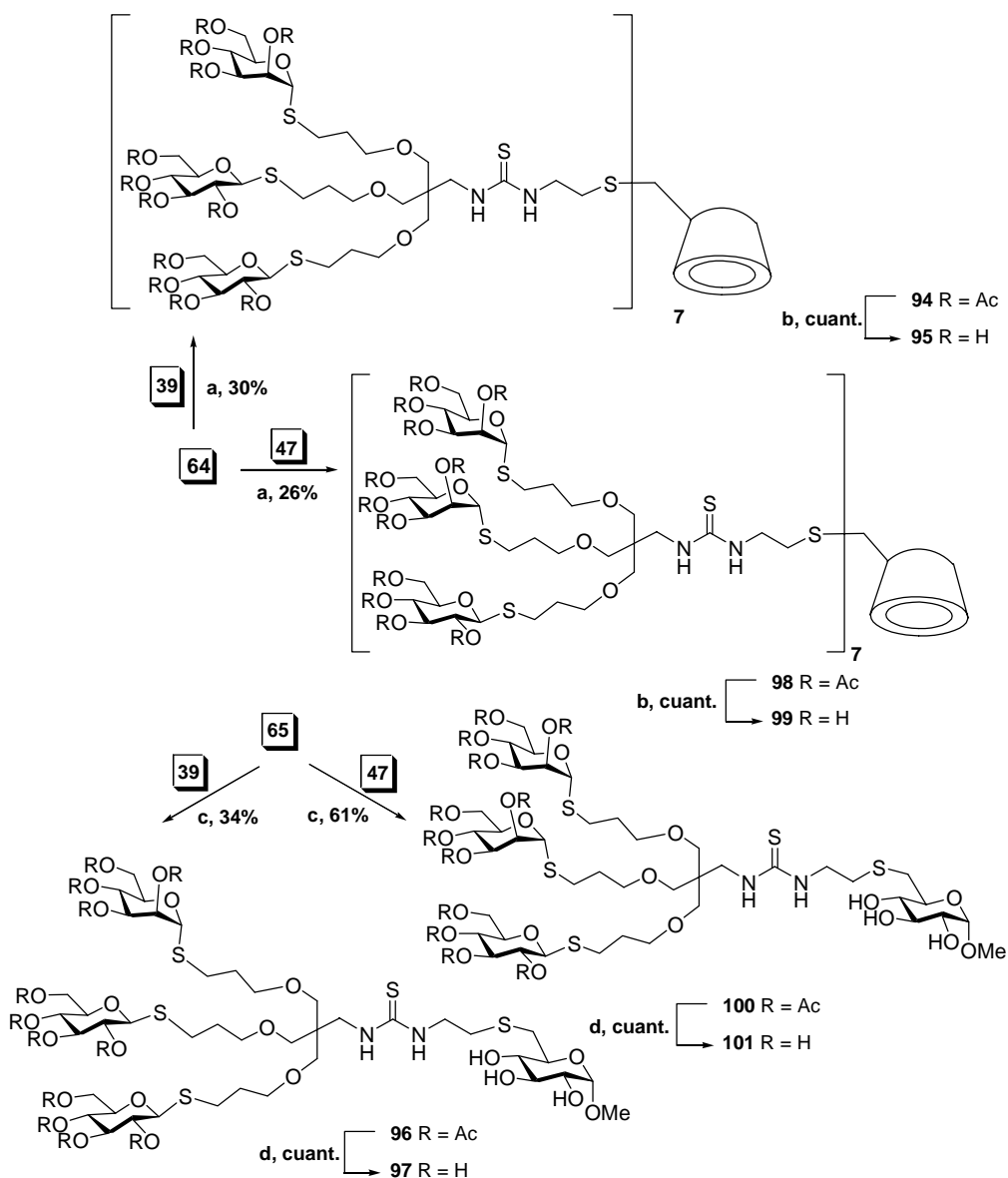
El acoplamiento entre isotiocianatos derivados del pentaeritritol y el núcleo de heptacisteaminil β CD **64** resulta igualmente efectivo cuando la posición vacante en el glicodendrón está ocupada, permitiendo acceder a los conjugados hiperramificados 21-valente objetivo tanto homogéneos (Esquema 30) como heterogéneos (Esquema 31), así como a los correspondientes compuestos modelo. Esta serie debe permitir evaluar las posibles interacciones secundarias en el reconocimiento de los ligandos de D-manopiranosilo por la Con A en función de la valencia, la densidad y la proporción relativa de un segundo azúcar (D-glucopiranosilo), descartándose efectos que pudiesen derivarse de la naturaleza del núcleo sobre el que se soporta el glicocluster (β CD) o la presencia del espaciador.



Esquema 29. Síntesis de conjugados hiperramificados. Reactivos y condiciones: a, i) Tf_2O , piridina, CH_2Cl_2 , N_2 , $-25\text{ }^\circ\text{C}$, 30 min; ii) NaN_3 , DMF, t.a., 2 h; b, TPP, CS_2 , dioxano, Ar, t.a., 16 h; c, H_2O , acetona pH 8 (NaHCO_3), t.a., 16 h; d, NaMeO , MeOH , agua, Amberlite IR 120 (H^+), Duolite MB 6113 (H^+ , OH^-); e, piridina, Et_3N , t.a., 16 h; f, NaMeO , MeOH , Amberlite IR 120 (H^+).



Esquema 30. Síntesis de conjugados hiperramificados. Reactivos y condiciones: a, H₂O, acetona pH 8 (NaHCO₃), t.a., 48 h; b, NaMeO, MeOH, agua, Amberlite IR 120 (H⁺), Duolite MB 6113 (H⁺, OH⁻); c, NaMeO, MeOH, Amberlite IR 120 (H⁺); d, piridina, Et₃N, t.a., 16 h.



Esquema 31. Síntesis de conjugados hiperramificados. Reactivos y condiciones: a, H_2O , acetona, pH 8 (NaHCO_3), t.a., 5 d; b, NaMeO , MeOH , agua, Amberlite IR 120 (H^+), Duolite MB 6113 (H^+ , OH^-); c, piridina, Et_3N , t.a.; d, NaMeO , MeOH , Amberlite IR 120 (H^+).

La estructura de todos los compuestos preparados se confirmó por espectrometría de masas (MALDI-TOF, Figuras 46 y 47), microanálisis y RMN. Los espectros de ^{13}C RMN muestran señales muy anchas en D_2O para los carbonos del núcleo de βCD , incluso a temperaturas elevadas probablemente como consecuencia de una disminución drástica de la movilidad en esta región de la estructura hiperramificada. Esto provoca que la intensidad de estas señales sea mucho menor que la de los carbonos de los glicoligandos externos (ver, por ejemplo, Figuras 48 y 49). En cualquier caso, tanto los espectros de ^{13}C como los de ^1H RMN fueron consistentes con la simetría C_7 correspondiente a un derivado de la βCD homogéneamente sustituido en todas las posiciones C-6. En el caso de los conjugados de tipo homoglicoclúster, los espectros de protones muestran dos sistemas de spin en la región típica de los azúcares, el correspondiente a la βCD y el correspondiente al glicoligando en cuestión mientras que en el caso de heteroglicoclústeres se distinguen tres sistemas de spin diferentes (ver, por ejemplo, Figuras 50 y 51).

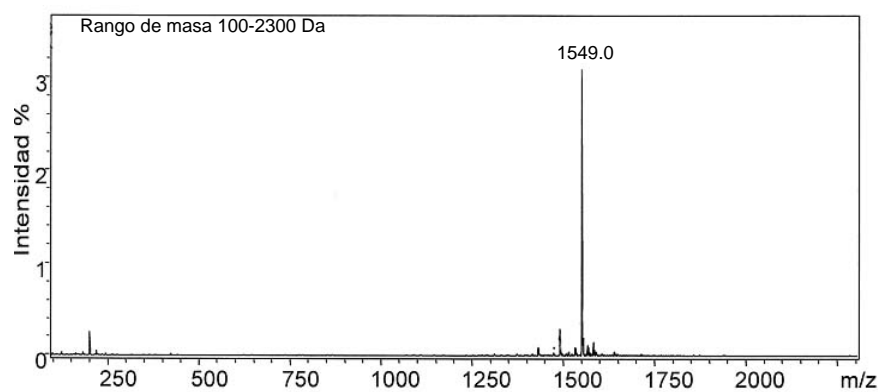


Figura 46. Espectro de Masas (ESI) del compuesto 64.

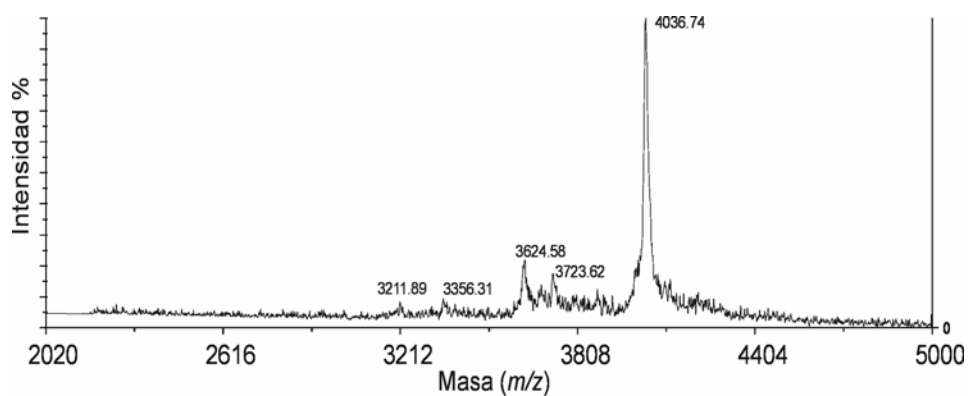


Figura 47. Espectro de Masas (MALDI-TOF) del compuesto 77.

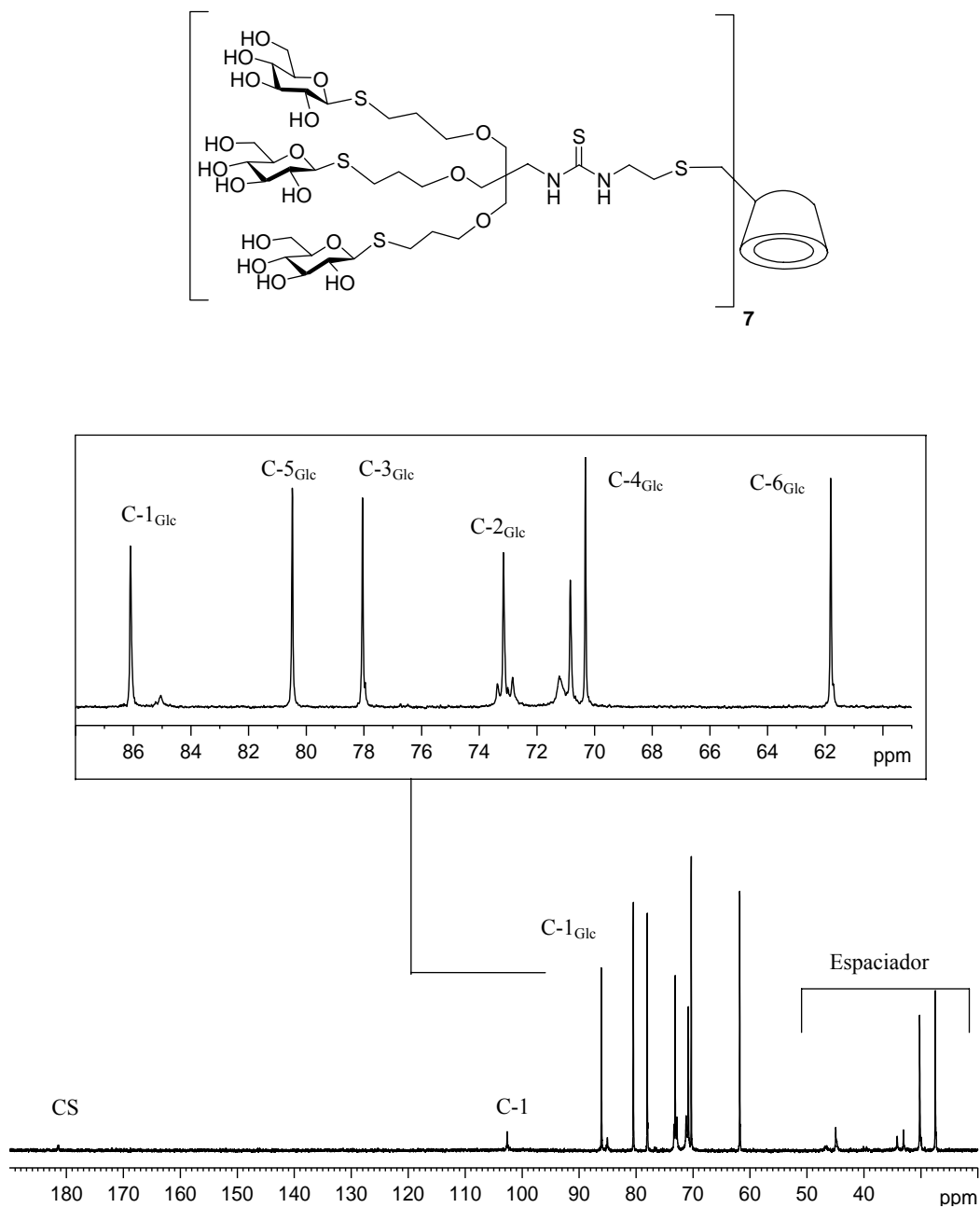


Figura 48. Espectro de ^{13}C RMN (125.7 MHz, D_2O) del compuesto **87**.

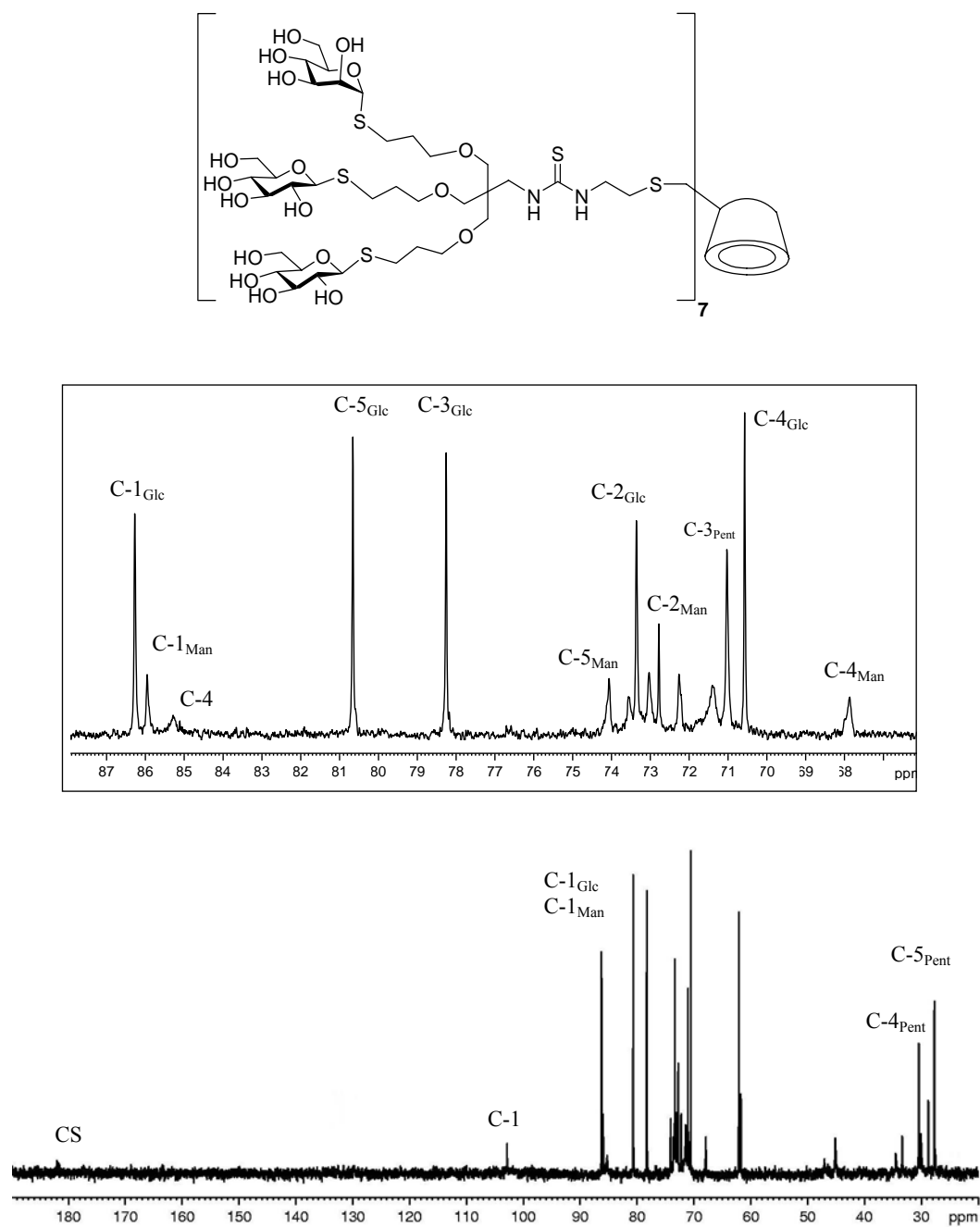


Figura 49. Espectro de ^{13}C RMN (125.7 MHz, D_2O , 353 K) del compuesto 95.

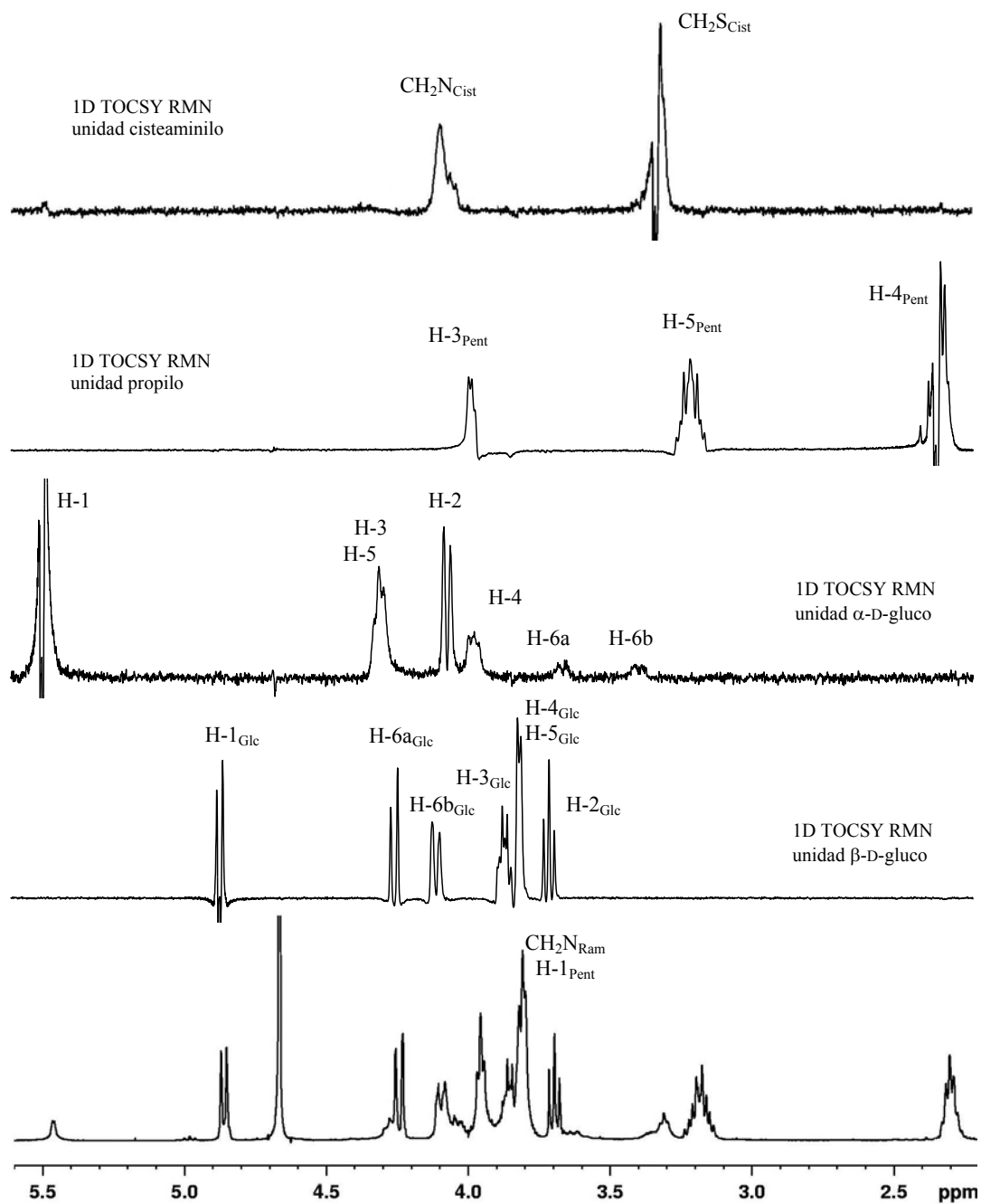


Figura 50. Espectros de ¹H RMN y 1D TOCSY RMN (500 MHz, D₂O, 343 K) del compuesto 87.

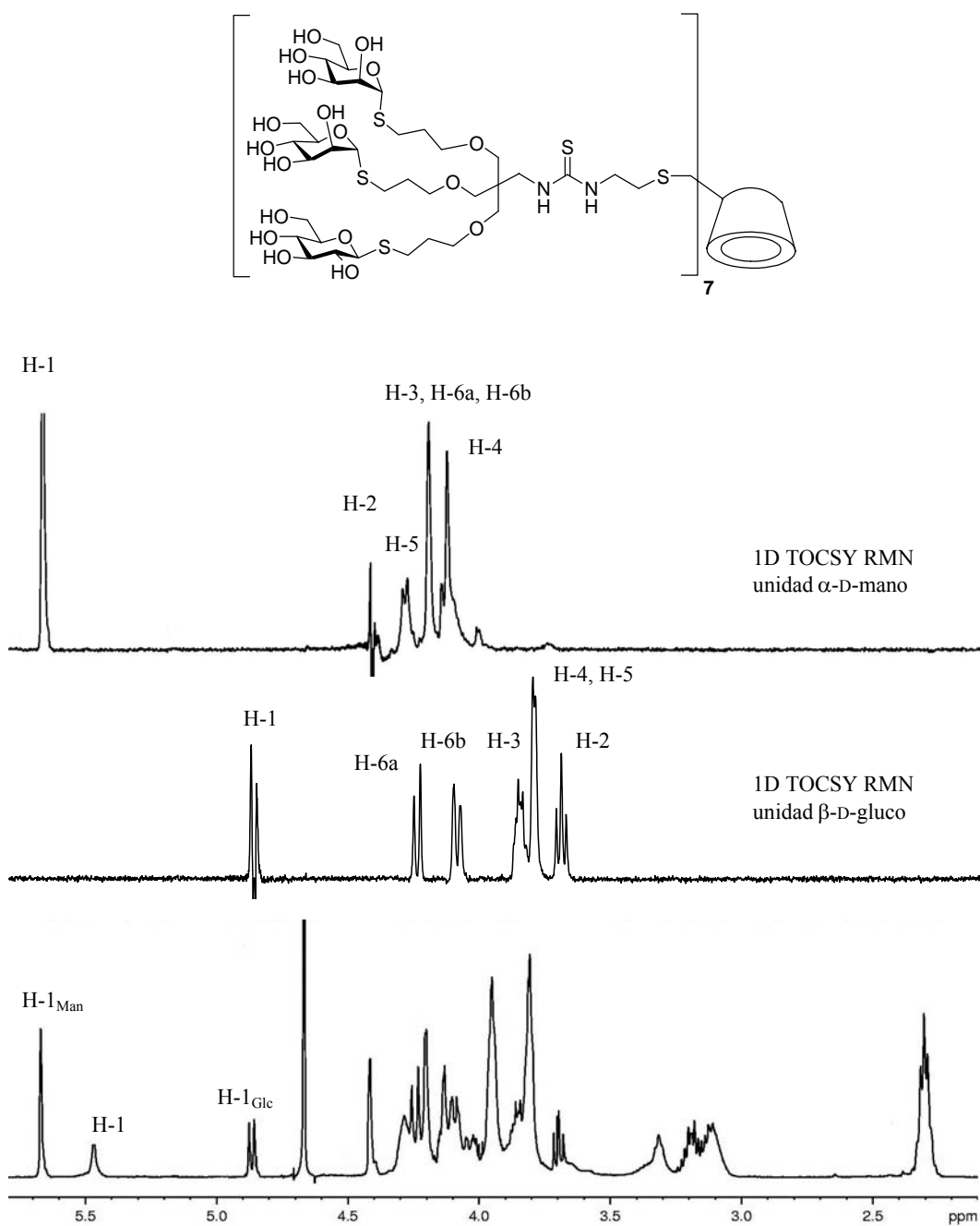


Figura 51. Espectro de ^1H RMN y 1D TOCSY (500 MHz, D_2O , 353 K) del compuesto **99**.

En la figura 52 se muestra una representación tridimensional del compuesto **99**, que presenta catorce unidades de α -D-manopiranosilo y siete unidades de β -D-glucopiranosilo unidos a las posiciones primarias de la β CD a través de los espaciadores de cisteaminilo y pentaeritritol. Las dimensiones de la corona glicosídica externa están próximas a los 50 Å de diámetro. Además, la diferenciación facial que proporciona la β CD hace que esta superficie esté orientada hacia la misma región del espacio, proporcionando el primer modelo molecular de una porción heterogénea del glicocáliz.

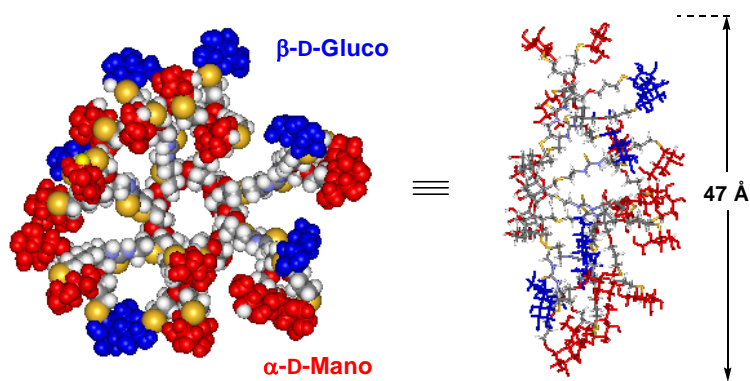


Figura 52. Representación tridimensional del glicocáliz heterogéneo con estructura de ciclodextrina hiperramificada **99**.

7.4. EVALUACIÓN DE INTERACCIONES SECUNDARIAS EN EL PROCESO DE RECONOCIMIENTO CARBOHIDRATO-PROTEÍNA. EL EFECTO HETEROCLUSTER.

La disponibilidad de una serie de homo y heteroglicoclústeres de estructura definida y de los correspondientes modelos de baja valencia nos ha permitido llevar a cabo un estudio sistemático destinado a evaluar interacciones secundarias en el reconocimiento carbohidrato-proteína en un entorno heterogéneo. Nuestra lectina de referencia ha sido la Con A, lo que nos permite comparar los resultados con los anteriormente obtenidos por nosotros y por otros autores. La Con A reconoce específicamente los derivados de α -D-manopiranosilo, en tanto que los de β -D-glucopiranosilo no son ligandos de esta lectina. La metodología utilizada para la evaluación de la afinidad ha sido la técnica ELLA, ya comentada con anterioridad.

Los datos obtenidos para sistemas de baja valencia fueron acordes con la especificidad conocida de la lectina y con el esperado aumento de la afinidad con la valencia del epítipo de reconocimiento, esto es, con el número de unidades de α -D-manopiranosilo. Una vez más, la agrupación en triadas de estos epítopos provoca un incremento muy significativo de la afinidad que, sin embargo, no se produce al pasar de valencia uno a valencia dos. El análisis comparativo de los datos de IC_{50} (Tabla 3 y Figura 53) permite descartar contribuciones a la energía de unión por parte del núcleo sobre el que se soporta el glicodendrón (β CD o metil α -D-glucopiranosilo), del espaciador (cisteamina) o del elemento de ramificación (pentaeritritol). En ningún caso se detectaron interacciones secundarias, favorables o desfavorables, debidas a la proximidad de los sustituyentes de β -D-glucopiranosilo en estos sistemas de baja valencia.

Tabla 3. Resultados de la inhibición de la unión de Con A y el manano de levadura.

Comp.	Valencia	Unidades de glucosa	IC₅₀(μM)^a	Potencia relativa	Potencia relativa (molar)
73	1	0	800	1	1
36	1	2	605	1.32	1.32
57	1	2	610	1.31	1.31
59	1	2	598	1.33	1.33
42	2	0	319	2.51	1.25
44	2	1	275	2.91	1.45
61	2	1	262	2.85	1.43
63	2	1	280	2.87	1.44
29	3	0	46	17.3	5.77
53	3	0	45	17.7	5.90
55	3	0	46	17.3	5.77

^a Los valores relativos se refieren al metil α -D-manopiranosido (IC₅₀ 865 mM).

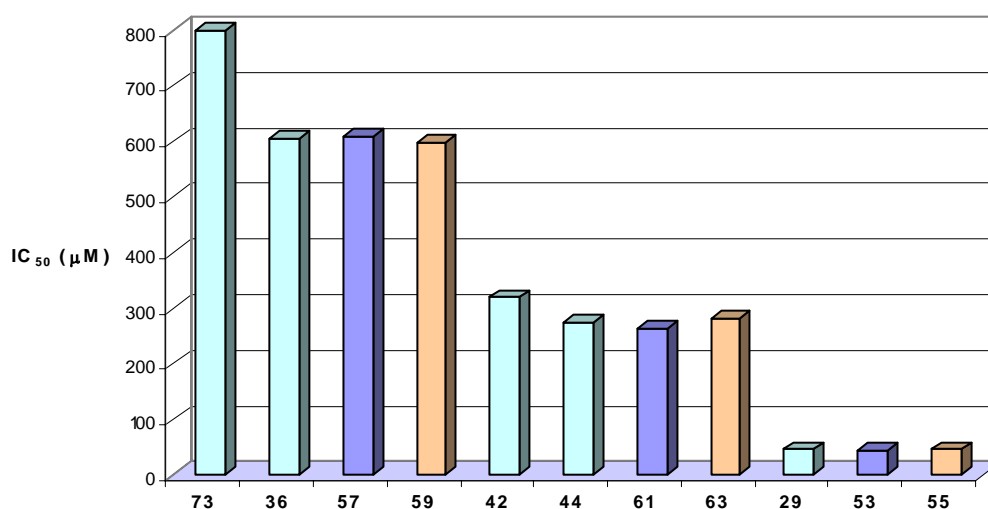


Figura 53. Inhibición de la unión de la lectina Con A marcada con peroxidasa de rábano picante al manano de levadura por los glicodendrones tioglicosilados.

La situación cambió radicalmente al pasar a los sistemas hipervalentes **77**, **95**, **83**, **99** y **91**. En el caso de los homoglicoclústeres manosilados **77**, **83** y **91**, los valores de IC₅₀ (Tabla 4) muestran una tendencia análoga a la ya observada en sistemas de baja valencia, en tanto que el derivado de β-D-glucopiranosilo **87** no fue reconocido por la lectina. El hecho de que la disposición hipervalente no suponga un aumento proporcional de la afinidad en relación con los sistemas de valencia baja no es extraño, considerando que la técnica ELLA proporciona información sobre afinidades intrínsecas, descartando fenómenos de agregación. Lo más notable es que los heteroglicoclústeres **95** y **99** que incorporan sustituyentes de β-D-glucopiranosilo pero ahora en un sistema nanométrico de alta densidad, exhibieron afinidades por la Con A significativamente superiores a las mostradas por los glicoclústeres homogéneos con idéntica valencia relativa al epítipo reconocible de manosa (Figura 54). Los datos son indicativos de un efecto clúster que llega a ser hasta ocho veces mayor, por unidad de manosa, en presencia del sustituyente

de β -glucopiranosilo, que no es reconocido en principio por la Con A. Formalmente, a una determinada concentración de epítomos de α -D-manopiranosilo la especificidad de la lectina cambia, de manera que es capaz de reconocer otros azúcares que en ausencia o a baja densidad del ligando primario no eran reconocidos.

Tabla 4. Resultados de la inhibición de la unión de Con A y el manano de levadura.

Comp.	Valencia	Unidades de glucosa	IC ₅₀ (μ M) ^a	Potencia relativa	Potencia relativa (molar)
77	7	0	67	12.9	1.84
95	7	14	18	48.1	6.86
97	1	2	790	1.1	1.1
83	14	0	76	11.4	0.81
99	14	7	13	67	4.78
101	2	1	389	2.2	1.1
91	21	0	5.5	157.8	7.49
93	3	0	53	16.3	5.4

^a Los valores relativos se refieren al metil α -D-manopiranosido (IC₅₀ 865 mM).

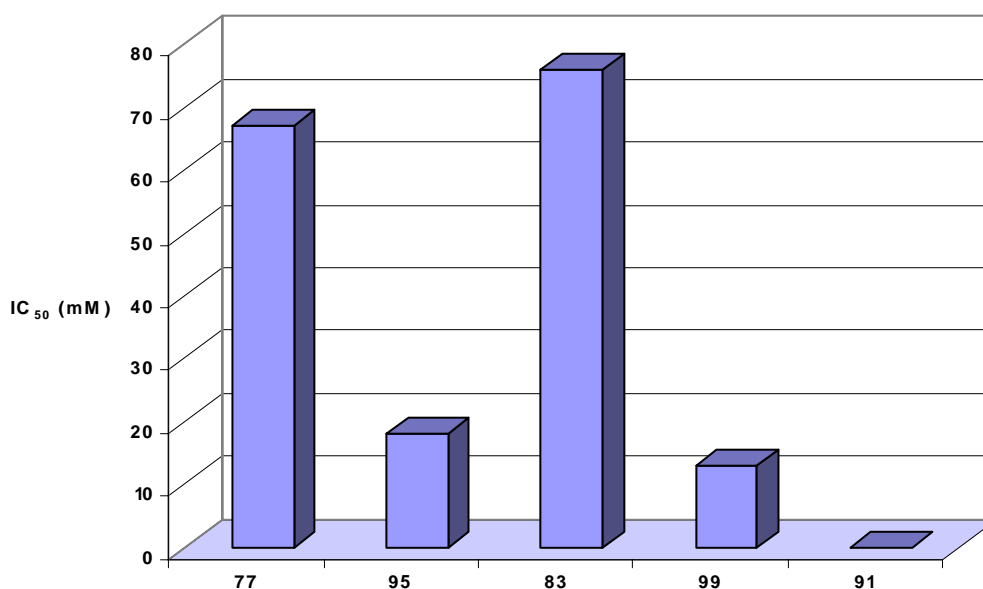


Figura 54. Inhibición de la unión de la lectina Con A al manano de levadura por los conjugados hiperramificados.

Se acepta de manera general que la naturaleza utiliza la densidad superficial de los glicoligandos como un mecanismo de tipo interruptor, que se sitúa en posición “encendido” a alta densidad y “apagado” a baja densidad, para regular procesos biológicos mediante el efecto clúster. Nuestros resultados sugieren que la situación real es probablemente bastante más compleja y apuntan la existencia de un “efecto heteroclúster” que no puede explicarse en base a una diferencia de la concentración efectiva de un único epítipo. La naturaleza de este efecto es aún desconocida. Puede especularse que quizás se produzcan interacciones secundarias débiles, bien con el sitio de reconocimiento para el ligando primario, bien en otra región de la lectina, cuando el segundo azúcar se encuentra próximo en el espacio a la superficie de la proteína. Estas interacciones, no detectables a baja densidad, podrían experimentar una amplificación en sistemas hipervalentes

mediante mecanismos análogos a los que operan en el efecto clúster. En cualquier caso sea cual sea su naturaleza, las interacciones secundarias pueden tener una influencia significativa en la asociación con una proteína, resultando en cambios en la selectividad de la misma a altas densidades superficiales. Este fenómeno puede interpretarse como un posible mecanismo de “ahorro”: alcanzar afinidades biológicamente útiles no implica necesariamente concentraciones extremadamente elevadas del motivo de reconocimiento. En su lugar, una expresión crítica, relativamente baja, del glicoligando primario puede activarse mediante la expresión de un segundo epítipo menos “costoso”. Metodologías sintéticas orientadas a la introducción controlada de diversidad molecular, como la desarrollada en este trabajo, que permitan un control eficaz de la composición y de las características geométricas de glicoclústeres heterogéneos hipervalentes, debe de permitir avanzar en la comprensión de las bases moleculares de las interacciones secundarias implicadas en el efecto heterocluster. Estos trabajos podrían tener también aplicación en el diseño de ligandos sintéticos para lectinas de interés terapéutico.

7.5. PROPIEDADES DE INCLUSIÓN DE CICLODEXTRINAS HIPERRAMIFICADAS.

Todos los derivados hiperramificados de la β CD preparados en esta Tesis mostraron una solubilidad en agua varias veces superior a la de la β CD canónica. Por otra parte, tal como se muestra en las Figuras 45 y 52, la cavidad hidrófoba del núcleo de β CD permanece, en principio, accesible para la inclusión de moléculas de talla apropiada. Por tanto, además de su interés como modelos del glicocáliz en estudios de interacciones carbohidrato-proteína, estos compuestos pueden también actuar como vectores de medicamentos.

En principio, las ciclodextrinas hiperramificadas podrían actuar como transportadores de fármacos mediante dos mecanismos diferentes: bien alojando la molécula huésped en la cavidad hidrófoba, bien situándola en la parte superior de la estructura troncocónica rodeada por los brazos glicodendríticos. Este segundo modo de

complejación conlleva, además, una preorganización de los glicoligandos que, eventualmente, puede favorecer la interacción con una lectina específica (Figura 55). Una demostración de este concepto ha sido publicado por Hattori y colaboradores para un caso concreto de derivados de la β CD (C-6)-heptalactosilada capaz de transportar la doxorubicina, un anticanceroso, a células hepáticas.¹⁴

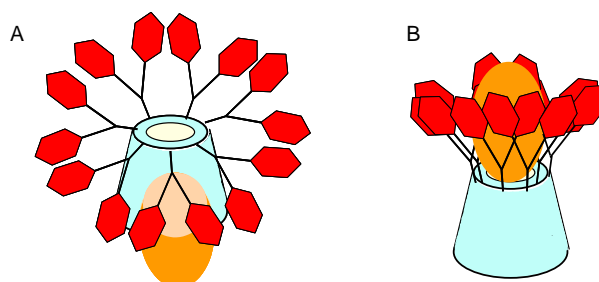


Figura 55. Posibles mecanismos de complejación en ciclodextrinas hiperramificadas: (A) localización de la molécula huésped en la cavidad hidrofóbica, y (B) interacción con la estructura ciclodendrítica situada en la cara primaria.

En nuestro caso, hemos comprobado que las ciclodextrinas hiperramificadas con 21 sustituyentes tioglicosídicos son capaces de solubilizar el docetaxel en agua hasta una concentración de 2.0 g L^{-1} en una concentración 50mM. No hemos podido, sin embargo, determinar cual de los mecanismos comentados es responsable de este resultado. Un estudio más detallado de estos sistemas como transportadores de medicamentos, incluyendo la posibilidad de dotarlas de propiedades de autoorganización que permitan aumentar la capacidad de carga de la molécula activa, es actualmente objeto de investigación en nuestro grupo de investigación.

8. CONCLUSIONES.

8. CONCLUSIONES

1.- La estrategia sintética de tipo modular consistente en el acoplamiento de un elemento de transporte molecular derivado de la ciclodextrina, un espaciador, un elemento de ramificación y un glicoligando biorreconocible, mediante puentes de tiourea, permite acceder, de manera muy eficaz, a nuevas ciclodextrinas de tercera generación apropiadas para el transporte vectorizado de medicamentos. La metodología es compatible con esquemas de síntesis tanto convergentes como divergentes, está orientada a la introducción de diversidad molecular y es aplicable a diferentes arquitecturas moleculares: ciclodextrinas dendríticas, diméricas e hiperramificadas.

2.- Los conjugados de tipo ciclodextrina-glicodendrímico han demostrado poseer mejores propiedades como transportadores de fármacos que las ciclodextrinas monovalentes o las ciclodextrinas polisustituídas. La posibilidad de vectorizar el Taxotero® a la superficie de macrófagos utilizando derivados manosilados multivalentes demuestra este concepto. Por otra parte, el estudio del reconocimiento de complejos de inclusión por lectinas específicas sugiere un nuevo mecanismo aplicable al transporte molecular por sistemas multivalentes: la clusterización del transportador por la molécula huésped, que resulta en especies supramoleculares de mayor valencia formal.

3.- La metodología desarrollada permite adecuar el elemento de transporte “a medida” de la molécula a transportar, conservando las propiedades de reconocimiento por receptores específicos. La preparación de ciclodextrinas diméricas diseñadas para formar complejos 1:1 de tipo “sandwich” con el Taxotero®, con constantes de asociación de más de 10^6 M^{-1} , demuestra este concepto.

4.- La incorporación de glicodendrones sobre las posiciones primarias de la ciclodextrina conduce a estructuras nanométricas que son modelos del glicocáliz celular. La utilización

de la heptakis[6-(2-aminoetil)-6-desoxi]ciclomaltoheptaosa como núcleo central permite extender la estrategia de formación de puentes de tiourea a la preparación de estos derivados hiperramificados.

5.- Utilizando la reacción de adición de 1-tioazúcares a dobles enlaces, y partiendo de un núcleo de pentaeritritol trialilado, es posible diseñar glicodendrones heterogéneos. Su incorporación a la ciclodextrina per(C-6)cisteaminiliada conduce a heteroglicoclústeres en los que es posible controlar la densidad y la proporción relativa de diferentes epítomos glucídicos. El estudio de las propiedades de reconocimiento por lectinas de estos compuestos ha puesto de manifiesto la existencia de interacciones secundarias en el reconocimiento carbohidrato-proteína que operan a alta densidad y que, formalmente, suponen la modificación de la especificidad del receptor (efecto heteroclúster). Estos resultados sugieren la existencia de nuevos mecanismos, independientes de la concentración del ligando primario, en los procesos biológicos regulados por interacciones carbohidrato-proteína.

9. PARTE EXPERIMENTAL.

9. PARTE EXPERIMENTAL.

9.1. MÉTODOS GENERALES.

Los **puntos de fusión** se han medido en un aparato *Gallenkamp MFB-595*.

La **cromatografía analítica** en capa fina (c.c.f.) se ha realizado empleando cromatoplasmas de Aluminio prefabricadas *Alugram[®] Sil G/UV₂₅₄* y *Sílica Gel 60 F₂₅₄ Merck* de 0.25 mm de espesor en ambos casos. La detección de los compuestos en las placas se ha realizado por exposición de las mismas a una fuente de luz UV ($\lambda = 254$ nm) y mediante revelado por inmersión en disoluciones de ácido sulfúrico al 10% en etanol, ninhidrina al 0.1% en etanol o ácido fosfomolibdico al 5% en etanol y calentamiento a 100 °C.

Con **fines preparativos** se ha utilizado la cromatografía en columna empleando como relleno *Sílica Gel Merck 60* (tamaño de partícula 0.20-0.06 mm / 70-230 mesh y 0.06-0.04 mm / 230-400 mesh), eluyendo por gravedad o sometiendo a ligera presión. La cromatografía de permeación sobre gel (GPC) se ha llevado a cabo en columnas *Pharmacia* (2.6 x 70 cm y 2.6 x 40 cm) rellenas con *Sephadex G-10* o *G-25* (*Amersham Pharmacia*), dependiendo del rango de tamaño de las moléculas, empleando eluyentes desgasificados (agua/metanol 1:1 y agua, respectivamente), detección por absorción en el UV ($\lambda = 254$ nm) y como impulsor una bomba peristáltica *Pharmacia Biotech Pump P-1*.

Los **podere rotatorios** se han medido a 20 ± 2 °C en un espectropolarímetro *Perkin-Elmer 241 MC* empleando la línea D del sodio ($\lambda = 589$ nm), concentraciones del 0.5-1% y celdas de 1 cm y 1 dm indistintamente.

Los **análisis elementales** se han realizado en el Centro de Investigaciones Científicas "Isla de la Cartuja" (CSIC-Universidad de Sevilla).

Los **espectros de absorción en el IR** se han realizado en un espectrofotómetro *FT-IR Bomem MB-120*, y se han procesado mediante el programa *Spectra Calc. Collect Arithmetic C2.12, Galactic Industries Corp. (1988)*. Se han registrado a partir de muestras preparadas en pastilla de bromuro potásico o dispuestas en película entre dos celdas de cloruro sódico, presentándose los datos indicando los números de onda correspondientes a los máximos de absorción.

Los **espectros de ^1H RMN** se han registrado en espectrómetros *Bruker AMX 300* (300 MHz), *Bruker AMX 500* y *Bruker DRX 500* (500 MHz). Se han usado disoluciones en CDCl_3 , CD_3OD , D_2O y $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$. La asignación de las señales se ha completado con la realización de experimentos de correlación homonuclear 2D COSY (*Correlated Spectroscopy*), 1D y 2D TOCSY (*Totally Correlated Spectroscopy*) y 1D y 2D ROESY (*Rotating Frame Overhauser Enhancement Spectroscopy*). Los valores de desplazamiento químico (δ) se dan en ppm, usando como referencia interna el disolvente (en el caso de D_2O y CD_3OD) o tetrametilsilano (TMS) para el CDCl_3 ; los valores de las constantes de acoplamiento (J) se miden en Hz. Las abreviaturas para indicar la multiplicidad de las señales son: s (singulete), d (doblete), t (triplete), c (cuartete), q (quintete) y m (multiplete).

Los **espectros de ^{13}C RMN** se han registrado a 75.5 y 125.7 MHz en los espectrómetros indicados para espectros de ^1H RMN. Para la interpretación de algunos espectros se han empleado técnicas de correlación heteronuclear 2D ^1H - ^{13}C (HSQC, *^1H -detection mode Hetero Single-Quantum Correlation*).

Los **espectros de masas** se han realizado en espectrómetros *Kratos MS-80 RFA* y *Micromass AutoSpecQ*. Las muestras se introdujeron mediante una sonda de sólidos calentada entre 30 y 280 °C. Las experiencias realizadas fueron de:

- Ionización por bombardeo con átomos acelerados (FAB), para lo cual se emplearon Argon y/o Xenon. Velocidad de barrido 3s/dec y voltaje acelerador de 4 KV en la fuente. Voltaje acelerador de 7 KV en el cañón de Argon y/o Xenon; 1 mA, 2×10^{-4} mbar. Las matrices usadas fueron tioglicerol y alcohol *m*-nitrobencílico. Como agente cationizante se usó NaI. Los datos se presentan indicando los valores de la relación masa/carga (*m/z*) de los picos más representativos.

-Ionización Química (CI), a 150 eV, usando como gas reactivo isobutano a una presión de 0.8 bar, corriente de ionización a 500 μ A, voltaje acelerador de 4 u 8 kV, resolución 1000 (definición del 10% de valle) y velocidad de barrido de 10 s/dec.

-MALDI-TOF (*Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight*), empleando un voltaje de aceleración de 28 keV. En la preparación de las muestras se emplearon disoluciones en MeOH de concentración mM que se mezclaron en proporción 1:1 (v/v) con disoluciones estándar de ácido 2,5-dihidroxibenzoico en MeOH (15 mg mL⁻¹, matriz). 1 μ L de la disolución resultante se depositó en el portamuestras del espectrómetro y se secó inmediatamente antes de la adquisición del espectro.

-ESI (*Electrospray Ionization*). Se emplearon disoluciones empleando como disolvente H₂O:MeOH:AcOH 25:25:1 de concentración en el rango μ M. La muestra se introdujo mediante inyección directa usando una jeringa *Cole-Parmer* a un flujo de 120 μ L h⁻¹.

Las **reacciones de acetilación** se llevaron a cabo disolviendo el compuesto en una mezcla de Ac_2O /piridina (1:1, 10 ml por 1 g de compuesto). La mezcla de reacción se agitó entre 3 y 16 h a temperatura ambiente y se vertió sobre agua/hielo, se extrajo con CH_2Cl_2 , la fase orgánica se lavó sucesivamente con H_2SO_4 2 N y disolución saturada de NaHCO_3 en agua, se secó (MgSO_4 o Na_2SO_4) y se concentró.

La **reacción de desacetilación** se llevó a cabo siguiendo uno de estos dos procedimientos.

Procedimiento A. A una disolución del compuesto en MeOH anhidro se añadió una disolución metanólica de NaMeO 1 M (0.1 eq por mol de acetato) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante 20-30 min, se neutralizó con resina de intercambio iónico Amberlite IR-120 (H^+), se filtró y se concentró.

En aquellos casos en los que se observó la aparición de un precipitado, se añadió agua hasta disolución, se agitó durante 20-30 min, se neutralizó con resina de intercambio iónico Amberlite IR-120 (H^+), se desmineralizó con resina Amberlite MB 6113 (H^+ , OH^-), se filtró y se concentró.

Procedimiento B. Para aquellos compuestos que incorporan subunidades de manopiranosiltiurea, la reacción de desacetilación se llevó a cabo por tratamiento con disolución metanólica de NaMeO 1 M (0.5 eq por mol de acetato) a 0 °C durante 5 min, para evitar anomerización.⁵³

Cuando se observó la aparición de un precipitado, se redisolvió por adición de agua como se describe en el Procedimiento A.

Para las **reacciones fotoquímicas** de adición de tioles a dobles enlaces se utilizó una lámpara de alta presión de mercurio con una potencia de 8 W cuya línea más intensa se encuentra a 254 nm, de la marca *Applied Photophysics*.

Los **ensayos de afinidad entre la lectina Concanavalina A y ligandos manosilados** se llevaron a cabo siguiendo el protocolo ELLA (*Enzyme Linked Lectin Assay*) como se describe a continuación:

-La **determinación de la actividad de la lectina** se llevó a cabo en placas de microvaloración Nunc-InmunoTM (MaxiSorpTM), que se recubrieron con manano de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*, 100 μl por celda) usando una disolución (10 $\mu\text{g mL}^{-1}$) en tampón fosfato salino 0.01 M (PBS, pH 7.3 conteniendo Ca^{2+} 0.1 mM y Mn^{2+} 0.1 mM) a temperatura ambiente durante una noche. Las celdas se lavaron tres veces con 300 μL de PBS conteniendo Tween 20 (PBST) al 0.05% (v/v). Los lavados se repitieron después de cada período de incubación. Las celdas se bloquearon con BSA/PBS al 1% (150 μL por celda) a 37 °C durante 1 h, se lavaron, se llenaron con 100 μL de una serie de disoluciones de Concanavalina A marcada con peroxidasa de rábano picante (Con A-HRP) de concentraciones comprendidas entre 10^{-1} a 10^{-5} mg mL^{-1} en PBS y se incubaron a 37 °C durante 1 h. Las placas se lavaron y se llenaron con 50 μL por celda de disolución de sal diamónica de ácido 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (0.25 mg mL^{-1}) en tampón citrato (0.2 M, pH 4.0 con H_2O_2 al 0.015%). La reacción se detuvo después de 20 min por adición de 50 μL por celda de H_2SO_4 1 M y se midió la absorbancia a 414 nm. Se emplearon aquellas concentraciones cuyas absorbancias mostraban valores entre 0.8 y 1.0.

Los **ensayos de inhibición** se realizaron incubando las placas con manano de levadura (100 μL por celda de disolución de 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$) a temperatura ambiente durante una noche. Las celdas se lavaron y bloquearon con BSA como se describe anteriormente. Se prepararon disoluciones de los inhibidores de concentraciones comprendidas entre 3 y 7 mg mL^{-1} en PBS. Para cada inhibidor se prepararon una serie de ocho disoluciones por diluciones sucesivas a la mitad de concentración en PBS, se tomaron 60 μL de cada una

de estas disoluciones y se incubaron con 60 µL de la disolución de Con A-HRP de la concentración adecuada a 37 °C durante 1 h. Las disoluciones anteriores (100 µL) se transfirieron a las microplacas cubiertas con el manano y se incubaron a 37 °C durante 1 h en microplacas Nunclon™ (Delta™). Las placas se lavaron y se llenaron con 50 µL por celda de ABTS y se detuvo la reacción a los 20 min y se midió la absorbancia. El porcentaje de inhibición se calculó en función de la ecuación:

$$\% \text{ Inhibición} = (A_{(\text{sin inhibidor})} - A_{(\text{con inhibidor})}) / A_{(\text{sin inhibidor})} \times 100$$

Se consideraron como IC₅₀ los valores de concentración de inhibidor necesarios para obtener un 50% de inhibición de la asociación entre el manano y la lectina.

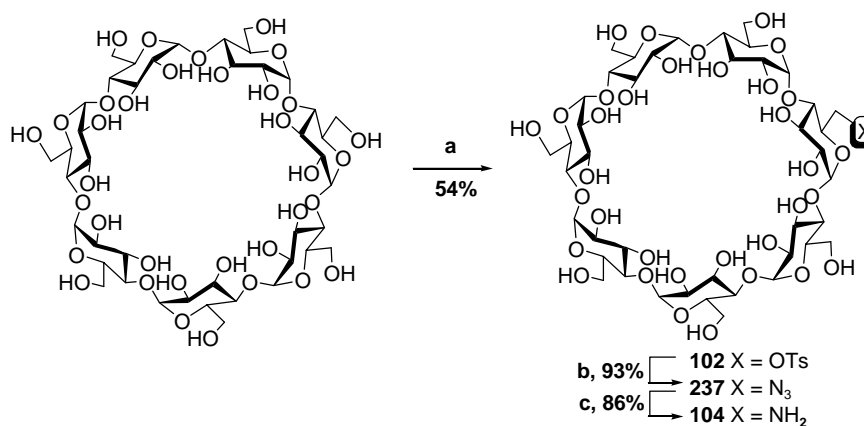
Para la **formación de complejos de inclusión de los conjugados de βCD polimanosilados y Docetaxel** se preparó una disolución madre de Taxotero® (10 mM) disolviendo docetaxel (17 mg) en acetona (2 mL). Se tomaron alícuotas de esta disolución y se añadieron disoluciones 7-25 mM del correspondiente conjugado en agua. Las mezclas se calentaron a 50 °C en un matraz sellado durante toda la noche y se evaporó la acetona bajo una corriente de N₂. La capacidad de solubilización del fármaco se estimó empleando un exceso de docetaxel, filtración del precipitado insoluble tras evaporar la acetona y liofilización de la disolución acuosa resultante.

9.2. SUSTANCIAS DE PARTIDA.

Los siguientes compuestos se han preparado de acuerdo con procedimientos descritos:

- Metil 6-amino-6-desoxi- α -D-glucopiranosido (**153**).⁴⁷
- *N*-(Benciloxycarbonil)tris(hidroximetil)metilamina (**240**).⁹¹
- Etil 2,3,4,6-tetra-*O*-benzoil- α -D-tiomanopiranosido (**241**).¹²³
- 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetil- α -D-manopiranosil isotiocianato (**149**).^{41,42}
- 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetil-1-tio- β -D-glucopiranososa (**139**).¹¹⁸
- 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetil-1-tio- α -D-manopiranososa (**236**).¹¹⁹
- 2,2,2-Tris(2-oxapent-4-enil)etanol (**235**).¹¹⁷
- Heptaquis(6-bromo-6-desoxi)ciclomaltoheptaosa (**120**).^{27b}
- Metil 6-bromo-6-desoxi- α -D-glucopiranosido (**237**).¹²²
- 4-Oxahept-6-en-1-ol (**238**).¹²⁴

9.2.1. Preparación de 6^I-amino-6^I-desoxiciclomaltoheptaosa (**104**):^{10b}



Esquema 32. Reactivos y condiciones. a, TsCl, CuSO₄, NaOH, 4.5 h; b, NaN₃, DMF, 100 °C, 4 h; c, H₂, Pd/C, 8 h.

6^l-Desoxi-6^l-p-toluensulfonilciclomaltoheptaosa (102):

El compuesto se preparó siguiendo el procedimiento descrito recientemente por Defaye y colaboradores.^{10a}

A una disolución de β -ciclodextrina (11.35 g, 10 mmol) en agua (500 mL) se añadió una disolución de CuSO₄ (7.5 g, 30 mmol) en agua (750 mL) y una disolución de NaOH (10 g, 250 mmol) en agua (500 mL). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 10 min y se añadió gota a gota una disolución de cloruro de tosilo (15 g, 79 mmol) en acetonitrilo (100 mL) durante una hora y se continuó la agitación durante 4.5 h. La suspensión azul se neutralizó por adición de HCl 1 N (60 mL) formándose un precipitado azul que se eliminó por filtración. El filtrado se concentró hasta 2/3 de su volumen inicial obteniéndose como un sólido cristalino.

Rend.: 7.1 g (54%); p.f. 190-192 °C. Ref.¹²⁵ p.f. 199 °C; $[\alpha]_D + 50.7$ (c 4.0, Me₂SO).

6^l-Azido-6^l-desoxiciclomaltoheptaosa (239):

A una disolución de **93** (6.33 g, 4.9 mmol) en DMF (20 mL) se añadió NaN₃ (0.35 g, 5.4 mmol) y se agitó a 100 °C durante 4 h, se añadió acetona (300 mL), se filtró el precipitado formado y se lavó con acetona y éter.

Rend.: 5.3 g (93%).

p.f. 205-206 °C; $[\alpha]_D + 106$ (c 1.0, Me₂SO). Ref.¹²⁵ p.f. 206 °C; $[\alpha]_D + 108.2$ (c 0.4, H₂O).

6^l-Amino-6^l-desoxiciclomaltoheptaosa (104):

A una disolución de **197** (5.3 g, 4.56 mmol) en H₂O (400 mL) se añadió Pd/C al 10% (1 g) y se sometió a hidrogenación en un reactor Parr (3.5 atm.) durante 8 h. Se filtró sobre celita, el filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna usando MeCN-H₂O 3:1 como eluyente.

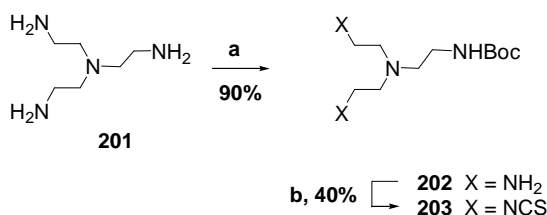
Rend.: 4.5 g (86%). $[\alpha]_D + 86.5$ (c 0.4, H₂O). Ref.^{10b} $[\alpha]_D + 89.0$ (c 0.4, H₂O).

^{13}C RMN (75.5 MHz, D_2O): δ 103.5 ($\text{C-1}^{\text{II-VII}}$), 103.3 (C-1^{I}), 84.3 (C-4^{I}), 82.6-82.4 ($\text{C-4}^{\text{II-VII}}$), 74.8 ($\text{C-3}^{\text{I-VII}}$), 73.7-73.5 ($\text{C-2}^{\text{I-VII}}$, $\text{C-5}^{\text{I-VII}}$), 61.7 ($\text{C-6}^{\text{II-VII}}$), 42.6 (C-6^{I}).

9.2.2. Preparación de Ciclodextrinas dendríticas y modelos.

Los conjugados manosilados de βCD —glicodendrimeros **173-178** (Figura 11) y los correspondientes compuestos modelo derivados de metil $\alpha\text{-D}$ -glucopiranosido **179-184**, se prepararon por reacción de acoplamiento entre la 6¹-amino-6¹-desoxiciclomaltoheptaosa (**104**), o el metil 6-amino-6-desoxi- $\alpha\text{-D}$ -glucopiranosido (**153**) y los correspondientes glicodendrones manosilados per-*O*-acetilados armados con un grupo isotiocianato y posterior desacetilación de los aductos resultantes, siguiendo el procedimiento previamente descrito.^{10b,23b,c}

9.2.3. Preparación de [2-(*tert*-butoxicarbonilamino)etil-bis(2-isotiocianatoetil)]amina (**203**):



Esquema 33. Reactivos y condiciones. a, Boc_2O , dioxano, t.a., 16 h; b, CSCl_2 , CaCO_3 , CH_2Cl_2 - H_2O , 1 h.

[Bis(2-aminoetil)-2-(*tert*-butoxicarbonilamino)etil]amina (**202**):

A una disolución de tris(2-aminoetil)amina (TREN, **201**) (5 g, 35 mmol) en dioxano, (30 mL) se añadió gota a gota una disolución de Boc_2O (1.2 g, 5.5 mmol, 0.16 eq) durante 1 h. La mezcla de reacción se agitó a t. a. durante 16 h y se evaporó a presión

reducida. El residuo se disolvió en agua (10 mL) y se extrajo con CH_2Cl_2 (6 x 15 mL) para dar **202**.

Rend.: 1.19 g (90%); R_f 0.20 (MeCN- H_2O - NH_4OH 10:2:1).

^1H RMN (500 MHz, MeOD): δ 2.69 (t, 4 H, $^3J_{\text{H,H}} = 6.3$ Hz, CH_2NH_2), 2.67 (t, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 6.3$ Hz, CH_2NHBoc), 2.50 (t, 6 H, CH_2N), 1.43 (s, 9 H, CMe_3).

^{13}C RMN (125.7 MHz, MeOD): δ 158.5 (CO), 79.8 (CMe_3), 58.2 ($\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$), 55.3 ($\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{NHBoc}$), 40.2 (CH_2NH_2), 39.7 (CH_2NHBoc), 28.9 (CMe_3).

EM (FAB): m/z 247 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

[2-(terc-butoxicarbonilamino)etil-bis(2-isotiocianatoetil)]amina (203):

A una mezcla heterogénea de **202** (1.19 g, 5 mmol) y CaCO_3 (1.5 g, 15 mmol, 3 eq) en CH_2Cl_2 - H_2O (1:1, 16 mL), se añadió CSCl_2 (0.58 mL, 7.5 mmol, 1.5 eq). La mezcla se agitó a t. a. durante 1 h. y posteriormente se separó la fase orgánica, se secó (MgSO_4) y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (AcOEt-éter de petróleo 1:3) para dar **203**.

Rend.: 0.66 g (40%); R_f 0.52 (AcOEt-éter de petróleo 1:1); IR: ν_{max} 3317, 2936, 2109, 1704, 1172 cm^{-1} .

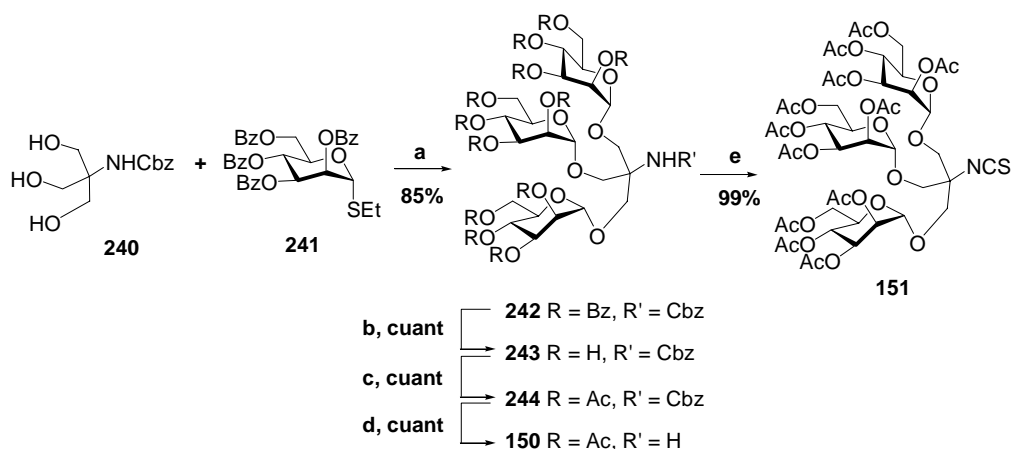
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 5.06 (m, 1 H, NHBoc), 3.52 (t, 4 H, $^3J_{\text{H,H}} = 6.5$ Hz, CH_2NCS), 3.14 (m, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 6.5$ Hz, CH_2NHBoc), 2.83 (t, 4 H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NCS}$), 2.65 (t, 2 H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHBoc}$), 1.40 (s, 9 H, CMe_3).

^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3): δ 156.2 (CO), 132.8 (NCS), 79.4 (CMe_3), 54.3 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NCS}$), 53.8 ($\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{NHBoc}$), 43.9 (CH_2NCS), 38.7 (CH_2NHBoc), 28.4 (CMe_3).

EM (FAB): m/z 353 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 331 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_2$: C 47.25, H 6.71, N 16.95, S 19.40. Encontrado: C 47.12, H 6.69, N 16.90, S, 19.47.

9.2.4. Preparación de tris(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-manopiranosiloximetil)-metil isotiocianato (151):



Esquema 34. Reactivos y condiciones. a, TfOTMS, NIS, Ar, t.a., 20 min; b, NaMeO, MeOH; c, Ac₂O-piridina; d, H₂, Pd/C; e, CSCI₂, CaCO₃, CH₂Cl₂-H₂O, 2 h.

N-(Benciloxycarbonil)tris(2,3,4,6-tetra-*O*-benzoil- α -D-manopiranosiloximetil)-metilamina (**242**):⁹⁶

Una suspensión de *N*-(benciloxycarbonil)tris(hidroximetil)metilamina **240** (300 mg, 1.18 mmol), etil 2,3,4,6-tetra-*O*-benzoil- α -D-tiomanopiranosido **241** (2.71 g, 1.2 equiv., 4.23 mmol) y *N*-yodosuccinimida (0.805 g, 5 equiv., 5.88 mmol) en CH₂Cl₂ seco (15 mL) bajo atmósfera de argon se agitó mediante ultrasonidos a temperatura ambiente durante 20 min. La suspensión se enfrió a 0 °C, se añadió TfOTMS (75 μ L, 0.1 equiv., 0.41 mmol) y se agitó a esa temperatura durante 20 min. Se añadió Et₃N (1 mL), se diluyó con CH₂Cl₂ (20 mL) y se lavó sucesivamente con Na₂S₂O₃ acuoso al 10% (2 x 20 mL) y disolución acuosa saturada de NaHCO₃ (2 x 20 mL). La fase orgánica se secó con MgSO₄, se filtró, se eliminó el disolvente a presión reducida y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna empleando AcOEt/éter de petróleo 1:2 como

eluyente para dar **242**, cuyos datos espectroscópicos y analíticos coinciden con los descritos.

Rend.: 1.983 g (85%).

*N-(Benciloxycarbonil)tris(α -D-manopiranosiloximetil)metilamina (243)*⁹⁶

El compuesto **243** se preparó a partir del compuesto **242** por desbenzoilación convencional por el método de Zemplén, siendo sus datos espectroscópicos y analíticos idénticos a los de la bibliografía.

N-(Benciloxycarbonil)tris(2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-manopiranosiloximetil)-metilamina (244):⁹⁶

El compuesto **244** se preparó a partir del compuesto **243** por acetilación convencional, siendo sus datos espectroscópicos y analíticos idénticos a los de la bibliografía.

Tris(2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-manopiranosiloximetil)metilamina (150):⁹⁶

El compuesto **150** se preparó a partir del compuesto **244** por hidrogenación empleando Pd/C al 10% como catalizador, siendo sus datos espectroscópicos y analíticos idénticos a los de la bibliografía.

Tris(2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-manopiranosiloximetil)metilisotiocianato (151):^{10b}

A una disolución de **150** (165 mg, 0.15 mmol) en CH₂Cl₂ (5 mL) se añadió una suspensión de CaCO₃ (44.5 mg, 3 eq, 0.44 mmol) en agua (5 mL) y tiosfogeno (17 μ L, 1.5 eq, 0.22 mol). La mezcla de reacción se agitó vigorosamente durante 2 h, se filtró, se separaron las fases y se concentró la fase orgánica. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna (AcOEt-éter de petróleo 2:1) para dar el isotiocianato **151**.

Rend.: 169 mg (99%); R_f 0.30 (AcOEt-éter de petróleo 2:1); $[\alpha]_D +48.9$ (c 1.0, CH_2Cl_2).

IR: ν_{max} 2959, 2920, 2046 (NCS), 1760, 1379, 1236, 1061 cm^{-1} .

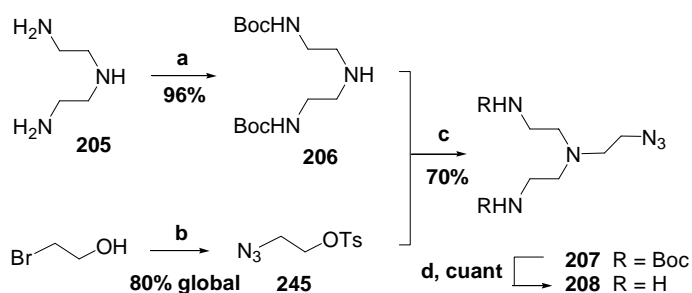
^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 5.28 (m, 6 H, H-3, H-4), 5.21 (dd, 3 H, $J_{2,3} = 3.0$ Hz, $J_{1,2} = 1.5$ Hz, H-2), 4.89 (d, 3 H, H-1), 4.34 (dd, 3 H, $J_{6a,6b} = 12.4$ Hz, $J_{5,6a} = 4.9$ Hz, H-6a), 4.12 (dd, 3 H, $J_{5,6b} = 2.3$ Hz, H-6b), 4.07 (ddd, 3 H, $J_{4,5} = 9.4$ Hz, H-5), 3.87, 3.66 (2 d, 6 H, $^2J_{\text{H,H}} = 10.3$ Hz, 3 OCH_2), 2.14, 2.11, 2.03, 1.98 (4 s, 36 H, 12 Me).

^{13}C RMN (75.5 MHz, CDCl_3): δ 170.5, 169.8, 169.7, 169.5 (CO), 141.6 (NCS), 98.0 (C-1), 69.4, 69.2 (C-2, C-3), 68.8 (C-5), 67.3 (CH_2), 65.7 (C-4), 62.1 (C-6), 60.6 (C_q), 20.7, 20.6, 20.5, 20.4 (MeCO).

EM (FAB): m/z 1176 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{47}\text{H}_{63}\text{NO}_{30}\text{S}$: C 48.91, H 5.50, N 1.21. Encontrado: C 48.93, H 5.64, N

9.2.5. Preparación de [2-azidoetil bis(2-aminoetil)]amina (208):



Esquema 35. Reactivos y condiciones. Boc-ON, THF, 0 °C, 1 h; b, i) NaN_3 , MeCN, reflujo, 24 h ii) TsCl, piridina, t.a., 24 h; c, DMF, 60 °C, 16 h; d) TFA- H_2O 1:1, 50 °C, 1 h, cuant.

*Bis(2-terc-butoxicarbonilaminoetil)amina (206):*¹²⁶

Una disolución de dietiléntriamina (205, 0.42 g, 4.1 mmol) en THF destilado (5 mL) se agitó durante 20 min at 0 °C bajo N_2 , posteriormente se añadió una disolución de

2-(*tert*-butoxicarboniloximino)-2-fenilacetnitrilo (Boc-ON) (2.04 g, 8.2 mmol) en THF (5 mL). Tras completar la adición, la mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 1 h. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna (MeOH-NH₄OH 100:3) para dar **206**.

Rend.: 1.2 g (96 %); R_f 0.15 (AcOEt-EtOH-H₂O 45:5:3)

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃, 313 K): δ 5.04 (sa, 2 H, NHBoc), 4.56 (sa, 1 H, NH), 3.19 (c, 4 H, ³ $J_{H,H}$ = 5.7 Hz, CH₂NHBoc), 2.71 (t, 4 H, CH₂NH), 1.41 (s, 18 H, CMe₃).

¹³C RMN (125.7 MHz, CDCl₃, 313 K): δ 156.2 (CO), 79.2 (CMe₃), 48.7 (CH₂NH), 40.2 (CH₂NHBoc), 28.3 (CMe₃).

EM (CI): m/z 304 [M + H]⁺.

Análisis calculado para C₁₄H₂₉N₃O₄: C 55.42, H 9.63, N 13.85. Encontrado: C 55.72, H 9.52, N 13.89.

2-Azido-*O*-tosiletanol (**245**):

Una mezcla de 2-bromoetanol (3 g, 24 mmol) y NaN₃ (3.12 g, 48 mmol) en acetonitrilo (10 mL) se calentó a reflujo durante 24 h. Luego se filtró y el disolvente se eliminó a presión reducida. Se tosiló directamente empleando TsCl (4.57 g, 24 mmol) en piridina (10 mL). Después de agitar durante 2 h, se añadió CH₂Cl₂ (40 mL) y la fase orgánica se lavó con H₂SO₄ 2 N (3 x 40 mL), se secó (MgSO₄) y concentró para dar **9**.

Rend.: 4.6 g (80 %); R_f 0.70 (AcOEt-éter de petróleo 1:3); IR: ν_{max} 2936, 2117, 1601, 1307, 1118, 783 cm⁻¹.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 7.81, 7.35 (2 d, 4 H, ³ $J_{H,H}$ = 8.3 Hz, Ph), 4.15 (t, 2 H, ³ $J_{H,H}$ = 5.0 Hz, CH₂OTs), 3.48 (t, 2 H, CH₂N₃), 2.45 (s, 3 H, Me).

¹³C RMN (75.5 MHz, CDCl₃): δ 145.1, 132.4, 129.8, 127.8 (Ph), 67.9 (CH₂OTs), 49.4 (CH₂N₃), 21.5 (Me).

EM (CI): m/z 242 [M + H]⁺.

Análisis calculado para $C_9H_{11}N_3O_3S$: C 44.80, H 4.59, N 17.42. Encontrado: C 44.85, H 4.65, N 17.37.

[2-Azidoetil bis(2-terc-butoxicarbonilaminoetil)]amina (207):

A una disolución de **206** (0.2 g, 0.66 mmol) en DMF (2 mL) se añadió **245** (0.24 g, 1.5 eq, 1 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 60 °C una noche y luego se concentró, se extrajo con CH_2Cl_2 (5 mL), la fase orgánica se lavó con agua (5 mL) se purificó por cromatografía en columna empleando AcOEt-éter de petróleo 1:2 para obtener **207**.

Rend.: 172 mg (70%); R_f 0.43 (AcOEt-éter de petróleo 1:1); IR: ν_{max} 3357, 2983, 2936, 2109, 1704, 1180 cm^{-1} .

1H RMN (500 MHz, $CDCl_3$): δ 5.05 (sa, 2 H, NHBoc), 3.29 (t, 2 H, $^3J_{H,H} = 6.0$ Hz, CH_2N_3), 3.15 (c, 4 H, $^3J_{H,H} = 5.6$ Hz, CH_2NHBoc), 2.67 (t, 2 H, $CH_2CH_2N_3$), 2.59 (t, 4 H, CH_2CH_2NHBoc), 1.43 (s, 18 H, CMe_3).

^{13}C RMN (125.7 MHz, $CDCl_3$): δ 156.0 (CO), 79.1 (CMe_3), 53.9 (CH_2CH_2NHBoc), 53.5 ($CH_2CH_2N_3$), 49.6 (CH_2N_3), 38.5 (CH_2NHBoc), 28.3 (CMe_3).

EM (CI): m/z 373 $[M + H]^+$.

Análisis calculado para $C_{16}H_{32}N_6O_4$: C 51.59, H 8.66, N 22.56. Encontrado: C 51.76, H 8.59, N 22.20.

[2-Azidoetil bis(2-aminoetil)]amina (208):

El compuesto **207** (0.16 g, 0.43 mmol) fue tratado con una mezcla de TFA- agua (1:1, 3 mL) a 50 °C durante 1 h. Posteriormente se concentra a sequedad y se coevapora varias veces con agua para dar **208**, con rendimiento cuantitativo sin necesidad de purificación.

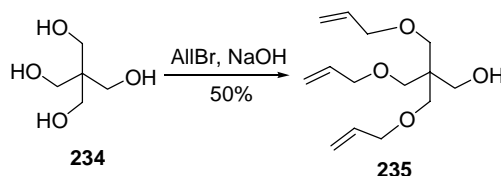
Rend.: 73 mg (100%); IR: ν_{max} 3333, 2928, 2117, 1601, 1108 cm^{-1} .

^1H RMN (500 MHz, D_2O): δ 3.63 (t, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 6.0$ Hz, CH_2N_3), 3.24 (t, 4 H, $^3J_{\text{H,H}} = 6.6$ Hz, CH_2NH_2), 3.08 (t, 4 H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$), 2.99 (t, 2 H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$).

^{13}C RMN (75.5 MHz, D_2O): δ 52.7 (CH_2N_3), 50.3 (CH_2NH_2), 45.7 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$), 34.1 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$).

EM (CI): m/z 173 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

9.2.6. Preparación de 2,2,2-tris(2-oxapent-4-enil)etanol (**235**):¹¹⁷



Una disolución de pentaeritritol (**234**, 1.36 g, 10 mmol) en NaOH acuosa al 40% (8 mL) se agitó vigorosamente a 70-75°C durante 15 min. A continuación se añadió, gota a gota, bromuro de alilo (3.2 mL, 40 mmol, 4 eq) durante 4-5 h a la misma temperatura y se continuó la agitación durante 1 h. La mezcla de reacción se extrajo con CH_2Cl_2 (3 \times 20 mL), se lavó con agua, se secó (Na_2SO_4), y se concentró. El residuo se purificó por columna cromatográfica usando AcOEt-éter de petróleo 1:5 como eluyente.

Rend.: 1.28 g (50%); R_f 0.44 (AcOEt -éter de petróleo 1:4).

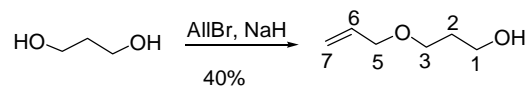
^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): δ 5.84 (3 H, ddt, $^3J_{\text{H,H}} = 17.4$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 10.6$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 5.4$ Hz, $\text{CH}_2\text{CH}=\text{}$), 5.24 (3 H, dc, $^2J_{\text{H,H}} = 1.5$ Hz, $^4J_{\text{H,H}} = 1.5$ Hz, $=\text{CH}_a$), 5.14 (3 H, dc, $=\text{CH}_b$), 3.94 (6 H, dt, $\text{CH}_2\text{CH}=\text{}$), 3.71 (2 H, s, CH_2OH), 3.47 (6 H, s, CH_2OAlI).

^{13}C RMN (125.7 MHz, CDCl_3): δ 134.7 ($=\text{CH}$), 116.7 ($=\text{CH}_2$), 72.7 ($\text{CH}_2\text{CH}=\text{}$), 70.9 (CH_2OAlI), 65.2 (CH_2OH), 44.8 (C_q),

EM (CI) m/z 257 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{24}\text{O}_4$: C, 65.58, H, 9.44. Encontrado: C, 65.23, H, 9.11.

9.2.7. Preparación de 4-oxahept-6-en-1-ol (238):¹²⁴



A una suspensión de NaH al 60% (3.05 g, 76.12 mmol) en THF seco (100 mL) se añade 1,3-propanodiol (5 mL, 5.27 g, 69.2 mmol) y se agitó durante 45 min. A continuación se añadió, gota a gota, bromuro de alilo (7 mL, 83.4 mmol, 1.2 eq) y se continuó la agitación durante 16 h. La reacción se detuvo por adición de MeOH (10 mL). Se diluyó con éter (50 mL), se lavó con disolución acuosa de K_2CO_3 al 10% (3 x 10 mL), disolución acuosa saturada de NaCl (3 x 10 mL), se secó (MgSO_4), se filtró y se concentró. El residuo se purificó por columna cromatográfica usando AcOEt -éter de petróleo 1:1 como eluyente.

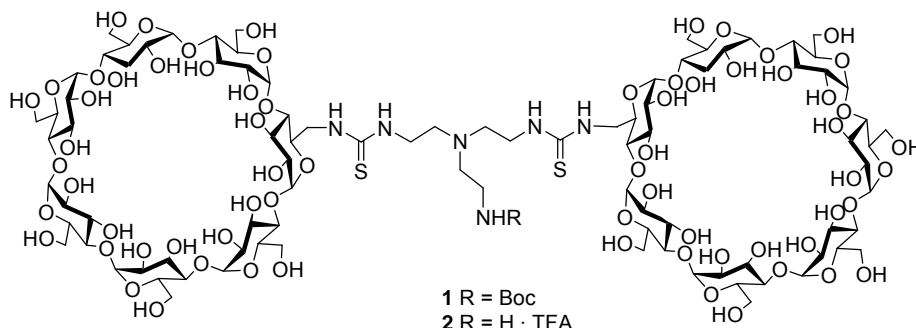
Rend.: 3.21 g (40%).

^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): δ 5.81 (1 H, ddt, $^3J_{\text{H,H}} = 17.3$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 10.4$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 5.6$ Hz, H-6), 5.18 (1 H, dc, $^2J_{\text{H,H}} = 1.3$ Hz, $^4J_{\text{H,H}} = 1.3$ Hz, H-7a), 5.04 (1 H, dc, H-7b), 3.84 (2 H, dt, H-5), 3.64 (2 H, t, $^3J_{\text{H,H}} = 5.9$ Hz, H-3), 3.51 (2 H, t, $^3J_{\text{H,H}} = 6.0$ Hz, H-1), 1.74 (2 H, q, H-2).

^{13}C RMN (125.7 MHz, CDCl_3): δ 134.4 (C-6), 116.8 (C-7), 71.8 (C-3), 68.5 (C-5), 60.7 (C-1), 32.0 (C-2),

9.3. NUEVOS PRODUCTOS.

9.3.1. Preparación del transportador dimérico funcionalizado y modelo.



2-(*tert*-Butoxicarbonilamino)etil bis[2-[*N'*-(6^I-desoxiciclomaltoheptaosa-6^I-il)tioureido]etil] amina (**1**):

Una disolución de 2-(*tert*-butoxicarbonilamino)etil bis(2-isotiocianatoetil) amina **203** (0.146 g, 0.44 mmol) y 6^I-amino-6^I-desoxiciclomaltoheptaosa **104** (1 g, 0.88 mmol) en piridina (8 mL) se agitó a 40 °C durante 24 h, posteriormente se concentró y el residuo resultante se purificó mediante columna cromatográfica empleando MeCN-H₂O 2:1 → MeCN-H₂O-MeOH 2:1:1.

Rend.: 0.688 g (60%); R_f 0.06 (MeCN-H₂O-NH₄OH 6:3:1); $[\alpha]_D^{+97.1}$ (c 0.7, H₂O).

¹H RMN (500 MHz, D₂O, 323 K): δ 5.26 (d, 2 H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1^{II}), 5.24-5.21 (m, 12 H, H-1^{I, III-VII}), 4.51 (m, 2 H, H-6a^I), 4.28 (m, 2 H, H-6a^{II}), 4.18 (m, 2 H, H-6b^{II}), 4.16 (ta, 2 H, $J_{4,5} = J_{5,6a} = 9.5$ Hz, H-5^I), 4.11-4.00 (m, 46 H, H-3^{I-VII}, H-5^{II-VII}, H-6a^{III-VII}, H-6b^{III-VII}), 3.84-3.72 (m, 30 H, CH₂NHCS, H-2^{I-VII}, H-4^{II-VII}), 3.58 (m, 2 H, H-6b^I), 3.55 (t, 2 H, $J_{3,4} = 9.5$ Hz, H-4^I), 3.38, 3.25 (2 m, 2 H, CH₂NHBoc), 2.95 (m, 4 H, CH₂CH₂NHCS), 2.94, 2.89 (2 m, 2 H, CH₂CH₂NHBoc), 1.68 (s, 9 H, CMe₃).

1D TOCSY (500 MHz, D₂O, 323 K, irradiación en H-1^I): δ 5.21 (d, 2 H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1^I), 4.51 (m, 2 H, H-6a^I), 4.16 (ta, 2 H, $J_{4,5} = J_{5,6a} = 9.5$ Hz, H-5^I), 4.05 (t, 2 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.5$ Hz, H-3^I), 3.82 (dd, 2 H, H-2^I), 3.55 (t, 2 H, $J_{3,4} = 9.5$ Hz, H-4^I), 3.58 (m, 2 H, H-6b^I).

1D TOCSY (500 MHz, D₂O, 323 K, irradiación en H-1^{II}): δ 5.26 (d, 2 H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1^{II}), 4.28 (m, 2 H, H-6a^{II}), 4.18 (m, 2 H, H-6b^{II}), 4.08 (t, 2 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 10.0$ Hz, H-3^{II}), 4.05 (m, 2 H, H-5^{II}), 3.83 (m, 2 H, H-4^{II}), 3.81 (dd, 2 H, H-2^{II}).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O, 323 K): δ 184.3 (CS), 159.9 (CO), 105.2-104.6 (C-1^{I-VII}), 86.7 (C-4^I), 84.3-83.6 (C-4^{II-VII}), 82.9 (CMe₃), 76.1-75.9 (C-3^{I-VII}), 75.2-74.7 (C-2^{I-VII}, C-5^{II-VII}), 73.4 (C-5^I), 63.4-62.8 (C-6^{II-VII}), 55.8 (CH₂CH₂NHBoc), 55.4 (CH₂CH₂NHCS), 48.4 (CH₂NHCS), 45.8 (C-6^I), 41.6 (CH₂NHBoc), 31.7 (CMe₃).

EM (MALDI-TOF): m/z 2629 [M + Na]⁺

Análisis calculado para C₉₇H₁₆₄N₆O₇₀S₂: C 44.83, H 6.36, N 3.23. Encontrado: C 44.46, H 6.52, N 3.10.

Trifluoroacetato de 2-aminoetil bis[2-[N'-(6^I-desoxiciclomaltoheptaosa-6^I-il)tioureido]etil] amina (2):

Una disolución de **1** (0.1 g, 0.04 mmol) en TFA-agua (1:1, 5 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. El disolvente se eliminó a presión reducida coevaporando varias veces con agua para dar **2**, que se usó en la etapa siguiente sin necesidad de purificación.

Rend.: 362 mg (100%); R_f 0.54 (MeCN-H₂O-NH₄OH 5:3:5); $[\alpha]_D +126.1$ (c 2.3, H₂O).

¹H RMN (500 MHz, D₂O, 333 K): δ 5.33-5.31 (m, 14 H, H-1^{I-VII}), 4.42 (m, 2 H, H-6a^I), 4.37 (m, 6 H, CH₂N), 4.27 (ta, 2 H, $J_{4,5} = J_{5,6a} = 10.0$ Hz, H-5^I), 4.21-4.07 (m, 50 H, H-3^{I-VII}, H-5^{II-VII}, H-6a^{II-VII}, H-6b^{II-VII}), 3.92-3.89 (m, 18 H, CH₂NHCS, H-2^{I-VII}), 3.83-3.81 (m, 14 H, CH₂NH₂, H-4^{II-VII}), 3.72 (m, 2 H, H-6b^I), 3.70 (t, 2 H, $J_{3,4} = 10.0$ Hz, H-4^I).

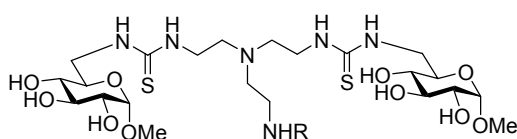
1D TOCSY (500 MHz, D₂O, 323 K, irradiación en H-4^I): δ 5.32 (d, 2 H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1^I), 4.42 (m, 2 H, H-6a^I), 4.27 (ta, 2 H, $J_{4,5} = J_{5,6a} = 10.0$ Hz, H-5^I), 4.19 (t, 2 H, $J_{2,3} = J_{3,4}$

= 10.0 Hz, H-3^I), 3.92 (dd, 2 H, H-2^I), 3.72 (m, 2 H, H-6b^I), 3.70 (t, 2 H, $J_{3,4} = 10.0$ Hz, H-4^I).

1D TOCSY (500 MHz, D₂O, 323 K, irradiación a 4.38 ppm): δ 4.12 (m, 4 H, CH₂NHCS), 3.82 (m, 2 H, CH₂NH₂).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O, 333 K): δ 183.1 (CS), 102.5-101.8 (C-1^{I-VII}), 83.6 (C-4^I), 81.6-81.3 (C-4^{II-VII}), 73.6-73.3 (C-3^{I-VII}), 72.6-71.7 (C-2^{I-VII}, C-5^{II-VII}), 70.4 (C-5^I), 60.9-60.7 (C-6^{II-VII}), 54.8 (CH₂CH₂NH₂), 50.9 (CH₂CH₂NHCS), 45.8 (C-6^I, CH₂NHCS), 39.6 (CH₂NH₂).

EM (MALDI-TOF): m/z 2498 [M + H - TFA]⁺.



3 R = Boc
4 R = H · TFA

2-(*tert*-Butoxicarbonilamino)etil bis[2-[*N'*-(metil 6-desoxi- α -D-glucopiranosid-6-il)tioureido]etil] amina (3):

Una disolución de **203** (0.6 g, 1.81 mmol) y metil 6-amino-6-desoxi- α -D-glucopiranosido **153** (0.7 g, 3.62 mmol) en piridina (10 mL) se agitó a 40 °C durante 16 h, se concentró y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna usando AcOEt-EtOH-H₂O 45:5:3 como eluyente.

Rend.: 1.037 g (80%); R_f 0.37 (MeCN-H₂O-NH₄OH 10:1:1); $[\alpha]_D +54.5$ (c 1.0, H₂O).

¹H RMN (500 MHz, CD₃OD, 323 K): δ 4.67 (d, 2 H, $J_{1,2} = 3.7$ Hz, H-1), 3.87 (da, 2 H, $J_{6a,6b} = 14.2$ Hz, H-6a), 3.74 (dd, 2 H, $J_{5,6b} = 2.6$ Hz, H-6b), 3.63 (ddd, 2 H, $J_{4,5} = 9.0$ Hz, $J_{5,6a} = 2.1$ Hz, H-5), 3.62 (t, 2 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.0$ Hz, H-3), 3.58 (t, 4 H, $^3J_{H,H} = 6.4$ Hz, CH₂NHCS), 3.40 (dd, 2 H, H-2), 3.39 (s, 6 H, OMe), 3.20 (t, 2 H, H-4), 3.14 (t, 2 H, $^3J_{H,H}$

= 6.4 Hz, CH_2NHBoc), 2.72 (t, 4 H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCS}$), 2.64 (t, 2 H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHBoc}$), 1.44 (s, 9 H, CMe_3).

^{13}C RMN (75.5 MHz, CD_3OD): δ 183.0 (CS), 156.2 (CO), 101.2 (C-1), 80.2 (CMe_3), 74.6 (C-3), 73.4 (C-2), 71.8 (C-4), 71.3 (C-5), 55.7 (OMe, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHBoc}$), 54.5 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCS}$), 46.0 (C-6), 43.6 (CH_2NHCS), 39.7 (CH_2NHBoc), 28.8 (CMe_3).

EM (FAB): m/z 739 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{27}\text{H}_{52}\text{N}_6\text{O}_{12}\text{S}_2$: C 45.24, H 7.31, N 11.72. Encontrado: C 44.88, H 7.12, N 11.43.

Trifluoroacetato de 2-aminoetil bis[2-[*N'*-(metil 6-desoxi- α -D-glucopiranosid-6-il)tioureido]etil] amina (4):

El compuesto **3** (0.1 g, 0.16 mmol) fue tratado con una mezcla de TFA-agua (1:1, 5 mL) durante 1 h siguiendo el procedimiento descrito para la preparación de **2**.

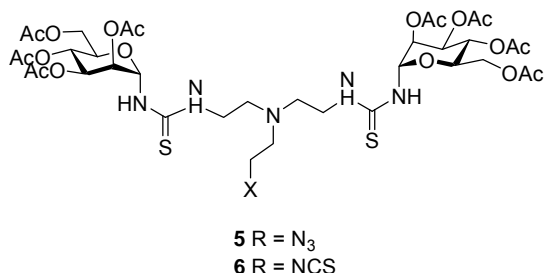
Rend.: 102 mg (100%); R_f 0.50 (MeCN- H_2O - NH_4OH 6:3:1).

^1H RMN (500 MHz, D_2O): δ 4.95 (d, 2 H, $J_{1,2} = 3.7$ Hz, H-1), 4.17 (m, 4 H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCS}$), 3.92 (m, 4 H, H-6a, H-6b), 3.82 (t, 2 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.3$ Hz, H-3), 3.75 (t, 4 H, $^3J_{\text{H,H}} = 6.0$ Hz, CH_2NHCS), 3.72 (m, 2 H, H-5), 3.71 (dd, 2 H, H-2), 3.55 (s, 6 H, OMe), 3.48 (t, 2 H, H-4).

^{13}C RMN (75.5 MHz, D_2O): δ 183.0 (CS), 99.6 (C-1), 73.2 (C-3), 71.6 (C-2), 71.4 (C-4), 70.3 (C-5), 55.4 (OMe, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCS}$), 50.7 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$), 45.3 (C-6), 39.4 (CH_2NHCS), 34.1 (CH_2NH_2).

EM (FAB): m/z 639 [$\text{M} + \text{Na} - \text{TFA}$] $^+$.

9.3.2. Preparación de glicodendrones manosilados con un núcleo de tris(2-aminoetil)amina.



2-Azidoetil bis[2-[N'-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-manopiranosil)tioureido]etil]amina (**5**):

Una disolución de **208** (0.77 mmol) en agua (4 mL) se ajustó a pH 8 por adición de NaHCO₃ sólido. Se añadió una disolución de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-manopiranosil isotiocianato **149** (0.66 g, 1.7 mmol, 1.1 eq) en acetona (7 mL) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Se eliminó la acetona a presión reducida y la suspensión acuosa se extrajo con CH₂Cl₂ (10 mL). La fase orgánica se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna usando AcOEt-éter de petróleo 2:1 como eluyente.

Rend.: 0.68 g (93%); R_f 0.36 (AcOEt-éter de petróleo 3:1); $[\alpha]_D^{+52.0}$ (c 1.0, CH₂Cl₂); IR: ν_{\max} 3325, 2943, 2109, 1760, 1243, 1108 cm⁻¹.

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃, 313 K): δ 7.83, 7.26 (2 sa, 4 H, NH), 5.66 (sa, 2 H, H-1), 5.49 (dd, 2 H, $J_{3,4} = 9.4$ Hz, $J_{2,3} = 2.2$ Hz, H-3), 5.31 (sa, 2 H, H-2), 5.26 (t, 2 H, $J_{4,5} = 9.4$ Hz, H-4), 4.26 (dd, 2 H, $J_{6a,6b} = 12.4$ Hz, $J_{5,6a} = 4.8$ Hz, H-6a), 4.10 (dd, 2 H, $J_{5,6b} = 2.4$ Hz, H-6b), 3.95 (ddd, 2 H, H-5), 3.74, 3.67 (2 sa, 4 H, CH₂NHCS), 3.34 (t, 2 H, $^3J_{H,H} = 5.6$ Hz, CH₂N₃), 2.75 (m, 6 H, CH₂N), 2.12, 2.05, 2.01, 1.97 (4 s, 24 H, 8 MeCO).

^{13}C RMN (125.7 MHz, CDCl_3 , 313 K): δ 183.3 (CS), 170.5, 169.7, 169.6 (CO), 80.1 (C-1), 69.6 (C-5), 69.1 (C-3), 68.9 (C-2), 66.2 (C-4), 62.1 (C-6), 53.8 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCS}$), 52.9 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$), 49.5 (CH_2N_3), 43.4 (CH_2NHCS), 20.6, 20.4 (*MeCO*).

EM (FAB): m/z 973 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{36}\text{H}_{54}\text{N}_8\text{O}_{18}\text{S}_2$: C 45.47, H 5.72, N 11.78. Encontrado: C 45.35, H 5.71, N 11.72.

2-Isotiocianatoetil bis[2-[*N'*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-manopiranosil)-tioureido]etil] amina (6):

A una disolución de la azida **5** (0.68 g, 0.71 mmol) y TPP (0.22 g, 0.85 mmol, 1.2 eq) en dioxano (10 mL) se añadió, bajo atmosfera de Ar, CS_2 (0.5 mL, 7.1 mmol, 10 eq). La mezcla de reacción se agitó durante 24 h y se eliminó el disolvente a presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna usando AcOEt-éter de petróleo 3:1.

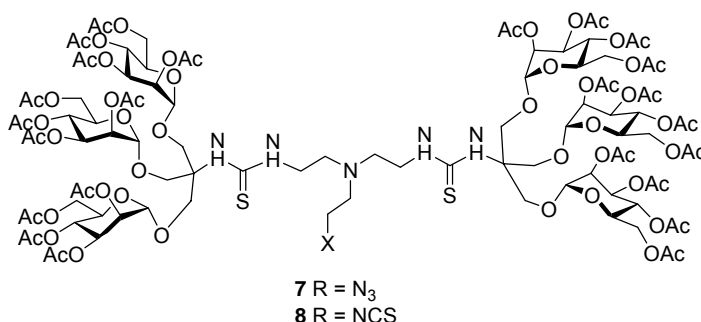
Rend.: 490 mg (71%); R_f 0.16 (AcOEt-éter de petróleo 3:1); $[\alpha]_D^{25} +29.0$ (c 1.0, CH_2Cl_2); IR: ν_{max} 3412, 2943, 2125, 1752, 1386, 1236, 1116 cm^{-1} .

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3 , 313 K): δ 7.81, 7.26 (2 sa, 4 H, NH), 5.68 (sa, 2 H, H-1), 5.51 (dd, 2 H, $J_{3,4} = 9.5$ Hz, $J_{2,3} = 3.3$ Hz, H-3), 5.36 (dd, 2 H, $J_{1,2} = 2.1$ Hz H-2), 5.27 (t, 2 H, $J_{4,5} = 9.5$ Hz, H-4), 4.27 (dd, 2 H, $J_{6a,6b} = 12.3$ Hz, $J_{5,6a} = 4.7$ Hz, H-6a), 4.11 (dd, 2 H, $J_{5,6b} = 2.7$ Hz, H-6b), 4.03 (ddd, 2 H, H-5), 3.76 (m, 4 H, CH_2NHCS), 3.61 (t, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 5.4$ Hz, CH_2NCS), 2.73 (m, 6 H, CH_2N), 2.13, 2.07, 2.02, 1.99 (4 s, 24 H, 8 *MeCO*).

^{13}C RMN (125.7 MHz, CDCl_3 , 313 K): δ 183.4 (CS), 170.4, 170.1, 169.5, 169.4 (CO), 132.0 (NCS), 80.3 (C-1), 69.4 (C-5), 69.0 (C-3), 68.8 (C-2), 66.2 (C-4), 62.1 (C-6), 53.3 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCS}$), 52.6 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NCS}$), 42.9 (CH_2NHCS , CH_2NCS), 20.6, 20.3 (*MeCO*).

EM (FAB): m/z 989 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $C_{37}H_{54}N_6O_{18}S_3$: C 45.95, H 5.63, N 8.69. Encontrado: C 45.99, H 5.59, N 8.68.



2-Azidoetil bis[2-[N^o-[tris(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-manopiranosiloximetil)-metil]tioureido]etil] amina (7):

Una disolución de **208** (0.26 mmol) en agua (1 mL) se ajustó a pH 8 por adición de NaHCO₃ sólido. Se añadió una disolución de tris(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-manopiranosiloximetil)metilisotiocianato **151** (0.6 g, 0.52 mmol) en acetona (5 mL) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 24 h. Se eliminó la acetona a presión reducida y la suspensión acuosa se extrajo con CH₂Cl₂ (10 mL). La fase orgánica se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna usando CH₂Cl₂-MeOH 30:1 como eluyente.

Rend.: 0.51 g (79%); R_f 0.21 (CH₂Cl₂-MeOH 20:1); $[\alpha]_D +47.2$ (c 1.0, CH₂Cl₂); IR: ν_{\max} 3357, 2967, 2109, 1752, 1371, 1236, 1069 cm⁻¹.

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃, 313 K): δ 6.87, 6.13 (2 sa, 4 H, NH), 5.27 (t, 6 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.6$ Hz, H-4), 5.18 (dd, 6 H, $J_{2,3} = 3.3$ Hz, H-3), 5.18 (sa, 6 H, H-2), 4.88 (sa, 6 H, H-1), 4.31 (dd, 6 H, $J_{6a,6b} = 12.4$ Hz, $J_{5,6a} = 4.7$ Hz, H-6a), 4.28 (d, 6 H, $^2J_{H,H} = 10.0$ Hz, OCH₂a), 4.10 (dd, 6 H, $J_{5,6b} = 2.3$ Hz, H-6b), 4.03 (d, 6 H, OCH₂b), 4.00 (ddd, 6 H, H-5), 3.52 (m, 4 H, CH₂NHCS), 3.36 (m, 2 H, CH₂N₃), 2.77 (m, 6 H, CH₂N), 2.11, 2.08, 2.00, 1.94 (4 s, 72 H, 24 MeCO).

^{13}C RMN (125.7 MHz, CDCl_3 , 313 K): δ 182.1 (CS), 170.6, 169.8, 169.6, 169.4 (CO), 98.3 (C-1), 69.1, 68.9 (C-2, C-3, C-5), 66.5 (OCH_2), 65.8 (C-4), 62.1 (C-6), 60.8 (C_q), 52.2 (CH_2N), 49.2 (CH_2N_3), 41.6 (CH_2NHCS), 20.6, 20.5, 20.4 (*MeCO*).

EM (FAB): m/z 2503 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{100}\text{H}_{142}\text{N}_8\text{O}_{60}\text{S}_2$: C 48.42, H 5.77, N 4.52. Encontrado: C 48.34, H 5.80, N 4.52.

2-Isotiocianatoetil bis[2-[*N'*-[tris(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-manopiranosil-oximetil)metil]tioureido]etil] amina (8):

El compuesto **8** se preparó a partir de la azida **7** (0.51 g, 0.20 mmol) siguiendo el procedimiento descrito para la preparación de **6** y purificación por cromatografía en columna usando CH_2Cl_2 -MeOH 50:1.

Rend.: 0.36 g (71%); R_f 0.38 (CH_2Cl_2 -MeOH 30:1); $[\alpha]_D^{25} +45.9$ (c 1.0, CH_2Cl_2); IR: ν_{max} 3428, 2109, 1752, 1649, 1379, 1236 cm^{-1} .

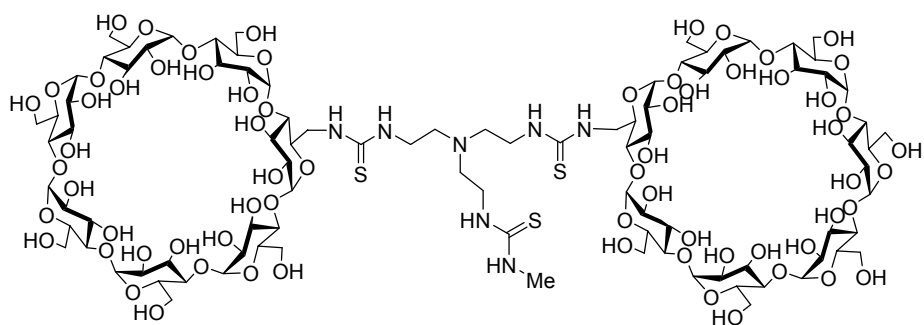
^1H RMN (500 MHz, CDCl_3 , 313 K): δ 6.88, 6.18 (2 sa, 4 H, NH), 5.27 (t, 6 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.8$ Hz, H-4), 5.21 (dd, 6 H, $J_{2,3} = 3.2$ Hz, H-3), 5.19 (sa, 6 H, H-2), 4.89 (sa, 6 H, H-1), 4.31 (dd, 6 H, $J_{6a,6b} = 12.4$ Hz, $J_{5,6a} = 5.1$ Hz, H-6a), 4.30 (d, 6 H, $^2J_{\text{H,H}} = 10.0$ Hz, OCH_2a), 4.11 (dd, 6 H, $J_{5,6b} = 2.0$ Hz, H-6b), 4.09 (d, 6 H, OCH_2b), 4.01 (ddd, 6 H, H-5), 3.61 (m, 6 H, CH_2NHCS , CH_2NCS), 2.77 (m, 6 H, CH_2N), 2.11, 2.08, 2.01, 1.96 (4 s, 72 H, 24 *MeCO*).

^{13}C RMN (125.7 MHz, CDCl_3 , 313 K): δ 182.1 (CS), 170.6, 169.8, 169.6, 169.4 (CO), 133.0 (NCS), 98.3 (C-1), 69.2, 69.1, 68.9 (C-2, C-3, C-5), 66.4 (OCH_2), 65.5 (C-4), 61.9 (C-6), 60.9 (C_q), 51.6 (CH_2N), 45.8 (CH_2NCS), 41.3 (CH_2NHCS), 20.7, 20.6, 20.5 (*MeCO*).

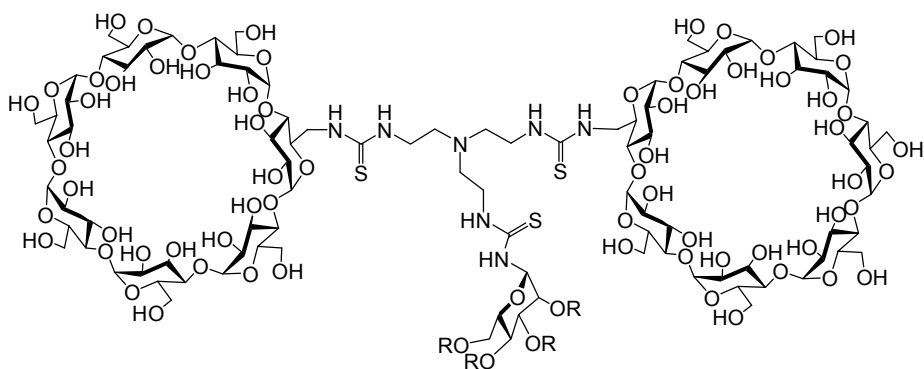
EM (FAB): m/z 2519 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{101}\text{H}_{142}\text{N}_6\text{O}_{60}\text{S}_3$: C 48.59, H 5.73, N 3.37. Encontrado: C 48.35, H 5.64, N 3.25.

9.3.3. Preparación de conjugados diméricos manosilados.



9



10 R = Ac
11 R = H

Bis[2-[N'-(6¹-desoxiciclomaltoheptaos-6¹-il)tioureido]etil] metiltioureido]etil amina (9):

2-[N'-

Una disolución de **2** (78 mg, 30 μmol) en agua (2 mL) se ajustó a pH 8 por adición de NaHCO_3 sólido. Se añadió una disolución de metil isotiocianato (2.4 mg, 33 μmol , 1.1 eq) en acetona (1 mL) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. Se eliminó la acetona a presión reducida y la suspensión acuosa se extrajo con CH_2Cl_2 (10 mL). La fase orgánica se secó (MgSO_4), se filtró y se concentró. El

residuo resultante se purificó por cromatografía en columna usando MeCN-H₂O 2:1→ MeCN-H₂O-MeOH 2:1:1 como eluyente.

Rend.: 54.5 mg (70%); *R_f* 0.17 (MeCN-H₂O-NH₄OH 6:3:3); [α]_D +100.4 (*c* 1.0, H₂O).

¹H RMN (500 MHz, D₂O, 333 K): δ 5.34 (d, 2 H, *J*_{1,2} = 3.5 Hz, H-1^{II}), 5.33-5.30 (m, 12 H, H-1^{I,III-VII}), 4.59 (m, 2 H, H-6a^I), 4.39 (m, 2 H, H-5^{II}), 4.25 (m, 2 H, H-5^I), 4.23 (m, 2 H, H-6a^{II}), 4.21-4.10 (m, 44 H, H-3^{I-VII}, H-5^{III-VII}, H-6a^{III-VII}, H-6b^{III-VII}), 3.93-3.79 (m, 32 H, CH₂NHCS, H-2^{I-VII}, H-4^{II-VII}), 3.65 (t, 2 H, *J*_{3,4} = 9.5 Hz, H-4^I), 3.56 (m, 2 H, H-6b^I), 3.20 (s, 3 H, NHMe), 3.03 (m, 6 H, CH₂N).

1D TOCSY (500 MHz, D₂O, 323 K, irradiación en H-4^I): δ 5.30 (d, 2 H, *J*_{1,2} = 3.5 Hz, H-1^I), 4.59 (m, 2 H, H-6a^I), 4.25 (ta, 2 H, *J*_{4,5} = *J*_{5,6} = 10.0 Hz, H-5^I), 4.17 (t, 2 H, *J*_{2,3} = *J*_{3,4} = 9.5 Hz, H-3^I), 3.91 (dd, 2 H, H-2^I), 3.56 (m, 2 H, H-6b^I).

1D TOCSY (500 MHz, D₂O, 323 K, irradiación en H-1^{II}): δ 5.34 (d, 2 H, *J*_{1,2} = 3.5 Hz, H-1^{II}), 4.23 (sa, 2 H, *J*_{6a,6b} = 11.5 Hz, H-6a^{II}), 4.20 (t, 2 H, *J*_{2,3} = *J*_{3,4} = 9.0 Hz, H-3^{II}), 4.17 (dd, 2 H, *J*_{5,6b} = 5.0 Hz, H-6b^{II}), 3.92 (t, 2 H, *J*_{4,5} = 9.5 Hz, H-4^{II}), 3.91 (dd, 2 H, H-2^{II}).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O, 333 K): δ 181.8 (CS), 102.6 (C-1^{II}), 102.3-101.8 (C-1^{I,III-VII}), 83.8 (C-4^I), 81.5-80.9 (C-4^{II-VII}), 73.6-73.4 (C-3^{I-VII}), 72.7-72.1 (C-2^{I-VII}, C-5^{II-VII}), 70.5 (C-5^I), 60.9-60.8 (C-6^{II-VII}), 53.0 (CH₂N), 45.9 (C-6^I), 42.6 (CH₂NHCS), 30.9 (NHMe).

Análisis calculado para C₉₄H₁₅₉N₇O₆₈S₃: C 43.91, H 6.23, N 3.81. Encontrado: C 43.65, H 6.22, N 3.66.

Bis[2-[N'-(6^I-desoxiciclomaltoheptaos-6^I-il)tioureido]etil] 2-[N'-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-manopiranosil)tioureido]etil amina (10):

Una disolución de **2** (130 mg, 0.05 mmol) en agua (2 mL) se ajustó a pH 8 por adición de NaHCO₃ sólido. Se añadió una disolución de **149** (19 mg, 0.05 mmol) en acetona (2 mL) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. Se eliminó la acetona a presión reducida y la suspensión acuosa se liofilizó. El residuo

resultante se extrajo con agua (8 mL) y se desmineralizó tratando con resina de intercambio mixta Duolite MB-6113 (H^+ , OH^-), se filtró y se liofilizó.

Rend.: 137 mg (95%); R_f 0.26 (MeCN- H_2O - NH_4OH 6:3:1); $[\alpha]_D +99.6$ (c 2.4, H_2O).

1H RMN (500 MHz, D_2O , 343 K): δ 6.28 (sa, 1 H, H-1'), 5.81 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 8.5$ Hz, $J_{2,3} = 3.5$ Hz, H-3'), 5.74 (t, 1 H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-2'), 5.60 (t, 1 H, $J_{4,5} = 8.5$ Hz, H-4'), 5.44-5.43 (m, 14 H, H-1^{I-VII}), 4.76 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 13.0$ Hz, $J_{5,6a} = 4.5$ Hz, H-6a'), 4.66 (m, 2 H, H-6a^I), 4.55 (m, 2 H, H-6a^{II}), 4.54 (sa, 1 H, H-6b'), 4.43 (m, 1 H, H-5'), 4.42 (m, 4 H, H-5^I, H-6b^{II}), 4.38-4.13 (m, 46 H, H-3^{I-VII}, H-5^{II-VII}, H-6a^{III-VII}, H-6b^{III-VII}), 4.03-4.01 (m, 20 H, CH_2NHCS , H-2^{I-VII}), 4.00-3.93 (m, 12 H, H-4^{II-VII}), 3.84 (m, 2 H, H-6b^I), 3.77 (t, 2 H, $J_{3,4} = 9.5$ Hz, H-4^I), 3.31 (m, 6 H, CH_2N), 2.62, 2.53, 2.52, 2.47 (4 s, 12 H, MeCO).

^{13}C RMN (125.7 MHz, D_2O , 343 K): δ 183.0 (CS), 173.8, 172.9 (CO), 102.5-101.9 (C-1^{I-VII}), 83.7 (C-4^I), 81.6-81.2 (C-4^{II-VII}, C-1'), 73.6-73.4 (C-3^{I-VII}), 72.6-71.7 (C-2^{I-VII}, C-5^{II-VII}), 70.3 (C-5^I, C-5'), 69.8, 69.6 (C-2', C-3'), 67.1 (C-4'), 60.9-60.6 (C-6^{II-VII}), 60.3 (C-6'), 53.2 (CH_2N), 46.0 (C-6^I), 42.0 (CH_2NHCS), 20.4, 20.2, 20.1 (MeCO).

Análisis calculado para $C_{107}H_{175}N_7O_{77}S_3$: C 44.50, H 6.11, N 3.39. Encontrado: C 44.23, H 6.09, N 3.30.

Bis[2-[N'-(6^I-desoxiciclomaltoheptaos-6^I-il)tioureido]etil] 2-[N'-(α -D-manopiranosil)tioureido]etil amina (11):

El compuesto **11** se obtuvo mediante desacetilación, seguida de saponificación, a partir de **10** (50 mg, 17 μ mol) siguiendo el procedimiento B descrito en los Métodos Generales.

Rend.: 46 mg (100%); R_f 0.65 (MeCN- H_2O - NH_4OH 5:3:5); $[\alpha]_D +113.0$ (c 1.0, H_2O).

1H RMN (500 MHz, D_2O , 333 K): δ 5.80 (sa, 1 H, H-1'), 5.33 (m, 14 H, H-1^{I-VII}), 4.55 (m, 2 H, H-6a^I), 4.31 (m, 2 H, H-5^I), 4.29 (m, 1 H, H-2'), 4.22-4.04 (m, 53 H, H-3', H-6a', H-6b', H-3^{I-VII}, H-5^{II-VII}, H-6a^{II-VII}, H-6b^{II-VII}), 3.96-3.83 (m, 33 H, CH_2N , H-2^{I-VII}, H-

4', H-4^{II-VII}), 3.75 (m, 2 H, H-6b^I), 3.70 (m, 1 H, H-5'), 3.67 (t, 2 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.5$ Hz, H-4^I), 3.08 (m, 6 H, CH₂NHCS).

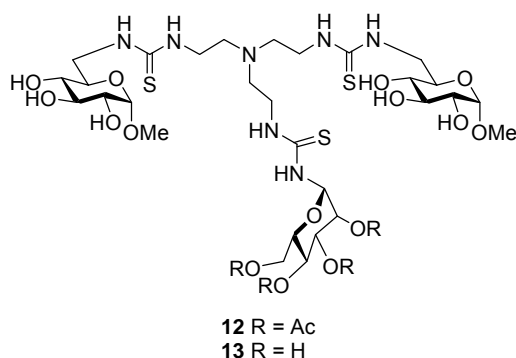
1D TOCSY (500 MHz, D₂O, 333 K, irradiación en H-4^I): δ 4.55 (m, 2 H, H-6a^I), 4.32 (m, 2 H, H-1^I), 4.31 (m, 2 H, H-5^I), 4.18 (t, 2 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.0$ Hz, H-3^I), 3.92 (m, 2 H, H-2^I), 3.75 (m, 2 H, H-6b^I), 3.67 (t, 2 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.5$ Hz, H-4^I).

1D TOCSY (500 MHz, D₂O, 323 K, irradiación a 3.08 ppm): δ 3.96 (m, 6 H, CH₂N), 3.08 (m, 6 H, CH₂NHCS).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O, 333 K): δ 183.8, 183.2 (CS), 102.6-101.9 (C-1^{I-VII}), 83.8 (C-4^I), 82.3-81.3 (C-4^{II-VII}), 77.9 (C-1'), 74.0-73.3 (C-3^{I-VII}), 73.0-72.3 (C-2^{I-VII}, C-5^{II-VII}), 70.9 (C-5^I, C-5'), 70.7, 70.4 (C-3', C-2'), 67.1 (C-4'), 61.6 (C-6'), 61.4-60.6 (C-6^{II-VII}), 55.0, 54.7 (CH₂N), 46.2 (C-6^I), 40.0 (CH₂NHCS).

EM (MALDI-TOF): m/z 2742 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para C₉₉H₁₆₇N₇O₇₃S₃: C 43.72, H 6.19, N 3.60. Encontrado: C 43.33, H 5.90, N 3.42.



Bis[2-[N'-(metil 6-desoxi-α-D-glucopiranosid-6-il)tioureido]etil] 2-[N'-(2,3,4,6-tetra-O-acetil-α-D-manopiranosil)tioureido]etil amina (12):

Una disolución de **4** (0.14 mmol) en agua (1 mL) se ajustó a pH 8 por adición de NaHCO₃ sólido. Se añadió una disolución de **149** (55 mg, 0.14 mmol) en acetona (2 mL)

y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. Se eliminó la acetona a presión reducida y la suspensión acuosa se liofilizó. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna usando CH_2Cl_2 -MeOH 6:1 como eluyente.

Rend.: 94 mg (67%); R_f 0.38 (MeCN- H_2O - NH_4OH , 10:1:1); $[\alpha]_D$ 0.0 (c 1.0, CH_2Cl_2).

^1H RMN (500 MHz, CD_3OD , 313 K): δ 5.98 (sa, 1 H, H-1'), 5.43 (dd, 1 H, $J_{2',3'} = 3.1$ Hz, $J_{3',4'} = 9.2$ Hz, H-3'), 5.32 (t, 1 H, $J_{1',2'} = 3.1$ Hz, H-2'), 5.23 (t, 1 H, $J_{4',5'} = 9.2$ Hz, H-4'), 4.69 (d, 2 H, $J_{1,2} = 3.7$ Hz, H-1), 4.32 (dd, 1 H, $J_{6a',6b'} = 12.2$ Hz, $J_{5',6a'} = 4.8$ Hz, H-6a'), 4.12 (dd, 1 H, $J_{5',6b'} = 2.8$ Hz, H-6b'), 4.01 (ddd, 1 H, H-5'), 3.85 (m, 2 H, H-6a), 3.76 (m, 2 H, H-6b), 3.67 (t, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 6.3$ Hz, $\text{CH}_2\text{NHCSNH}_{\text{Man}}$), 3.63 (t, 2 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.6$ Hz, H-3), 3.62 (t, 4 H, $^3J_{\text{H,H}} = 6.3$ Hz, $\text{CH}_2\text{NHCSNH}_{\text{Glc}}$), 3.61 (m, 2 H, H-5), 3.43 (dd, 2 H, H-2), 3.39 (s, 6 H, OMe), 3.22 (t, 2 H, $J_{4,5} = 9.6$ Hz, H-4), 2.80, 2.78 (2 t, 6 H, CH_2N), 2.14, 2.05, 2.04, 2.00 (4 s, 12 H, MeCO).

^{13}C RMN (125.7 MHz, CD_3OD , 313 K): δ 184.8, 184.0 (CS), 172.5, 171.6, 171.5 (CO), 101.3 (C-1), 81.2 (C-1'), 74.6 (C-3), 73.5 (C-2), 72.6 (C-4), 71.9 (C-5), 71.3 (C-5'), 70.7 (C-3'), 70.6 (C-2'), 67.9 (C-4'), 63.5 (C-6'), 55.9 (OMe), 54.4 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCSNH}_{\text{Glc}}$), 54.0 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCSNH}_{\text{Man}}$), 46.2 (C-6), 43.8 (CH_2NHCS), 20.8, 20.7, 20.6 (MeCO).

EM (FAB): m/z 1028 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{37}\text{H}_{63}\text{N}_7\text{O}_{19}\text{S}_3$: C 44.17, H 6.31, N 9.74. Encontrado: C 44.19, H 6.26, N 9.54.

Bis[2-[N'-(metil 6-desoxi- α -D-glucopiranosid-6-il)tioureido]etil] 2-[N'-(α -D-manopiranosil)tioureido]etil amina (13):

El compuesto **13** se obtuvo mediante desacetilación a partir de **12** (63 mg, 62 μmol) siguiendo el procedimiento B descrito en los Métodos Generales.

Rend.: 52 mg (100%); R_f 0.60 (MeCN- H_2O - NH_4OH 6:3:1); $[\alpha]_D$ +79.0 (c 1.0, H_2O).

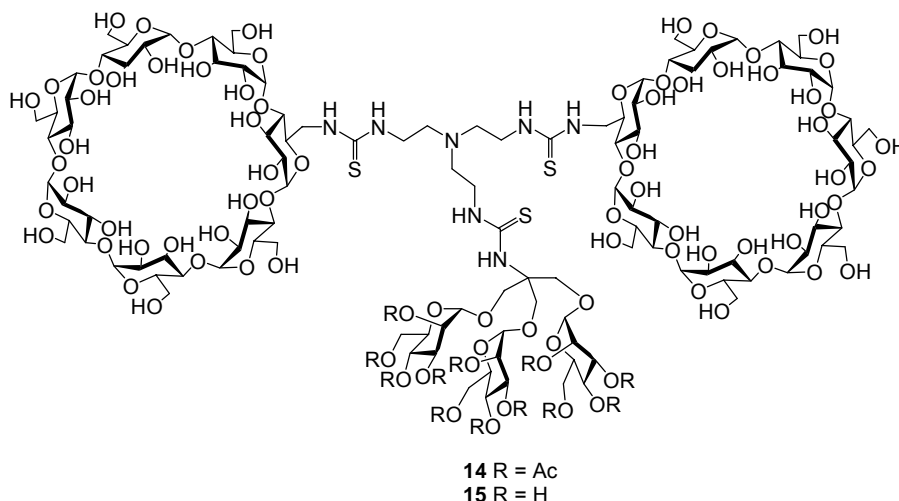
^1H RMN (500 MHz, D_2O , 343 K): δ 5.94 (sa, 1 H, H-1'), 5.15 (d, 2 H, $J_{1,2} = 3.7$ Hz, H-1), 4.42 (t, 1 H, $J_{1',2'} = J_{2',3'} = 2.3$ Hz, H-2'), 4.39 (m, 6 H, CH_2N), 4.32 (m, 2 H, H-6a), 4.23

(m, 2 H, H-6b), 4.22 (dd, 1 H, $J_{6a',6b'} = 12.4$ Hz, $J_{5',6a'} = 3.0$ Hz, H-6a'), 4.21 (dd, 1 H, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, H-3'), 4.15 (dd, 1 H, $J_{5',6b'} = 6.0$ Hz, H-6b'), 4.11 (ddd, 2 H, $J_{4,5} = 10.0$ Hz, $J_{5,6b} = 7.5$ Hz, $J_{5,6a} = 3.5$ Hz, H-5), 4.08 (t, 1 H, $J_{4',5'} = 9.0$ Hz, H-4'), 4.03 (t, 2 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.5$ Hz, H-3), 3.98 (t, 6 H, $^3J_{H,H} = 6.0$ Hz, CH_2NHCS), 3.94 (ddd, 1 H, H-5'), 3.92 (dd, 2 H, H-2), 3.76 (s, 6 H, OMe), 3.69 (t, 2 H, H-4).

^{13}C RMN (125.7 MHz, D_2O): δ 182.8 (CS), 101.7 (C-1), 84.9 (C-1'), 76.2 (C-5'), 75.3 (C-3), 73.7 (C-2), 73.5 (C-4), 72.9 (C-3'), 72.5 (C-5), 71.9 (C-2'), 69.2 (C-4'), 63.3 (C-6'), 57.7 (CH_2N), 57.3 (OMe), 48.0 (C-6), 41.9, 41.6 (CH_2NHCS).

EM (FAB): m/z 860 $[M + Na]^+$.

Análisis calculado para $C_{29}H_{55}N_7O_{15}S_3$: C 41.56, H 6.61, N 11.70. Encontrado: C 41.19, H 6.54, N 11.48.



Bis[2-[N'-(6^I-desoxiciclomaltoheptaos-6^I-il)tioureido]etil] 2-[N'-[tris(2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-manopiranosiloximetil)metil]tioureido]etil amina (14):

Una disolución de **2** (0.04 mmol) en agua (2 mL) se ajustó a pH 8 por adición de $NaHCO_3$ sólido. Se añadió una disolución de **151** (45 mg, 0.04 mmol) en acetona (2 mL)

y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Se eliminó la acetona a presión reducida y la suspensión acuosa se lavó varias veces con CH_2Cl_2 y el residuo resultante se extrajo con MeOH.

Rend.: 104 mg (73%); R_f 0.78 (MeCN- H_2O - NH_4OH 6:3:1); $[\alpha]_D^{25} +55.1$ (c 1.0, H_2O).

^1H RMN (500 MHz, D_2O , 353 K): δ 5.80-5.74 (m, 9 H, H-2', H-3', H-4'), 5.55-5.52 (m, 14 H, H-1^{I-VII}), 5.50 (sa, 3 H, H-1'), 4.85 (sa, 3 H, $J_{6a,6b} = 12.0$ Hz, H-6a'), 4.71 (sa, 3 H, H-6b'), 4.67 (m, 2 H, H-6a^I), 4.65 (m, 5 H, H-5'), 4.52 (m, 2 H, H-5^I), 4.44-4.35 (m, 56 H, H-3^{I-VII}, H-5^{II-VII}, H-6a^{II-VII}, H-6b^{II-VII}, OCH_2), 4.13-4.10 (m, 14 H, H-2^{I-VII}), 4.07-4.04 (m, 18 H, H-4^{II-VII}, CH_2NHCS), 3.89 (m, 4 H, H-4^I, H-6b^I), 3.32 (m, 6 H, CH_2N), 2.65, 2.62, 2.57, 2.52 (4 s, 36 H, MeCO).

^{13}C RMN (125.7 MHz, D_2O , 353 K): δ 182.2 (CS), 173.9, 173.0 (CO), 102.7-100.9 (C-1^{I-VII}), 98.4 (C-1'), 83.9 (C-4^I), 81.8-81.4 (C-4^{II-VII}), 73.8-73.6 (C-3^{I-VII}), 72.8-72.4 (C-2^{I-VII}, C-5^{II-VII}), 70.6 (C-5^I), 70.3 (C-2'), 70.0 (C-3'), 69.4 (C-5'), 66.8 (C-4', OCH_2), 62.9 (C-6'), 61.8 (C_q), 61.4-61.0 (C-6^{II-VII}), 53.4 (CH_2N), 45.7 (C-6^I), 42.4 (CH_2NHCS), 20.7 (MeCO).

Análisis calculado para $\text{C}_{139}\text{H}_{219}\text{N}_7\text{O}_{98}\text{S}_3$: C 45.71, H 6.04, N 2.68. Encontrado: C 45.61, H 5.87, N 2.62.

Bis[2-[N'-(6^I-desoxiciclomaltoheptaos-6^I-il)tioureido]etil] 2-[N'-[tris(α -D-manopiranosiloximetil)metil]tioureido]etil amina (15):

El compuesto **15** se obtuvo mediante desacetilación, seguida de saponificación, a partir de **14** (33 mg, 9 μmol) siguiendo el procedimiento A descrito en los Métodos Generales.

Rend.: 28 mg (100%); R_f 0.59 (MeCN- H_2O - NH_4OH 5:3:5); $[\alpha]_D^{25} +95.2$ (c 1.0, H_2O).

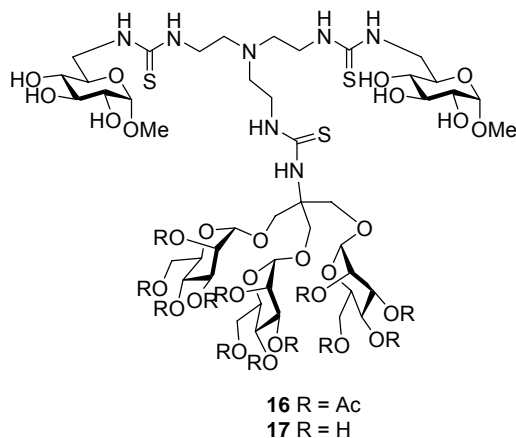
^1H RMN (500 MHz, D_2O , 353 K): δ 5.54 (m, 14 H, H-1^{I-VII}), 5.35 (m, 3 H, H-1'), 4.61 (d, 3 H, $^2J_{\text{H,H}} = 10.0$ Hz, OCH_2a), 4.52 (m, 4 H, H-5^I, H-6a^I), 4.44 (m, 3 H, H-2'), 4.41-4.32 (m, 53 H, H-3^{I-VII}, H-6a^{II-VII}, H-6b^{II-VII}, H-3', H-6a', CH_2N , OCH_2b), 4.31-4.22 (m, 15 H,

H-5^{II-VII}, H-6b⁷), 4.14-4.10 (m, 17 H, H-2^{I-VII}, H-4⁷), 4.10-4.03 (m, 21 H, H-4^{II-VII}, H-5⁷, CH₂NHCS), 3.95 (m, 4 H, H-4^I, H-6b^I).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O, 353 K): δ 183.8 (CS), 103.7-102.0 (C-1^{I-VII}), 101.2 (C-1⁷), 83.3 (C-4^I), 81.9-81.6 (C-4^{II-VII}), 74.2-73.5 (C-3^{I-VII}), 73.3 (C-5⁷), 72.9-72.1 (C-2^{I-VII}, C-5^{II-VII}), 71.6 (C-5^I), 70.9-70.5 (C-3⁷, C-2⁷), 67.5 (C-4⁷, OCH₂), 62.1 (C_q), 61.7 (C-6⁷), 61.2-60.9 (C-6^{II-VII}), 55.1 (CH₂N), 46.0 (C-6^I), 39.9 (CH₂NHCS).

EM (MALDI-TOF): *m/z* 3170 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para C₁₁₅H₁₉₅N₇O₈₆S₃: C 43.68, H 6.24, N 3.11. Encontrado: C 43.50, H 6.16, N 2.98.



Bis[2-[N'-(metil α-D-glucopiranosid-6-il)tioureido]etil] 2-[N'-(tris(2,3,4,6-tetra-O-acetil-α-D-manopiranosiloximetil)metil)tioureido]etil amina (16):

Una disolución de **4** (70 μmol) en agua (1 mL) se ajustó a pH 8 por adición de NaHCO₃ sólido. Se añadió una disolución de **151** (81 mg, 70 μmol) en acetona (2 mL) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Se eliminó el disolvente a presión reducida y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna usando CH₂Cl₂-MeOH 6:1.

Rend.: 62 mg (50%); R_f 0.51 (MeCN-H₂O-NH₄OH 10:2:1); $[\alpha]_D +42.1$ (c 1.0, MeOH).

¹H RMN (500 MHz, CD₃OD, 313 K): δ 5.25 (m, 9 H, H-2', H-3', H-4'), 4.93 (d, 3 H, $J_{1,2} = 1.0$ Hz, H-1'), 4.68 (d, 2 H, $J_{1,2} = 3.7$ Hz, H-1), 4.37 (d, 3 H, $^2J_{H,H} = 9.9$ Hz, OCH₂a), 4.30 (dd, 3 H, $J_{6a',6b'} = 12.5$ Hz, $J_{5',6a'} = 4.8$ Hz, H-6a'), 4.15 (dd, 3 H, $J_{5',6b'} = 2.2$ Hz, H-6b'), 4.10 (ddd, 3 H, $J_{4',5'} = 9.0$ Hz, H-5'), 4.06 (d, 3 H, OCH₂b), 3.87 (m, 2 H, H-6a), 3.75 (da, 2 H, $J_{6a,6b} = 12.3$ Hz, H-6b), 3.62 (m, 2 H, H-5), 3.61 (t, 2 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.6$ Hz, H-3), 3.60 (m, 6 H, CH₂NHCS), 3.40 (dd, 2 H, H-2), 3.39 (s, 6 H, OMe), 3.19 (t, 2 H, $J_{4,5} = 9.6$ Hz, H-4), 2.77, 2.76 (2 t, 6 H, $^3J_{H,H} = 6.2$ Hz, CH₂N), 2.13, 2.07, 2.03, 1.96 (4 s, 36 H, MeCO).

¹³C RMN (125.7 MHz, CD₃OD, 313 K): δ 184.1, 183.8 (CS), 172.5, 171.7, 171.4 (CO), 101.4 (C-1), 99.5 (C-1'), 74.6 (C-3), 73.6 (C-2), 72.7 (C-4), 71.9 (C-5), 70.8 (C-2'), 70.7 (C-3'), 70.3 (C-5'), 67.2 (C-4'), 67.1 (OCH₂), 63.5 (C-6'), 62.2 (C_q), 55.8 (OMe), 54.5, 54.1 (CH₂N), 46.2 (C-6), 43.7, 42.9 (CH₂NHCS), 20.8, 20.7, 20.6 (MeCO).

EM (FAB): m/z 1792 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para C₆₉H₁₀₇N₇O₄₀S₃: C 46.80, H 6.09, N 5.54. Encontrado: C 46.82, H 5.90, N 5.46.

Bis[2-[N'-(metil α -D-glucopiranosid-6-il)tioureido]etil] 2-[N'-[tris(α -D-manopiranosiloximetil)metil]tioureido]etil amina (17):

El compuesto **17** se obtuvo mediante desacetilación, seguida de saponificación, a partir de **16** (31 mg, 17 μ mol) siguiendo el procedimiento A descrito en los Métodos Generales.

Rend.: 22 mg (100%); R_f 0.16 (MeCN-H₂O-NH₄OH 6:3:1); $[\alpha]_D +54.8$ (c 1.0, H₂O).

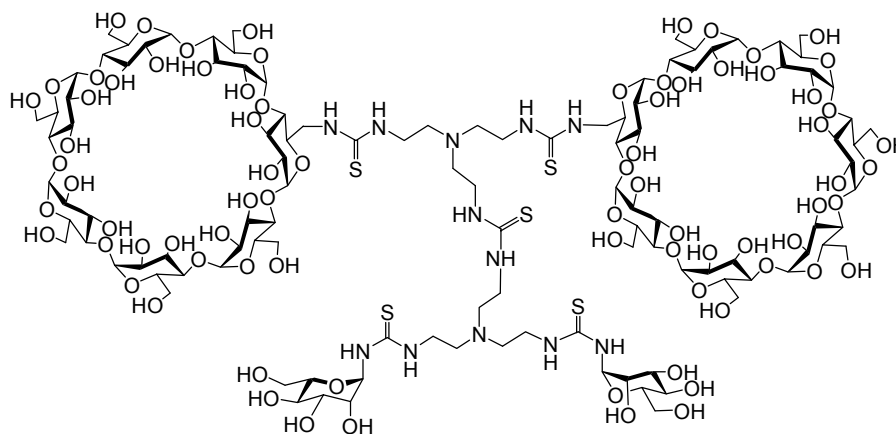
¹H RMN (500 MHz, D₂O, 333 K): δ 5.15 (d, 3 H, $J_{1',2'} = 1.5$ Hz, H-1'), 5.08 (d, 2 H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1), 4.40 (d, 3 H, $^2J_{H,H} = 10.0$ Hz, OCH₂a), 4.25 (dd, 3 H, $J_{2',3'} = 3.4$ Hz, H-2'), 4.23 (d, 3 H, OCH₂b), 4.15 (dd, 3 H, $J_{6a',6b'} = 13.3$ Hz, $J_{5',6a'} = 2.4$ Hz, H-6a'), 4.13 (m, 2 H, H-6a), 4.05 (dd, 3 H, $J_{5',6b'} = 5.5$ Hz, H-6b'), 4.04 (m, 8 H, H-6b, CH₂N), 4.03 (dd, 3

H, $J_{3',4'} = 9.5$ Hz, H-3'), 4.02 (ddd, 2 H, $J_{4,5} = 9.8$ Hz, $J_{5,6b} = 5.6$ Hz, $J_{5,6a} = 2.4$ Hz, H-5), 3.97 (t, 3 H, $J_{4',5'} = 9.5$ Hz, H-4'), 3.94 (t, 2 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.1$ Hz, H-3), 3.89 (ddd, 3 H, H-5'), 3.85 (dd, 2 H, H-2), 3.68 (s, 6 H, OMe), 3.60 (t, 2 H, H-4), 3.40 (m, 6 H, CH_2NHCS).

^{13}C RMN (125.7 MHz, D_2O , 343 K): δ 181.9 (CS), 100.9 (C-1'), 99.8 (C-1), 73.6 (C-5'), 73.4 (C-3), 71.8 (C-2), 71.6 (C-4), 71.3 (C-3'), 70.6 (C-5), 70.5 (C-2'), 67.2 (C-4'), 66.9 (OCH₂), 61.7 (C_q), 61.4 (C-6'), 55.6 (OMe), 53.9, 53.8 (CH₂N), 45.3 (C-6), 41.5, 41.4 (CH₂NHCS).

EM (FAB): m/z 1288 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para $\text{C}_{45}\text{H}_{83}\text{N}_7\text{O}_{28}\text{S}_3$: C 42.68, H 6.61, N 7.74. Encontrado: C 42.56, H 6.46, N 7.52.



18

Bis[2-[N'-(6^I-desoxiciclomaltoheptaos-6^I-il)tioureido]etil] 2-[N'-[2-[bis[2-[N'-(α -D-manopiranosil)tioureido]etil]amino]etil]tioureido]etil amina (18):

Una disolución de **2** (23 μmol) en agua (2 mL) se ajustó a pH 8 por adición de NaHCO_3 sólido. Se añadió una disolución de **6** (25 mg, 26 μmol , 1.1 eq) en acetona (2 mL) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 d. Se eliminó el

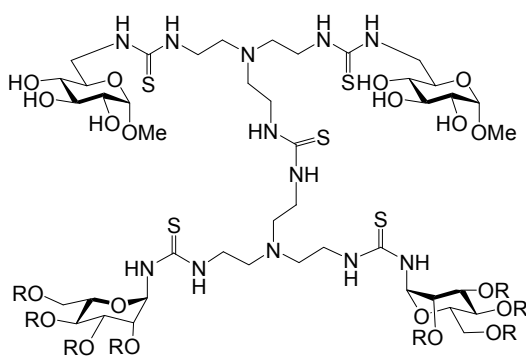
disolvente a presión reducida y la suspensión resultante se liofilizó. El residuo se desacetiló y saponificó siguiendo el procedimiento B descrito en los Métodos Generales y se purificó por cromatografía de permeación sobre gel (Sephadex G-25, H₂O) para dar **18**. Rend.: 29 mg (40%); $[\alpha]_D^{+99.6}$ (c 2.4, H₂O).

¹H RMN (500 MHz, D₂O, 343 K): δ 5.95 (sa, 2 H, H-1'), 5.47-5.46 (m, 14 H, H-1^{I-VII}), 4.51 (m, 2 H, H-6a^I), 4.43 (m, 2 H, H-5^I), 4.40-4.30 (m, 6 H, H-2', H-3', H-6a'), 4.35-4.21 (m, 62 H, H-3^{I-VII}, H-5^{II-VII}, H-6a^{II-VII}, H-6b^{II-VII}, CH₂N), 4.19 (sa, 2 H, $J_{6a',6b'} = 11.5$ Hz, H-6b'), 4.07-4.03 (m, 26 H, CH₂NHCS, H-2^{I-VII}), 4.05 (m, 2 H, H-4'), 4.02-3.95 (m, 12 H, H-4^{II-VII}), 3.87 (m, 2 H, H-6b^I), 3.85 (m, 2 H, H-5'), 3.80 (t, 2 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 10.0$ Hz, H-4^I).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O, 343 K): δ 181.8 (CS), 102.3-101.0 (C-1^{I-VII}), 83.9 (C-4^I), 82.2-81.3 (C-4^{II-VII}), 78.1 (C-1'), 74.0-73.6 (C-3^{I-VII}), 72.8-72.1 (C-2^{I-VII}, C-5^{II-VII}), 71.2, 70.9, 70.5 (C-5^I, C-5', C-3', C-2'), 67.4 (C-4'), 61.7 (C-6'), 61.2-61.0 (C-6^{II-VII}), 53.2, 52.6 (CH₂N), 45.7 (C-6^I), 42.3 (CH₂NHCS).

EM (MALDI-TOF): m/z 3151 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para C₁₁₃H₁₉₄N₁₂O₇₈S₅: C 43.37, H 6.25, N 5.37. Encontrado: C 43.13, H 6.02, N 5.11.



19 R = Ac
20 R = H

Bis[2-[N'-(metil 6-desoxi- α -D-glucopiranosid-6-il)tioureido]etil] 2-[N'-[2-bis[2-[N'-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-manopiranosil)tioureido]etil]amino]etil]-tioureido]etil amina (19):

Una disolución de **4** (50 μ mol) en agua (1 mL) se ajustó a pH 8 por adición de NaHCO₃ sólido. Se añadió una disolución de **6** (53 mg, 55 μ mol, 1.1 eq) en acetona (2 mL) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. Se eliminó la acetona a presión reducida y la suspensión resultante se liofilizó. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna usando CH₂Cl₂-MeOH 9:1.

Rend.: 47 mg (60%); R_f 0.25 (MeCN-H₂O-NH₄OH 10:1:1); $[\alpha]_D^{+35.1}$ (*c* 1.0, MeOH).

¹H RMN (500 MHz, CD₃OD, 313 K): δ 5.96 (sa, 2 H, H-1'), 5.42 (dd, 2 H, $J_{3',4'} = 9.5$ Hz, $J_{2',3'} = 3.5$ Hz, H-3'), 5.31 (t, 2 H, $J_{1',2'} = 3.5$ Hz, H-2'), 5.21 (t, 2 H, $J_{4',5'} = 9.5$ Hz, H-4'), 4.66 (d, 2 H, $J_{1,2} = 3.7$ Hz, H-1), 4.30 (dd, 2 H, $J_{6'a,6'b} = 12.5$ Hz, $J_{5',6'a} = 5.0$ Hz, H-6'a), 4.11 (dd, 2 H, $J_{5',6'b} = 3.0$ Hz, H-6'b), 4.00 (ddd, 1 H, H-5'), 3.87 (m, 2 H, H-6a), 3.76 (m, 2 H, H-6b), 3.64 (m, 2 H, H-5), 3.62 (t, 12 H, $^3J_{H,H} = 6.0$ Hz, CH₂NHCS), 3.61 (t, 2 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.5$ Hz, H-3), 3.40 (dd, 2 H, H-2), 3.38 (s, 6 H, OMe), 3.20 (t, 2 H, $J_{4,5} = 9.5$ Hz, H-4), 2.80, 2.77 (m, 12 H, CH₂N), 2.12, 2.05, 2.04, 2.00 (4 s, 24 H, MeCO).

¹³C RMN (125.7 MHz, CD₃OD, 313 K): δ 183.3 (CS), 171.1, 170.2 (CO), 100.0 (C-1), 79.6 (C-1'), 73.2 (C-3), 72.5 (C-2), 71.2 (C-4), 70.6 (C-5), 70.1 (C-5'), 69.3, 69.2 (C-2', C-3'), 66.5 (C-4'), 62.1 (C-6'), 54.5 (OMe), 53.1, 52.7 (CH₂N), 44.7 (C-6), 42.7 (CH₂NHCS), 19.4, 19.3, 19.2 (MeCO).

EM (FAB): m/z 1605 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para C₅₉H₉₈N₁₂O₂₈S₅: C 44.74, H 6.24, N 10.61. Encontrado: C 44.78, H 6.08, N 10.54.

Bis[2-[N'-(metil 6-desoxi- α -D-glucopiranosid-6-il)tioureido]etil] 2-[N'-[2-bis[2-[N'-(α -D-manopiranosil)tioureido]etil]amino]etil]-tioureido]etil amina (20):

El compuesto **20** se obtuvo mediante desacetilación a partir de **19** (63 mg, 40 μ mol) siguiendo el procedimiento B descrito en los Métodos Generales.

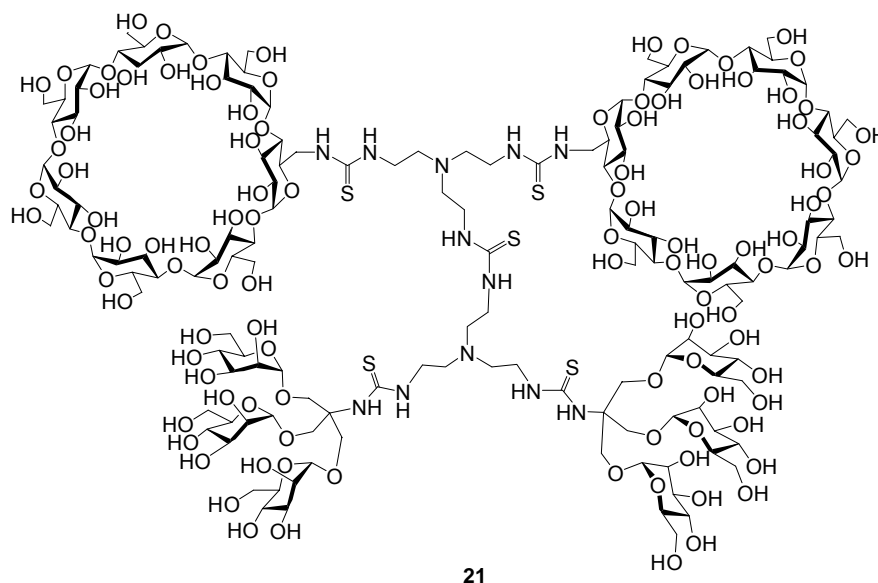
Rend.: 50 mg (100%); R_f 0.61 (MeCN-H₂O-NH₄OH 6:3:1); $[\alpha]_D +61.2$ (c 1.0, H₂O).

¹H RMN (500 MHz, D₂O, 323 K): δ 5.77 (sa, 2 H, H-1'), 4.99 (d, 2 H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1), 4.25 (sa, 2 H, $J_{2,3'} = 3.0$ Hz, H-2'), 4.17 (m, 12 H, CH₂N), 4.07 (m, 2 H, H-6a), 4.06 (m, 2 H, H-6'a), 4.05 (dd, 2 H, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, H-3'), 3.98 (m, 2 H, H-6b), 3.97 (dd, 2 H, $J_{6a',6b'} = 13.0$ Hz, $J_{5',6b'} = 6.5$ Hz, H-6'b), 3.94 (td, 2 H, $J_{4,5} = J_{5,6a} = 9.0$ Hz, $J_{5,6b} = 3.0$ Hz, H-5), 3.89 (t, 2 H, $J_{4',5'} = 9.0$ Hz, H-4'), 3.86 (t, 2 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.0$ Hz, H-3), 3.77 (ddd, 2 H, $J_{5',6a'} = 2.5$ Hz, H-5'), 3.76 (dd, 2 H, H-2), 3.75 (m, 12 H, CH₂NHCS), 3.59 (s, 6 H, OMe), 3.53 (t, 2 H, H-4).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O, 323 K): δ 183.6, 182.2 (CS), 99.7 (C-1), 82.8 (C-1'), 74.4 (C-5'), 73.4 (C-3), 71.7 (C-2), 71.6 (C-4), 70.9 (C-3'), 70.4 (C-5), 69.9 (C-2'), 67.4 (C-4'), 61.3 (C-6'), 55.5 (OMe), 55.3, 55.1, 54.8 (CH₂N), 45.4 (C-6), 40.3, 40.0, 39.9 (CH₂NHCS).

EM (FAB): m/z 1269 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para C₄₃H₈₂N₁₂O₂₀S₅: C 41.40, H 6.62, N 13.47. Encontrado: C 41.33, H 6.68, N 13.40.



Bis[2-[N'-(6^I-desoxiciclomaltoheptaos-6^I-il)tioureido]etil] 2-[N'-[2-[bis[2-[N'-[tris(α-D-manopiranosiloximetil)metil]tioureido]etil]amino]etil]tioureido]etil amina (21):

Una disolución de **2** (8 μmol) en agua (2 mL) se ajustó a pH 8 por adición de NaHCO₃ sólido. Se añadió una disolución de **8** (23 mg, 9.2 μmol, 1.1 eq) en acetona (2 mL) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 d. Se eliminó el disolvente a presión reducida y la suspensión resultante se liofilizó. El residuo se desacetiló y saponificó siguiendo el procedimiento A descrito en los Métodos Generales y se purificó por cromatografía de permeación sobre gel (Sephadex G-25, H₂O) para dar **21**.

Rend.: 12 mg (40%); [α]_D +62.0 (*c* 1.0, H₂O).

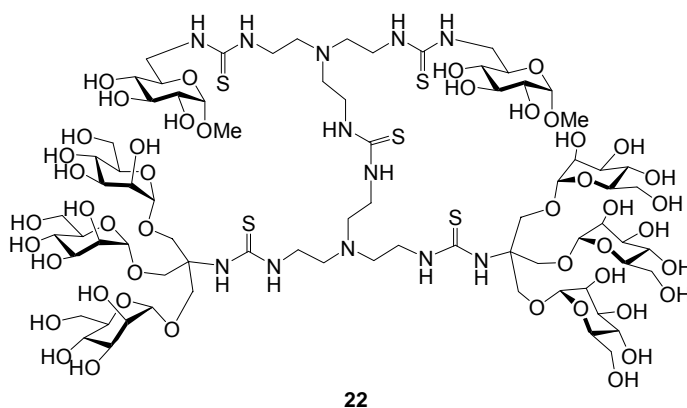
¹H RMN (500 MHz, D₂O, 333 K): δ 5.34 (m, 14 H, H-1^{I-VII}), 5.15 (sa, 6 H, H-1'), 4.37 (d, 6 H, ²J_{H,H} = 10.5 Hz, OCH₂a), 4.31-4.10 (m, 90 H, H-3^{I-VII}, H-5^{I-VII}, H-6a^{I-VII}, H-6b^{II-VII}, H-2', H-3', H-6a', H-6b', CH₂N, OCH₂b), 4.09-4.04 (m, 20 H, H-2^{I-VII}, H-4'), 4.03-3.88 (m,

20 H, H-4^{II-VII}, H-5'), 3.68 (m, 2 H, H-6b^I), 3.56 (m, 2 H, H-4^I), 3.08 (m, 6 H, CH₂NHCS).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O, 333 K): δ 181.5 (CS), 102.2 (C-1^{I-VII}), 100.8 (C-1'), 81.4 (C-4^{I-VII}), 73.6 (C-5'), 73.4 (C-3^{I-VII}), 72.5, 72.4 (C-2^{I-VII}, C-5^{II-VII}), 71.3 (C-3'), 70.5 (C-2'), 70.3 (C-5^I), 67.3 (C-4', OCH₂), 61.7 (C_q), 61.6 (C-6'), 60.8 (C-6^{II-VII}), 52.8 (CH₂N), 42.6 (C-6^I), 37.6 (CH₂NHCS).

EM (MALDI-TOF): *m/z* 4008 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para C₁₄₅H₂₅₀N₁₂O₁₀₄S₅: C 43.69, H 6.32, N 4.22. Encontrado: C 43.28, H 5.90, N 3.98.



22

Bis[2-[N'-(metil α-D-glucopiranosid-6-il)tioureido]etil] 2-[N'-[2-[bis[2-[N'-[tris(α-D-manopiranosiloximetil)metil]tioureido]etil]amino]etil]tioureido]etil amina (22):

Una disolución de **4** (22 μmol) en agua (1 mL) se ajustó a pH 8 por adición de NaHCO₃ sólido. Se añadió una disolución de **8** (55 mg, 22 μmol) en acetona (2 mL) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 d. Se eliminó el disolvente a presión reducida y la suspensión resultante se liofilizó. El residuo se purificó por cromatografía en columna usando AcOEt-EtOH-H₂O 45:5:5 y se desacetiló, con

saponificación, siguiendo el procedimiento A descrito en los Métodos Generales para dar **22**.

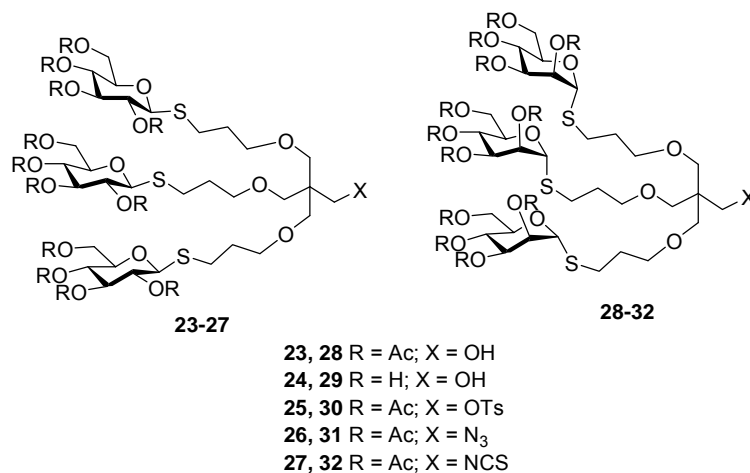
Rend.: 26 mg (50%); R_f 0.26 (MeCN-H₂O-NH₄OH 5:3:5); $[\alpha]_D +46.6$ (c 1.2, H₂O).

¹H RMN (500 MHz, D₂O, 343 K): δ 5.14 (sa, 6 H, H-1'), 5.06 (d, 2 H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1), 4.40 (d, 6 H, $^2J_{H,H} = 10.0$ Hz, OCH₂a), 4.28 (m, 12 H, CH₂N), 4.23 (dd, 6 H, $J_{2',3'} = 3.4$ Hz, $J_{1',2'} = 1.5$ Hz, H-2'), 4.22 (d, 6 H, OCH₂b), 4.14 (da, 6 H, $J_{6a',6b'} = 12.5$ Hz, H-6a'), 4.13 (m, 2 H, H-6a), 4.06 (dd, 6 H, $J_{5',6b'} = 3.5$ Hz, H-6b'), 4.05 (m, 4 H, H-5, H-6b), 4.04 (dd, 3 H, $J_{3',4'} = 9.5$ Hz, H-3'), 3.96 (t, 6 H, $J_{4',5'} = 9.5$ Hz, H-4'), 3.93 (t, 2 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.5$ Hz, H-3), 3.87 (m, 6 H, H-5'), 3.86 (m, 12 H, CH₂NHCS), 3.82 (dd, 2 H, H-2), 3.66 (s, 6 H, OMe), 3.59 (t, 2 H, $J_{4,5} = 9.5$ Hz, H-4).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O, 343 K): δ 182.8 (CS), 100.9 (C-1'), 99.8 (C-1), 73.6 (C-5'), 73.4 (C-3), 71.8 (C-2), 71.6 (C-4), 71.3 (C-3'), 70.5 (C-5, C-2'), 67.2 (C-4'), 67.0 (OCH₂), 61.8 (C_q), 61.4 (C-6'), 55.6 (OMe), 55.3, 55.1, 54.8 (CH₂N), 45.4 (C-6), 39.8, 39.6, 39.3 (CH₂NHCS).

Análisis calculado para C₈₅H₁₅₈N₁₈O₄₆S₇: C 42.67, H 6.65, N 10.54. Encontrado: C 42.50, H 6.65, N 10.36.

9.3.4. Preparación de glicodendrones tioglicosilados homovalentes.



2,2,2-Tris[5-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-glicopiranosiltio)-2-oxapentil]etanol

(**23**):

Una mezcla de **235** (0.32 g, 1.3 mmol) y 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-1-tio- β -D-glicopiranososa **139** (2.12 g, 5.85 mmol, 1.5 eq) en MeOH desgasificado (30 mL) se irradió a 250 nm bajo atmósfera de Ar durante 1 h. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna usando AcOEt-éter de petróleo 2:1 como eluyente.

Rend.: 1.23 g (70%); R_f 0.24 (AcOEt-éter de petróleo 2:1); $[\alpha]_D$ -22.8 (c 0.8, CH₂Cl₂).

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 5.18 (t, 3 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.4$ Hz, H-3), 5.04 (t, 3 H, $J_{4,5} = 9.4$ Hz, H-4), 4.98 (t, 3 H, $J_{1,2} = 9.4$ Hz, H-2), 4.46 (d, 3 H, H-1), 4.21 (dd, 3 H, $J_{6a,6b} = 12.4$ Hz, $J_{5,6a} = 4.8$ Hz, H-6a), 4.09 (dd, 3 H, $J_{5,6b} = 1.7$ Hz, H-6b), 3.68 (ddd, 3 H, H-5), 3.61 (s, 2 H, CH₂OH), 3.42 (t, 6 H, $^3J_{H,H} = 5.8$ Hz, H-3_{Pent}), 3.36 (s, 6 H, H-1_{Pent}), 2.71, 2.67 (2 dt, 6 H, $^2J_{H,H} = 12.8$ Hz, $^3J_{H,H} = 6.0$ Hz, H-5_{Pent}), 2.04-1.99 (4 s, 36 H, MeCO), 1.81 (m, 6 H, H-4_{Pent}).

^{13}C RMN (125.7 MHz, CDCl_3): δ 170.6, 170.2, 169.5, 169.4 (CO), 83.7 (C-1), 75.8 (C-5), 73.8 (C-3), 71.2 (C-1_{Pent}), 69.8 (C-2), 69.6 (C-3_{Pent}), 68.2 (C-4), 65.4 (CH_2OH), 62.1 (C-6), 44.9 (C_q), 29.8 (C-4_{Pent}), 27.0 (C-5_{Pent}), 20.8, 20.6 (*MeCO*).

EM (FAB): m/z 1371 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{56}\text{H}_{84}\text{O}_{31}\text{S}_3$: C 49.84, H 6.28. Encontrado: C 49.75, H 6.17.

Alternativamente, el compuesto **23** se preparó de la siguiente manera: una mezcla de **235** (15,6 mg, 0.06 mmol), **139** (100 mg, 0.27 mmol, 1.5 eq) y AIBN (5.9 mg, 36 μmol , 0.2 eq) en dioxano (1 mL) se agitó bajo atmósfera de Ar a 75 °C durante 3 h. La reacción se detuvo por adición de ciclohexeno (0.1 mL), los disolventes se eliminaron a presión reducida y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna usando AcOEt-éter de petróleo 2:1 como eluyente. Rend.: 40 mg (50%).

2,2,2-Tris-[5-(α -D-glucopiranosilitio)-2-oxapentil]etanol (24**):**

El compuesto **24** se obtuvo mediante desacetilación a partir de **23** (103 mg, 76 μmol) siguiendo el procedimiento A descrito en los Métodos Generales.

Rend.: 62 mg (98%); R_f 0.47 (MeCN- H_2O - NH_4OH 6:3:1); $[\alpha]_D = -32.0$ (c 1.0, H_2O).

^1H RMN (500 MHz, D_2O): δ 4.45 (d, 3 H, $J_{1,2} = 9.9$ Hz, H-1), 3.81 (dd, 3 H, $J_{6a,6b} = 12.4$ Hz, $J_{5,6a} = 2.0$ Hz, H-6a), 3.63 (dd, 3 H, $J_{5,6b} = 5.5$ Hz, H-6b), 3.52 (t, 6 H, $^3J_{\text{H,H}} = 6.2$ Hz, H-3_{Pent}), 3.49 (s, 2 H, CH_2OH), 3.41 (t, 3 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.3$ Hz, H-3), 3.39 (s, 6 H, H-1_{Pent}), 3.37 (ddd, 3 H, $J_{4,5} = 9.3$ Hz, H-5), 3.33 (t, 3 H, H-4), 3.24 (t, 3 H, H-2), 2.68, 2.65 (2 dt, 6 H, $^2J_{\text{H,H}} = 13.4$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 7.3$ Hz, H-5_{Pent}), 1.85 (m, 6 H, H-4_{Pent}).

^{13}C RMN (125.7 MHz, D_2O): δ 85.7 (C-1), 80.1 (C-5), 77.4 (C-3), 72.5 (C-2), 69.8 (C-3_{Pent}), 69.7 (C-4), 69.5 (C-1_{Pent}), 61.6 (CH_2OH), 61.1 (C-6), 45.2 (C_q), 29.4 (C-4_{Pent}), 27.0 (C-5_{Pent}).

EM (FAB): m/z 867 (15%, [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$).

Análisis calculado para C₃₂H₆₀O₁₉S₃: C, 45.58, H, 7.16, S, 11.38; Encontrado: C, 45.19, H, 6.91, S, 11.05.

***p*-Toluensulfonato de 2,2,2-tris[5-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosilitio)-2-oxapentil]etilo (25):**

A una disolución de **23** (0.62 g, 0.46 mmol) en piridina (8 mL) se añadió cloruro de *p*-toluensulfonilo (0.13 g, 0.70 mmol, 1.5 eq). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h, se diluyó con CH₂Cl₂ (30 mL) y se lavó con H₂SO₄ 2 N (20 mL). La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄) y se filtró. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo resultante se purificó por columna cromatográfica usando AcOEt-éter de petróleo 2:1 como eluyente.

Rend.: 0.59 g (86%); *R*_f 0.39 (AcOEt-éter de petróleo 2:1); [α]_D -26.5 (*c* 1.1, CH₂Cl₂).

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 7.75, 7.35 (2 d, 4 H, ³*J*_{H,H} = 8.3 Hz, Ph), 5.19 (t, 3 H, *J*_{2,3} = *J*_{3,4} = 9.4 Hz, H-3), 5.05 (t, 3 H, *J*_{4,5} = 9.4 Hz, H-4), 4.98 (t, 3 H, *J*_{1,2} = 9.4 Hz, H-2'), 4.48 (d, 3 H, H-1), 4.22 (dd, 3 H, *J*_{6a,6b} = 12.4 Hz, *J*_{5,6a} = 4.8 Hz, H-6a), 4.11 (dd, 3 H, *J*_{5,6b} = 2.0 Hz, H-6b), 3.96 (s, 2 H, CH₂OTs), 3.68 (ddd, 3 H, H-5), 3.34 (t, 6 H, ³*J*_{H,H} = 5.8 Hz, H-3_{Pent}), 3.26 (s, 6 H, H-1_{Pent}), 2.66, 2.62 (2 dt, 6 H, ²*J*_{H,H} = 12.8 Hz, ³*J*_{H,H} = 5.5 Hz, H-5_{Pent}), 2.45 (s, 3 H, *MePh*), 2.04-1.99 (4 s, 36 H, MeCO), 1.74 (m, 6 H, H-4_{Pent}).

¹³C RMN (125.7 MHz, CDCl₃): δ 170.5, 170.1, 169.4, 169.3 (CO), 145.0, 129.8, 128.0, 127.9 (Ph), 83.8 (C-1), 75.8 (C-5), 73.9 (C-3), 69.9 (C-2), 69.5 (C-3_{Pent}), 69.4 (CH₂OTs), 68.7 (C-1_{Pent}), 68.3 (C-4), 62.1 (C-6), 44.8 (C_q), 29.6 (C-4_{Pent}), 27.1 (C-5_{Pent}), 20.7, 20.5 (MeCO), 14.5 (*MePh*).

EM (FAB): *m/z* 1525 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para C₆₃H₉₀O₃₃S₄: C 50.32, H 6.04. Encontrado: C 49.95, H 5.83.

2,2,2-Tris[5-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosilitio)-2-oxapentil]etil azida (26):

Una mezcla de **25** (0.47 g, 0.31 mmol) y NaN_3 (61 mg, 0.93 mmol, 3 eq) en DMF (10 mL) se agitó vigorosamente a 120 °C durante 6 h. La mezcla de reacción se diluyó con CH_2Cl_2 (3 × 30 mL), se lavó con agua, se secó (MgSO_4) y se concentró a presión reducida. El residuo resultante se purificó por columna cromatográfica usando AcOEt-éter de petróleo 1:1 como eluyente.

Rend.: 0.36 g (84%); R_f 0.38 (AcOEt-éter de petróleo 2:1); $[\alpha]_D$ -25.0 (c 1.0, CH_2Cl_2); IR: ν_{max} 2103 cm^{-1} .

^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): δ 5.19 (t, 3 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.4$ Hz, H-3), 5.04 (t, 3 H, $J_{4,5} = 9.4$ Hz, H-4), 4.99 (t, 3 H, $J_{1,2} = 9.4$ Hz, H-2), 4.47 (d, 3 H, H-1), 4.20 (dd, 3 H, $J_{6a,6b} = 12.3$ Hz, $J_{5,6a} = 4.8$ Hz, H-6a), 4.09 (dd, 3 H, $J_{5,6b} = 2.1$ Hz, H-6b), 3.67 (ddd, 3 H, H-5), 3.42 (t, 6 H, $^3J_{\text{H,H}} = 6.0$ Hz, H-3_{Pent}), 3.27 (s, 6 H, H-1_{Pent}), 3.26 (s, 2 H, CH_2N_3), 2.72, 2.67 (2 dt, 6 H, $^2J_{\text{H,H}} = 12.8$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 7.3$ Hz, H-5_{Pent}), 2.04-2.00 (4 s, 36 H, MeCO), 1.82 (m, 6 H, H-4_{Pent}).

^{13}C RMN (125.7 MHz, CDCl_3): δ 170.6, 170.1, 169.4, 169.3 (CO), 83.8 (C-1), 75.8 (C-5), 73.9 (C-3), 69.9 (C-2), 69.6 (C-3_{Pent}, C-1_{Pent}), 68.3 (C-4), 62.1 (C-6), 52.0 (CH_2N_3), 45.4 (C_q), 29.8 (C-4_{Pent}), 27.1 (C-5_{Pent}), 20.7, 20.6, 20.5 (MeCO).

EM (FAB): m/z 1396 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{56}\text{H}_{83}\text{N}_3\text{O}_{30}\text{S}_3$: C 48.93, H 6.09, N 3.06. Encontrado: C 48.78, H 6.05, N 2.83.

Alternativamente, la azida **26** se preparó como sigue: a una disolución de **23** (0.49 g, 0.37 mmol) en CH_2Cl_2 (2 mL) se añadió piridina (150 μL) y Tf_2O (77 μL , 0.47 mmol, 1.25 eq) bajo atmósfera de nitrógeno a -25 °C. La mezcla de reacción se agitó a -25 °C durante 20 min, se diluyó con CH_2Cl_2 (10 mL), se lavó con disolución acuosa saturada y fría de NaHCO_3 (8 mL), se secó (MgSO_4) y se concentró. El triflato resultante se disolvió en DMF (2 mL) y se añadió NaN_3 (72 mg, 1.1 mmol, 3 eq). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h y se concentró a presión reducida. El residuo se

disolvió en CH_2Cl_2 , se lavó con agua, se secó (MgSO_4), se concentró y se purificó por columna cromatográfica usando AcOEt-éter de petróleo 1:1→2:1. Rend.: 0.44 g (85%).

2,2,2-Tris[5-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosilitio)-2-oxapentil]etil isotiocianato (27):

A una disolución de la azida **26** (0.32 g, 0.23 mmol) y TPP (67.1 mg, 0.26 mmol, 1.1 eq) en dioxano (10 mL) se añadió, bajo atmosfera de Ar, CS_2 (0.15 mL, 2.33 mmol, 10 eq). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 24 h y se eliminó el disolvente a presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna usando AcOEt-éter de petróleo 1:1.

Rend.: 0.26 g (80%); R_f 0.50 (AcOEt-éter de petróleo 2:1); $[\alpha]_D -25.9$ (c 1.0, CH_2Cl_2); IR: ν_{max} 2104 cm^{-1} .

^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): δ 5.19 (t, 3 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.4$ Hz, H-3), 5.05 (t, 3 H, $J_{4,5} = 9.4$ Hz, H-4), 4.99 (3 H, t, $J_{1,2} = 9.4$ Hz, H-2), 4.48 (3 H, d, H-1), 4.21 (3 H, dd, $J_{6a,6b} = 12.3$ Hz, $J_{5,6a} = 4.8$ Hz, H-6a), 4.11 (dd, 3 H, $J_{5,6b} = 2.2$ Hz, H-6b), 3.69 (ddd, 3 H, H-5), 3.54 (s, 2 H, CH_2NCS), 3.44 (t, 6 H, $^3J_{\text{H,H}} = 6.3$ Hz, H-3_{Pent}), 3.32 (s, 6 H, H-1_{Pent}), 2.73, 2.69 (6 H, 2 dt, $^2J_{\text{H,H}} = 12.6$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 5.6$ Hz, H-5_{Pent}), 2.04-2.00 (36 H, 4 s, MeCO), 1.83 (6 H, m, H-4_{Pent}).

^{13}C RMN (125.7 MHz, CDCl_3): δ 170.6, 170.1, 169.4, 169.3 (CO), 144.0 (NCS), 83.9 (C-1), 75.9 (C-5), 73.9 (C-3), 70.0 (C-2), 69.9 (C-3_{Pent}), 69.8 (C-1_{Pent}), 68.3 (C-4), 62.1 (C-6), 45.9 (CH_2NCS), 45.7 (C_q), 29.8 (C-4_{Pent}), 27.0 (C-5_{Pent}), 20.7, 20.6, 20.5 (MeCO).

EM (FAB): m/z 1412 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{57}\text{H}_{48}\text{NO}_{30}\text{S}_4$: C 49.23, H 6.02, N 1.01. Encontrado: C 49.24, H 5.81, N 1.02.

2,2,2-Tris[5-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-manopiranosilitio)-2-oxapentil]etanol (28):

El alcohol trimanosilado **28** se obtuvo a partir de **235** (0.32 g, 1.3 mmol) y 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-1-tio- α -D-manopiranososa (**236**, 2.05 g, 5.63 mmol, 1.5 eq) por irradiación con luz ultravioleta siguiendo el procedimiento descrito para la preparación de **23**. Tiempo de reacción: 3 h.

Rend.: 0.81g (46%); R_f 0.32 (AcOEt-éter de petróleo 2:1); $[\alpha]_D + 84.6$ (c 1.0, CH₂Cl₂).

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 5.32 (dd, 3 H, $J_{2,3} = 3.1$ Hz, $J_{1,2} = 1.5$ Hz, H-2), 5.30 (t, 3 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.2$ Hz, H-4), 5.25 (dd, 3 H, H-3), 5.24 (d, 3 H, H-1), 4.36 (ddd, 3 H, $J_{5,6a} = 5.4$ Hz, $J_{5,6b} = 1.8$ Hz, H-5), 4.30 (dd, 3 H, $J_{6a,6b} = 11.7$ Hz, H-6a), 4.07 (dd, 3 H, H-6b), 3.63 (s, 2 H, CH₂OH), 3.46 (t, 6 H, $^3J_{H,H} = 6.4$ Hz, H-3_{Pent}), 3.39 (s, 6 H, H-1_{Pent}), 2.69, 2.66 (6 H, 2 dt, $^2J_{H,H} = 13.3$ Hz, $^3J_{H,H} = 6.4$ Hz, H-5_{Pent}), 2.15, 2.07, 2.04, 1.97 (4 s, 36 H, MeCO), 1.87 (m, 6 H, H-4_{Pent}).

¹³C RMN (75.5 MHz, CDCl₃): δ 170.5, 170.0, 169.7, 169.6 (CO), 82.6 (C-1), 71.1 (C-2, C-1_{Pent}), 69.6 (C-3_{Pent}), 69.4 (C-3), 69.0 (C-5), 66.3 (C-4), 65.0 (CH₂OH), 62.3 (C-6), 44.9 (C_q), 29.6 (C-4_{Pent}), 28.2 (C-5_{Pent}), 20.6-20.5 (MeCO).

EM (FAB): m/z 1371 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para C₅₆H₈₄O₃₁S₃: C 49.84, H 6.28. Encontrado: C 49.99, H 5.92.

El compuesto **28** se obtuvo con un 56% de rendimiento usando AIBN como iniciador radicalario durante 1 h, siguiendo el procedimiento descrito para la preparación de **23**.

2,2,2-Tris-[5-(α -D-manopiranosiltio)-2-oxapentil]etanol (29):

El compuesto **29** se obtuvo mediante desacetilación a partir de **28** (196 mg, 0.14 mmol) siguiendo el procedimiento A descrito en los Métodos Generales.

Rend.: 123 mg (100%); R_f 0.26 (MeCN-H₂O-NH₄OH 4:1:1); $[\alpha]_D = + 159.6$ (c 1.0, H₂O).

¹H RMN (500 MHz, D₂O): δ 5.16 (sa, 3 H, H-1), 3.92 (dd, 3 H, $J_{2,3} = 3.2$ Hz, $J_{1,2} = 1.0$ Hz, H-2), 3.85 (ddd, 3 H, $J_{4,5} = 9.8$ Hz, $J_{5,6b} = 5.9$ Hz, $J_{5,6a} = 2.1$ Hz, H-5), 3.73 (dd, 3 H,

$J_{6a,6b} = 12.3$ Hz, H-6a), 3.64 (dd, 3 H, H-6b), 3.63 (dd, 3 H, $J_{3,4} = 9.8$ Hz, H-3), 3.53 (t, 3 H, H-4), 3.50 (s, 2 H, CH_2OH), 3.47 (t, 6 H, $^3J_{\text{H,H}} = 5.9$ Hz, H-3_{Pent}), 3.32 (m, 6 H, H-1_{Pent}), 2.62, 2.60 (2 dt, 6 H, $^2J_{\text{H,H}} = 14.0$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 5.9$ Hz, H-5_{Pent}), 1.78 (m, 6 H, H-4_{Pent}).
 ^{13}C RMN (125.7 MHz, D_2O): δ 84.9 (C-1), 73.2 (C-5), 71.9 (C-2), 71.2 (C-3), 70.1 (C-3_{Pent}), 69.9 (C-1_{Pent}), 67.1 (C-4), 63.1 (CH_2OH), 60.9 (C-6), 44.9 (C_q), 28.6 (C-4_{Pent}), 27.7 (C-5_{Pent}).

EM (FAB): m/z 867 (20%, $[\text{M} + \text{Na}]^+$).

Análisis calculado para $\text{C}_{32}\text{H}_{60}\text{O}_{19}\text{S}_3$: C, 45.48, H, 7.16. Encontrado: C, 45.59, H, 7.44.

***p*-Toluensulfonato de 2,2,2-tris[5-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-manopiranosilitio)-2-oxapentil]etilo (30):**

El compuesto **30** se preparó a partir de **28** (0.49 g, 0.36 mmol) y cloruro de *p*-toluensulfonilo (0.10 g, 0.54 mmol, 1.5 eq) siguiendo el procedimiento descrito para la preparación de **25**.

Rend.: 0.38 g (70%); R_f 0.39 (AcOEt-éter de petróleo 2:1); $[\alpha]_D +78.9$ (c 0.9, CH_2Cl_2).

^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): δ 7.75, 7.34 (2 d, 4 H, $^3J_{\text{H,H}} = 8.3$ Hz, Ph), 5.33 (dd, 3 H, $J_{2,3} = 3.3$ Hz, $J_{1,2} = 1.5$ Hz, H-2), 5.30 (t, 3 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.6$ Hz, H-4), 5.24 (dd, 3 H, H-3), 5.22 (sa, 3 H, H-1), 4.36 (ddd, 3 H, $J_{5,6a} = 5.2$ Hz, $J_{5,6b} = 2.2$ Hz, H-5), 4.30 (dd, 3 H, $J_{6a,6b} = 12.1$ Hz, H-6a), 4.07 (dd, 3 H, H-6b), 3.98 (s, 2 H, CH_2OTs), 3.38 (t, 6 H, $^3J_{\text{H,H}} = 5.9$ Hz, H-3_{Pent}), 3.29 (s, 6 H, H-1_{Pent}), 2.64, 2.59 (2 dt, 6 H, $^2J_{\text{H,H}} = 13.4$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 7.1$ Hz, H-5_{Pent}), 2.45 (s, 3 H, MePh), 2.15-1.97 (4 s, 36 H, MeCO), 1.79 (m, 6 H, H-4_{Pent}).

^{13}C RMN (125.7 MHz, CDCl_3): δ 170.4, 169.8, 169.6, 169.4 (CO), 144.2, 135.8, 129.7, 127.8 (Ph), 82.6 (C-1), 71.1 (C-2), 69.4 (C-3_{Pent}, C-3), 69.3 (CH_2OTs), 69.0 (C-5), 68.7 (C-1_{Pent}), 66.3 (C-4), 62.4 (C-6), 44.8 (C_q), 29.4 (C-4_{Pent}), 27.2 (C-5_{Pent}), 20.8, 20.6, 20.5, 20.4 (MeCO), 14.5 (MePh).

EM (FAB): m/z 1525 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{63}\text{H}_{87}\text{O}_{33}\text{S}_4$: C 56.20, H, 6.51. Encontrado: C 56.25, H, 6.45.

2,2,2-Tris[5-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-manopiranosiltio)-2-oxapentil]etil azida (31):

El tratamiento de **30** (0.32 g, 0.21 mmol) con NaN_3 (41 mg, 0.6 mmol, 3 eq), siguiendo el procedimiento descrito para la preparación de **26**, seguido de purificación por columna cromatográfica usando AcOEt-éter de petróleo 1:1 \rightarrow 2:1 rindió la azida **31**.

Rend.: 0.20 g (70%); R_f 0.40 (AcOEt-éter de petróleo 2:1); $[\alpha]_D^{25} +83.2$ (c 0.7, CH_2Cl_2); IR: ν_{max} 2104 cm^{-1} .

^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): δ 5.33 (dd, 3 H, $J_{2,3} = 3.3$ Hz, $J_{1,2} = 1.5$ Hz, H-2), 5.30 (t, 3 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.6$ Hz, H-4), 5.24 (sa, 3 H, H-1), 5.23 (dd, 3 H, H-3), 4.36 (ddd, 3 H, $J_{5,6a} = 5.2$ Hz, $J_{5,6b} = 2.2$ Hz, H-5), 4.29 (dd, 3 H, $J_{6a,6b} = 12.1$ Hz, H-6a), 4.08 (dd, 3 H, H-6b), 3.45 (t, 6 H, $^3J_{\text{H,H}} = 5.9$ Hz, H-3_{Pent}), 3.30 (s, 8 H, CH_2N_3 , H-1_{Pent}), 2.70, 2.65 (2 dt, 6 H, $^2J_{\text{H,H}} = 13.2$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 6.3$ Hz, H-5_{Pent}), 2.15-1.97 (4 s, 36 H, MeCO), 1.87 (m, 6 H, H-4_{Pent}).

^{13}C RMN (125.7 MHz, CDCl_3): δ 170.4, 169.8, 169.6, 169.5 (CO), 82.6 (C-1), 71.1 (C-2), 69.6 (C-1_{Pent}), 69.4 (C-3_{Pent}, C-3), 68.9 (C-5), 66.3 (C-4), 62.4 (C-6), 51.9 (CH_2N_3), 45.3 (C_q), 29.5 (C-4_{Pent}), 27.3 (C-5_{Pent}), 20.8, 20.6, 20.5, 20.4 (MeCO).

EM (FAB): m/z 1396 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{56}\text{H}_{83}\text{N}_3\text{O}_{30}\text{S}_3$: C 48.93, H 6.09, N 3.06. Encontrado: C 48.36, H 5.74, N 2.92.

Alternativamente la azida **31** se preparó con un 86% de rendimiento a partir del alcohol **28** (1.15 g, 0.85 mmol) por transformación en el triflato correspondiente y posterior sustitución con azida sódica siguiendo el procedimiento descrito para **26**. Rend.: 1.0 g (86%).

2,2,2-Tris[5-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-manopiranosiltio)-2-oxapentil]etil isotiocianato (32):

El compuesto **32** se preparó a partir de la azida **31** (0.15 g, 0.11 mmol) siguiendo el procedimiento descrito para la preparación de **27** y posterior purificación por cromatografía en columna usando AcOEt-éter de petróleo 1:1.

Rend.: 0.13 g (85%); R_f 0.23 (AcOEt-éter de petróleo 1:1); $[\alpha]_D +61.9$ (c 0.4, CH_2Cl_2); IR: ν_{max} 2105 cm^{-1} .

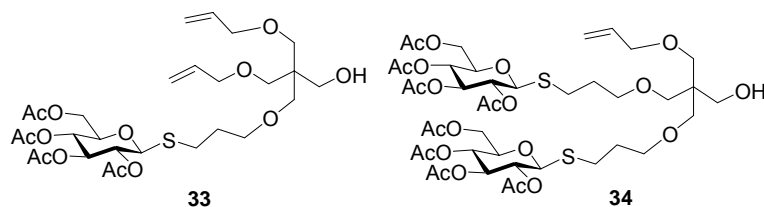
^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): δ 5.33 (dd, 3 H, $J_{2,3} = 3.3$ Hz, $J_{1,2} = 1.5$ Hz, H-2), 5.31 (t, 3 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.6$ Hz, H-4), 5.25 (sa, 3 H, H-1), 5.24 (dd, 3 H, H-3), 4.37 (ddd, 3 H, $J_{5,6a} = 5.2$ Hz, $J_{5,6b} = 2.3$ Hz, H-5), 4.32 (dd, 3 H, $J_{6a,6b} = 12.2$ Hz, H-6a), 4.09 (dd, 3 H, H-6b), 3.55 (s, 2 H, CH_2NCS), 3.48 (t, 6 H, $^3J_{\text{H,H}} = 5.9$ Hz, H-3_{Pent}), 3.35 (s, 6 H, H-1_{Pent}), 2.71, 2.65 (2 dt, 6 H, $^2J_{\text{H,H}} = 13.2$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 6.3$ Hz, H-5_{Pent}), 2.16-1.98 (4 s, 36 H, MeCO), 1.88 (m, 6 H, H-4_{Pent}).

^{13}C RMN (125.7 MHz, CDCl_3): δ 170.9, 170.4, 169.8, 169.6 (CO), 131.0 (NCS), 82.6 (C-1), 71.4 (C-2), 69.7 (C-3_{Pent}), 69.6 (C-1_{Pent}), 69.4 (C-3), 69.0 (C-5), 66.3 (C-4), 62.3 (C-6), 45.8, 45.3 (CH_2NCS , C_q), 29.4 (C-4_{Pent}), 28.2 (C-5_{Pent}), 20.8, 20.6, 20.5, 20.4 (MeCO).

EM (FAB): m/z 1412 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{57}\text{H}_{83}\text{NO}_{30}\text{S}_4$: C 49.23, H 6.09, N 1.01. Encontrado: C 48.99, H 5.96, N 1.03.

9.3.5. Preparación de glicodendrones tioglicosilados heterovalentes y precursores.



2-(2-Oxapent-4-enil)-2-[5-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosilitio)-2-oxapentil]etanol (33):

Una mezcla del derivado trialilado **235** (300 mg, 1.17 mmol), el tiol **139** (426 mg, 1.17 mmol, 0.33 eq) y AIBN (38 mg, 0.23 mmol, 0.2 eq) en dioxano (4 mL) se agitó bajo atmósfera de Ar a 75 °C durante 2 h. La reacción se detuvo por adición de ciclohexeno (0.8 mL), los disolventes se eliminaron a presión reducida y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna usando AcOEt-éter de petróleo 1:1 como eluyente. Rend.: 210 mg (29%). Se aisló además el derivado diglucosilado **34** (254 mg, 22%); R_f 0.46 (AcOEt-éter de petróleo 1:1); $[\alpha]_D$ -26.6 (c 0.8, CH_2Cl_2).

^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): δ 5.80 (ddt, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 17.0$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 10.8$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 5.2$ Hz, $\text{OCH}_2\text{CH=}$), 5.22 (da, 2 H, $=\text{CH}_a$), 5.18 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.8$ Hz, H-3_{Glc}), 5.15 (da, 2 H, $=\text{CH}_b$), 5.04 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.7$ Hz, H-4_{Glc}), 4.98 (t, 1 H, $J_{1,2} = 10.0$ Hz, H-2_{Glc}), 4.43 (d, 1 H, H-1_{Glc}), 4.18 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 12.4$ Hz, $J_{5,6a} = 4.9$ Hz, H-6a_{Glc}), 4.06 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 1.7$ Hz, H-6b_{Glc}), 3.89 (d, 4 H, $\text{OCH}_2\text{CH=}$), 3.66 (ddd, 1 H, H-5_{Glc}), 3.63 (s, 2 H, CH_2OH), 3.42 (t, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 5.9$ Hz, H-3_{Pent}), 3.41 (s, 4 H, CH_2OAll), 3.40 (s, 2 H, H-1_{Pent}), 2.69, 2.66 (2 dt, 2 H, $^2J_{\text{H,H}} = 12.8$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 6.1$ Hz, H-5_{Pent}), 2.02-1.95 (4 s, 12 H, MeCO), 1.79 (m, 2 H, m, H-4_{Pent}).

^{13}C RMN (125.7 MHz, CDCl_3): δ 170.8-169.3 (CO), 134.7 ($\text{OCH}_2\text{CH=}$), 116.7($=\text{CH}_2$), 83.6 (C-1), 75.8 (C-5), 73.8 (C-3), 72.4 ($\text{OCH}_2\text{CH=}$), 71.2, 70.8 (C-1_{Pent}), 69.8 (C-2), 69.6 (C-3_{Pent}), 68.0 (C-4), 65.9 (C-1), 62.1 (C-6), 44.8 (C_q), 29.7 (C-4_{Pent}), 27.0 (C-5_{Pent}), 20.8-20.6 (MeCO).

EM (FAB): m/z 643 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{O}_{13}\text{S}$: C 54.18, H 7.14. Encontrado: C 53.55, H 6.80.

2-(2-Oxapent-4-enil)-2,2-bis[5-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosiltio)-2-oxapentil]etanol (34**):**

Una mezcla del derivado trialilado **235** (0.20 g, 0.78 mmol) y el tiol **139** (0.85 g, 2.34 mmol, 1 eq) en MeOH desgasificado (15 mL) se irradió a 250 nm bajo atmósfera de Ar durante 2 h. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna usando AcOEt-éter de petróleo 1:1 como eluyente.

Rend.: 0.58 g (76%); R_f 0.19 (AcOEt-éter de petróleo 1:1); $[\alpha]_D$ -26.6 (c 0.8, CH_2Cl_2).

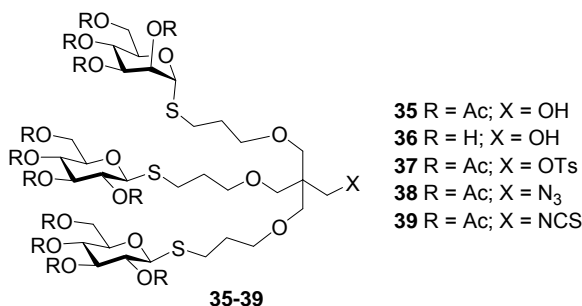
^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): δ 5.83 (ddt, 1 H, $^3J_{\text{H,H}} = 17.2$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 10.5$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 5.1$ Hz, $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{)$, 5.21 (dd, 1 H, $^2J_{\text{H,H}} = 1.1$ Hz, $=\text{CH}_a$), 5.16 (t, 2 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.5$ Hz, H-3_{Glc}), 5.13 (dd, 1 H, $=\text{CH}_b$), 5.04 (t, 2 H, $J_{4,5} = 9.5$ Hz, H-4_{Glc}), 4.98 (t, 2 H, $J_{1,2} = 9.5$ Hz, H-2_{Glc}), 4.45 (d, 2 H, H-1_{Glc}), 4.20 (dd, 2 H, $J_{6a,6b} = 12.4$ Hz, $J_{5,6a} = 4.9$ Hz, H-6a_{Glc}), 4.08 (dd, 2 H, $J_{5,6b} = 2.0$ Hz, H-6b_{Glc}), 3.91 (d, 2 H, $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{)$, 3.68 (ddd, 2 H, H-5_{Glc}), 3.63 (s, 2 H, H-1), 3.43 (t, 4 H, $^3J_{\text{H,H}} = 5.9$ Hz, H-3_{Pent}), 3.39 (s, 2 H, CH_2OAll), 3.37 (s, 4 H, H-1_{Pent}), 2.73, 2.66 (2 dt, 4 H, $^2J_{\text{H,H}} = 13.1$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 7.3$ Hz, H-5_{Pent}), 2.04-1.99 (4 s, 24 H, MeCO), 1.81 (m, 4 H, m, H-4_{Pent}).

^{13}C RMN (125.7 MHz, CDCl_3): δ 170.7, 170.2, 169.5, 169.4 (CO), 134.7 ($\text{OCH}_2\text{CH}=\text{)$, 116.8 ($=\text{CH}_2$), 83.8 (C-1), 75.8 (C-5), 73.8 (C-3), 72.4 ($\text{OCH}_2\text{CH}=\text{)$, 71.2, 70.7 (C-1_{Pent}), 69.8 (C-2), 69.6 (C-3_{Pent}), 68.2 (C-4), 65.7 (C-1), 62.1 (C-6), 44.8 (C_q), 29.8 (C-4_{Pent}), 27.0 (C-5_{Pent}), 20.8, 20.6 (MeCO).

EM (FAB): m/z 1007 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{42}\text{H}_{64}\text{O}_{22}\text{S}_2$: C 51.20, H 6.55. Encontrado: C 51.03, H 6.33.

Alternativamente, el compuesto **34** se obtuvo con un 38% de rendimiento por adición radicalaria a **235** (1.18 g, 4.6 mmol) del tiol **139** (3 g, 8.24 mmol, 0.6 eq) usando AIBN como iniciador.



2,2-Bis[5-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosilitio)-2-oxapentil]-2-[5-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-manopiranosilitio)-2-oxapentil]etanol (35**):**

Una mezcla del derivado diglucosilado **34** (0.53 g, 0.54 mmol) y el tiol **236** (0.29 g, 0.81 mmol, 1.5 eq) en MeOH desgasificado (35 mL) se irradió a 250 nm bajo atmósfera de Ar durante 6 h. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna usando AcOEt-éter de petróleo 3:1 como eluyente.

Rend.: 0.55 g (76%); R_f 0.22 (AcOEt-éter de petróleo 2:1); $[\alpha]_D +15.5$ (c 1.0, CH_2Cl_2); IR: ν_{max} 3504, 1755 cm^{-1} .

^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): δ 5.30 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 3.2$ Hz, $J_{1,2} = 1.5$ Hz, H-2_{Man}), 5.28 (t, 1 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 10.0$ Hz, H-4_{Man}), 5.22 (d, 1 H, H-1_{Man}), 5.21 (dd, 1 H, H-3_{Man}), 5.19 (t, 2 H, $J_{3,4} = J_{2,3} = 10.0$ Hz, H-3_{Glc}), 5.04 (t, 2 H, $J_{4,5} = 10.0$ Hz, H-4_{Glc}), 4.47 (d, 2 H, $J_{1,2} = 10.0$ Hz, H-1_{Glc}), 4.99 (t, 2 H, H-2_{Glc}), 4.33 (ddd, 1 H, $J_{5,6a} = 5.1$ Hz, $J_{5,6b} = 2.1$ Hz, H-5_{Man}), 4.27 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 12.2$ Hz, H-6a_{Man}), 4.20 (dd, 2 H, $J_{6a,6b} = 12.4$ Hz, $J_{5,6a} = 4.8$ Hz, H-6a_{Glc}), 4.08 (dd, 2 H, $J_{5,6b} = 2.3$ Hz, H-6b_{Glc}), 4.06 (dd, 1 H, H-6b_{Man}), 3.69 (ddd, 2 H, H-5_{Glc}), 3.61 (s, 2 H, H-1), 3.44, 3.43 (2 t, 6 H, $^3J_{\text{H,H}} = 5.8$ Hz, H-3_{Pent}), 3.37 (s, 6 H, H-1_{Pent}), 2.72, 2.68 (2 dt, 6 H, $^2J_{\text{H,H}} = 12.8$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 5.8$ Hz, H-5_{Pent}), 2.06-1.95 (8 s, 36 H, MeCO), 1.85 (m, 6 H, H-4_{Pent}).

^{13}C RMN (125.7 MHz, CDCl_3): δ 171.0-169.3 (CO), 83.7 (C-1_{Glc}), 82.6 (C-1_{Man}), 75.7 (C-5_{Glc}), 73.8 (C-3_{Glc}), 71.2 (C-2_{Man}), 71.1 (C-1_{Pent}), 69.8 (C-2_{Glc}), 69.6 (C-3_{Pent}), 69.3 (C-3_{Man}), 68.9 (C-5_{Man}), 68.2 (C-4_{Glc}), 66.2 (C-4_{Man}), 65.2 (C-1), 62.3 (C-6_{Man}), 62.0 (C-6_{Glc}), 44.9 (C_q), 29.7 (C-4_{Pent}), 26.9 (C-5_{Pent}), 20.9-20.5 (MeCO).

EM (FAB): m/z 1371 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{56}\text{H}_{84}\text{O}_{31}\text{S}_3$: C 49.84, H 6.27. Encontrado: C 49.67, H 6.09.

Alternativamente, el compuesto **35** se obtuvo con un 65% de rendimiento por adición radicalaria al derivado diglucosilado **34** (1.28 g, 1.3 mmol), del tiol **139** (0.71 g,

1.95 mmol, 1.5 eq) usando AIBN como iniciador y purificación por cromatografía en columna usando AcOEt-éter de petróleo 1:1 → 3:1 como eluyente.

2,2-Bis-[5-(β-D-glucopiranosilitio)-2-oxapentil]-2-[5-(α-D-manopiranosilitio)-2-oxapentil]etanol (36):

El compuesto **36** se obtuvo mediante desacetilación a partir de **35** (150 mg, 0.11 mmol) siguiendo el procedimiento A descrito en los Métodos Generales.

Rend.: 99 mg (100%); R_f 0.50 (MeCN-H₂O-NH₄OH 6:3:1); $[\alpha]_D = +33.0$ (c 1.0, H₂O).

¹H RMN (500 MHz, D₂O): δ 5.12 (sa, 1 H, H-1_{Man}), 4.40 (d, 2 H, $J_{1,2} = 10.1$ Hz, H-1_{Glc}), 3.93 (da, 1 H, $J_{2,3} = 3.2$ Hz, H-2_{Man}), 3.86 (m, 1 H, H-5_{Man}), 3.78 (d, 2 H, $J_{6a,6b} = 11.5$ Hz, H-6a_{Glc}), 3.77 (da, 1 H, $J_{6a,6b} = 11.6$ Hz, H-6a_{Man}), 3.59 (dd, 2 H, $J_{5,6b} = 5.1$ Hz, H-6b_{Glc}), 3.66 (m, 2 H, H-6b_{man}, H-3_{Man}), 3.54 (t, 1 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.8$ Hz, H-4_{Man}), 3.49 (s, 2 H, CH₂OH), 3.48 (m, 6 H, H-3_{Pent}), 3.37 (t, 2 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.0$ Hz, H-3_{glc}), 3.32 (m, 2 H, H-5_{glc}), 3.31 (m, 6 H, H-1_{Pent}), 3.28 (t, 2 H, $J_{4,5} = 9.0$ Hz, H-4_{Glc}), 3.18 (t, 2 H, H-2_{Glc}), 2.73, 2.66 (2 dt, 6 H, $^2J_{H,H} = 13.2$ Hz, $^3J_{H,H} = 6.8$ Hz, H-5_{Pent}), 1.80 (m, 6 H, H-4_{Pent}).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O): δ 85.5 (C-1_{Glc}), 84.9 (C-1_{Man}), 79.8 (C-5_{Glc}), 77.2 (C-3_{Glc}), 73.2 (C-5_{Man}), 72.3 (C-2_{Glc}), 71.8 (C-2_{Man}), 71.1 (C-3_{Man}), 69.9 (C-3_{Pent}), 69.5 (C-4_{Glc}), 69.3 (C-1_{Pent}), 67.0 (C-4_{Man}), 61.5 (CH₂OH), 60.9 (C-6_{Glc}), 60.8 (C-6_{Man}), 45.0 (C_q), 29.2 (C-4_{PentGlc}), 28.5 (C-4_{PentMan}), 27.6 (C-5_{PentMan}), 26.8 (C-5_{PentGlc}).

EM (FAB): m/z 867 (10%, $[M + Na]^+$).

Análisis calculado para C₃₂H₆₀O₁₉S₃: C, 45.48, H, 7.16. Encontrado: C, 45.24, H, 6.94.

***p*-Toluensulfonato de 2,2-bis[5-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-β-D-glucopiranosilitio)-2-oxapentil]-2-[5-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-α-D-manopiranosilitio)-2-oxapentil]etilo (37):**

El compuesto **37** se preparó a partir de **35** (0.48 g, 0.36 mmol) y cloruro de *p*-toluensulfonilo (0.1 g, 0.53 mmol, 1.5 eq) siguiendo el procedimiento descrito para la

preparación de **25**. Tiempo de reacción: 48 h. Purificación por columna cromatográfica usando AcOEt-éter de petróleo 2:1.

Rend.: 0.50 g (93%); R_f 0.47 (AcOEt-éter de petróleo 2:1); $[\alpha]_D^{+9.0}$ (c 1.0, CH_2Cl_2); IR: ν_{max} 1755 cm^{-1} .

^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): δ 7.75, 7.32 (2 d, 4 H, $^3J_{\text{H,H}} = 6.9$ Hz, Ph), 5.27 (sa, 1 H, $J_{2,3} = 2.8$ Hz, H-2_{Man}), 5.24 (t, 1 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 10.1$ Hz, H-4_{Man}), 5.18 (m, 2 H, H-1_{Man}, H-3_{Man}), 5.15 (t, 2 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.5$ Hz, H-3_{Glc}), 5.01 (t, 2 H, $J_{4,5} = 9.5$ Hz, H-4_{Glc}), 4.95 (t, 2 H, $J_{1,2} = 9.5$ Hz, H-2_{Glc}), 4.45 (d, 2 H, H-1_{Glc}), 4.31 (ddd, 1 H, $J_{5,6a} = 5.0$ Hz, $J_{5,6b} = 2.1$ Hz, H-5_{Man}), 4.25 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 12.1$ Hz, H-6a_{Man}), 4.18 (dd, 2 H, $J_{6a,6b} = 12.4$ Hz, $J_{5,6a} = 4.4$ Hz, H-6a_{Glc}), 4.06 (dd, 2 H, $J_{5,6b} = 2.0$ Hz, H-6b_{Glc}), 4.02 (dd, 1 H, H-6b_{Man}), 3.92 (s, 2 H, CH_2OTs), 3.66 (ddd, 2 H, H-5_{Glc}), 3.32, 3.29 (2 t, 6 H, $^3J_{\text{H,H}} = 5.8$ Hz, H-3_{Pent}), 3.23 (s, 6 H, H-1_{Pent}), 2.64, 2.60 (2 dt, 6 H, $^2J_{\text{H,H}} = 14.0$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 6.8$ Hz, H-5_{Pent}), 2.39 (s, 3 H, *MePh*), 2.10-1.94 (8 s, 36 H, MeCO), 1.72 (m, 6 H, H-4_{Pent}).

^{13}C RMN (125.7 MHz, CDCl_3): δ 170.4-169.0 (CO), 144.4, 132.7, 129.5, 125.0 (Ph), 83.5 (C-1_{Glc}), 82.3 (C-1_{Man}), 75.5 (C-5_{Glc}), 73.6 (C-3_{Glc}), 70.8 (C-2_{Man}), 69.7 (C-2_{Glc}), 69.3 (C-3_{Pent}), 69.2 (C-3_{Man}, CH_2OTs), 68.8 (C-5_{Man}), 68.3 (C-1_{Pent}), 68.1 (C-4_{Glc}), 66.1 (C-4_{Man}), 62.1 (C-6_{Man}), 61.8 (C-6_{Glc}), 44.7 (C_q), 29.6 (C-4_{Pent}), 26.8 (C-5_{Pent}), 21.3 (*MePh*), 20.5-20.2 (MeCO).

EM (FAB): m/z 1525 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{63}\text{H}_{90}\text{O}_{33}\text{S}_4$: C 50.32, H 6.04. Encontrado: C 50.26, H 6.01.

2,2-Bis[5-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosilitio)-2-oxapentil]-2-[5-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-manopiranosilitio)-2-oxapentil]etil azida (38**):**

El tratamiento de **37** (0.41 g, 0.27 mmol) con NaN_3 (53 mg, 0.82 mmol, 3 eq), siguiendo el procedimiento descrito para la preparación de **26**, seguido de purificación por columna cromatográfica usando AcOEt-éter de petróleo 1:2 \rightarrow 2:1 rindió la azida **38**.

Rend.: 0.29 g (78%); R_f 0.39 (AcOEt-éter de petróleo 2:1); $[\alpha]_D +8.2$ (c 1.0, CH_2Cl_2); IR: ν_{max} 2104, 1755 cm^{-1} .

^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): δ 5.30 (sa, 1 H, $J_{2,3} = 4.4$ Hz, H-2_{Man}), 5.28 (t, 1 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.8$ Hz, H-4_{Man}), 5.21 (m, 2 H, H-1_{Man}, H-3_{Man}), 5.19 (t, 2 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.9$ Hz, H-3_{Glc}), 5.05 (2 H, t, $J_{4,5} = 9.9$ Hz, H-4_{Glc}), 4.99 (2 H, t, $J_{1,2} = 10.1$ Hz, H-2_{Glc}), 4.47 (2 H, d, H-1_{Glc}), 4.31 (ddd, 1 H, $J_{5,6a} = 5.2$ Hz, $J_{5,6b} = 2.2$ Hz, H-5_{Man}), 4.28 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 12.2$ Hz, H-6a_{Man}), 4.21 (dd, 2 H, $J_{6a,6b} = 12.4$ Hz, $J_{5,6a} = 4.9$ Hz, H-6a_{Glc}), 4.10 (dd, 2 H, $J_{5,6b} = 2.3$ Hz, H-6b_{Glc}), 4.06 (dd, 1 H, H-6b_{Man}), 3.69 (ddd, 2 H, H-5_{Glc}), 3.44, 3.43 (2 t, 6 H, $^3J_{\text{H,H}} = 5.8$ Hz, H-3_{Pent}), 3.29 (s, 6 H, H-1_{Pent}), 3.28 (s, 2 H, CH_2N_3), 2.73, 2.69 (2 dt, 6 H, $^2J_{\text{H,H}} = 13.1$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 7.4$ Hz, H-5_{Pent}), 2.10-1.96 (8 s, 36 H, MeCO), 1.83 (m, 6 H, H-4_{Pent}).

^{13}C RMN (125.7 MHz, CDCl_3): δ 170.5-169.2 (CO), 83.8 (C-1_{Glc}), 82.6 (C-1_{Man}), 75.8 (C-5_{Glc}), 73.8 (C-3_{Glc}), 71.1 (C-2_{Man}), 69.8 (C-2_{Glc}), 69.5 (C-3_{Pent}), 69.4 (C-3_{Man}), 69.3 (C-1_{Pent}), 69.0 (C-5_{Man}), 68.3 (C-4_{Glc}), 66.2 (C-4_{Man}), 62.3 (C-6_{Man}), 62.1 (C-6_{Glc}), 51.9 (CH_2N_3), 45.4 (C_q), 29.9 (C-4_{Pent}), 27.0 (C-5_{Pent}), 20.6-20.5 (MeCO).

EM (FAB): m/z 1396 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{56}\text{H}_{83}\text{N}_3\text{O}_{30}\text{S}_3$: C 48.93, H 6.09, N 3.06. Encontrado: C 48.92, H 6.05, N 2.95.

Alternativamente la azida **38** se preparó con un 75% de rendimiento a partir del alcohol **35** (0.43 g, 0.32 mmol) por transformación en el triflato correspondiente y posterior sustitución con azida sódica siguiendo el procedimiento descrito para **26**.

2,2-Bis[5-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosilitio)-2-oxapentil]-2-[5-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-manopiranosilitio)-2-oxapentil]etil isotiocianato (39**):**

El compuesto **39** se preparó a partir de la azida **38** (0.25 g, 0.18 mmol) siguiendo el procedimiento descrito para la preparación de **27** y purificación por cromatografía en columna usando AcOEt-éter de petróleo 1:2.

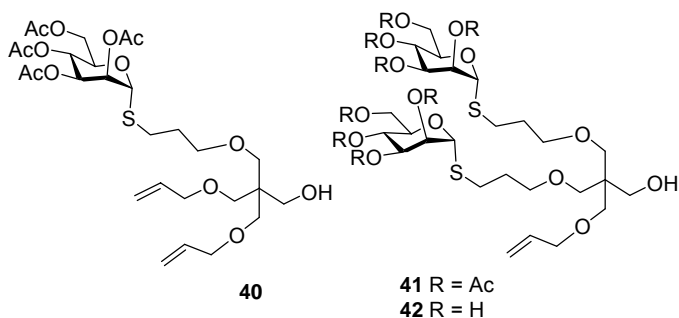
Rend.: 0.20 g (80%); R_f 0.16 (AcOEt-éter de petróleo 1:1); $[\alpha]_D +9.7$ (c 1.0, CH_2Cl_2); IR: ν_{max} 2104, 1754 cm^{-1} .

^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): δ 5.30 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 3.3$ Hz, $J_{1,2} = 1.4$ Hz, H-2_{Man}), 5.28 (t, 1 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.5$ Hz, H-4_{Man}), 5.21 (m, 2 H, H-1_{Man}, H-3_{Man}), 5.19 (t, 2 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.8$ Hz, H-3_{Glc}), 5.05 (t, 2 H, $J_{4,5} = 10.0$ Hz, H-4_{Glc}), 4.99 (t, 2 H, H-2_{Glc}), 4.47 (d, 2 H, $J_{1,2} = 10.1$ Hz, H-1_{Glc}), 4.35 (ddd, 1 H, $J_{5,6a} = 5.4$ Hz, $J_{5,6b} = 2.2$ Hz, H-5_{Man}), 4.28 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 12.1$ Hz, H-6a_{Man}), 4.20 (dd, 2 H, $J_{6a,6b} = 12.5$ Hz, $J_{5,6a} = 4.8$ Hz, H-6a_{Glc}), 4.10 (dd, 2 H, $J_{5,6b} = 2.4$ Hz, H-6b_{Glc}), 4.06 (1 H, dd, H-6b_{Man}), 3.69 (2 H, ddd, H-5_{Glc}), 3.53 (s, 2 H, CH_2NCS), 3.44, 3.43 (2 t, 6 H, $^3J_{\text{H,H}} = 6.0$ Hz, H-3_{Pent}), 3.31 (s, 6 H, H-1_{Pent}), 2.73, 2.70 (2 dt, 6 H, $^3J_{\text{H,H}} = 12.9$ Hz, $^2J_{\text{H,H}} = 8.6$ Hz, H-5_{Pent}), 2.14-1.96 (8 s, 36 H, MeCO), 1.83 (m, 6 H, H-4_{Pent}).

^{13}C RMN (125.7 MHz, CDCl_3): δ 170.6-169.3 (CO), 130.7 (NCS), 83.8 (C-1_{Glc}), 82.7 (C-1_{Man}), 75.8 (C-5_{Glc}), 73.9 (C-3_{Glc}), 71.2 (C-2_{Man}), 69.9 (C-2_{Glc}), 69.8 (C-3_{Pent}), 69.6 (C-1_{Pent}), 69.4 (C-3_{Man}), 69.0 (C-5_{Man}), 68.3 (C-4_{Glc}), 66.3 (C-4_{Man}), 62.4 (C-6_{Man}), 62.1 (C-6_{Glc}), 45.9 (CH_2NCS), 45.7 (C_q), 29.8 (C-4_{Pent}), 27.1 (C-5_{Pent}), 20.9-20.6 (MeCO).

EM (FAB): m/z 1411 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{57}\text{H}_{83}\text{NO}_{30}\text{S}_4$: C 49.23, H 6.01, N 1.00. Encontrado: C 49.12, H 5.85, N 1.00.



2-(2-Oxapent-4-enil)-2-[5-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-manopiranosil)ti]o)-2-oxapentil]etanol (40**):**

Una mezcla del derivado trialilado **235** (1.63 g, 6.37 mmol), el tiol **236** (1.93 g, 5.31 mmol, 0.33 eq) y AIBN (209 mg, 1.27 mmol, 0.2 eq) en dioxano (32 mL) se agitó bajo atmósfera de Ar a 75 °C durante 1 h. La reacción se detuvo por adición de ciclohexeno (4.2 mL), los disolventes se eliminaron a presión reducida y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna usando AcOEt-éter de petróleo 1:2 \rightarrow 2:1 como eluyente.

Rend.: 1.35 g (41%). Se aisló además el derivado dimanosilado **41** (874 mg, 33%); R_f 0.55 (AcOEt-éter de petróleo 1:1); $[\alpha]_D +68.3$ (c 1.0, CH_2Cl_2).

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 5.84 (ddt, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 17.3$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 10.4$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 5.4$ Hz, $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{)$, 5.32 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 3.0$ Hz, $J_{1,2} = 1.5$ Hz, H-2_{Man}), 5.28 (t, 1 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 8.5$ Hz, H-4_{Man}), 5.27 (sa, 1 H, H-1_{Man}), 5.25 (dd, 1 H, H-3_{Man}), 5.22 (dc, 2 H, $^2J_{\text{H,H}} = ^4J_{\text{H,H}} = 1.6$ Hz, =CH_a), 5.13 (dc, 2 H, $^4J_{\text{H,H}} = 1.6$ Hz, =CH_b), 4.38 (ddd, 1 H, $J_{5,6a} = 5.2$ Hz, $J_{5,6b} = 2.3$ Hz, H-5_{Man}), 4.30 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 12.0$ Hz, H-6a_{Man}), 4.08 (dd, 1 H, H-6b_{Man}), 3.94 (dt, 4 H, $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{)$, 3.68 (d, 2 H, $J_{\text{H,OH}} = 5.5$ Hz, CH_2OH), 3.49 (t, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 6.0$ Hz, H-3_{Pent}), 3.46 (s, 4 H, CH_2OAll), 3.45 (s, 2 H, H-1_{Pent}), 2.82 (t, 1 H, OH), 2.69, 2.66 (2 dt, 2 H, $^2J_{\text{H,H}} = 14.2$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 7.0$ Hz, H-5_{Pent}), 2.15-1.97 (4 s, 24 H, MeCO), 1.86 (m, 2 H, H-4_{Pent}).

^{13}C RMN (75.5 MHz, CDCl_3): δ 170.4-169.5 (CO), 134.5 ($\text{CH}_2\text{CH}=\text{)$, 116.5 ($=\text{CH}_2$), 82.6 (C-1_{Man}), 72.2 ($\text{CH}_2\text{CH}=\text{)$, C-2_{Man}), 71.0 (C-1_{Pent}), 70.7 (CH_2OAll), 69.3 (C-3_{Pent}), 69.2 (C-3_{Man}), 68.8 (C-5_{Man}), 66.1 (C-4_{Man}), 65.8 (CH_2OH), 62.3 (C-6_{Man}), 44.7 (C_q), 29.3 (C-4_{Pent}), 28.0 (C-5_{Pent}), 20.7-20.4 (MeCO).

EM (FAB): m/z 643 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{O}_{13}\text{S}$: C 54.18, H 7.14. Encontrado: C 54.01, H 7.20.

2-(2-Oxapent-4-enil)-2,2-bis[5-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-manopiranosilitio)-2-oxapentil]etanol (41):

Una mezcla del derivado trialilado **235** (0.2 g, 0.78 mmol) y el tiol **236** (0.85 g, 2.34 mmol, 1 eq) en MeOH desgasificado (15 mL) se irradió a 250 nm bajo atmósfera de Ar durante 1 h. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna usando AcOEt-éter de petróleo 1:1 como eluyente.

Rend.: 0.55 g (72%); R_f 0.50 (AcOEt-éter de petróleo 2:1); $[\alpha]_D +20.2$ (c 0.8, CH_2Cl_2); IR: ν_{max} 3501, 3016, 1754 cm^{-1} .

^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): δ 5.85 (ddt, 1 H, $^3J_{\text{H,H}} = 15.9$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 10.5$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 5.5$ Hz, $\text{OCH}_2\text{CH=}$), 5.32 (dd, 2 H, $J_{2,3} = 3.3$ Hz, $J_{1,2} = 1.5$ Hz, H-2_{Man}), 5.27 (t, 2 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.8$ Hz, H-4_{Man}), 5.25 (sa, 2 H, H-1_{Man}), 5.24 (dd, 2 H, H-3_{Man}), 5.22 (dd, 1 H, $^2J_{\text{H,H}} = 1.7$ Hz, =CH_a), 5.15 (dc, 1 H, $^4J_{\text{H,H}} = 1.7$ Hz, =CH_b), 4.36 (ddd, 2 H, $J_{5,6a} = 5.2$ Hz, $J_{5,6b} = 2.3$ Hz, H-5_{Man}), 4.29 (dd, 2 H, $J_{6a,6b} = 12.1$ Hz, H-6a_{Man}), 4.08 (dd, 2 H, H-6b_{Man}), 3.94 (dt, 2 H, $\text{OCH}_2\text{CH=}$), 3.66 (s, 2 H, CH_2OH), 3.47 (t, 4 H, $^3J_{\text{H,H}} = 6.0$ Hz, H-3_{Pent}), 3.43 (s, 2 H, CH_2OAll), 3.42 (s, 4 H, H-1_{Pent}), 2.70, 2.67 (2 dt, 4 H, $^3J_{\text{H,H}} = 11.0$ Hz, $^2J_{\text{H,H}} = 6.4$ Hz, H-5_{Pent}), 2.04, 1.97, 2.15, 2.08 (4 s, 24 H, MeCO), 1.87 (m, 4 H, H-4_{Pent}).

^{13}C RMN (75.5 MHz, CDCl_3): δ 170.4, 169.8, 169.6, 169.5 (CO), 134.5 ($\text{CH}_2\text{CH=}$), 116.6 (=CH₂), 82.5 (C-1_{Man}), 72.2 ($\text{CH}_2\text{CH=}$), 71.0 (C-2_{Man}), 70.9 (C-1_{Pent}), 70.6 (CH_2OAll), 69.4 (C-3_{Pent}), 69.3 (C-3_{Man}), 68.9 (C-5_{Man}), 66.1 (C-4_{Man}), 65.5 (CH_2OH), 62.2 (C-6_{Man}), 44.7 (C_q), 29.3 (C-4_{Pent}), 28.1 (C-5_{Pent}), 20.7-20.4 (MeCO).

EM (FAB): m/z 1007 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{42}\text{H}_{64}\text{O}_{22}\text{S}_2$: C 51.20, H 6.55. Encontrado: C 50.95, H 6.23.

Alternativamente, el derivado dimanosilado **41** se obtuvo con un 34% de rendimiento por adición radicalaria a **235** (1.18 g, 4.6 mmol) del tiol **236** (3.0 g, 8.24 mmol, 0.6 eq) usando AIBN como iniciador.

2-[2-Oxapent-4-enil]-2,2-bis-[5-(α -D-manopiranosiltio)-2-oxapentil]etanol

(42):

El compuesto **42** se obtuvo mediante desacetilación a partir de **41** (141 mg, 0.143 mmol) siguiendo el procedimiento A descrito en los Métodos Generales.

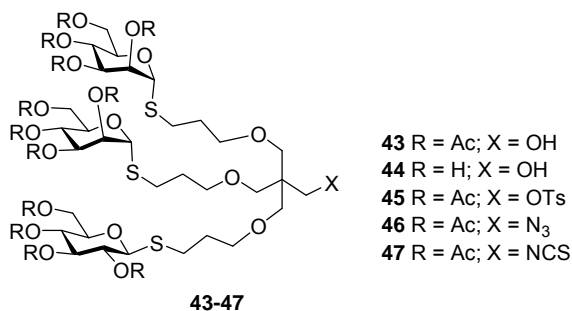
Rend.: 87 mg (96%); R_f 0.22 (MeCN-H₂O-NH₄OH 10:1:1); $[\alpha]_D = +134.7$ (c 0.95, H₂O).

¹H RMN (500 MHz, D₂O): δ 5.79 (ddt, 1 H, ³ $J_{H,H} = 17.5$ Hz, ³ $J_{H,H} = 12.0$ Hz, ³ $J_{H,H} = 6.0$ Hz, CH₂CH=), 5.17 (dd, 1 H, ² $J_{H,H} = 0.5$ Hz, =CH₂a), 5.11 (s, 2 H, H-1_{Man}), 5.10 (dd, 1 H, =CH₂b), 3.89 (da, 2 H, $J_{2,3} = 2.3$ Hz, H-2_{Man}), 3.88 (da, 2 H, CH₂CH=), 3.83 (ddd, 2 H, $J_{4,5} = 8.6$ Hz, $J_{5,6b} = 5.7$ Hz, $J_{5,6a} = 2.0$ Hz, H-5_{Man}), 3.71 (dd, 2 H, $J_{6a,6b} = 12.3$ Hz, H-6_{aMan}), 3.62 (m, 4 H, H-3_{Man}, H-6_{bMan}), 3.52 (t, 2 H, H-4_{Man}), 3.44 (t, 4 H, ³ $J_{H,H} = 5.9$ Hz, H-3_{Pent}), 3.42 (s, 2 H, CH₂OH), 3.31 (s, 2 H, CH₂OAll), 3.29 (s, 4 H, H-1_{Pent}), 2.60, 2.58 (2 dt, 4 H, ² $J_{H,H} = 13.5$ Hz, ³ $J_{H,H} = 7.0$ Hz, H-5_{Pent}), 1.80 (m, 4 H, H-4_{Pent}).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O): δ 134.1 (=CH), 117.8 (=CH₂), 84.9 (C-1_{Man}), 73.1 (C-5_{Man}), 72.4 (CH₂CH=), 71.8 (C-2_{Man}), 71.1 (C-3_{Man}), 69.9 (C-3_{PentMan}), 69.1 (C-1_{PentMan}), 68.9 (CH₂OAll), 67.0 (C-4_{Man}), 61.3 (CH₂OH), 60.8 (C-6_{Man}), 44.9 (C_q), 28.5 (C-4_{PentMan}), 27.6 (C-5_{PentMan}).

EM (FAB): m/z 671 (100%, [M + Na]⁺).

Análisis calculado para C₂₆H₄₈O₁₄S₂: C, 48.13, H, 7.46, Encontrado: C, 48.24, H, 7.31.



2-[5-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosilitio)-2-oxapentil]-2,2-bis[5-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-manopiranosilitio)-2-oxapentil]etanol (43**):**

Una mezcla del derivado dimanosilado **41** (0.16 g, 0.16 mmol) y el tiol **139** (89 mg, 0.24 mmol, 1.5 eq) en MeOH desgasificado (15 mL) se irradió a 250 nm bajo atmósfera de Ar durante 6 h. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna usando AcOEt-éter de petróleo 3:1 como eluyente. Rend.: 147 mg (68%); R_f 0.21 (AcOEt-éter de petróleo 2:1); $[\alpha]_D +29.4$ (c 0.6, CH_2Cl_2); IR: ν_{max} 3503, 1755 cm^{-1} .

^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): δ 5.32 (dd, 2 H, $J_{2,3} = 3.4$ Hz, $J_{1,2} = 1.5$ Hz, H-2_{Man}), 5.30 (t, 2 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.7$ Hz, H-4_{Man}), 5.24 (sa, 2 H, H-1_{Man}), 5.23 (dd, 2 H, H-3_{Man}), 5.21 (t, 1 H, H-3_{Glc}), 5.03 (t, 1 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.9$ Hz, H-4_{Glc}), 4.98 (t, 1 H, $J_{1,2} = J_{2,3} = 10.1$ Hz, H-2_{Glc}), 4.46 (d, 1 H, H-1_{Glc}), 4.32 (ddd, 2 H, $J_{5,6a} = 5.2$ Hz, $J_{5,6b} = 2.4$ Hz, H-5_{Man}), 4.26 (dd, 2 H, $J_{6a,6b} = 12.4$ Hz, H-6a_{Man}), 4.20 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 12.2$ Hz, $J_{5,6a} = 4.6$ Hz, H-6a_{Glc}), 4.08 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 2.2$ Hz, H-6b_{Glc}), 4.04 (dd, 2 H, H-6b_{Man}), 3.69 (ddd, 1 H, H-5_{Glc}), 3.60 (s, 2 H, CH_2OH), 3.46, 3.45 (2 t, 6 H, $^3J_{\text{H,H}} = 5.9$ Hz, H-3_{Pent}), 3.36 (s, 6 H, H-1_{Pent}), 2.67, 2.63 (2 dt, 6 H, $^2J_{\text{H,H}} = 13.3$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 6.9$ Hz, H-5_{Pent}), 2.05-1.93 (8 s, 36 H, MeCO), 1.83 (m, 6 H, H-4_{Pent}).

^{13}C RMN (125.7 MHz, CDCl_3): δ 171.4-169.1 (CO), 83.6 (C-1_{Glc}), 82.6 (C-1_{Man}), 75.7 (C-5_{Glc}), 73.8 (C-3_{Glc}), 71.1 (C-2_{Man}), 69.9 (C-1_{Pent}), 69.8 (C-2_{Glc}), 69.5 (C-3_{Pent}), 69.4 (C-3_{Man}), 68.9 (C-5_{Man}), 68.3 (C-4_{Glc}), 67.9 (C-4_{Man}), 65.2 (CH_2OH), 62.3 (C-6_{Man}), 62.0 (C-6_{Glc}), 44.9 (C_q), 29.3 (C-4_{Pent}), 28.1 (C-5_{Pent}), 20.8-20.5 (MeCO).

EM (FAB): m/z 1371 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{56}\text{H}_{84}\text{O}_{31}\text{S}_3$: C 49.84, H 6.28. Encontrado: C 49.67, H 6.09.

Alternativamente, el derivado **43** se obtuvo con un 64% de rendimiento por adición radicalaria al derivado dimanosilado **41** (0.49 g, 0.49 mmol) del tiol **139** (0.27 g, 0.74

mmol, 1.5 eq) usando AIBN como iniciador y purificación por cromatografía en columna usando AcOEt-éter de petróleo 1:1→2:1 como eluyente.

2-[5-(β-D-Glucopiranosilitio)-2-oxapentil]-2,2-bis-[5-(α-D-manopiranosilitio)-2-oxapentil]etanol (44):

El compuesto **44** se obtuvo mediante desacetilación a partir de **43** (150 mg, 0.11 mmol) siguiendo el procedimiento A descrito en el apartado Métodos Generales.

Rend.: 99 mg (100%); R_f 0.53 (MeCN-H₂O-NH₄OH 6:3:1); $[\alpha]_D = +88.1$ (c 1.0, H₂O).

¹H RMN (500 MHz, D₂O): δ 5.14 (s, 2 H, H-1_{Man}), 4.36 (d, 1 H, $J_{1,2} = 10.0$ Hz, H-1_{Glc}), 3.90 (m, 2 H, H-2_{Man}), 3.84 (ddd, 2 H, $J_{4,5} = 9.3$ Hz, $J_{5,6b} = 6.1$ Hz, $J_{5,6a} = 1.8$ Hz, H-5_{Man}), 3.73 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 12.3$ Hz, H-6a_{Glc}), 3.71 (d, 2 H, $J_{6a,6b} = 11.0$ Hz, H-6a_{Man}), 3.62 (m, 4 H, H-6b_{Man}, H-3_{Man}), 3.55 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 4.9$ Hz, H-6b_{Glc}), 3.52 (t, 2 H, $J_{3,4} = 9.7$ Hz, H-4_{Man}), 3.44 (m, 6 H, H-3_{Pent}), 3.41 (s, 2 H, CH₂OH), 3.32 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.4$ Hz, H-3_{Glc}), 3.30 (s, 2 H, H-1_{PentGlc}), 3.29 (m, 4 H, H-1_{PentMan}), 3.28 (m, 1 H, H-5_{Glc}), 3.24 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.4$ Hz, H-4_{Glc}), 3.16 (t, 1 H, H-2_{Glc}), 2.60, 2.58 (2 dt, 6 H, $^2J_{H,H} = 13.5$ Hz, $^3J_{H,H} = 6.5$ Hz, H-5_{PentMan}), 1.78 (m, 4 H, H-4_{Pent}).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O): δ 85.5 (C-1_{Glc}), 84.9 (C-1_{man}), 79.8 (C-5_{Glc}), 77.2 (C-3_{Glc}), 73.1 (C-5_{Man}), 72.2 (C-2_{Glc}), 71.8 (C-2_{Man}), 71.1 (C-3_{Man}), 70.0 (C-3_{Pent}), 69.5 (C-4_{Glc}), 69.3 (C-1_{Pent}), 67.0 (C-4_{Man}), 61.4 (CH₂OH), 60.9 (C-6_{glc}), 60.8 (C-6_{Man}), 45.1 (C_q), 29.1 (C-4_{PentGlc}), 28.5 (C-4_{PentMan}), 27.6 (C-5_{PentMan}), 26.7 (C-5_{PentGlc}).

EM (FAB): m/z 867 (25%, $[M + Na]^+$).

Análisis calculado para C₃₂H₆₀O₁₉S₃: C, 45.48, H, 7.16. Encontrado: C, 45.24, H, 7.04.

***p*-Toluensulfonato de 2-[5-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-β-D-glucopiranosilitio)-2-oxapentil]-2,2-bis[5-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-α-D-manopiranosilitio)-2-oxapentil]etilo (45):**

El compuesto **45** se preparó a partir de **43** (0.44 g, 0.33 mmol) y cloruro de *p*-toluensulfonilo (93 mg, 0.49 mmol, 1.5 eq) siguiendo el procedimiento descrito para la preparación de **25**. Tiempo de reacción: 16 h. Purificación por columna cromatográfica usando AcOEt-éter de petróleo 1:1.

Rend.: 0.48 g (97%); R_f 0.56 (AcOEt-éter de petróleo 2:1); $[\alpha]_D +43.7$ (c 1.0, CH_2Cl_2).

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 7.76, 7.35 (2 d, 4 H, $^3J_{\text{H,H}} = 8.2$ Hz, Ph), 5.25 (t, 2 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.0$ Hz, H-4_{Man}), 5.32 (m, 4 H, H-2_{Man}, H-1_{Man}), 5.24 (m, 2 H, H-3_{Man}), 5.21 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 10.0$ Hz, H-3_{Glc}), 5.07 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.8$ Hz, H-4_{Glc}), 5.01 (t, 1 H, $J_{1,2} = 10.0$ Hz, H-2_{Glc}), 4.50 (d, 1 H, H-1_{Glc}), 4.37 (m, 2 H, H-5_{Man}), 4.31 (dd, 2 H, $J_{6a,6b} = 11.9$ Hz, $J_{5,6a} = 5.1$ Hz, H-6a_{Man}), 4.24 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 12.4$ Hz, $J_{5,6a} = 4.8$ Hz, H-6a_{Glc}), 4.12 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 2.1$ Hz, H-6b_{Glc}), 4.08 (dd, 2 H, $J_{5,6b} = 1.6$ Hz, H-6b_{Man}), 3.98 (s, 2 H, CH_2OTs), 3.72 (ddd, 1 H, H-5_{Glc}), 3.37, 3.36 (2 t, 6 H, $^3J_{\text{H,H}} = 5.8$ Hz, H-3_{Pent}), 3.29 (s, 6 H, H-1_{Pent}), 2.66, 2.63 (2 dt, 6 H, $^2J_{\text{H,H}} = 13.3$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 7.0$ Hz, H-5_{Pent}), 2.29 (s, 3 H, *MePh*), 2.15-1.98 (8 s, 36 H, *MeCO*), 1.79 (6 H, m, H-4_{Pent}).

^{13}C RMN (75.5 MHz, CDCl_3): δ 170.4-169.2 (CO), 144.6, 132.7, 129.7, 127.7 (Ph), 83.7 (C-1_{Glc}), 82.5 (C-1_{Man}), 75.6 (C-5_{Glc}), 73.7 (C-3_{Glc}), 71.0 (C-2_{Man}), 69.7 (C-2_{Glc}), 69.4 (C-3_{Pent}), 69.3 (CH_2OTs , C-3_{Man}), 68.8 (C-5_{Man}), 68.5 (C-1_{Pent}), 68.1 (C-4_{Glc}), 66.1 (C-4_{Man}), 62.2 (C-6_{Man}), 61.9 (C-6_{Glc}), 44.6 (C_q), 29.3 (C-4_{Pent}), 28.0 (C-5_{Pent}), 21.4 (*MePh*), 20.7, 20.5 (*MeCO*).

EM (FAB): m/z 1525 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{63}\text{H}_{90}\text{O}_{33}\text{S}_4$: C 50.32, H 6.03. Encontrado: C 50.35, H 6.16.

2-[5-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosilitio)-2-oxapentil]-2,2-bis[5-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-manopiranosilitio)-2-oxapentil]etil azida (46**):**

El tratamiento de **45** (363 mg, 0.24 mmol) con NaN_3 (47 mg, 0.73 mmol, 3 eq), siguiendo el procedimiento descrito para la preparación de **26**, seguido de purificación por columna cromatográfica usando AcOEt-éter de petróleo 1:1 \rightarrow 2:1 rindió la azida **46**.

Rend.: 0.23 g (70%); R_f 0.37 (AcOEt-éter de petróleo 2:1); $[\alpha]_D +45.3$ (c 1.0, CH_2Cl_2); IR: ν_{max} 2103, 1754 cm^{-1} .

^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): δ 5.33 (dd, 2 H, $J_{2,3} = 3.3$ Hz, $J_{1,2} = 1.5$ Hz, H-2_{Man}), 5.31 (t, 2 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.8$ Hz, H-4_{Man}), 5.25 (sa, 2 H, H-1_{Man}), 5.24 (dd, 2 H, H-3_{Man}), 5.22 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.7$ Hz, H-3_{Glc}), 5.07 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.7$ Hz, H-4_{Glc}), 5.02 (t, 1 H, $J_{1,2} = 10.1$ Hz, H-2_{Glc}), 4.49 (d, 1 H, H-1_{Glc}), 4.37 (ddd, 2 H, $J_{5,6a} = 5.2$ Hz, $J_{5,6b} = 2.3$ Hz, H-5_{Man}), 4.31 (dd, 2 H, $J_{6a,6b} = 12.2$ Hz, H-6a_{Man}), 4.23 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 12.4$ Hz, $J_{5,6a} = 4.9$ Hz, H-6a_{Glc}), 4.12 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 2.2$ Hz, H-6b_{Glc}), 4.08 (dd, 2 H, H-6b_{Man}), 3.71 (ddd, 1 H, H-5_{Glc}), 3.46, 3.45 (2 t, 6 H, $^3J_{\text{H,H}} = 5.9$ Hz, H-3_{Pent}), 3.30 (s, 8 H, CH_2N_3 , H-1_{Pent}), 2.70, 2.66 (2 dt, 6 H, $^2J_{\text{H,H}} = 13.3$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 6.9$ Hz, H-5_{Pent}), 2.16-1.98 (8 s, 36 H, MeCO), 1.86 (m, 6 H, H-4_{Pent}).

^{13}C RMN (75.5 MHz, CDCl_3): δ 170.3-169.1 (CO), 83.6 (C-1_{Glc}), 82.5 (C-1_{Man}), 75.6 (C-5_{Glc}), 73.7 (C-3_{Glc}), 71.0 (C-2_{Man}), 69.7 (C-2_{Glc}), 69.4 (C-3_{Pent}), 69.3 (C-3_{Man}), 69.2 (C-1_{Pent}), 68.8 (C-5_{Man}), 68.2 (C-4_{Glc}), 66.1 (C-4_{Man}), 62.2 (C-6_{Man}), 62.0 (C-6_{Glc}), 51.8 (CH_2N_3), 45.2 (C_q), 29.3 (C-4_{Pent}), 28.0 (C-5_{Pent}), 20.7-20.4 (MeCO).

EM (FAB): m/z 1396 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{56}\text{H}_{83}\text{N}_3\text{O}_{30}\text{S}_3$: C 48.93, H 6.09 N 3.06. Encontrado: C 48.94, H 6.02, N 3.10.

Alternativamente la azida **46** se preparó con un 79% de rendimiento a partir del alcohol **43** (688 mg, 0.51 mmol) por transformación en el triflato correspondiente, posterior sustitución con azida sódica siguiendo el procedimiento descrito para **26** y purificación por columna cromatográfica usando AcOEt-éter de petróleo 1:1.

2-[5-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetil-1-tio- β -D-glucopiranosil)-2-oxapentil]-2,2-bis[5-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-1-tio- α -D-manopiranosil)-2-oxapentil]etil isotiocianato (47):

El compuesto **47** se preparó a partir de la azida **46** (131 mg, 0.095 mmol) siguiendo el procedimiento descrito para la preparación de **6** y purificación por cromatografía en columna usando AcOEt-éter de petróleo 1:1 → 2:1.

Rend.: 106 mg (80%); R_f 0.50 (AcOEt-éter de petróleo 2:1); $[\alpha]_D +40.8$ (c 1.0, CH_2Cl_2);

IR: ν_{max} 2104, 1754 cm^{-1} .

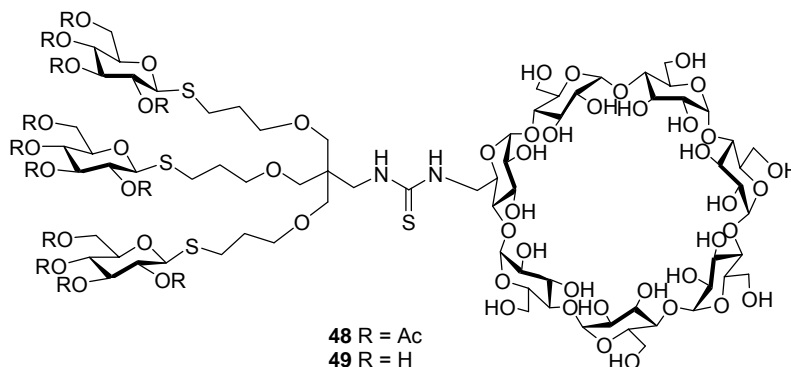
^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): δ 5.31 (dd, 2 H, $J_{2,3} = 3.5$ Hz, $J_{1,2} = 1.6$ Hz, H-2_{Man}), 5.29 (t, 2 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.9$ Hz, H-4_{Man}), 5.24 (sa, 2 H, H-1_{Man}), 5.22 (dd, 2 H, H-3_{Man}), 5.20 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.9$ Hz, H-3_{Glc}), 5.05 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.9$ Hz, H-4_{Glc}), 5.00 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 10.1$ Hz, H-2_{Glc}), 4.48 (d, 1 H, H-1_{Glc}), 4.35 (ddd, 2 H, $J_{5,6a} = 5.2$ Hz, $J_{5,6b} = 2.3$ Hz, H-5_{Man}), 4.29 (dd, 2 H, $J_{6a,6b} = 12.3$ Hz, H-6a_{Man}), 4.21 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 12.4$ Hz, $J_{5,6a} = 4.9$ Hz, H-6a_{Glc}), 4.10 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 2.3$ Hz, H-6b_{Glc}), 4.07 (dd, 2 H, H-6b_{Man}), 3.70 (ddd, 1 H, H-5_{Glc}), 3.53 (s, 2 H, CH_2NCS), 3.46, 3.45 (2 t, 6 H, $^3J_{\text{H,H}} = 5.9$ Hz, H-3_{Pent}), 3.33 (s, 6 H, H-1_{Pent}), 2.69, 2.65 (2 dt, 6 H, $^2J_{\text{H,H}} = 13.3$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 7.0$ Hz, H-5_{Pent}), 2.14-1.96 (8 s, 6 H, MeCO), 1.86 (m, 6 H, H-4_{Pent}).

^{13}C RMN (125.7 MHz, CDCl_3): δ 170.4-169.2 (CO), 130.4 (NCS), 83.7 (C-1_{Glc}), 82.6 (C-1_{Man}), 75.8 (C-5_{Glc}), 73.8 (C-3_{Glc}), 71.1 (C-2_{Man}), 69.8 (C-2_{Glc}), 69.6 (C-3_{Pent}), 69.5 (C-1_{Pent}), 69.4 (C-3_{Man}), 69.0 (C-5_{Man}), 68.3 (C-4_{Glc}), 66.2 (C-4_{Man}), 62.3 (C-6_{Man}), 62.1 (C-6_{Glc}), 45.8 (CH_2NCS), 45.6 (C_q), 29.4 (C-4_{Pent}), 28.2 (C-5_{Pent}), 20.9-20.5 (MeCO).

EM (FAB): m/z 1412 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{57}\text{H}_{83}\text{NO}_{30}\text{S}_4$: C 49.23, H 6.01, N 1.00. Encontrado: C 49.09, H 6.05, N 0.90.

9.3.6. Preparación de conjugados monorrámificados S-glicosídicos homovalentes.



6^I-Desoxi-6^I-[N'-[2,2,2-tris[5-(2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosilitio)-2-oxapentil]etil]tioureido]ciclomaltoheptaosa (48):

El compuesto **48** se preparó por acoplamiento de la CD monoamina (**104**, 28 mg, 25 μmol) con el isotiocianato **27** (36 mg, 25 μmol) en piridina (2 mL) a 40 °C durante 24 h, seguido de coevaporación del disolvente con tolueno y purificación del residuo resultante mediante cromatografía en columna usando MeCN → MeCN-H₂O 3:1.

Rend.: 32 mg (50%); R_f 0.68 (MeCN-H₂O-NH₄OH 6:3:1); $[\alpha]_D + 36.7$ (c 0.3, MeOH).

¹H RMN (500 MHz, CD₃OD): δ 5.27 (t, 3 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.5$ Hz, H-3_{Glc}), 5.01 (t, 3 H, $J_{4,5} = 9.5$ Hz, H-4_{Glc}), 4.97 (m, 7 H, H-1^{I-VII}), 4.94 (t, 3 H, $J_{1,2} = 9.5$ Hz, H-2_{Glc}), 4.75 (d, 3 H, H-1), 4.25 (dd, 3 H, $J_{6a,6b} = 13.0$ Hz, $J_{5,6a} = 5.5$ Hz, H-6a_{Glc}), 4.12 (3 H, sa, $J_{5,6b} = 2.5$ Hz, H-6b_{Glc}), 4.00 (m, 2 H, H-5^I, H-6a^I), 3.92 (3 H, ddd, H-5_{Glc}), 3.89-3.78 (m, 19 H, H-3^{I-VII}, H-6a^{II-VII}, H-6b^{II-VII}), 3.75-3.68 (m, 6 H, H-5^{II-VII}), 3.51-3.38 (m, 21 H, H-2^{I-VII}, H-4^{II-VII}, H-3_{Pent}, CH₂NH), 3.39 (m, 6 H, H-1_{Pent}), 3.23 (m, 2 H, H-4^I, H-6b^I), 2.81, 2.76 (2 dt, 6 H, H-5_{Pent}), 2.06, 2.03, 2.00, 1.96 (4 s, 36 H, MeCO), 1.88 (m, 6 H, H-4_{Pent}).

¹³C RMN (125.7 MHz, CD₃OD): δ 184.4 (CS), 172.3-171.1 (CO), 104.3 (C-1^{II}), 103.9-103.7 (C-1^{I, III-VII}), 84.8 (C-1_{Glc}), 84.7 (C-4^I), 83.0-82.7 (C-4^{II-VII}), 76.7 (C-5_{Glc}), 75.2 (C-3_{Glc}), 74.8-74.7 (C-3^{I-VII}), 74.9-73.7 (C-5^{II-VII}, C-2^{I-VII}), 71.8 (C-5^I), 71.3 (C-2_{Glc}, C-1_{Pent}),

70.7 (C-3_{Pent}), 69.8 (C-4_{Glc}), 63.4 (C-6_{Glc}), 61.9-61.6 (C-6^{II-VII}), 46.9 (C-6^I, CH₂NH), 45.8 (C_q), 31.1 (C-4_{Pent}), 28.3 (C-5_{Pent}), 21.2 (MeCO).

Análisis calculado para C₉₉H₁₅₄N₂O₆₄S₄: C 47.01, H 6.15, N 1.11. Encontrado: C 47.01, H 6.01, N 1.15.

6^I-Desoxi-6^I-[N'-[2,2,2-tris[5-(β-D-glucopiranosilitio)-2-oxapentil]etil]tioureido]ciclomaltoheptaosa (49):

El compuesto **49** se obtuvo mediante desacetilación, seguida de saponificación, a partir de **48** (21 mg, 8 μmol) siguiendo el procedimiento A descrito en los Métodos Generales.

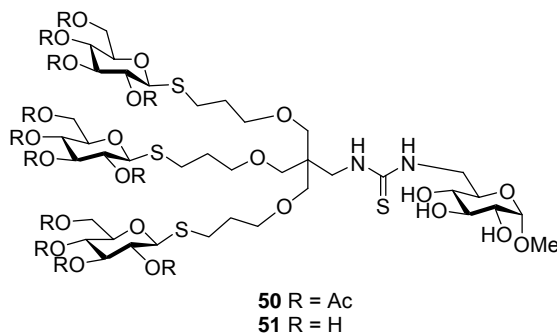
Rend.: 16 mg (100%); R_f 0.17 (MeCN-H₂O-NH₄OH 6:3:1); [α]_D + 82.4 (c 1.0, H₂O).

¹H RMN (500 MHz, D₂O, 313 K): δ 5.19-5.21 (m, 7 H, H-1^{I-VII}), 4.64 (d, 3 H, J_{1,2} = 8.8 Hz, H-1_{Glc}), 4.10-3.95 (m, 28 H, H-3^{I-VII}, H-5^{I-VII}, H-6a^{I-VII}, H-6b^{I-VII}), 3.83 (dd, 3 H, J_{6a,6b} = 12.6 Hz, J_{5,6a} = 5.4 Hz, H-6a_{Glc}), 3.79 (m, 2 H, CH₂NH), 3.78 (sa, 3 H, H-6b_{Glc}), 3.76-3.69 (20 H, m, H-2^{I-VII}, H-4^{I-VII}, H-3_{Pent}), 3.67 (s, 6 H, H-1_{Pent}), 3.62 (t, 3 H, J_{2,3} = J_{3,4} = 8.8 Hz, H-3_{Glc}), 3.60-3.52 (m, 6 H, H-5_{Glc}, H-4_{Glc}), 3.45 (t, 3 H, H-2_{Glc}), 2.98-2.92 (m, 6 H, H-5_{Pent}), 2.07 (m, 6 H, H-4_{Pent}).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O, 313 K): δ 181.9 (CS), 103.2 (C-1^{I-VII}), 86.7 (C-1_{Glc}), 82.5 (C-4^{I-VII}), 81.2 (C-5_{Glc}), 78.6 (C-3_{Glc}), 74.5 (C-3^{I-VII}), 73.9-73.2 (C-2^{I-VII}, C-5^{I-VII}, C-2_{Glc}), 71.5 (C-1_{Pent}), 70.9 (C-4_{Glc}, C-3_{Pent}), 62.3 (C-6_{Glc}), 61.6 (C-6^{II-VII}), 44.0 (C_q, C-6^I), 30.4 (C-4_{Pent}), 28.1 (C-5_{Pent}).

EM (MALDI-TOF): m/z 2041.5 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para C₇₅H₁₂₈N₂O₅₂S₄: C 44.64, H 6.39, N 1.39. Encontrado: C 44.49, H 6.41, N 1.28.



Metil 6-desoxi-6-[N'-[2-[5-(2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosiltio)-2-oxapentil]etil]tioureido]-α-D-glucopiranosido (50):

A una disolución de metil 6-amino-6-desoxi-α-D-glucopiranosido (**153**, 15 mg, 79 μmol) en piridina (1 mL) se añadió el isotiocianato **27** (110 mg, 79 μmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. El disolvente se evaporó a presión reducida y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía en columna usando como eluyente AcOEt.

Rend.: 88 mg (70%); R_f 0.25 (AcOEt); $[\alpha]_D - 12.4$ (c 1.1, MeOH).

^1H RMN (500 MHz, CD_3OD): δ 5.28 (t, 3 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.3$ Hz, H-3_{Glc}), 5.03 (t, 3 H, $J_{4,5} = 9.3$ Hz, H-4_{Glc}), 4.95 (t, 3 H, $J_{1,2} = 9.3$ Hz, H-2_{Glc}), 4.80 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.7$ Hz, H-1), 4.75 (d, 3 H, H-1_{Glc}), 4.25 (dd, 3 H, $J_{6a,6b} = 12.4$ Hz, $J_{5,6a} = 5.0$ Hz, H-6a_{Glc}), 4.14 (dd, 3 H, $J_{5,6b} = 2.3$ Hz, H-6b_{Glc}), 3.91 (ddd, 3 H, H-5_{Glc}), 3.76 (m, 1 H, H-6a), 3.63 (m, 2 H, H-5, H-6b), 3.62 (1 H, t, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.2$ Hz, H-3), 3.52 (t, 6 H, $^3J_{\text{H,H}} = 5.9$ Hz, H-3_{Pent}), 3.41 (m, 1 H, H-2), 3.40 (m, 8 H, H-1_{Pent}, CH_2NH), 3.39 (s, 3 H, OMe), 3.19 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.2$ Hz H-4), 2.82, 2.78 (2 dt, 6 H, $^2J_{\text{H,H}} = 13.1$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 7.3$ Hz, H-5_{Pent}), 2.05-1.95 (4 s, 36 H, MeCO), 1.82 (m, 6 H, H-4_{Pent}).

^{13}C RMN (125.7 MHz, CD_3OD): δ 182.4 (CS), 172.3, 171.6, 171.4, 171.1 (CO), 101.4 (C-1), 84.8 (C-1_{Glc}), 76.8 (C-5), 75.3 (C-3_{Glc}), 74.5 (C-3), 73.6 (C-2), 72.6 (C-4), 72.1 (C-5), 71.7 (C-1_{Pent}), 71.6 (C-2_{Glc}), 70.9 (C-3_{Pent}), 69.9 (C-4_{Glc}), 63.4 (C-6_{Glc}), 55.8 (OMe), 45.9 (C_q, CH_2NH , C-6), 30.7 (C-4_{Pent}), 28.3 (C-5_{Pent}), 20.9, 20.8, 20.6 (MeCO).

EM (FAB): m/z 1606 $[M + Na]^+$.

Análisis calculado para $C_{64}H_{98}N_2O_{35}S_4$: C 48.74, H 6.24, N 1.77. Encontrado: C 48.55, H 6.05, N 1.71.

Metil 6-desoxi-6-[N'-[2,2,2-tris[5-(β -D-glucopiranosilitio)-2-oxapentil]etil]-tioureido]- α -D-glucopiranosido (51).

Se obtuvo mediante desacetilación de **50** (25 mg, 16 μ mol) siguiendo el procedimiento A descrito en los Métodos Generales.

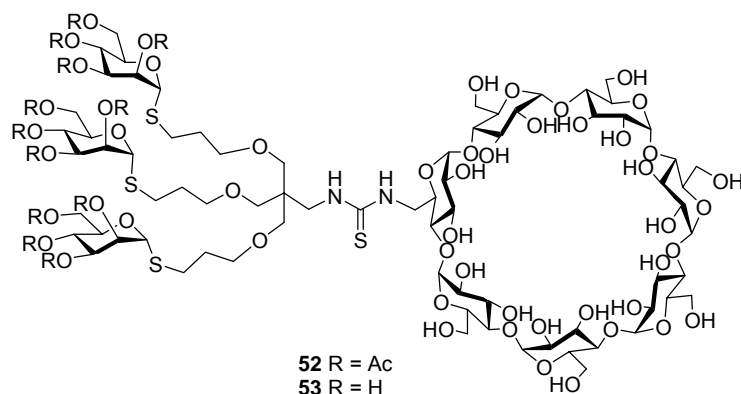
Rend.: 17 mg (100%); R_f 0.31 (MeCN-H₂O-NH₄OH 6:3:1); $[\alpha]_D - 11.6$ (c 1.0, H₂O).

¹H RMN (500 MHz, D₂O, 343 K): δ 5.21 (d, 1H, $J_{1,2} = 4.0$ Hz, H-1), 4.90 (d, 3 H, $J_{1,2} = 9.0$ Hz, H-1_{Glc}), 4.28 (dd, 3 H, $J_{6a,6b} = 12.5$ Hz, $J_{5,6a} = 1.5$ Hz, H-6a_{Glc}), 4.26 (m, 1 H, H-6a), 4.16 (m, 1 H, H-6b), 4.14 (ddd, 1 H, $J_{4,5} = 10.0$ Hz, $J_{5,6a} = 8.0$ Hz, $J_{5,6b} = 2.0$ Hz, H-5), 4.11 (dd, 3 H, $J_{5,6b} = 4.5$ Hz, H-6b_{Glc}), 4.07 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 8.5$ Hz, H-3), 4.00 (6 H, t, $^3J_{H,H} = 6.5$ Hz, H-3_{Pent}), 3.96 (dd, 1 H, H-2), 3.89 (t, 3 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.0$ Hz, H-3_{Glc}), 3.85 (s, 6 H, H-1_{Pent}), 3.84 (t, 3 H, $J_{4,5} = 9.0$ Hz, H-4_{Glc}), 3.82 (ddd, 3 H, H-5_{Glc}), 3.81 (m, 5 H, OMe, CH₂NH), 3.73 (t, 3 H, H-2_{Glc}), 3.71 (dd, 1 H, H-4), 3.23, 3.21 (2 dt, 6 H, $^2J_{H,H} = 13.0$ Hz, $^3J_{H,H} = 5.5$ Hz, H-5_{Pent}), 2.33 (m, 6 H, H-4_{Pent}).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O): δ 182.0 (CS), 100.6 (C-1), 86.8 (C-1_{Glc}), 81.2 (C-5_{Glc}), 78.6 (C-3_{Glc}), 74.2 (C-3), 73.7 (C-2_{Glc}), 72.8 (C-2), 72.7 (C-4), 72.5 (C-5), 71.4 (C-1_{Pent}, C-3_{Pent}), 70.9 (C-4_{Glc}), 62.3 (C-6_{Glc}), 56.4 (OMe), 45.7 (C_q, CH₂NH, C-6), 30.6 (C-4_{Pent}), 28.2 (C-5_{Pent}).

EM (FAB): m/z 1101 $[M + Na]^+$.

Análisis calculado para $C_{40}H_{74}N_2O_{23}S_4$: C 44.51, H 6.91, N 2.60. Encontrado: C 44.17, H 6.72, N 2.42.



6^I-Desoxi-6^I-[N⁷-[2,2,2-tris[5-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-manopiranosilthio)-2-oxapentil]etil]tioureido]ciclomaltoheptaosa (52**):**

El compuesto **52** se preparó por acoplamiento de la amina **104** (50 mg, 44 μ mol) con el isotiocianato **32** (59 mg, 44 μ mol) en piridina (3 mL) a 40 °C durante 16 h, seguido de coevaporación del disolvente con tolueno y purificación del residuo resultante mediante cromatografía en columna usando MeCN \rightarrow MeCN-H₂O 3:1.

Rend.: 48 mg (44%); R_f 0.71 (MeCN-H₂O-NH₄OH 6:3:1); $[\alpha]_D + 82.9$ (c 0.4, MeOH).

¹H RMN (500 MHz, CD₃OD, 313 K): δ 5.32 (d, 3 H, $J_{1,2} = 1.5$ Hz, H-1_{Man}), 5.30 (dd, 3 H, $J_{2,3} = 3.5$ Hz, H-2_{Man}), 5.25 (t, 3 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 10.0$ Hz, H-4_{Man}), 5.19 (dd, 3 H, H-3_{Man}), 4.97-4.94 (m, 7 H, H-1^{I-VII}), 4.37 (ddd, 3 H, $J_{5,6a} = 5.0$ Hz, $J_{5,6b} = 2.5$ Hz, H-5_{Man}), 4.26 (dd, 3 H, $J_{6a,6b} = 12.0$ Hz, H-6a_{Man}), 4.11 (dd, 3 H, H-6b_{Man}), 4.00 (m, 2 H, H-5^I, H-6a^I), 3.75-3.70 (m, 6 H, H-5^{II-VII}), 3.57-3.38 (m, 27 H, H-2^{I-VII}, H-4^{II-VII}, H-3_{Pent}, CH₂NH), 3.41 (m, 6 H, H-1_{Pent}), 3.25 (m, 2 H, H-4^I, H-6b^I), 2.78 (m, 6 H, H-5_{Pent}), 2.12, 2.03, 2.01, 1.95 (36 H, 4 s, MeCO), 2.02 (m, 6 H, H-4_{Pent}).

¹³C RMN (125.7 MHz, CD₃OD, 313 K): δ 184.4 (CS), 172.3, 171.7, 171.6 (CO), 104.2 (C-1^{II}), 103.9-103.5 (C-1^{I,III-VII}), 85.9 (C-4^I), 84.0 (C-1_{Man}), 83.2-82.9 (C-4^{II-VII}), 74.9-74.7 (C-3^{I-VII}), 74.4-73.7 (C-5^{II-VII}, C-2^{I-VII}), 72.5 (C-2_{Man}), 71.9 (C-5^I), 71.2 (C-3_{Man}), 70.8 (C-

3_{Pent} , $C-1_{\text{Pent}}$, 70.5 ($C-5_{\text{Man}}$), 67.7 ($C-4_{\text{Man}}$), 63.7 ($C-6_{\text{Man}}$), 62.0-61.7 ($C-6^{\text{II-VII}}$), 47.4 ($C-6^{\text{I}}$, CH_2NH), 46.4 (C_{q}), 30.7 ($C-4_{\text{Pent}}$), 29.4 ($C-5_{\text{Pent}}$), 20.8, 20.7, 20.6 (MeCO).

EM (FAB): m/z 2546 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{99}\text{H}_{154}\text{N}_2\text{O}_{64}\text{S}_4$: C 47.01, H 6.15, N 1.11. Encontrado: C 46.88, H 6.26, N 1.00.

6^I-Desoxi-6^I-[N'-[2,2,2-tris[5-(α -D-manopiranosiltio)-2-oxapentil]etil]tioureido]ciclomaltoheptaosa (53).

Se obtuvo mediante desacetilación, seguida de saponificación, a partir de **52** (30 mg, 11.4 μmol) siguiendo el procedimiento A descrito en los Métodos Generales.

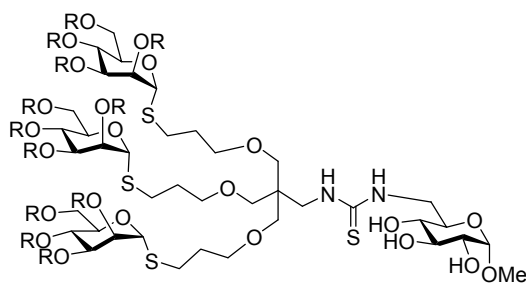
Rend.: 23 mg (100%); R_f 0.36 (MeCN- H_2O - NH_4OH 5:3:5); $[\alpha]_{\text{D}} + 162.4$ (c 1.0, H_2O).

^1H RMN (500 MHz, D_2O , 333 K): δ 5.56 (sa, 3 H, $\text{H}-1_{\text{Man}}$), 5.40-5.31 (m, 7 H, $\text{H}-1^{\text{I-VII}}$), 4.33 (sa, 3 H, $\text{H}-2_{\text{Man}}$), 4.28 (m, 3 H, $\text{H}-5_{\text{Man}}$), 4.21 (m, 3 H, $\text{H}-6a_{\text{Man}}$), 4.13 (m, 6 H, $\text{H}-3_{\text{Man}}$, $\text{H}-6b_{\text{Man}}$), 4.06 (t, 3 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 10.0$ Hz, $\text{H}-4_{\text{Man}}$), 4.00-3.90 (m, 28 H, $\text{H}-3^{\text{I-VII}}$, $\text{H}-5^{\text{I-VII}}$, $\text{H}-6a^{\text{I-VII}}$, $\text{H}-6b^{\text{I-VII}}$), 3.88-3.70 (m, 22 H, $\text{H}-2^{\text{I-VII}}$, $\text{H}-4^{\text{I-VII}}$, $\text{H}-3_{\text{Pent}}$, CH_2NH), 3.03, 3.01 (2 dt, 6 H, $^2J_{\text{H,H}} = 14.0$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 7.0$ Hz, $\text{H}-5_{\text{Pent}}$), 3.66 (s, 6 H, $\text{H}-1_{\text{Pent}}$), 2.19 (m, 6 H, $\text{H}-4_{\text{Pent}}$).

^{13}C RMN (125.7 MHz, D_2O , 333 K): δ , 182.0 (CS), 102.7, 101.7 ($C-1^{\text{I-VII}}$), 85.5 ($C-1_{\text{Man}}$), 83.8 ($C-4^{\text{I}}$), 81.3-80.3 ($C-4^{\text{II-VII}}$), 74.1-73.8 ($C-3^{\text{I-VII}}$), 73.7 ($C-5_{\text{Man}}$), 72.9-72.3 ($C-2^{\text{I-VII}}$, $C-5^{\text{I-VII}}$, $C-1_{\text{Pent}}$, $C-3_{\text{Pent}}$, $C-2_{\text{Man}}$), 71.9 ($C-3_{\text{Man}}$), 70.4 ($C-4_{\text{Man}}$), 67.5 ($C-6_{\text{Man}}$), 61.7-60.4 ($C-6^{\text{II-VII}}$), 46.3 (CH_2NH), 45.0 (C_{q} , $C-6^{\text{I}}$), 29.4 ($C-4_{\text{Pent}}$), 28.3 ($C-5_{\text{Pent}}$)

EM (MALDI-TOF): m/z 2041.3 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 2020.1 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{75}\text{H}_{130}\text{N}_2\text{O}_{52}\text{S}_4$: C 44.59, H 6.39, N 1.39. Encontrado: C 44.23, H 6.08, N 1.20.



54 R = Ac
55 R = H

Metil 6-desoxi-6-[N'-[2,2,2-tris[5-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-manopiranosilitio)-2-oxapentil]etil]tioureido]- α -D-glucopiranosido (54):

A una disolución de la amina **153** (6 mg, 31 μ mol) en piridina (1 mL) se añadió el isotiocianato **32** (44 mg, 31 μ mol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. El disolvente se evaporó a presión reducida y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía en columna usando como eluyente AcOEt-éter de petróleo 2:1 \rightarrow AcOEt.

Rend.: 29 mg (62%); R_f 0.23 (AcOEt); $[\alpha]_D +74.9$ (c 1.4, MeOH).

^1H RMN (500 MHz, CD_3OD): δ 5.36 (d, 3 H, $J_{1,2} = 1.6$ Hz, H-1_{Man}), 5.33 (dd, 3 H, $J_{2,3} = 9.6$ Hz, H-2_{Man}), 5.27 (t, 3 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.6$ Hz, H-4_{Man}), 5.19 (dd, 3 H, H-3_{Man}), 4.68 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.7$ Hz, H-1), 4.39 (ddd, 3 H, $J_{5,6a} = 5.2$ Hz, $J_{5,6b} = 2.4$ Hz, H-5_{Man}), 4.28 (dd, 3 H, $J_{6a,6b} = 12.3$ Hz, H-6a_{Man}), 4.11 (dd, 3 H, H-6b_{Man}), 3.78 (m, 1 H, H-6a), 3.65 (m, 2 H, H-5, H-6b), 3.62 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.2$ Hz, H-3), 3.54 (t, 6 H, $^3J_{\text{H,H}} = 5.5$ Hz, H-3_{Pent}), 3.41 (dd, 1 H, H-2), 3.39 (s, 11 H, OMe, H-1_{Pent}, CH_2NH), 3.17 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.3$ Hz, H-4), 2.81, 2.78 (2 dt, 6 H, $^2J_{\text{H,H}} = 13.4$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 7.0$ Hz, H-5_{Pent}), 2.14, 2.06, 2.03, 1.95 (36 H, 4 s, MeCO), 1.92 (6 H, m, H-4_{Pent}).

^{13}C RMN (125.7 MHz, CD_3OD): δ 181.5 (CS), 172.3, 171.6, 171.5 (CO), 101.4 (C-1), 83.9 (C-1_{Man}), 74.5 (C-3), 73.7 (C-2), 72.6 (C-4), 72.4 (C-2_{Man}), 72.0 (C-5), 71.9 (C-1_{Pent}),

71.1 (C-3_{Man}), 70.8 (C-3_{Pent}), 70.5 (C-5_{Man}), 67.6 (C-4_{Man}), 63.7 (C-6_{Man}), 55.8 (OMe), 46.1, 45.9 (C_q, CH₂NH, C-6), 30.7 (C-4_{Pent}), 29.4 (C-5_{Pent}), 20.8, 20.7, 20.5 (MeCO).

EM (FAB): m/z 1605 [M+Na]⁺.

Análisis calculado para C₆₄H₄₈N₂O₃₅S₄: C 48.54, H 6.24, N 1.77. Encontrado: C 48.56, H 6.14, N 1.67.

Metil 6-desoxi-6-[N'-[2,2,2-tris[5-(α -D-manopiranosilitio)-2-oxapentil]-etil]tioureido]- α -D-glucopiranosido (55):

Se obtuvo mediante desacetilación de **54** (27 mg, 17 μ mol) siguiendo el procedimiento A descrito en los Métodos Generales.

Rend.: 18 mg (100%); R_f 0.34 (MeCN-H₂O-NH₄OH 6:3:1); $[\alpha]_D^{25}$ +123.8 (c 1.0, H₂O).

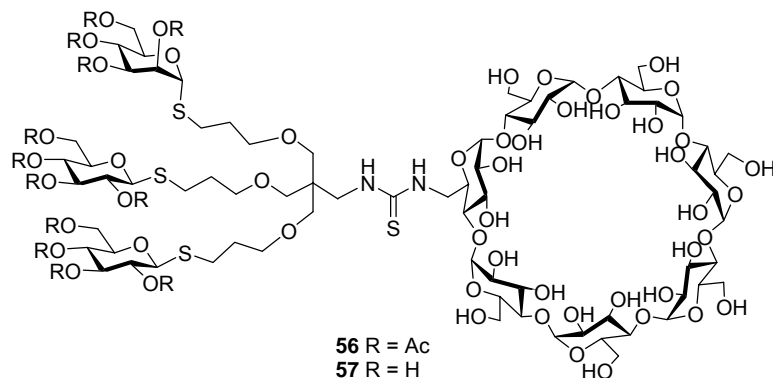
¹H RMN (500 MHz, D₂O, 313 K): δ 5.10 (sa, 3 H, H-1_{Man}), 4.96 (d, 1 H, $J_{1,2}$ = 3.8 Hz, H-1), 4.21 (sa, 3 H, H-2_{Man}), 4.11 (ddd, 3 H, $J_{4,5}$ = 11.5 Hz, $J_{5,6b}$ = 5.7 Hz, $J_{5,6a}$ = 1.9 Hz, H-5_{Man}), 4.05 (m, 1 H, H-6a), 4.01 (dd, 3 H, $J_{6a,6b}$ = 12.3 Hz, H-6a_{Man}), 3.94 (dd, 3 H, H-6b_{Man}), 3.92 (dd, 3 H, $J_{2,3}$ = $J_{3,4}$ = 3.4 Hz, H-3_{Man}), 3.90 (m, 2 H, H-5, H-6b), 3.85 (t, 3 H, $J_{4,5}$ = 9.7 Hz, H-4_{Man}), 3.81 (t, 1 H, $J_{2,3}$ = $J_{3,4}$ = 9.3 Hz, H-3), 3.73 (t, 3 H, $^3J_{H,H}$ = 5.6 Hz, H-3_{Pent}), 3.62 (dd, 1 H, H-2), 3.59 (s, 6 H, H-1_{Pent}), 3.56 (s, 5 H, OMe, CH₂NH), 3.46 (t, 1 H, $J_{4,5}$ = 9.4 Hz, H-4), 2.92, 2.90 (2 dt, 6 H, $^2J_{H,H}$ = 13.3 Hz, $^3J_{H,H}$ = 6.4 Hz, H-5_{Pent}), 2.08 (m, 6 H, H-4_{Pent}).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O, 313 K): δ 182.6 (CS), 101.3 (C-1), 87.1 (C-1_{Man}), 75.3 (C-5_{Man}), 74.9 (C-3), 73.9 (C-2_{Man}), 73.4 (C-2), 73.3 (C-3_{Man}, C-4), 73.2 (C-5), 72.0 (C-1_{Pent}, C-3_{Pent}), 69.1 (C-4_{Man}), 62.9 (C-6_{Man}), 57.1 (OMe), 46.4, 46.3 (C-6, CH₂NH), 42.1 (C_q), 30.7 (C-4_{Pent}), 29.8 (C-5_{Pent}).

EM (FAB): m/z 1101 [M+Na]⁺.

Análisis calculado para C₄₀H₇₄N₂O₂₃S₄: C 44.51, H 6.91, N 2.60. Encontrado: C 44.41, H 6.86, N 2.40.

9.3.7. Preparación de conjugados monorrámificados S-glicosídicos heterovalentes.



6^I-Desoxi-6^I-[N'-[2,2-bis[5-(2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosiltio)-2-oxapentil]2-[5-(2,3,4,6-tetra-O-acetil-α-D-manopiranosiltio)-2-oxapentil]etil]-tioureido]ciclomaltoheptaosa (56):

El compuesto **56** se preparó por acoplamiento de la amina **104** (59 mg, 52 μmol) con el isotiocianato **39** (72 mg, 52 μmol) en piridina (2 mL) a 40 °C durante 24 h, seguido de coevaporación del disolvente con tolueno y purificación del residuo resultante mediante cromatografía en columna usando MeCN → MeCN-H₂O 3:1.

Rend.: 52 mg (40%); *R_f* 0.65 (MeCN-H₂O-NH₄OH 6:3:1); [α]_D = + 45.8 (*c* 0.6, MeOH).
¹H RMN (500 MHz, CD₃OD, 313 K): δ 5.32 (dd, 1 H, *J*_{2,3} = 3.0 Hz, *J*_{1,2} = 1.5 Hz, H-2_{Man}), 5.26 (t, 1 H, *J*_{3,4} = *J*_{4,5} = 10.5 Hz, H-4_{Man}), 5.25 (t, 2 H, *J*_{2,3} = *J*_{3,4} = 9.8 Hz, H-3_{Glc}), 5.19 (m, 2 H, H-1_{Man}, H-3_{Man}), 5.01 (t, 2 H, *J*_{4,5} = 9.8 Hz, H-4_{Glc}), 4.95 (m, 7 H, H-1^{I-VII}), 4.94 (t, 2 H, *J*_{1,2} = 10.0 Hz, H-2_{Glc}), 4.72 (d, 2 H, H-1_{Glc}), 4.38 (m, 1 H, H-5_{Man}), 4.27 (dd, 1 H, *J*_{6a,6b} = 12.5 Hz, H-6a_{Man}), 4.23 (dd, 2 H, *J*_{6a,6b} = 12.5 Hz, *J*_{5,6a} = 4.0 Hz, H-6a_{Glc}), 4.14 (dd, 2 H, *J*_{5,6b} = 2.5 Hz, H-6b_{Glc}), 4.13 (dd, 1 H, *J*_{5,6b} = 2.5 Hz, H-6b_{Man}), 4.00 (m, 2 H, H-5^I, H-6a^I), 3.88 (ddd, 2 H, H-5_{Glc}), 3.87-3.82 (m, 19 H, H-3^{I-VII}, H-6a^{II-VII}, H-6b^{II-VII}), 3.73 (m, 8 H,

H-1, H-5^{II-VII}), 3.53-3.45 (m, 21 H, H-2^{I-VII}, H-4^{II-VII}, H-3_{Pent}, CH₂NH), 3.39 (m, 6 H, H-1_{Pent}), 3.22 (m, 2 H, H-4^I, H-6b^I), 2.81, 2.76 (2 dt, 6 H, ²J_{H,H} = 12.5 Hz, ³J_{H,H} = 8.0 Hz, H-5_{Pent}), 2.06-1.95 (8 s, 36 H, MeCO), 1.91 (m, 6 H, H-4_{Pent}),

¹³C RMN (125.7 MHz, CD₃OD, 313 K): δ 182.7 (CS), 172.3-171.1 (CO), 106.3 (C-1^{II}), 104.2-103.5 (C-1^{I, III-VII}), 84.9 (C-1_{Glc}, C-4^I), 84.0 (C-1_{Man}), 83.1-82.7 (C-4^{II-VII}), 76.8 (C-5_{Glc}), 75.4 (C-3_{Glc}), 74.9-74.8 (C-3^{I-VII}), 74.4-73.7 (C-5^{II-VII}, C-2^{I-VII}), 72.5 (C-2_{Man}), 71.8 (C-5^I), 71.7 (C-2_{Glc}, C-1_{Pent}), 71.1 (C-3_{Man}), 70.9 (C-3_{Pent}), 70.5 (C-5_{Man}), 70.0 (C-4_{Glc}), 67.7 (C-4_{Man}), 63.8 (C-6_{Man}), 63.5 (C-6_{Glc}), 61.9-61.7 (C-6^{II-VII}), 45.9 (C-6^I, CH₂NH, C_q), 31.1 (C-4_{Pent}), 28.3 (C-5_{Pent}), 19.0 (MeCO).

EM (FAB): *m/z* 2546 [M+Na]⁺.

Análisis calculado para C₉₉H₁₅₄N₂O₆₄S₄: C 47.01, H 6.15, N 1.11. Encontrado: C 46.77, H 5.80, N 1.00.

6^I-Desoxi-6^I-[3-[2,2-bis[5-(β-D-glucopiranosilitio)-2-oxapentil]-2-[5-(α-D-manopiranosilitio)-2-oxapentil]-jetil]tioureido]ciclomaltoheptaosa (57):

El compuesto **57** se obtuvo mediante desacetilación, seguida de saponificación, a partir de **56** (22 mg, 8.7 μmol) siguiendo el procedimiento A descrito en los Métodos Generales.

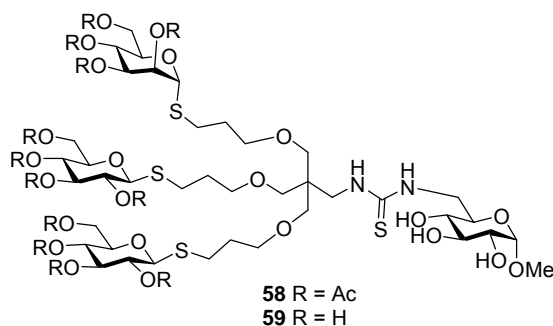
Rend.: 17 mg (100%); *R_f* 0.38 (MeCN-H₂O-NH₄OH 5:3:5); [α]_D +61.0 (c 1.0, H₂O).

¹H RMN (500 MHz, D₂O, 333 K): δ 5.57 (sa, 1 H, H-1_{Man}), 5.42-5.31 (m, 7 H, H-1^{I-VII}), 4.77 (d, 2 H, H-1_{Glc}), 4.34 (sa, 1 H, H-2_{Man}), 4.21 (m, 1 H, H-5_{Man}), 4.22-4.11 (m, 32 H, H-3^{I-VII}, H-5^{I-VII}, H-6a^{I-VII}, H-6b^{I-VII}, H-3_{Man}, H-6a_{Man}, H-6b_{Man}, H-4_{Man}), 4.15 (sa, 2 H, H-6a_{Glc}), 4.00 (dd, 2 H, *J*_{6a,6b} = 12.5 Hz, *J*_{5,6a} = 4.0 Hz, H-6b_{Glc}), 4.00-3.90 (m, 20 H, H-2^{I-VII}, H-4^{I-VII}, H-3_{Pent}), 3.77 (t, 2 H, *J*_{3,4} = 9.0 Hz, H-3_{Glc}), 3.71 (m, 12 H, H-1_{Pent}, H-5_{Glc}, H-4_{Glc}, CH₂NH), 3.60 (t, 2 H, *J*_{1,2} = *J*_{2,3} = 10.0 Hz, H-2_{Glc}), 3.02, 3.00 (2 dt, 6 H, ²J_{H,H} = 12.8 Hz, ³J_{H,H} = 6.9 Hz, H-5_{Pent}), 2.13 (m, 6 H, H-4_{Pent}).

^{13}C RMN (125.7 MHz, D_2O , 323 K): δ 181.9 (CS), 103.7-102.7 (C-1^{I-VII}), 86.9 (C-1_{Glc}), 86.4 (C-1_{Man}), 84.8 (C-4^I), 82.5-81.3 (C-4^{II-VII}), 81.3 (C-5_{Glc}), 78.8 (C-3_{Glc}), 74.7-74.4 (C-3^{I-VII}, C-5_{Man}), 73.9-73.3 (C-2^{I-VII}, C-5^{I-VII}, C-2_{Glc}), 73.1 (C-2_{Man}), 72.8 (C-3_{Man}), 71.7 (C-1_{Pent}), 71.0 (C-4_{Glc}, C-3_{Pent}), 68.0 (C-4_{Man}), 62.5 (C-6_{Glc}, C-6_{Man}), 62.4-61.3 (C-6^{II-VII}), 47.1 (CH₂NH), 46.0 (C_q, C-6^I), 30.8 (C-4_{Pent}), 28.2 (C-5_{Pent}).

EM (MALDI-TOF): m/z 2020.3 [M + H]⁺.

Análisis calculado para $\text{C}_{75}\text{H}_{130}\text{N}_2\text{O}_{52}\text{S}_4$: C 44.59, H 6.39, N 1.39. Encontrado: C 44.42, H 6.18, N 1.20.



Metil 6-desoxi-6-[3-[2,2-bis[5-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosiltio)-2-oxapentil]-2-[5-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-manopiranosiltio)-2-oxapentil]etil]-tioureido]- α -D-glucopiranosido (58):

A una disolución de la amina **153** (14 mg, 72 μmol) en piridina (1 mL) se añadió el isotiocianato **39** (100 mg, 72 μmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. El disolvente se evaporó a presión reducida y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía en columna usando como eluyente AcOEt \rightarrow AcOEt-EtOH-H₂O 45:5:3.

Rend.: 94 mg (82%); R_f 0.49 (AcOEt); $[\alpha]_D +9.5$ (c 1.0, MeOH).

^1H RMN (500 MHz, CD_3OD , 313 K): δ 5.36 (sa, 1 H, H-1_{Man}), 5.32 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 3.2$ Hz, $J_{1,2} = 1.4$ Hz, H-2_{Man}), 5.27 (t, 2 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.6$ Hz, H-3_{Glc}), 5.26 (t, 1 H, $J_{3,4} = J_{4,5} =$

10.0 Hz, H-4_{Man}), 5.18 (dd, 1 H, H-3_{Man}), 5.03 (t, 2 H, $J_{4,5} = 10.0$ Hz, H-4_{Glc}), 4.95 (t, 2 H, $J_{1,2} = 9.6$ Hz, H-2_{Glc}), 4.73 (d, 2 H, H-1_{Glc}), 4.69 (d, 1 H, H-1), 4.39 (ddd, 1 H, $J_{5,6a} = 5.4$ Hz, $J_{5,6b} = 3.6$ Hz, H-5_{Man}), 4.27 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 12.2$ Hz, H-6a_{Man}), 4.24 (dd, 2 H, $J_{5,6a} = 4.9$ Hz, $J_{6a,6b} = 12.3$ Hz, H-6a_{Glc}), 4.15 (dd, 2 H, $J_{5,6b} = 2.4$ Hz, H-6b_{Glc}), 4.13 (dd, 1 H, H-6b_{Man}), 3.89 (ddd, 2 H, H-5_{Glc}), 3.78 (m, 1 H, H-6a), 3.65 (m, 2 H, H-5, H-6b), 3.62 (t, 1 H, H-3), 3.53 (2 t, 6 H, $^3J_{H,H} = 5.8$ Hz, H-3_{Pent}), 3.41 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 9.3$ Hz, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-2), 3.40 (m, 11 H, OMe, H-1_{Pent}, CH₂NH), 3.19 (t, 1 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.3$ Hz, H-4), 2.76, 2.82 (2 dt, 6 H, $^2J_{H,H} = 12.7$ Hz, $^3J_{H,H} = 6.9$ Hz, H-5_{Pent}), 2.06-1.97 (4 s, 36 H, MeCO), 1.89 (m, 6 H, H-4_{Pent}).

¹³C RMN (75.7 MHz, CD₃OD, 313 K): δ 184.0 (CS), 172.3-171.1 (CO), 101.4 (C-1), 84.8 (C-1_{Glc}), 83.9 (C-1_{Man}), 76.9 (C-5_{Glc}), 75.4 (C-3_{Glc}), 74.6 (C-3), 73.7 (C-2), 72.7 (C-4), 72.4 (C-2_{Man}), 72.1 (C-5), 71.9 (C-1_{Pent}), 71.6 (C-2_{Glc}), 71.1 (C-3_{Man}), 71.0 (C-3_{Pent}), 70.5 (C-5_{Man}), 70.0 (C-4_{Glc}), 67.7 (C-4_{Man}), 63.8 (C-6_{Man}), 63.5 (C-6_{Glc}), 55.9 (OMe), 46.5 (CH₂NH), 45.9 (C_q, C-6), 31.2 (C-4_{Pent}), 28.3 (C-5_{Pent}), 20.8-20.6 (MeCO).

EM (FAB): m/z 1606 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para C₆₄H₉₈N₂O₃₅S₄ C 48.54, H 6.24, N 1.77. Encontrado: C 48.64, H 6.18, N 1.75.

Metil 6-desoxi-6-[N'-[2,2-bis[5-(β -D-glucopiranosilitio)-2-oxapentil]-2-[5-(α -D-manopiranosilitio)-2-oxapentil]etil]tioureido]- α -D-glucopiranosido (59):

Se obtuvo mediante desacetilación de **58** (38 mg, 24 μ mol) siguiendo el procedimiento A descrito en los Métodos Generales.

Rend.: 25 mg (100%); R_f 0.53 (MeCN-H₂O-NH₄OH 6:3:1); $[\alpha]_D + 28.0$ (c 1.0, MeOH).

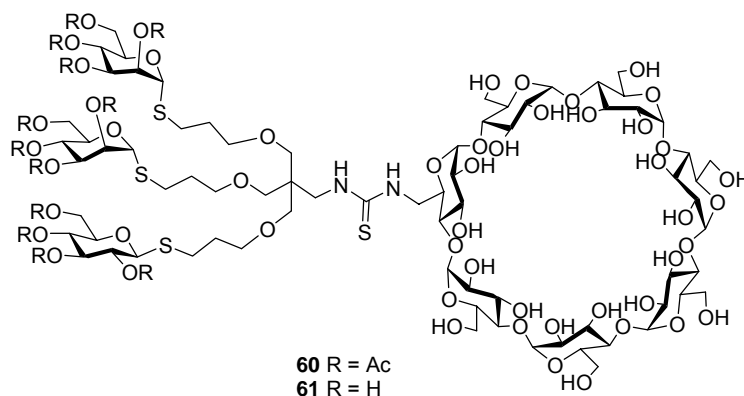
¹H RMN (500 MHz, D₂O, 333 K): δ 5.58 (sa, 1 H, H-1_{Man}), 5.09 (d, 1 H, $J_{1,2} = 4.0$ Hz, H-1), 4.78 (d, 2 H, $J_{1,2} = 9.5$ Hz, H-1_{Glc}), 4.33 (sa, 1 H, H-2_{Man}), 4.21 (ddd, 1 H, $J_{4,5} = 9.5$ Hz, $J_{5,6b} = 5.5$ Hz, H-5_{Man}), 4.18 (m, 1 H, H-6a), 4.16 (dd, 2 H, $J_{6a,6b} = 12.0$ Hz, $J_{5,6a} = 2.0$ Hz, H-6a_{Glc}), 4.13 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 2.5$ Hz, H-6a_{Man}), 4.07 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 12.5$ Hz, H-6b_{Man}),

4.06 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 10.0$ Hz, $J_{2,3} = 3.5$ Hz, H-3_{Man}), 4.02 (ta, 1 H, H-5), 3.99 (dd, 2 H, $J_{5,6b} = 4.5$ Hz, H-6b_{Glc}), 3.98 (t, 1 H, $J_{3,4} = 9.5$ Hz, H-4_{Man}), 3.94 (t, 1 H, H-3), 3.90 (m, 1 H, H-6b), 3.88 (m, 6 H, H-3_{Pent}), 3.84 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 10.5$ Hz, H-2), 3.74 (s, 6 H, H-1_{Pent}), 3.77 (t, 2 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.5$ Hz, H-3_{Glc}), 3.70 (m, 4 H, H-5_{Glc}, H-4_{Glc}), 3.69 (m, 5 H, OMe, CH₂NH), 3.60 (t, 2 H, H-2_{Glc}), 3.59 (t, 1 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.0$ Hz, H-4), 3.12, 3.10 (2 dt, 6 H, $^2J_{H,H} = 12.5$ Hz, $^3J_{H,H} = 7.0$ Hz, H-5_{Pent}), 2.21 (m, 6 H, H-4_{Pent}).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O, 313 K): δ 182.6 (CS), 101.2 (C-1), 87.5 (C-1_{Glc}), 83.4 (C-1_{Man}), 81.9 (C-5_{Glc}), 79.3 (C-3_{Glc}), 75.3 (C-5_{Man}), 74.9 (C-3), 74.2 (C-2_{Glc}), 74.1 (C-2_{Man}), 73.4 (C-2), 73.2 (C-3_{Man}, C-4), 73.1 (C-5), 72.1 (C-1_{Pent}, C-3_{Pent}), 71.6 (C-4_{Glc}), 69.1 (C-4_{Man}), 63.0 (C-6_{Glc}), 62.9 (C-6_{Man}), 57.1 (OMe), 46.4, 46.3 (C-6, CH₂NH), 42.1 (C_q), 31.3 (C-4_{Pent}), 28.9 (C-5_{Pent}).

EM (FAB): m/z 1102 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para C₄₀H₇₄N₂O₂₃S₄: C 44.51, H 6.91, N 2.60. Encontrado: C 44.47, H 6.94, N 2.57.



6¹-Desoxi-6¹-[N²-2-[5-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosiltio)-2-oxapentil]-[2,2-bis[5-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-manopiranosiltio)-2-oxapentil]etil]tioureido]ciclomaltoheptaosa (60):

El compuesto **60** se preparó por acoplamiento de la monoamina **104** (33 mg, 29 μ mol) con el isotiocianato **47** (40 mg, 29 μ mol) en piridina (2 mL) a 40 °C durante 24 h, seguido de coevaporación del disolvente con tolueno y purificación del residuo resultante mediante cromatografía en columna usando MeCN \rightarrow MeCN-H₂O 3:1.

Rend.: 35 mg (48%); R_f 0.88 (MeCN-H₂O-NH₄OH 6:3:1); $[\alpha]_D + 67.6$ (c 1.0, MeOH).

¹H RMN (500 MHz, CD₃OD): δ 5.35 (sa, 2 H, H-1_{Man}), 5.32 (dd, 2 H, $J_{2,3} = 3.0$ Hz, $J_{1,2} = 1.0$ Hz, H-2_{Man}), 5.27 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 10.0$ Hz, H-3_{Glc}), 5.26 (t, 2 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 10.0$ Hz, H-4_{Man}), 5.18 (dd, 2 H, H-3_{Man}), 5.01 (t, 1 H, $J_{4,5} = 10.0$ Hz, H-4_{Glc}), 4.95 (m, 7 H, H-1^{I-VII}), 4.94 (t, 1 H, $J_{1,2} = 10.5$ Hz, H-2_{Glc}), 4.73 (d, 1 H, H-1_{Glc}), 4.38 (ddd, 2 H, $J_{5,6a} = 5.0$ Hz, $J_{5,6b} = 2.5$ Hz, H-5_{Man}), 4.27 (dd, 2 H, $J_{6a,6b} = 12.0$ Hz, H-6a_{Man}), 4.24 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 12.5$ Hz, $J_{5,6a} = 3.5$ Hz, H-6a_{Glc}), 4.13 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 2.0$ Hz, H-6b_{Glc}), 4.11 (dd, 2 H, H-6b_{Man}), 4.00 (m, 2 H, H-5^I, H-6a^I), 3.89 (ddd, 1 H, H-5_{Glc}), 3.86-3.82 (m, 19 H, H-3^{I-VII}, H-6a^{II-VII}, H-6b^{II-VII}), 3.71 (m, 6 H, H-5^{II-VII}), 3.55-3.47 (m, 21 H, H-2^{I-VII}, H-4^{II-VII}, H-3_{Pent}, CH₂NH), 3.40 (m, 6 H, H-1_{Pent}), 3.24 (m, 2 H, H-4^I, H-6b^I), 2.81, 2.76 (2 dt, 6 H, $^2J_{H,H} = 12.5$ Hz, $^3J_{H,H} = 8.0$ Hz, H-5_{Pent}), 2.14-1.95 (8 s, 36 H, MeCO), 1.91 (m, 6 H, H-4_{Pent}).

¹³C RMN (125.7 MHz, CD₃OD): δ 182.7 (CS), 171.0-169.8 (CO), 104.3 (C-1^{II}), 103.8-103.6 (C-1^{I, III-VII}), 86.0 (C-4^I), 84.8 (C-1_{Glc}), 83.9 (C-1_{Man}), 83.1, 82.8 (C-4^{II-VII}), 76.8 (C-5_{Glc}), 75.3 (C-3_{Glc}), 74.8-74.7 (C-3^{I-VII}), 74.3-73.7 (C-5^{II-VII}, C-2^{I-VII}), 72.4 (C-2_{Man}), 71.6 (C-5^I), 71.5 (C-1_{Pent}), 71.2 (C-2_{Glc}, C-3_{Man}), 70.7 (C-3_{Pent}), 70.4 (C-5_{Man}), 69.9 (C-4_{Glc}), 67.5 (C-4_{Man}), 63.7 (C-6_{Man}), 63.5 (C-6_{Glc}), 61.8-61.7 (C-6^{II-VII}), 45.9 (C-6^I, CH₂NH, C_q), 30.7 (C-4_{Pent}), 29.3 (C-5_{Pent}), 21.3-20.8 (MeCO).

EM (FAB): m/z 2545 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para C₉₉H₁₅₄N₂O₆₄S₄: C 47.01, H 6.15, N 1.11. Encontrado: C 46.94, H 6.06, N 1.06.

6^I-Desoxi-6^I-[N²-2-[5-(β -D-glucopiranosilitio)-2-oxapentil]-[2,2-bis[5-(α -D-manopiranosilitio)-2-oxapentil]etil]tioureido]ciclomaltoheptaosa (61):

El compuesto **61** se obtuvo mediante desacetilación, seguida de saponificación, a partir de **60** (33 mg, 13 μ mol) siguiendo el procedimiento A descrito en los Métodos Generales.

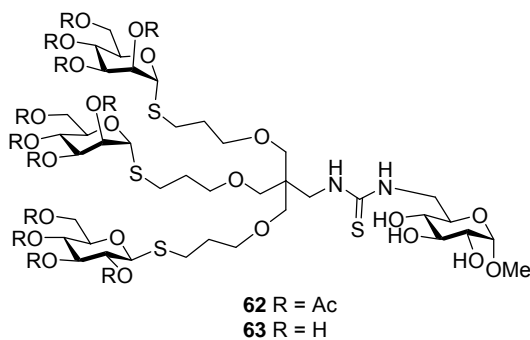
Rend.: 25 mg (100%); R_f 0.26 (MeCN-H₂O-NH₄OH 5:3:5); $[\alpha]_D + 30.0$ (c 1.0, H₂O).

¹H RMN (500 MHz, D₂O, 333 K): δ 5.58 (sa, 2 H, H-1_{Man}), 5.42-5.33 (m, 7 H, H-1^{I-VII}), 4.78 (d, 1 H, $J_{1,2} = 10.0$ Hz, H-1_{Glc}), 4.34 (sa, 2 H, H-2_{Man}), 4.21 (m, 2 H, H-5_{Man}), 4.17 (da, 1 H, $J_{6a,6b} = 12.0$ Hz, H-6a_{Glc}), 4.16 (m, 2 H, H-6a_{Man}), 4.21-4.13 (m, 28 H, H-3^{I-VII}, H-5^{I-VII}, H-6a^{I-VII}, H-6b^{I-VII}), 4.11 (m, 4 H, H-3_{Man}, H-6b_{Man}), 4.08 (m, 2 H, H-4_{Man}), 4.01 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 3.0$ Hz, H-6b_{Glc}), 4.00-3.91 (m, 20 H, H-2^{I-VII}, H-4^{I-VII}, H-3_{Pent}), 3.78 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 10.0$ Hz, H-3_{Glc}), 3.73 (m, 10 H, H-1_{Pent}, H-5_{Glc}, H-4_{Glc}, CH₂NH), 3.62 (t, 1 H, H-2_{Glc}), 3.03, 3.01 (2 dt, 6 H, $^2J_{H,H} = 14.0$ Hz, $^3J_{H,H} = 7.0$ Hz, H-5_{Pent}), 2.20 (m, 6 H, H-4_{Pent}).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O, 333 K): δ 182.6 (CS), 102.6-101.8 (C-1^{I-VII}), 85.9 (C-1_{Glc}), 85.5 (C-1_{Man}), 83.8 (C-4^I), 81.5-80.3 (C-4^{II-VII}), 80.4 (C-5_{Glc}), 77.8 (C-3_{Glc}), 74.0-73.4 (C-3^{I-VII}, C-5_{Man}), 72.9 (C-2_{Man}), 72.8-72.3 (C-2^{I-VII}, C-5^{I-VII}, C-2_{Glc}), 71.9 (C-3_{Man}), 70.6 (C-1_{Pent}, C-3_{Pent}), 70.1 (C-4_{Glc}), 67.2 (C-4_{Man}), 61.6 (C-6_{Glc}), 61.3 (C-6_{Man}), 60.7-60.4 (C-6^{I-II-VII}), 46.2 (CH₂NH), 45.0 (C_q, C-6^I), 29.4 (C-4_{Pent}), 27.3 (C-5_{Pent}).

EM (MALDI-TOF): m/z 2042.2 [M + Na]⁺, 2020.4 [M + H]⁺.

Análisis calculado para C₇₅H₁₃₀N₂O₅₂S₄: C 44.59, H 6.39, N 1.39. Encontrado: C 44.49, H 6.16, N 1.20



Metil 6-desoxi-6-[N'-[2-[5-(2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosiltio)-2-oxapentil]-2,2-bis[5-(2,3,4,6-tetra-O-acetil-α-D-manopiranosiltio)-2-oxapentil]etil]-tioureido]-α-D-glucopiranosido (62):

A una disolución de la amina **153** (5.6 mg, 29 μmol) en piridina (1 mL) se añadió el isotiocianato **47** (40 mg, 29 μmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. El disolvente se evaporó a presión reducida y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía en columna usando como eluyente AcOEt.

Rend.: 28 mg (60%); R_f 0.43 (AcOEt); $[\alpha]_D +49.6$ (c 1.0, MeOH).

^1H RMN (300 MHz, CD_3OD , 313 K): δ 5.35 (sa, 2 H, H-1_{Man}), 5.33 (dd, 2 H, $J_{2,3} = 3.2$ Hz, $J_{1,2} = 1.6$ Hz, H-2_{Man}), 5.28 (t, 2 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.9$ Hz, H-4_{Man}), 5.27 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 10.0$ Hz, H-3_{Glc}), 5.20 (dd, 2 H, H-3_{Man}), 5.02 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.8$ Hz, H-4_{Glc}), 4.98 (t, 1 H, $J_{1,2} = 10.1$ Hz, H-2_{Glc}), 4.72 (d, 1 H, H-1_{Glc}), 4.69 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.7$ Hz, H-1), 4.38 (ddd, 2 H, $J_{5,6a} = 5.4$ Hz, $J_{5,6b} = 2.6$ Hz, H-5_{Man}), 4.28 (dd, 2 H, $J_{6a,6b} = 12.2$ Hz, H-6a_{Man}), 4.25 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 12.3$ Hz, $J_{5,6a} = 4.8$ Hz, H-6a_{Glc}), 4.14 (dd, 2 H, H-6b_{Man}), 4.13 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 2.7$ Hz, H-6b_{Glc}), 3.89 (ddd, 1 H, H-5_{Glc}), 3.79 (m, 1 H, H-6a), 3.62 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.4$ Hz, H-3), 3.61 (m, 2 H, H-5, H-6b), 3.52 (2 t, 6 H, $^3J_{\text{H,H}} = 6.2$ Hz, H-3_{Pent}), 3.39 (m, 1 H, H-2), 3.40 (s, 11 H, OMe, H-1_{Pent}, CH_2NH), 3.19 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.4$ Hz, H-4), 2.80, 2.78 (2 dt, 6 H, $^2J_{\text{H,H}} = 13.3$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 7.0$ Hz, H-5_{Pent}), 2.14-1.96 (4 s, 36 H, MeCO), 1.93 (m, 6 H, H-4_{Pent}).

^{13}C RMN (75.7 MHz, CD_3OD , 313 K): δ 181.5 (CS), 172.3-171.1 (CO), 101.4 (C-1), 84.8 (C-1_{Glc}), 84.0 (C-1_{Man}), 76.9 (C-5_{Glc}), 75.4 (C-3_{Glc}), 74.6 (C-3), 73.7 (C-2), 72.7 (C-4), 72.4 (C-2_{Man}), 72.1 (C-5), 71.9 (C-1_{Pent}), 71.6 (C-2_{Glc}), 71.2 (C-3_{Man}), 70.9 (C-3_{Pent}), 70.5 (C-5_{Man}), 70.0 (C-4_{Glc}), 67.7 (C-4_{Man}), 63.8 (C-6_{Man}), 63.5 (C-6_{Glc}), 55.9 (OMe), 46.5 (CH_2NH), 45.9 (C_q, C-6), 30.7 (C-4_{Pent}), 29.4 (C-5_{Pent}), 20.8-20.5 (MeCO).

EM (FAB): m/z 1605 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{64}\text{H}_{98}\text{N}_2\text{O}_{35}\text{S}_4$: C 48.54, H 6.24, N 1.77. Encontrado: C 48.73, H 6.05, N 1.58.

Metil 6-desoxi-6-[N'-[2-[5-(β-D-glucopiranosiltio)-2-oxapentil]-2,2-bis[5-(α-D-manopiranosiltio)-2-oxapentil]etil]tioureido]-α-D-glucopiranosido (63):

El compuesto **63** se obtuvo mediante desacetilación a partir de **62** (22 mg, 14 μmol) siguiendo el procedimiento A descrito en los Métodos Generales.

Rend.: 15 mg (100%); R_f 0.29 (MeCN-H₂O-NH₄OH 6:3:1); $[\alpha]_D = +10.0$ (c 1.0, H₂O).

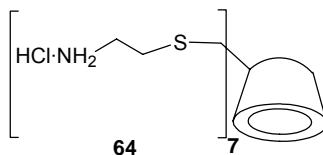
¹H RMN (500 MHz, D₂O, 323 K): δ 5.57 (sa, 2 H, H-1_{Man}), 5.08 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.8$ Hz, H-1), 4.78 (d, 1 H, $J_{1,2} = 9.6$ Hz, H-1_{Glc}), 4.32 (dd, 2 H, $J_{2,3} = 3.1$ Hz, $J_{1,2} = 1.5$ Hz, H-2_{Man}), 4.22 (ddd, 2 H, $J_{4,5} = 9.5$ Hz, $J_{5,6b} = 5.6$ Hz, $J_{5,6a} = 2.4$ Hz, H-5_{Man}), 4.18 (m, 1 H, H-6a), 4.15 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 11.2$ Hz, $J_{5,6a} = 1.5$ Hz, H-6a_{Glc}), 4.13 (dd, 2 H, $J_{6a,6b} = 12.0$ Hz, H-6a_{Man}), 4.07 (dd, 2 H, H-6b_{Man}), 4.05 (dd, 2 H, $J_{3,4} = 9.5$ Hz, H-3_{Man}), 4.00 (m, 1 H, H-5), 3.98 (sa, 1 H, H-6b_{Glc}), 3.97 (m, 1 H, H-6b), 3.97 (t, 2 H, H-4_{Man}), 3.93 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.5$ Hz, H-3), 3.86 (m, 6 H, H-3_{Pent}), 3.85 (dd, 1 H, H-2), 3.76 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 8.7$ Hz, H-3_{Glc}), 3.71 (m, 8 H, H-1_{Pent}, H-5_{Glc}, H-4_{Glc}), 3.68 (s, 5 H, OMe, CH₂NH), 3.60 (t, 1 H, H-2_{Glc}), 3.58 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.5$ Hz, H-4), 3.04, 3.02 (2 dt, 6 H, $^2J_{H,H} = 13.5$ Hz, $^3J_{H,H} = 6.3$ Hz, H-5_{Pent}), 2.20 (m, 6 H, H-4_{Pent}).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O, 323 K): δ 184.6 (CS), 100.8 (C-1), 87.0 (C-1_{Glc}), 86.6 (C-1_{Man}), 81.4 (C-5_{Glc}), 78.9 (C-3_{Glc}), 74.8 (C-5_{Man}), 74.5 (C-3), 73.9 (C-2_{Glc}), 73.5 (C-2_{Man}), 73.0 (C-2), 72.8 (C-3_{Man}, C-4), 72.7 (C-5), 71.8 (C-1_{Pent}), 71.6 (C-3_{Pent}), 71.2 (C-4_{Glc}), 68.7 (C-4_{Man}), 62.6 (C-6_{Glc}), 62.5 (C-6_{Man}), 56.6 (OMe), 45.8 (C-6, CH₂NH), 41.9 (C_q), 30.3 (C-4_{Pent}), 29.3 (C-5_{Pent}).

EM (FAB): m/z 1101 [M+Na]⁺.

Análisis calculado para C₄₀H₇₄N₂O₂₃S₄: C 44.51, H 6.91, N 2.60. Encontrado: C 44.31, H 6.70, N 2.50.

9.3.8. Preparación de per-(C-6)-cisteaminil β CD y modelo.



Heptahidrocioruro de heptakis[6-desoxi-6-[2-aminoetiltilio]]-ciclomaltoheptaosa (64):

A una disolución de hidrocioruro de 2-aminoetanotiol (999 mg, 8.8 mmol, 2 eq) en DMF (10 mL) se añadió Et_3N (2.5 mL, 17.6 mmol, 4 eq) bajo atmósfera de Ar. A la suspensión resultante se añadió gota a gota una disolución de heptakis[6-bromo-6-desoxi]ciclomaltoheptaosa (1 g, 0.63 mmol) en DMF (5 mL). La mezcla de reacción se continuó agitando bajo atmósfera de Ar durante 48 h. Se observó la aparición de un sólido que se filtró, se disolvió en agua (20 mL) ajustando el pH a 4 por adición de HCl 0.1 N y se liofilizó. El residuo sólido se suspendió en etanol de 96%, se agitó durante 30 min y se filtró.

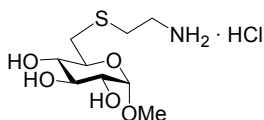
Rend.: 976 mg (86%); $[\alpha]_{\text{D}} + 81.4$ (c 1.0, H_2O).

^1H RMN (500 MHz, D_2O): δ 5.03 (d, 7 H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1), 3.93 (td, 7 H, $J_{4,5} = 9.2$ Hz, $J_{5,6b} = 7.0$ Hz, $J_{5,6a} = 2.0$ Hz, H-5), 3.82 (t, 7 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.4$ Hz, H-3), 3.56 (dd, 7 H, H-2), 3.55 (t, 7 H, H-4), 3.17 (t, 14 H, $^3J_{\text{H,H}} = 6.8$ Hz, $\text{CH}_2\text{N}_{\text{Cist}}$), 3.08 (dd, 7 H, $J_{6a,6b} = 13.5$ Hz, H-6a), 2.91 (t, 14 H, $\text{CH}_2\text{S}_{\text{Cist}}$), 2.90 (dd, 7 H, H-6b).

^{13}C RMN (125.7 MHz, D_2O): δ 101.6 (C-1), 83.6 (C-4), 72.7 (C-3), 72.0 (C-2), 71.6 (C-5), 38.6 ($\text{CH}_2\text{N}_{\text{Cist}}$), 32.7 (C-6), 30.0 ($\text{CH}_2\text{S}_{\text{Cist}}$).

EM (ESI): m/z 1549 $[\text{M}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{56}\text{H}_{112}\text{Cl}_7\text{N}_7\text{O}_{28}\text{S}_7$: C 37.27, H 6.27, N 5.44. Encontrado: C 37.11, H 6.10, N 5.33.



65

Hidrocloruro de metil 6-desoxi-6-(2-aminoetilthio)- α -D-glucopiranosido (65):

A una disolución de hidrocloruro de 2-aminoetanotiol (264 mg, 2.3 mmol, 2 eq) en DMF (3 mL) se añadió Et₃N (647 μ L, 4.64 mmol, 4 eq) bajo atmósfera de Ar. A la suspensión resultante se añadió gota a gota una disolución de metil 6-bromo-6-desoxi- α -D-glucopiranosido (0.3 g, 1.16 mmol) en DMF (1 mL). La mezcla de reacción se continuó agitando bajo atmósfera de Ar durante 24 h, el disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna usando MeCN-H₂O-NH₄OH 10:1:1. Se obtuvo un sólido blanco que se disolvió en agua ajustando el pH a 4 por adición de HCl 0.1 N.

Rend.: 300 mg (89%); R_f 0.14 (MeCN-H₂O-NH₄OH 10:1:1); $[\alpha]_D + 48.1$ (c 1.0, H₂O).

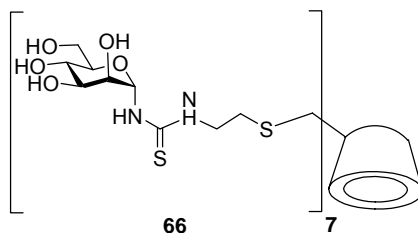
¹H RMN (500 MHz, D₂O): δ 4.78 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.6$ Hz, H-1), 3.73 (ddd, 1 H, $J_{4,5} = 10.1$ Hz, $J_{5,6b} = 7.9$ Hz, $J_{5,6a} = 2.6$ Hz, H-5), 3.60 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 9.8$ Hz, $J_{3,4} = 8.8$ Hz, H-3), 3.55 (dd, 1 H, H-2), 3.40 (s, 3 H, OMe), 3.35 (dd, 1 H, H-4), 3.23 (t, 2 H, $^3J_{H,H} = 6.6$ Hz, CH₂N_{Cist}), 3.03 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 14.1$ Hz, H-6a), 2.91 (t, 2 H, CH₂S_{Cist}), 2.78 (dd, 1 H, H-6b).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O): δ 100.7 (C-1), 74.5 (C-3), 73.8 (C-4), 72.8 (C-2), 72.2 (C-5), 56.7 (OMe), 40.0 (CH₂N_{Cist}), 34.0 (C-6), 30.8 (CH₂S_{Cist}).

EM (FAB): m/z 254 [M - Cl]⁺.

Análisis calculado para C₉H₂₀ClNO₅S: C 37.30, H 6.96, N 4.83. Encontrado: C 37.07, H 6.76, N 4.76.

9.3.9. Preparación de conjugados manosilados N y O-glicosídicos hiperramificados.



Heptakis[6-desoxi-6-[2-[N'-(α-D-manopiranosil)tioureido]etil]tio]-

ciclomaltoheptaosa (66):

Una disolución de **64** (25 mg, 14 μmol) en agua (2 mL) se ajustó a pH 8-9 por adición de NaHCO₃ sólido. Después de agitar durante 20 min se añadió una disolución de **149** (42 mg, 0.11 mmol, 1.1 eq) en acetona (3 mL) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La acetona se eliminó a presión reducida y la suspensión acuosa se liofilizó. El residuo se desacetiló siguiendo el procedimiento descrito en los Métodos Generales (método B, con saponificación) y se purificó mediante CPG (Sephadex G-25).

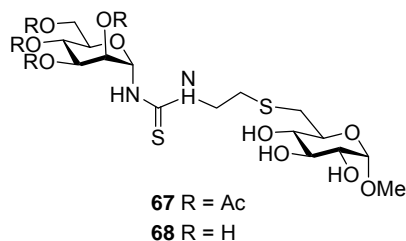
Rend.: 30 mg (71%); R_f 0.16 (MeCN-H₂O-NH₄OH 5:3:5), $[\alpha]_D + 50.3$ (c 1.0, H₂O).

¹H RMN (500 MHz, D₂O, 333 K): δ 5.85 (sa, 7 H, H-1_{Man}), 5.43 (sa, 7 H, H-1), 4.34 (7 H, m, H-2_{Man}), 4.30 (m, 7 H, H-6a_{Man}), 4.28 (m, 7 H, H-5), 4.22 (m, 7 H, H-3), 4.15 (d, 7 H, $J_{6a,6b} = 12.0$ Hz, H-6b_{Man}), 4.01 (m, 7 H, H-3_{Pent}), 3.96 (m, 7 H, H-2), 3.92 (t, 7 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.0$ Hz, H-4_{Man}), 3.88 (m, 7 H, H-4), 3.75 (m, 7 H, H-5_{Man}), 3.72 (m, 14 H, CH₂N_{Cist}), 3.55 (m, 7 H, H-6a), 3.53 (m, 7 H, H-6b), 2.80 (m, 14 H, CH₂S_{Cist}).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O, 333 K): δ 181.7 (CS), 101.7 (C-1), 82.5 (C-1_{Man}), 84.1 (C-4), 73.5 (C-5_{Man}), 73.0 (C-3), 72.0 (C-2, C-5), 70.5 (C-3_{Man}), 69.5 (C-2_{Man}), 66.6 (C-4_{Man}), 60.7 (C-6_{Man}), 44.2 (CH₂N_{Cist}), 33.2 (C-6), 31.6 (CH₂S_{Cist}).

EM (MALDI-TOF): m/z 3103.9 [M]⁺.

Análisis calculado para C₉₈H₁₈₂N₁₄O₆₃S₁₄: C 39.06, H 6.09, N 6.51. Encontrado: C 38.86, H 6.05, N 6.34.



Metil 6-desoxi-6-[2-[N'-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-manopiranosil)tio-ureido]etil]tio]- α -D-glucopiranosido (67):

Una disolución de **65** (35 mg, 0.12 mmol) en agua (1 mL) se ajustó a pH 8-9 por adición de NaHCO₃ sólido. Después de agitar durante 20 min se añadió una disolución de **149** (52 mg, 0.13 mmol, 1.1 eq) en acetona (1 mL) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. La acetona se eliminó a presión reducida y la suspensión acuosa se extrajo con AcOEt. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se concentró y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna usando AcOEt → AcOEt-EtOH-H₂O 45:5:3.

Rend.: 44 mg (57%); R_f 0.43 (EtOAc-EtOH-H₂O 45:5:3); $[\alpha]_D + 7.1$ (c 1.0, MeOH).

¹H RMN (500 MHz, CD₃OD, 313 K): δ 5.87 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1_{Man}), 5.32 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 9.1$ Hz, $J_{2,3} = 3.5$ Hz, H-3_{Man}), 5.26 (t, 1 H, H-2_{Man}), 5.20 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.1$ Hz, H-4_{Man}), 4.63 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.7$ Hz, H-1), 4.30 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 12.3$ Hz, $J_{5,6a} = 5.1$ Hz, H-6_{aMan}), 4.12 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 3.0$ Hz, H-6_{bMan}), 3.94 (ddd, 1 H, H-5_{Man}), 3.77 (m, 2 H, CH₂N_{Cist}), 3.64 (ddd, 1 H, $J_{4,5} = 10.0$ Hz, $J_{5,6b} = 8.0$ Hz, $J_{5,6a} = 2.4$ Hz, H-5), 3.56 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.4$ Hz, H-3), 3.41 (s, 3 H, OMe), 3.39 (dd, 1 H, H-2), 3.21 (dd, 1 H, H-4), 2.99 (d, 1 H, $J_{6a,6b} = 14.0$ Hz, H-6a), 2.86, 2.85 (2 dt, 2 H, $^2J_{H,H} = 11.5$ Hz, $^3J_{H,H} = 6.6$ Hz, CH₂S_{Cist}), 2.69 (dd, 1 H, H-6b), 2.12, 2.03, 2.02, 1.98 (4 s, 12 H, MeCO).

¹³C RMN (125.7 MHz, CD₃OD, 313 K): δ 185.1 (CS), 172.5, 171.6, 171.5, 171.4 (CO), 101.2 (C-1), 81.1 (C-1_{Man}), 75.5 (C-3), 74.6 (C-4), 73.7 (C-2), 73.6 (C-5), 71.3 (C-5_{Man}), 70.6 (C-3_{Man}), 70.5 (C-2_{Man}), 67.9 (C-4_{Man}), 63.5 (C-6_{Man}), 55.7 (OMe), 45.2 (CH₂N_{Cist}), 34.6 (C-6), 32.9 (CH₂S_{Cist}), 20.7-20.5 (MeCO).

EM (FAB): m/z 665 $[M + Na]^+$.

Análisis calculado para $C_{24}H_{38}N_2O_{14}S_2$: C 44.85, H, 5.96, N, 4.36. Encontrado: C 44.82, H, 5.97, N, 4.29.

Metil 6-desoxi-6-[2-(*N*'- α -D-manopiranosiltioureido)etil]tio]- α -D-glucopiranosido (68):

El compuesto **68** se obtuvo mediante desacetilación a partir de **67** (36 mg, 55 μ mol, 20 mM) siguiendo el procedimiento B descrito en los Métodos Generales.

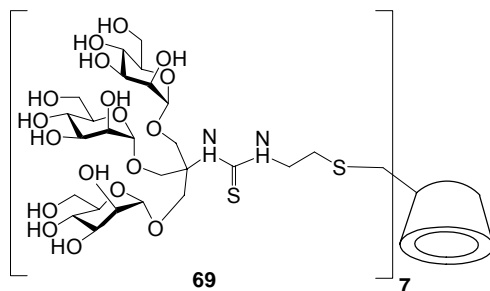
Rend.: 26 mg (100%); R_f 0.51 (MeCN-H₂O-NH₄OH 6:3:1); $[\alpha]_D + 140.0$ (c 1.0, H₂O).

¹H RMN (500 MHz, D₂O, 323 K): δ 5.68 (sa, 1 H, $J_{1,2} = 2.2$ Hz, H-1_{Man}), 4.95 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.0$ Hz, H-1), 4.20 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 3.2$ Hz, $J_{1,2} = 2.2$ Hz, H-2_{Man}), 4.04 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 10.3$ Hz, $J_{5,6a} = 2.5$ Hz, H-6a_{Man}), 4.01 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 5.8$ Hz, H-6b_{Man}), 4.00 (m, 2 H, CH₂N_{Cist}), 3.96 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 9.5$ Hz, H-3_{Man}), 3.91 (ddd, 1 H, $J_{4,5} = 9.3$ Hz, $J_{5,6b} = 8.0$ Hz, $J_{5,6a} = 2.0$ Hz, H-5), 3.88 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.5$ Hz, H-4_{Man}), 3.81 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.3$ Hz, H-3), 3.74 (dd, 1 H, H-2), 3.72 (ddd, 1 H, H-5_{Man}), 3.61 (s, 3 H, OMe), 3.51 (t, 1 H, H-4), 3.26 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 14.2$ Hz, H-6a), 3.06 (t, 2 H, $^3J_{H,H} = 6.5$ Hz, CH₂S_{Cist}), 2.96 (dd, 1 H, H-6b).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O, 323 K): δ 182.2 (CS), 99.6 (C-1), 85.8 (C-1_{Man}), 74.0 (C-5_{Man}), 73.5 (C-3), 73.0 (C-4), 71.7 (C-2), 71.2 (C-5), 70.9 (C-3_{Man}), 69.8 (C-2_{Man}), 67.5 (C-4_{Man}), 61.1 (C-6_{Man}), 55.5 (OMe), 44.4 (CH₂N_{Cist}), 33.3 (C-6), 31.5 (CH₂S_{Cist}).

EM (FAB): m/z 497 $[M + Na]^+$.

Análisis calculado para $C_{16}H_{30}N_2O_{10}S_2$: C 40.50, H 6.37, N 5.90. Encontrado: C 40.40, H 6.50, N 5.75.



Heptakis[6-desoxi-6-[2-[N'-[tris(α -D-manopiranosiloximetil)metil]tiureido]-etil]tiociclomaltoheptaosa (69):

El conjugado **69** se obtuvo por acoplamiento de **64** (10 mg, 5.5 μ mol) y **151** (45 mg, 40 μ mol, 1.04 eq) siguiendo el procedimiento descrito para **66**. Tiempo de reacción: 4 h. El residuo se desacetiló siguiendo el procedimiento descrito en los Métodos Generales (método A con saponificación) y se purificó por cromatografía de permeación sobre gel (Sephadex G-25).

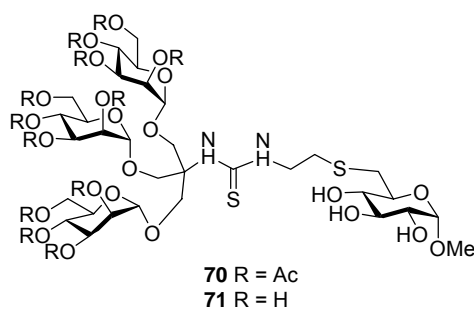
Rend.: 15 mg (45%); $[\alpha]_D + 130.0$ (*c* 0.5, H₂O).

¹H RMN (500 MHz, D₂O, 343 K): δ 5.53 (sa, 7 H, H-1), 5.31 (s, 21 H, H-1_{Man}), 4.49 (d, 21 H, ²*J*_{H,H} = 10.5 Hz, OCH₂a), 4.41 (s, 21 H, H-2_{Man}), 4.40 (m, 7 H, H-5), 4.36 (d, 21 H, OCH₂b), 4.32 (m, 7 H, H-3), 4.29 (21 H, d, *J*_{6a,6b} = 12.0 Hz, H-6a_{Man}), 4.21 (m, 14 H, CH₂N_{Cist}), 4.20 (dd, 21 H, *J*_{3,4} = 10.0 Hz, *J*_{2,3} = 4.0 Hz, H-3_{Man}), 4.18 (m, 21 H, H-6b_{Man}), 4.12 (t, 21 H, *J*_{4,5} = 10.0 Hz, H-4_{Man}), 4.09 (m, 7 H, H-2), 4.02 (m, 21 H, H-5_{Man}), 3.78 (m, 7 H, H-4), 3.63 (m, 7 H, H-6a), 3.47 (m, 7 H, *J*_{5,6b} = 8.5 Hz, H-6b), 3.22 (m, 14 H, CH₂S_{Cist}).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O, 333 K): δ 181.0 (CS), 102.6 (C-1), 100.9 (C-1_{Man}), 84.3 (C-4), 73.7 (C-5_{Man}), 73.5 (C-3), 72.6 (C-2, C-5), 71.3 (C-3_{Man}), 70.5 (C-2_{Man}), 67.3 (C-4_{Man}, OCH₂), 61.6 (C_q), 61.4 (C-6_{Man}), 44.8 (C_q, CH₂N_{Cist}), 34.2 (C-6), 32.8 (CH₂S_{Cist}).

EM (MALDI-TOF): *m/z* 6108.53 [M]⁺.

Análisis calculado para C₂₁₇H₃₇₈N₁₄O₁₅₄S₁₄: C 42.75, H 6.25, N 3.22. Encontrado: C 42.54, H 6.22, N 3.19.



Metil 6-desoxi-6-[2-[N'-[tris(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-manopiranosiloxi-metil)metil]tioureido]etil]tio]- α -D-glucopiranosido (70):

A una suspensión de **65** (20 mg, 69 μ mol) en piridina (1 mL) se añadió Et₃N (9.6 μ L, 69 μ mol, 1.0 eq) y se agitó a temperatura ambiente hasta disolución completa. Se añadió una disolución de **151** (88 mg, 76 μ mol, 1.1 eq) en piridina (1 mL), la mezcla de reacción se agitó durante 4 h, se añadió CH₂Cl₂ (5 mL) y se lavó con agua helada (5 mL). La fase orgánica se lavó con H₂SO₄ 2 N (2 mL), se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna usando AcOEt \rightarrow AcOEt - EtOH-H₂O 45:5:3.

Rend.: 58 mg (60%); R_f 0.42 (MeCN-H₂O-NH₄OH 10:1:1); $[\alpha]_D + 58.2$ (c 1.0, MeOH).
¹H RMN (500 MHz, CD₃OD, 313 K): δ 5.23 (m, 9 H, H-2_{Man}, H-3_{Man}, H-4_{Man}), 4.91 (sa, 3 H, H-1_{Man}), 4.62 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1), 4.37 (d, 3 H, $^2J_{H,H} = 10.0$ Hz, OCH₂a), 4.27 (dd, 3 H, $J_{6a,6b} = 12.0$ Hz, $J_{5,6a} = 5.0$ Hz, H-6a_{Man}), 4.13 (dd, 3 H, $J_{5,6b} = 2.5$ Hz, H-6b_{Man}), 4.07 (ddd, 3 H, $J_{4,5} = 2.5$ Hz, H-5_{Man}), 4.00 (d, 3 H, OCH₂b), 3.71 (m, 2 H, CH₂N_{Cist}), 3.64 (ddd, 1 H, $J_{4,5} = 9.5$ Hz, $J_{5,6b} = 8.0$ Hz, $J_{5,6a} = 2.5$ Hz, H-5), 3.57 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.5$ Hz, H-3), 3.40 (s, 3 H, OMe), 3.37 (dd, 1 H, H-2), 3.21 (t, 1 H, H-4), 3.01 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 14.0$ Hz, H-6a), 2.79, 2.77 (2 dt, 2 H, $^2J_{H,H} = 10.5$ Hz, $^3J_{H,H} = 6.5$ Hz, CH₂S_{Cist}), 2.68 (dd, 1 H, H-6b), 2.11, 2.06, 2.00, 1.91 (4 s, 36 H, MeCO).

^{13}C RMN (125.7 MHz, CD_3OD , 313 K): δ 184.0 (CS), 172.5-171.5 (CO), 101.2 (C-1), 99.4 (C-1_{Man}), 75.1 (C-3), 74.6 (C-4), 73.7 (C-2), 73.6 (C-5), 70.8 (C-2_{Man}), 70.7 (C-3_{Man}), 70.3 (C-5_{Man}), 67.3 (C-4_{Man}), 66.9 (OCH₂), 63.5 (C-6_{Man}), 62.2 (C_q), 55.7 (OMe), 44.3 (CH₂N_{Cist}), 34.5 (C-6), 33.2 (CH₂S_{Cist}), 21.0-20.6 (MeCO).

EM (FAB): m/z 1429 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para C₅₆H₈₂N₂O₃₅S₂: C 47.79, H 5.87, N 1.99. Encontrado: C 47.54, H 5.58, N 1.86.

Metil 6-desoxi-6-[2-[N'-[tris(α -D-manopiranosiloximetil)metil]tioureido]-etil]o]- α -D-glucopiranosido (71):

El compuesto **71** se obtuvo mediante desacetilación, seguida de saponificación, a partir de **70** (50 mg, 36 μmol) siguiendo el procedimiento A descrito en los Métodos Generales.

Rend.: 32 mg (100%); R_f 0.17 (MeCN-H₂O-NH₄OH 6:3:1); $[\alpha]_D + 2.0$ (c 1.0, H₂O).

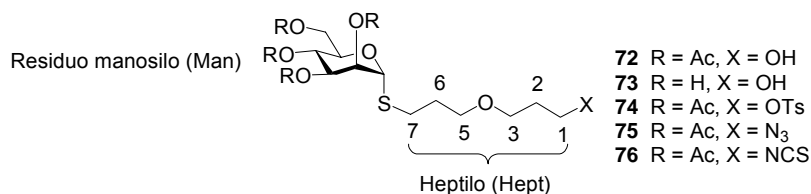
^1H RMN (500 MHz, D₂O, 323 K): δ 5.04 (3 H, d, $J_{1,2} = 1.5$ Hz, H-1_{Man}), 4.95 (d, 1 H, $J_{1,2} = 4.0$ Hz, H-1), 4.23 (d, 3 H, $^2J_{\text{H,H}} = 10.5$ Hz, OCH₂a), 4.14 (dd, 3 H, $J_{2,3} = 3.0$ Hz, H-2_{Man}), 4.06 (d, 3 H, OCH₂b), 4.04 (dd, 3 H, $J_{6a,6b} = 12.5$ Hz, $J_{5,6a} = 2.5$ Hz, H-6a_{Man}), 3.94 (dd, 3 H, $J_{3,4} = 9.0$ Hz, H-3_{Man}), 3.93 (dd, 3 H, $J_{5,6b} = 6.0$ Hz, H-6b_{Man}), 3.91 (m, 2 H, CH₂N_{Cist}), 3.90 (ddd, 1 H, $J_{4,5} = 10.0$ Hz, $J_{5,6b} = 8.5$ Hz, $J_{5,6a} = 2.5$ Hz, H-5), 3.83 (t, 3 H, $J_{4,5} = 9.5$ Hz, H-4_{Man}), 3.80 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.0$ Hz, H-3), 3.77 (ddd, 3 H, H-5_{Man}), 3.74 (dd, 1 H, H-2), 3.61 (s, 3 H, OMe), 3.51 (t, 1 H, H-4), 3.26 (dd, 3 H, $J_{6a,6b} = 14.0$ Hz, H-6a), 3.06 (t, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 6.5$ Hz, CH₂S_{Cist}), 2.95 (dd, 3 H, H-6b).

^{13}C RMN (125.7 MHz, D₂O, 323 K): δ 184.0 (CS), 100.7 (C-1_{Man}), 99.5 (C-1), 73.5 (C-5_{Man}), 73.4 (C-3), 72.9 (C-4), 71.6 (C-2), 71.2 (C-5), 71.0 (C-3_{Man}), 70.3 (C-2_{Man}), 67.1 (C-4_{Man}), 67.0 (OCH₂), 61.5 (C_q), 61.2 (C-6_{Man}), 55.5 (OMe), 44.3 (CH₂N_{Cist}), 33.3 (C-6), 31.8 (CH₂S_{Cist}).

EM (FAB): m/z 925 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para $C_{32}H_{58}N_2O_{23}S_2$: C 42.57, H 6.47, N 3.10. Encontrado: C 42.34, H 6.30, N 2.99.

9.3.10. Preparación de conjugados S-glicosídicos homovalentes hiperramificados



7-(2,3,4,6-Tetra-O-acetil- α -D-manopiranosilitio)-4-oxaheptanol (72):

Una disolución de **236** (457 mg, 3.94 mmol, 1.2 eq), **238** (1.19 g, 3.28 mmol) y AIBN (129 mg, 0.79 mmol, 0.2 eq) en dioxano (12 mL) se agitó bajo atmósfera de Ar a 75 °C durante 45 min. Se añadió ciclohexeno (2.6 mL), se eliminaron los disolventes a presión reducida y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna usando AcOEt-éter de petróleo 1:1 \rightarrow 2:1 como eluyente.

Rend.: 1.12 g (71%); R_f 0.26 (AcOEt-éter de petróleo 1:1); $[\alpha]_D^{25} +55.7$ (c 1.0, CH_2Cl_2).

1H RMN (500 MHz, $CDCl_3$): δ 5.31 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 3.3$ Hz, $J_{1,2} = 1.6$ Hz, H-2_{Man}), 5.29 (t, 1 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.9$ Hz, H-4_{Man}), 5.25 (sa, 1 H, H-1_{Man}), 5.24 (dd, 1 H, H-3_{Man}), 4.35 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 5.3$ Hz, $J_{5,6b} = 2.4$ Hz H-5_{Man}), 4.29 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 12.2$ Hz, H-6a_{Man}), 4.08 (dd, 1 H, H-6b_{Man}), 3.73 (t, 2 H, $^3J_{H,H} = 5.9$ Hz, CH_2NCS), 3.58 (t, 2 H, $^3J_{H,H} = 5.9$ Hz, H-3_{Hept}), 3.50 (t, 2 H, $^3J_{H,H} = 5.9$ Hz, H-5_{Hept}), 2.71, 2.67 (2 dt, 2 H, $^2J_{H,H} = 13.4$ Hz, $^3J_{H,H} = 6.9$ Hz, H-7_{Hept}), 2.15, 2.08, 2.03, 1.97 (4 s, 12 H, MeCO), 1.88 (m, 2 H, H-6_{Hept}), 1.80 (c, 2 H, H-2_{Hept}).

^{13}C RMN (125.7 MHz, $CDCl_3$): δ 170.6, 170.0, 169.8, 169.7 (CO), 82.6 (C-1_{Man}), 71.1 (C-2_{Man}), 69.7 (C-3_{Hept}), 69.4 (C-3_{Man}), 69.0 (C-5_{Man}), 68.9 (C-5_{Hept}), 66.2 (C-4_{Man}), 62.3

(C-6_{Man}), 61.5 (C-1_{Hept}), 32.0 (C-2_{Hept}), 29.4 (C-6_{Hept}), 28.1 (C-7_{Hept}), 20.9, 20.7, 20.6, 20.5 (MeCO).

EM (FAB): m/z 503 [M + Na]⁺, 481 [M + H]⁺.

Análisis calculado para C₂₀H₃₂O₁₁S: C 49.99, H 6.71. Encontrado: C 49.93, H 6.80.

7-(α -D-Manopiranosilitio)-4-oxaheptanol (73):

El compuesto **73** se obtuvo mediante desacetilación a partir de **72** (88 mg, 0.18 mmol) siguiendo el procedimiento A descrito en los Métodos Generales seguido de purificación por cromatografía en columna usando AcOEt-EtOH-H₂O 45:5:3 como eluyente.

Rend.: 52 mg (93%); R_f 0.16 (AcOEt-EtOH-H₂O 45:5:3); $[\alpha]_D +126.8$ (c 1.1, H₂O).

¹H RMN (300 MHz, D₂O): δ 5.25 (d, 1 H, $J_{1,2} = 1.5$ Hz, H-1_{Man}), 4.00 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 3.3$ Hz, H-2_{Man}), 3.95 (ddd, 1 H, $J_{4,5} = 9.6$ Hz, $J_{5,6b} = 6.0$ Hz, $J_{5,6a} = 2.4$ Hz, H-5_{Man}), 3.84 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 12.3$ Hz, H-6a_{Man}), 3.73 (dd, 1 H, H-6b_{Man}), 3.72 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 8.0$, H-3_{Man}), 3.66 (t, 1 H, H-4_{Man}), 3.62 (t, 2 H, $^3J_{H,H} = 6.6$ Hz, H-5_{Hept}), 3.57 (t, 2 H, $^3J_{H,H} = 6.3$ Hz, H-1_{Hept}), 3.55 (t, 2 H, $^3J_{H,H} = 6.6$ Hz, H-3_{Hept}), 2.70, 2.68 (2 dt, 2 H, $^2J_{H,H} = 13.5$ Hz, $^3J_{H,H} = 7.2$ Hz, H-7_{Hept}), 1.87 (q, 2 H, H-6_{Hept}), 1.77 (q, 2 H, H-2_{Hept}).

¹³C RMN (75.5 MHz, D₂O): δ 84.9 (C-1_{Man}), 73.1 (C-5_{Man}), 71.8 (C-2_{Man}), 71.0 (C-3_{Man}), 68.9 (C-5_{Hept}), 67.4 (C-3_{Hept}), 67.1 (C-4_{Man}), 60.8 (CH₂OH), 58.7 (C-6_{Man}), 31.2 (C-6_{Hept}), 28.6 (C-2_{Hept}), 27.4 (C-7_{Hept}).

EM (FAB): m/z 335 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para C₁₂H₂₄O₇S: C 46.14 H 7.74. Encontrado: C 45.95, H 7.68.

p-Toluensulfonato de 7-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-manopiranosilitio)-4-oxaheptilo (74):

A una disolución de **72** (100 mg, 0.21 mmol) en CH₂Cl₂ (2 mL) se añadieron cloruro de *p*-toluensulfonilo (60.1 mg, 0.32 mmol, 1.5 eq) y DMAP (38.6 mg, 0.32 mmol,

1.5 eq) y la mezcla de reacción de agitó a temperatura ambiente durante 24 h. Se añadió CH_2Cl_2 (5 mL) y se lavó con agua (7 mL). La fase orgánica se separó, se secó (MgSO_4), se concentró y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna usando AcOEt-éter de petróleo 1:1 como eluyente.

Rend.: 108 mg (81%); R_f 0.37 (AcOEt-éter de petróleo 1:1); $[\alpha]_D +61.0$ (c 1.0, CH_2Cl_2).

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 7.76, 7.34 (2 d, 4 H, $^3J_{\text{H,H}} = 8.1$ Hz, Ph), 5.31 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 2.5$ Hz, $J_{1,2} = 1.2$ Hz, H-2_{Man}), 5.29 (1 H, t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.6$ Hz, H-4_{Man}), 5.22 (sa, 1 H, H-1_{Man}), 5.25 (dd, 1 H, H-3_{Man}), 4.35 (ddd, 1 H, $J_{5,6a} = 5.3$ Hz, $J_{5,6b} = 1.3$ Hz, H-5_{Man}), 4.29 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 12.4$ Hz, H-6a_{Man}), 4.09 (t, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 6.2$ Hz, CH_2OTs), 4.08 (dd, 1 H, H-6b_{Man}), 3.41 (2 H, t, $^3J_{\text{H,H}} = 6.1$ Hz, H-3_{Hept}), 3.39 (t, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 6.1$ Hz, H-5_{Hept}), 2.64, 2.61 (2 dt, 2 H, $^2J_{\text{H,H}} = 13.2$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 7.2$ Hz, H-7_{Hept}), 2.44 (s, 3 H, MePh), 2.15, 2.07, 2.03, 1.97 (4 s, 12 H, MeCO), 1.86 (c, 2 H, H-2_{Hept}), 1.80 (m, 2 H, H-6_{Hept}).

^{13}C RMN (75.5 MHz, CDCl_3): δ 170.4, 169.8, 169.6, 169.5 (CO), 144.6, 132.9, 129.7, 127.7 (Ph), 82.5 (C-1_{Man}), 71.0 (C-2_{Man}), 69.3 (C-3_{Man}), 68.9 (C-5_{Man}), 68.8 (C-5_{Hept}), 67.4 (CH_2OTs), 66.1 (C-4_{Man}), 66.0 (C-3_{Hept}), 62.2 (C-6_{Man}), 29.3 (C-2_{Hept}), 29.1 (C-6_{Hept}), 28.0 (C-7_{Hept}), 21.5 (MePh), 20.7-20.4 (MeCO).

EM (FAB): m/z 657 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{27}\text{H}_{38}\text{O}_{13}\text{S}_2$: C 51.09, H 6.03. Encontrado: C 50.92, H 5.79.

7-(2,3,4,6-Tetra-O-acetil- α -D-manopiranosiltio)-4-oxaheptilazida (75):

Una mezcla de **73** (201.6 mg, 0.32 mmol) y NaN_3 (62 mg, 0.95 mmol, 3 eq) en DMF (3.5 mL) se agitó vigorosamente a 80 °C durante 4 h. La mezcla de reacción se concentró y el residuo se disolvió en CH_2Cl_2 , se lavó con agua, se secó (MgSO_4) y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna usando AcOEt-éter de petróleo 1:1.

Rend.: 157 mg (97%); R_f 0.51 (AcOEt-éter de petróleo 1:1); $[\alpha]_D +78.3$ (c 1.0, CH_2Cl_2);

IR: ν_{max} 2109 cm^{-1} .

^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): δ 5.32 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 3.3$ Hz, $J_{1,2} = 1.6$ Hz, H-2_{Man}), 5.29 (t, 1 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.9$ Hz, H-4_{Man}), 5.25 (sa, 1 H, H-1_{Man}), 5.24 (dd, 1 H, H-3_{Man}), 4.36 (ddd, 1 H, $J_{5,6a} = 5.3$ Hz, $J_{5,6b} = 2.2$ Hz, H-5_{Man}), 4.30 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 12.2$ Hz, H-6a_{Man}), 4.07 (dd, 1 H, H-6b_{Man}), 3.48 (t, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 6.0$ Hz, H-5_{Hept}), 3.47 (t, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 6.3$ Hz, H-3_{Hept}), 3.36 (t, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 6.6$ Hz, CH_2N_3), 2.71, 2.68 (2 dt, 2 H, $^2J_{\text{H,H}} = 13.3$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 7.1$ Hz, H-7_{Hept}), 2.15, 2.08, 2.03, 1.98 (4 s, 12 H, MeCO), 1.88 (m, 2 H, H-6_{Hept}), 1.81 (c, 2 H, H-2_{Hept}).

^{13}C RMN (125.7 MHz, CDCl_3): δ 170.4, 169.8, 169.6, 169.5 (CO), 82.6 (C-1_{Man}), 71.0 (C-2_{Man}), 69.3 (C-3_{Man}), 68.9 (C-5_{Man}), 68.8 (C-5_{Hept}), 67.3 (C-3_{Hept}), 66.2 (C-4_{Man}), 62.3 (C-6_{Man}), 48.3 (CH_2N_3), 29.4 (C-6_{Hept}), 29.0 (C-2_{Hept}), 28.1 (C-7_{Hept}), 20.8-20.5 (MeCO).

EM (FAB): m/z 528 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_{10}\text{S}$: C 47.52, H 6.18, N 8.31. Encontrado: C 47.47, H 6.03, N 8.22.

7-(2,3,4,6-Tetra-O-acetil- α -D-manopiranosiltio)-4-oxaheptil isotiocianato (76).

El compuesto **76** se preparó a partir de la azida **75** (156.6 mg, 0.31 mmol) siguiendo el procedimiento descrito para la preparación de **6** y purificación por cromatografía en columna usando AcOEt-éter de petróleo 1:1.

Rend.: 119 mg (74%); R_f 0.56 (AcOEt-éter de petróleo 1:1); $[\alpha]_D^{+25} +75.9$ (c 1.0, CH_2Cl_2); IR: ν_{max} 2089 cm^{-1} .

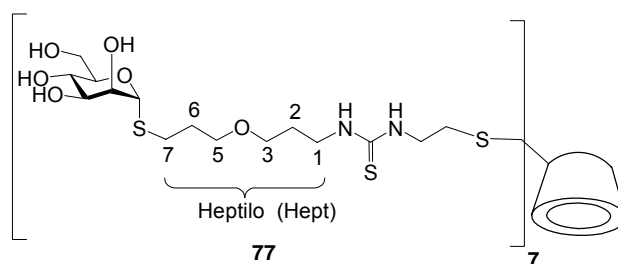
^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): δ 5.29 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 3.5$ Hz, $J_{1,2} = 1.5$ Hz, H-2_{Man}), 5.27 (t, 1 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 10.0$ Hz, H-4_{Man}), 5.23 (sa, 1 H, H-1_{Man}), 5.22 (dd, 1 H, H-3_{Man}), 4.34 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 5.0$ Hz, $J_{5,6b} = 2.5$ Hz, H-5_{Man}), 4.27 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 12.0$ Hz, H-6a_{Man}), 4.06 (dd, 1 H, H-6b_{Man}), 3.60 (t, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 6.5$ Hz, CH_2NCS), 3.49 (t, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 6.0$ Hz, H-3_{Hept}), 3.48 (t, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 6.0$ Hz, H-5_{Hept}), 2.69, 2.66 (2 dt, 2 H, $^2J_{\text{H,H}} = 13.5$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} =$

7.0 Hz, H-7_{Hept}), 2.12, 2.06, 2.01, 1.96 (4 s, 12 H, MeCO), 1.89 (c, 2 H, H-2_{Hept}), 1.86 (m, 2 H, H-6_{Hept}).

¹³C RMN (125.7 MHz, CDCl₃): δ 170.4, 169.9, 169.7, 169.6 (CO), 130.2 (NCS), 82.6 (C-1_{Man}), 71.1 (C-2_{Man}), 69.3 (C-3_{Man}), 69.0 (C-5_{Hept}), 68.9 (C-5_{Man}), 66.7 (C-3_{Hept}), 66.2 (C-4_{Man}), 62.3 (C-6_{Man}), 42.0 (CH₂NCS), 30.0 (C-2_{Hept}), 29.4 (C-6_{Hept}), 28.2 (C-7_{Hept}), 20.8-20.5 (MeCO).

EM (FAB): *m/z* 544 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para C₂₁H₃₁NO₁₀S₂: C 48.36, H 5.99, N 2.69. Encontrado: C 48.46, H 6.24, N 2.71



Heptakis[6-desoxi-6-[2-[N'-[7-(α -D-manopiranosiltio)-4-oxaheptil]tioureido]-etil]ti]ciclomaltoheptaosa (77).

Una disolución de **64** (20 mg, 11.08 μ mol) en agua (1 mL) se ajustó a pH 8-9 con NaHCO₃ sólido. Después de 16 h se añadió una disolución de **76** (60 mg, 115 μ mol, 1.5 eq) en acetona (1 mL) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Se evaporó la acetona a presión reducida y la disolución acuosa resultante se liofilizó. El residuo se extrajo con MeOH, se concentró y se desacetiló siguiendo el procedimiento A descrito en los Métodos Generales (con saponificación) para dar **77**.

Rend.: 20.4 mg (46%); *R_f* 0.51 (MeCN-H₂O-NH₄OH 5:3:5); [α]_D + 10.8 (c 1.0, H₂O).

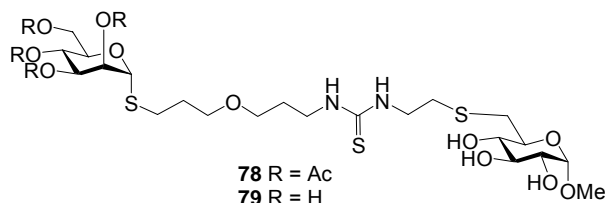
¹H RMN (500 MHz, D₂O, 343 K): δ 5.69 (s, 7 H, H-1_{Man}), 5.49 (d, 7 H, *J*_{1,2} = 3.0 Hz, H-1), 4.44 (m, 7 H, H-2_{Man}), 4.32 (m, 14 H, H-5_{Man}, H-5), 4.27 (t, 7 H, *J*_{2,3} = *J*_{3,4} = 9.0 Hz,

H-3), 4.23 (m, 14 H, H-6_{Man}, H-6_{Man}), 4.17 (t, 7 H, $J_{3,4} = 9.3$ Hz, $J_{2,3} = 2.9$ Hz, H-3_{Man}), 4.12 (m, 21 H, H-4_{Man}, CH₂N_{Cist}), 4.06 (dd, 7 H, H-2), 3.98 (t, 14 H, $^3J_{H,H} = 6.2$ Hz, H-5_{Hept}), 3.96 (t, 14 H, $^3J_{H,H} = 6.0$ Hz, H-3_{Hept}), 3.89 (m, 14 H, H-1_{Hept}), 3.67 (m, 7 H, H-6a), 3.40 (m, 7 H, H-6b), 3.34 (ta, 14 H, $^3J_{H,H} = 6.5$ Hz, CH₂S_{Cist}), 3.15, 3.11 (2 dt, 14 H, $^2J_{H,H} = 13.2$ Hz, $^3J_{H,H} = 6.4$ Hz, H-7_{Hept}), 2.32 (m, 14 H, H-6_{Hept}), 2.27 (m, 14 H, H-2_{Hept}).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O, 343 K): δ 181.0 (CS), 102.7 (C-1), 85.7 (C-1_{Man}), 85.0 (C-4), 73.9 (C-5_{Man}), 73.5 (C-3), 72.8 (C-2, C-5), 72.6 (C-2_{Man}), 72.0 (C-3_{Man}), 69.8 (C-5_{Hept}), 68.9 (C-3_{Hept}), 67.7 (C-4_{Man}), 61.6 (C-6_{Man}), 44.5 (CH₂N_{Cist}), 42.0 (C-1_{Hept}), 34.1 (C-6), 33.1 (CH₂S_{Cist}), 29.8 (C-2_{Hept}), 29.3 (C-6_{Hept}), 28.4 (C-7_{Hept}).

EM (MALDI-TOF): m/z 4036.74 [M + H]⁺.

Análisis calculado para C₁₄₇H₂₆₆N₁₄O₇₀S₂₁: C 43.89, H 6.66, N 4.87. Encontrado: C 44.13, H 6.51, N 4.76.



Metil 6-desoxi-6-[2-[N'-[7-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-manopiranosiltio)-4-oxaheptil]tiureido]etil]tio]- α -D-glucopiranosido (78):

A una suspensión de **65** (18.4 mg, 63.5 μ mol, 1.1 eq) en piridina (0.5 mL) se añadió Et₃N (8.8 μ L, 63.5 μ mol, 1.1 eq) y se agitó a temperatura ambiente hasta disolución completa. Se añadió una disolución del isotiocianato **76** (30.1 mg, 57.7 μ mol) en piridina (0.5 mL) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Se diluyó con CH₂Cl₂ (4 mL) y se lavó con agua helada (4 mL). La fase orgánica se lavó con H₂SO₄ 2 N, se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró. El residuo resultante se

purificó por cromatografía en columna usando AcOEt → AcOEt-EtOH-H₂O 45:5:3 como eluyente.

Rend.: 32.7 mg (73%); *R_f* 0.41 (AcOEt-EtOH-H₂O 45:5:3); [α]_D + 89.0 (*c* 1.0, MeOH).

¹H RMN (500 MHz, CD₃OD): δ 5.36 (d, 1 H, $J_{1,2} = 1.5$ Hz, H-1_{Man}), 5.32 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 3.0$ Hz, H-2_{Man}), 5.25 (t, 1 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 10.0$ Hz, H-4_{Man}), 5.22 (dd, 1 H, H-3_{Man}), 4.65 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1), 4.37 (ddd, 1 H, $J_{5,6a} = 5.5$ Hz, $J_{5,6b} = 2.0$ Hz, H-5_{Man}), 4.27 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 12.0$ Hz, H-6a_{Man}), 4.11 (dd, 1 H, H-6b_{Man}), 3.68 (m, 2 H, CH₂N_{Cist}), 3.64 (ddd, 1 H, $J_{4,5} = 9.5$ Hz, $J_{5,6b} = 8.0$ Hz, $J_{5,6a} = 2.5$ Hz, H-5), 3.57 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 10.0$ Hz, H-5), 3.54 (t, 2 H, $^3J_{H,H} = 6.0$ Hz, H-5_{Hept}), 3.50 (t, 2 H, $^3J_{H,H} = 6.0$ Hz, H-3_{Hept}), 3.48 (m, 2 H, H-1_{Hept}), 3.42 (s, 3 H, OMe), 3.39 (dd, 1 H, H-2), 3.22 (t, 1 H, H-4), 3.01 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 14.0$ Hz, H-6a), 2.82 (t, 2 H, $^3J_{H,H} = 6.5$ Hz, CH₂S_{Cist}), 2.78, 2.76 (2 dt, 2 H, $^2J_{H,H} = 10.5$ Hz, $^3J_{H,H} = 7.0$ Hz, H-7_{Hept}), 2.69 (dd, 1 H, H-6b), 2.14, 2.06, 2.05, 2.00 (4 s, 12 H, MeCO), 1.91 (m, 2 H, H-6_{Hept}), 1.82 (c, 2 H, H-2_{Hept}).

¹³C RMN (125.7 MHz, CDCl₃): δ 182.1 (CS), 172.0-171.5 (CO), 101.1 (C-1), 83.8 (C-1_{Man}), 75.0 (C-3), 74.6 (C-4), 73.6 (C-2), 73.5 (C-5), 72.3 (C-2_{Man}), 71.1 (C-3_{Man}), 70.4 (C-5_{Man}), 70.1 (C-5_{Hept}), 69.7 (C-3_{Hept}), 67.5 (C-4_{Man}), 63.7 (C-6_{Man}), 55.6 (OMe), 45.0 (CH₂N_{Cist}), 42.5 (C-1_{Hept}), 34.6 (C-6), 33.3 (CH₂S_{Cist}), 30.8 (C-6_{Hept}), 30.5 (C-2_{Hept}), 29.2 (C-7_{Hept}), 20.8-20.0 (MeCO).

EM (FAB): *m/z* 797 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para C₃₀H₅₀N₂O₁₅S₃: C 46.50, H 6.50, N 3.62. Encontrado: C 46.53, H 6.47, N 3.52.

Metil 6-desoxi-6-[2-[N'-[7-(α -D-manopiranosiltio)-4-oxaheptil]tioureido]-etil]o]- α -D-glucopiranosido (79):

Se obtuvo por desacetilación de **78** (29.6 mg, 38.2 μ mol) siguiendo el procedimiento A descrito en los Métodos Generales.

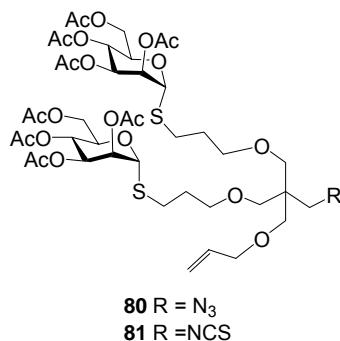
Rend.: 23 mg (100%); *R_f* 0.67 (MeCN-H₂O-NH₄OH 6:3:1); [α]_D + 113.5 (*c* 1.0, H₂O).

^1H RMN (500 MHz, D_2O , 313 K): δ 5.35 (d, 1 H, $J_{1,2} = 1.5$ Hz H-1_{Man}), 4.84 (d, 1 H, $J_{1,2} = 4.0$ Hz, H-1), 4.11 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 3.2$ Hz, H-2_{Man}), 4.03 (ddd, 1 H, $J_{4,5} = 9.4$ Hz, $J_{5,6b} = 5.8$ Hz, $J_{5,6a} = 2.1$ Hz, H-5_{Man}), 3.92 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 12.3$ Hz, H-6a_{Man}), 3.85 (dd, 1 H, H-6b_{Man}), 3.84 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 9.6$ Hz, H-3_{Man}), 3.80 (ddd, 1 H, $J_{4,5} = 9.9$ Hz, $J_{5,6b} = 8.0$ Hz, $J_{5,6a} = 2.3$ Hz, H-5), 3.75 (m, 2 H, $\text{CH}_2\text{N}_{\text{Cist}}$), 3.74 (t, 1 H, H-4_{Man}), 3.69 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.7$ Hz, H-3), 3.66 (t, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 6.5$ Hz, H-5_{Hept}), 3.64 (dd, 1 H, H-2), 3.63 (t, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 6.3$ Hz, H-3_{Hept}), 3.53 (m, 2 H, H-1_{Hept}), 3.41 (s, 3 H, OMe), 3.40 (t, 1 H, H-4), 3.15 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 14.0$ Hz, H-6a), 2.94 (t, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 6.7$ Hz, $\text{CH}_2\text{S}_{\text{Cist}}$), 2.84 (dd, 1 H, H-6b), 2.82, 2.77 (2 dt, 2 H, $^2J_{\text{H,H}} = 13.2$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 6.2$ Hz, H-7_{Hept}), 2.32 (m, 2 H, H-6_{Hept}), 1.92 (m, 2 H, H-2_{Hept}).

^{13}C RMN (125.7 MHz, D_2O , 313 K): δ 179.5 (CS), 99.4 (C-1), 85.1 (C-1_{Man}), 73.5 (C-5_{Man}), 73.2 (C-3), 72.8 (C-4), 72.1 (C-2_{Man}), 71.5 (C-2), 71.4 (C-3_{Man}), 71.1 (C-5), 69.2 (C-5_{Hept}), 68.2 (C-3_{Hept}), 67.3 (C-4_{Man}), 61.1 (C-6_{Man}), 55.4 (OMe), 43.6 ($\text{CH}_2\text{N}_{\text{Cist}}$), 41.2 (C-1_{Hept}), 33.2 (C-6), 31.7 ($\text{CH}_2\text{S}_{\text{Cist}}$), 28.9 (C-6_{Hept}), 28.3 (C-2_{Hept}), 27.8 (C-7_{Hept}).

EM (FAB): m/z 629 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{42}\text{N}_2\text{O}_{11}\text{S}_3$: C 43.55, H 6.98, N 4.62. Encontrado: C 43.50, H 6.86, N 4.50.



2-(2-Oxapent-4-enil)-2,2-bis[5-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-manopiranosilitio)-2-oxapentil]etil azida (80):

A una disolución de **41** (544 mg, 0.55 mmol) en CH₂Cl₂ (3.5 mL) se añadieron, bajo atmósfera de N₂ a -25 °C, piridina (260 µL) y Tf₂O (113 µL, 0.69 mmol, 1.25 eq). La mezcla de reacción se agitó a -25 °C durante 30 min, se lavó con disolución acuosa saturada y fría de NaHCO₃, se secó (MgSO₄) y se concentró. El residuo se disolvió en DMF (5.5 mL) y se añadió NaN₃ (107.3 mg, 1.65 mmol, 3 eq). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 h y se concentró. El residuo se disolvió en CH₂Cl₂, se lavó con agua, se secó (MgSO₄), se concentró y se purificó por cromatografía en columna usando AcOEt-éter de petróleo 1:1 como eluyente.

Rend.: 453.4 mg (80%); *R*_f 0.67 (AcOEt-éter de petróleo 2:1); [α]_D+55.0 (c 1.0, CH₂Cl₂); IR: ν_{\max} 2103 cm⁻¹.

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 5.85 (ddt, 1 H, ³*J*_{H,H} = 17.2 Hz, ³*J*_{H,H} = 10.5 Hz, ³*J*_{H,H} = 5.5 Hz, OCH₂CH=), 5.33 (dd, 2 H, *J*_{2,3} = 3.5 Hz, *J*_{1,2} = 1.5 Hz, H-2_{Man}), 5.29 (t, 2 H, H-4_{Man}), 5.25 (dd, 2 H, *J*_{3,4} = 9.9 Hz, H-3_{Man}), 5.24 (d, 2 H, H-1_{Man}), 5.24 (da, 1 H, =CH_a), 5.15 (da, 1 H, =CH_b), 4.37 (ddd, 2 H, *J*_{4,5} = 9.5 Hz, H-5_{Man}), 4.30 (dd, 2 H, *J*_{5,6a} = 5.3 Hz, H-6a_{Man}), 4.07 (dd, 2 H, *J*_{6a,6b} = 12.2 Hz, *J*_{5,6b} = 2.3 Hz, H-6b_{Man}), 3.93 (dt, 2 H, ⁴*J*_{H,H} = 1.4 Hz, OCH₂CH=), 3.46 (t, 4 H, ³*J*_{H,H} = 6.0 Hz, H-3_{Pent}), 3.33 (s, 6 H, H-1_{Pent}, CH₂OAll), 3.32 (s, 2 H, CH₂N₃), 2.67, 2.65 (2 dt, 4 H, ²*J*_{H,H} = 13.4 Hz, ³*J*_{H,H} = 7.3 Hz, H-5_{Pent}), 2.15, 2.08, 2.03, 1.98 (4 s, 24 H, MeCO), 1.87 (m, 4 H, H-4_{Pent}).

¹³C RMN (125.7 MHz, CDCl₃): δ 170.5-169.6 (CO), 134.8 (CH₂CH=), 116.6 (=CH₂), 82.7 (C-1_{Man}), 72.3 (CH₂CH=), 71.2 (C-2_{Man}), 69.6 (CH₂OAll, C-1_{Pent}), 69.4 (C-3_{Pent}), 69.3 (C-3_{Man}), 69.0 (C-5_{Man}), 66.3 (C-4_{Man}), 62.4 (C-6_{Man}), 52.0 (CH₂N₃), 45.4 (C_q), 29.5 (C-4_{Pent}), 28.3 (C-5_{Pent}), 20.9-20.6 (MeCO).

EM (FAB): *m/z* 1032 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para C₄₂H₆₃N₃O₂₁S₂: C 49.94, H 6.29, N 4.16. Encontrado: C 49.88, H 5.95, N 4.14.

2-(2-Oxapent-4-enil)-2,2-bis[5-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-manopiranosiltio)-2-oxapentil]etil isotiocianato (81):

El compuesto **81** se preparó a partir de la azida **80** (450 mg, 0.45 mmol) siguiendo el procedimiento descrito para la preparación de **6** y purificación por cromatografía en columna usando AcOEt-éter de petróleo 1:1.

Rend.: 283 mg (61%); R_f 0.29 (AcOEt-éter de petróleo 1:1); $[\alpha]_D^{20} +20.5$ (c 0.3, CH_2Cl_2);

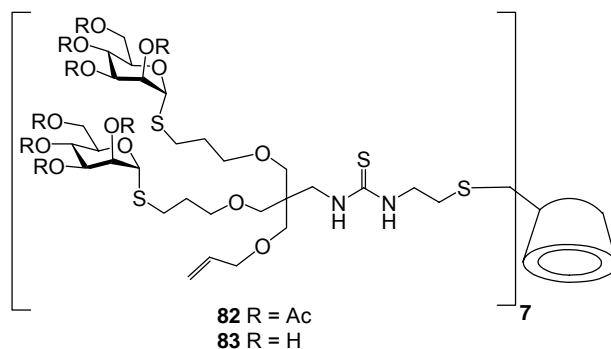
IR: ν_{max} 2205, 2101 cm^{-1} .

^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): δ 5.84 (ddt, 1 H, $^3J_{\text{H,H}} = 17.3$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 10.5$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 5.0$ Hz, $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{)$, 5.32 (dd, 2 H, $J_{2,3} = 3.3$ Hz, $J_{1,2} = 1.6$ Hz, H-2_{Man}), 5.30 (t, 2 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 10.0$ Hz, H-4_{Man}), 5.24 (d, 2 H, H-1_{Man}), 5.23 (dd, 2 H, H-3_{Man}), 5.22 (dc, 1H, $^4J_{\text{H,H}} = ^2J_{\text{H,H}} = 1.7$ Hz, $=\text{CH}_a$), 5.16 (dc, 1H, $^4J_{\text{H,H}} = 1.7$ Hz, $=\text{CH}_b$), 4.36 (ddd, 2 H, $J_{5,6a} = 5.2$ Hz, $J_{5,6b} = 2.3$ Hz, H-5_{Man}), 4.30 (dd, 2 H, $J_{6a,6b} = 12.2$ Hz, H-6a_{Man}), 4.07 (dd, 2 H, H-6b_{Man}), 3.93 (dt, 2 H, $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{)$, 3.56 (s, 2 H, CH_2NCS), 3.47 (t, 4 H, $^3J_{\text{H,H}} = 5.9$ Hz, H-3_{Pent}), 3.36 (s, 6 H, H-1_{Pent}, CH_2OAll), 2.70, 2.66 (2 dt, 4 H, $^2J_{\text{H,H}} = 13.3$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 6.9$ Hz, H-5_{Pent}), 2.15, 2.08, 2.03, 1.97 (4 s, 24 H, MeCO), 1.99 (m, 4 H, H-4_{Pent}).

^{13}C RMN (125.7 MHz, CDCl_3): δ 170.4-169.6 (CO), 134.5 ($\text{CH}_2\text{CH}=\text{)$, 116.8 ($=\text{CH}_2$), 82.7 (C-1_{Man}), 72.3 ($\text{CH}_2\text{CH}=\text{)$, 71.1 (C-2_{Man}), 69.5 (CH_2OAll , C-1_{Pent}), 69.4 (C-3_{Pent}), 69.3 (C-3_{Man}), 68.9 (C-5_{Man}), 66.3 (C-4_{Man}), 62.4 (C-6_{Man}), 45.6 (C_q, CH_2NCS), 28.2 (C-4_{Pent}), 27.0 (C-5_{Pent}), 20.8-20.5 (MeCO).

EM (FAB): m/z 1098 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{43}\text{H}_{63}\text{NO}_{21}\text{S}_3$: C 50.33, H 6.19, N 1.36. Encontrado: C 50.27, H 5.98, N 1.31.



Heptakis 6-deoxi-6-[2-[N'-[2-(2-oxapent-4-enil)-2,2-bis[5-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-manopiranosiltio)-2-oxapentil]etil]tioureido]etil]tio]ciclomaltopheptaosa (82):

El compuesto **82** se obtuvo a partir de **64** (20 mg, 11.1 μ mol) y el isotiocianato **81** (87.6 mg, 85.3 μ mol, 1.1 eq) siguiendo el procedimiento descrito para la preparación de **77**. Tiempo de reacción: 24 h. Purificación por cromatografía en columna usando MeCN \rightarrow MeCN-H₂O 10:1 y MeOH.

Rend. 81.2 mg (84%); R_f 0.54 (MeCN-H₂O-NH₄OH 10:1:1); $[\alpha]_D + 7.0$ (c 1.0, MeOH).

¹H RMN (500 MHz, CD₃OD, 323 K) δ 5.93 (ddt, 7 H, ³ $J_{H,H} = 17.0$ Hz, ³ $J_{H,H} = 10.5$ Hz, ³ $J_{H,H} = 5.0$ Hz, OCH₂CH=), 5.35 (da, 14 H, $J_{1,2} = 3.3$ Hz, H-1_{Man}), 5.32 (dd, 14 H, $J_{2,3} = 3.0$ Hz, H-2_{Man}), 5.26 (t, 14 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 10.0$ Hz, H-4_{Man}), 5.29 (da, 7H, =CH_a), 5.20 (dd, 14 H, H-3_{Man}), 5.18 (da, 7H, =CH_b), 5.01 (sa, 7 H, H-1), 4.37 (ddd, 14 H, $J_{5,6a} = 5.0$ Hz, $J_{5,6b} = 2.0$ Hz, H-5_{Man}), 4.27 (dd, 14 H, $J_{6a,6b} = 12.5$ Hz, H-6a_{Man}), 4.12 (dd, 14 H, H-6b_{Man}), 4.00 (da, 14 H, OCH₂CH=), 3.96 (m, 7 H, H-5), 3.82 (t, 7 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.5$ Hz, H-3), 3.71 (m, 14 H, CH₂N_{Cist}), 3.55 (t, 28 H, ³ $J_{H,H} = 5.5$ Hz, H-3_{Pent}), 3.51 (m, 14 H, H-2, H-4), 3.44 (m, 56 H, H-1_{Pent}, CH₂OAll, CH₂N_{Ram}), 3.20 (m, 7 H, H-6a), 2.96 (m, 7 H, H-6b), 2.91 (m, 14 H, CH₂S_{Cist}), 2.80, 2.77 (2 dt, 28 H, ² $J_{H,H} = 13.0$ Hz, ³ $J_{H,H} = 6.5$ Hz, H-5_{Pent}), 2.13-1.95 (4 s, 168 H, MeCO), 1.92 (m, 28 H, H-4_{Pent}).

^{13}C RMN (125.7 MHz, CD_3OD , 323 K): δ 183.6 (CS), 172.3-171.5 (CO), 136.4 ($\text{CH}_2\text{CH}=\text{}$), 117.6 ($=\text{CH}_2$), 103.8 (C-1), 85.9 (C-4), 84.0 (C-1_{Man}), 74.4 (C-3), 73.7 ($\text{CH}_2\text{CH}=\text{}$), 73.5 (C-2, C-5), 72.5 (C-2_{Man}), 72.2 (C-1_{Pent}), 71.8 (CH_2OAll), 71.2 (C-3_{Man}), 71.1 (C-3_{Pent}), 70.6 (C-5_{Man}), 67.8 (C-4_{Man}), 63.8 (C-6_{Man}), 45.8 (C_q), 45.6 ($\text{CH}_2\text{N}_{\text{Ram}}$, $\text{CH}_2\text{N}_{\text{Cist}}$), 35.0 ($\text{CH}_2\text{S}_{\text{Cist}}$), 34.0 (C-6), 30.9 (C-4_{Pent}), 29.6 (C-5_{Pent}), 21.1-20.6 (*MeCO*).

Análisis calculado para $\text{C}_{357}\text{H}_{546}\text{N}_{14}\text{O}_{175}\text{S}_{28}$: C 49.10, H 6.30, N 2.25. Encontrado: C 49.59, H 6.51, N 2.24.

Heptakis 6-desoxi-6-[2-[N'-[2-(2-oxapent-4-enil)-2,2-bis[5-(α -D-manopiranosilitio)-2-oxapentil]etil]tioureido]etil]tiolitio]ciclomaltoheptaosa (83):

El compuesto **83** se obtuvo mediante desacetilación, seguida de saponificación, a partir de **82** (45.4 mg, 5.2 μmol) siguiendo el procedimiento A descrito en los Métodos Generales y purificación por CPG (Sephadex G 25, H_2O).

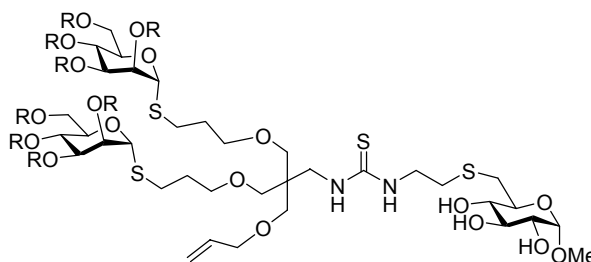
Rend.: 33 mg (97%); R_f 0.45 (MeCN- H_2O - NH_4OH 5:3:5); $[\alpha]_D + 89.0$ (c 1.0, H_2O).

^1H RMN (500 MHz, D_2O , 333 K): δ 6.26 (m, 7 H, $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{}$), 5.64 (ca, 7 H, $^3J_{\text{H,H}} = 17.5$ Hz, $=\text{CH}_a$), 5.59 (d, 14 H, $J_{1,2} = 1.7$ Hz, H-1_{Man}), 5.57 (da, 7 H, $^3J_{\text{H,H}} = 10.5$ Hz, $=\text{CH}_b$), 5.39 (sa, 7 H, H-1), 4.34 (m, 28 H, H-2_{Man}, $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{}$), 4.21 (m, 14 H, H-5_{Man}), 4.19 (m, 14 H, H-5, H-3), 4.13 (m, 14 H, H-6a_{Man}), 4.06 (m, 28 H, H-3_{Man}, H-6b_{Man}), 4.04 (m, 14 H, H-4_{Man}), 4.00 (m, 2 H, $\text{CH}_2\text{N}_{\text{Cist}}$), 3.97 (da, 7 H, $J_{2,3} = 9.5$ Hz, H-2), 3.87 (m, 35 H, H-3_{Pent}, H-4), 3.74 (m, 44 H, H-1_{Pent}, $\text{CH}_2\text{N}_{\text{Ram}}$, CH_2OAll), 3.58 (m, 7 H, H-6a), 3.29 (m, 7 H, H-6b), 3.23 (m, 2 H, $\text{CH}_2\text{S}_{\text{Cist}}$), 3.03 (m, 28 H, H-5_{Pent}), 2.23 (m, 28 H, H-4_{Pent}).

^{13}C RMN (125.7 MHz, D_2O , 333 K): δ 181.5 (CS), 131.3 ($\text{CH}_2\text{CH}=\text{}$), 118.0 ($=\text{CH}_2$), 103.0 (C-1), 85.6 (C-1_{Man}), 83.6 (C-4), 73.8 (C-5_{Man}), 73.2 (C-3), 72.8 ($\text{CH}_2\text{CH}=\text{}$), 72.6 (C-2, C-5), 72.5 (C-2_{Man}), 71.9 (C-3_{Man}), 70.9 (C-1_{Pent}), 70.6 (C-3_{Pent}, CH_2OAll), 67.5 (C-4_{Man}), 61.4 (C-6_{Man}), 44.8, 44.2 (C_q, $\text{CH}_2\text{N}_{\text{Cist}}$, $\text{CH}_2\text{N}_{\text{Ram}}$), 33.2 (C-6), 31.8 ($\text{CH}_2\text{S}_{\text{Cist}}$), 29.6 (C-4_{Pent}), 28.4 (C-5_{Pent}).

EM (MALDI-TOF): m/z 6394.53 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $C_{245}H_{434}N_{14}O_{119}S_{28}$: C 46.14, H 6.86, N 3.07. Encontrado: C 46.62, H 6.83, N 2.87.



84 R = Ac
85 R = H

Metil 6-desoxi-6-[2-[N'-[2-(2-oxapent-4-enil)-2,2-bis[5-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-manopiranosilitio)-2-oxapentil]etil]tioureido]etil]tio]- α -D-glucopiranosido (84):

Se obtuvo por acoplamiento de **65** (31 mg, 107 μ mol, 1.1 eq) y el isotiocianato **81** (100 mg, 97 μ mol) siguiendo el procedimiento descrito para la preparación de **78** seguido de purificación por cromatografía en columna empleando AcOEt \rightarrow AcOEt-EtOH-H₂O 45:5:3 como eluyente. Tiempo de reacción: 16 h.

Rend.: 95.2 mg (77%); R_f 0.57 (AcOEt-EtOH-H₂O 45:5:3); R_f 0.42 (MeCN-H₂O-NH₄OH 10:1:1); $[\alpha]_D + 72.6$ (c 1.0, MeOH).

¹H RMN (500 MHz, CD₃OD, 313 K): δ 5.90 (ddt, 1 H, ³ $J_{H,H} = 17.0$ Hz, ³ $J_{H,H} = 10.5$ Hz, ³ $J_{H,H} = 5.0$ Hz, OCH₂CH=), 5.33 (d, 2 H, $J_{1,2} = 1.5$ Hz, H-1_{Man}), 5.31 (dd, 2 H, $J_{2,3} = 3.0$ Hz, H-2_{Man}), 5.26 (dc, 1 H, ⁴ $J_{H,H} = 2J_{H,H} = 1.5$ Hz, =CH_a), 5.25 (t, 2 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 10.0$ Hz, H-4_{Man}), 5.18 (dd, 2 H, H-3_{Man}), 5.15 (dc, 1 H, ⁴ $J_{H,H} = 1.5$ Hz, =CH_b), 4.63 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1), 4.37 (ddd, 2 H, $J_{5,6a} = 2.0$ Hz, $J_{5,6b} = 2.0$ Hz, H-5_{Man}), 4.25 (dd, 2 H, $J_{6a,6b} = 12.5$ Hz, H-6a_{Man}), 4.10 (dd, 2 H, H-6b_{Man}), 3.96 (dt, 2 H, OCH₂CH=), 3.68 (sa, 2 H, CH₂N_{Cist}), 3.64 (ddd, 1 H, $J_{4,5} = 9.0$ Hz, $J_{5,6b} = 8.0$ Hz, $J_{5,6a} = 2.5$ Hz, H-5), 3.56 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.0$ Hz, H-3), 3.52 (t, 4 H, ³ $J_{H,H} = 5.5$ Hz, H-3_{Pent}), 3.40 (m, 11 H, H-1_{Pent}, CH₂N_{Ram}, CH₂N_{Cist}, CH₂OAll, OMe), 3.38 (d, 1 H, H-2), 3.21 (t, 1 H, H-4), 3.00 (dd, 1 H,

$J_{6a,6b} = 14.0$ Hz, H-6a), 2.82 (t, 2 H, $^3J_{H,H} = 7.0$ Hz, $\text{CH}_2\text{S}_{\text{Cist}}$), 2.78, 2.75 (2 dt, 4 H, $^2J_{H,H} = 12.5$ Hz, $^3J_{H,H} = 7.0$ Hz, H-5_{Pent}), 2.68 (dd, 2 H, H-6b), 2.12-1.98 (4 s, 36 H, MeCO), 1.99 (m, 4 H, H-4_{Pent}).

^{13}C RMN (125.7 MHz, CD_3OD , 313 K): δ 182.4 (CS), 172.3-171.5 (CO), 136.2 ($\text{CH}_2\text{CH}=\text{}$), 117.3 ($=\text{CH}_2$), 101.2 (C-1), 84.0 (C-1_{Man}), 75.1 (C-3), 74.6 (C-4), 73.7 (C-2), 73.6 (C-5), 73.5 ($\text{OCH}_2\text{CH}=\text{}$), 72.4 (C-2_{Man}), 69.3 (C-1_{Pent}), 71.2 (C-3_{Man}), 70.8 (C-3_{Pent}), 70.5 (C-5_{Man}), 67.7 (C-4_{Man}), 63.7 (C-6_{Man}), 55.7 (OMe), 45.6 (C_q, $\text{CH}_2\text{N}_{\text{Ram}}$, $\text{CH}_2\text{N}_{\text{Cist}}$), 34.8 (C-6), 33.3 ($\text{CH}_2\text{S}_{\text{Cist}}$), 30.7 (C-4_{Pent}), 29.4 (C-5_{Pent}), 20.8-20.5 (MeCO).

EM (FAB): m/z 1300 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{52}\text{H}_{82}\text{N}_2\text{O}_{26}\text{S}_4$: C 48.81, H 6.96, N 2.19. Encontrado: C 48.69, H 6.39, N 2.01.

Metil 6-desoxi-6-[2-[N'-[2-(2-oxapent-4-enil)-2,2-bis[5-(α -D-manopiranosil]tioureido]etil]tioureido]etil]tioureido]- α -D-glucopiranosido (85):

El compuesto **85** se obtuvo mediante desacetilación a partir de **84** (25 mg, 19.5 μmol) siguiendo el procedimiento A descrito en los Métodos Generales.

Rend.: 18 mg (100%); R_f 0.72 (MeCN- H_2O - NH_4OH 6:3:1); $[\alpha]_D + 92.1$ (c 0.7, H_2O).

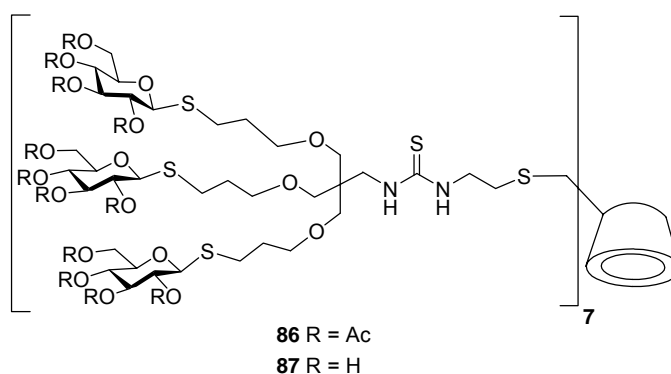
^1H RMN (500 MHz, D_2O , 313 K): δ 6.02 (ddt, 1 H, $^3J_{H,H} = 17.0$ Hz, $^3J_{H,H} = 10.5$ Hz, $^3J_{H,H} = 6.0$ Hz, $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{}$), 5.40 (dc, 1 H, $^2J_{H,H} = ^4J_{H,H} = 1.7$ Hz, CH_a), 5.35 (d, 2 H, H-1_{Man}), 5.32 (dc, 1 H, $^4J_{H,H} = 1.7$ Hz, $=\text{CH}_b$), 4.84 (d, 1 H, $J_{1,2} = 4.0$ Hz H-1), 4.10 (dd, 2 H, $J_{2,3} = 3.5$ Hz, H-2_{Man}), 4.08 (dt, 2 H, $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{}$), 4.02 (ddd, 2 H, $J_{4,5} = 10.0$ Hz, $J_{5,6b} = 6.0$ Hz, $J_{5,6a} = 2.5$ Hz, H-5_{Man}), 3.92 (dd, 2 H, $J_{6a,6b} = 12.0$ Hz, H-6a_{Man}), 3.85 (dd, 2 H, H-6b_{Man}), 3.83 (dd, 2 H, $J_{3,4} = 10.0$ Hz, H-3_{Man}), 3.80 (ddd, 1 H, $J_{4,5} = 9.0$ Hz, $J_{5,6b} = 8.5$ Hz, $J_{5,6a} = 2.5$ Hz, H-5), 3.76 (sa, 2 H, $\text{CH}_2\text{N}_{\text{Cist}}$), 3.75 (t, 2 H, H-4_{Man}), 3.69 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.0$ Hz, H-3), 3.65 (t, 4 H, t, $^3J_{H,H} = 6.0$ Hz, H-3_{Pent}), 3.63 (dd, 1 H, H-2), 3.52 (m, 8 H, H-1_{Pent}, $\text{CH}_2\text{N}_{\text{Ram}}$, CH_2OAll), 3.50 (s, 3 H, OMe), 3.39 (t, 1 H, H-4), 3.15 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} =$

14.0 Hz, H-6a), 2.94 (t, 2 H, $^3J_{H,H} = 6.5$ Hz, CH₂S_{Cist}), 2.83, 2.81 (2 dt, 4 H, $^2J_{H,H} = 13.0$ Hz, $^3J_{H,H} = 6.5$ Hz, H-5_{Pent}), 2.84 (dd, 1 H, H-6b), 1.99 (m, 4 H, H-4_{Pent}).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O, 313 K): δ 182.5 (CS), 134.5 (CH₂CH=), 118.1 (=CH₂), 99.4 (C-1), 85.7 (C-1_{Man}), 73.5 (C-5_{Man}), 73.3 (C-3), 73.8 (C-4), 72.6 (CH₂CH=), 72.1 (C-2_{Man}), 71.6 (C-2), 71.5 (C-3_{Man}), 71.2 (C-5), 70.6 (C-1_{Pent}, CH₂OAll), 70.3 (C-3_{Pent}), 67.3 (C-4_{Man}), 61.1 (C-6_{Man}), 55.4 (OMe), 44.4 (C_q, CH₂N_{Cist}, CH₂N_{Ram}), 33.3 (C-6), 31.8 (CH₂S_{Cist}), 28.9 (C-4_{Pent}), 28.0 (C-5_{Pent}).

EM (FAB): *m/z* 865 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para C₃₆H₆₆N₂O₁₈S₄: C 45.84, H 7.05, N 2.97. Encontrado: C 45.72, H 6.83, N 2.86.



Heptakis[6-desoxi-6-[2-[N'-[2,2,2-tris[5-(2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosiltio)-2-oxapentil]etil]tioureido]etiltio]ciclomaltoheptaosa (86):

El compuesto **86** se obtuvo a partir de **64** (20 mg, 11.1 μmol) y el isotiocianato **27** (119 mg, 85.4 μmol, 1.1 eq) siguiendo el procedimiento descrito para la preparación de **77**. Tiempo de reacción: 48 h. Purificación por cromatografía en columna usando MeCN → MeCN-H₂O 20:1 → 10:1.

Rend.: 47 mg (37%); [α]_D - 11.4 (c 1.0, MeOH).

^1H RMN (500 MHz, CD_3OD , 323 K): δ 5.27 (t, 21 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.5$ Hz, H-3_{Glc}), 5.04 (t, 21 H, $J_{4,5} = 10.0$ Hz, H-4_{Glc}), 5.03 (s, 7 H, H-1), 4.96 (t, 21 H, $J_{1,2} = 10.0$ Hz, H-2_{Glc}), 4.76 (d, 21 H, H-1_{Glc}), 4.26 (dd, 21 H, $J_{6a,6b} = 12.0$ Hz, $J_{5,6a} = 5.0$ Hz, H-6a_{Glc}), 4.16 (dd, 21 H, $J_{5,6b} = 2.5$ Hz, H-6b_{Glc}), 3.97 (m, 7 H, H-5), 3.92 (ddd, 21 H, H-5_{Glc}), 3.83 (t, 7 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.5$ Hz, H-3), 3.72 (m, 14 H, $\text{CH}_2\text{N}_{\text{Cist}}$), 3.55 (m, 14 H, H-2, H-4), 3.52 (m, 42 H, H-3_{Pent}), 3.42 (s, 56 H, $\text{CH}_2\text{N}_{\text{Ram}}$, H-1_{Pent}), 3.21 (m, 7 H, H-6a), 3.02 (m, 7 H, H-6b), 2.91 (ta, 14 H, $\text{CH}_2\text{S}_{\text{Cist}}$), 2.82, 2.78 (2 dt, 42 H, $^2J_{\text{H,H}} = 13.0$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 6.0$ Hz, H-5_{Pent}), 2.07, 2.05, 2.01, 1.95 (4 s, 252 H, MeCO), 1.89 (m, 42 H, H-4_{Pent}).

^{13}C RMN (125.7 MHz, CD_3OD , 323 K): δ 185.4 (CS), 172.3, 171.7, 171.3, 171.2 (CO), 103.8 (C-1), 86.1 (C-4), 84.9 (C-1_{Glc}), 76.9 (C-5_{Glc}), 75.5 (C-3_{Glc}), 74.6 (C-3), 74.4 (C-2, C-5), 72.1 (C-1_{Pent}), 71.8 (C-2_{Glc}), 71.2 (C-3_{Pent}), 70.2 (C-4_{Glc}), 63.7 (C-6_{Glc}), 45.9 (C-4, $\text{CH}_2\text{N}_{\text{Ram}}$, $\text{CH}_2\text{N}_{\text{Cist}}$), 35.1 (C-6), 34.2 ($\text{CH}_2\text{S}_{\text{Cist}}$), 31.4 (C-4_{Pent}), 28.5 (C-5_{Pent}), 21.1-20.7 (MeCO).

Análisis calculado para $\text{C}_{455}\text{H}_{686}\text{N}_{14}\text{O}_{238}\text{S}_{35}$: C 48.43, H 6.14, N 1.74. Encontrado: C 48.08, H 6.02, N 1.69.

Heptakis[6-desoxi-6-[2-[N'-[2,2,2-tris[5-(β -D-glucopiranosilitio)-2-oxapentil]-etil]tioureido]etil]tiociclomaltoheptaosa (87):

El compuesto **87** se obtuvo mediante desacetilación, seguida de saponificación, a partir de **86** (43.5 mg, 3.8 μmol) siguiendo el procedimiento A descrito en los Métodos Generales.

Rend.: 28 mg (100%); $[\alpha]_{\text{D}} - 16.2$ (*c* 1.4, H_2O).

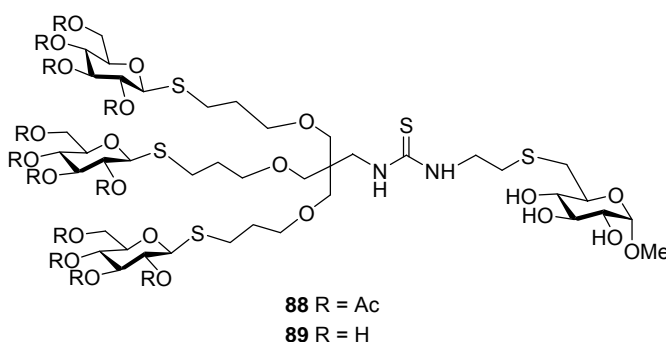
^1H RMN (500 MHz, D_2O , 343 K): δ 5.46 (da, 7 H, $J_{1,2} = 3.0$ Hz, H-1), 4.86 (d, 21 H, $J_{1,2} = 9.5$ Hz, H-1_{Glc}), 4.29 (m, 7 H, H-5), 4.28 (m, 7 H, H-3), 4.27 (d, 21 H, $J_{6a,6b} = 12.0$ Hz, H-6a_{Glc}), 4.13 (d, 21 H, H-6b_{Glc}), 4.09 (m, 14 H, $\text{CH}_2\text{N}_{\text{Cist}}$), 4.07 (m, 7 H, H-2), 3.98 (t, 42 H, $^3J_{\text{H,H}} = 6.5$ Hz, H-3_{Pent}), 3.97 (m, 7 H, H-4), 3.89 (t, 21 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.3$ Hz, H-3_{Glc}), 3.84 (m, 98 H, H-4_{Glc}, H-5_{Glc}, $\text{CH}_2\text{N}_{\text{Ram}}$, H-1_{Pent}), 3.73 (t, 21 H, H-2_{Glc}), 3.65 (m, 7 H, H-

6a), 3.38 (m, 7 H, H-6b), 3.32 (ta, 14 H, $^3J_{\text{H,H}} = 6.5$ Hz, $\text{CH}_2\text{S}_{\text{Cist}}$), 3.22, 3.18 (2 dt, 42 H, $^2J_{\text{H,H}} = 13.0$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 5.5$ Hz, H-5_{Pent}), 2.33 (m, 42 H, H-4_{Pent}).

^{13}C RMN (125.7 MHz, 343 K, D_2O): δ 181.4 (CS), 102.6 (C-1), 86.3 (C-1_{Glc}), 85.1 (C-4), 80.5 (C-5_{Glc}), 78.0 (C-3_{Glc}), 73.4 (C-3), 73.2 (C-2_{Glc}), 72.8 (C-2, C-5), 71.2 (C-1_{Pent}), 70.4 (C-3_{Pent}), 70.3 (C-4_{Glc}), 61.8 (C-6_{Glc}), 46.5 (C_q), 45.0 ($\text{CH}_2\text{N}_{\text{Ram}}$, $\text{CH}_2\text{N}_{\text{Cist}}$), 34.2 (C-6), 33.1 ($\text{CH}_2\text{S}_{\text{Cist}}$), 30.0 (C-4_{Pent}), 27.4 (C-5_{Pent}).

EM (MALDI-TOF): m/z 7750 $[\text{M}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{287}\text{H}_{518}\text{N}_{14}\text{O}_{154}\text{S}_{35}$: C 44.46, H 6.75, N 2.53. Encontrado: C 44.32, H 6.67, N 2.34.



Metil 6-desoxi-6-[2-[N'-[2,2,2-tris[5-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosilitio)-2-oxapentil]etil]tioureido]etiltio]- α -D-glucopiranosido (88):

Se obtuvo por acoplamiento de **65** (25 mg, 86 μmol) y el isotiocianato **27** (132 mg, 95 μmol , 1.1 eq) siguiendo el procedimiento descrito para la preparación de **78** seguido de purificación por cromatografía en columna empleando $\text{AcOEt} \rightarrow \text{AcOEt-EtOH-H}_2\text{O}$ 45:5:3 como eluyente. Tiempo de reacción: 48 h.

Rend.: 40 mg (30%); R_f 0.50 ($\text{AcOEt-EtOH-H}_2\text{O}$ 45:5:3); $[\alpha]_{\text{D}} - 6.3$ (c 1.0, MeOH).

^1H RMN (500 MHz, CD_3OD): δ 5.27 (t, 3 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.4$ Hz, H-3_{Glc}), 5.02 (t, 3 H, $J_{4,5} = 9.4$ Hz, H-4_{Glc}), 4.94 (t, 3 H, $J_{1,2} = 9.4$ Hz, H-2_{Glc}), 4.74 (d, 3 H, H-1_{Glc}), 4.65 (d, 1 H,

$J_{1,2} = 3.7$ Hz, H-1), 4.24 (dd, 3 H, $J_{6a,6b} = 12.4$ Hz, $J_{5,6a} = 5.0$ Hz, H-6a_{Glc}), 4.12 (dd, 3 H, $J_{5,6b} = 2.3$ Hz, H-6b_{Glc}), 3.90 (ddd, 3 H, H-5_{Glc}), 3.70 (m, 2 H, CH₂N_{Cist}), 3.64 (ddd, 1 H, $J_{4,5} = 9.1$ Hz, $J_{5,6b} = 8.0$ Hz, $J_{5,6a} = 2.1$ Hz, H-5), 3.56 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.4$ Hz, H-3), 3.51 (t, 6 H, $^3J_{H,H} = 5.5$ Hz, H-3_{Pent}), 3.42 (s, 3 H, OMe), 3.40 (s, 8 H, CH₂N_{Ram}, H-1_{Pent}), 3.39 (dd, 1 H, H-2), 3.23 (t, 1 H, H-4), 3.02 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 13.9$ Hz, H-6a), 2.84 (t, 2 H, $^3J_{H,H} = 6.0$ Hz, CH₂S_{Cist}), 2.81, 2.76 (2 dt, 6 H, $^2J_{H,H} = 13.7$ Hz, $^3J_{H,H} = 5.5$ Hz, H-5_{Pent}), 2.70 (dd, 1 H, H-6b), 2.06, 2.02, 1.99, 1.96 (4 s, 36 H, MeCO), 1.88 (m, 6 H, H-4_{Pent}).

¹³C RMN (125.7 MHz, CD₃OD): δ 186.0 (CS), 170.9, 170.2, 169.9, 169.7 (CO), 101.1 (C-1), 84.9 (C-1_{Glc}), 76.8 (C-5_{Glc}), 75.3 (C-3_{Glc}), 75.1 (C-3), 74.6 (C-4), 73.6 (C-2, C-5), 72.0 (C-1_{Pent}), 71.5 (C-2_{Glc}), 70.9 (C-3_{Pent}), 69.9 (C-4_{Glc}), 63.5 (C-6_{Glc}), 55.7 (OMe), 45.6 (C_q, CH₂N_{Ram}, CH₂N_{Cist}), 34.7 (C-6), 33.3 (CH₂S_{Cist}), 31.2 (C-4_{Pent}), 28.4 (C-5_{Pent}), 20.9-20.6 (MeCO).

EM (FAB): m/z 1666 [M + Na]⁺, 1644 [M + H]⁺.

Análisis calculado para C₆₆H₁₀₂N₂O₃₅S₅: C 48.22, H 6.25, N 1.70. Encontrado: C 48.27, H 6.18, N 1.66.

Metil 6-desoxi-6-[2-[N'-[2,2,2-tris[5-(β -D-glucopiranosilitio)-2-oxapentil]-etil]tioureido]etil]tio]- α -D-glucopiranosido (89):

Se obtuvo por desacetilación a partir de **88** (31 mg, 19 μ mol) siguiendo el procedimiento A descrito en los Métodos Generales.

Rend.: 21 mg (100%); R_f 0.50 (MeCN-H₂O-NH₄OH 6:3:1); $[\alpha]_D -12.3$ (c 1.0, H₂O).

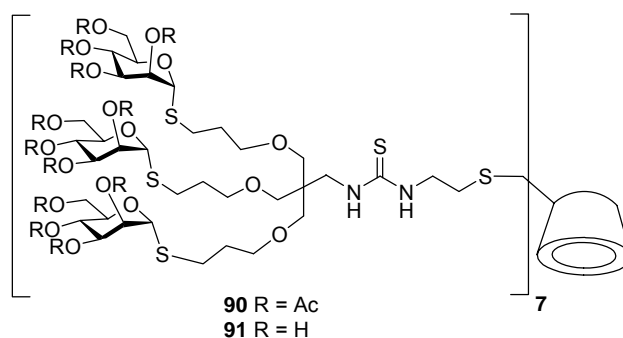
¹H RMN (500 MHz, 333 K, D₂O): δ 5.07 (d, 1 H, $J_{1,2} = 4.0$ Hz, H-1), 4.80 (d, 3 H, $J_{1,2} = 10.0$ Hz, H-1_{Glc}), 4.17 (dd, 3 H, $J_{6a,6b} = 12.5$ Hz, $J_{5,6a} = 2.0$ Hz, H-6a_{Glc}), 4.02 (ddd, 1 H, $J_{4,5} = 9.0$ Hz, $J_{5,6b} = 8.0$ Hz, $J_{5,6a} = 2.0$ Hz, H-5), 4.01 (dd, 3 H, $J_{5,6b} = 5.5$ Hz, H-6b_{Glc}), 4.00 (2 H, m, CH₂N_{Cist}), 3.93 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.0$ Hz, H-3), 3.88 (t, 6 H, $^3J_{H,H} = 6.0$ Hz, H-3_{Pent}), 3.86 (dd, 1 H, H-2), 3.79 (t, 3 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.3$ Hz, H-3_{Glc}), 3.75 (ddd, 3 H, $J_{4,5} = 9.3$ Hz, H-5_{Glc}), 3.74 (m, 8 H, H-1_{Pent}, CH₂N_{Ram}), 3.73 (t, 3 H, H-4_{Glc}), 3.65 (m, 3 H,

OMe), 3.64 (dd, 1 H, H-4), 3.62 (t, 3 H, H-2_{Glc}), 3.38 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 14.0$ Hz, H-6a), 3.18 (t, 2 H, $^3J_{H,H} = 3.5$ Hz, CH₂S_{Cist}), 3.14, 3.09 (2 dt, 6 H, $^2J_{H,H} = 13.2$ Hz, $^3J_{H,H} = 6.0$ Hz, H-5_{Pent}), 3.08 (dd, 1 H, H-6b), 2.22 (m, 6 H, H-4_{Pent}).

¹³C RMN (125.7 MHz, 333 K, D₂O): δ 180.6 (CS), 99.7 (C-1), 86.0 (C-1_{Glc}), 80.4 (C-5_{Glc}), 77.9 (C-3_{Glc}), 73.6 (C-3), 73.2 (C-4), 72.9 (C-2_{Glc}), 71.9 (C-2), 71.5 (C-5), 71.0 (C-1_{Pent}), 70.6 (C-3_{Pent}), 70.2 (C-4_{Glc}), 61.6 (C-6_{Glc}), 55.7 (OMe), 44.7 (C_q), 44.1 (CH₂N_{Ram}, CH₂N_{Cist}), 33.7 (C-6), 32.1 (CH₂S_{Cist}), 29.9 (C-4_{Pent}), 27.3 (C-5_{Pent}).

EM (FAB): m/z 1161 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para C₄₂H₇₈N₂O₂₃S₅: C 44.27, H 6.90, N 2.46. Encontrado: C. 44.16, H 6.79, N 2.37.



Heptakis[6-desoxi-6-[2-[N'-[2,2,2-tris[5-(2,3,4,6-tetra-O-acetil-α-D-manopiranosiltio)-2-oxapentil]etil]tioureido]etil]tio]ciclomaltoheptaosa (90):

Se obtuvo a partir de **64** (20 mg, 11.1 μmol) y el isotiocianato **32** (160 mg, 115 μmol, 1.5 eq) siguiendo el procedimiento descrito para la preparación de **77**. Tiempo de reacción: 48 h. Purificación por cromatografía en columna usando MeCN→MeCN-H₂O 10:1.

Rend.: 75 mg (60%); $[\alpha]_D +78.1$ (c 1.0, MeOH); R_f 0.48 (MeCN-H₂O-NH₄OH 10:1:1).

^1H RMN (500 MHz, CD_3OD , 313 K): δ 5.36 (s, 21 H, H-1_{Man}), 5.32 (sa, 21 H, H-2_{Man}), 5.26 (t, 21 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 10.0$ Hz, H-4_{Man}), 5.19 (dd, 21 H, $J_{2,3} = 2.5$ Hz, H-3_{Man}), 5.01 (sa, 7 H, H-1), 4.37 (ddd, 21 H, $J_{5,6a} = 5.0$ Hz, $J_{5,6b} = 2.0$ Hz, H-5_{Man}), 4.28 (dd, 21 H, $J_{6a,6b} = 12.5$ Hz, H-6a_{Man}), 4.12 (dd, 21 H, H-6b_{Man}), 3.97 (m, 7 H, H-5), 3.82 (m, 7 H, H-3), 3.73 (m, 14 H, $\text{CH}_2\text{N}_{\text{Cist}}$), 3.56 (m, 56 H, H-2, H-4, H-3_{Pent}), 3.43 (s, 56 H, $\text{CH}_2\text{N}_{\text{Ram}}$, H-1_{Pent}), 3.23 (m, 7 H, H-6a), 3.00 (m, 7 H, H-6b), 2.91 (m, 14 H, $\text{CH}_2\text{S}_{\text{Cist}}$), 2.82, 2.80 (2 dt, 42 H, $^2J_{\text{H,H}} = 13.0$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 6.5$ Hz, H-5_{Pent}), 2.15-1.92 (4 s, 252 H, MeCO), 1.93 (m, 42 H, H-4_{Pent}).

^{13}C RMN (125.7 MHz, CD_3OD , 313 K): δ 183.5 (CS), 172.6-171.5 (CO), 103.9 (C-1), 86.0 (C-4), 84.0 (C-1_{Man}), 74.4 (C-3), 73.7 (C-2, C-5), 72.5 (C-2_{Man}), 72.1 (C-1_{Pent}), 71.2 (C-3_{Man}, C-3_{Pent}), 70.5 (C-5_{Man}), 67.7 (C-4_{Man}), 63.8 (C-6_{Man}), 45.9 (C_q), 45.7 ($\text{CH}_2\text{N}_{\text{Ram}}$, $\text{CH}_2\text{N}_{\text{Cist}}$), 35.0 (C-6), 34.0 ($\text{CH}_2\text{S}_{\text{Cist}}$), 30.9 (C-4_{Pent}), 29.6 (C-5_{Pent}), 21.1-20.6 (MeCO).

Análisis calculado para $\text{C}_{455}\text{H}_{686}\text{N}_{14}\text{O}_{238}\text{S}_{35}$: C 48.43, H 6.14, N 1.74. Encontrado: C 48.30, H 6.04, N 1.55.

Heptakis[6-desoxi-6-[2-[N³-[2,2,2-tris[5-(α -D-manopiranosiltio)-2-oxapentil]-etil]tioureido]etil]ciclomaltoheptaosa (91):

El compuesto **91** se obtuvo mediante desacetilación, seguida de saponificación, a partir de **90** (74 mg, 6.5 μmol) siguiendo el procedimiento A descrito en los Métodos Generales.

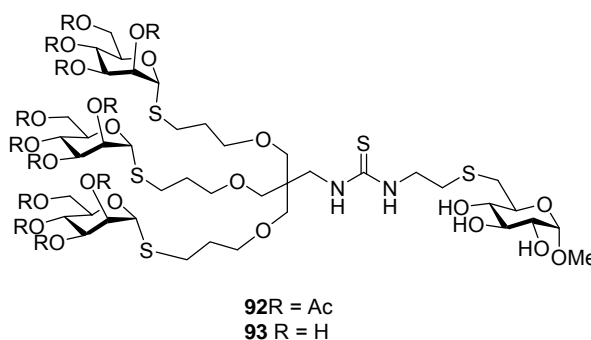
Rend.: 50 mg (100%); $[\alpha]_{\text{D}} + 104.0$ (*c* 1.0, H_2O).

^1H RMN (500 MHz, D_2O , 353 K): δ 5.82 (s, 21 H, H-1_{Man}), 5.61 (sa, 7 H, H-1), 4.57 (m, 21 H, H-2_{Man}), 4.46 (m, 7 H, H-5), 4.43 (m, 28 H, H-3, H-5_{Man}), 4.36 (m, 63 H, H-3_{Man}, H-6a_{Man}, H-6b_{Man}), 4.29 (m, 21 H, H-4_{Man}), 4.23 (m, 14 H, $\text{CH}_2\text{N}_{\text{Cist}}$), 4.19 (m, 7 H, H-2), 4.09 (m, 49 H, H-4, H-3_{Pent}), 3.96 (m, 56 H, $\text{CH}_2\text{N}_{\text{Ram}}$, H-1_{Pent}), 3.82 (m, 7 H, H-6a), 3.50 (m, 7 H, H-6b), 3.47 (m, 14 H, $\text{CH}_2\text{S}_{\text{Cist}}$), 3.26 (ta, 42 H, $^2J_{\text{H,H}} = 11.5$ Hz, H-5_{Pent}), 2.46 (m, 42 H, H-4_{Pent}).

^{13}C RMN (125.7 MHz, D_2O , 343 K): δ 181.9 (CS), 102.7 (C-1), 85.3 (C-1_{Man}), 85.1 (C-4), 73.9 (C-5_{Man}), 73.4 (C-3), 72.9 (C-2, C-5), 72.6 (C-2_{Man}), 72.1 (C-3_{Man}), 71.1 (C-1_{Pent}), 70.9 (C-3_{Pent}), 67.7 (C-4_{Man}), 61.6 (C-6_{Man}), 45.1 ($\text{CH}_2\text{N}_{\text{Ram}}$, $\text{CH}_2\text{N}_{\text{Cist}}$), 45.0 (C_q), 34.1 (C-6), 33.2 ($\text{CH}_2\text{S}_{\text{Cist}}$), 29.8 (C-4_{Pent}), 28.5 (C-5_{Pent}).

EM (MALDI-TOF): m/z 7777.50 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{287}\text{H}_{518}\text{N}_{14}\text{O}_{154}\text{S}_{35}$: C 44.46, H 6.75, N 2.53. Encontrado: C 44.19, H 6.36, N 2.43.



Metil 6-desoxi-6-[2-[N'-[2,2,2-tris[5-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-manopiranosiltio)-2-oxapentil]etil]tioureido]etil]tio]- α -D-glucopiranosido (92):

Se obtuvo por acoplamiento de **65** (20 mg, 69 μmol) y el isotiocianato **32** (106 mg, 76 μmol , 1.1 eq) siguiendo el procedimiento descrito para la preparación de **78** seguido de purificación por cromatografía en columna empleando $\text{AcOEt} \rightarrow \text{AcOEt-EtOH-H}_2\text{O}$ 45:5:3 como eluyente. Tiempo de reacción: 16 h.

Rend.: 50 mg (44%); R_f 0.50 ($\text{AcOEt-EtOH-H}_2\text{O}$ 45:5:3); $[\alpha]_D + 70.5$ (c 1.0, MeOH).

^1H RMN (500 MHz, CD_3OD , 313 K): δ 5.34 (da, 3 H, $J_{1,2} = 1.5$ Hz, H-1_{Man}), 5.31 (dd, 3 H, $J_{2,3} = 3.3$ Hz, H-2_{Man}), 5.25 (t, 3 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 10.0$ Hz, H-4_{Man}), 5.18 (dd, 3 H, H-3_{Man}), 4.64 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.8$ Hz, H-1), 4.37 (ddd, 3 H, $J_{5,6a} = 5.2$ Hz, $J_{5,6b} = 2.4$ Hz, H-5_{Man}), 4.26 (dd, 3 H, $J_{6a,6b} = 12.3$ Hz, H-6a_{Man}), 4.11 (dd, 3 H, H-6b_{Man}), 3.68 (m, 2 H,

CH₂N_{Cist}), 3.97 (td, 1 H, $J_{4,5} = J_{5,6b} = 8.9$ Hz, $J_{5,6a} = 2.2$ Hz, H-5), 3.56 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.2$ Hz, H-3), 3.53 (t, 6 H, $^3J_{H,H} = 5.9$ Hz, H-3_{Pent}), 3.41 (s, 3 H, OMe), 3.40 (s, 8 H, CH₂N_{Ram}, H-1_{Pent}), 3.38 (dd, 1 H, H-2), 3.21 (t, 1 H, H-4), 3.01 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 13.9$ Hz, H-6a), 2.83 (t, 2 H, $^3J_{H,H} = 6.3$ Hz, CH₂S_{Cist}), 2.84, 2.80 (2 dt, 6 H, $^2J_{H,H} = 14.1$ Hz, $^3J_{H,H} = 7.1$ Hz, H-5_{Pent}), 2.70 (dd, 1 H, H-6b), 2.12-1.94 (4 s, 36 H, MeCO), 1.92 (m, 6 H, H-4_{Pent}).

¹³C RMN (125.7 MHz, CD₃OD, 313 K): δ 184.5 (CS), 172.3-171.5 (CO), 101.2 (C-1), 84.0 (C-1_{Man}), 75.1 (C-3), 74.6 (C-4), 73.7 (C-2), 73.6 (C-5), 72.4 (C-2_{Man}), 72.1 (C-1_{Pent}), 71.1 (C-3_{Man}), 70.8 (C-3_{Pent}), 70.5 (C-5_{Man}), 67.7 (C-4_{Man}), 63.7 (C-6_{Man}), 55.7 (OMe), 45.6 (C_q), 45.5 (CH₂N_{Ram}, CH₂N_{Cist}), 34.8 (C-6), 33.3 (CH₂S_{Cist}), 30.7 (C-4_{Pent}), 29.4 (C-5_{Pent}), 20.8-20.5 (MeCO).

EM (FAB): m/z 1665 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para C₆₆H₁₀₂N₂O₃₅S₅: C 48.22, H 6.25, N 1.70. Encontrado: C 48.05, H 6.27, N 1.61.

Metil 6-desoxi-6-[2-[N'-[2,2,2-tris[5-(α -D-manopiranosiltio)-2-oxapentil]-etil]tioureido]etil]tio]- α -D-glucopiranosido (93):

El compuesto **93** se obtuvo mediante desacetilación a partir de **92** (30 mg, 18.2 μ mol) siguiendo el procedimiento A descrito en los Métodos Generales.

Rend.: 19 mg (100%); R_f 0.40 (MeCN-H₂O-NH₄OH 6:3:1), $[\alpha]_D +126.0$ (c 1.0, H₂O).

¹H RMN (500 MHz, D₂O, 343 K): δ 5.69 (d, 3 H, $J_{1,2} = 1.5$ Hz, H-1_{Man}), 5.17 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1), 4.44 (dd, 3 H, $J_{2,3} = 3.5$ Hz, H-2_{Man}), 4.33 (ddd, 3 H, $J_{4,5} = 9.5$ Hz, $J_{5,6b} = 5.5$ Hz, $J_{5,6a} = 2.0$ Hz, H-5_{Man}), 4.24 (dd, 3 H, $J_{6a,6b} = 12.5$ Hz, H-6a_{Man}), 4.19 (dd, 3 H, H-6b_{Man}), 4.17 (dd, 3 H, $J_{3,4} = 9.5$ Hz, H-3_{Man}), 4.12 (ddd, 1 H, $J_{4,5} = 10.0$ Hz, $J_{5,6b} = 8.0$ Hz, $J_{5,6a} = 2.5$ Hz, H-5), 4.11 (t, 3 H, H-4_{Man}), 4.07 (m, 2 H, CH₂N_{Cist}), 4.03 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 10.0$ Hz, H-3), 3.98 (t, 6 H, $^3J_{H,H} = 6.5$ Hz, H-3_{Pent}), 3.96 (dd, 1 H, H-2), 3.84 (m, 11 H, H-1_{Pent}, CH₂N_{Ram}, OMe), 3.74 (t, 1 H, H-4), 3.48 (dd, 3 H, $J_{6a,6b} = 14.0$ Hz, H-6a), 3.28 (t,

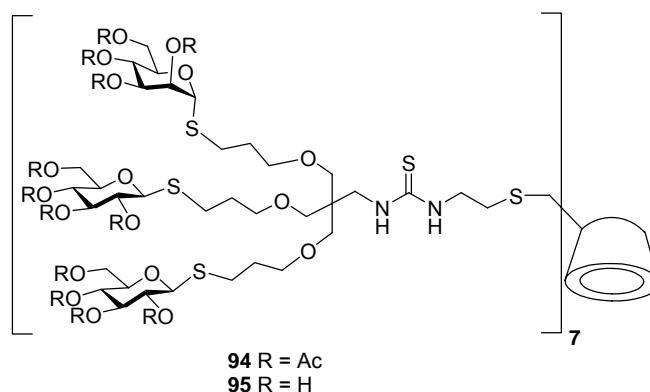
2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 6.5$ Hz, $\text{CH}_2\text{S}_{\text{Cist}}$), 3.16, 3.14 (2 dt, 6 H, $^2J_{\text{H,H}} = 13.0$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 6.5$ Hz, H-5_{Pent}), 3.12 (dd, 3 H, H-6b), 2.32 (m, 6 H, H-4_{Pent}).

^{13}C RMN (125.7 MHz, D_2O , 343 K): δ 180.9 (CS), 99.9 (C-1), 85.7 (C-1_{Man}), 74.0 (C-5_{Man}), 73.8 (C-3), 73.3 (C-4), 72.6 (C-2_{Man}), 72.1 (C-2), 71.9 (C-3_{Man}), 71.8 (C-5), 71.2 (C-1_{Pent}), 70.7 (C-3_{Pent}), 67.8 (C-4_{Man}), 61.6 (C-6_{Man}), 55.8 (OMe), 44.8 (C_q), 44.3 ($\text{CH}_2\text{N}_{\text{Ram}}$, $\text{CH}_2\text{N}_{\text{Cist}}$), 33.9 (C-6), 32.3 ($\text{CH}_2\text{S}_{\text{Cist}}$), 29.5 (C-4_{Pent}), 28.5 (C-5_{Pent}).

EM (FAB): m/z 1161 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{42}\text{H}_{78}\text{N}_2\text{O}_{23}\text{S}_5$: C 44.27, H 6.90, N 2.46. Encontrado: C 43.96, H 6.74, N 2.20.

9.3.11. Preparación de conjugados *S*-glicosídicos heterovalentes hiperramificados.



Heptakis[6-desoxi-6-[2-[*N'*-[2,2-bis[5-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosilitio)-2-oxapentil]-2-[5-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-manopiranosilitio)-2-oxapentil]etil]tioureido]etil]tio]ciclomaltoheptaosa (94):

Se obtuvo a partir de **64** (16 mg, 8.8 μmol) y el isotiocianato **39** (100 mg, 74 μmol , 1.2 eq.) siguiendo el procedimiento descrito para la preparación de **77**. Tiempo de reacción: 5 días. Purificación por cromatografía en columna usando MeCN y MeCN- H_2O 20:1 \rightarrow 10:1.

Rend.: 30 mg (30%); $[\alpha]_D + 32.3$ (c 1.0, MeOH); R_f 0.50 (MeCN-H₂O-NH₄OH 10:1:1).

¹H RMN (500 MHz, CD₃OD, 313 K): δ 5.39 (s, 7 H, H-1_{Man}), 5.34 (da, 7 H, $J_{2,3} = 5.0$ Hz, H-2_{Man}), 5.28 (t, 14 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.5$ Hz, H-3_{Glc}), 5.27 (t, 7 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 10.5$ Hz, H-4_{Man}), 5.20 (dd, 7 H, H-3_{Man}), 5.15 (m, 7 H, H-1), 5.04 (t, 14 H, $J_{4,5} = 10.0$ Hz, H-4_{Glc}), 4.96 (t, 14 H, $J_{1,2} = 10.0$ Hz, H-2_{Glc}), 4.76 (d, 14 H, H-1_{Glc}), 4.39 (ddd, 7 H, $J_{5,6a} = 2.5$ Hz, $J_{5,6b} = 1.5$ Hz, H-5_{Man}), 4.29 (dd, 7 H, $J_{6a,6b} = 10.5$ Hz, H-6a_{Man}), 4.26 (dd, 14 H, $J_{6a,6b} = 12.5$ Hz, $J_{5,6a} = 4.5$ Hz, H-6a_{Glc}), 4.15 (dd, 14 H, $J_{5,6b} = 2.5$ Hz, H-6b_{Glc}), 4.13 (dd, 7 H, H-6b_{Man}), 3.96 (m, 7 H, H-5), 3.92 (ddd, 14 H, H-5_{Glc}), 3.82 (t, 7 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 10.0$ Hz, H-3), 3.73 (m, 14 H, CH₂N_{Cist}), 3.54 (m, 42 H, H-3_{Pent}), 3.52 (m, 14 H, H-2, H-4), 3.42 (s, 56 H, CH₂N_{Ram}, H-1_{Pent}), 3.22 (m, 7 H, H-6a), 3.00 (m, 7 H, H-6b), 2.92 (m, 14 H, CH₂S_{Cist}), 2.83, 2.79 (2 dt, 42 H, $^2J_{H,H} = 11.5$ Hz, $^3J_{H,H} = 6.5$ Hz, H-5_{Pent}), 2.07-1.97 (252 H, s, MeCO), 1.92 (m, 42 H, H-4_{Pent}).

¹³C RMN (125.7 MHz, CD₃OD, 313 K): δ 181.9 (CS), 172.2-171.1 (CO), 103.7 (C-1), 85.9 (C-4), 84.9 (C-1_{Glc}), 84.0 (C-1_{Man}), 76.9 (C-5_{Glc}), 75.4 (C-3_{Glc}), 74.5 (C-3), 74.3 (C-2, C-5), 72.5 (C-2_{Man}), 72.0 (C-1_{Pent}), 71.7 (C-2_{Glc}), 71.2 (C-3_{Man}), 71.1 (C-3_{Pent}), 70.5 (C-5_{Man}), 70.1 (C-4_{Glc}), 67.7 (C-4_{Man}), 63.8 (C-6_{Man}), 63.6 (C-6_{Glc}), 45.9 (C_q), 45.7 (CH₂N_{Ram}, CH₂N_{Cist}), 35.0 (C-6), 34.0 (CH₂S_{Cist}), 31.4 (C-4_{PentGlc}), 30.9 (C-4_{PentMan}), 29.6 (C-5_{PentMan}), 28.1 (C-5_{PentGlc}), 21.2-20.9 (MeCO).

Análisis calculado para C₄₅₅H₆₈₆N₁₄O₂₃₈S₃₅: C 48.43, H 6.14, N 1.74. Encontrado: C 48.30, H 5.98, N 1.63.

Heptakis[6-desoxi-6-[2-[N'-[2,2-bis[5-(β -D-glucopiranosilitio)-2-oxapentil]-2-[5-(α -D-manopiranosilitio)-2-oxapentil]etil]tioureido]etiltio]ciclomaltoheptaosa (95):

El compuesto **95** se obtuvo mediante desacetilación, seguida de saponificación, a partir de **94** (28.4 mg, 2.6 μ mol) siguiendo el procedimiento A descrito en los Métodos Generales.

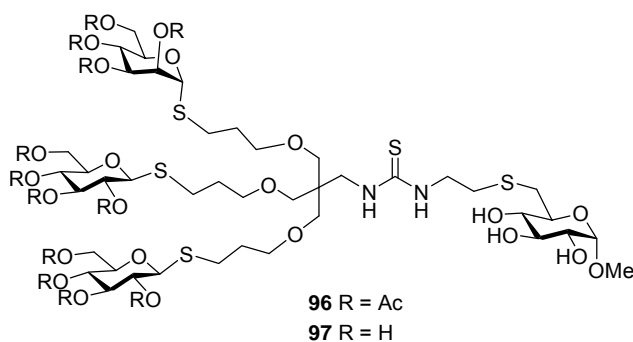
Rend.: 20 mg (100%); $[\alpha]_D + 25.0$ (c 1.0, H₂O).

^1H RMN (500 MHz, D_2O , 353 K): δ 5.87 (s, 7 H, H-1_{Man}), 5.60 (da, 7 H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1), 5.00 (d, 14 H, $J_{1,2} = 10.0$ Hz, H-1_{Glc}), 4.57 (m, 7 H, H-2_{Man}), 4.42 (m, 7 H, H-5_{Man}), 4.41 (m, 7 H, H-5), 4.39 (d, 14 H, $J_{6a,6b} = 12.0$ Hz, H-6a_{Glc}), 4.38 (m, 7 H, H-3), 4.36 (m, 21 H, H-3_{Man}, H-6a_{Man}, H-6b_{Man}), 4.29 (m, 7 H, H-4_{Man}), 4.25 (dd, 14 H, $J_{5,6b} = 4.5$ Hz, H-6b_{Glc}), 4.22 (m, 14 H, $\text{CH}_2\text{N}_{\text{Cist}}$), 4.17 (d, 7 H, H-2), 4.09 (t, 42 H, $^3J_{\text{H,H}} = 5.5$ Hz, H-3_{Pent}), 4.08 (m, 7 H, H-4), 4.02 (t, 14 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.4$ Hz, H-3_{Glc}), 3.96 (m, 84 H, H-4_{Glc}, H-5_{Glc}, $\text{CH}_2\text{N}_{\text{Ram}}$, H-1_{Pent}), 3.85 (t, 14 H, H-2_{Glc}), 3.78 (m, 7 H, H-6a), 3.51 (m, 7 H, H-6b), 3.46 (ta, 14 H, $^3J_{\text{H,H}} = 6.5$ Hz, $\text{CH}_2\text{S}_{\text{Cist}}$), 3.34, 3.32 (2 dt, 42 H, $^2J_{\text{H,H}} = 13.0$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 6.0$ Hz, H-5_{Pent}), 2.45 (m, 42 H, H-4_{Pent}).

^{13}C RMN (125.7 MHz, D_2O , 353 K): δ 181.9 (CS), 102.8 (C-1), 86.3 (C-1_{Glc}), 86.0 (C-1_{Man}), 85.3 (C-4), 80.7 (C-5_{Glc}), 78.3 (C-3_{Glc}), 74.1 (C-5_{Man}), 73.6 (C-3), 73.4 (C-2_{Glc}), 73.0 (C-2, C-5), 72.8 (C-2_{Man}), 72.3 (C-3_{Man}), 71.4 (C-1_{Pent}), 71.0 (C-3_{Pent}), 70.6 (C-4_{Glc}), 67.9 (C-4_{Man}), 62.0 (C-6_{Glc}), 61.7 (C-6_{Man}), 47.0 (C_q), 45.0 ($\text{CH}_2\text{N}_{\text{Ram}}$, $\text{CH}_2\text{N}_{\text{Cist}}$), 34.5 (C-6), 33.3 ($\text{CH}_2\text{S}_{\text{Cist}}$), 30.4 (C-4_{PentGlc}), 30.0 (C-4_{PentMan}), 28.7 (C-5_{PentMan}), 27.6 (C-5_{PentGlc}).

EM (MALDI-TOF): m/z 7770 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{287}\text{H}_{518}\text{N}_{14}\text{O}_{154}\text{S}_{35}$: C 44.46, H 6.75, N 2.53. Encontrado: C 44.29, H 6.63, N 2.34



Metil 6-desoxi-6-[2-[N'-[2,2-bis[5-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosilitio)-2-oxapentil]-2-[5-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-manopiranosilitio)-2-oxapentil]etil]tioureido]etil]tio]- α -D-glucopiranosido (96):

Se obtuvo por acoplamiento de **65** (17 mg, 59 μ mol) y el isotiocianato **39** (90 mg, 65 μ mol, 1.1 eq) siguiendo el procedimiento descrito para la preparación de **78** seguido de purificación por cromatografía en columna empleando AcOEt \rightarrow AcOEt-EtOH-H₂O 45:5:3 como eluyente. Tiempo de reacción: 48 h.

Rend.: 33 mg (34%); R_f 0.55 (MeCN-H₂O-NH₄OH 10:1:1); $[\alpha]_D + 21.9$ (c 1.0, H₂O).

¹H RMN (500 MHz, CD₃OD, 313 K): δ 5.36 (d, 1 H, $J_{1,2} = 1.5$ Hz, H-1_{Man}), 5.32 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 3.4$ Hz, H-2_{Man}), 5.26 (t, 2 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.3$ Hz, H-3_{Glc}), 5.25 (t, 1 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 10.0$ Hz, H-4_{Man}), 5.19 (dd, 1 H, H-3_{Man}), 5.01 (t, 2 H, $J_{4,5} = 10.0$ Hz, H-4_{Glc}), 4.93 (t, 2 H, $J_{1,2} = 10.1$ Hz, H-2_{Glc}), 4.76 (d, 2 H, H-1_{Glc}), 4.64 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.7$ Hz, H-1), 4.37 (ddd, 1 H, $J_{5,6a} = 5.1$ Hz, $J_{5,6b} = 2.5$ Hz, H-5_{Man}), 4.24 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 12.2$ Hz, H-6a_{Man}), 4.23 (dd, 2 H, $J_{6a,6b} = 12.3$ Hz, $J_{5,6a} = 4.9$ Hz, H-6a_{Glc}), 4.13 (dd, 2 H, $J_{5,6b} = 2.5$ Hz, H-6b_{Glc}), 4.12 (dd, 1 H, H-6b_{Man}), 3.88 (ddd, 2 H, H-5_{Glc}), 3.69 (m, 2 H, CH₂N_{Cist}), 3.64 (ddd, 1 H, $J_{4,5} = 9.5$ Hz, $J_{5,6b} = 8.0$ Hz, $J_{5,6a} = 2.0$ Hz, H-5), 3.56 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.4$ Hz, H-3), 3.51, 3.50 (2 t, 6 H, $^3J_{H,H} = 5.9$ Hz, H-3_{Pent}), 3.42 (s, 3 H, OMe), 3.40 (8 H, s, CH₂N_{Ram}, H-1_{Pent}), 3.39 (1 H, dd, H-2), 3.22 (1 H, t, H-4), 3.02 (1 H, dd, $J_{6a,6b} = 14.0$ Hz, H-6a), 2.84 (t, 2 H, $^3J_{H,H} = 6.6$ Hz, CH₂S_{Cist}), 2.82, 2.74 (2 dt, 6 H, $^2J_{H,H} = 13.1$ Hz, $^3J_{H,H} = 6.7$ Hz, H-5_{Pent}), 2.70 (dd, 1 H, H-6b), 2.06-1.95 (s, 36 H, MeCO), 1.88 (m, 6 H, H-4_{Pent}).

¹³C RMN (125.7 MHz, CD₃OD, 313 K): δ 183.0 (CS), 171.3-171.1 (CO), 101.2 (C-1), 84.9 (C-1_{Glc}), 83.9 (C-1_{Man}), 76.8 (C-5_{Glc}), 75.4 (C-3_{Glc}), 75.2 (C-3), 74.6 (C-4), 73.7 (C-2), 73.6 (C-5), 72.4 (C-2_{Man}), 72.1 (C-1_{Pent}), 71.7 (C-2_{Glc}), 71.2 (C-3_{Man}), 71.0 (C-3_{PentGlc}), 70.9 (C-3_{PentMan}), 70.5 (C-5_{Man}), 70.0 (C-4_{Glc}), 67.7 (C-4_{Man}), 63.8 (C-6_{Man}), 63.5 (C-6_{Glc}), 55.7 (OMe), 45.7 (C_q), 45.6 (CH₂N_{Ram}, CH₂N_{Cist}), 34.8 (C-6), 33.4 (CH₂S_{Cist}), 31.2 (C-4_{PentGlc}), 30.8 (C-4_{PentMan}), 29.4 (C-5_{PentMan}), 28.3 (C-5_{PentGlc}), 20.8-20.5 (MeCO).

EM (FAB): m/z 1161 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para $C_{66}H_{102}N_2O_{35}S_5$: C 48.22, H 6.25, N 1.70. Encontrado: C 48.01, H 6.20, N 1.57.

Metil 6-desoxi-6-[2-[N'-[2,2-bis[5-(β -D-glucopiranosiltio)-2-oxapentil]-[2-[5-(α -D-manopiranosiltio)-2-oxapentil]etil]tioureido]etil]tio]- α -D-glucopiranosido (97):

Se obtuvo por desacetilación a partir de **96** (30 mg, 18.2 μ mol) siguiendo el procedimiento A descrito en los Métodos Generales.

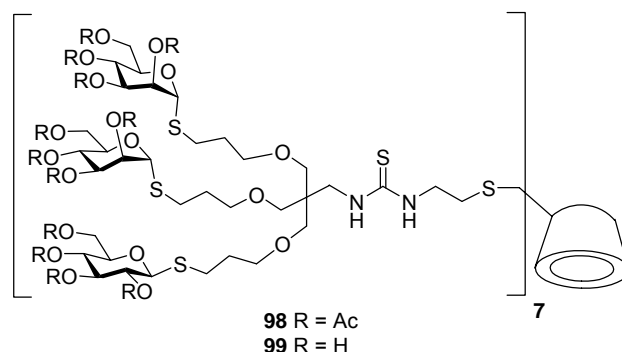
Rend.: 21 mg (100%); R_f 0.35 (MeCN-H₂O-NH₄OH 6:3:1); $[\alpha]_D +1.0$ (c 1.0, H₂O).

¹H RMN (500 MHz, D₂O, 333 K): δ 5.59 (sa, 1 H, H-1_{Man}), 5.07 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1), 4.79 (d, 2 H, $J_{1,2} = 9.5$ Hz, H-1_{Glc}), 4.34 (da, 1 H, $J_{2,3} = 3.5$ Hz, H-2_{Man}), 4.24 (ddd, 1 H, $J_{4,5} = 9.5$ Hz, $J_{5,6b} = 5.5$ Hz, $J_{5,6a} = 2.0$ Hz, H-5_{Man}), 4.17 (dd, 2 H, $J_{6a,6b} = 12.0$ Hz, $J_{5,6a} = 2.0$ Hz, H-6a_{Glc}), 4.13 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 11.5$ Hz, H-6a_{Man}), 4.10 (dd, 1 H, H-6b_{Man}), 4.07 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 9.5$ Hz, H-3_{Man}), 4.02 (ddd, 1 H, $J_{4,5} = 9.0$ Hz, $J_{5,6b} = 7.0$ Hz, $J_{5,6a} = 2.5$ Hz, H-5), 4.00 (dd, 2 H, $J_{5,6b} = 3.5$ Hz, H-6b_{Glc}), 3.99 (t, 1 H, H-4_{Man}), 3.98 (m, 2 H, CH₂N_{Cist}), 3.93 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.0$ Hz, H-3), 3.88 (m, 6 H, H-3_{Pent}), 3.85 (dd, 1 H, H-2), 3.78 (t, 2 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.2$ Hz, H-3_{Glc}), 3.75 (m, 8 H, H-1_{Pent}, CH₂N_{Ram}), 3.74 (s, 3 H, OMe), 3.72 (m, 4 H, H-4_{Glc}, H-5_{Glc}), 3.63 (t, 1 H, H-4), 3.62 (t, 2 H, H-2_{Glc}), 3.38 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 13.0$ Hz, H-6a), 3.18 (t, 2 H, $^3J_{H,H} = 6.5$ Hz, CH₂S_{Cist}), 3.14, 3.09 (2 dt, 6 H, $^2J_{H,H} = 13.0$ Hz, $^3J_{H,H} = 6.5$ Hz, H-5_{Pent}), 3.07 (dd, 1 H, H-6b), 1.83 (m, 6 H, H-4_{Pent}).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O, 333 K): δ 181.0 (CS), 99.7 (C-1), 86.0 (C-1_{Glc}), 85.5 (C-1_{Man}), 80.4 (C-5_{Glc}), 77.9 (C-3_{Glc}), 73.8 (C-5_{Man}), 73.6 (C-3), 73.2 (C-4), 72.9 (C-2_{Glc}), 72.4 (C-2_{Man}), 71.9 (C-2), 71.8 (C-3_{Man}), 71.6 (C-5), 71.0 (C-1_{Pent}), 70.6 (C-3_{Pent}), 70.2 (C-4_{Glc}), 67.6 (C-4_{Man}), 61.6 (C-6_{Glc}), 61.4 (C-6_{Man}), 55.7 (OMe), 44.7 (C_q), 44.2 (CH₂N_{Ram}, CH₂N_{Cist}), 33.7 (C-6), 32.1 (CH₂S_{Cist}), 29.9 (C-4_{PentGlc}), 29.3 (C-4_{PentMan}), 28.3 (C-5_{PentMan}), 27.3 (C-5_{PentGlc}).

EM (FAB): m/z 1161 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para $C_{42}H_{78}N_2O_{23}S_5$: C 44.27, H 6.90, N 2.46. Encontrado: C 44.19, H 6.60, N 2.26.



Heptakis[6-desoxy-6-[2-[N'-[2-[5-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosiltio)-2-oxapentil]-2,2-bis[5-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-manopiranosiltio)-2-oxapentil]etil]tioureido]etil]tiociclomaltoheptaosa (98):

Se obtuvo a partir de **64** (15 mg, 8.3 μ mol) y el isotiocianato **47** (120 mg, 86.0 μ mol, 1.5 eq) siguiendo el procedimiento descrito para la preparación de **77**. Tiempo de reacción: 48 h. Purificación por cromatografía en columna usando MeCN \rightarrow MeCN-H₂O 10:1.

Rend.: 24 mg (26%); $[\alpha]_D + 76.8$ (c 1.0, MeOH); R_f 0.67 (MeCN-H₂O-NH₄OH 10:1:1).

¹H RMN (500 MHz, CD₃OD, 323 K): δ 5.36 (sa, 14 H, H-1_{Man}), 5.33 (14 H, dd, $J_{2,3} = 3.0$ Hz, $J_{1,2} = 1.5$ Hz, H-2_{Man}), 5.27 (t, 14 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 10.0$ Hz, H-4_{Man}), 5.26 (t, 7 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.0$ Hz, H-3_{Glc}), 5.21 (dd, 14 H, H-3_{Man}), 5.03 (t, 7 H, $J_{4,5} = 10.0$ Hz, H-4_{Glc}), 5.02 (m, 7 H, H-1), 4.95 (t, 7 H, $J_{1,2} = 10.0$ Hz, H-2_{Glc}), 4.74 (d, 7 H, H-1_{Glc}), 4.39 (ddd, 14 H, $J_{5,6a} = 5.0$ Hz, $J_{5,6b} = 2.0$ Hz, H-5_{Man}), 4.28 (dd, 14 H, $J_{6a,6b} = 12.5$ Hz, H-6a_{Man}), 4.24 (7 H, dd, $J_{6a,6b} = 12.5$ Hz, $J_{5,6a} = 4.0$ Hz, H-6a_{Glc}), 4.15 (dd, 7 H, $J_{5,6b} = 1.5$ Hz, H-6b_{Glc}), 4.13 (dd, 14 H, H-6b_{Man}), 3.96 (m, 7 H, H-5), 3.90 (ddd, 7 H, H-5_{Glc}), 3.83 (t, 7 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 8.5$ Hz, H-3), 3.72 (m, 14 H, CH₂N_{Cist}), 3.55 (m, 42 H, H-3_{Pent}), 3.54 (m, 14 H, H-2, H-4),

3.43 (s, 56 H, CH₂N_{Ram}, H-1_{Pent}), 3.22 (m, 7 H, H-6a), 3.01 (m, 7 H, H-6b), 2.91 (14 H, m, CH₂S_{Cist}), 2.81, 2.78 (2 dt, 42 H, ²J_{H,H} = 12.5 Hz, ³J_{H,H} = 5.5 Hz, H-5_{Pent}), 2.14-1.96 (252 H, s, MeCO), 1.99 (42 H, m, H-4_{Pent}).

¹³C RMN (125.7 MHz, CD₃OD, 323 K): δ 183.6 (CS), 172.7-169.9 (CO), 103.8 (C-1), 85.9 (C-4), 84.9 (C-1_{Glc}), 84.0 (C-1_{Man}), 76.9 (C-5_{Glc}), 75.5 (C-3_{Glc}), 74.6 (C-3), 74.3 (C-2, C-5), 72.5 (C-2_{Man}), 72.1 (C-1_{Pent}), 71.8 (C-2_{Glc}), 71.2 (C-3_{Man}), 71.1 (C-3_{Pent}), 70.6 (C-5_{Man}), 70.1 (C-4_{Glc}), 67.8 (C-4_{Man}), 63.8 (C-6_{Man}), 63.6 (C-6_{Glc}), 45.9 (C_q), 45.7 (CH₂N_{Ram}, CH₂N_{Cist}), 35.1 (C-6), 34.0 (CH₂S_{Cist}), 31.4 (C-4_{PentGlc}), 31.0 (C-4_{PentMan}), 29.6 (C-5_{PentMan}), 28.5 (C-5_{PentGlc}), 21.1-20.7 (MeCO).

Análisis calculado para C₄₅₅H₆₈₆N₁₄O₂₃₈S₃₅: C 48.43, H 6.14, N 1.74. Encontrado: C 48.31, H 5.88, N 1.70.

Heptakis[6-desoxi-6-[2-[N'-[2-[5-(β-D-glucopiranosiltio)-2-oxapentil]-2,2-bis[5-(α-D-manopiranosiltio)-2-oxapentil]etil]tioureido]etiltio]ciclomaltoheptaosa (99):

El compuesto **99** se obtuvo mediante desacetilación, seguida de saponificación, a partir de **98** (20 mg, 1.8 μmol) siguiendo el procedimiento A descrito en los Métodos Generales.

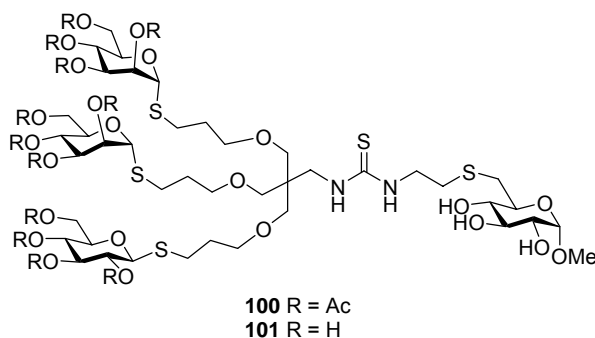
Rend.: 13 mg (100%); [α]_D + 66.0 (c 1.0, H₂O).

¹H RMN (500 MHz, D₂O, 353 K): δ 5.67 (s, 14 H, H-1_{Man}), 5.47 (sa, 7 H, H-1), 4.86 (d, 7 H, J_{1,2} = 10.0 Hz, H-1_{Glc}), 4.43 (m, 14 H, H-2_{Man}), 4.29 (m, 21 H, H-5_{Man}, H-5), 4.26 (m, 7 H, H-3), 4.25 (d, 7 H, J_{6a,6b} = 12.0 Hz, H-6a_{Glc}), 4.14 (m, 42 H, H-3_{Man}, H-6a_{Man}, H-6b_{Man}), 4.14 (m, 14 H, H-4_{Man}), 4.09 (d, 7 H, H-6b_{Glc}), 4.08 (m, 14 H, CH₂N_{Cist}), 4.04 (m, 7 H, H-2), 3.95 (m, 49 H, H-3_{Pent}, H-4), 3.85 (t, 7 H, J_{2,3} = J_{3,4} = 8.9 Hz, H-3_{Glc}), 3.80 (m, 70 H, H-4_{Glc}, H-5_{Glc}, CH₂N_{Ram}, H-1_{Pent}), 3.71 (t, 7 H, H-2_{Glc}), 3.61 (m, 7 H, H-6a), 3.37 (m, 7 H, H-6b), 3.32 (m, 14 H, CH₂S_{Cist}), 3.17, 3.12 (2 dt, 42 H, ²J_{H,H} = 13.5 Hz, ³J_{H,H} = 6.5 Hz, H-5_{Pent}), 2.30 (t, 42 H, ³J_{H,H} = 6.5 Hz, H-4_{Pent}).

^{13}C RMN (125.7 MHz, D_2O , 353 K): δ 182.0 (CS), 102.7 (C-1), 86.1 (C-1_{Glc}), 85.7 (C-1_{Man}), 85.2 (C-4), 80.5 (C-5_{Glc}), 78.0 (C-3_{Glc}), 73.9 (C-5_{Man}), 73.1 (C-3), 73.0 (C-2_{Glc}), 72.8 (C-2, C-5), 72.6 (C-2_{Man}), 72.0 (C-3_{Man}), 71.1 (C-1_{Pent}), 70.8 (C-3_{Pent}), 70.3 (C-4_{Glc}), 67.7 (C-4_{Man}), 61.8 (C-6_{Glc}), 61.5 (C-6_{Man}), 45.1 ($\text{CH}_2\text{N}_{\text{Ram}}$, $\text{CH}_2\text{N}_{\text{Cist}}$, C_q), 34.2 (C-6), 33.1 ($\text{CH}_2\text{S}_{\text{Cist}}$), 30.2 (C-4_{PentGlc}), 29.3 (C-4_{PentMan}), 28.5 (C-5_{PentMan}), 27.5 (C-5_{PentGlc}).

EM (MALDI-TOF): m/z 7740 [M]⁺

Análisis calculado para $\text{C}_{287}\text{H}_{518}\text{N}_{14}\text{O}_{154}\text{S}_{35}$: C 44.46, H 6.75, N 2.53. Encontrado: C 44.33, H 6.67, N 2.44.



Metil 6-desoxi-6-[2-[N³-[2-[5-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosiltio)-2-oxapentil]-2,2-bis[5-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-manopiranosiltio)-2-oxapentil]-etil]tiureido]etil]tio]- α -D-glucopiranosido (100):

Se obtuvo por acoplamiento de **65** (26.5 mg, 90 μmol) y el isotiocianato **47** (140 mg, 100 μmol , 1.1 eq) siguiendo el procedimiento descrito para la preparación de **78** seguido de purificación por cromatografía en columna empleando $\text{AcOEt} \rightarrow \text{AcOEt-EtOH-H}_2\text{O}$ 45:5:3 como eluyente. Tiempo de reacción: 24 h.

Rend.: 90 mg (61%); R_f 0.56 ($\text{AcOEt-EtOH-H}_2\text{O}$ 45:5:3); $[\alpha]_D + 95.1$ (c 1.0, MeOH).

^1H RMN (500 MHz, CD_3OD): δ 5.36 (d, 2 H, $J_{1,2} = 1.0$ Hz, H-1_{Man}), 5.32 (dd, 2 H, $J_{2,3} = 3.0$ Hz, H-2_{Man}), 5.27 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.0$ Hz, H-3_{Glc}), 5.25 (t, 2 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 10.0$ Hz,

H-4_{Man}), 5.18 (dd, 2 H, H-3_{Man}), 5.01 (t, 1 H, $J_{4,5} = 10.0$ Hz, H-4_{Glc}), 4.94 (t, 1 H, $J_{1,2} = 10.0$ Hz, H-2_{Glc}), 4.73 (d, 1 H, H-1_{Glc}), 4.64 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1), 4.37 (ddd, 2 H, $J_{5,6a} = 5.0$ Hz, $J_{5,6b} = 2.0$ Hz, H-5_{Man}), 4.27 (dd, 2 H, $J_{6a,6b} = 12.0$ Hz, H-6a_{Man}), 4.23 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 12.5$ Hz, $J_{5,6a} = 4.0$ Hz, H-6a_{Glc}), 4.12 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 2.0$ Hz, H-6_{Glc}), 4.10 (dd, 2 H, H-6b_{Man}), 3.90 (ddd, 1 H, H-5_{Glc}), 3.69 (m, 2 H, CH₂N_{Cist}), 3.64 (ta, 1 H, $J_{4,5} = 8.5$ Hz, $J_{5,6b} = 8.5$ Hz, $J_{5,6a} = 2.0$ Hz, H-5), 3.56 (1 H, t, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.0$ Hz, H-3), 3.52, 3.51 (2 t, 6 H, $^3J_{H,H} = 5.0$ Hz, H-3_{Pent}), 3.42 (s, 3 H, OMe), 3.41 (s, 8 H, CH₂N_{Ram}, H-1_{Pent}), 3.38 (1 H, dd, H-2), 3.21 (t, 1 H, H-4), 3.01 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 14.0$ Hz, H-6a), 2.83 (t, 2 H, $^3J_{H,H} = 7.0$ Hz, CH₂S_{Cist}), 2.79 (2 dt, 2 H, $^2J_{H,H} = 14.0$ Hz, $^3J_{H,H} = 7.0$ Hz, H-5_{PentGlc}), 2.75 (m, 4 H, H-5_{PentMan}), 2.69 (dd, 1 H, H-6b), 2.14-1.91 (s, 36 H, MeCO), 1.90 (m, 8 H, H-4_{Pent}).

¹³C RMN (125.7 MHz, CD₃OD): δ 183.0 (CS), 172.3-171.1 (CO), 101.1 (C-1), 84.8 (C-1_{Glc}), 83.9 (C-1_{Man}), 76.7 (C-5_{Glc}), 75.3 (C-3_{Glc}), 75.1 (C-3), 74.6 (C-4), 73.6 (C-2, C-5), 72.3 (C-2_{Man}), 72.0 (C-1_{Pent}), 71.5 (C-2_{Glc}), 71.1 (C-3_{Man}), 70.9 (C-3_{PentGlc}), 70.7 (C-3_{PentMan}), 70.4 (C-5_{Man}), 69.9 (C-4_{Glc}), 67.5 (C-4_{Man}), 63.7 (C-6_{Man}), 63.4 (C-6_{Glc}), 55.2 (OMe), 45.6 (C_q, CH₂N_{Ram}, CH₂N_{Cist}), 34.7 (C-6), 33.3 (CH₂S_{Cist}), 31.2 (C-4_{PentGlc}), 30.7 (C-4_{PentMan}), 29.4 (C-5_{PentMan}), 28.3 (C-5_{PentGlc}), 20.9-20.6 (MeCO).

EM (FAB): m/z 1665 [M + Na]⁺, 1643 [M]⁺.

Análisis calculado para C₆₆H₁₀₂N₂O₃₅S₅: C 48.22, H 6.25, N 1.70. Encontrado: C 47.97, H 6.19, N 1.70.

Metil 6-desoxi-6-[2-[N'-[2-[5-(β -D-glucopiranosilitio)-2-oxapentil]-[2,2-bis[5-(α -D-manopiranosilitio)-2-oxapentil]etil]tioureido]etil]tio]- α -D-glucopiranosido (101):

Se obtuvo por desacetilación a partir de **100** (26.2 mg, 16 μ mol) siguiendo el procedimiento A descrito los apartados Métodos Generales.

Rend.: 18 mg (100%); $[\alpha]_D + 83.0$ (c 1.2, H₂O).

^1H RMN (500 MHz, 343 K, D_2O): δ 5.65 (d, 2 H, $J_{1,2} = 1.5$ Hz, H-1_{Man}), 5.14 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.8$ Hz, H-1), 4.86 (d, 1 H, $J_{1,2} = 9.8$ Hz, H-1_{Glc}), 4.41 (dd, 2 H, $J_{2,3} = 3.3$ Hz, H-2_{Man}), 4.30 (ddd, 2 H, $J_{4,5} = 9.6$ Hz, $J_{5,6b} = 5.4$ Hz, $J_{5,6a} = 2.2$ Hz, H-5_{Man}), 4.24 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 12.4$ Hz, $J_{5,6a} = 2.0$ Hz, H-6a_{Glc}), 4.21 (dd, 2 H, $J_{6a,6b} = 12.4$ Hz, H-6a_{Man}), 4.16 (dd, 2 H, H-6b_{Man}), 4.13 (dd, 2 H, $J_{3,4} = 9.5$ Hz, H-3_{Man}), 4.08 (td, 1 H, $J_{4,5} = J_{5,6b} = 8.5$ Hz, $J_{5,6a} = 2.5$ Hz, H-5), 4.07 (t, 2 H, H-4_{Man}), 4.08 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 4.0$ Hz, H-6b_{Glc}), 4.04 (m, 2 H, $\text{CH}_2\text{N}_{\text{Cist}}$), 4.03 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.5$ Hz, H-3), 3.95 (m, 6 H, H-3_{Pent}), 3.94 (s, 3 H, OMe), 3.92 (dd, 1 H, H-2), 3.86 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 8.4$ Hz, H-3_{Glc}), 3.80 (m, 10 H, H-4_{Glc}, H-5_{Glc}, $\text{CH}_2\text{N}_{\text{Ram}}$, H-1_{Pent}), 3.70 (t, 1 H, H-4), 3.69 (t, 1 H, H-2_{Glc}), 3.45 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 13.5$ Hz, H-6a), 3.25 (t, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 6.6$ Hz, $\text{CH}_2\text{S}_{\text{Cist}}$), 3.15 (dd, 1 H, H-6b), 3.14, 3.10 (2 dt, 6 H, $^2J_{\text{H,H}} = 12.5$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 7.0$ Hz, H-5_{Pent}), 2.30 (m, 6 H, H-4_{Pent}).

^{13}C RMN (125.7 MHz, D_2O , 343 K): δ 180.8 (CS), 99.9 (C-1), 86.1 (C-1_{Glc}), 85.6 (C-1_{Man}), 80.9 (C-5_{Glc}), 78.0 (C-3_{Glc}), 73.9 (C-5_{Man}), 73.7 (C-3), 73.3 (C-4), 72.9 (C-2_{Glc}), 72.5 (C-2_{Man}), 72.0 (C-2), 71.9 (C-3_{Man}), 71.7 (C-5), 71.1 (C-1_{Pent}), 70.7 (C-3_{PentGlc}), 70.6 (C-3_{PentMan}), 70.3 (C-4_{Glc}), 67.8 (C-4_{Man}), 61.7 (C-6_{Glc}), 61.6 (C-6_{Man}), 46.7 ($\text{CH}_2\text{N}_{\text{Ram}}$, $\text{CH}_2\text{N}_{\text{Cist}}$), 44.8 (C_q), 33.8 (C-6), 32.2 ($\text{CH}_2\text{S}_{\text{Cist}}$), 30.0 (C-4_{PentGlc}), 29.4 (C-4_{PentMan}), 28.4 (C-5_{PentMan}), 27.4 (C-5_{PentGlc}).

Análisis calculado para $\text{C}_{42}\text{H}_{78}\text{N}_2\text{O}_{23}\text{S}_5$: C 44.27, H 6.90, N 2.46. Encontrado: C 43.94, H 6.81, N 2.17.

10. BIBLIOGRAFÍA.

10. BIBLIOGRAFÍA.

[1] (a) Dam, T. K.; Brewer, C. F. *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 387-429. (b) Bertozzi, C. R.; Kiessling, L. L. *Science* **2001**, *291*, 2357-2364. (c) Koeller, K. M.; Wong, C.-H. *Nat. Biotechnol.* **2000**, *18*, 835-841. (d) Sears, P.; Wong, C.-H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 2300-2324. (e) Singh, R. S.; Tiwary, A. K.; Kennedy, J. F. *Crit. Rev. Biotechnol.* **1999**, *19*, 145-178. (f) Lis, H.; Sharon, N. *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 637-674. (g) Dwek, R. A. *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 683-720.

[2] (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) 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. (c) Lasala, F.; Arce, E.; Otero, J. R.; Rojo, J.; Delgado, R. *Antimicrob Agentes Chemother.* **2003**, *47*, 3970-3972.

[3] Gestwicki, J. E.; Strong, L. E.; Cairo, C. W.; Boehm, F. J.; Kiessling, L. L. *Chem. Biol.* **2002**, *9*, 163-169.

[4] (a) Roy, R.; Baek, M.-G. *Rev. Mol. Biotechnol.* **2002**, *90*, 291-309. (b) Allen, J. R.; Harris, C. R.; Danishefsky, S. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 1890-1897. (c) Danishefsky, S. J.; Allen, J. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 836-863. (d) Hakomori, S.; Zang, Y. *Chem. Biol.* **1997**, *4*, 97-104.

[5] (a) Yamazaki, N.; Kojima, S.; Bovin, N. V.; André, S.; Gabius, S.; Gabius, H.-J. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* **2000**, *43*, 225-244. (b) Vyas, S. P.; Sihorkar, V. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* **2000**, *43*, 101-164. (c) Forssen, E.; Willis, M. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* **1998**, *29*, 249-271. (d) Ríhová, B. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* **1998**, *29*, 273-289; e) Rice, K. G. In

Glycosciences: Status and Perspectives, Gabius, H.-J; Gabius S., Eds.; Chapman & Hall, London, **1997**, pp 471–483.

[6] (a) Aoyama, Y. *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 588-593. (b) Sansone, F.; Chierici, E.; Casnati, A.; Ungaro, R. *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 1802-1809. (c) Casnati, A.; Sansone, F.; Ungaro, R. *Acc. Chem. Res.* **2003**, *36*, 246-254. (d) Fulton, D. A.; Stoddart, J. F. *Bioconjugate Chem.* **2001**, *12*, 655-672. (e) Fujimoto, K.; Miyata, T.; Aoyama, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 3558-3559. (f) Roy, R.; Kim, J. M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 369-372. (g) Aoyama, Y.; Masuda, Y.; Chuleerarak, J.; Nishiyama, K.; Fujimoto, K.; Fujimoto, T.; Shimizu, T.; Hayashida, O. *Pure Appl. Chem.* **1998**, *70*, 2379-2384.

[7] (a) Singh, M.; Sharma, R.; Banerjee, U. C. *Biotechnol. Adv.* **2002**, *20*, 341-359. (b) Uekama, K.; Hirayama, F.; Irie, T. *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 2045-2076. (c) Frömmling, K.-H. In *Comprehensive Supramolecular Chemistry*, Atwood, J. L.; Davies, J. E. D.; McNicol, D. C.; Vögtle F., Eds.; Pergamon, Oxford, **1996**, vol. 3, pp. 57-188. (d) Loftsson, T.; Brewster, M. E. *J. Pharm. Sci.* **1996**, *85*, 1017-1025. (e) Sejtli, J. *Med. Res. Rev.* **1994**, *14*, 353-386. (f) Wenz, G. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1994**, *33*, 803-822.

[8] (a) Nagai, T.; Ueda, H. En *Comprehensive Supramolecular Chemistry*; Atwood, J. L.; Davies, J. E. D.; McNicol, D. C.; Vögtle F., Eds.; Pergamon, Oxford, **1996**, vol. 3, pp. 441-450. (b) Uekama, K.; Irie, T. En *Comprehensive Supramolecular Chemistry*; Atwood, J. L.; Davies, J. E. D.; McNicol, D. C.; Vögtle F., Eds.; Pergamon, Oxford, **1996**, vol. 3, pp. 451-481.

[9] Para una revisión, ver: Ortiz Mellet, C.; Defaye, J.; García Fernández, J. M. *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 1982-1990.

[10] (a) Defaye, J.; Crouzy, S.; Evrard, N.; Law, H. PCT Int. Appl. WO 99 61,483; *Chem. Abstr.* **2000**, 132, 24007a. (b) Baussanne, I.; Benito, J. M.; Ortiz Mellet, C.; García Fernández, J. M.; Law, H.; Defaye, J. *Chem. Commun.* **2000**, 1489-1490.

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

[12] Lainé, V.; Coste-Sarguet, A.; Gabelle, A.; Defaye, J.; Perly, B.; Djedaini-Pilard, F. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **1995**, 1479-1487.

[13] (a) Driguez, H.; Cottaz, S. *Synthesis* **1989**, 755-758. (b) Lancelon-Pin, C.; Driguez, H. *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 3125-3128.

[14] Yasuda, N.; Aoki, N.; Abe, H.; Hattori, K. *Chem. Lett.* **2000**, 706-707.

[15] (a) Parrot-Lopez, H.; Galons, H.; Coleman, A. W.; Mahuteau, J.; Miocque, M. *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 209-212. (b) Parrot-Lopez, H.; Leray, E.; Coleman, A. W. *Supramol. Chem.* **1993**, 3, 37-42. (c) Kasab, R.; Félix, C.; Parrot-Lopez, H.; Bonaly, R. *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 7555-7558.

[16] Imata, H.; Kubota, K.; Hattori, K.; Aoyagi, M.; Jindoh, C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, 7, 109-112.

[17] Leray, E.; Parrot-Lopez, H.; Augé, C.; Coleman, A. W.; Finance, C.; Bonaly, R. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1995**, 1019-1020.

[18] Matsuda, K.; Inazu, T.; Haneda, K.; Mizuno, M.; Yamanoi, T.; Hattori, K.; Yamamoto, K.; Kumagai, H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, 7, 2353-2356.

[19] Yockot, D.; Moreau, V.; Demailly, G.; Djedaini-Pilard, F. *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 1810-1818.

[20] García Fernández, J. M.; Ortiz Mellet, C.; Maciejewski, S.; Defaye, J. *Chem. Commun.* **1996**, 2741-2742.

[21] Haque, W. ; Diakur, J. *J. Carbohydr. Chem.* **2001**, *20*, 17-29.

[22] 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.

[23] (a) Baussanne, I.; Benito, J. M.; Ortiz Mellet, C.; García Fernández, J. M.; Defaye, J. *ChemBioChem* **2001**, 777-783. (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. (c) Benito, J. M. Tesis Doctoral, Universidad de Sevilla, **2001**.

[24] 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.

[25] Nelson, A.; Stoddart, J. F. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 3783-3786.

[26] (a) Gabelle, A.; Defaye, J. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 78-80. (b) Baer, H. H.; Vargas Berenguel, A.; Shu, Y. Y.; Defaye, J.; Gabelle, A.; Santoyo González, F. *Carbohydr. Res.* **1992**, *228*, 307-314.

[27] (a) Chmurski, K.; Defaye, J. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 7365-7368. (b) Chmurski, K.; Defaye, J. *Supramol. Chem.* **2000**, *12*, 221-224.

[28] De Robertis, L.; Lancelon-Pin, C.; Driguez, H.; Attioui, F.; Bonaly, R.; Marsura, A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1994**, *4*, 1127-1130.

[29] Fulton, D. A.; Pease, A. R.; Stoddart, F. J.; *Isr. J. Chem.*, **2000**, *40*, 325-333.

[30] Ichikawa, M.; Woods, A. S.; Mo, H.; Goldstein, I. J.; Ichikawa, Y. *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, *11*, 389-392.

[31] (a) 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. (b) Roy, R.; Hernández-Mateo, F.; Santoyo-González, F. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 8743-8746.

[32] García-López, J. J.; Santoyo-González, F.; Vargas-Berenguel, A.; Giménez Martínez, J. J. *Chem. Eur. J.* **1999**, *5*, 1775-1784.

[33] Sallas, F.; Niikura, K.; Nishimura, S. -I. *Chem. Commun.* **2004**, 596-597.

[34] 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.

[35] Fulton, D. A.; Stoddart, J. F. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 1113-1116.

[36] Ortega-Caballero, F.; Giménez-Mártinez, J. J.; Vargas-Berenguel, A. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 2389-2392.

- [37] Cloninger, M. J. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2002**, *6*, 742-748.
- [38] Turnbull, W. B.; Stoddart, J. F. *Rev. Mol. Biotechnol.* **2002**, *90*, 231-255.
- [39] Lindhorst, T. K. *Top. Curr. Chem.* **2002**, *218*, 201-235.
- [40] Benoist, E.; Loussouarn, A.; Remaud, P.; J.-C. Chatal, J.-C.; Gestin, J.-F. *Synthesis*, **1998**, 1113-1118.
- [41] Camarasa, M. J.; Fernández-Resa, P.; García-López, M. T.; de las Heras, F. G.; Méndez-Castrillón, P. P.; San Felix, A. *Synthesis*, **1984**, 509-510.
- [42] Lindhorst, T. K.; Kieburg, C. *Synthesis* **1995**, 1228-1230.
- [43] García Fernández, J. M.; Ortiz Mellet, C. *Sulfur Reports*, **1996**, *19*, 61-169.
- [44] García Fernández, J. M.; Ortiz Mellet, C. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **2000**, *55*, 35-135.
- [45] 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.
- [46] Charon, D.; Mondange, M.; Pons, J.-F.; Blay K. L.; Chaby, R. *Bioorg. Med. Chem.* **1998**, *6*, 755-765.
- [47] (a) Castro, B.; Chapleur, Y.; Gross B.; Selve, C. *Tetrahedron Lett.*, **1972**, *49*, 5004;
(b) Cramer, F. D. En *Methods in Carbohydrate Chemistry* (Eds.: R. L. Whistler y M. L.

Wolfrom), Academic Press, London, **1962**, vol. 1, pp. 242. (c) García Fernández, J. M.; Ortiz Mellet, C.; Fuentes, J. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 5192-5199.

[48] García-Moreno, M. I.; Díaz-Pérez, P.; Benito, J. M.; Ortiz Mellet, C.; Defaye, J.; García Fernández, J. M. *Carbohydr. Res.* **2002**, *337*, 2329-2334.

[49] (a) Bouckaert, J.; Hamelryck, T.; Wyns, L.; Loris, R. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2001**, *11*, 635-643. (b) Vijayan, M.; Chandra, N. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1999**, *9*, 707-714.

[50] (a) Corbell, J. B.; Lundquist, J. J.; Toone, E. J. *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, *11*, 95-111. (b) Roy, R.; Pagé, D.; Figueroa Pérez, S.; Verez Bencomo, V. *Glycoconjugate J.* **1998**, *15*, 251-263; (c) Pagé, D.; Roy, R. *Glycoconjugate J.* **1997**, *14*, 345-356. (d) Pagé, D.; Zanini, D.; Roy, R. *Bioorg. Med. Chem.* **1996**, *4*, 1949-1961.

[51] Lundquist, J. J.; Toone, E. J. *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 555-578.

[52] (a) Potier, P. *Chem. Soc. Rev.* **1992**, *21*, 113-119. (b) Fitzpatrick, F. A.; Wheeler, R. *Int. Immunopharmacol.* **2003**, *3*, 1699-1714.

[53] Benito, J. M.; Ortiz Mellet, C.; Sadalapure, K.; Lindhorst, T. K.; Defaye, J.; García Fernández, J. M. *Carbohydr. Res.* **1999**, *320*, 37-48.

[54] Kiessling, L. L.; Pontrello; Schuster, M. C. Synthetic Multivalent Carbohydrate Ligands as Effectors or Inhibitors of Biological Processes. In *Carbohydrate-based Drug Discovery*, Vol. 2, Wong, C.-H., Ed.; Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2003, pp 575-608.

[55] (a) (b) Lee, R. T.; Lee, Y. C. *Glycoconjugate J.* **2000**, *17*, 543-551. (b) Mammen, M.; Choi, S.-K.; Whitesides, G. M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2754-2794. (c) Lee, Y. C.; Lee, R. T. *Acc. Chem. Res.* **1995**, *28*, 321-327.

[56] (a) Gestwicki, J. E.; Cairo, C. W.; Strong, L. E.; Oetjen, K. A.; Kiessling, L. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 14922-14933. (b) Cairo, C. W.; Gestwicki, J. E.; Kanai, M.; Kiessling, L. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 1615-1619.

[57] (a) Quesenberry, M. S.; Lee, R. T.; Lee, Y. C. *Biochemistry*, **1997**, *36*, 2724-2732. (b) Fan, J.-Q.; Quesenberry, M. S.; Takegawa, K.; Iwahara, S.; Kondo, A.; Kato, I.; Lee, Y. C. *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 17730-17735.

[58] Ramström, O.; Lohmann, S.; Bunyapaiboonsri, T.; Lehn, J.-M. *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 1711-1715.

[59] Mandal, D. K.; Brewer, C. F. *Biochemistry* **1993**, *32*, 5116-5120.

[60] Schaschke, N.; Fiori, S.; Wehyher, E.; Escricut, C.; Fourmy, D.; Müller, G.; Moroder, L. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 7030-7038.

[61] Breslow, R.; Belvedere, S.; Gershell, L.; Leung, D. *Pure Appl. Chem.* **2000**, *72*, 333-342.

[62] Breslow, R. *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas.* **1994**, *113*, 493-498.

[63] Breslow, R.; Greenspon, N.; Guo, T.; Zarzycki, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 8296-8297.

- [64] Tabushi, I.; Kuroda, Y.; Shimokawa, K. *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 1614-1615.
- [65] Harada, A.; Furue, M.; Nozakura, S.-I. *Polym. J.* **1980**, *12*, 29-33.
- [66] (a) Fujita, K.; Ejima, S.; Imoto, T. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1984**, 1277-1278.
(b) Fujita, K.; Ejima, S.; Imoto, T. *Chem. Lett.* **1985**, 11-12.
- [67] (a) Wilson, D. M.; Perlson, L.; Breslow, R. *Biorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 2649-2653. (b) Baugh, S. D. P.; Yang, Z.; Leung, D. K.; Wilson, D. M.; Breslow, R. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 12488-12494. (c) Breslow, R.; Halfon, S.; Zhang, B. *Tetrahedron*, **1995**, 377-388.
- [68] (a) Jiang, T.; Lawrence, D. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 1857-1858. (b) Jiang, T.; Sukumaran, D. K.; Loni, S. -D.; Lawrence, D. S. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 5149-5155.
- [69] (a) Liu, Y.; Li, L.; Zhang, H.-Y.; Liang, P.; Wang, H. *Carbohydr. Res.* **2003**, *338*, 1751-1757. (b) Liu, Y.; Chen, Y.; Li, B.; Wada, T.; Inoue, Y. *Chem. Eur. J.* **2001**, *7*, 2528-2535. (c) Liu, Y.; Chen, Y.; Li, L.; Huang, G.; You, C. -G.; Zhang, H. -Y.; Wada, T.; Inoue, Y. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 7209-7215. (d) Liu, Y.; You, C.-G.; Chen, Y.; Wada, T.; Inoue, Y. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 7781-7787.
- [70] (a) Nelissen, H. F. M.; Feiters, M. C.; Nolte, R. J. M. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 5901-5906. (b) Birlirakis, N.; Henry, B.; Berthault, P.; Venema, F.; Nolte, R. J. M. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 3513-3522. (c) Venema, F.; Rowan, A. E.; Nolte, R. J. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 257-258. (d) 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.

[71] (a) Mulder, A.; Jukovic, A.; Huskens, J.; Reindhout, D. N. *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 1748-1755. (b) Mulder, A.; Auletta, T.; Sartori, A.; Del Ciotto, S.; Casnati, A.; Ungaro, R.; Huskens, J.; Reindhout, D. N. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 6627-6636. (c) Mulder, A.; Jukovic, A.; van Leeuwen, F. W. B.; Kooijman, H.; Spek, A. L.; Huskens, J.; Reindhout, D. N. *Chem. Eur. J.*, **2004**, *10*, 1114-1123. (d) de Jong, M. R.; Knegt, R. M. A.; Grootenhuis, P. D. J.; Huskens, J.; Reindhout, D. N. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2002**, *41*, 1004-1008.

[72] Yuan, D. Q.; Inamel, S.; Koga, K.; Yamaguchi, M.; Fujita, K. *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 3501-3506.

[73] Breslow, R. *Acc. Chem. Res.* **1995**, *28*, 146-153.

[74] Yuan, D. Q.; Lu, J.; Atsumi, M.; Izuka, A.; Kai, M.; Fujita, K. *Chem. Commun.* **2002**, 730-731.

[75] de Jong, M. R.; Engbersen, J. F. J.; Huskens, J.; Reindhout, D. N. *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 4034-4040.

[76] (a) Narita, M.; Itoh, J.; Kikuchi, T.; Hamada, F. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2002**, *42*, 107-114. (b) Kikuchi, T.; Narita, M.; Hamada, F. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2002**, *44*, 329-333.

[77] Brady, B.; Darcy, R.; O'Sullivan, J. F. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **1999**, *33*, 39-46.

[78] Brady, B.; Darcy, R. *Carbohydr. Res.* **1998**, *309*, 237-241.

- [79] Edwards, W. B.; Reichert, D. E.; d'Avignon, A.; Welch, M. J. *Chem. Commun.* **2001**, 1312-1313.
- [80] Moser, J. G.; Rose, I.; Wagner, B.; Wieneke, T.; Vervoorts J. *Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2001**, *39*, 13-18.
- [81] Liu, Y.; Chen, G. S.; Zhang, H. -Y.; Cao, D. -X.; Yuan, Y. -J. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 4634-4637.
- [82] (a) Defaye, J.; Ortiz Mellet, C.; García Fernández, J. M., *WO Pat.* 9733919, FR 96-3221, **1996**, *Chem. Abstr.* **1997**, *127*, 264489. (c) Defaye, J.; Ortiz Mellet, C.; García Fernández, J. M.; Benito, J. M.; Gómez García, M.; Yu, J.-X. Patent FR 03/13873.
- [83] Muller, C. D.; Schuber, F. *Biochim. Biophys. Acta* **1989**, *986*, 97-105.
- [84] Houseman, B. T.; Mrksich, M. *Top. Curr. Chem.*, **2002**, *208*, 1-44.
- [85] Ortiz Mellet, C.; García Fernández, J. M. *ChemBioChem*, **2002**, *3*, 819-822.
- [86] Fujimoto, T.; Miyata, T.; Aoyama, Y. *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, *122*, 3558-3559.
- [87] Newkome, G. R.; Yao, Z. Q.; Baker, G. R.; Gupta, V. K. *J. Org. Chem.*, **1985**, *50*, 2003-2004.
- [88] Tomalia, D. A.; Baker, H.; Dewald, J.; Hall, M.; Kallos, G.; Martin, S.; Roeck, J.; Ryder, J.; Smith, P. *Polym. J.*, **1985**, *17*, 117-132.
- [89] Lee, Y. C. *Carbohydr. Res.* **1978**, *67*, 509-514.

- [90] Lee R. T.; Lee, Y. C. *Methods Enzymol.* **1987**, *138*, 424-429.
- [91] Roy, R. ; Zanini, D.; Meunier, S. J. ; Romanowska, A. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1993**, 1869-1872.
- [92] Ashton, P. R.; Boyd, S. E.; Brown, C. L.; Jayaraman, N.; Nepogodiev, S. A.; Stoddart, J. F. *Chem. Eur. J.* **1996**, *2*, 1115-1128.
- [93] Andre, S.; Ortega, P. J. C.; Perez, M. A.; Roy, R.; Gabius, H. -J. *Glycobiology.* **1999**, *9*, 1253-1261.
- [94] Tsutsumiuchi, K.; Aoi, K.; Okada, M. *Polym. J.* **1999**, *31*, 935-1041.
- [95] Ashton, P. R.; Boyd, S. E.; Brown, C. L.; Jayaraman, N.; Stoddart, J. F. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1997**, *36*, 732-735.
- [96] 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.
- [97] Langer, P.; Ince, S. J.; Ley, S. V. *J. Chem. Soc., Perkin Trans 1*, **1998**, 3913-3915.
- [98] Kantchev, A. B.; Parquette, J. R. *Tetrahedron Lett.*, **1999**, *40*, 8049-8053.
- [99] Burke, S. D.; Zhao, Q.; Schuster, M. C.; Kiessling, L. L. *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, *122*, 4518-4519.
- [100] Wittmann, V.; Seeberger, S. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2000**, *39*, 4348-4352.

- [101] Wittmann, V.; Seeberger, S., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2004**, *43*, 900-903.
- [102] Takahashi, M.; Hara, Y.; Aoshima, K.; Kurihara, H.; Oshikawa, T.; Yamashita, M. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 8485-8488.
- [103] Roy, R.; Kim, J. M. *Polym. Mater. Sci. Eng.* **1997**, *77*, 195-196.
- [104] von der Lieth, C. W.; Frank, M.; Lindhorst, T. K. *Rev. Mol. Biotechnol.* **2002**, *90*, 311-337.
- [105] Dubber, M.; Lindhorst, T. K. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 4019-4022.
- [106] Dubber, M.; Lindhorst, T. K. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 5275-5281.
- [107] Dubber, M.; Lindhorst, T. K. *Carbohydr. Res.* **1998**, *310*, 35-41.
- [108] Kieburg, C.; Dubber, M.; Lindhorst, T. K. *Synlett* **1997**, 1447-1449.
- [109] Köhn, M.; Benito, J. M.; Ortiz Mellet, C.; Lindhorst, T. K.; García Fernández, J. M. *ChemBioChem.*, **2004**, *5*, 1-8.
- [110] Horan, N.; Yan, L.; Isobe, H.; Whitesides, G. M.; Kahne, D. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 11782-11786.
- [111] Patel, A.; Lindhorst, T. K.; *Eur. J. Org. Chem.*, **2002**, 79-86.

[112] Katajisto, J.; Karskela, T.; Heinonen, P.; Lönnberg, H. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 7995-8001.

[113] Ramström, O.; Lohmann, S.; Bunyapaiboonsri, T.; Lehn, J. -M. *Chem. Eur. J.*, **2004**, *10*, 1711-1715.

[114] 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.

[115] Defaye, J.; Ortiz Mellet, C.; García Fernández, J. M.; Benito, J. M.; Gómez García, M.; Yu, J.-X. Patent FR 03/13873.

[116] (a) Meng, X.-B.; Yang, L.-D.; Li, H.; Li, Q.; Cheng, T.-M.; Cai, M.-S.; Li, Z.-J. *Carbohydr. Res.* **2002**, *337*, 977-981.

[117] Lubineau, A. ; Malleron, A. ; Le Narvor, C. *Tetrahedron Lett.*, *41*, **2000**, 8887-8891.

[118] Horton, D. *Methods in Carbohydr. Chem.*, **1962**, 433-437.

[119] Matta, K. L.; Girotra, R. N.; Barlow, J. J. *Carbohydr. Res.*, **1975**, *43*, 101-109.

[120] Reineke, T. M.; Davis, M. E. *Bioconjugate Chem.* **2003**, *14*, 247-254.

[121] Defaye, J.; Ortiz Mellet, C.; García Fernández, J. M.; Gómez García, M.; Chmurski, K.; Yu, J.-X. Patent FR 03/03899.

- [122] Anisuzzaman, A. K. M.; Whistler, R. L. *Carbohydr. Res.* **1978**, *61*, 511-518.
- [123] Dasgupta F. ; Garegg, P. J. *Acta Chemica Scandinava* **1989**, *43*, 471-475.
- [124] Dufour, M.; Gramain, J. -C. ; Husson, H. -P. ; Sinibaldi, M. -E. ; Troin, Y. *Synth. Commun.* **1992**, *22*, 189-200.
- [125] Petter, R. C.; Salek, J. S. ; Sikorski, C. T.; Kumaravel, G. ; Lin, F. T. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 3860-3868.
- [126] Westerberg, D. A.; Carney, P. L.; Rogers, P. E.; Kline, S. J. ; Johnson, D. K. . *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 236-243.

11. FIGURAS.

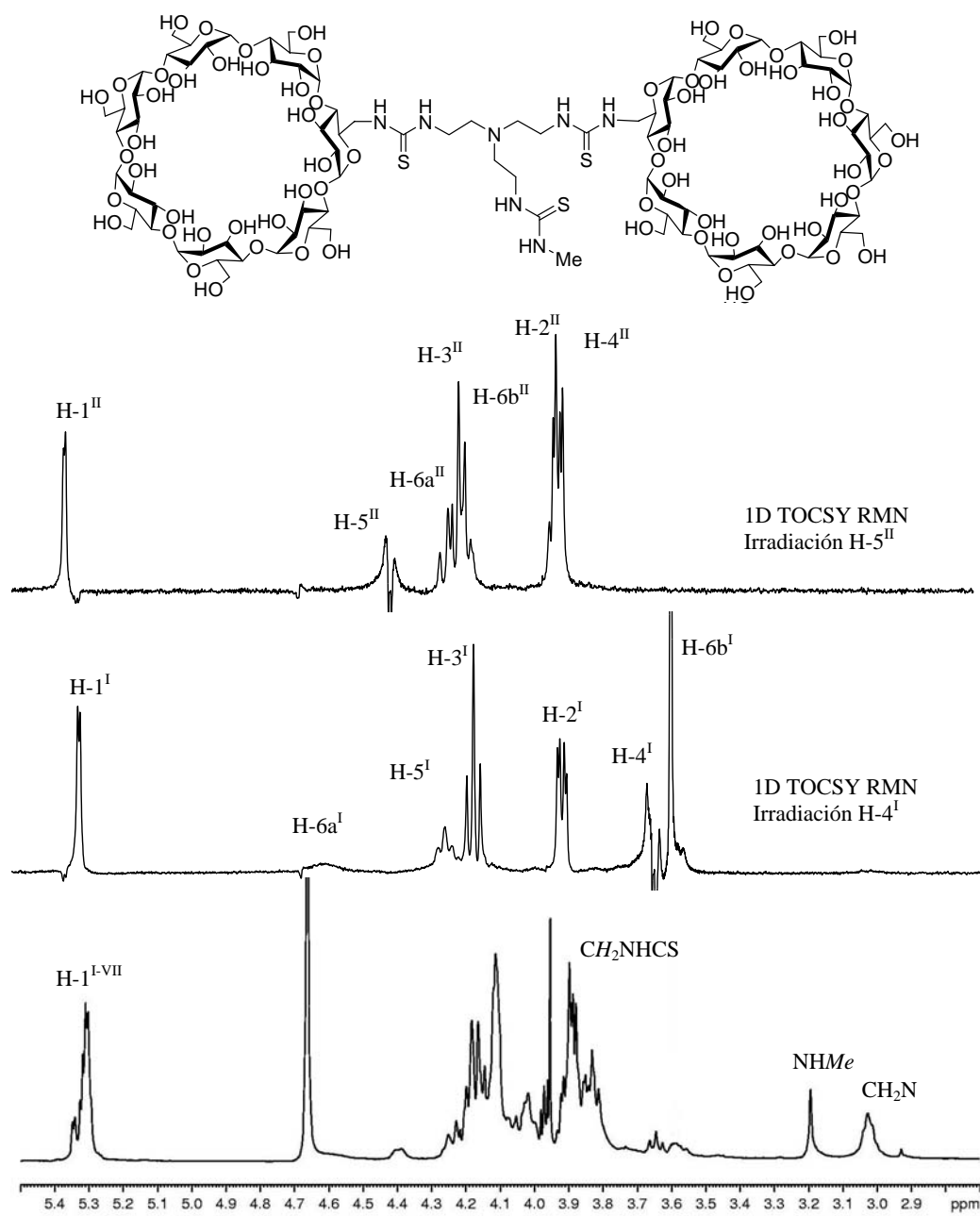


Figura 1. Espectros de ¹H RMN y 1D TOCSY (500 MHz, D₂O, 333 K) del compuesto **9**.

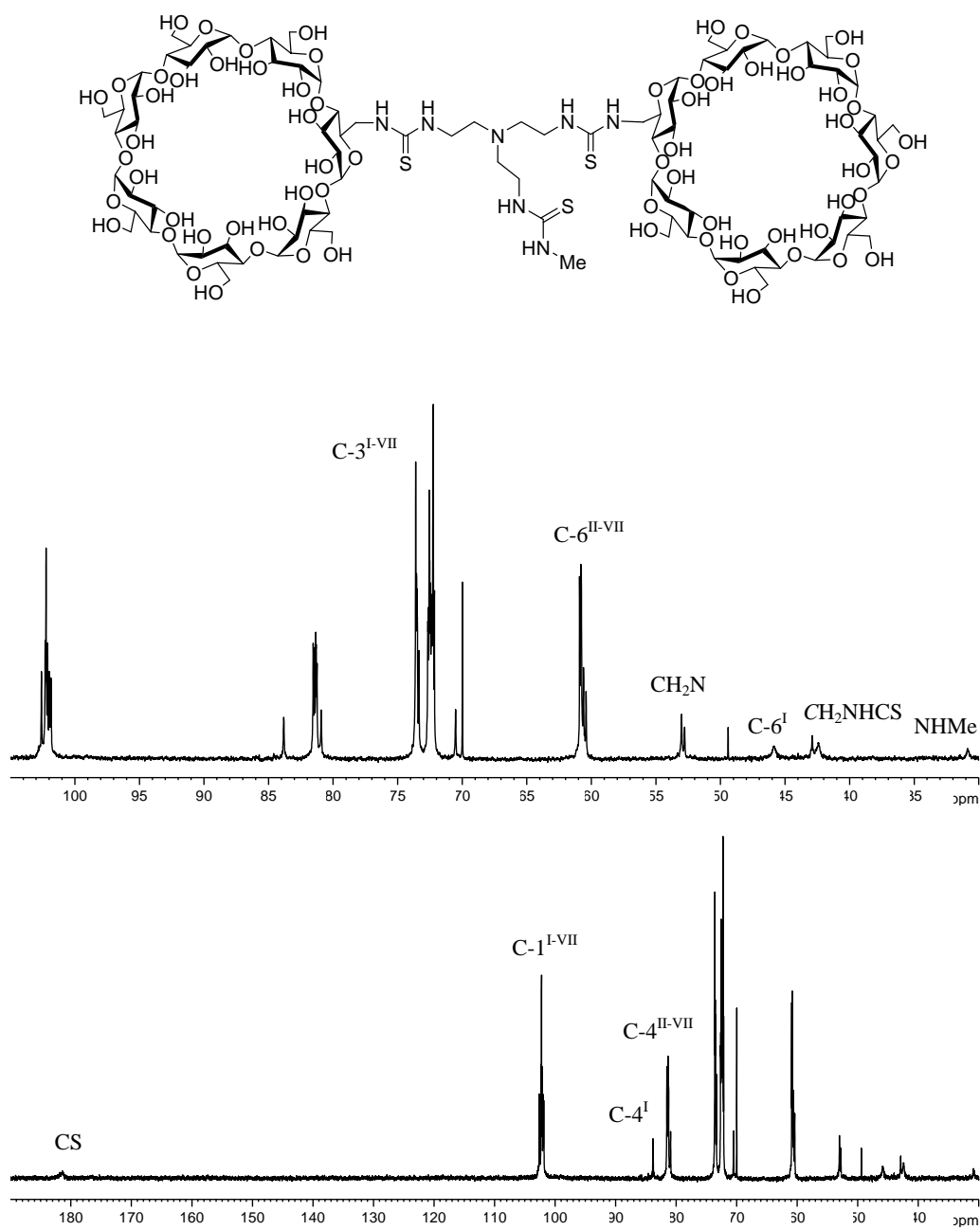


Figura 2. Espectro de ^{13}C RMN (125.7 MHz, D₂O, 333 K) del compuesto **9**.

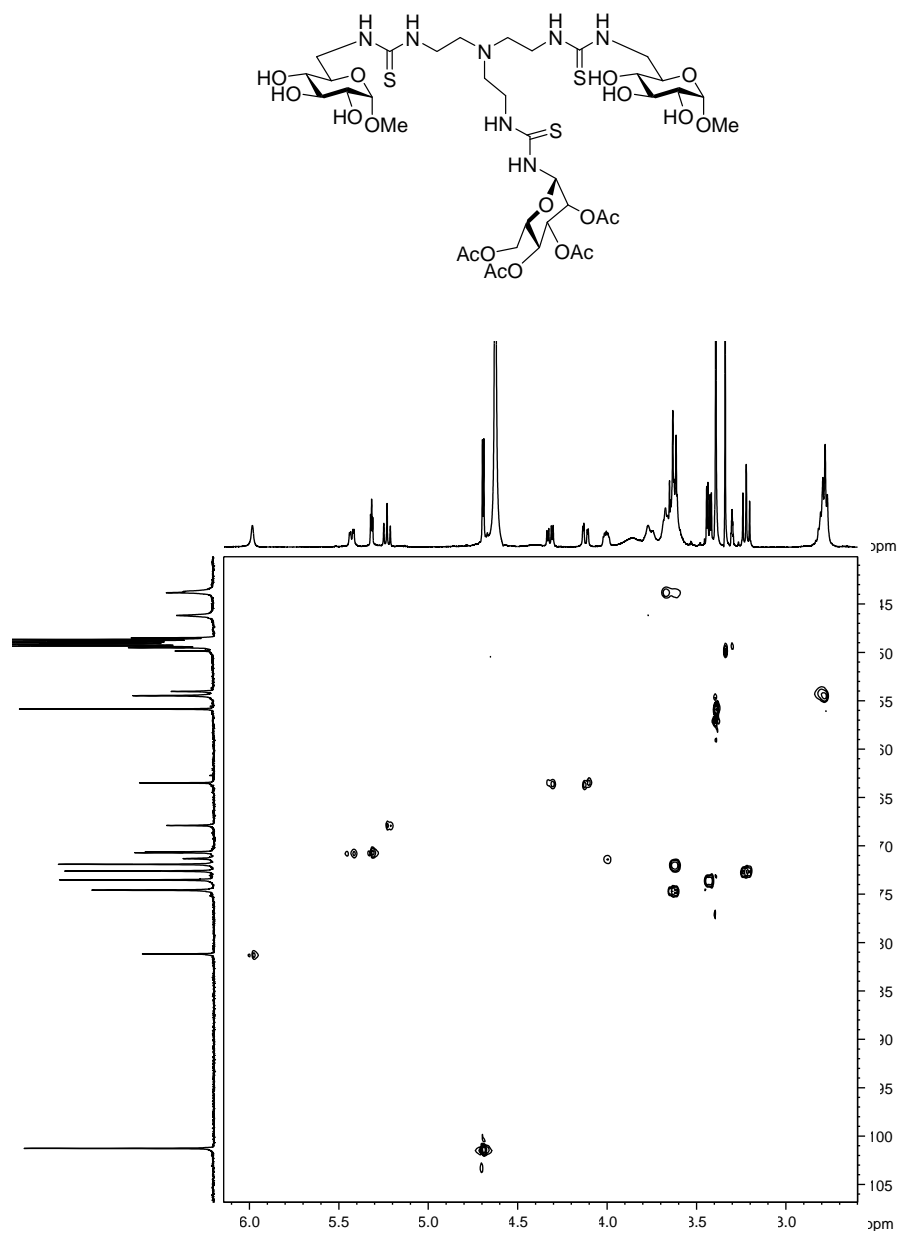


Figura 3. Espectro HMQC (500 MHz, CDCl₃) del compuesto **12**.

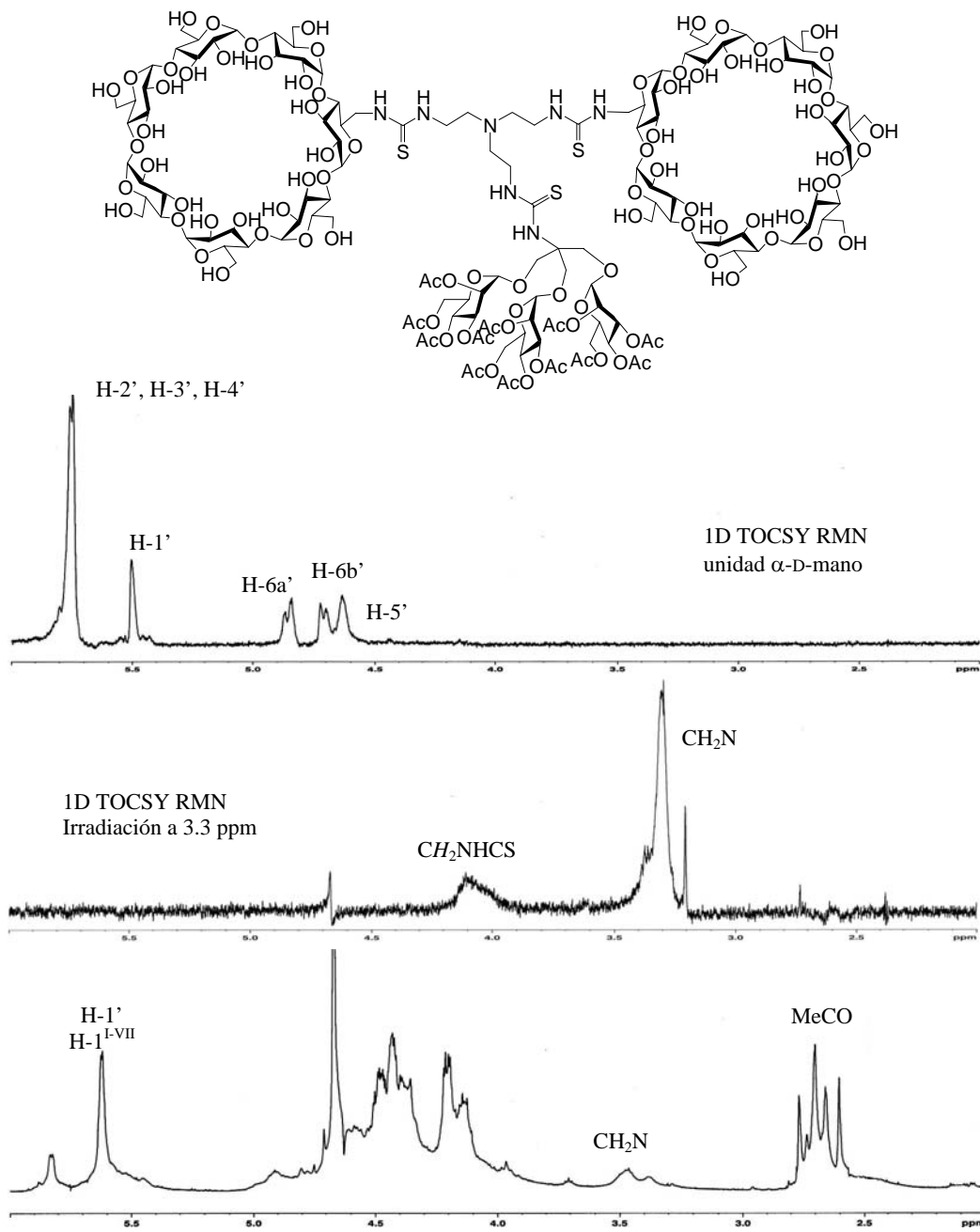


Figura 4. Espectro de ^1H RMN (500 MHz, D_2O , 353 K) del compuesto **14**.

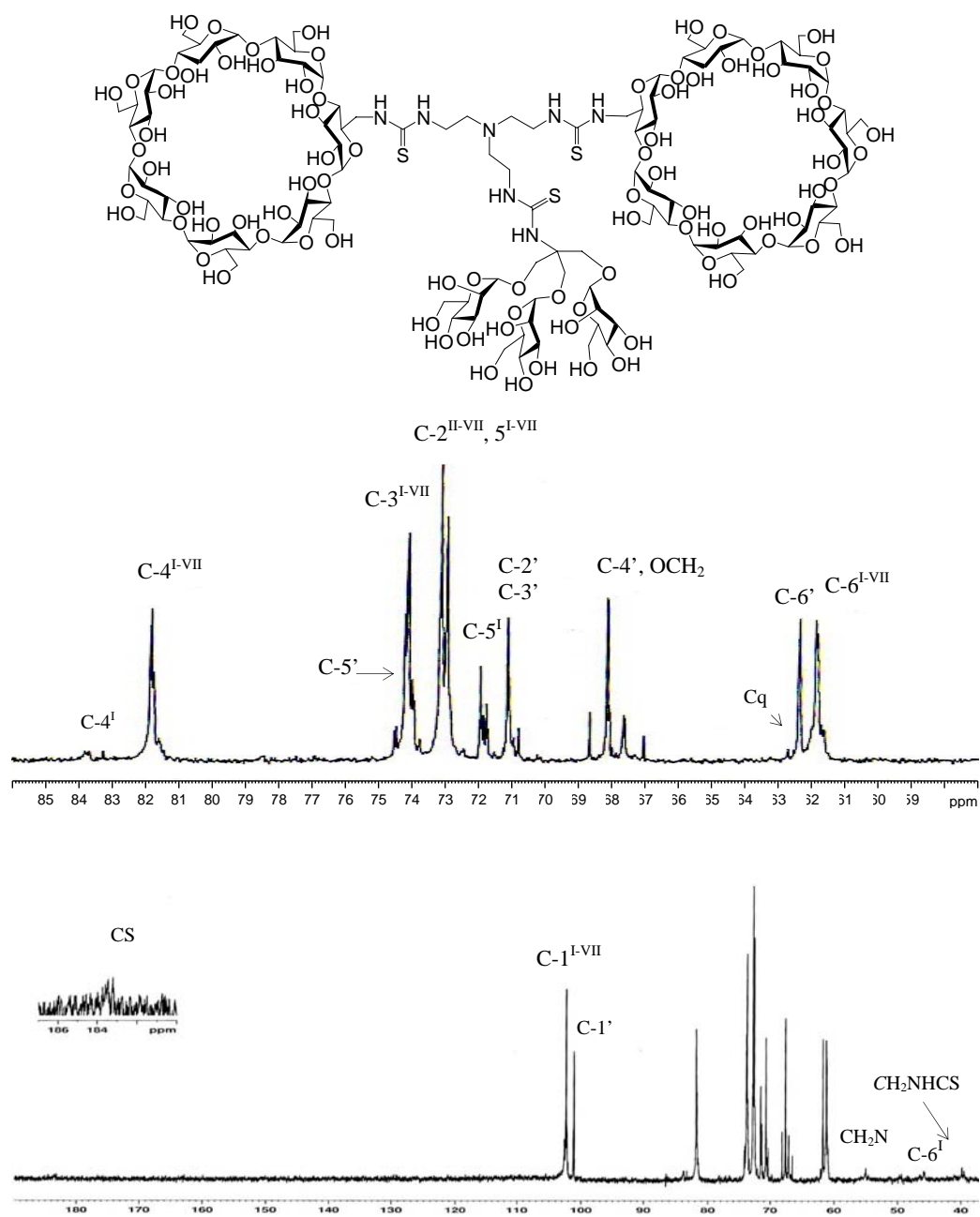


Figura 5. Espectro de ^{13}C RMN (125.7 MHz, D_2O , 353 K) del compuesto **15**.

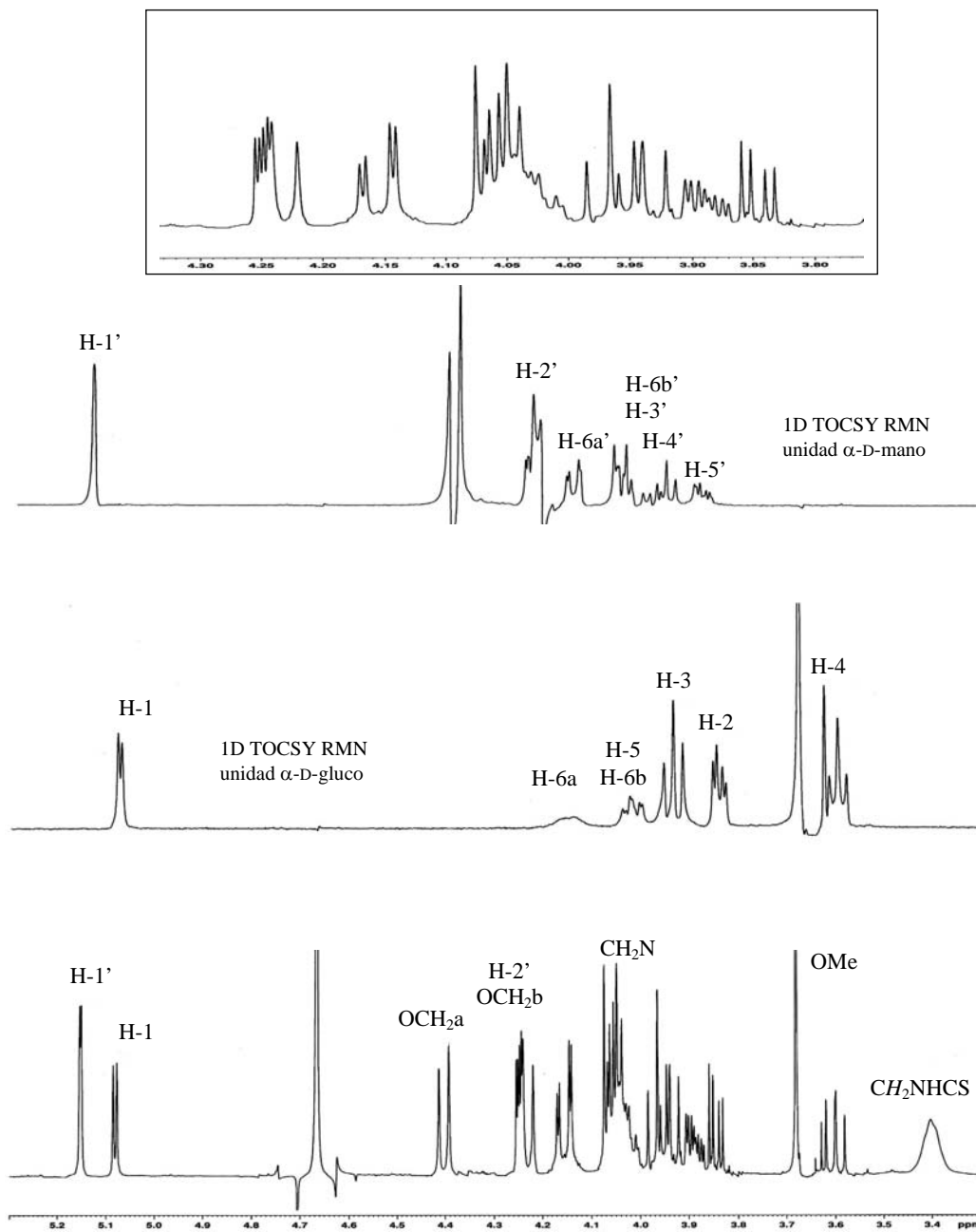


Figura 6. Espectro de ^1H RMN (125.7 MHz, D_2O , 333 K) del compuesto **17**.

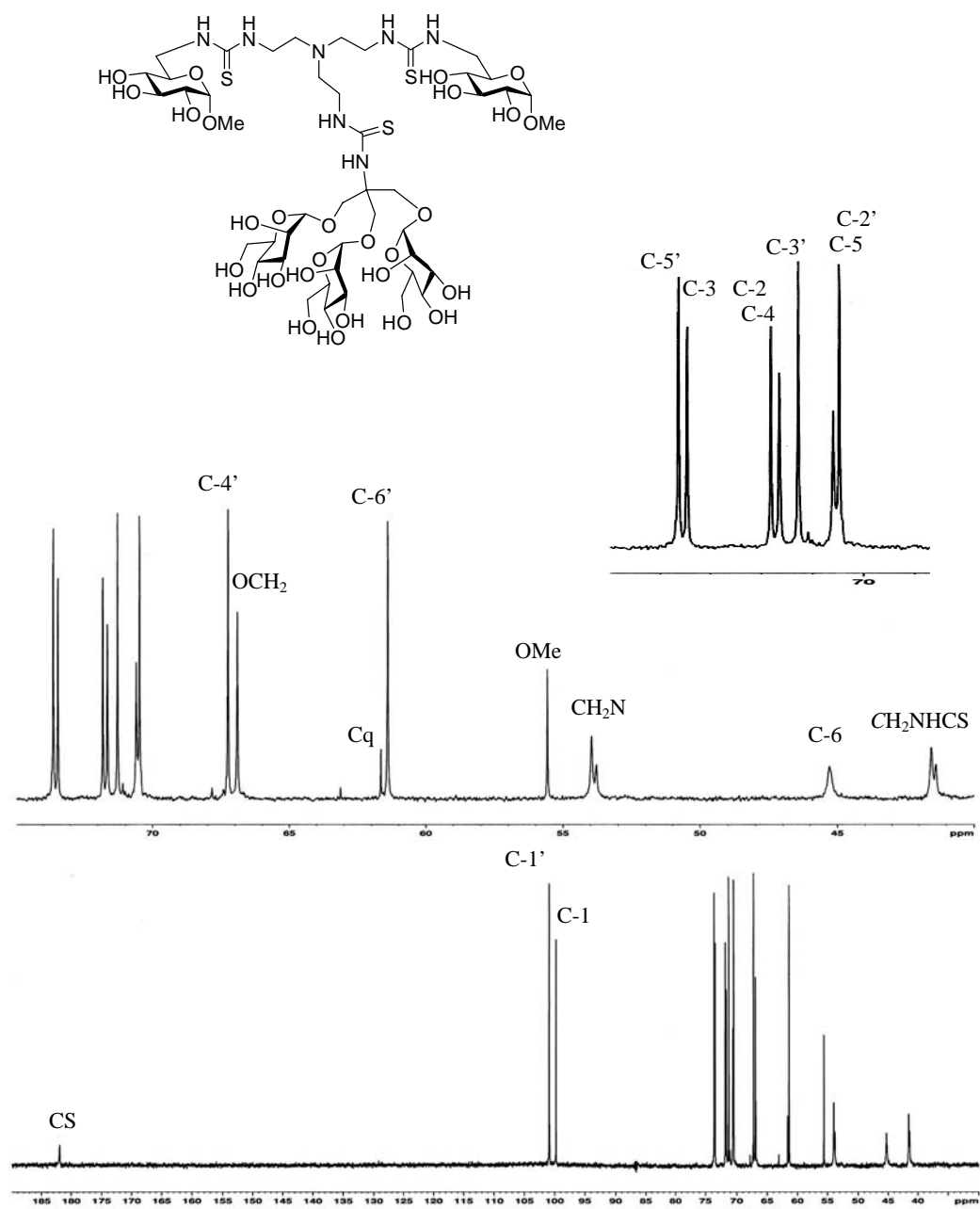


Figura 7. Espectro de ^{13}C RMN (125.7 MHz, D₂O, 333 K) del compuesto 17.

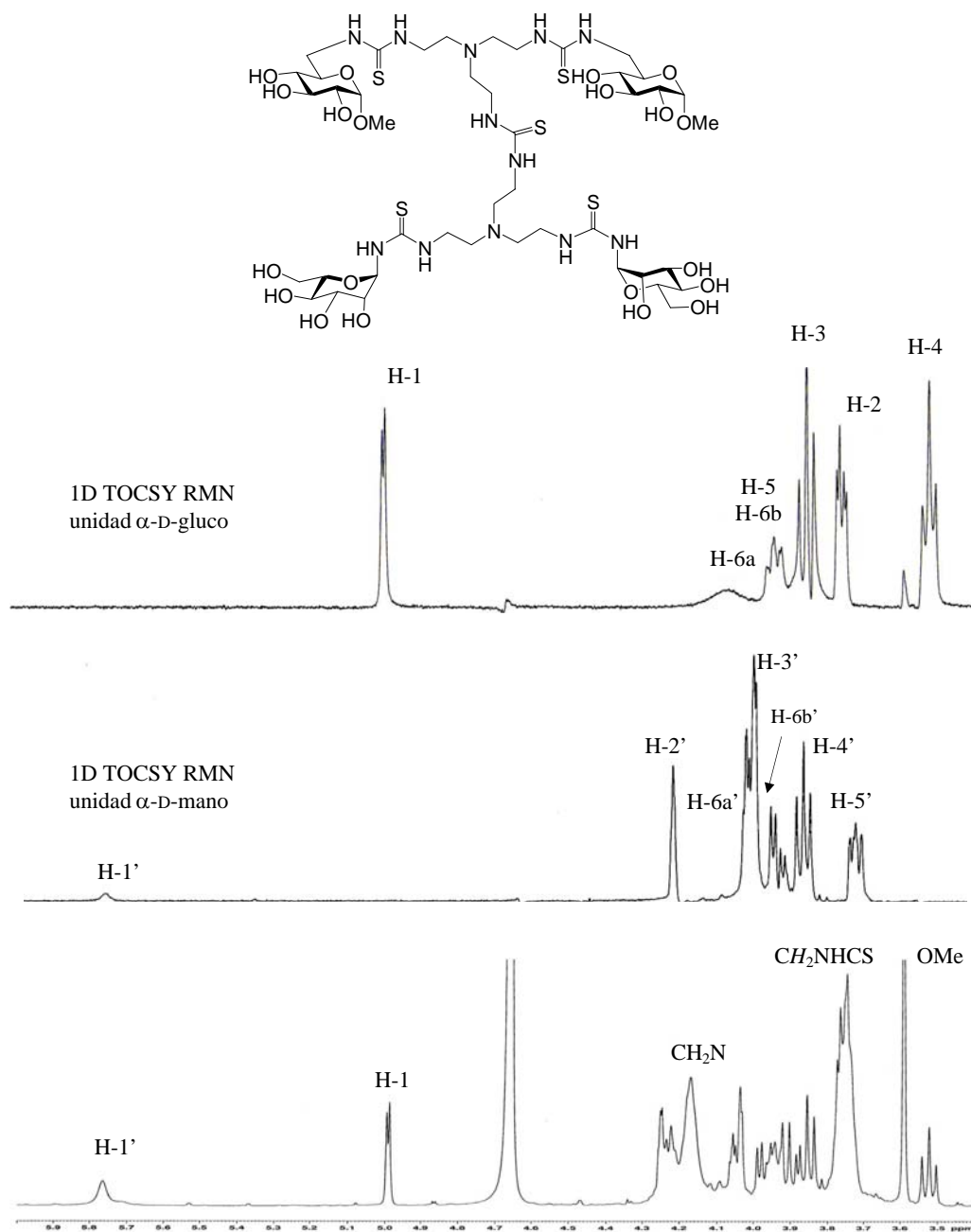


Figura 8. Espectros de ^1H RMN y 1D TOCSY RMN (500 MHz, D_2O , 323 K) del compuesto **20**.

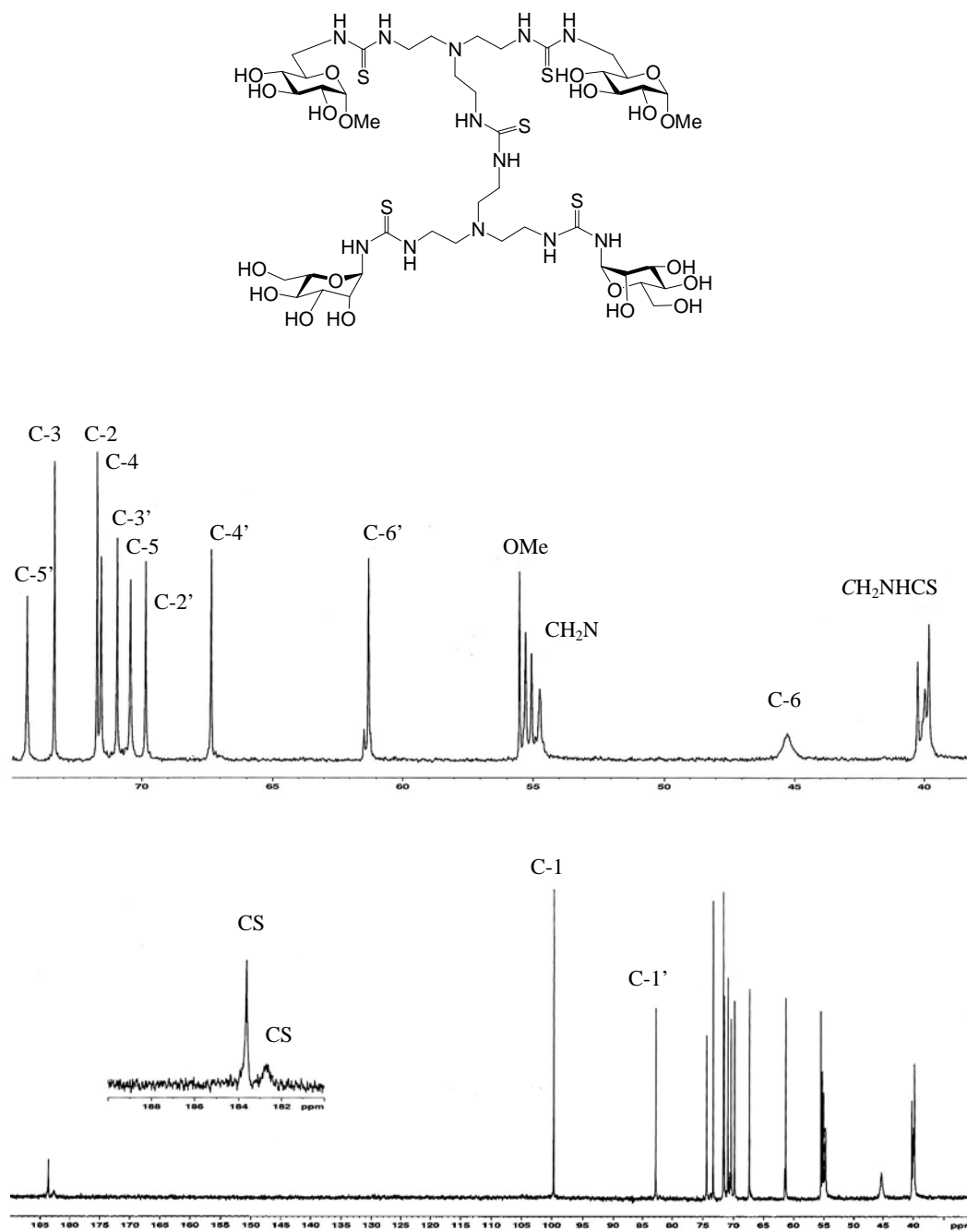


Figura 9. Espectro de ^{13}C RMN (125.7 MHz, D_2O , 323 K) del compuesto 20.

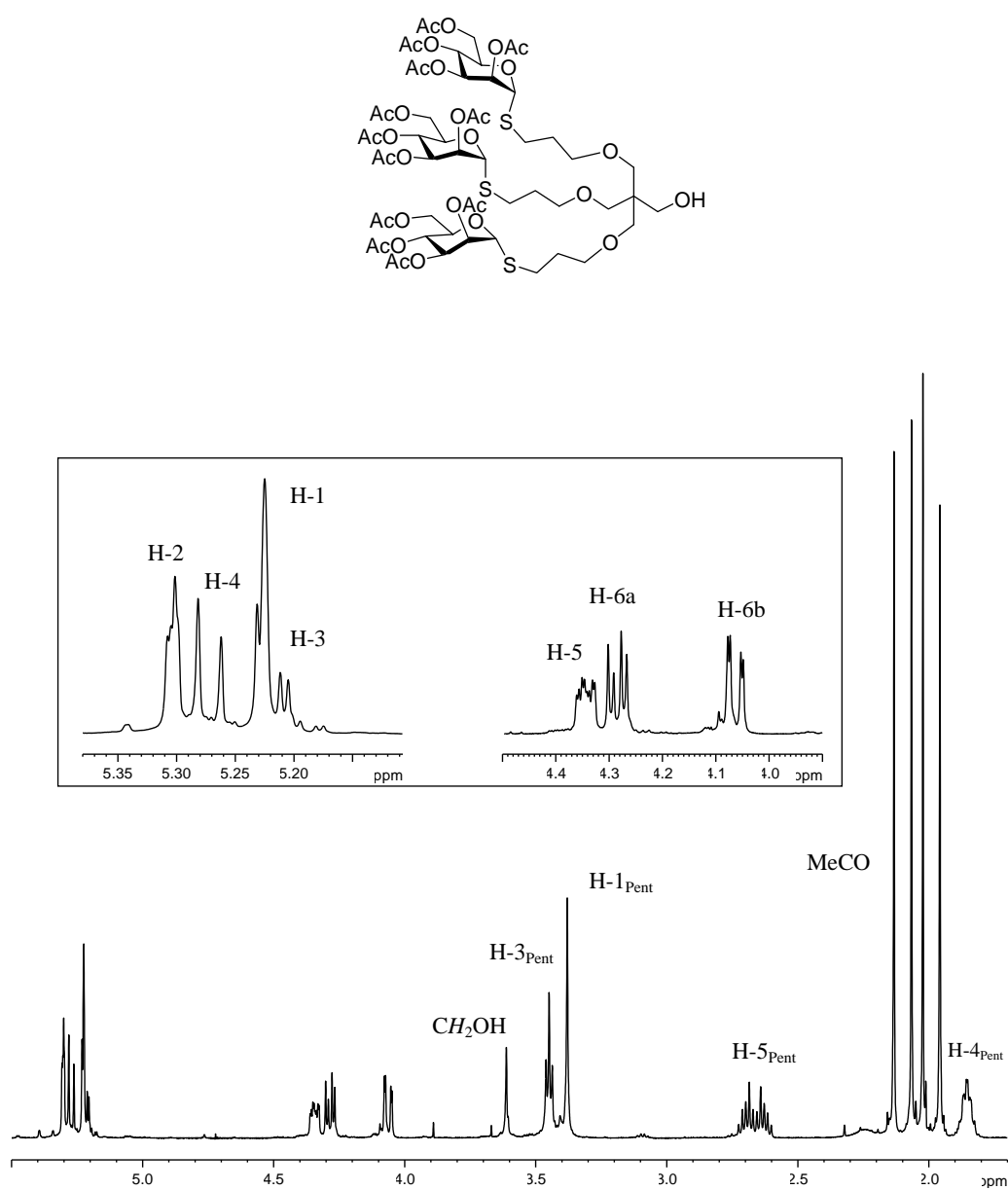


Figura 10. Espectro de ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) del compuesto **28**.

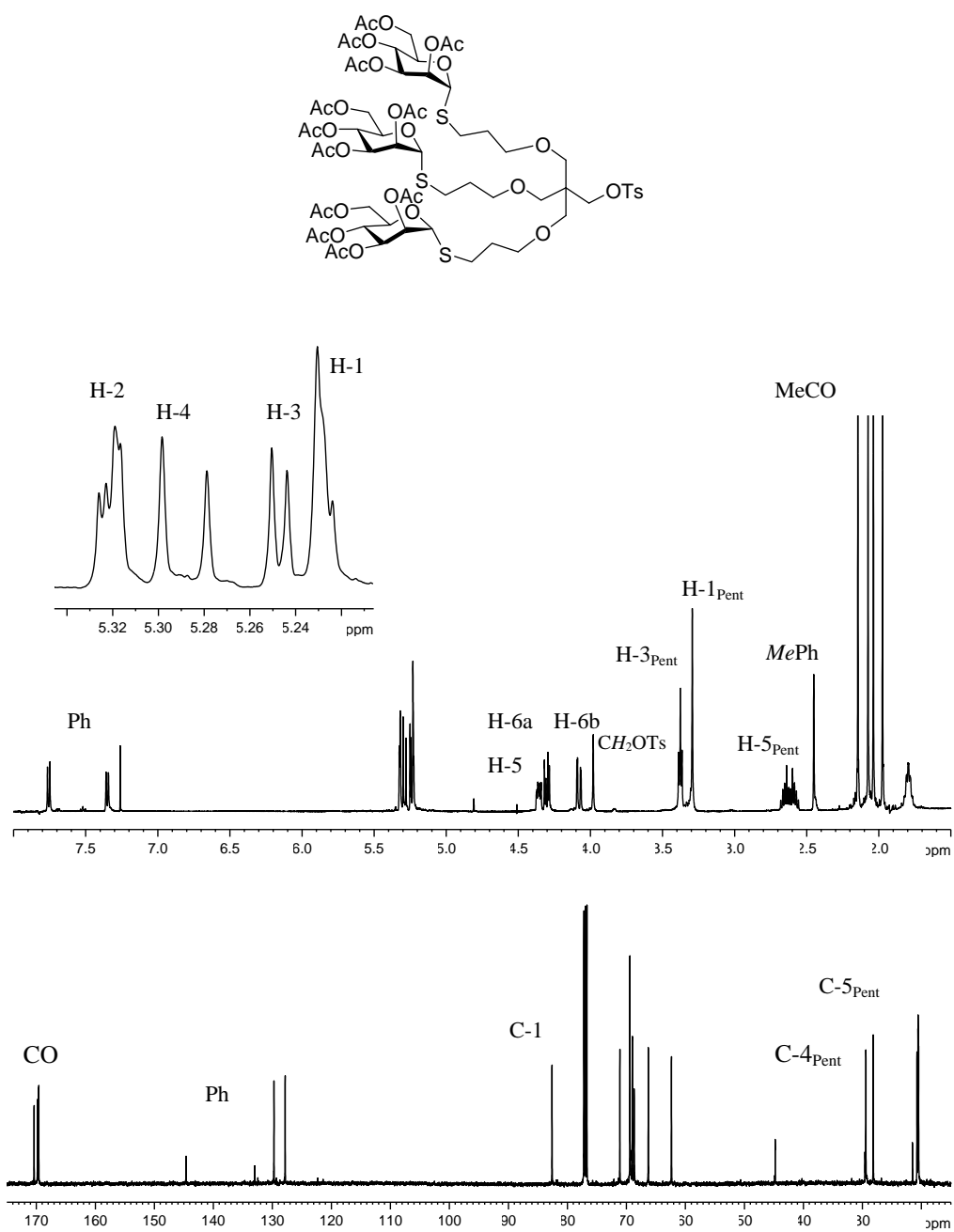


Figura 11. Espectros de ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) y de ^{13}C RMN (125.7 MHz, CDCl_3) del compuesto **30**.

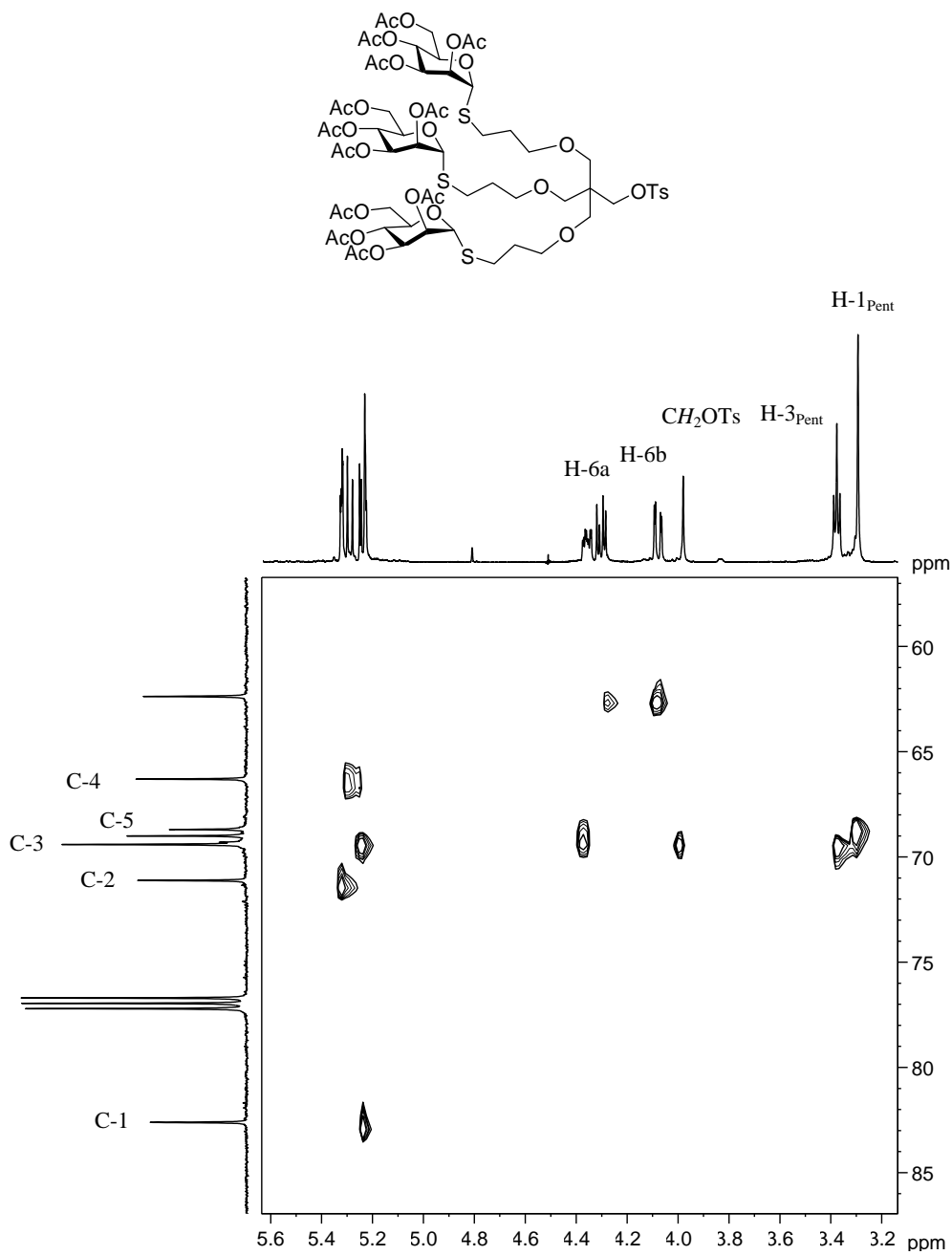


Figura 12. Espectro HSQC (500 MHz, CDCl_3) del compuesto **30**.

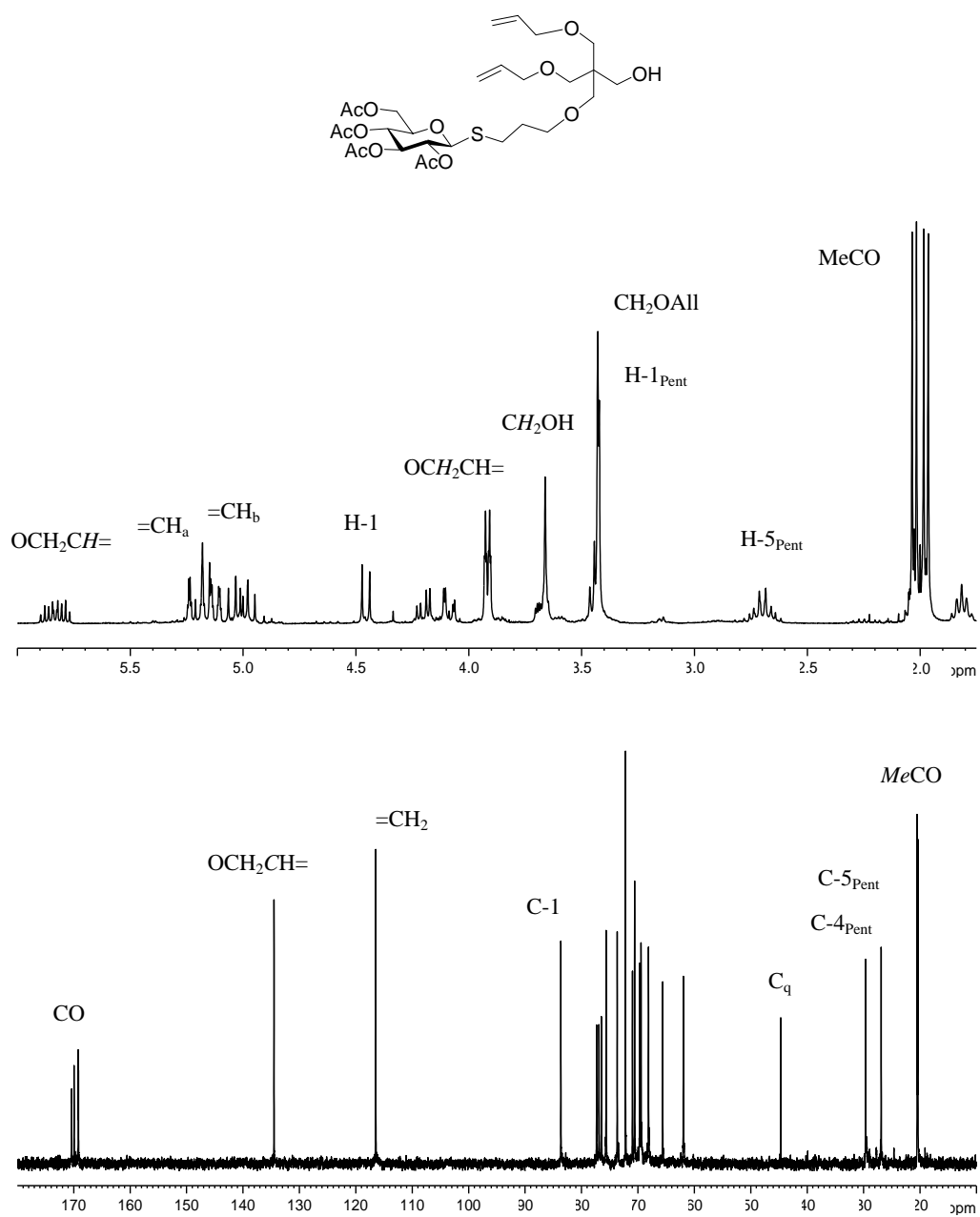


Figura 13. Espectros de ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) y de ^{13}C RMN (125.7 MHz, CDCl_3) del compuesto **33**.

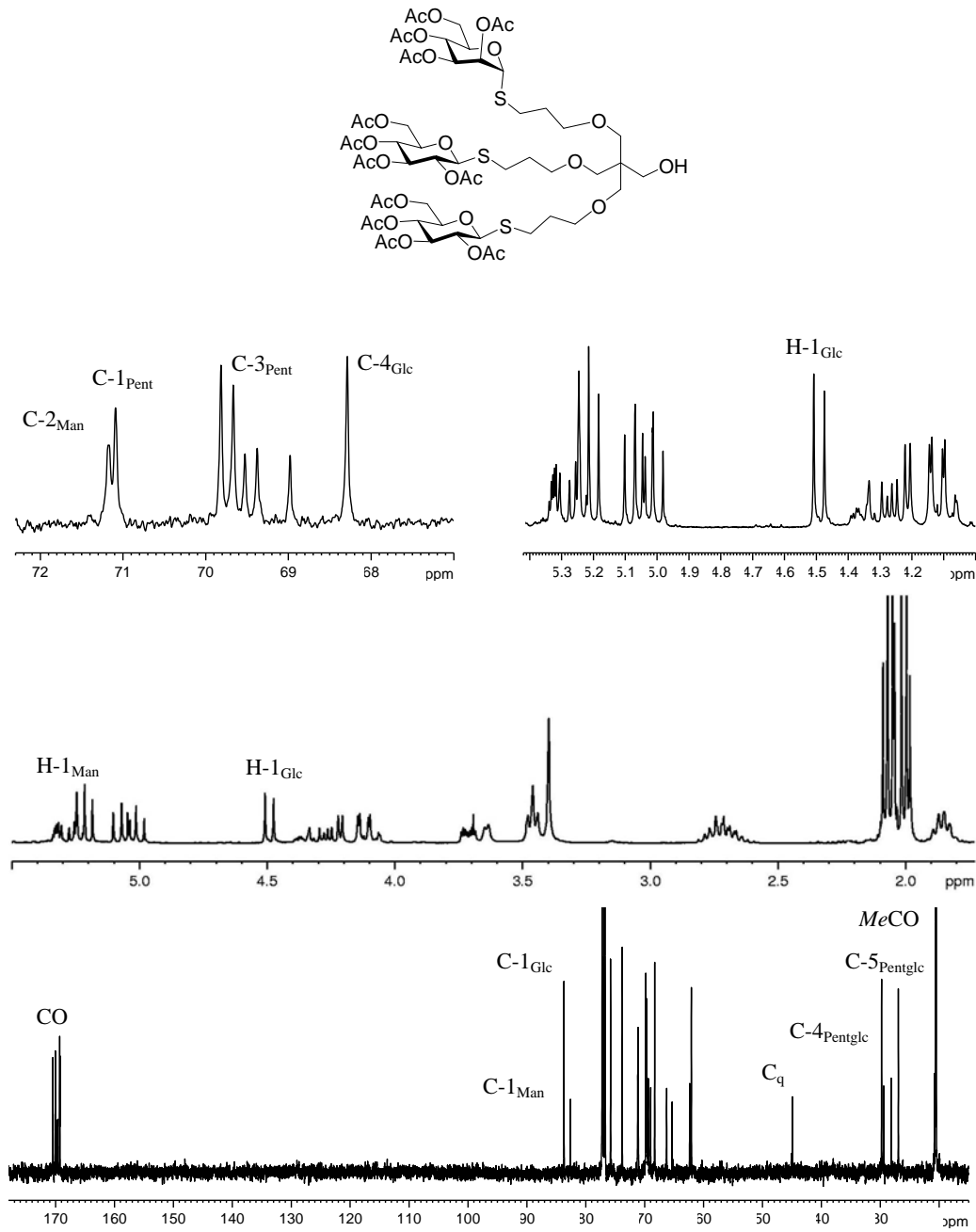


Figura 14. Espectros de ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) y ^{13}C RMN (125.7 MHz, CDCl_3) del compuesto 35.

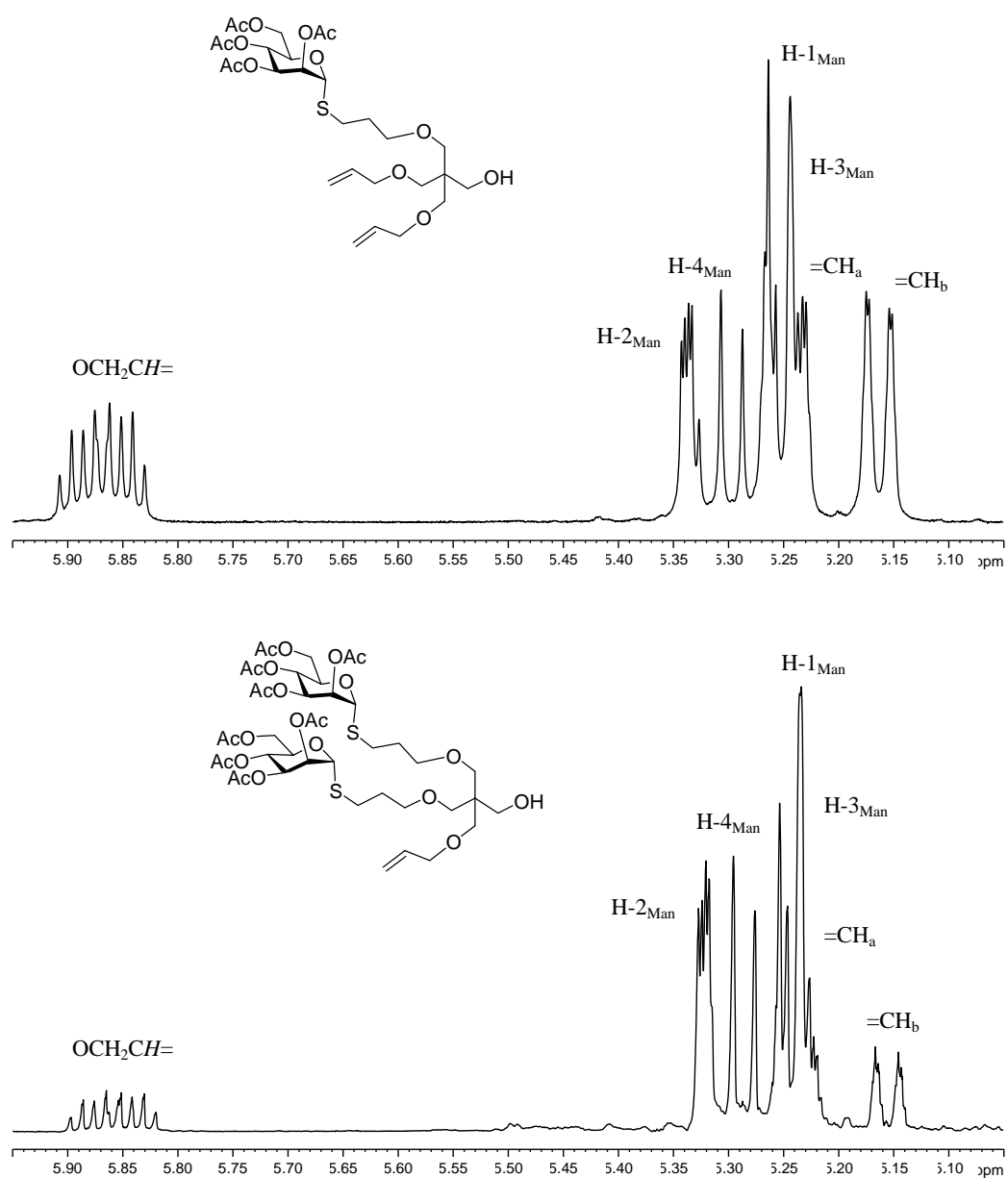


Figura 15. Espectros de ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) de los compuestos **40** y **41**.

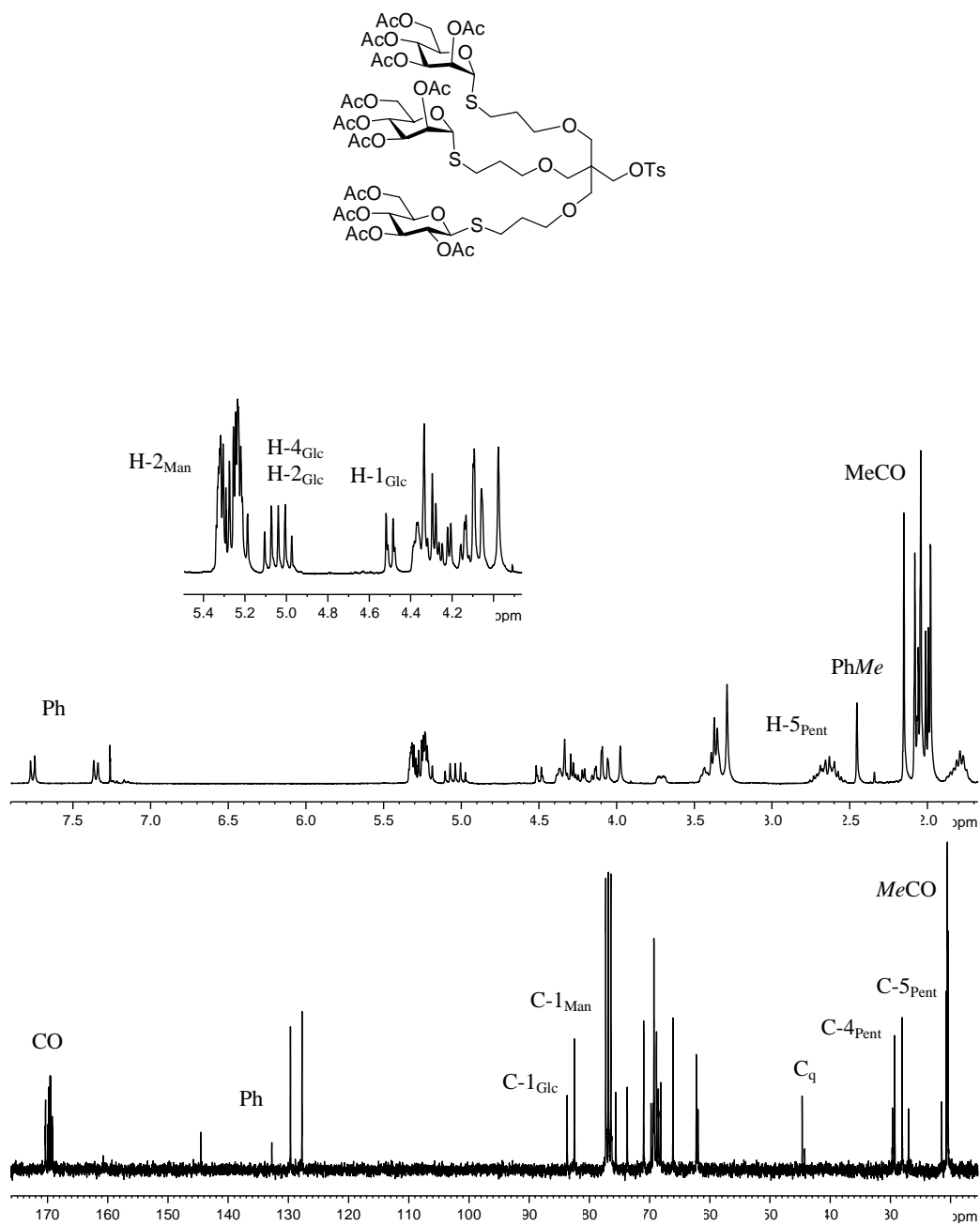


Figura 16. Espectros de ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) y ^{13}C RMN (75.5 MHz, CDCl_3) del compuesto 45.

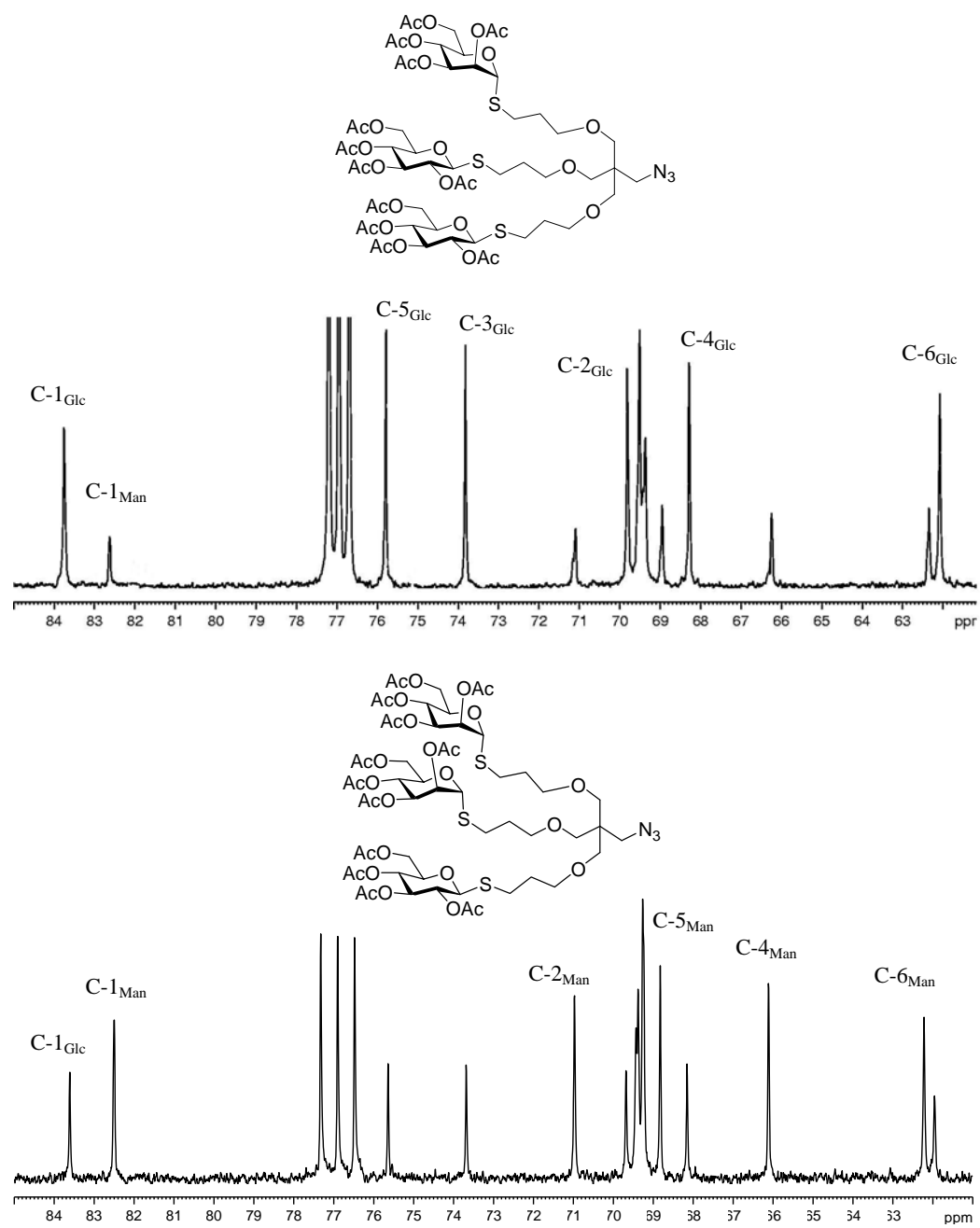


Figura 17. Espectros de ^{13}C RMN (125.7 MHz, CDCl_3) del compuesto **38** y ^{13}C RMN (75.5 MHz, CDCl_3) del compuesto **46**.

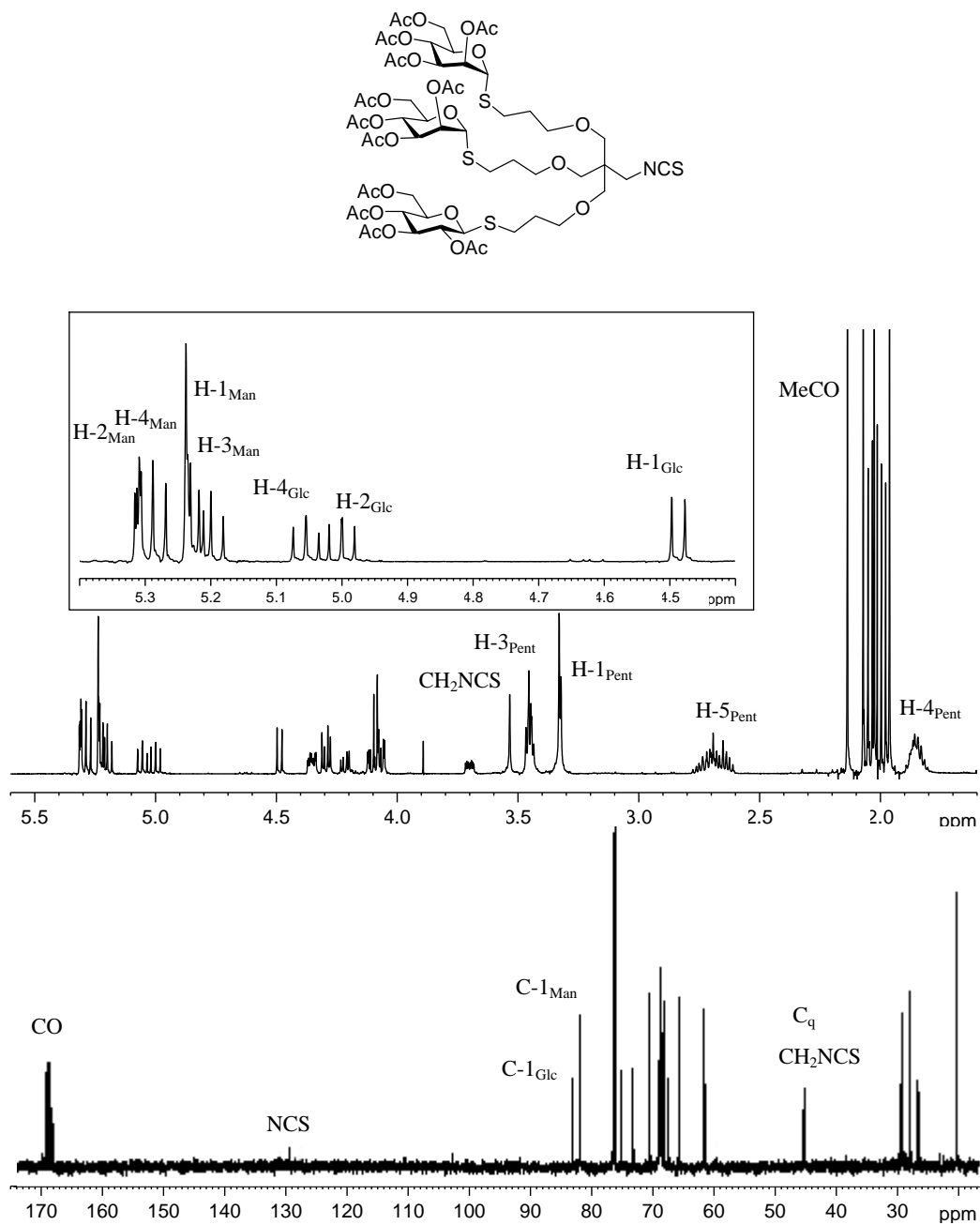


Figura 18. Espectros de ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) y de ^{13}C RMN (125.7 MHz, CDCl_3) del compuesto 47.

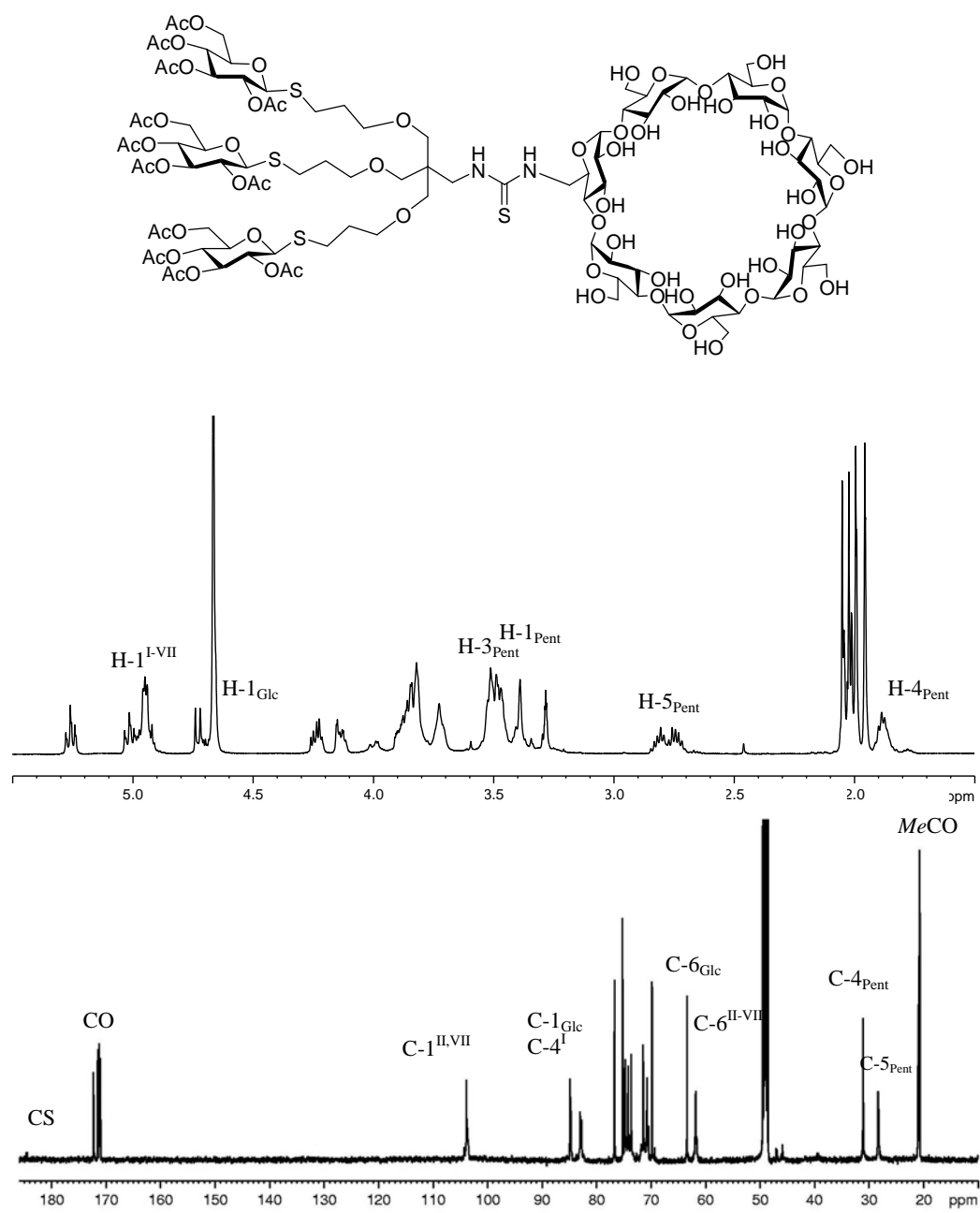


Figura 19. Espectros de ^1H (500 MHz, CD_3OD , 313 K) y ^{13}C (125.7 MHz, CD_3OD) del compuesto **48**.

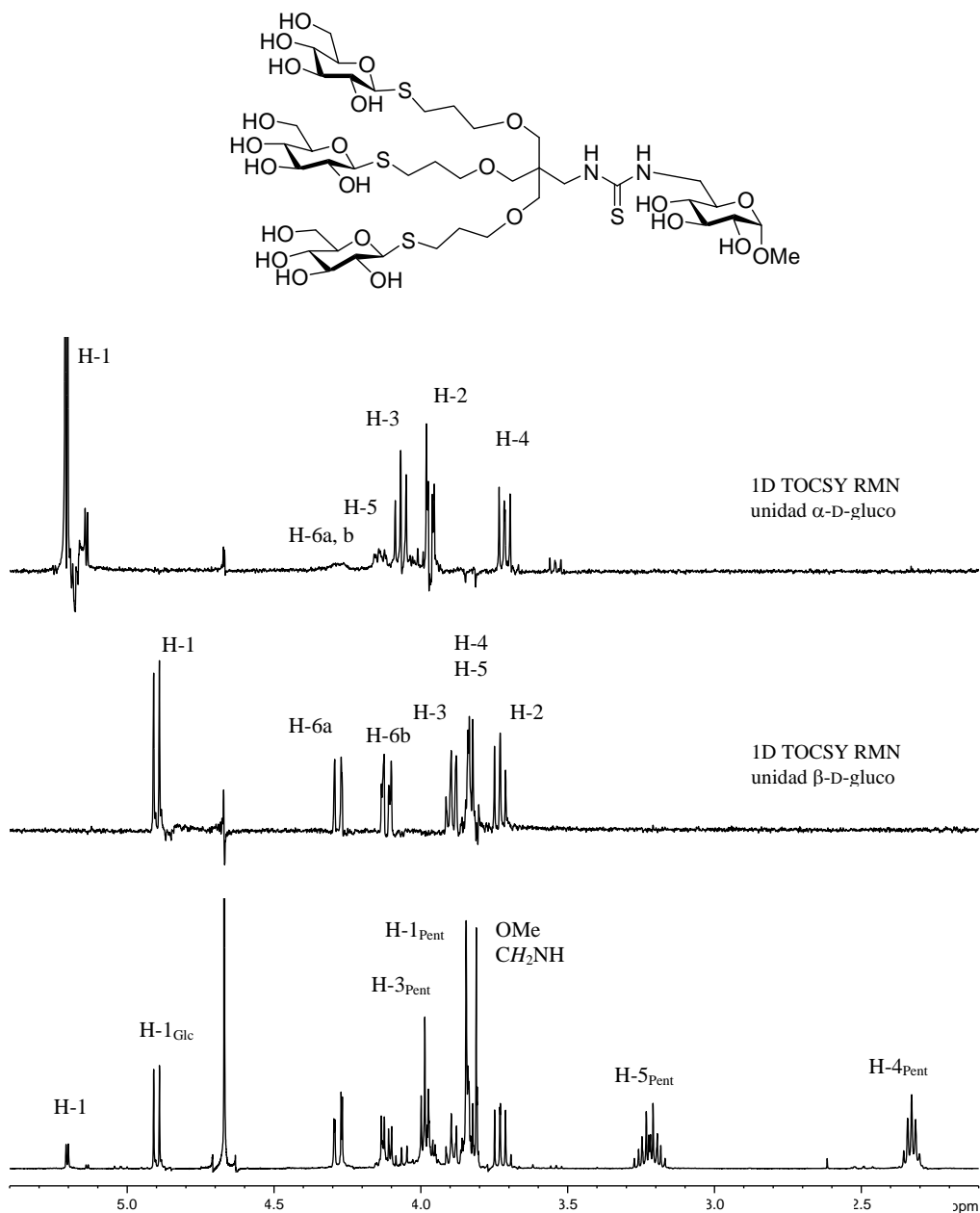


Figura 20. Espectros de ^1H RMN y ^1D TOCSY RMN (500 MHz, D_2O , 343 K) del compuesto **51**.

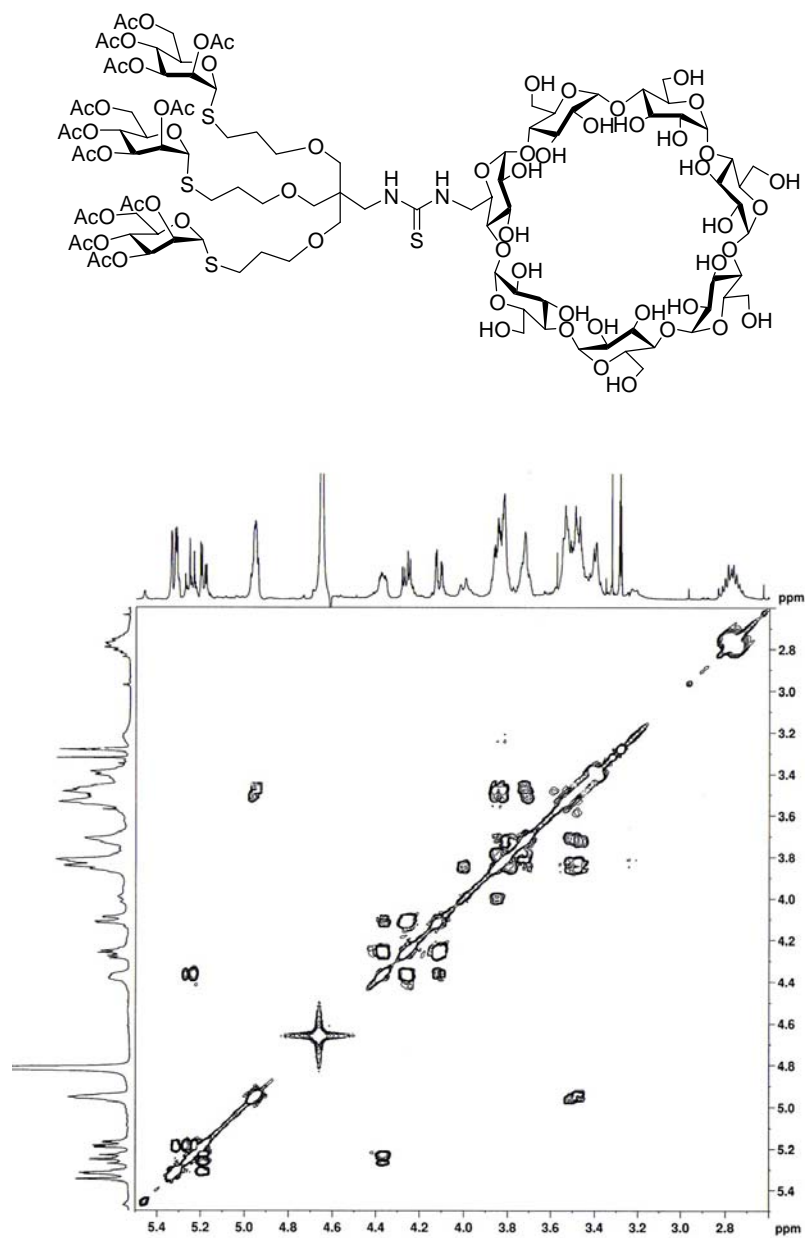


Figura 21. Espectro COSY (500 MHz, CD₃OD, 313 K) del compuesto **52**.

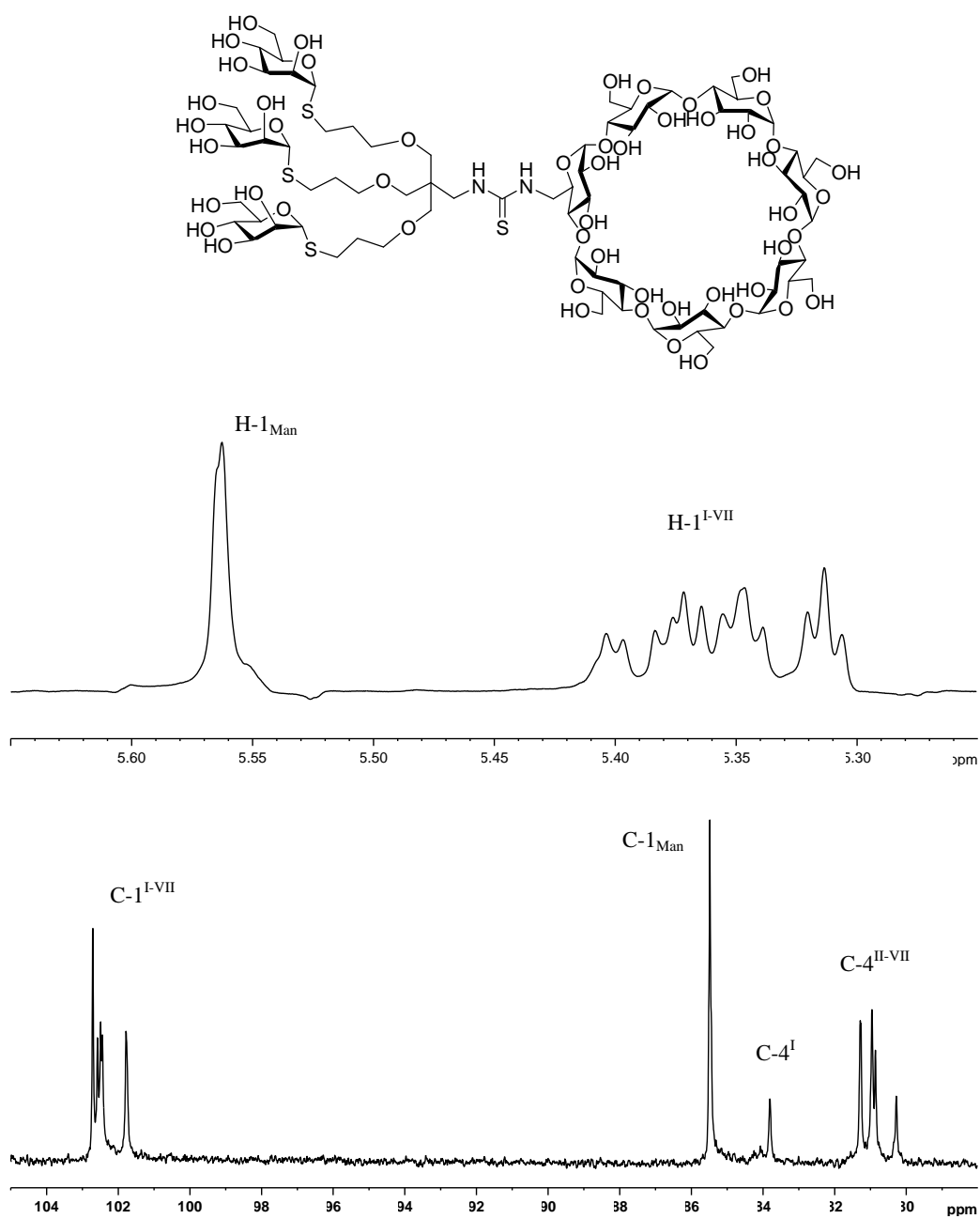


Figura 22. Espectros de ^1H (500 MHz, D_2O , 333 K) y ^{13}C (125.7 MHz, D_2O , 333 K) del compuesto **53**.

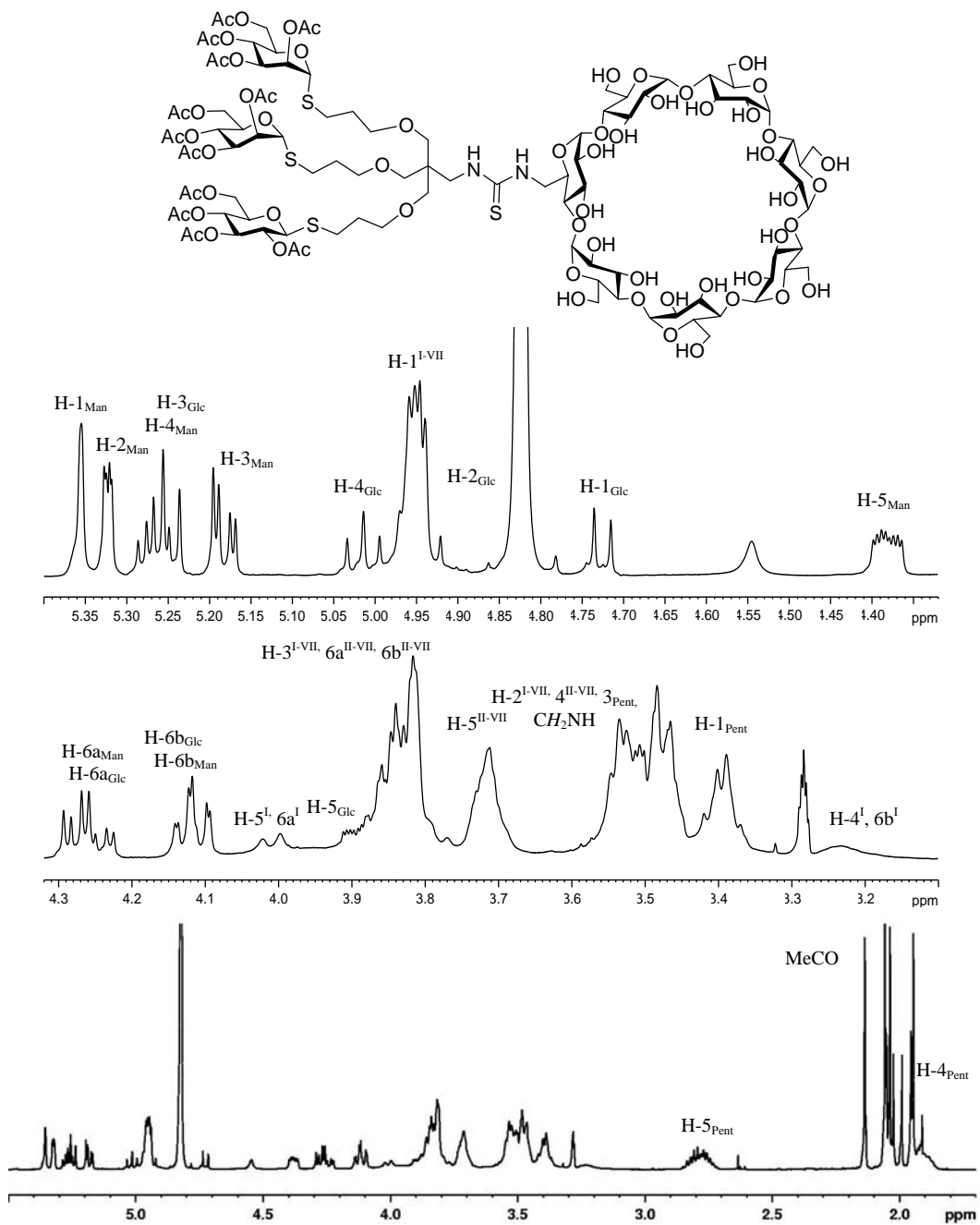


Figura 23. Espectro de ^1H RMN (125.7 MHz, CD_3OD) del compuesto **60**.

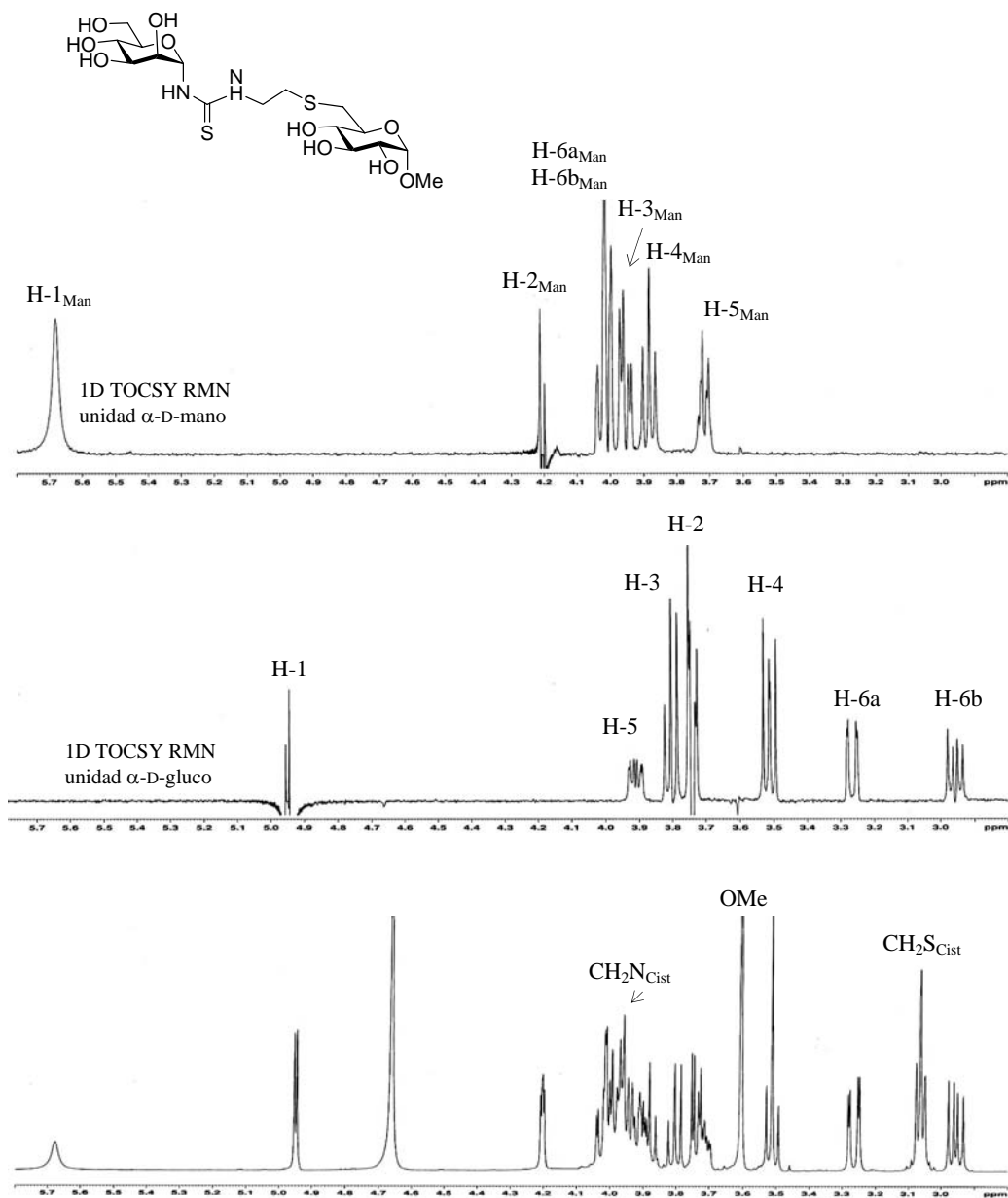


Figura 24. Espectros de ^1H RMN y 1D TOCSY (500 MHz, D_2O , 323 K) del compuesto **68**.

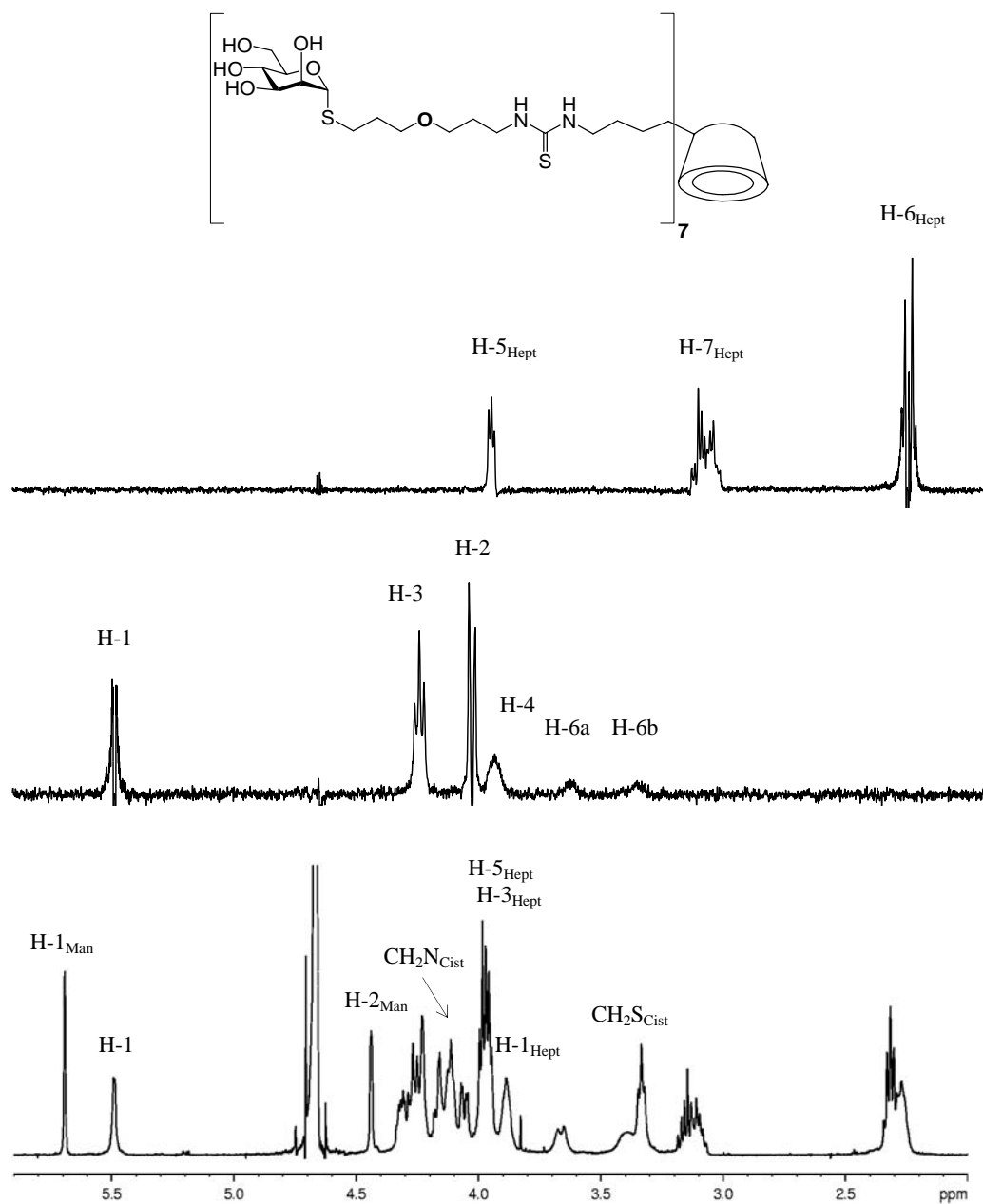


Figura 25. Espectros de ^1H RMN y 1D TOCSY (500 MHz, D_2O , 343 K) del compuesto 77.

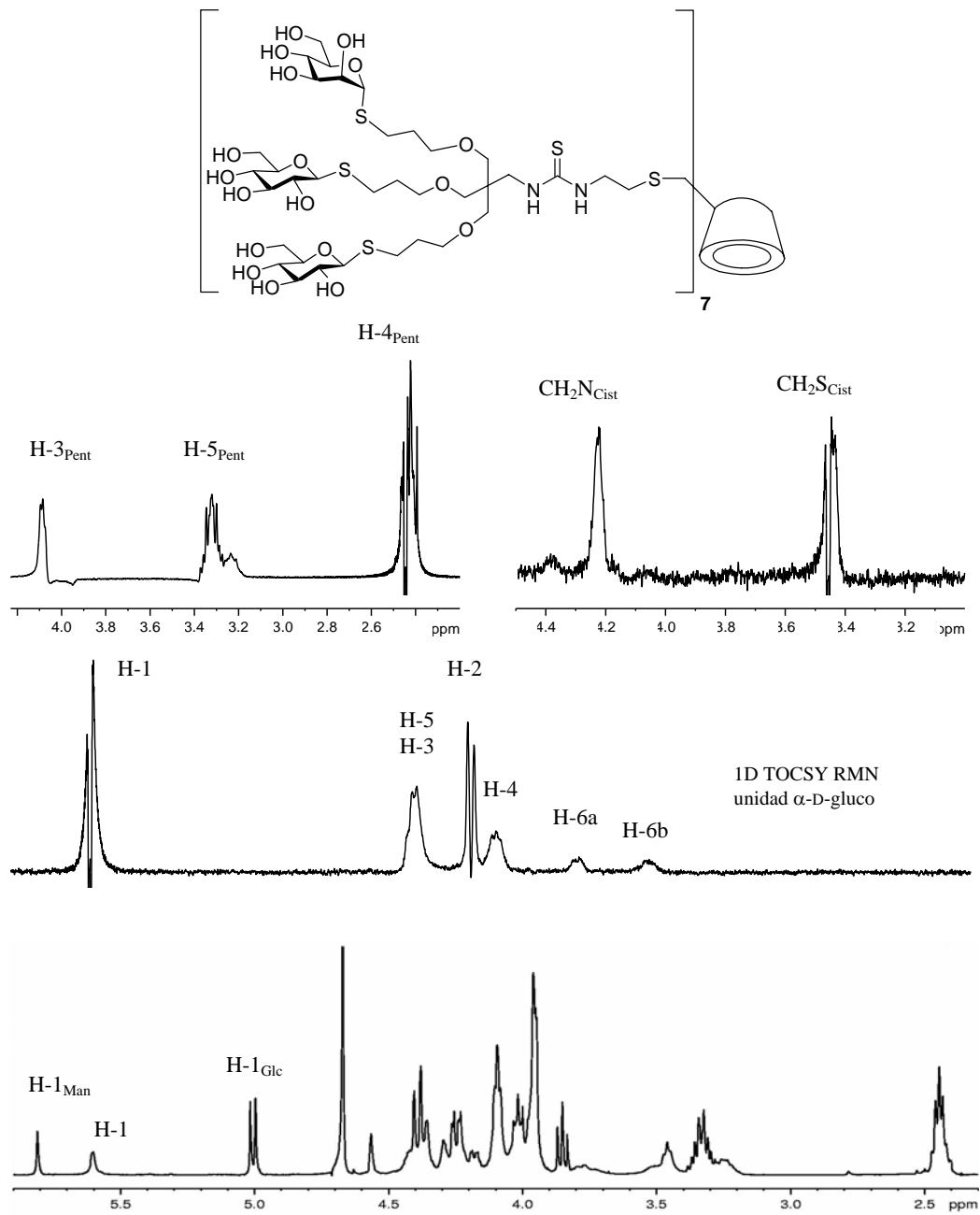


Figura 26. Espectros de ^1H RMN y 1D TOCSY RMN (500 MHz, D_2O , 353 K) del compuesto **95**.

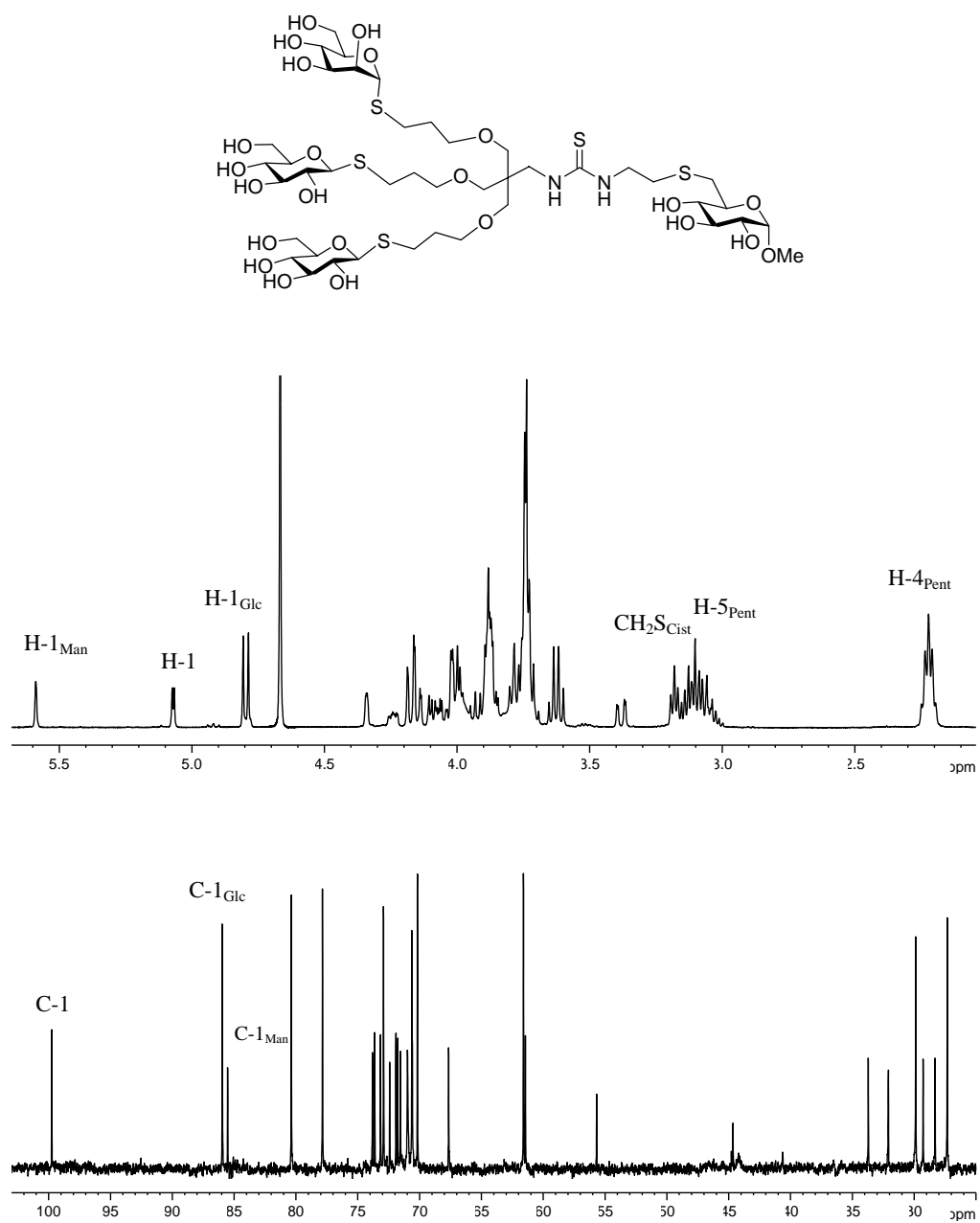


Figura 27. Espectros de ^1H (500 MHz, D₂O, 333K) y ^{13}C RMN (125.7 MHz, D₂O, 333 K) del compuesto 97.

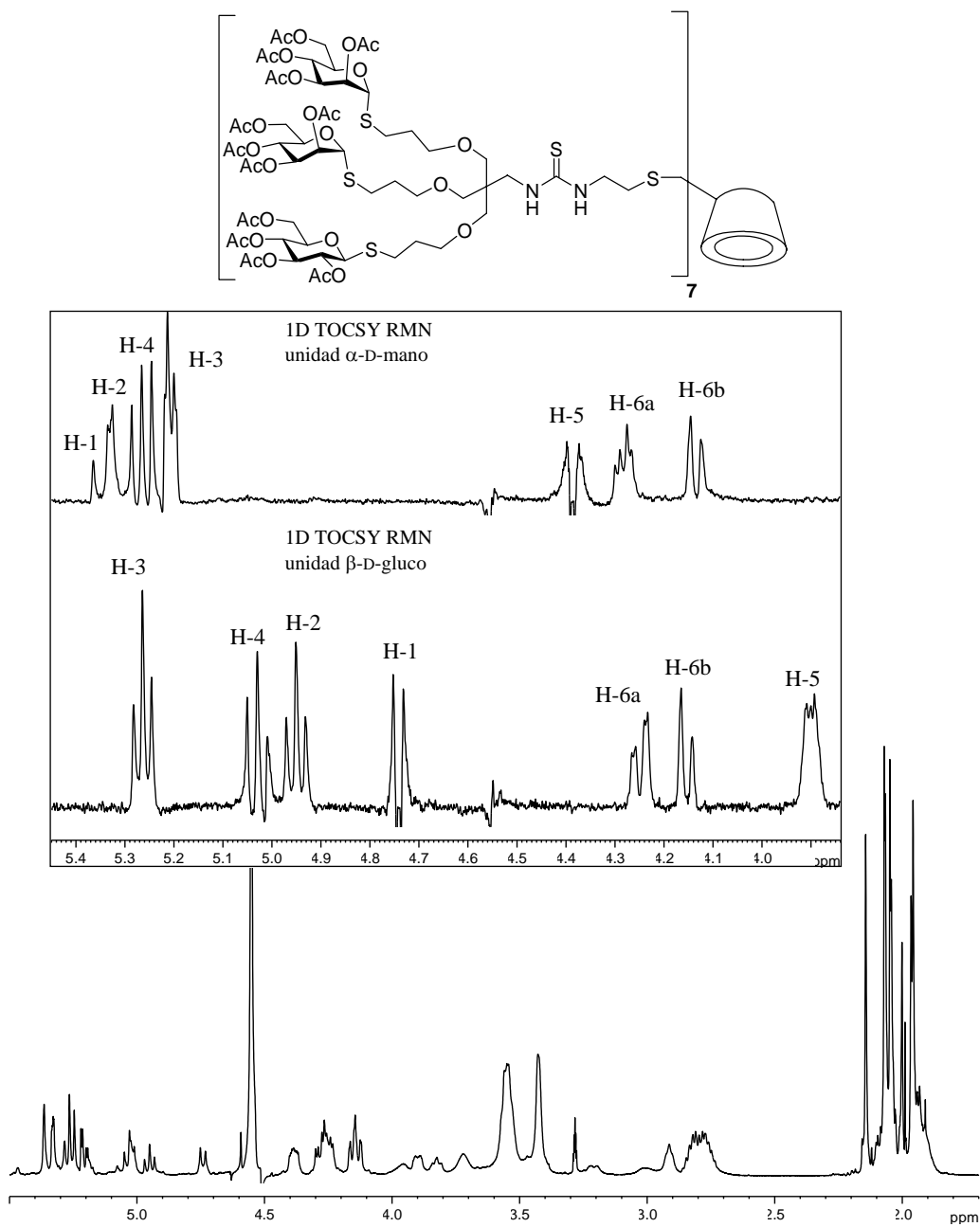


Figura 28. Espectros de ¹H RMN y 1D TOCSY (500 MHz, CD₃OD, 323 K) del compuesto **98**.

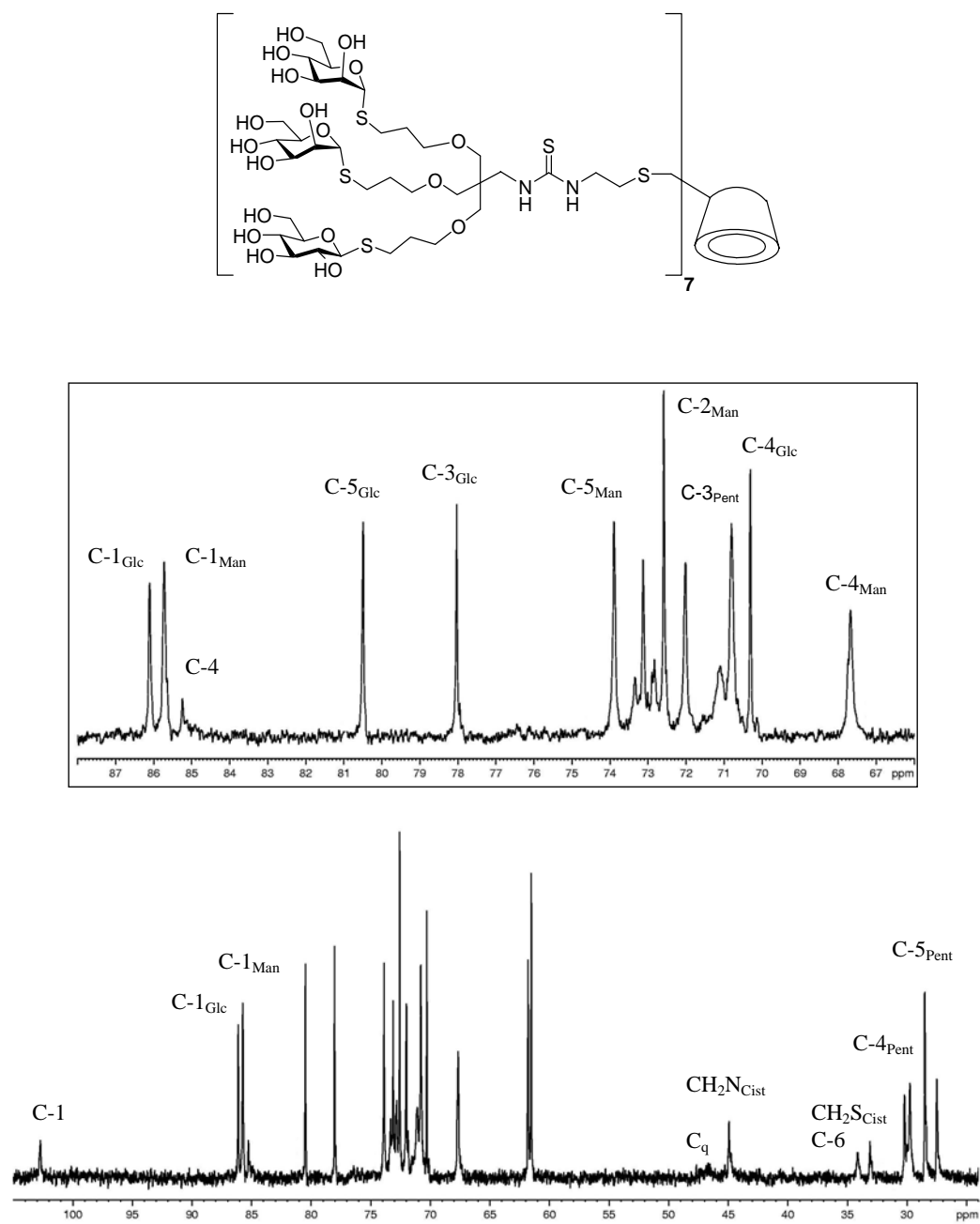


Figura 29. Espectro de ^{13}C RMN (125.7 MHz, D_2O , 353 K) del compuesto **99**.

