

X/840

UNIVERSIDAD DE SEVILLA
NEGOCIADO DE TESIS

Queda registrado este Título de Doctor al
folio.....15..... número.....199..... del libro
correspondiente.

24 MAYO 2001

Sevilla,.....



El Jefe del Negociado.

[Handwritten signature]

Facultad de Química
Departamento de Química Orgánica
Universidad de Sevilla

b1553325
i19037867

**Diseño y Síntesis de Receptores Derivados de Carbohidratos:
Ciclodextrinas Multivalentes, Podandos y Ciclotrehalinas.
Evaluación de su Capacidad de Complejación y
Reconocimiento por Lectinas.**

[Handwritten signature]

JUAN MANUEL BENITO HERNÁNDEZ

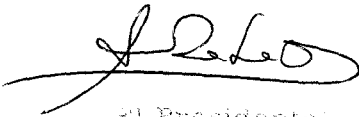
Sevilla 2001

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

Reunido el Tribunal integrado por los abajo firmantes
el día de la fecha, para juzgar la Tesis Doctoral de
D. Juan Manuel Benito Hernández
título Diseño y Síntesis de Receptos Derivados de
Carbohidratos; Ciclodextrinas Multivalentes, Podandos
y Ciclotetrahinas. Evaluación de su Capacidad
se acordó otorgarle la calificación de Sobresaliente cum laude
por unanimidad

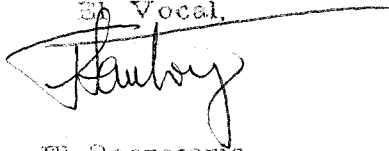
Sevilla, 26 de octubre 2001

El Vocal.



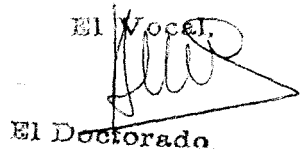
El Presidente

El Vocal.

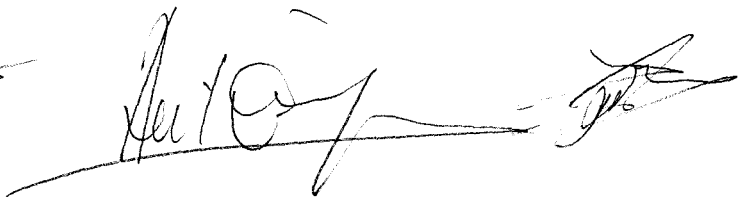


El Secretario.

El Vocal.



El Doctorado.





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

**Diseño y Síntesis de Receptores Derivados de Carbohidratos:
Ciclodextrinas Multivalentes, Podandos y Ciclotrehalinas.
Evaluación de su Capacidad de Complejación y
Reconocimiento por Lectinas.**

Vº Bº de los directores

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Carmen Ortiz Mellet'.

Fdo.: Carmen Ortiz Mellet
Profesora Titular de Química Orgánica

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'José Manuel García Fernández'.

Fdo.: José Manuel García Fernández
Científico Titular del C.S.I.C.

Deseo expresar mi agradecimiento:

A mis directores y amigos, Dra. Carmen Ortiz Mellet y Dr. José Manuel García Fernández, sin los que nunca habría podido hacer esta Tesis, por todo el tiempo que me han dedicado durante estos años, por el cariño que me han mostrado y por lo satisfecho que me han hecho sentir con este trabajo.

A mis compañeros del Laboratorio 3, Víctor, José Luis, Marta, Paula, David y ahora también Puri y Carlos, y por extensión al resto de doctorandos del Departamento, por su colaboración y amistad dentro y fuera de la Facultad.

Por supuesto, a Maribel, que siempre me ha ayudado en todo este tiempo con el mayor entusiasmo y alegría. Desde luego el Laboratorio 3 sin ella no sería tan habitable y entretenido.

Al Profesor Jacques Defaye, por ser un ejemplo para mí incluso cuando apenas le conocía, y a la Dra. Isabelle Baussanne por su colaboración.

Al Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis (CSIC-Universidad de Sevilla) por las facilidades dadas para el uso del lector de placas ELISA.

A los servicios de Microanálisis, Espectrometría de Masas y Resonancia Magnética Nuclear (CSIC-Universidad de Sevilla).

Finalmente, a mis padres, hermanos y amigos en general por su apoyo incondicional.

Esta Tesis ha sido realizada gracias al contrato obtenido del proyecto 1FD97-0893-C03-0 (FEDER) y a la financiación del proyecto HF1999-0078 (M.E.C.).

Notas.

Las “Figuras” apoyan la discusión de los resultados y están intercaladas en el texto.

Las “Figuras” corresponden a los espectros de RMN (y EM o cromatografía HPLC, eventualmente) y se recogen al final de cada apartado.

Abreviaturas.

Ac: acetilo.

Az: azúcar.

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

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-dihydroibenzoico.

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

DMF: *N,N*-dimetilformamida.

DMSO: dimetilsulfóxido.

ELLA: Enzyme Linked Lectin Assay.

EM(FAB): espectrometría de masas (bombardeo con átomos rápidos).

EM(MALDI): espectrometría de masas (desorción/ionización con laser asistida por matriz).

EM(ESI): espectrometría de masas (ionización por electrospray).

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

HPLC: cromatografía líquida de alta resolución.

IR: espectroscopía infrarroja.

m/z: relación masa/carga.

Me: metilo.

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.

TfOTMS: triflato de trimetilsililo.

TFA: ácido trifluoroacético.

TPP: trifenilfosfina.

TOCSY: Totally Correlated Spectroscopy.

ÍNDICE GENERAL.

1. INTRODUCCIÓN.	1
2. NEOGLICOCONJUGADOS DERIVADOS DE CICLODEXTRINAS.	23
2.1. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS.	27
2.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	41
2.2.1. Ciclodextrinas multivalentes.	41
2.2.2. Estabilidad de manopiranosiltiureas.	59
2.2.3. Conjugados de tipo manosa—(tiourea)—β-CD.	69
2.2.4. Ciclodextrinas dendríticas.	83
3. RECEPTORES MIXTOS CARBOHIDRATO-TIOUREA.	105
3.1. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS.	108
3.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	117
3.2.1. Receptores bidentados.	117
3.2.2. Receptores multitópicos.	129
3.2.3. Ciclotrehalinas.	147
4. PARTE EXPERIMENTAL.	161
4.1. MÉTODOS GENERALES.	163

4.2. SUSTANCIAS DE PARTIDA.

171

- 4.2.1. Preparación de 6^l-desoxi-6^l-isotiocianatociclomaltoheptaosa.
- 4.2.2. Preparación de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-β-D-manopiranosil isotiocianato.
- 4.2.3. Preparación de tris(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-α-D-manopiranosiloximetil)-metilamina.
- 4.2.4. Preparación de metil 2,3,4-tri-*O*-acetil-6,7-didesoxi-7-isotiocianato-α-D-*gluco*-heptopiranosido.
- 4.2.5. Preparación del hidrocloreuro de metil 2,3,4-tri-*O*-acetil-7-amino-6,7-didesoxi-α-D-*gluco*-heptopiranosido.

4.3. NUEVOS PRODUCTOS.

185

- 4.3.1. Preparación de metil 6-desoxi-6-[3-glicopiranosiltioureido]-α-D-*gluco*-piranosidos.
- 4.3.2. Preparación de 6^l-desoxi-6^l-[3-glicopiranosil(metil)(fenil)tioureido]-ciclomaltoheptaosas.
- 4.3.3. Preparación de heptaquis[6-desoxi-6-[3-glicopiranosil(metil)(fenil)]-tioureido]ciclomaltoheptaosas.
- 4.3.4. Preparación de pseudodisacáridos de tipo manosa—(1→6)—glucosa con puentes de tiourea.
- 4.3.5. Preparación de etil y bencil α- y β-D-manopiranosiltioureas.
- 4.3.6. Preparación de pseudodisacáridos de tipo manosa—(6→6)—glucosa con puentes de tiourea.
- 4.3.7. Preparación de conjugados monovalentes de tipo manosa—(tiourea)—β-CD.

- 4.3.8. Preparación de conjugados heptavalentes de tipo manosa—(tiourea)— β -CD.
- 4.3.9. Tris(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-manopiranosiloximetil)metilisotiocianato.
- 4.3.10. Preparación de espaciadores y elementos de ramificación.
- 4.3.11. Preparación de estructuras dendríticas manosiladas.
- 4.3.12. Preparación de conjugados de tipo β -CD—espaciador—elemento de ramificación y modelos.
- 4.3.13. Preparación de conjugados dendríticos manosilados divalentes.
- 4.3.14. Preparación de conjugados dendríticos manosilados trivalentes.
- 4.3.15. Preparación de conjugados dendríticos manosilados tetravalentes.
- 4.3.16. Preparación de conjugados dendríticos manosilados hexavalentes.
- 4.3.17. Preparación de receptores bidentados a partir de glicosilisotiocianatos.
- 4.3.18. Preparación de receptores bidentados a partir de desoxiisotiocianato azúcares.
- 4.3.19. Preparación de podandos multitópicos de tipo glicosiltiourea—xileno.
- 4.3.20. Preparación de receptores cíclicos mixtos trehalosa-tiourea (ciclotrehalinas).

5. CONCLUSIONES. 269

6. BIBLIOGRAFÍA. 275

1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN.

Las células presentan en su superficie oligosacáridos ramificados unidos de modo covalente a lípidos (glicolípidos) o proteínas (glicoproteínas). La porción glucídica de estos glicoconjugados codifica una información biológica específica determinada por su estructura tridimensional que puede ser reconocida por proteínas llamadas lectinas. Las interacciones entre los carbohidratos y las lectinas son de importancia fundamental para la comunicación celular. Están relacionadas con procesos biológicos 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 huésped potenciales [1].

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 macromolecular como atómico.

Las interacciones carbohidrato-proteína, en contraste con las interacciones proteína-proteína, presentan constantes de afinidad débiles en el rango milimolar o incluso micromolar y, en general, requieren la existencia de numerosos contactos entre carbohidratos que se encuentran agrupados en la superficie celular (“clusters”) y receptores protéicos que contienen múltiples regiones de reconocimiento (“carbohydrate recognition domains; CRDs”) para alcanzar afinidades biológicamente útiles. Esta situación da lugar a la aparición de fuerzas asociativas cooperativas que conducen a afinidades superiores a las que serían predecibles de la suma de las interacciones individuales. La importancia de este fenómeno, conocido como “efecto cluster”, fue puesta de manifiesto por primera vez por Y. C. Lee en sus trabajos sobre el receptor Gal/GalNAc de la asialoglicoproteína de las células del hígado [2]. Utilizando neoglicoconjugados sintéticos, demostró que un aumento lineal en el número de los motivos de reconocimiento monosacáridicos conducía a un incremento logarítmico en la

eficacia de la asociación. Desde entonces el diseño y la síntesis de nuevos neoglicoconjugados multivalentes capaces de interferir con los procesos de reconocimiento carbohidrato-proteína a nivel celular es un campo muy activo en glicobiología [3] con aplicaciones en la preparación de vacunas, inmunomoduladores, antiinflamatorios, agentes para inmunodiagnos, transportadores de medicamentos dirigidos a células específicas, soportes de afinidad, inhibidores de la adhesión celular y bacteriana y sondas utilizadas en radioimagen.

Los carbohidratos difieren de las otras clases de biomoléculas en el amplísimo repertorio estructural que puede generarse a partir de un número reducido de sus elementos constituyentes (monosacáridos), lo que les hace especialmente adecuados para la transferencia de información biológica [4]. Para que la transmisión de esta información sea eficaz, el proceso de reconocimiento por receptores específicos debe tener un alto grado de precisión. El estudio de cómo los carbohidratos son reconocidos por lectinas y de cuáles son los factores que determinan la especificidad y la afinidad de la asociación a nivel atómico es, consecuentemente, un tema de gran interés. Las informaciones más detalladas de que se dispone en este sentido proceden del estudio por difracción de rayos X de cristales de complejos de lectinas y carbohidratos [5]. Estos trabajos ponen de manifiesto la existencia simultánea de interacciones por enlace de hidrógeno y fuerzas de van der Waals, incluyendo interacciones entre caras hidrófobas del azúcar y aminoácidos aromáticos. La espectroscopía de RMN ha permitido ampliar esta información a sistemas en disolución [6].

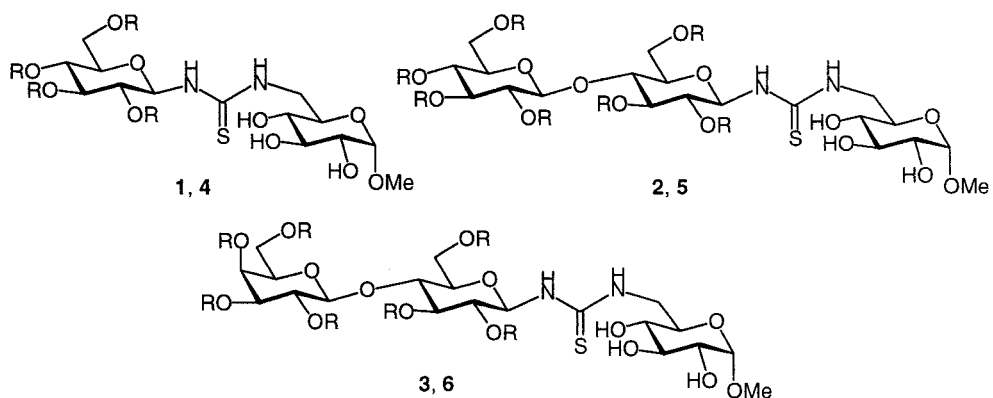
En cualquier caso, los sistemas naturales resultan demasiado complejos para permitir extraer conclusiones sobre aspectos tales como la importancia relativa de los diferentes tipos de interacciones implicadas en el reconocimiento de carbohidratos o la identificación de motivos individuales de reconocimiento. Estas cuestiones se han abordado mediante el uso de receptores más sencillos que permitan estudiar las interacciones supramoleculares entre carbohidratos y moléculas orgánicas simples. Las ciclodextrinas (CDs), ciclooligosacáridos formados por unidades de glucosa unidas

mediante enlaces glicosídicos $\alpha(1\rightarrow4)$, han desempeñado un papel fundamental en este sentido [7]. Los derivados que incorporan 6, 7 y 8 unidades de glucopiranosilo (α , β y γ -CD, respectivamente), son comercialmente asequibles y presentan una estructura tridimensional troncocónica toroidal, con una cavidad relativamente hidrófoba que permite la formación de complejos de inclusión con moléculas apolares en disolución acuosa. Su estructura ha inspirado el diseño y la síntesis de otros oligosacáridos como receptores artificiales para el estudio de interacciones supramoleculares [8]. Alternativamente se han desarrollado receptores basados en estructuras aromáticas y peptídicas capaces de reconocer azúcares mediante enlaces no covalentes [9]. Además de proporcionar información fundamental sobre los procesos de reconocimiento biológico, estos trabajos han desembocado en el desarrollo de nuevos biosensores, fármacos y sistemas de transporte.

Los objetivos planteados en esta Tesis se enmarcan en este contexto general y persiguen, por un parte, profundizar en el conocimiento de las interacciones supramoleculares que implican carbohidratos y, por otra, combinar la posibilidad de interacción de estas biomoléculas con receptores celulares y con otras moléculas orgánicas en el diseño de sistemas de transporte específico de fármacos. En la primera parte de esta memoria se recogen los resultados relativos a la síntesis de neoglicoconjugados multivalentes derivados de la β -ciclodextrina, la determinación preliminar de su poder de solubilización de fármacos usando el anticanceroso Taxotère® como referencia y la evaluación de la capacidad de reconocimiento por una lectina específica (concanavalina A, Con A) para el caso de los conjugados que incorporan ligandos derivados de manosa como marcador celular. En la segunda parte se describe la preparación de receptores artificiales de tipo podando que incorporan carbohidratos diseñados para el estudio de interacciones por enlace de hidrógeno, la influencia de los aspectos estructurales y conformacionales en su asociación con ligandos aceptores de tipo carboxilato y monosacárido y la síntesis de una nueva familia de ciclooligosacáridos (ciclotrehalinas) adecuados para el estudio de interacciones en medio acuoso.

En concreto, las estructuras de los compuestos que se describen en esta Tesis son:

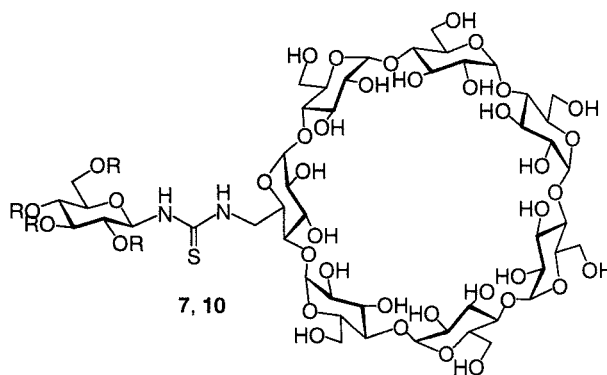
Metil 6-desoxi-6-glicopiranosiltiureido- α -D-glicopiranosidos.

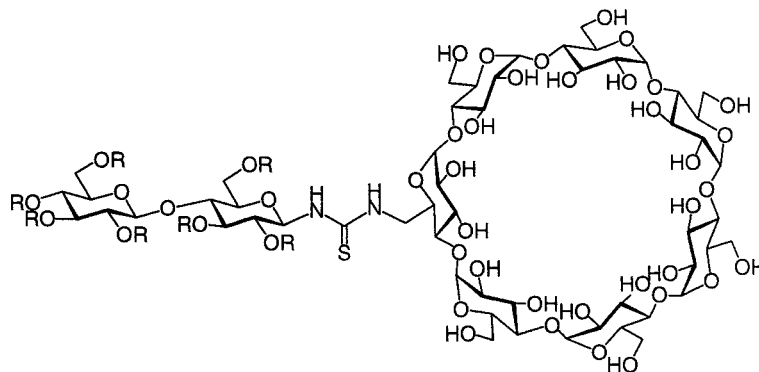


1-3, R = Ac

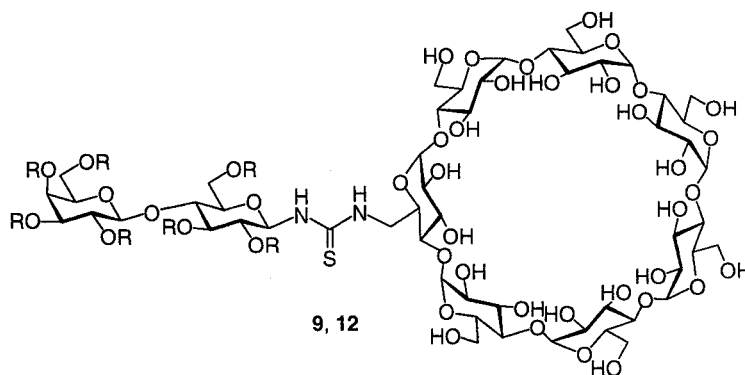
4-6, R = H

6¹-Desoxi-6¹-[3-glicopiranosil(metil)(fenil)tiureido]ciclomaltoheptaosas.





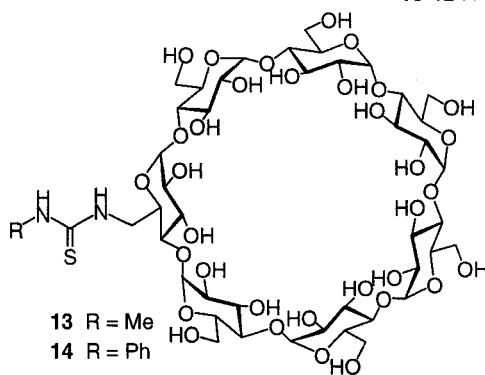
8, 11



9, 12

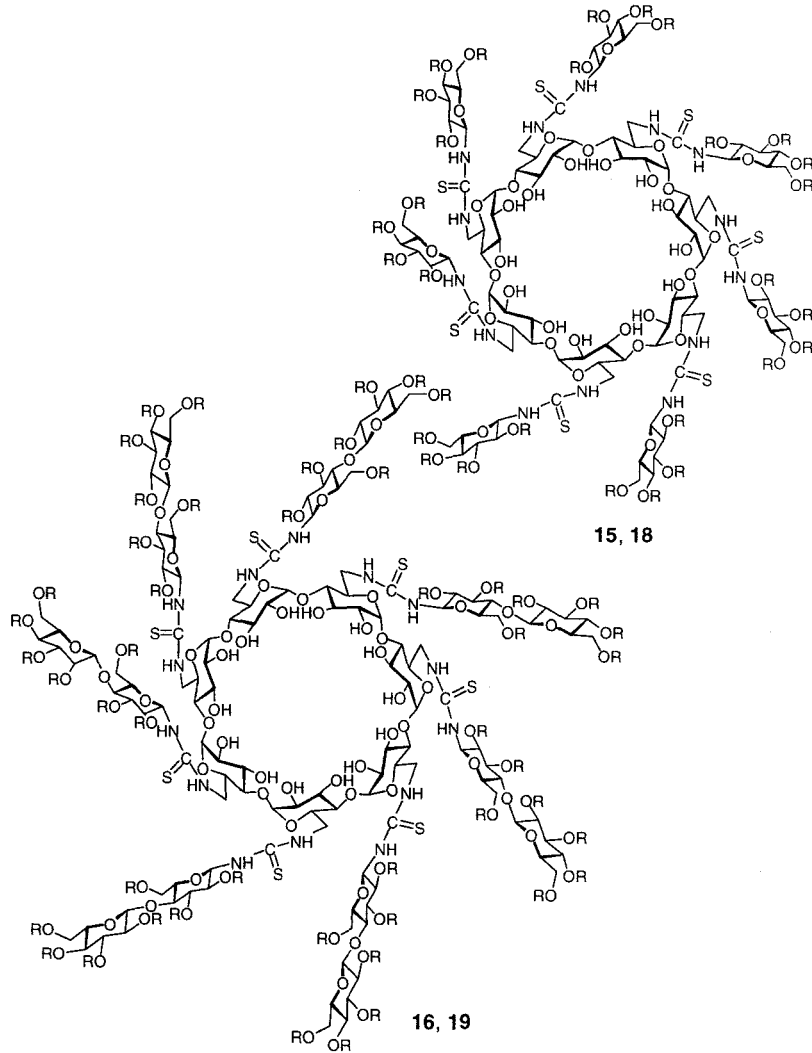
7-9 R = Ac

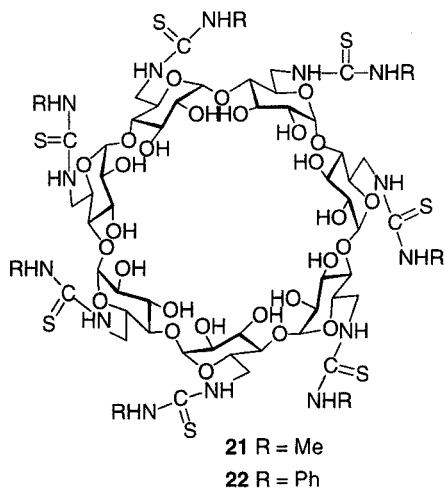
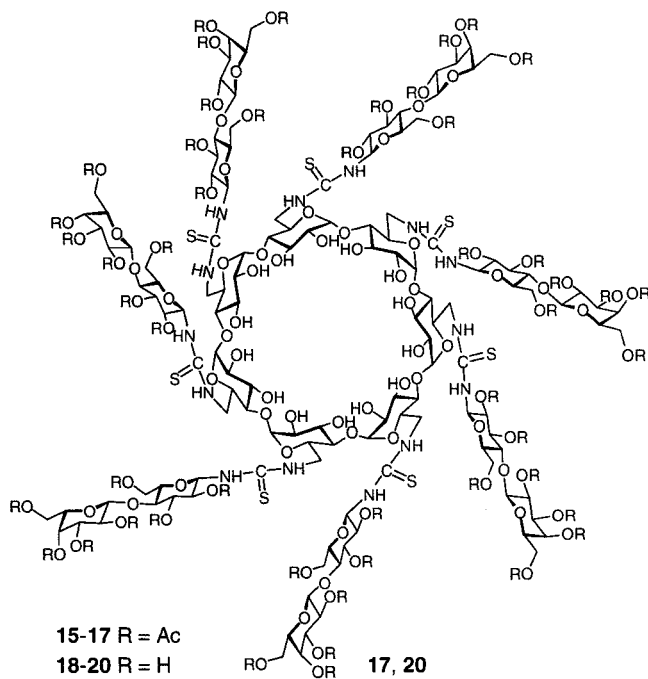
10-12 R = H

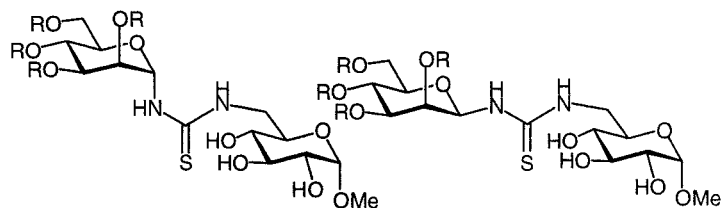


13 R = Me

14 R = Ph

Heptaquis[6-desoxi-6-[3-glicopiranosil(metil)(fenil)]tiureido]



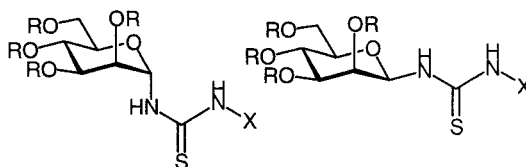
α -(β)-D-Manopiranosiltiureas.

23, 25

24, 26

23, 24 R = Ac

25, 26 R = H



27 X = Et, R = Ac

28 X = Et, R = Ac

29 X = Et, R = H

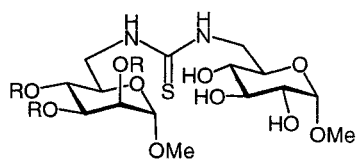
30 X = Et, R = H

31 X = Bn, R = Ac

32 X = Bn, R = Ac

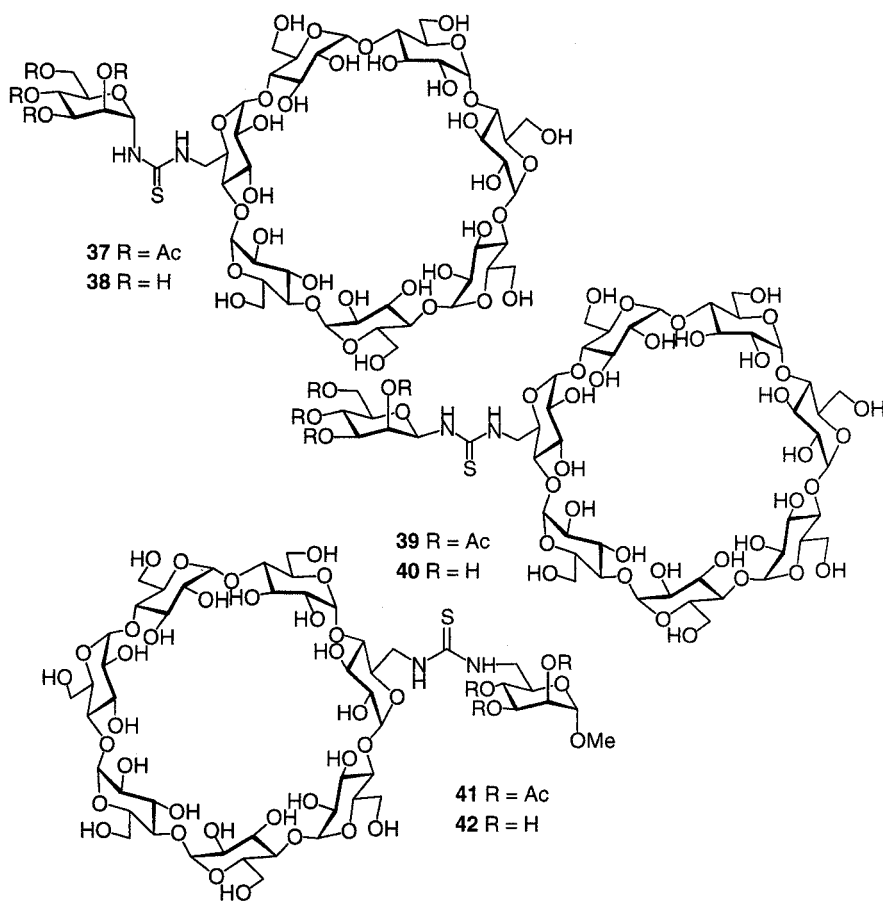
33 X = Bn, R = H

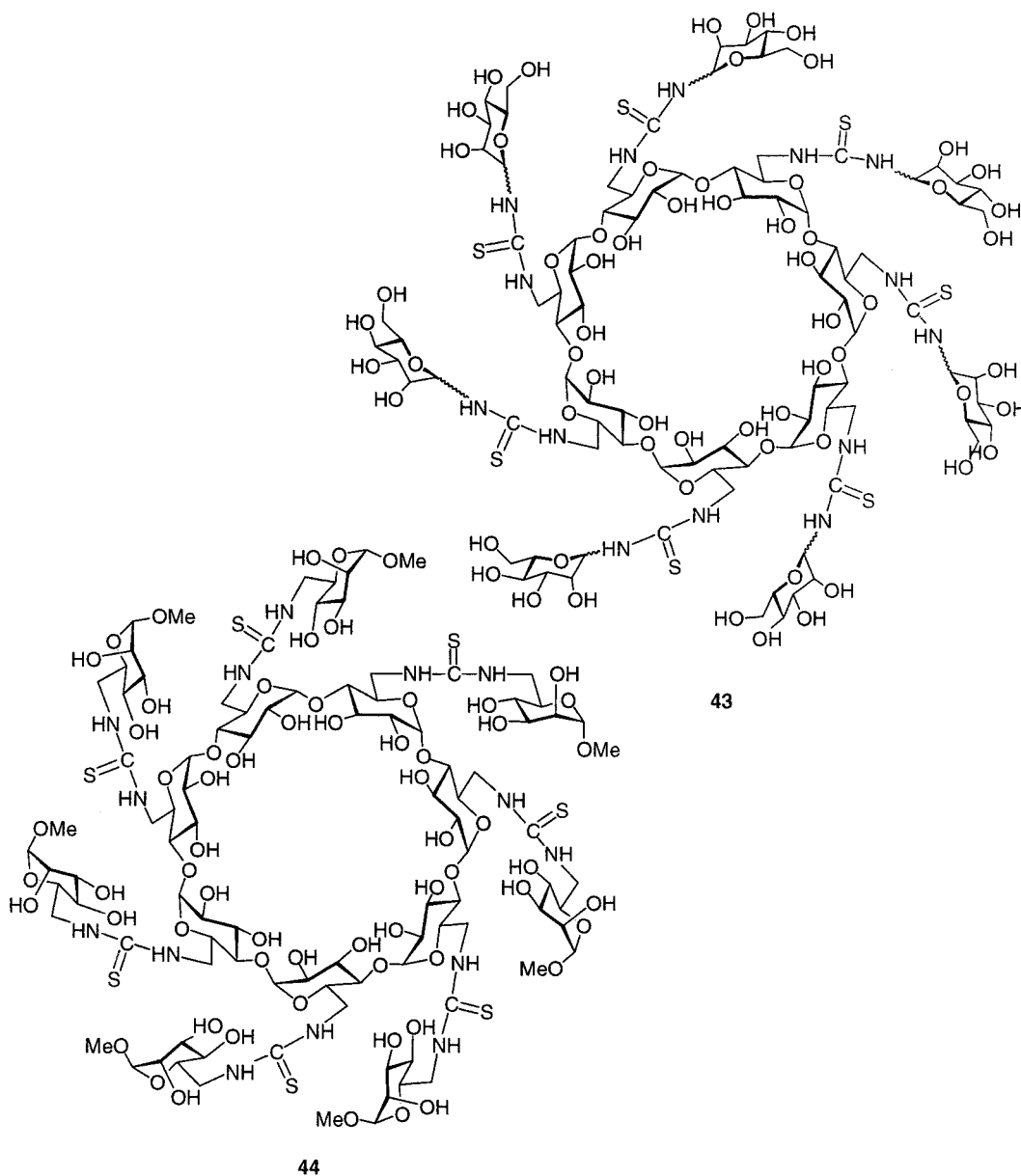
34 X = Bn, R = H



35 R = Ac

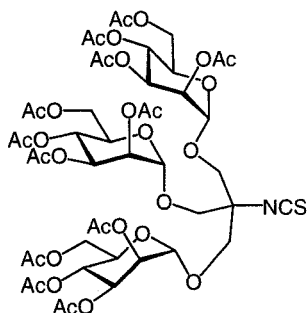
36 R = H

Conjugados monovalentes de tipo manosa—(tiourea)— β -CD.

Conjugados heptavalentes de tipo manosa—(tiourea)— β -CD.

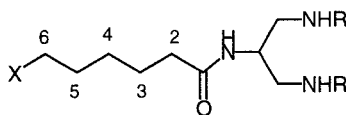
Ciclodextrinas dendríticas.

Marcador trimanosilado.



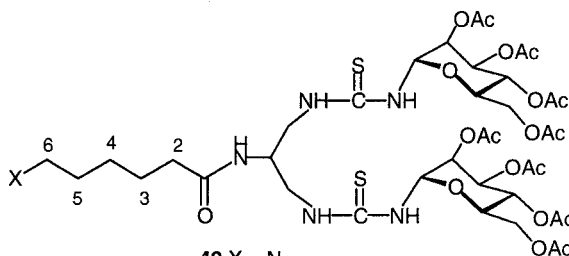
45

Espaciadores y elementos de ramificación.

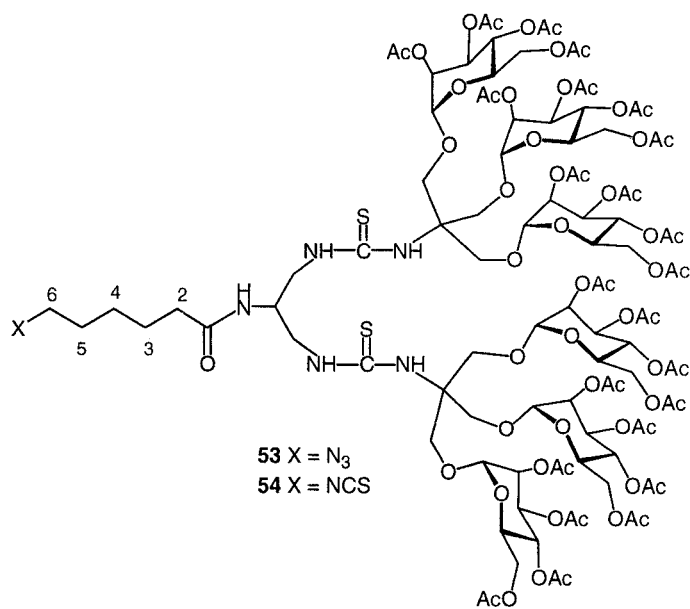
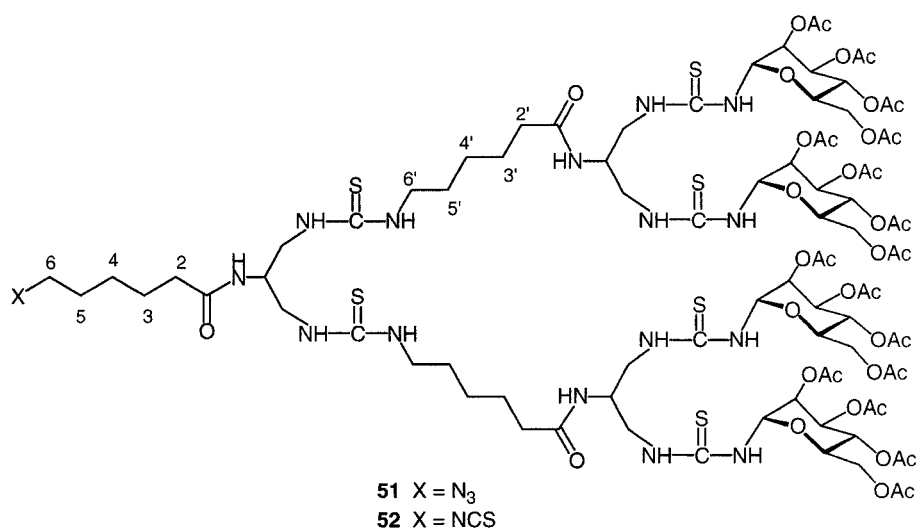
46 X = N₃, R = Boc47 X = N₃, R = H-TFA

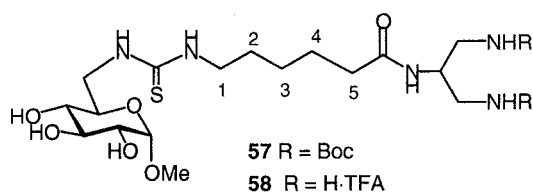
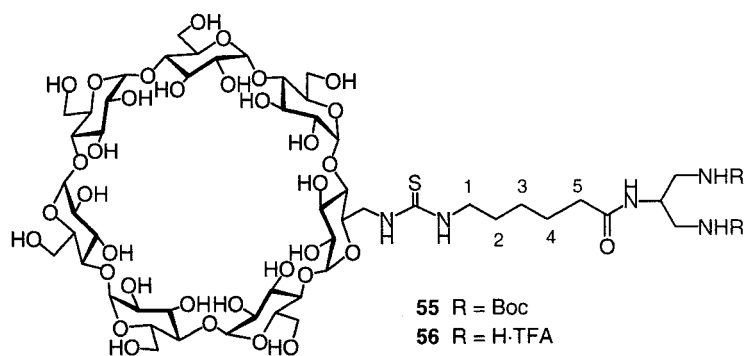
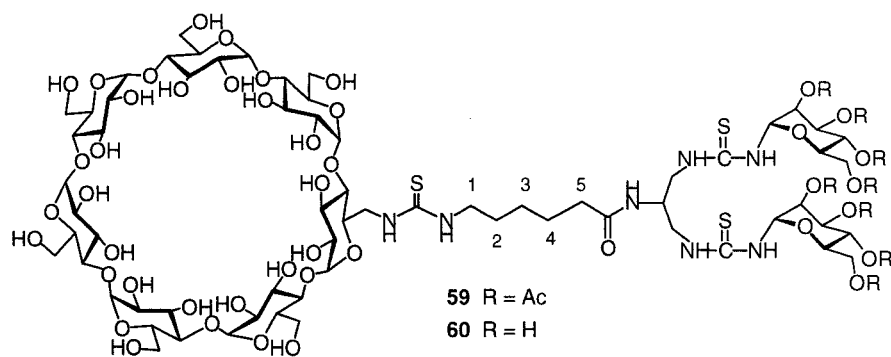
48 X = NCS, R = Boc

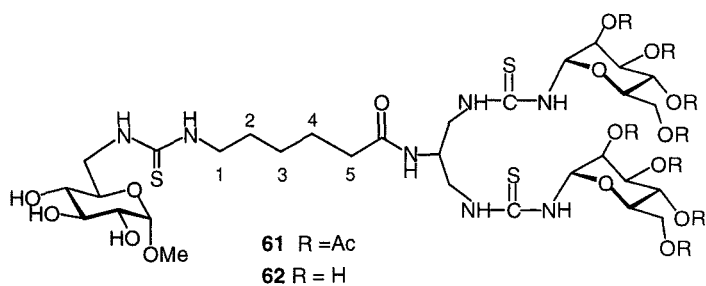
Estructuras dendríticas manosiladas.

49 X = N₃

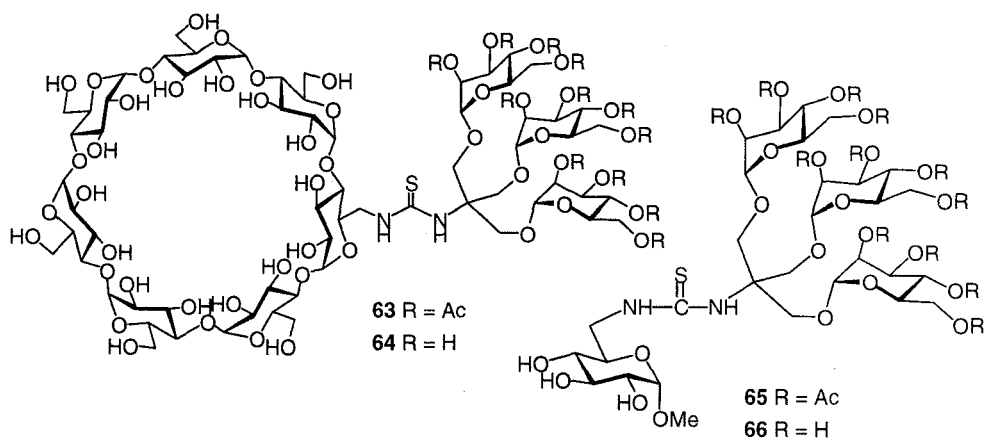
50 X = NCS



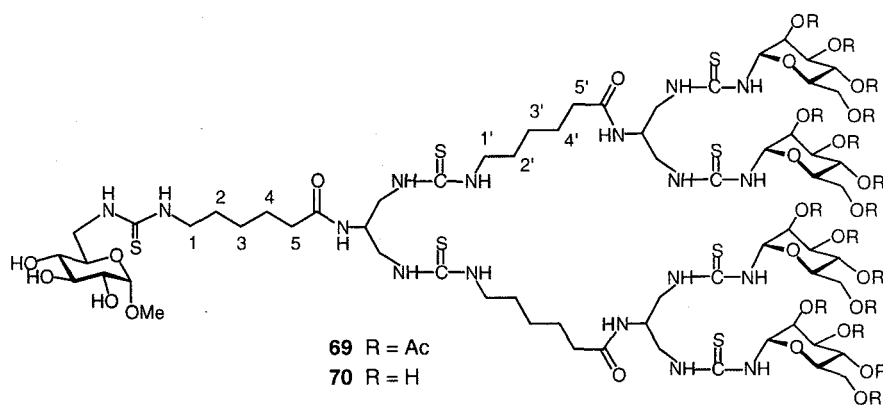
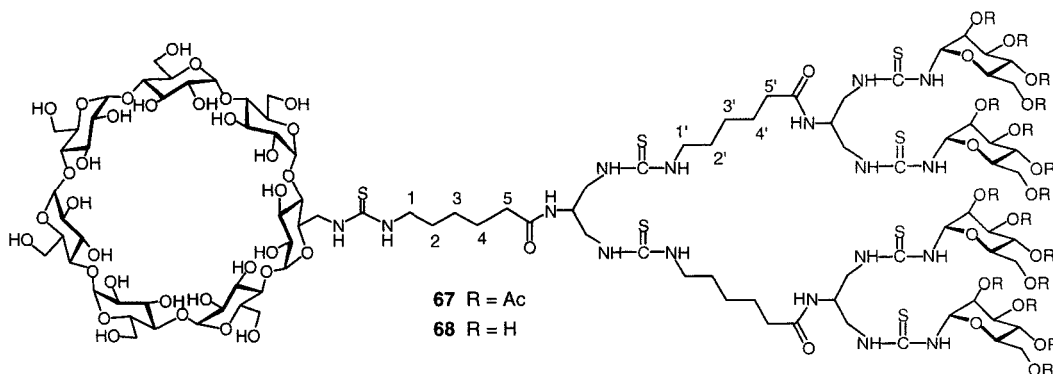
Conjugados de tipo β -CD—espaciador—elemento de ramificación y modelos.*Conjugados manosilados divalentes.*

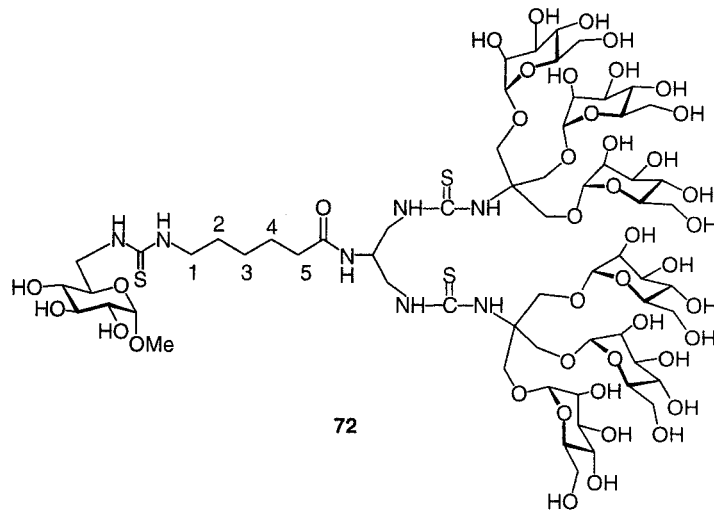
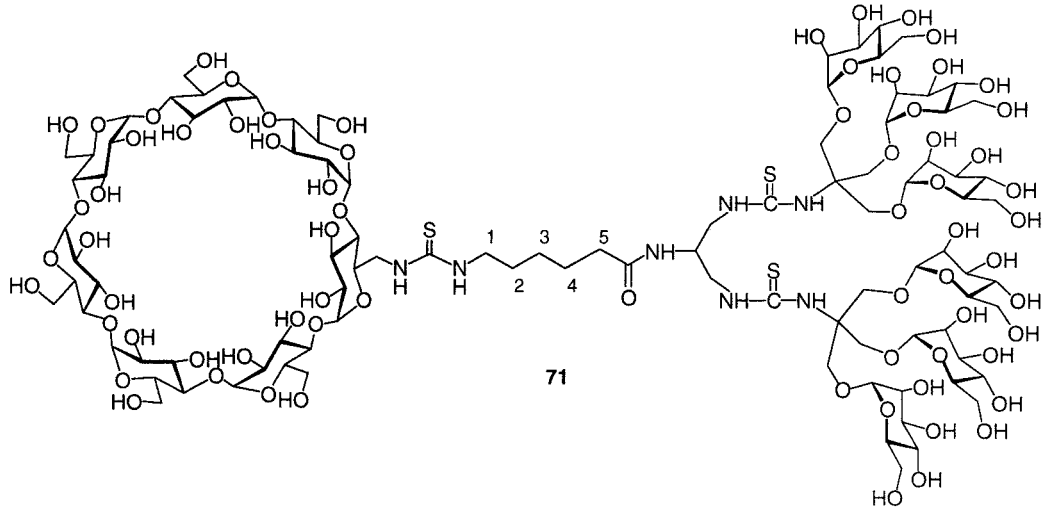


Conjugados manosilados trivalentes.

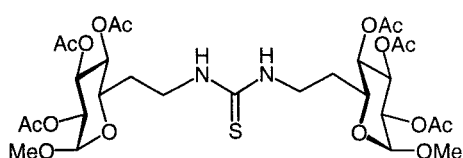
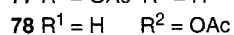
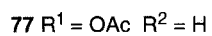
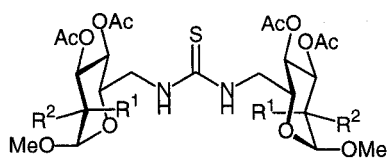
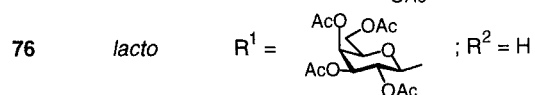
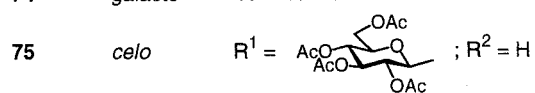
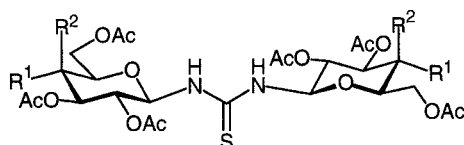


Conjugados manosilados tetravalentes.



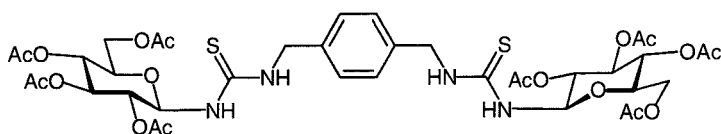
Conjugados manosilados hexavalentes.

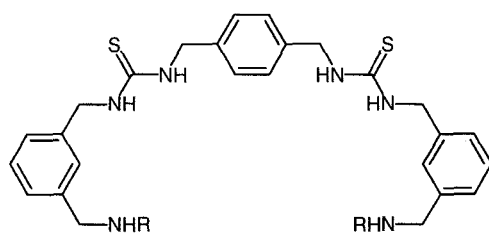
Receptores bidentados de tipo carbohidrato—tiourea.



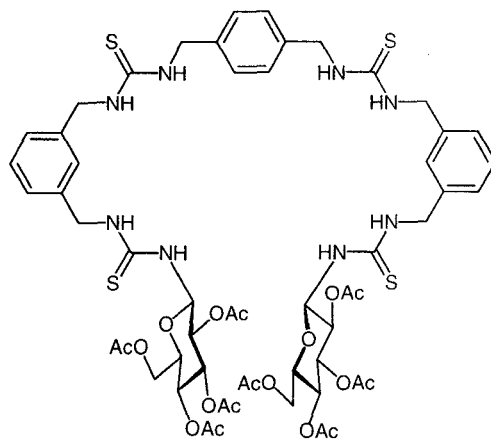
Receptores de tipo podando multitópicos.

Receptor tetradentado.

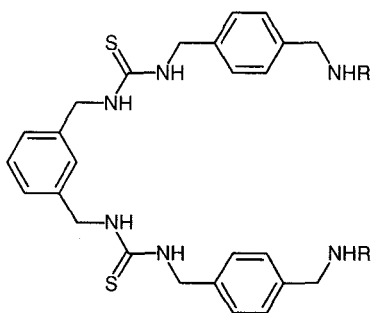


Receptores octadentados y precursores.

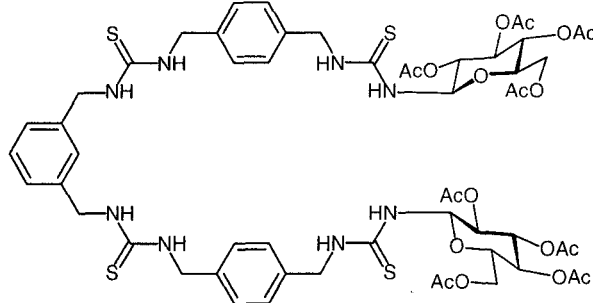
81 R = Boc
82 R = H



83

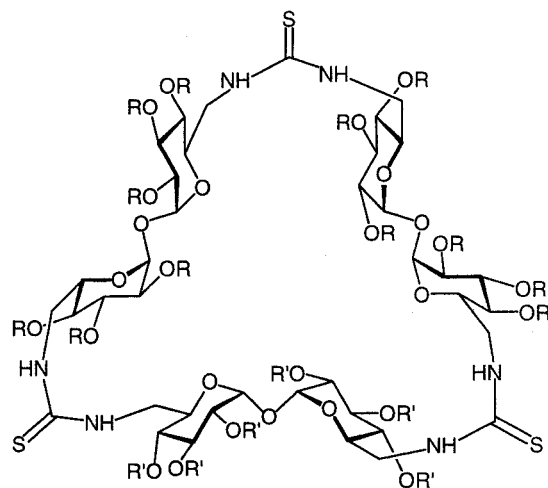
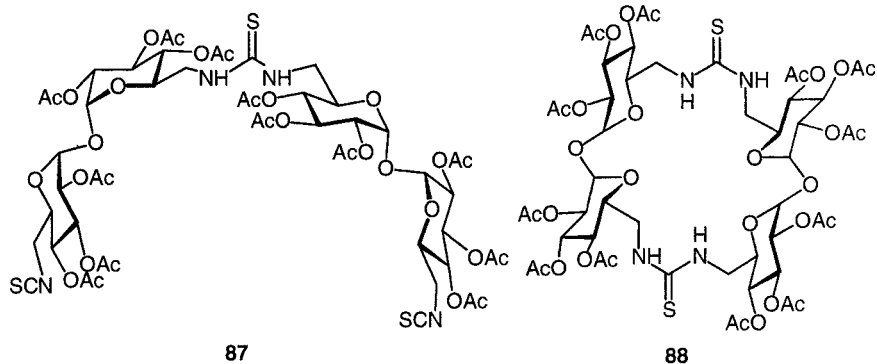


84 R = Boc
85 R = H



86

Macrociclos de tipo tiourea—trehalosa (ciclotrehalinas).

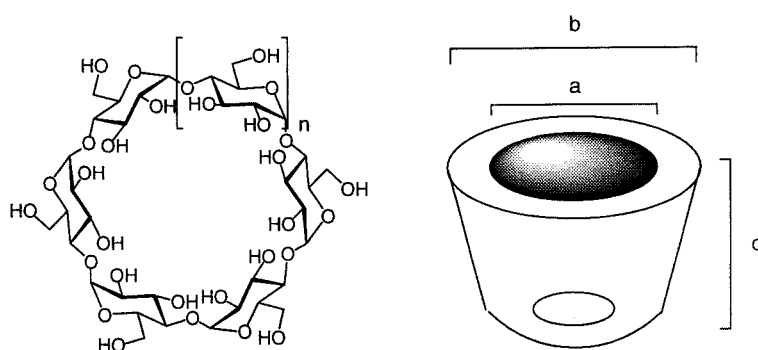


- 89 R = R' = Ac
 90 R = Ac, R' = TMS
 91 R = Ac, R' = H
 92 R = R' = H

2. NEOGLICOCONJUGADOS DERIVADOS DE CICLODEXTRINAS

2. NEOGLICOCONJUGADOS DERIVADOS DE CICLODEXTRINAS.

Con el término ciclodextrina (CD) se designa una familia de ciclomaltooligosacáridos obtenidos industrialmente por transformación microbiológica o enzimática del almidón. Las enzimas empleadas son glucosil transferasas (ciclodextrin glucosyl transferases, CGTasas) producidas por bacterias como *Bacillus macerans*, *Klebsiella oxytoca*, *Bacillus circulans* y *Alkalophylic bacillus* n° 38-2. Las CDs son oligosacáridos cíclicos cristalinos, no higroscópicos, constituídos por unidades de D-glucopiranosilo unidas por enlaces α -(1 \rightarrow 4) siendo las más importantes desde el punto de vista de sus aplicaciones las α -, β - y γ -ciclodextrinas con 6, 7 y 8 unidades de glucosa, respectivamente [7] (Figura 1).



Ciclodextrina	a (Å)	b (Å)	c (Å)
α -ciclodextrina (n = 1)	4.7-5.2	14.2-15.0	7.9-8.0
β -ciclodextrina (n = 2)	6.0-6.4	15.0-15.8	7.9-8.0
γ -ciclodextrina (n = 3)	7.5-8.3	17.1-17.9	7.9-8.0

Figura 1. Estructura y dimensiones de las ciclodextrinas.

Como consecuencia de la conformación 4C_1 de los anillos de glucopiranosos, todos los hidroxilos secundarios de las CDs se sitúan en uno de los bordes del macrociclo, mientras que los grupos hidroxilo primarios se disponen en el borde opuesto. El anillo macrocíclico tiene en realidad una estructura cilíndrica, o más exactamente troncocónica. La cavidad interna está tapizada por los átomos de hidrógeno unidos a los carbonos C-3 y C-5 y por los oxígenos interglucosídicos. Los pares de electrones no compartidos de estos últimos están dirigidos hacia el interior de la cavidad, proporcionándole un cierto carácter de base de Lewis. De esta estructura se deriva una de las propiedades más importantes de estos compuestos: su capacidad de formación de complejos de inclusión con moléculas hidrófobas de tamaño apropiado en medio acuoso. Esta capacidad de encapsulamiento es utilizada en numerosos procesos industriales de interés farmacéutico, tecnológico y analítico.

De todos estos campos, es probablemente el de las aplicaciones farmacológicas el que despierta mayores expectativas [10]. Las principales ventajas de las CDs en este sentido son:

- presentan una estructura bien definida.
- permiten modificaciones químicas selectivas sobre su superficie externa.
- existen diferentes tamaños de cavidad disponibles.
- poseen bajos índices de toxicidad y actividad farmacológica.
- modifican la solubilidad de la molécula huésped.
- pueden aumentar la biodisponibilidad y estabilidad del fármaco.

Por una serie de razones (precio, disponibilidad, dimensiones de la cavidad, etc) la β -CD es la más ampliamente utilizada. Sin embargo, su anormalmente baja solubilidad en agua (así como de sus complejos de inclusión), 18 g L^{-1} , supone un obstáculo importante. Además, presenta un cierto carácter hemolítico que limita su utilización en formulaciones para administración por vía parenteral. Para paliar estos inconvenientes se han preparado derivados tales como las CDs polihidroxialquiladas, sulfatadas,

sulfoalquiladas o metiladas. En cualquier caso, tanto las CDs canónicas (o CDs de primera generación) como los derivados mencionados (CDs de segunda generación) carecen de especificidad a la hora de alcanzar objetivos concretos dentro de un organismo, ya que las CDs en sí mismas no tienen capacidad de reconocimiento a nivel de receptores celulares.

Actualmente se viene realizando un esfuerzo intenso en el diseño de sistemas de transporte capaces de conducir fármacos de manera más eficaz a órganos, tejidos o células específicas. La incorporación de marcadores de reconocimiento de tipo oligosacárido, complementarios de lectinas situadas en la superficie celular, se presenta como una alternativa prometedora. De acuerdo con este concepto, varios conjugados de CDs con mono y oligosacáridos han sido preparados en los últimos años y, en algunos casos, su capacidad de asociación a lectinas específicas ha sido investigada. Las publicaciones más representativas a este respecto se comentan a continuación.

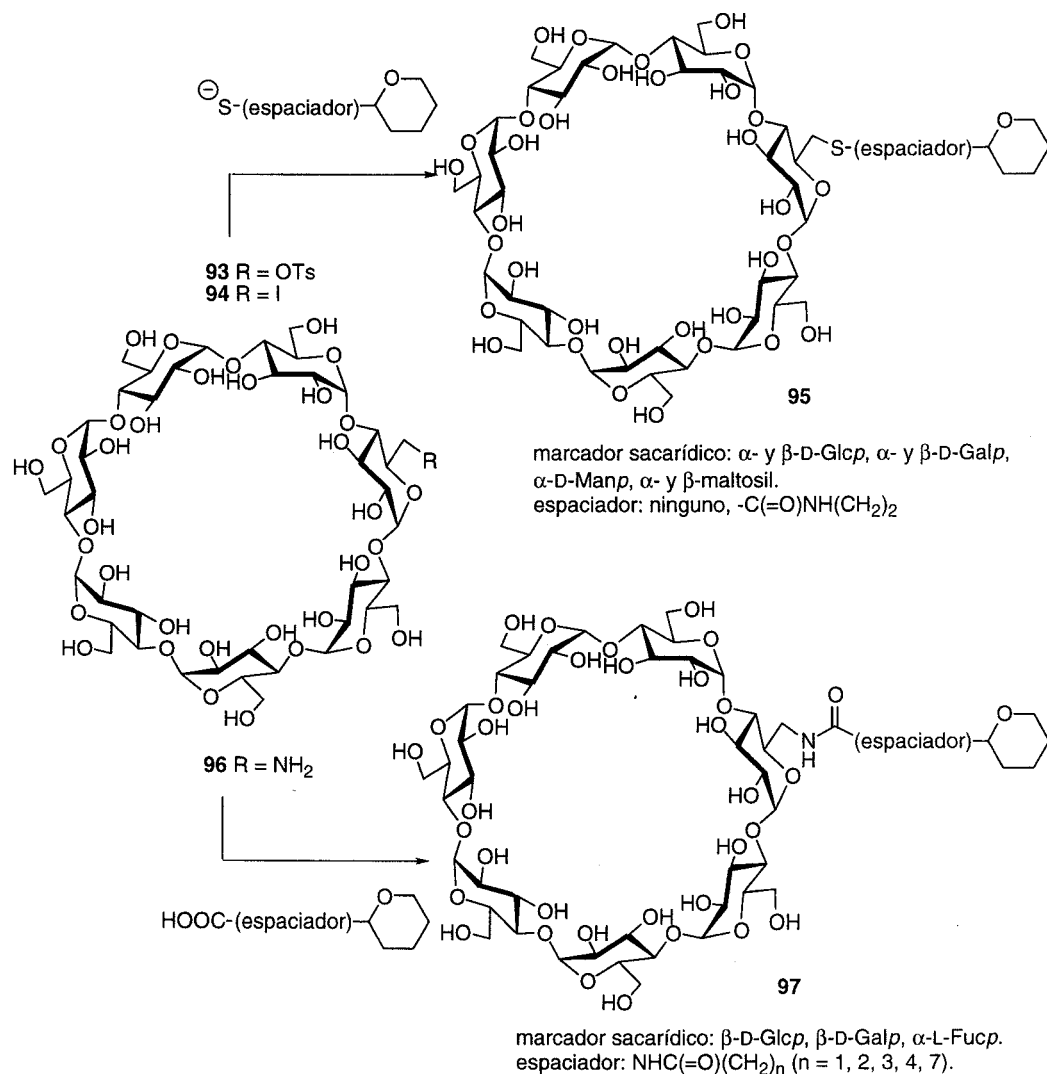
2.1. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS.

Los derivados resultantes de incorporar mono u oligosacáridos sobre las CDs se conocen como CDs ramificadas. Algunas CDs homogéneamente ramificadas (con cadenas laterales que contienen sólo unidades de glucosa) con uniones glicosídicas de tipo $\alpha(1\rightarrow6)$ se producen a escala industrial por métodos enzimáticos [11]. También por métodos enzimáticos se han preparado CDs heterogéneamente ramificadas en las que residuos de galactosa [12] o manosa [13] se unen bien a cadenas laterales de CDs homogéneamente ramificadas o bien directamente a la CD. En cualquier caso, estas estrategias son sólo útiles cuando se desea obtener CDs monoramificadas. Lo mismo sucede en el caso de la glicosidación directa de las CDs por métodos químicos. Incluso acudiendo a secuencias de protección/desprotección de los diferentes hidroxilos, los rendimientos suelen ser bajos [14]. Esto ha hecho que se desarrollen métodos más eficaces que la glicosidación para la incorporación de marcadores sacarídicos sobre las

CDs. En la mayoría de los casos, estas estrategias implican la unión de la antena de reconocimiento a la CD a través de un átomo de azufre o de nitrógeno. El desarrollo de estos métodos ha corrido paralelo al desarrollo de métodos eficaces de funcionalización selectiva de las CDs [15].

(a) Neoglicoconjugados monovalentes derivados de ciclodextrinas.

La estrategia general para la síntesis de neoglicoconjugados monovalentes de la β -CD parte del correspondiente C-6 monotosilato **93** [16] (Esquema 1). El grupo tosilo puede desplazarse bien directamente, bien tras sustitución por yodo (\rightarrow **94**), por un tiolato en una reacción de tipo S_N2 (\rightarrow **95**). Esta estrategia ha sido ampliamente desarrollada por los grupos de Defaye [17] y Driguez [18], y más recientemente por Hattori y colaboradores [19].

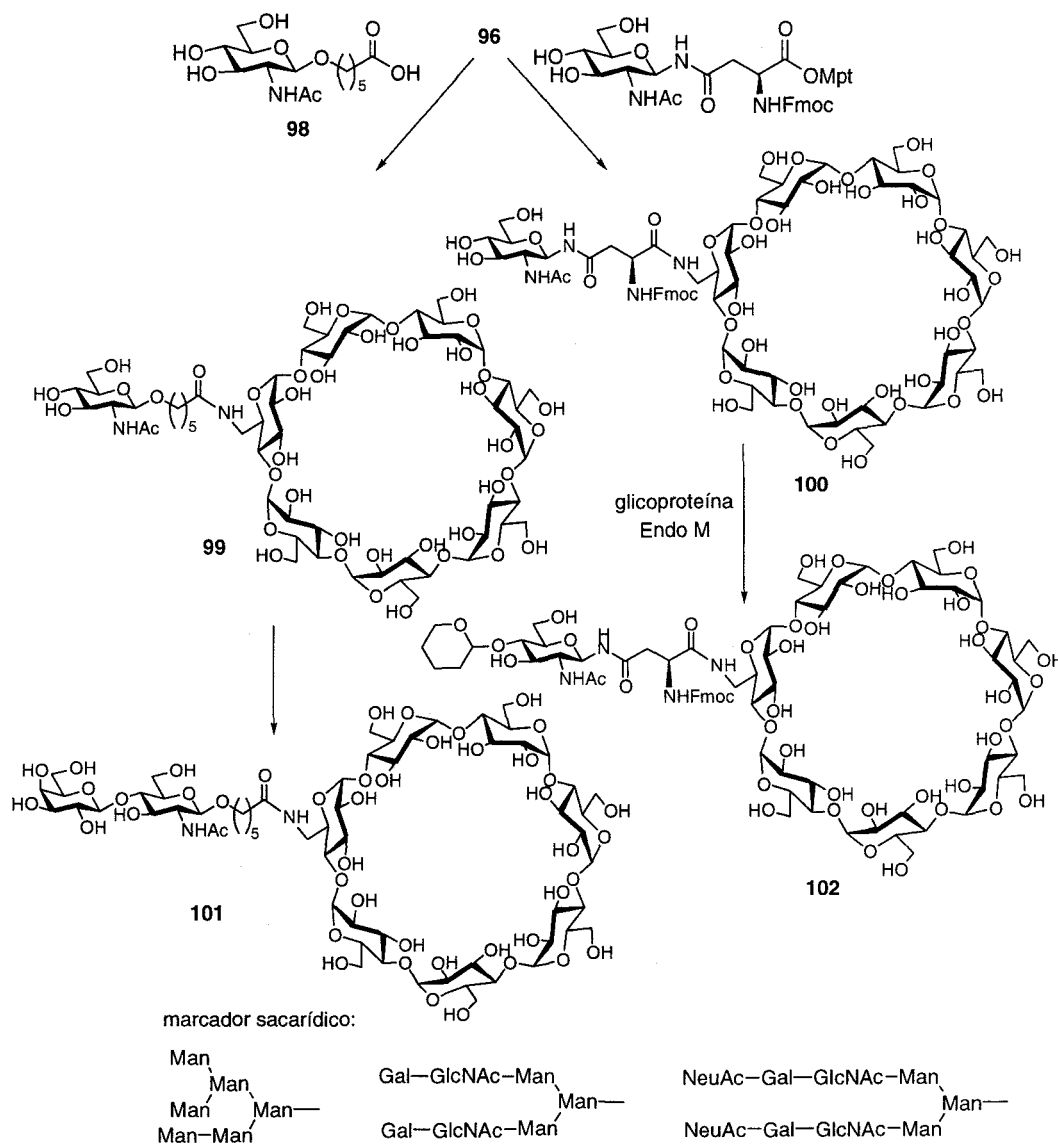


Esquema 1. Esquema general de síntesis de neoglicoconjugados monovalentes derivados de la β -CD por reacciones de tioglicosidación y amidación.

Alternativamente, el grupo tosilo puede desplazarse por azida y, tras reducción, conducir a la correspondiente C-6 monoamina **96**. El grupo de Parrot-López ha explotado la utilización de este precursor en reacciones de amidación (\rightarrow **97**) para preparar conjugados de D-glucosa, D-galactosa y L-fucosa de acuerdo con la estrategia general que

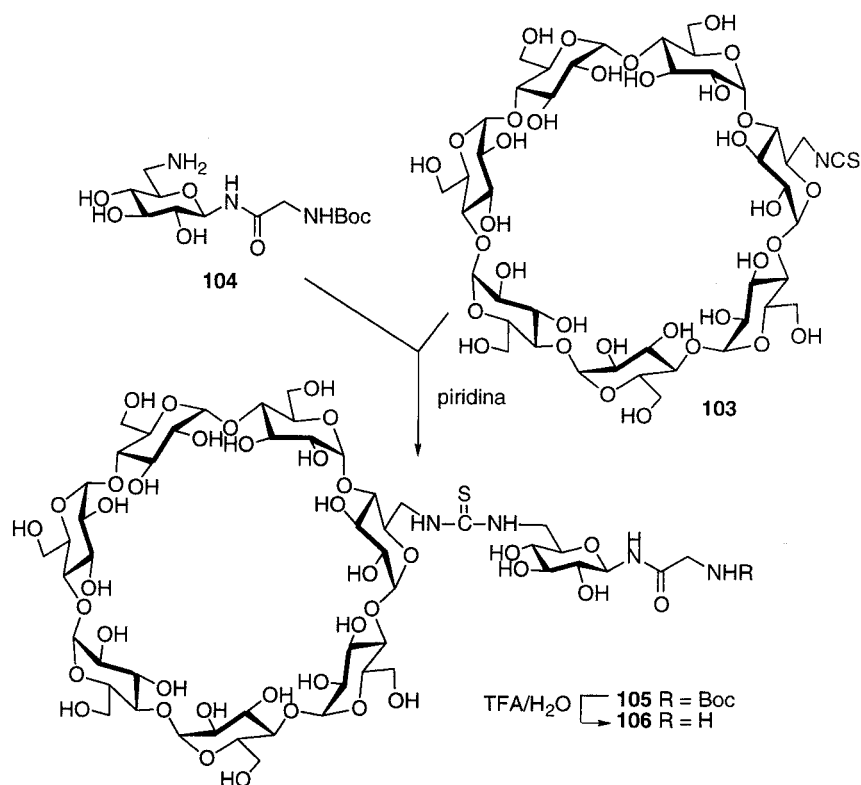
se muestra en el Esquema 1 [20]. El mismo grupo ha desarrollado una estrategia alternativa que combina síntesis química y enzimática: primero se realiza el acoplamiento “peptídico” entre el ácido 6-(2-acetamido-2-desoxi- β -D-glucopiranosil)hexanoico **98** y la C-6 monoamina de la β -CD **96** y después se lleva a cabo la adición de galactosa catalizada por la 4- β -galactosil transferasa (\rightarrow **101**) [21] (Esquema 2).

Hattori y colaboradores han descrito la preparación de derivados de la β -CD que incorporan oligosacáridos complejos conteniendo manosa y ácido siálico, aplicando también una aproximación química y enzimática [22]. En este caso, se efectúa primero el acoplamiento entre la monoamina de la β -CD **96** y un derivado de la asparagina, en forma de anhídrido mixto dimetilfosfotioico, que porta un grupo *N*-acetilglucosamina. El aducto **100** sirve de aceptor en reacciones de transglicosidación catalizadas por la endo- β -*N*-acetilglucosaminidasa de *Mucor hiemalis* (Endo M) (\rightarrow **102**) (Esquema 2).

Esquema 2. Síntesis químio-enzimática de neoglicoconjugados monovalentes derivados de β -CD

La unión peptídica entre derivados sacarídicos y la monoamina de la β -CD **96** también se ha realizado utilizando las aldono-lactonas correspondientes como precursores.

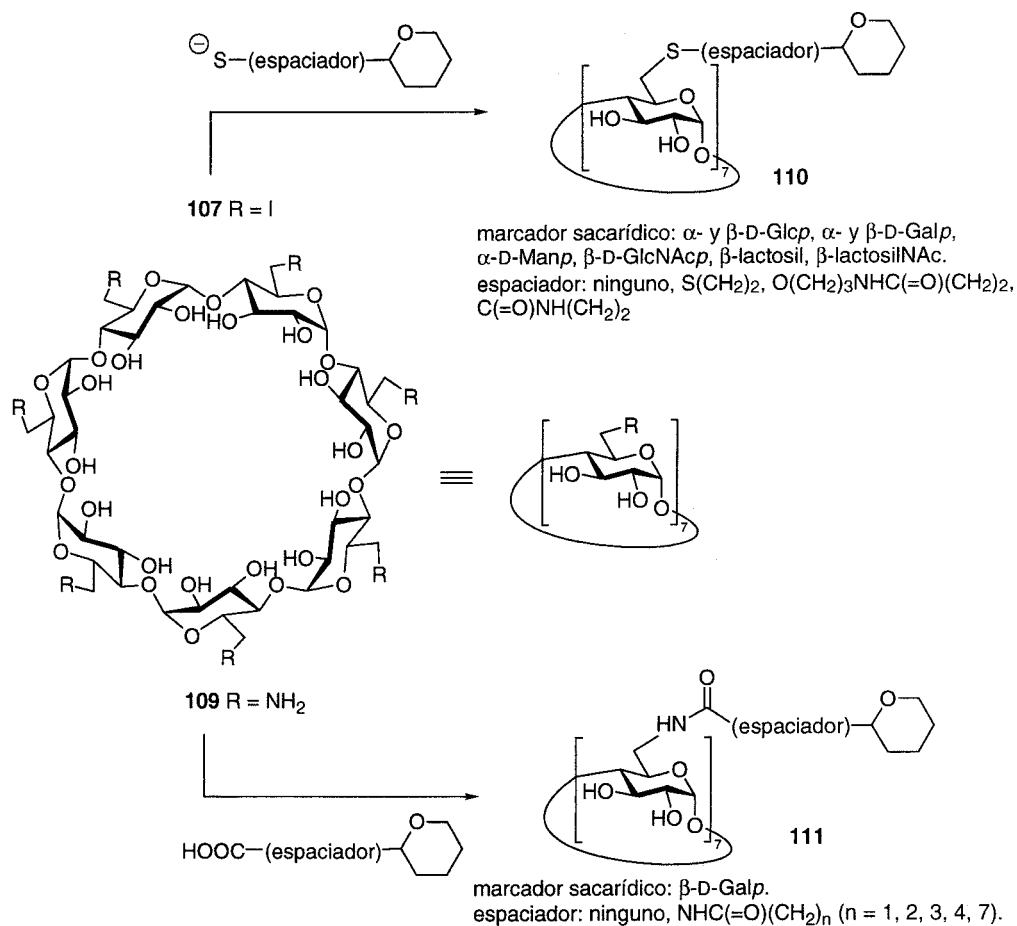
En este caso, la unidad enlazada directamente a la CD se encuentra en forma de cadena abierta [23]. Recientemente, nuestro grupo en colaboración con el del Dr. J. Defaye en Grenoble ha descrito el acoplamiento entre un glicosilaminoácido y la β -CD mediante la formación de un puente de unión de tiourea [24], lo que constituye el único antecedente directo del trabajo que se presenta en esta Tesis. Para ello se preparó el correspondiente C-6 monoisotiocianato de la β -CD **103** por isotiocianación con tiofosgeno de la monoamina **96** y se hizo reaccionar con el derivado de aminoazúcar **104** (Esquema 3). El rendimiento de la adición fue excelente (92%) y el aducto desprotegido **106** presentó características prometedoras (alta solubilidad en agua, conservación de la capacidad de inclusión, bajo carácter hemolítico) para su uso como transportador.



Esquema 3. Preparación de neoglicoconjugados monovalentes de tipo glicosilaminoácido- β -CD mediante formación de un grupo tiourea.

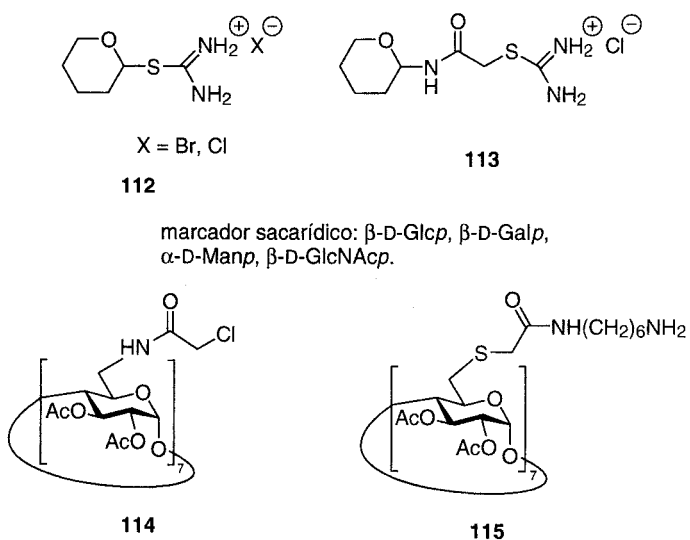
(b) Neoglicoconjugados multivalentes derivados de ciclodextrinas.

La mayoría de los ejemplos de neoglicoconjugados multivalentes derivados de CDs corresponden a derivados C-6 persustituídos (**110**, **111**) resultantes de extender las estrategias de formación de uniones tioéter o de amidación a la per(6-desoxi-6-yodo ó 6-bromo)- (**107**, **108**) [17b, 19, 25] o a la per(6-amino-6-desoxi)- β -CD **109** [20c] (Esquema 4).

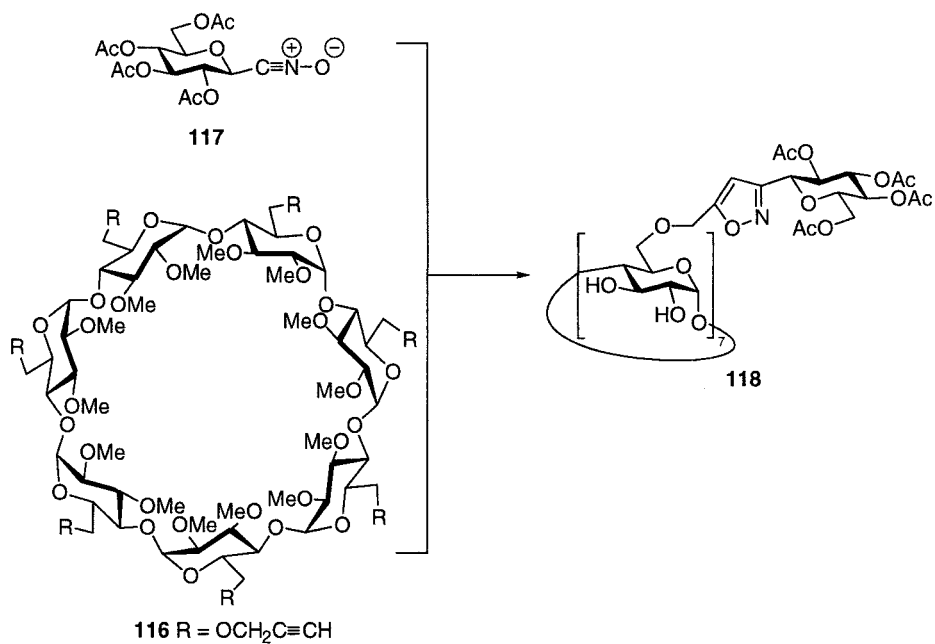


Esquema 4. Esquema general de síntesis de neoglicoconjugados heptavalentes derivados de la β -CD por reacciones de tioglicosidación y amidación.

Recientemente, los grupos de Santoyo-González y Vargas-Berenguel han publicado una serie de modificaciones de los métodos anteriores que permiten diversificar tanto el marcador sacarídico como la naturaleza y la longitud del espaciador entre éstos y el núcleo central de β -CD [25b, 26]. Básicamente estas modificaciones consisten en: (i) la utilización de sales de isotiuronio **112** y **113** como nucleófilos, (ii) la preparación de derivados de la β -CD con sustituyentes cloroacetamido (**114**) y el posterior desplazamiento de los átomos de cloro utilizando los nucleófilos anteriores, y (iii) la preparación de tioéteres de la β -CD portando un grupo amino (**115**) que es utilizado posteriormente en acoplamiento con isotiocianatos de azúcares.

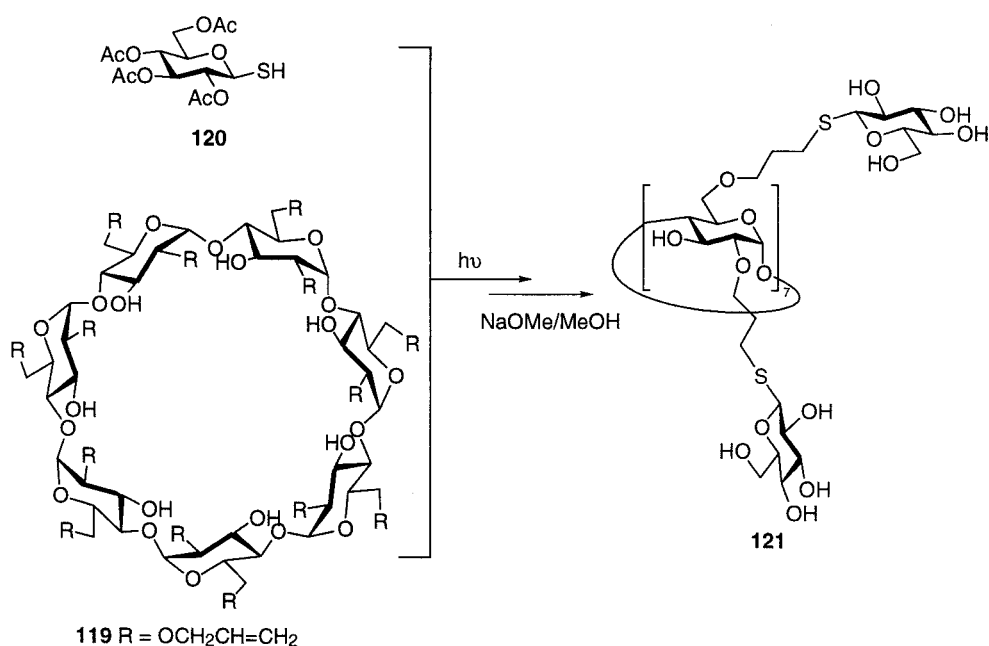


Una aproximación original del grupo de Santoyo-González [27], que se aparta de las uniones a través de azufre o nitrógeno comentadas, consiste en la reacción de cicloadición 1,3-dipolar entre el óxido del 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosilnitrilo **117** y el derivado per-(*O*-6)-propargil β -CD **116**, con formación de puentes heterocíclicos derivados del 1,2-oxazol **118** (Esquema 5).



Esquema 5. Preparación de un neoglicoconjugado heptavalente de la β -CD por reacción de adición 1,3-dipolar.

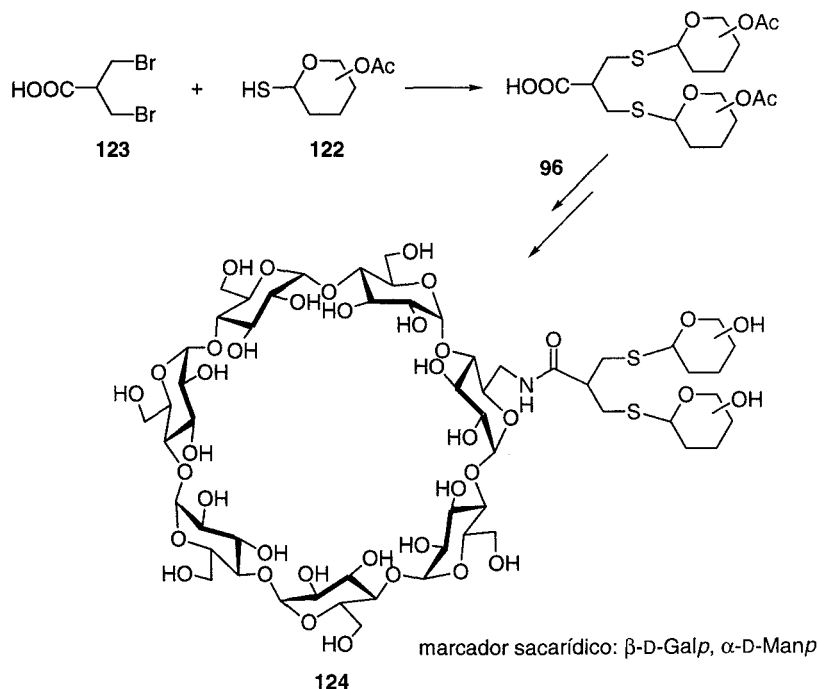
Stoddart y Fulton [28] han descrito la única preparación de un neoglicoconjugado simétrico 14-valente de la β -CD (**121**). La estrategia se basa en la adición fotoquímica de 1-tioazúcares (**120**) al derivado per-(2,6-di-*O*-alilado)- β -CD **119** (Esquema 6). La metodología es asimismo aplicable a la heptafuncionalización en posición primaria o secundaria.



Esquema 6. Preparación de un neoglicoconjugado tetradecavalente de la β -CD incorporando D-glucosa

Ichikawa y colaboradores [29] han descrito la incorporación de marcadores derivados de D-galactosa, D-manosa y 2-acetamido-2-desoxi-D-glucosa a la β -CD mediante reacciones de amidación utilizando el heptacarboxilato resultante de oxidar los grupos hidroxilo primarios en la β -CD como precursor. En estas condiciones la heptasustitución no es total, y se obtienen mezclas de productos de polisustitución.

Sólo hemos encontrado un antecedente de preparación de derivados de CD monosustituídos y multivalentes [25a]. Se trata de derivados divalentes de manosa y galactosa (124) resultantes de desplazar los átomos de bromo en el ácido 3-bromo-2-(bromometil)propiónico 123 por el correspondiente 1-tioazúcar 122 y posterior reacción de amidación de la C-6 monoamina de la β -CD (Esquema 7).

Esquema 7. Síntesis de derivados divalentes monosustituidos de la β -CD.

(c) *Capacidad de inclusión y de reconocimiento por lectinas de neoglicoconjugados derivados de CDs.*

En general, los derivados de CDs que portan marcadores sacarídicos son reconocidos por lectinas específicas para esos marcadores. Así, ligandos galactosilados son reconocidos por la lectina de la pared celular de *Kluyveromyces bulgaricus* (KbCWL) [20, 24, 25a, 30], la de *Arachis hypogea* (lectina de cacahuete) [25b], la de *Ricinus communis* [18b] y la de *Griffonia simplicifolia I* (GSI) [29]; ligandos glucosilados por la lectina de *Pisum sativum* (lectina de guisante) [25b]; ligandos manosilados por ésta última [25b] y por la lectina de *Concanavalia ensiformis* (Concanavalina A, ConA) [18b, 22, 23, 25b]; ligandos conteniendo *N*-acetilglucosamina o *N*-acetillactosamina por la aglutinina del germen de trigo (WGA) [25b, 25c, 29] y por la lectina de *Erythrina corallodendron*

(EcorL) [24c]. De manera general, ligandos multivalentes son reconocidos con mayor eficacia que ligandos monovalentes. El incremento en la capacidad de reconocimiento depende, no obstante, del espaciador utilizado (aumentando en general con la longitud del espaciador) y de la lectina en cuestión. Sin embargo, hay que señalar que el resultado de estas evaluaciones depende también fuertemente del tipo de ensayo utilizado, lo que dificulta la comparación de los mismos.

En lo que se refiere a la capacidad de inclusión, los datos disponibles son mucho más escasos. En el caso de derivados monosustituídos, la estabilidad de los complejos de inclusión de neoglicoconjugados de la β -CD, en comparación con la β -CD nativa, depende del mecanismo de inclusión: para moléculas huéspedes que penetran en la cavidad por la base hidroximetílica, el impedimento estérico ocasionado por la presencia del marcador sacarídico resulta en una disminución de la constante de asociación, mientras que prácticamente no se altera en el caso de moléculas huéspedes que penetran por la base mayor. La persustitución, en cambio, puede modificar significativamente la estabilidad del complejo final, disminuyéndola si los hidroxilos primarios estaban implicados en interacciones no covalentes con el huésped [17b]. Por el contrario, si los sustituyentes interaccionan favorablemente con el huésped la constante de asociación puede aumentar [19].

En esta Tesis nos hemos planteado estudiar las posibilidades y limitaciones de la estrategia basada en la formación de uniones de tiourea para la preparación de neoglicoconjugados derivados de la β -CD. Con objeto de determinar la influencia de los diferentes factores que pueden afectar al fenómeno de reconocimiento (estructurales, valencia, grado de sustitución) hemos abordado una evaluación sistemática de una serie de ligandos manosilados frente a la Concanavalina A y hemos comparado estos datos con los obtenidos para pseudooligosacáridos modelo que carecen del núcleo de β -CD. Para los diferentes tipos de neoglicoconjugados se ha determinado de manera preliminar su capacidad de solubilización del Taxotère, con objeto de explorar las posibilidades de estos

sistemas para actuar como transportadores vectorizados de medicamentos. Los resultados de estas investigaciones se recogen en los capítulos que siguen.

2.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

2.2.1. Ciclodextrinas multivalentes.¹

Las interacciones carbohidrato-carbohidrato y carbohidrato-proteína intervienen en un gran número de procesos biológicos tales como el reconocimiento celular y los fenómenos de adhesión celular [1,31]. En la mayoría de los casos estas interacciones tienen carácter multivalente y requieren una orientación espacial y una densidad local precisas de los fragmentos oligosacáridicos. La importancia de este concepto, llamado “efecto cluster” [2] ha estimulado el diseño y la preparación de un gran número de poliglicoconjugados entre los que destacan los denominados “glicoclusters” y los “glicodendrimeros”. Contrariamente a otros glicoconjugados como los glicopolímeros, en los que la distribución y el contenido en carbohidratos se produce al azar, los glicoclusters y los glicodendrimeros presentan estructuras con tamaño y distribución de azúcares conocidos y bien definidos. En este sentido, el uso de ciclodextrinas como soportes biocompatibles para la construcción de arquitecturas moleculares que permitan ajustar el peso molecular y la distribución de subunidades sacarídicas constituye una aproximación interesante [32]. A las ventajas de su alta simetría y de la gran variedad de derivados selectivamente funcionalizados que pueden prepararse, se une la capacidad de la cavidad hidrófoba de las CDs para incluir otras moléculas orgánicas, lo que puede explotarse en el diseño de transportadores de medicamentos.

Dentro de un proyecto dirigido al desarrollo de sistemas transportadores de fármacos con capacidad de reconocimiento molecular a nivel de la membrana celular, nos hemos interesado en la preparación de ciclodextrinas ramificadas multivalentes portando marcadores glicosídicos en el anillo hidroximetílico (base más estrecha). La metodología sintética que hemos escogido se basa en la construcción de uniones intersacarídicas

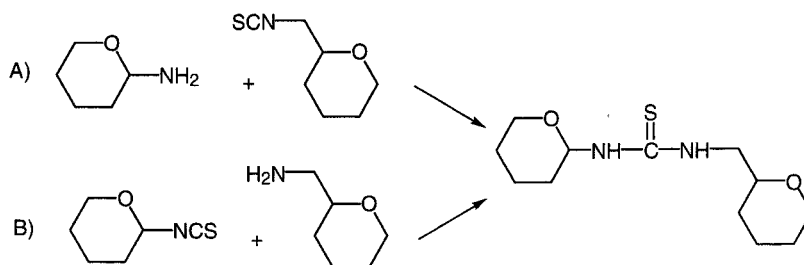
¹ *Chem. Eur. J.* **1998**, *4*, 2523-2531.

mediante puentes de tiourea, partiendo para ello de precursores funcionalizados con grupos amino o isotiocianato. Esta estrategia es de hecho una de las más populares para la preparación de neoglicoconjugados [33], incluyendo glicodendrimeros y glicoclusters [34], y es adecuada para la preparación de estructuras pseudooligosacarídicas [35]. Además, de acuerdo con resultados preliminares de nuestro grupo en colaboración con el grupo de J. Defaye, la presencia de un grupo tiourea sobre la estructura de ciclodextrina da lugar a una disminución sustancial de su capacidad hemolítica, un aspecto importante a la hora de posibles aplicaciones farmacológicas [36].

Resultados y discusión.

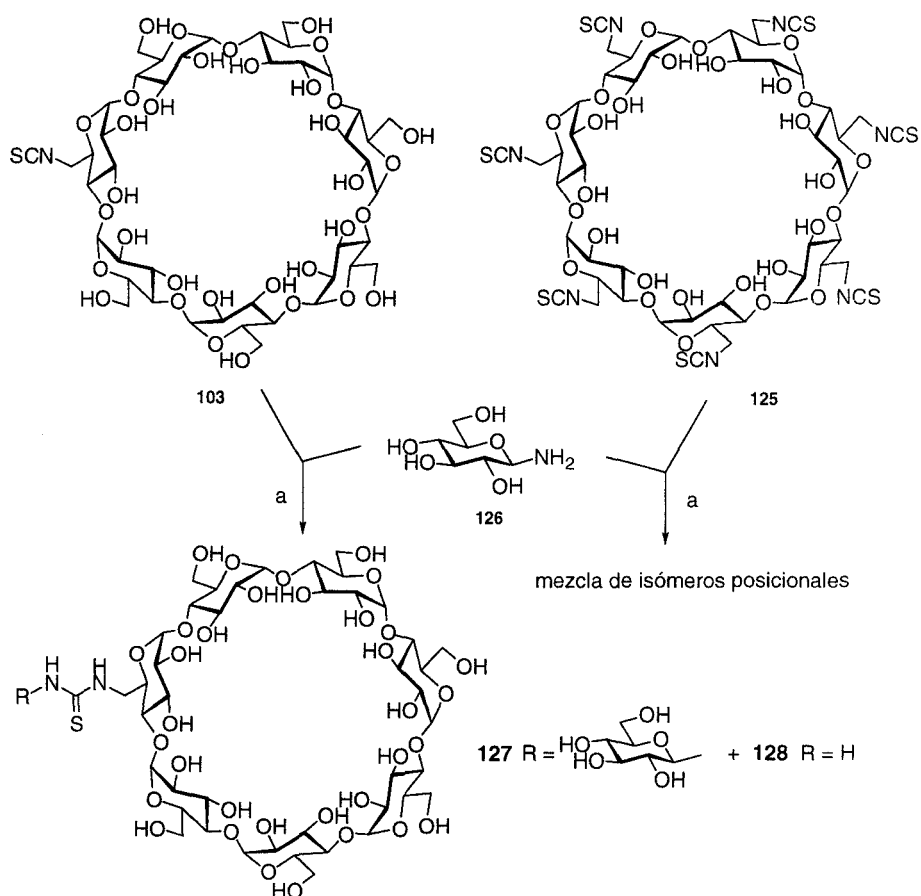
En una primera aproximación, hemos abordado la preparación de glicoclusters heptavalentes mediante la incorporación de sustituyentes de tipo glicosiltioureido sobre las posiciones primarias (C-6) de la β -CD, la más interesante desde un punto de vista industrial. En principio, este diseño deja libre la base mayor de la estructura troncocónica de la β -CD para el acceso de un posible huésped al interior de la cavidad al mismo tiempo que se dota al sistema de la capacidad de reconocimiento por lectinas específicas, dependiendo del resto glicosídico incorporado.

El acoplamiento de las unidades de hexosa mediante un puente de tiourea entre las posiciones C-1 y C-6 puede realizarse siguiendo dos estrategias sintéticas alternativas: la condensación de glicosilaminas con 6-desoxi-6-isotiocianatos o, inversamente, la reacción de glicosil isotiocianatos con 6-amino-6-desoxiazúcares (Esquema 8).



Esquema 8. Posibles estrategias de síntesis de uniones intersacarídicas de tiourea entre las posiciones C-1 y C-6.

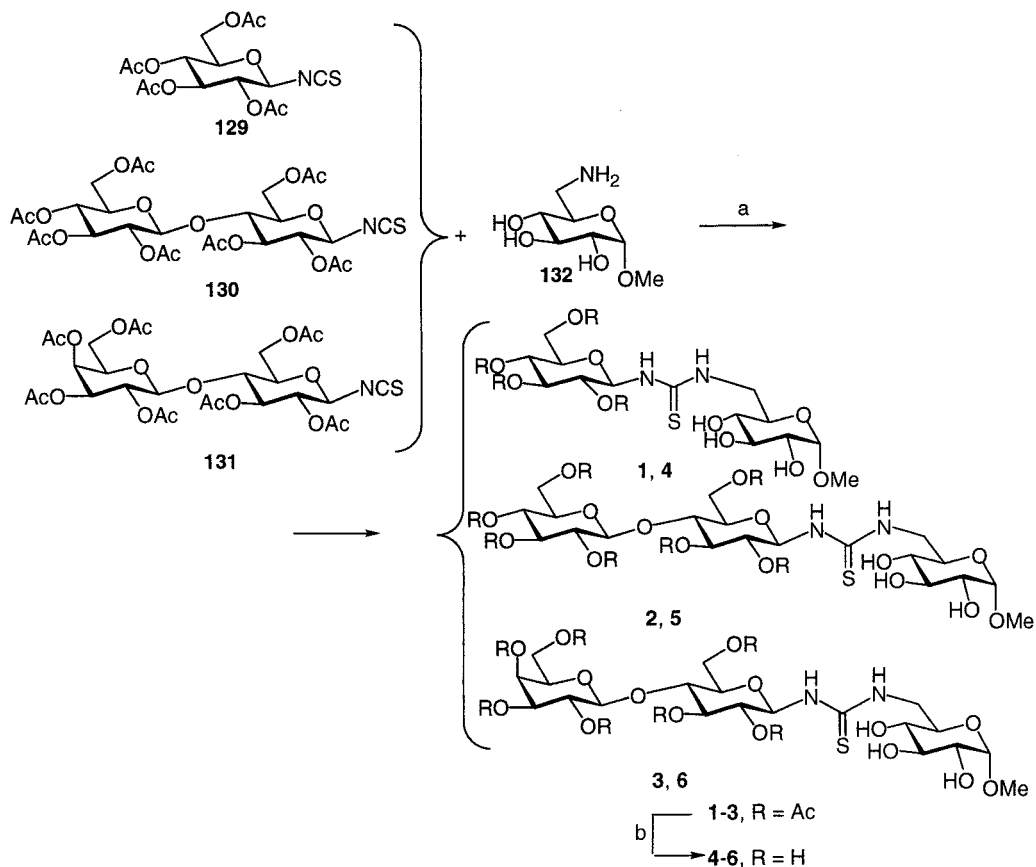
En nuestro caso, tanto la introducción de grupos amino como isotiocianato en la posición primaria de la β -ciclodextrina (β -CD) puede llevarse a cabo sin necesidad de protección de los grupos hidroxilo, siguiendo procedimientos desarrollados previamente en el grupo del Dr. Defaye y en nuestro Departamento [24, 37]. En primer lugar, se intentó llevar a cabo la reacción entre el monoisotiocianato (**103**) y el heptaisotiocianato (**125**) de β -CD y la β -D-glucopiranosilamina (**126**) [38] (ruta A) sin emplear grupos protectores de hidroxilos, estrategia que había resultado efectiva para el acoplamiento de desoxiaminoazúcares y CDs [24]. Aunque en ambos casos las reacciones en piridina a temperatura ambiente transcurrieron consumiendo totalmente los isotiocianatos de partida, se observó paralelamente la formación de bis(β -D-glucopiranosil)amina, con desprendimiento simultáneo de amoniaco. Esta reacción secundaria originó, en la reacción con **103**, la formación de 6^l-desoxi-6^l-tioureidociclomaltoheptaosa **128** como producto minoritario, además del aducto deseado **127**, y una mezcla de subproductos en el caso de **125** que impidieron la purificación (Esquema 9).



Esquema 9. Reactivos y condiciones: a, piridina, t.a., 16 h.

A la vista de estos resultados, nos propusimos investigar la aproximación indicada en la ruta B del Esquema 8. Con objeto de poner a punto las condiciones de reacción y de disponer de modelos más sencillos para el análisis estructural, se estudió la reacción de adición del metil 6-amino-6-desoxi- α -D-glucopiranosido **132** a los glicosil isotiocianatos peracetilados de configuración β -D-*gluco*, β -*celo* y β -*lacto* (**129**, **130**, **131**) [39]. El acoplamiento se efectuó en piridina a temperatura ambiente y permitió obtener los correspondientes aductos parcialmente protegidos **1-3** con rendimientos del 85-90%. La desacetilación convencional usando el método de Zemplén condujo a las tioureas

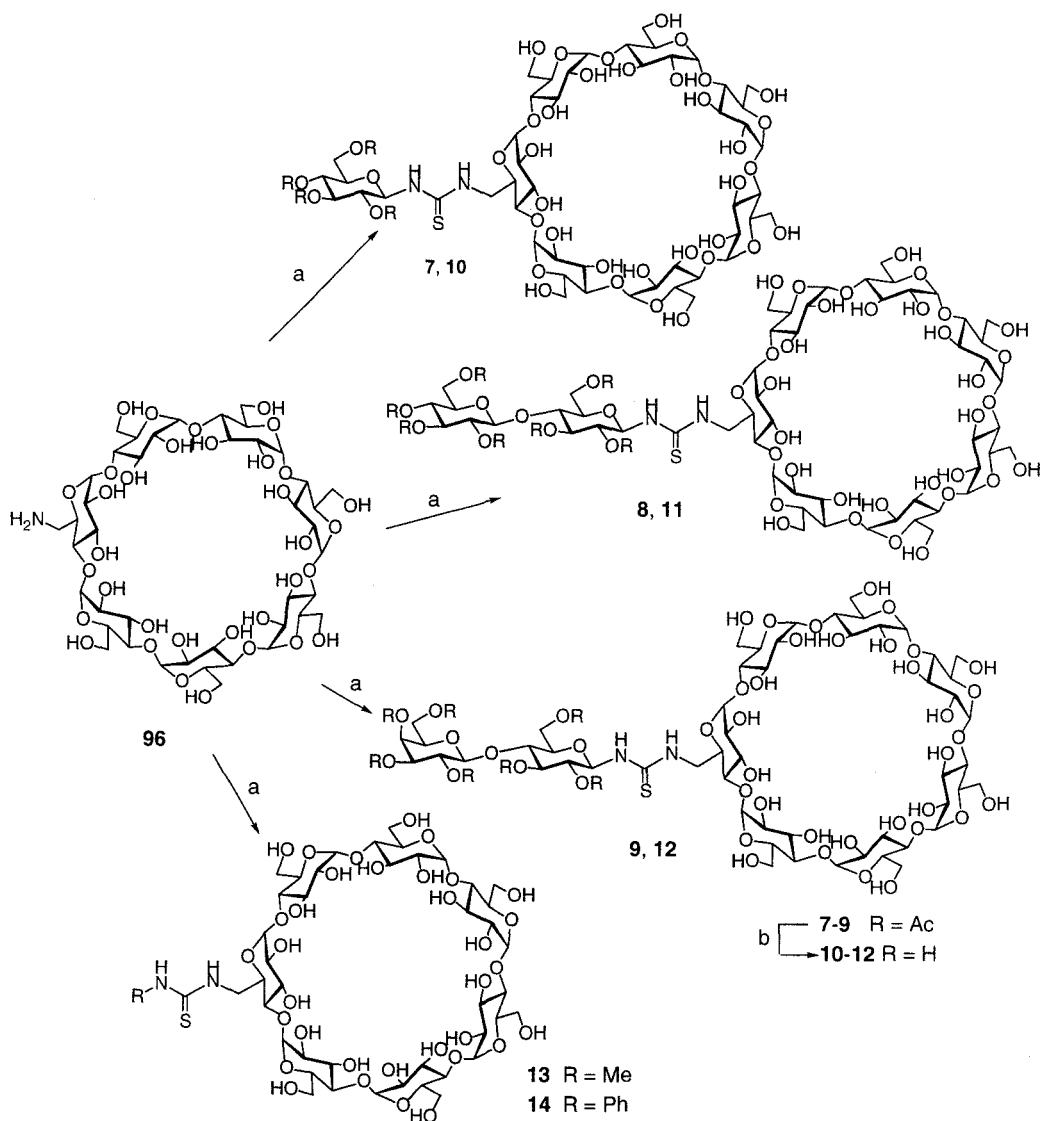
desprotegidas **4-6** con retención total de la configuración en el carbono anomérico (Esquema 10).



Esquema 10. Síntesis de modelos pseudooligosacáridicos con uniones de tiourea. Reactivos y condiciones: a, piridina, t.a., 2 h, 85-90%; b, NaOMe, MeOH, t.a., 3 h, cuant.

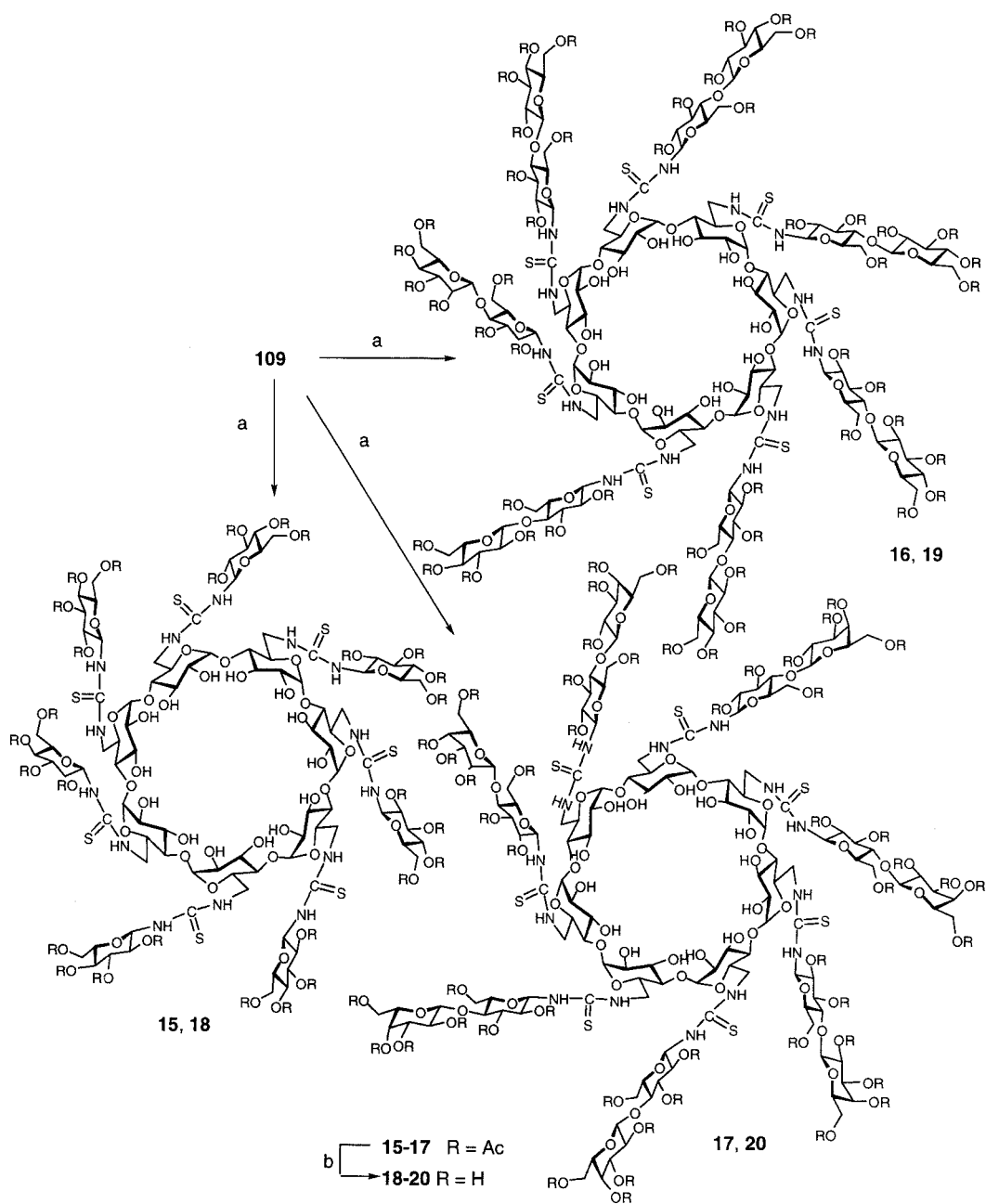
En las mismas condiciones, la reacción de los glicosilisotiocianatos per-*O*-acetilados **129-131** y la monoamina de la β -ciclodextrina **96** (libre o en forma de hidrocloreuro) condujo, con excelentes rendimientos, a los conjugados monoantenados **7-9**. La desacetilación de los aductos protegidos se llevó a cabo por el método de Zemplén seguido de saponificación, dada la baja solubilidad de los compuestos desprotegidos en metanol, obteniéndose los glicosiltioureido derivados **10-12** con rendimiento cuantitativo.

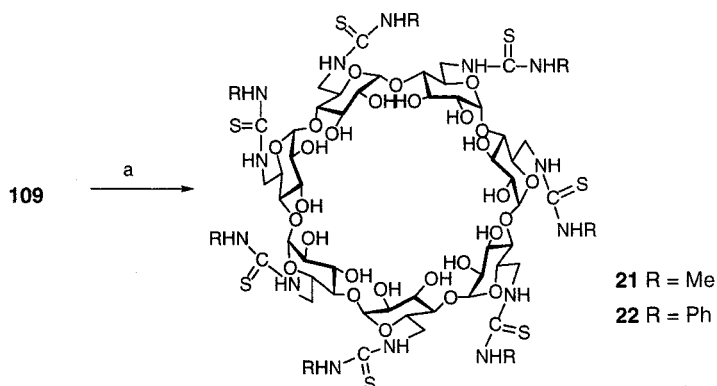
La estrategia sintética se ha aplicado también al acoplamiento de **96** con metil y fenil isotiocianato, en las mismas condiciones de reacción, para obtener los aductos monosustituidos **13** y **14** (Esquema 11).



Esquema 11. Síntesis de ciclodextrinas monoantennadas. Reactivos y condiciones: a, piridina, t.a., 2 h, 60-75%; b, NaOMe, MeOH; agua; Amberlite IR-120 (H^+); Duolite MB 6113 (H^+ , OH^-), 85-95%.

La reacción de la heptaquis(6-amino-6-desoxi)ciclomaltoheptaosa **109** con glicosil isotiocianatos en piridina, siguiendo el procedimiento anteriormente descrito para la preparación de los homólogos monorramificados, no condujo a los aductos heptaantenados deseados, incluso después de 3 días a 50 °C empleando un gran exceso de isotiocianato. En cambio, se obtuvieron las bis(glicosil)tioureas resultantes de la dimerización de los glicosil isotiocianatos como productos mayoritarios (ver Apartado 3.2.1. para un análisis detallado de esta reacción). La reacción de acoplamiento pudo completarse llevando a cabo la reacción en una mezcla de acetona y agua ajustada a pH 8 con NaHCO₃ durante 2 horas. Aunque bajo estas condiciones se observó la formación de productos de desacetilación parcial, el posterior tratamiento básico de los aductos permitió aislar los compuestos **18-20** con rendimientos globales del 65-80%. La reacción con metil y fenil isotiocianatos condujo a los derivados heptasustituídos **21** y **22**, respectivamente, con rendimientos del 60-70%. La versatilidad de la metodología proporciona un acceso muy conveniente a una gran variedad de conjugados glicosilados con geometría controlada empleando espaciadores apropiados de alquilo o arilo (Esquema 12).





Esquema 12. Síntesis de ciclodextrinas heptaantenadas. Reactivos y condiciones: a, H₂O/acetona 1:1, pH 8 (NaHCO₃), t.a., 2 h; b, NaOMe, MeOH; agua; Amberlite IR-120 (H⁺); Duolite MB 6113 (H⁺, OH⁻), 65-80% (global).

Es interesante destacar que la purificación de los tioureido derivados de β -CD parcialmente acetilados **7-9** y **15-17**, frecuentemente uno de los aspectos más problemáticos de la química de ciclodextrinas, se llevó a cabo de manera eficaz por cromatografía en columna de sílica gel empleando mezclas de acetonitrilo/agua como eluyente. Tras desacetilación, la pureza de los conjugados mono- y heptaglicosil antenados **10-12** y **18-20** se confirmó por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en fase reversa empleando una columna Bondapack C-18 (19 x 150 mm) y mezclas de metanol/agua como eluyente. La espectrometría de masas en modo FAB permitió obtener los picos correspondientes a los iones pseudomoleculares $[M + Na]^+$ en el caso de los aductos parcialmente acetilados **7-9**, mientras que en el caso de los derivados mono- y heptaantenados **10-12** y **18-20** fue necesario recurrir a la ionización por electrospray (ESI) para la detección de los picos moleculares.

El estudio estructural por espectroscopía de ¹H y ¹³C RMN llevado a cabo sobre los aductos modelo derivados de metil α -D-glucopiranosido (*Figura 1*), junto con los experimentos bidimensionales de correlación homo y heteronuclear, ha facilitado la asignación de los espectros más complejos obtenidos en el caso de los derivados

monovalentes de ciclodextrina. Los espectros de RMN de los heptaconjugados **18-22** pudieron asignarse completamente al no ser tan complejos debido a la alta simetría de las moléculas.

Los espectros de ^1H y ^{13}C RMN de los compuestos **10-14** y **18-22**, registrados en D_2O (o metanol- d_4) a temperatura ambiente, mostraron el característico ensanchamiento de líneas debido a la rotación restringida alrededor de los enlaces pseudoamídicos $\text{NH}-(\text{C}=\text{S})$ [40]. No obstante, a $70\text{ }^\circ\text{C}$ (ó $50\text{ }^\circ\text{C}$) los espectros presentaron una resolución satisfactoria que, con el apoyo de los datos obtenidos para los pseudodisacáridos lineales **1-6**, permitió asignar las estructuras. La presencia del puente de tiourea intersacarídico (1 \rightarrow 6) se confirmó por la señal a 183-184 ppm ($\text{C}=\text{S}$) en el espectro de ^{13}C RMN y los desplazamientos a campo alto de las señales correspondientes a C-6 ($\text{C}-6^1$) y C-1' (*Figura 2*). Las señales correspondientes a C-4 ($\text{C}-4^1$) y C-5 ($\text{C}-5^1$) mostraron desplazamientos a campo bajo y a campo alto respectivamente, en comparación con las de la β -ciclodextrina [41], lo que permitió su asignación incluso en el caso de los derivados asimétricos.

Los datos de ^1H RMN mostraron diferencias significativas para las resonancias de H-5 ($\text{H}-5^1$) y de los protones del grupo metileno adyacente en derivados mono- y persustituídos, lo que sugiere una diferencia en las correspondientes preferencias conformacionales alrededor de los enlaces C-5 ($\text{C}-5^1$)—C-6 ($\text{C}-6^1$). Las señales de los protones sobre C-6 1 ($\text{H}-6a^1$ y $\text{H}-6b^1$) en los derivados monosustituídos de β -CD **7-14** (*Figura 3*) mostraron una dispersión ($\Delta\delta_{\text{H}-6a,\text{H}-6b} \approx 1\text{ ppm}$) mucho mayor que la observada en los análogos per-(C-6) sustituídos ($\approx 0.5\text{ ppm}$). Este hecho debe estar asociado al efecto anisotrópico desapantallante que ejerce el grupo tiocarbonilo vecino y sugiere una conformación relativamente rígida. La multiplicidad de la señal del protón H-5 ($\text{H}-5^1$), un triplete de dobletes (td), es característica de una conformación *gauche-trans* (gt) en el enlace $\text{C}5^1-\text{C}6^1$, lo cual implica en una disposición antiperiplanar de C-4 1 respecto al sustituyente nitrogenado [42]. Se observó, además, un apantallamiento significativo de las señales de los protones H-1 y H-5 de la subunidad vecina a la que porta el sustituyente de

4-*O*- α -D-glucopiranosiltiourea (H-1^{II} y H-5^{II}). Este hecho experimental puede explicarse admitiendo la existencia de una conformación *Z* mayoritaria en el enlace pseudoamídico (CH₂)HN-C(=S), con una disposición del grupo tiocarbonilo prácticamente 1,3-paralela con el protón pro-*R* sobre C-6^I (H-6a^I) y orientado hacia la subunidad de glucosa posterior. En esta conformación, el segundo átomo de nitrógeno debe quedar situado sobre la circunferencia superior de la ciclodextrina (Figura 2). Un comportamiento similar ha sido recientemente descrito para derivados de α - y β -ciclodextrinas incorporando sustituyentes de tipo amida [43].

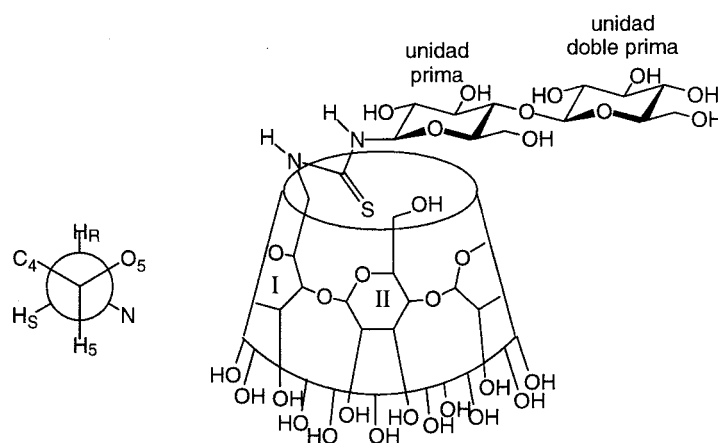


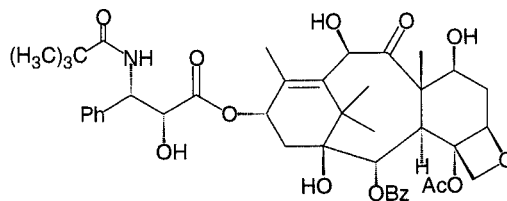
Figura 2. Conformación *gauche-trans* alrededor del enlace C-5^I-C-6^I.
Disposición del grupo tiourea en el derivado de ciclodextrina 11.

Los espectros de ¹H y ¹³C RMN de las ciclodextrinas persustituídas (Figura 4) en la posición primaria C-6 mostraron señales para una única unidad de 6-desoxi-6-tioureido- α -D-glucopiranosilo de acuerdo con la existencia de un eje de simetría C₇. En esta serie la multiplicidad de la señal para el protón H-5 fue similar a la encontrada en los compuestos análogos monoantenados. La menor dispersión de las resonancias de los protones H-6 en este caso se debe, probablemente, a una mayor movilidad de los segmentos de tiourea.

Excepto en el caso de los aductos heptaantenados de metilo y fenilo, **21** y **22**, todos los conjugados preparados mostraron una solubilidad en agua entre 25 y 40 veces superior a la de la β -ciclodextrina canónica (18 g L^{-1}), incluso en el caso de los compuestos con sustituyentes per-*O*-acetilados. El origen de este espectacular aumento de la solubilidad está, probablemente, en el fuerte carácter donador de enlace de hidrógeno de los protones de *NH* del grupo tiourea. La interacción de estos protones con moléculas de agua del medio pueden debilitar las interacciones intermoleculares por enlace de hidrógeno que son responsables de la agregación de las moléculas de β -ciclodextrina.

Con objeto de determinar la influencia de la mono y persustitución sobre la base hidroximetílica de la estructura troncocónica de la β -CD en su capacidad de complejación de moléculas orgánicas, se llevaron a cabo medidas de su poder de solubilización usando como referencia el Taxotère® [44], un potente antimitótico derivado del taxol que constituye uno de los medicamentos más prometedores en el tratamiento del cáncer de mama y de otros tipos de cáncer. La solubilidad en agua del Taxotère® (0.004 g L^{-1}) se elevó a 1.5 g L^{-1} empleando una disolución 50 mM del conjugado heptaantenado **18** y hasta 3 g L^{-1} , aproximadamente, en disoluciones de derivados monosustituídos de tipo 6^l-desoxi-6^l-glicosiltioureido- β -CD de la misma concentración [45]*. Por otra parte, los ensayos practicados en el servicio de hematología del Hospital Central de Grenoble (Francia) mostraron una significativa disminución (en torno al 75%) en el carácter hemolítico de los aductos con tiourea sobre C-6 en comparación con la β -ciclodextrina comercial. Estos datos, unidos a la presencia de un cluster sacarídico multivalente, hacen que estos compuestos sean buenos candidatos como sistemas de transporte específico de medicamentos para células, tejidos u organismos que expresen receptores complementarios.

* Asumiendo una estequiometría 1:1 la constante de asociación para el complejo Taxotère®:18 a $25 \text{ }^\circ\text{C}$ se estimó en $7 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$.



Estructura del Taxotère®

En conclusión, la adición nucleófila de derivados de β -CD incorporando uno o siete grupos amino en posición primaria a glicosil isotiocianatos peracetilados proporciona una metodología eficiente de acceso a conjugados mono- y heptaantenados, respectivamente. La reacción de acoplamiento se completa, en general, en pocos minutos en piridina (conjugados monovalentes) o en acetona/agua a pH 8 (conjugados heptavalentes) y la purificación del aducto puede efectuarse mediante cromatografía en columna de gel de sílice incluso para el caso de estructuras 21-sacarídicas. La etapa subsiguiente de desacetilación transcurre con rendimiento cuantitativo. Además, el procedimiento es compatible con isotiocianatos unidos a grupos alquilo o arilo. Puesto que se han descrito varios derivados aminados de ciclodextrinas que difieren tanto en el tamaño, como en la posición y el número de grupos amino, la estrategia desarrollada debe permitir explorar y optimizar los requerimientos espaciales del reconocimiento de clusters de carbohidratos por lectinas. La combinación de multivalencia, capacidad de inclusión y biocompatibilidad hace que estos nuevos glicoclusters sean buenos candidatos como transportadores específicos de medicamentos.

Nuestro siguiente objetivo ha sido el estudio de la capacidad de los nuevos conjugados de β -CD para ser reconocidos por lectinas específicas. Por razones de disponibilidad, y con objeto de poder comparar nuestros resultados con otros de la literatura, hemos focalizado en la concanavalina A (Con A) como modelo de lectina y en conjugados incorporando D-manosa como ligandos. Sin embargo, los intentos de preparar aductos mono- y heptaantenados análogos a los descritos en este apartado por

acoplamiento de **96** y **109**, respectivamente, con 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-manopiranosil isotiocianato y posterior desacetilación condujeron a mezclas de compuestos, a la vista de los espectros de RMN. No obstante, los datos de espectrometría de masas y microanálisis fueron acordes con las estructuras esperadas, indicando que, probablemente, la heterogeneidad observada se debe a reacciones de epimerización en posición anomérica. Dado que este dato está en contradicción con los resultados de otros laboratorios sobre la preparación de glicodendrimeros con terminación de α -D-manopiranosiltioureido, y en colaboración con la Dra. T. K. Lindhorst, nos propusimos estudiar en detalle la reactividad de las manopiranosiltiureas. Los resultados de esta investigación se recogen en el siguiente apartado.

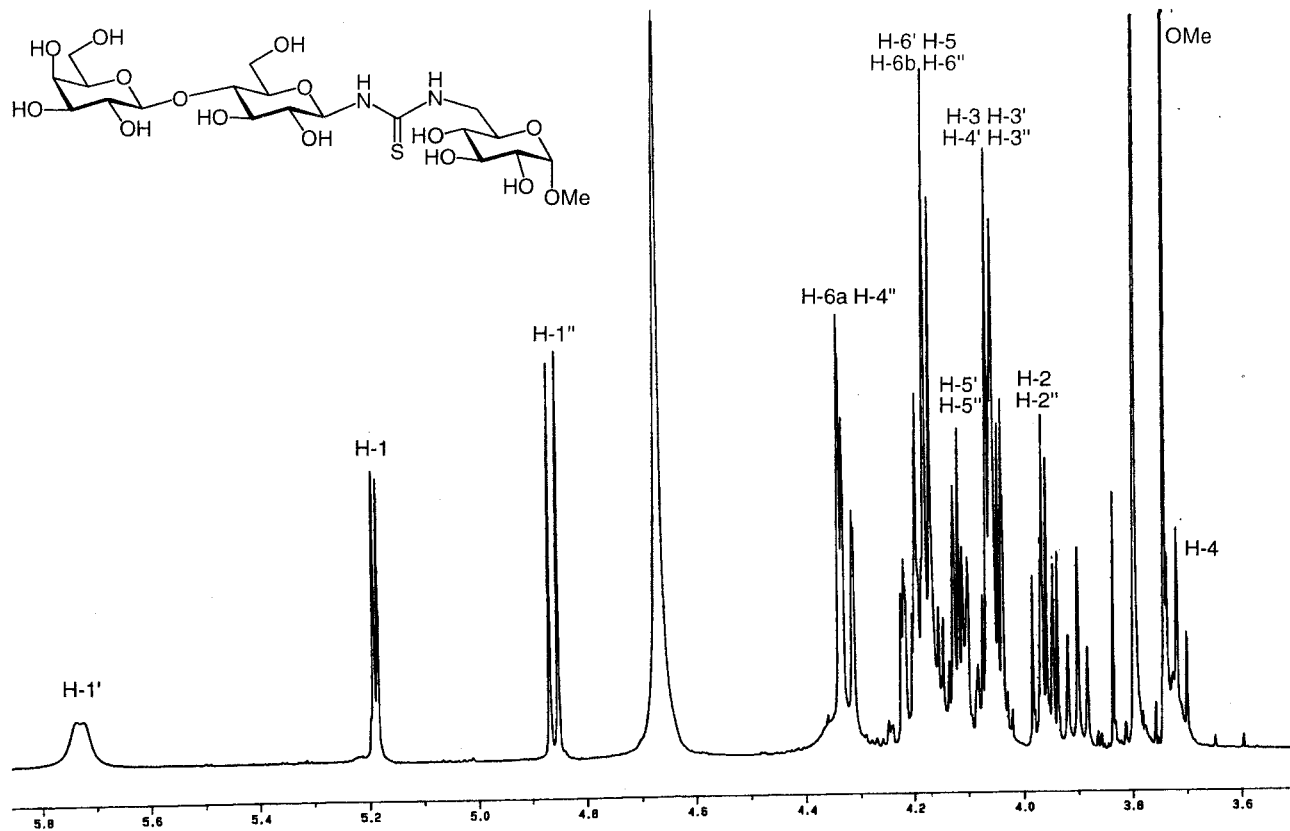
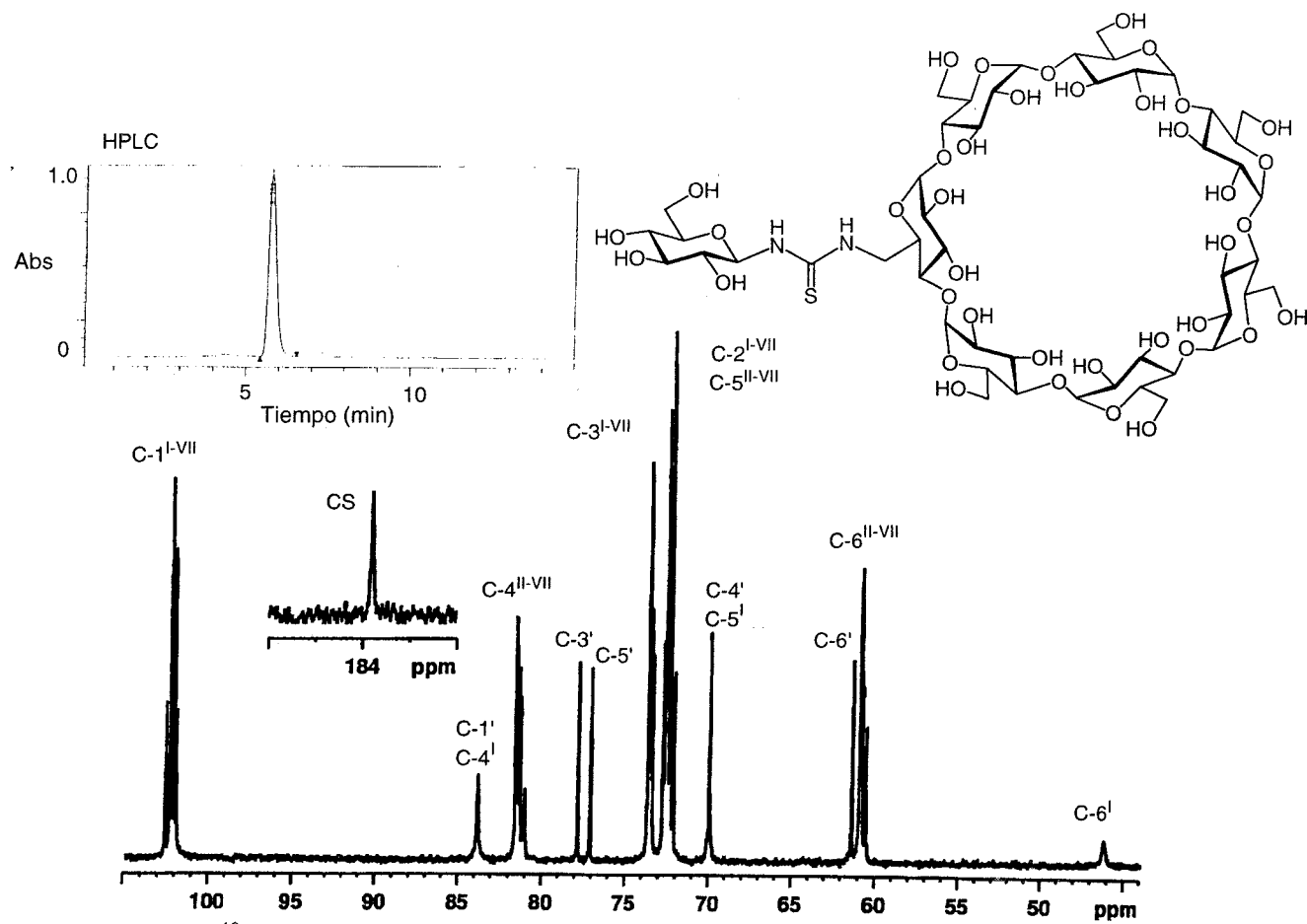


Figura 1. Espectro de ¹H RMN (500 MHz, D₂O, 343 K) del compuesto 6



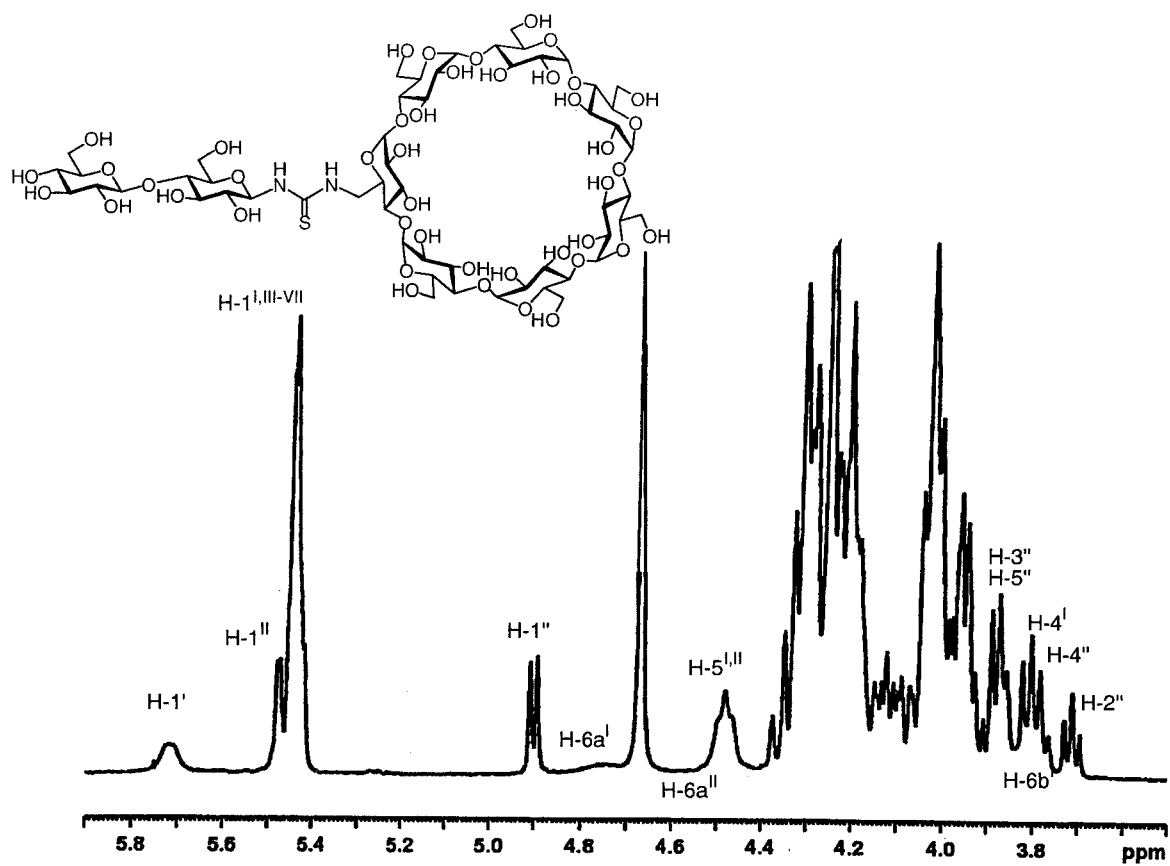


Figura 3. Espectro de ^1H RMN (500 MHz, D_2O , 343 K) del compuesto 11

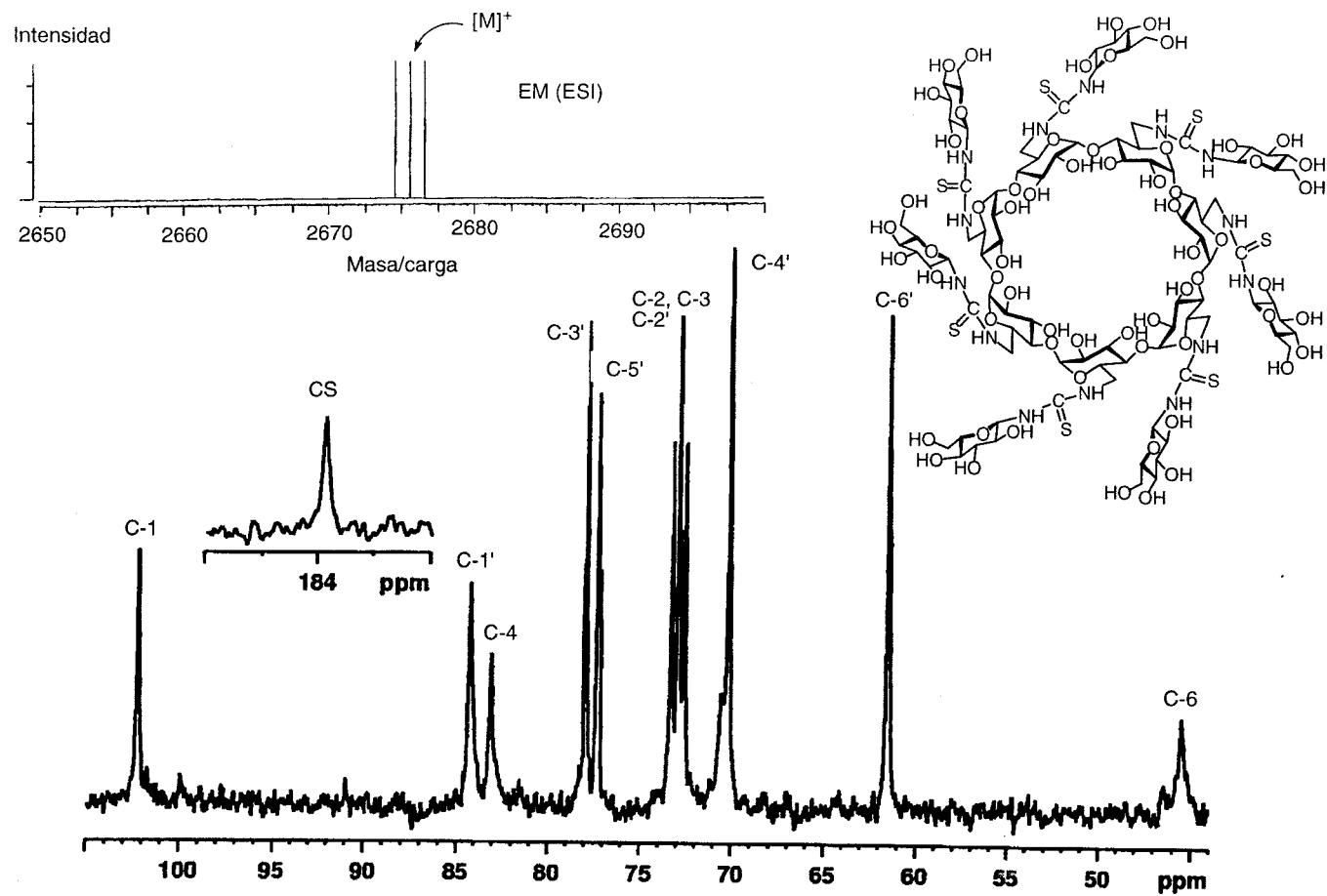


Figura 4. Espectro de ^{13}C RMN (125.7 MHz, D_2O , 343 K) y EM (ESI) del compuesto 18

2.2.2. Estabilidad anomérica de manopiranosiltiureas.¹

La evidencia del papel fundamental que desempeñan los oligosacáridos como portadores de información biológica ha estimulado la investigación en el desarrollo de metodologías de síntesis de estructuras pseudooligosacarídicas apropiadas para usos biomédicos o farmacológicos. La unión de monosacáridos a través de enlaces glicosídicos, como en los oligosacáridos naturales, presenta como inconvenientes la dificultad en el control de la configuración anomérica en las reacciones de glicosidación y la biodegradabilidad de las estructuras oligosacarídicas debido a la acción de las glicosidasas. Una alternativa interesante es la sustitución del oxígeno interglicosídico por funciones aquirales como el grupo amida (carbopéptidos, sacaropéptidos) [46-53] o el grupo fosfodiéster (carbonucleótidos) [54], que pueden obtenerse con rendimientos altos sin afectar al resto de centros quirales preexistentes. Los pseudooligosacáridos con puentes de tiourea [24, 40a] satisfacen los requisitos anteriores y pueden obtenerse de modo eficaz por acoplamiento de isotiocianatos [40a-c, 55] y aminas derivadas de azúcares. En el capítulo anterior se ha descrito la ampliación de esta estrategia a la preparación de glicoclusters basados en un núcleo de β -ciclodextrina incorporando mono y disacáridos mediante puentes de tiourea (1 \rightarrow 6)-intersacarídicos [56, 57]. Durante el desarrollo de este trabajo se observó la anomerización parcial de los derivados de α -D-manopiranosiltiourea bajo las condiciones básicas empleadas en la desacetilación convencional. Puesto que la desacetilación de α -D-manopiranosiltiureas multivalentes usando las condiciones de Zemplén había sido previamente descrita [58], nos hemos planteado estudiar si el proceso de epimerización está promovido por el aglicón de ciclodextrina, si este hecho constituye una limitación intrínseca para la síntesis de este tipo de pseudooligosacáridos derivados de manosa o si se trata de un aspecto general de la química de las glicosiltiureas. Para ello hemos estudiado la estabilidad anomérica de una

¹ *Carbohydr. Res.* **1999**, *320*, 37-48.

serie de α - y β -D-manopiranosiltiureas mono- y disacarídicas bajo diferentes condiciones de desacetilación.

Resultados y discusión.

Se han preparado una serie de α - y β -D-manopiranosiltiureas por reacción del correspondiente α - o β -D-manopiranosil isotiocianato [59] (**133** ó **134**) con metil 6-amino-6-desoxi- α -D-glucopiranosido [60] (\rightarrow **23**, **24**), hidrocloreuro de etilamina (\rightarrow **27**, **28**) y bencilamina (\rightarrow **31**, **32**) en piridina (*Figuras 5 y 6*). Con objeto de profundizar en la reactividad de las manopiranosiltiureas en medio alcalino se ha investigado la influencia de una serie de factores en el resultado de la reacción de desacetilación, tales como la concentración de sustrato, proporción de catalizador, temperatura, tiempo de reacción, tipo de resina y tiempo de contacto de la resina con la mezcla de reacción (*Esquema 13*).

Los resultados obtenidos fueron independientes de la concentración de manopiranosiltiurea (0.01 a 0.05 M), de la calidad del metanol y del tipo de resina usada para la neutralización después de la desprotección (Amberlite IR-120 y Amberlite IRC-50). En el tratamiento de la tiurea **27** con metóxido sódico deuterado en metanol- d_4 a temperatura ambiente se observó la presencia del anómero β por ^1H RMN después de 10 minutos, llegándose a un equilibrio termodinámico α/β 1:3 (*Figuras 3 y 4*) después de 4 horas. Una mezcla idéntica de anómeros se obtuvo partiendo de la tiurea per-*O*-acetilada de configuración β **28**, lo que permite concluir que la anomerización de D-manopiranosiltiureas es un proceso catalizado por bases, descartándose un hipotético mecanismo alternativo promovido por la superficie ácida de la resina. Tampoco se observaron cambios en la proporción de anómeros de las mezclas neutralizadas en disolución en D_2O o en metanol- d_4 después de 24 horas.

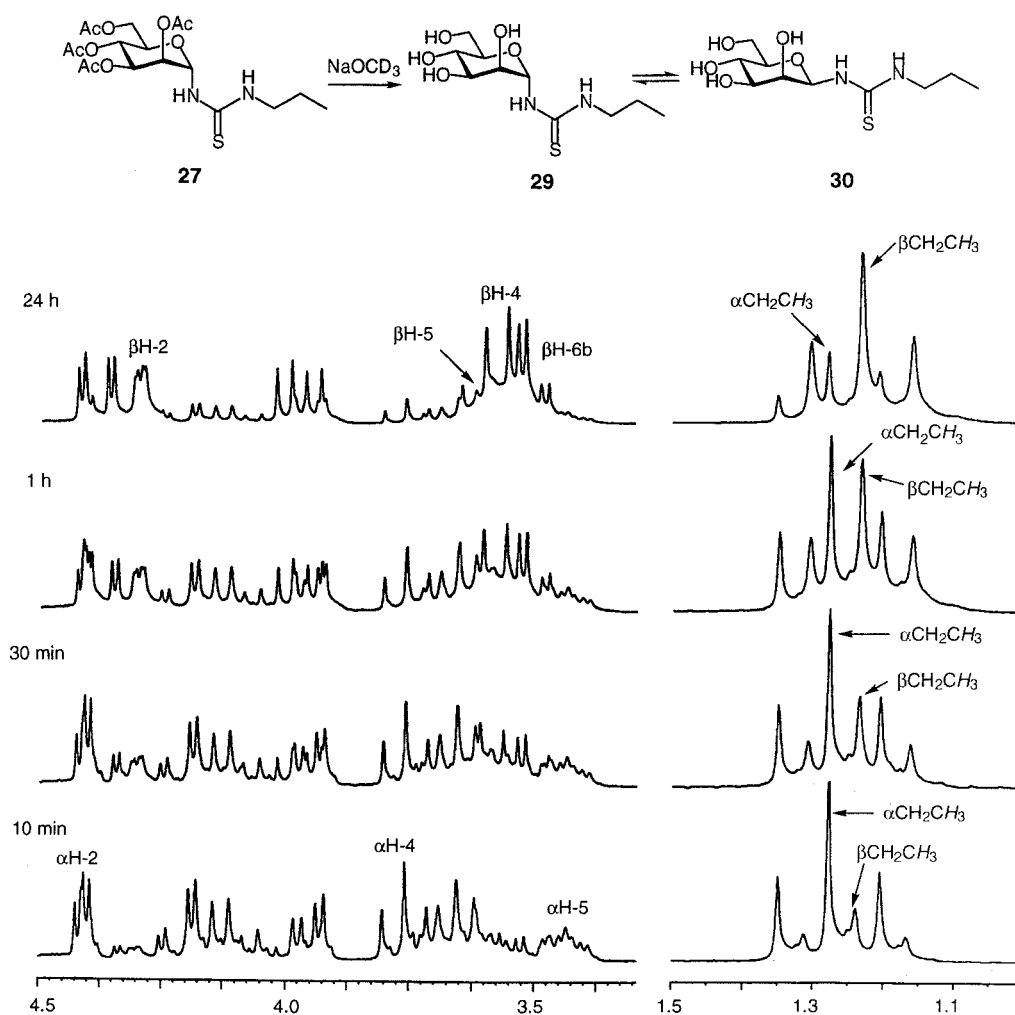


Figura 3. Seguimiento de la desacetilación del compuesto **27** a temperatura ambiente por ^1H RMN (500 MHz, MeOD)

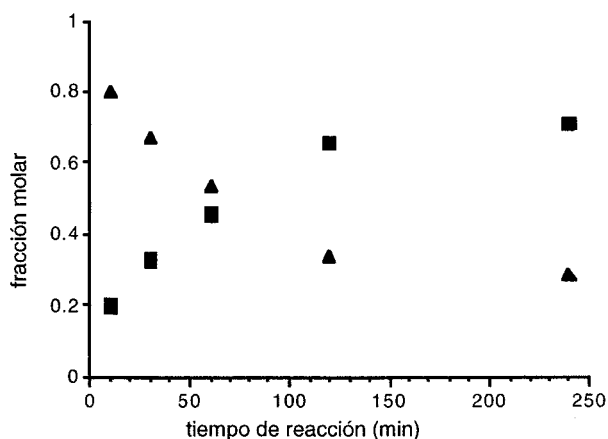


Figura 4. Fracción molar (integración de la señal de ^1H RMN a 500 MHz) de **29** (▲) y **30** (■) en la mezcla de reacción resultante de la desacetilación de **27** (0.02 M en CD_3OD) con NaOCD_3 (0.1 equiv. por mol de acetato) a 300 K.

Sin embargo, se observó que la temperatura de reacción influye fuertemente en el proceso de anomerización. Cuando la desacetilación de las D-manopiranosiltiureas **23**, **24**, **27**, **28**, **31** y **32** se llevó a cabo a 0°C no se observó epimerización después de tiempos de reacción relativamente prolongados (1 hora). La desprotección a 0°C de las tiureas acetiladas usando disoluciones 0.02 M de los productos de partida en metanol y metóxido sódico 0.04 M (0.5 equivalentes por mol de acetatos) permitió obtener, con rendimientos cuantitativos, productos anoméricamente puros después de 20 minutos de reacción (Figura 7). La configuración anomérica de las manopiranosiltiureas **25**, **26**, **29**, **30**, **33** y **34** se confirmó en todos los casos por la medida de la constante de acoplamiento C-1—H-1 ($J_{\text{C-1,H-1}}$ 164-168 Hz para anómeros α y 152-155 Hz para β) [61] (Figura 5).

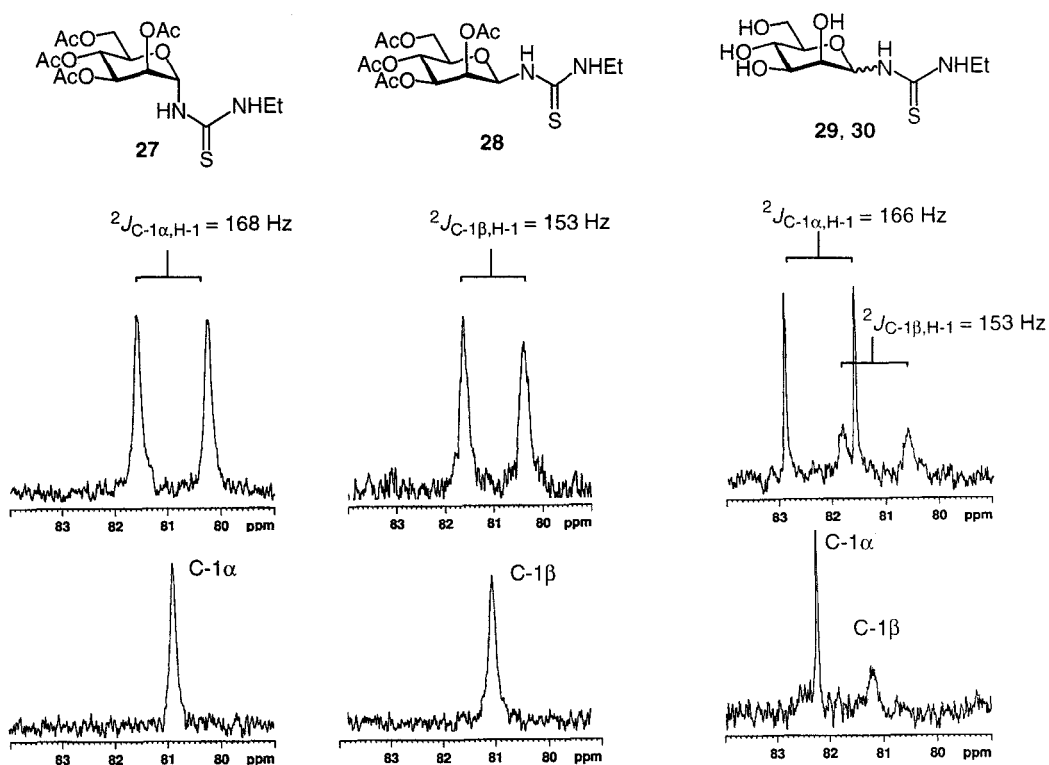
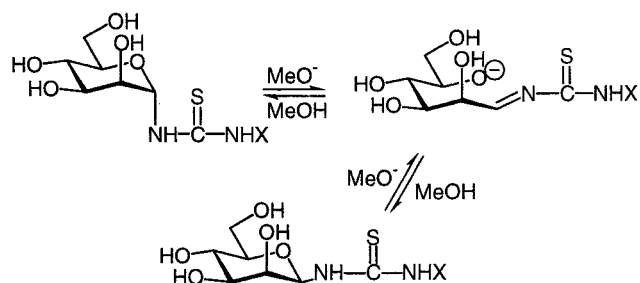


Figura 5. Espectros de ^{13}C RMN (125.7 MHz, MeOD, 300 K) acoplados (superior) y desacoplados (inferior) y constantes de acoplamiento ^1H - ^{13}C de las tioureas 27-30

Un posible mecanismo para este proceso de anomerización implicaría el equilibrio con un intermedio de cadena abierta de tipo base de Schiff, cuya formación se ve favorecida por el carácter relativamente ácido del protón de NH glicosídico [62], siguiendo un esquema análogo al propuesto para la anomerización de glicosilaminas (Esquema 14) [63]. La deslocalización de los electrones π del grupo tiourea da lugar a una cierta densidad de carga positiva en la región del NH [64], favoreciéndose una orientación ecuatorial del sustituyente tioureido debido al efecto anomérico reverso [65].



Esquema 14

En resumen, nuestros resultados muestran que el acoplamiento de glicosil isotiocianatos per-*O*-acetilados y aminoazúcares desprotegidos seguido de desacetilación catalítica, proporciona un acceso conveniente a estructuras pseudooligosacáridicas con uniones de tiourea. La reacción de anomerización observada previamente en el caso de manopiranosiltiureas puede evitarse completamente llevando a cabo la etapa final a 0 °C. En todos los casos, los compuestos finales fueron configuracionalmente estables en ausencia de base. La aplicación de esta metodología a derivados aminados de la β -CD permitiría obtener los correspondientes conjugados, adecuados para estudios de asociación con la lectina Con A.

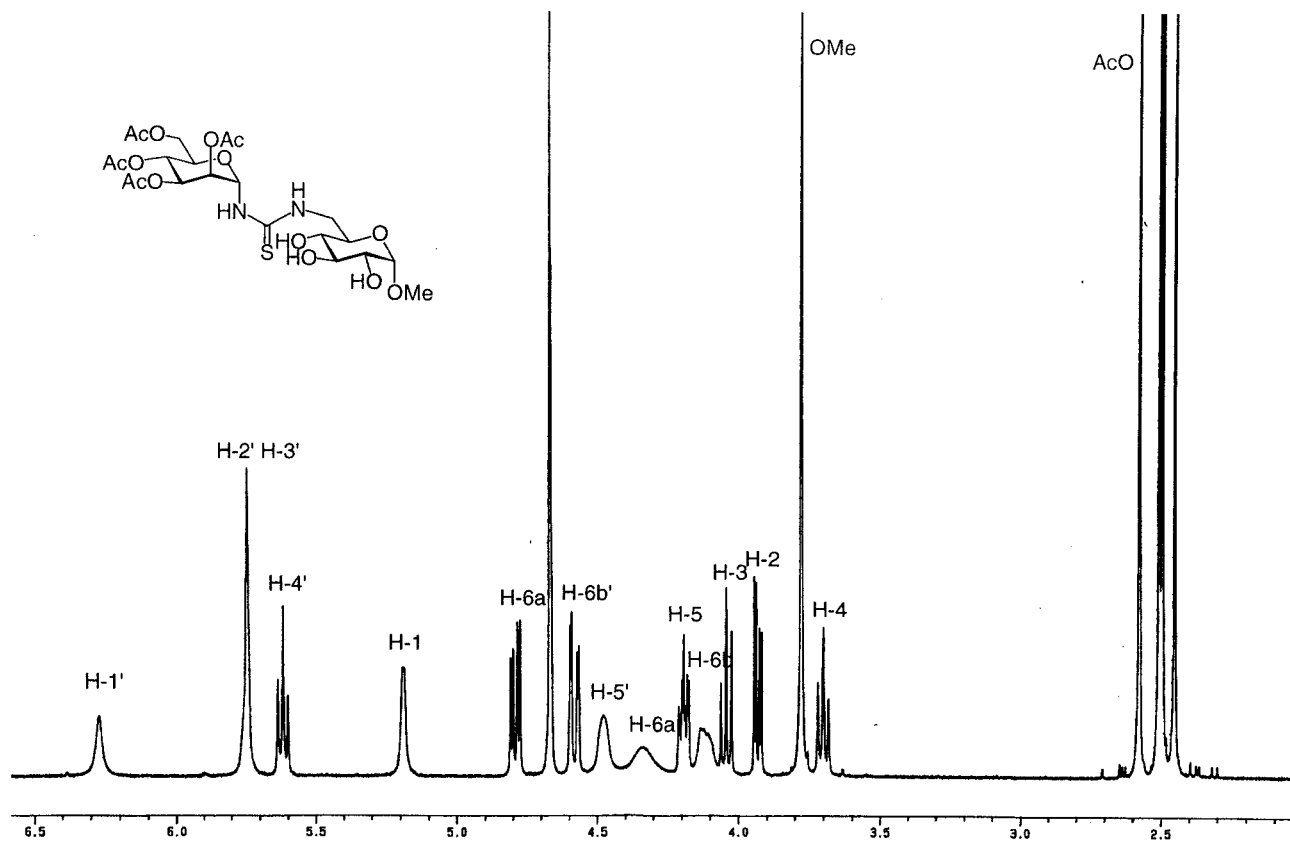


Figura 5. Espectro de ^1H RMN (500 MHz, D_2O , 343 K) del compuesto 23

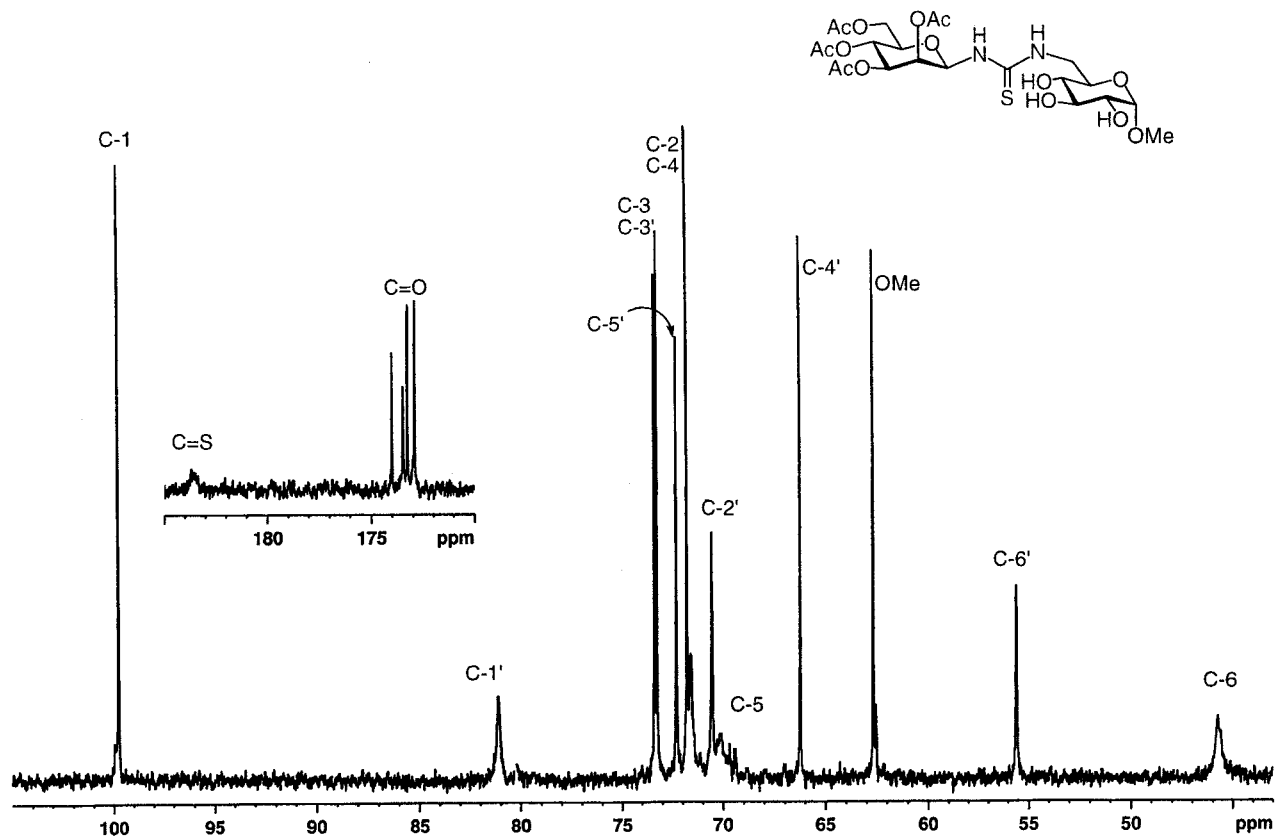


Figura 6. Espectro de ^{13}C RMN (125.7 MHz, D_2O , 343 K) del compuesto 24

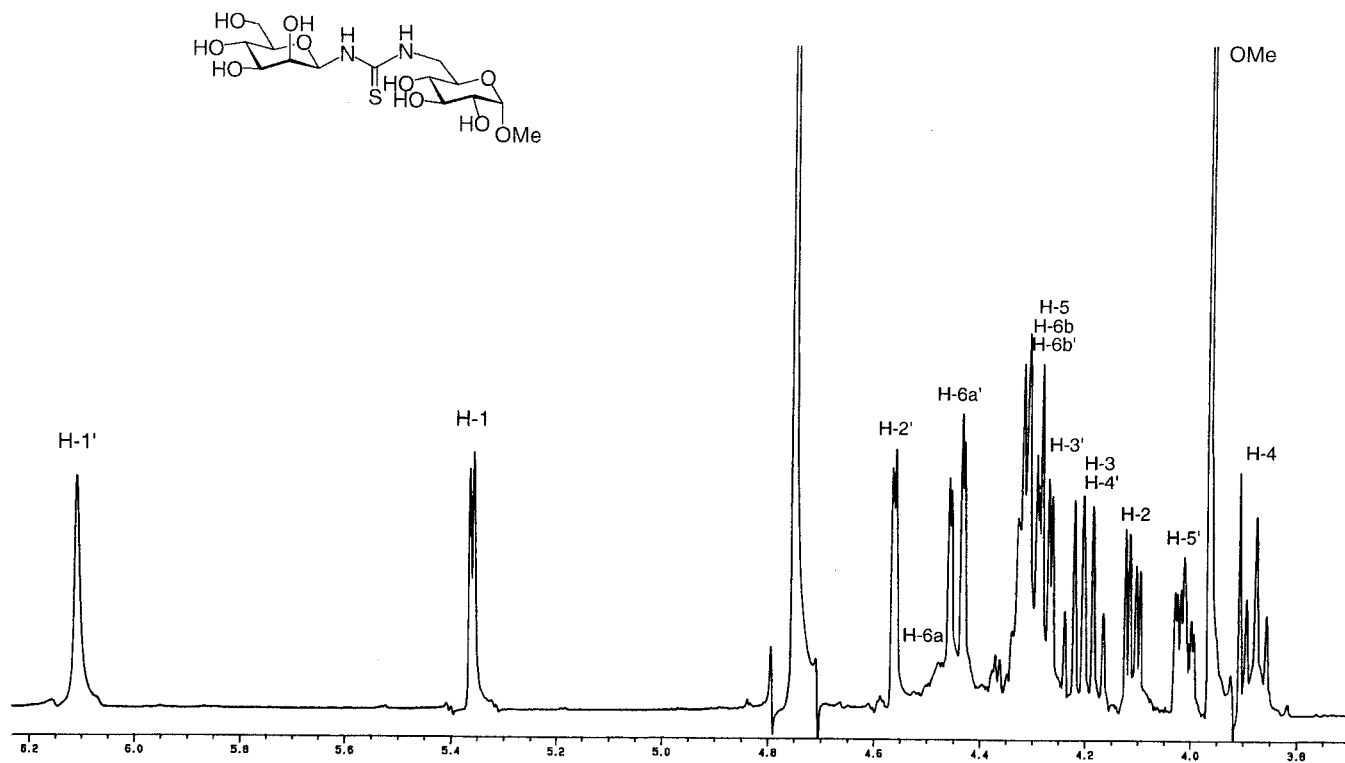


Figura 7. Espectro de ¹H RMN (500 MHz, D₂O, 333 K) del compuesto 26

2.2.3. Conjugados de tipo manosa—(tiourea)— β -CD.¹

La Concanavalina A (Con A), la lectina específica para manosa aislada de *Concanavalia ensiformis*, ha sido usada extensivamente como modelo para el estudio de interacciones carbohidrato-proteína [66]. Su asequibilidad comercial y la detallada información estructural de que se dispone la hacen especialmente adecuada para la evaluación preliminar de sistemas dirigidos a receptores de manosa, por ejemplo en macrófagos, células hepáticas, bacterias patógenas, suero sanguíneo o células de la placenta [5a, d, 67].

La Con A reconoce preferentemente α -D-manopiranosidos frente a los correspondientes anómeros β [68]. La afinidad por ligandos monosacáridicos es, en cualquier caso, baja, una situación que es bastante general para este tipo de interacciones. Los procesos de reconocimiento entre carbohidratos y proteínas implican, frecuentemente, varios contactos simultáneos entre subunidades glucídicas agrupadas en la superficie celular formando “clusters” [5a, 5d, 67, 69] y receptores protéicos que contienen múltiples sitios de reconocimiento, un fenómeno que se conoce como “efecto cluster” [2b, 3c].

La eficiencia y la especificidad de la interacción pueden depender también de la naturaleza del aglicón como resultado de interacciones secundarias inespecíficas de tipo hidrofóbico, electrónico y/o estérico [70] así como de las características geométricas de la estructura multivalente [3d]. La evaluación de estos factores para un sistema de transporte concreto constituye un requisito previo para el diseño racional de transportadores dirigidos a receptores específicos de manosas.

En el capítulo anterior se ha descrito una metodología eficaz para la preparación de glicoclusters por incorporación de mono y disacáridos sobre las posiciones primarias de la β -CD a través de puentes de tiourea [56]. Además de la capacidad para actuar como

¹ CHEMBIOCHEM 2001, en prensa.

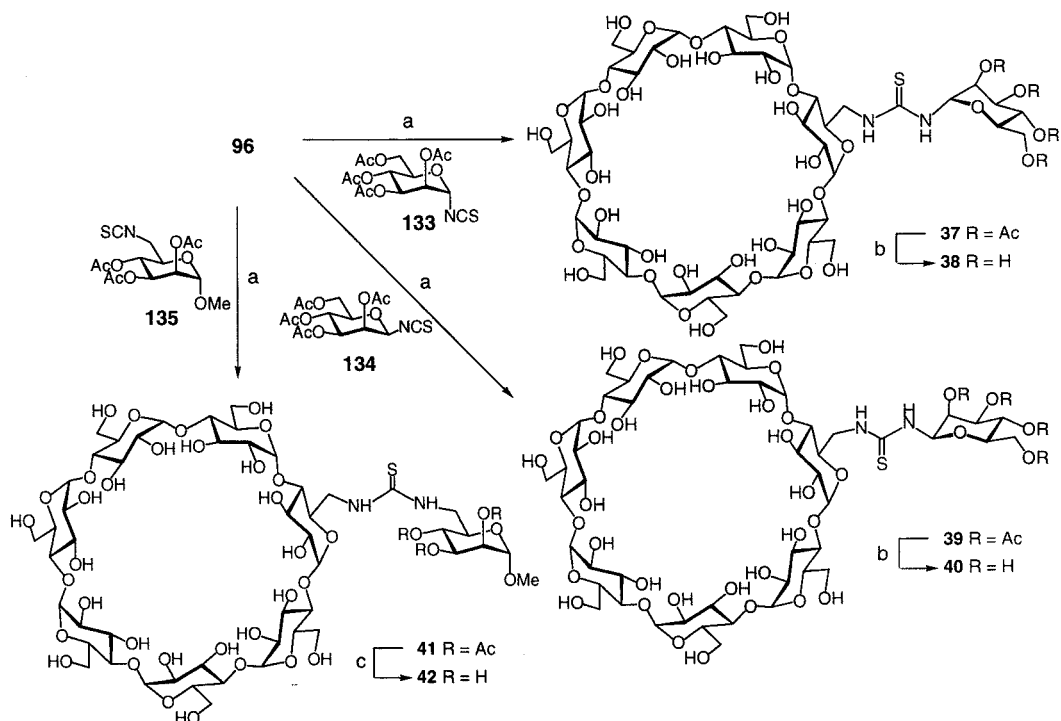
sistemas transportadores, característico de la β -CD y de sus derivados, estos sistemas presentan una elevada solubilidad en agua y un carácter hemolítico muy reducido en comparación con la β -CD. Nuestro siguiente objetivo ha sido determinar la capacidad de los nuevos conjugados para ser reconocidos por receptores específicos y, en concreto, el posible efecto de la presencia de los grupos tiourea y el núcleo central de β -CD en el proceso de reconocimiento de las antenas sacarídicas por lectinas específicas. Con este fin en esta Tesis hemos preparado una serie de neogliconjugados mono- y heptavalentes de tipo manosa—(tiourea)— β -CD así como los correspondientes aductos modelo derivados de metil α -D-glucopiranosido, y se ha evaluado su capacidad de interacción con la Con A con objeto de (i) comparar el comportamiento de sistemas de manosa—(tiourea)— β -CD que presentan diferencias en la configuración anomérica, en la posición de enlace y en la valencia, y (ii) estimar la influencia de la β -CD en la interacción con la lectina.

Además de compuestos con sustituyentes α - y β -manopiranosiltioureido, se han incluido en el estudio conjugados en los que la unidad de manosa está unida a través de la posición 6. Trabajos recientes muestran que estos ligandos de manosa “invertidos” pueden ser una alternativa prometedora para la vectorización hacia lectinas específicas de manosa [71]. La comparación de conjugados mono- y heptasustituídos en las posiciones primarias de la β -CD debe proporcionar información sobre el efecto de la densidad de ligandos en la interacción entre la proteína y el transportador.

Resultados y discusión.

Los conjugados monovalentes parcialmente acetilados **37**, **39** y **41** se obtuvieron con rendimientos prácticamente cuantitativos por adición nucleofílica de la correspondiente monoamina derivada de β -CD **96** a los isotiocianatos derivados de manosa **133**, **134** y **135** en agua/acetona a pH 8. La desacetilación posterior de las

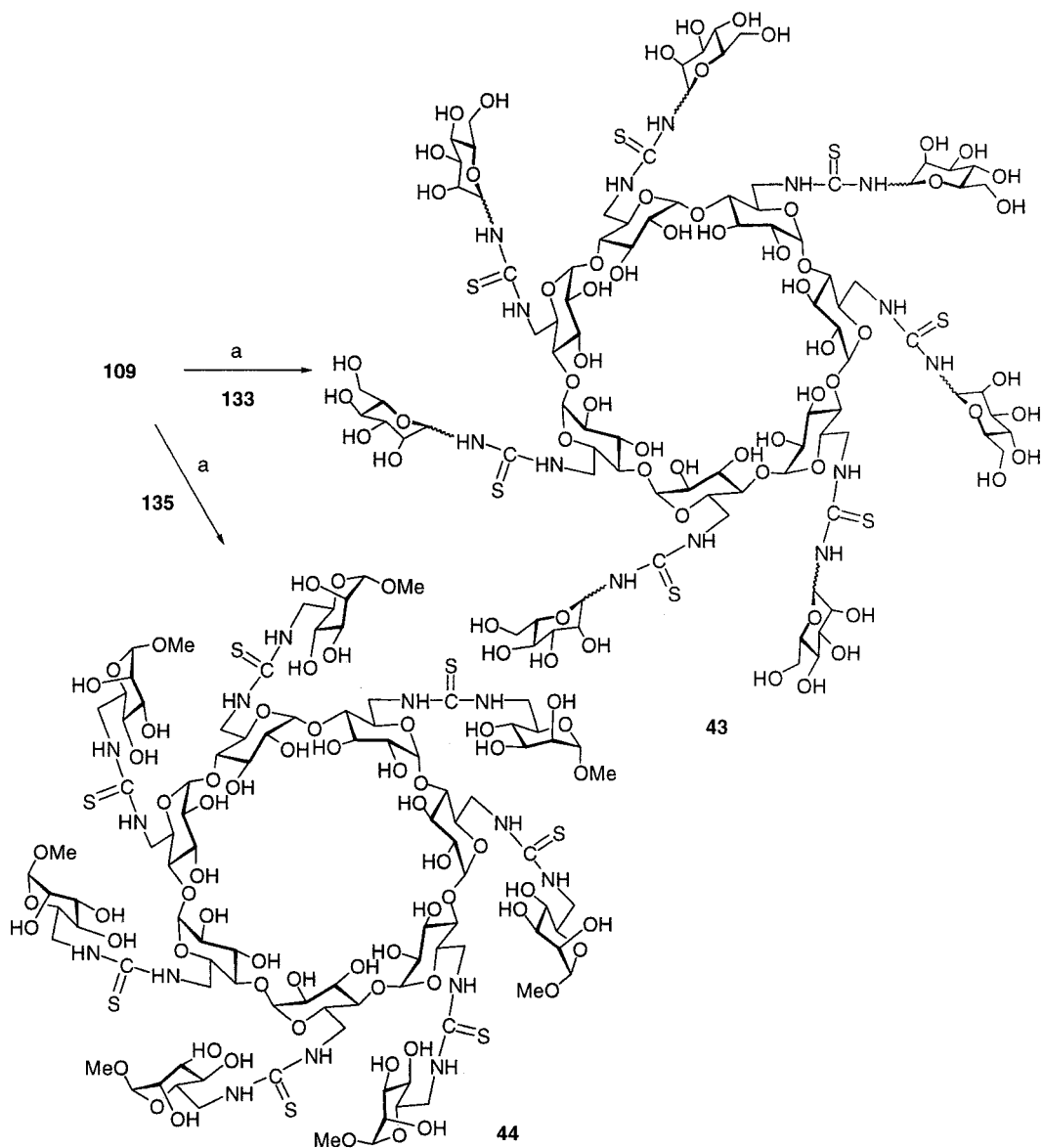
tioureas **37** y **39** para obtener los derivados monovalentes desprotegidos **38** y **40** se llevó a cabo a 0 °C para evitar la epimerización en C-1' (Esquema 15) [59b].



Esquema 15. Síntesis de conjugados monovalentes. Reactivos y condiciones: a, H₂O/acetona 1:1, pH 8 (NaHCO₃), 72-78%; b, NaOMe, MeOH, 0 °C; agua; Amberlite IR-120 (H⁺); Duolite MB 6113 (H⁺, OH⁻), cuant.; c, NaOMe, MeOH; agua; Amberlite IR-120 (H⁺); Duolite MB 6113 (H⁺, OH⁻), cuant.

En el caso del conjugado heptavalente **43**, la reacción de la heptaquis 6-amino-6-desoxiciclomaltoheptaosa **109** con los α - y β -manopiranosil isotiocianatos **133** y **134** en las condiciones anteriores se completó en 2 h, pero durante esta etapa tuvieron lugar procesos de desacetilación y anomerización. La reacción de interconversión anomérica progresó además durante la posterior desacetilación a 0 °C, por lo que con objeto de obtener una distribución anomérica termodinámica, la desacetilación se efectuó a temperatura ambiente durante 16 h. La integración de la señal de H-1' en el espectro de ¹H RMN en D₂O mostró una proporción relativa de anomeros α y β aproximadamente

igual a 1:1. El conjugado heptavalente con unión (6 \rightarrow 6) **44** se obtuvo con un 50% de rendimiento por acoplamiento de la heptaamina **109** con el desoxiisotiocianato **135** y posterior desacetilación (Esquema 16).



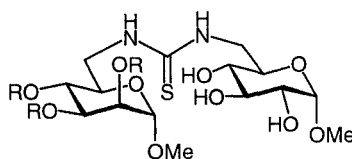
Esquema 16. Síntesis de conjugados heptavalentes. Reactivos y condiciones: a, H₂O/acetona 1:1, pH 8 (NaHCO₃), 6 h; NaOMe, MeOH; agua; Amberlite IR-120 (H⁺); Duolite MB 6113 (H⁺, OH⁻), 40-50% (global).

La rápida reacción de epimerización en C-1' de los sustituyentes manopiranosiltioureido en los neoglicoconjugados se debe posiblemente a un efecto catalítico del aglicón β -CD vecino. Para confirmar esta hipótesis se llevó a cabo un estudio comparativo de la estabilidad anomérica de los análogos pseudodisacáridicos **25** y **26** (ver Esquema 13) y los derivados de β -CD **38** y **40** [59b]. Mientras que los derivados de metil α -D-glucopiranosido son estables en disolución en D₂O en ausencia de base a temperaturas de hasta 70 °C, la anomerización de los sustituyentes manopiranosiltioureidos unidos a la β -CD fue ya evidente a 50 °C (interconversión superior a 10% en 3 h).

La estructura de los compuestos preparados se confirmó por espectroscopía de ¹H y ¹³C RMN en D₂O a 50-70 °C (Figuras 8, 9 y 10). Los espectros de ¹³C RMN mostraron la resonancia del grupo tiocarbonilo a 184-183 ppm y las señales a campo alto de los átomos de carbono unidos directamente a los grupos tiourea, confirmando así la presencia de los puentes intersacáridicos (1→6) y (6→6). La configuración anomérica de las manopiranosiltioureas **38** y **40** se estableció en base a la medida de $J_{C-1,H-1}$ (164-168 Hz para los anómeros α - y 152-155 Hz para los β -) [61]. La homogeneidad de los conjugados **37-44** se confirmó además por datos microanalíticos y de espectrometría de masas (FAB o MALDI).

La afinidad de los conjugados preparados hacia la lectina Concanavalina A se evaluó siguiendo el protocolo ELLA (*Enzyme Linked Lectin Assay*) [72]. Los ensayos tipo ELLA son una modificación del ensayo ELISA en el que se evalúa la capacidad de un ligando en disolución para inhibir la adhesión de una lectina a un ligando de referencia inmovilizado en la superficie de una placa de microvaloración. La extensión de la inhibición se determina espectrofotométricamente midiendo la cantidad de lectina marcada con una peroxidasa adherida al ligando de referencia. En este caso hemos empleado Concanavalina A marcada con la peroxidasa de rábano picante y la cantidad de proteína adsorbida se cuantificó por adición de la sal diamónica del ácido 2,2-azinobis(3-

etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS), que es un sustrato de dicha enzima y que origina un cromóforo que absorbe a 414 nm. Los ensayos ELLA permiten determinar los valores de IC_{50} para la inhibición de la afinidad de la Concanavalina A marcada con peroxidasa hacia un manano de levadura inmovilizado [73]. Como compuestos de referencia se usaron los pseudodisacáridos unidos por puente de tiourea α -(1 \rightarrow 6) **25**, β -(1 \rightarrow 6) **26** y (6 \rightarrow 6) **36**. Las dos primeras se prepararon tal como se comentaron en el apartado anterior (Esquema 13). El compuesto **36** se sintetizó siguiendo un esquema paralelo por reacción del metil 6-amino-6-desoxi- α -D-glucopiranosido **132** y el metil 6-desoxi-6-isotiocianato-2,3,4-tri-*O*-acetil- α -D-manopiranosido **135** [60], seguido de desacetilación del aducto **35**.



35 R = Ac

36 R = H

Previamente a la evaluación de los nuevos conjugados, confirmamos que ningún fragmento estructural diferente de las subunidades de manosa influencia por sí solo la asociación entre la lectina y el manano. Por ejemplo, ni la β -CD ni su derivado 6^l-desoxi-6^l-(*N'*-metiltioureydo) **13** [56] afectó este proceso. Aunque es conocido que la Con A reconoce el metil α -D-glucopiranosido con una eficiencia diez veces menor que el correspondiente manopiranosido [74], el metil 6-desoxi-6-(*N'*-metiltioureydo)- α -D-glucopiranosido [40a] no interfirió en el ensayo ELLA en concentraciones de hasta 5 mM.

Las curvas de inhibición se construyeron a partir de ensayos realizados por triplicado. Las desviaciones en los valores de IC_{50} en experimentos independientes estuvieron en el rango de $\pm 15\%$. No obstante, los valores relativos en series independientes de datos fueron altamente reproducibles.

En contraste con la α -selectividad de la Concanavalina A en la serie *O*-glicosídica [68], en el caso de las manopiranosiltioureas anoméricas no se observaron diferencias significativas. Los valores de IC_{50} de **25** y **26** (1350 y 1365 μ M, respectivamente) son mayores que el del metil α -D-manopiranosido (870 μ M) indicando una pérdida moderada de afinidad por la lectina [73a, 74]. El pseudodisacárido unido por un puente de tiourea (6 \rightarrow 6) **36** mostró una afinidad mucho menor por la lectina, observándose sólo un 45.1% de inhibición a la mayor concentración estudiada (4.2 mM).

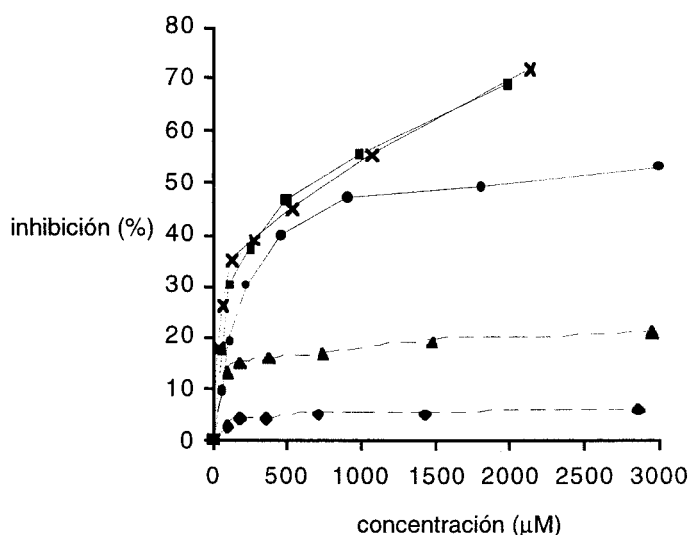


Figura 6. Inhibición de la afinidad entre la Concanavalina A marcada con peroxidasa y el manano de levadura en función de la concentración de conjugados manosa— β -CD monovalentes (línea continua) y heptavalentes (línea de puntos). x: **38**. ■: **40**. ●: **42**. ▲: **43**. ◆: **44**.

Los resultados de los estudios de inhibición para los conjugados manosa— β -CD se muestran en la Figura 6. Las curvas de inhibición para los ligandos monovalentes **38**, **40** y **42** presentaron una tendencia similar a la de los pseudodisacáridos homólogos. No se observó selectividad anomérica entre los aductos α y β , mientras que el derivado (6 \rightarrow 6) **42** mostró una fuerte disminución en su afinidad. Sin embargo, los valores de IC_{50} (800,

780 y 2000 μ M, respectivamente) son indicativos de una capacidad de reconocimiento por la Con A 85-90% más alta que la de los derivados de metil α -D-glucopiranosido **25**, **26** y **36**. Sin embargo, contrariamente a lo que cabría esperar, los conjugados heptavalentes **43** y **44** mostraron una afinidad por la Concanalina A prácticamente nula (22% de inhibición a 3.2 mM y 14% de inhibición a 2.9 mM, respectivamente) (Tabla 1).

Tabla 1: Valores de IC₅₀ (μ M) para la inhibición de la unión de Con A.

Compuesto	IC ₅₀ (μ M)	% Inhibición (c = 1 mM)
25	1350	46
26	1365	48
36	>4200 ^c	38
38	800	56
40	780	58
42	2000	46
43	>3200 ^a	18
44	>2900 ^b	4

^a22% de inhibición a 3.2 mM, ^b14% de inhibición a 2.9 mM,

^c45% de inhibición a 4.2 mM.

La disminución de la afinidad en comparación con los correspondientes *O*-glicósidos y la pérdida de selectividad anomérica de las manopiranosiltiureas puede atribuirse a la presencia del grupo funcional tiourea, ya que los disacáridos que contienen unidades de manosa unidas por enlaces α -(1 \rightarrow 6) muestran una capacidad de reconocimiento similar a la del metil α -D-manopiranosido [75]. Posiblemente, los protones de NH pseudoamídicos, con una elevada capacidad donadora de enlace de hidrógeno [39b] afectan a la interacción entre el hidroxilo vecinal OH-2 y una molécula

de agua que existe en la estructura del complejo manosa—Concanavalina A tanto en disolución [76] como en estado sólido [77]. La marcada disminución en la afinidad observada al reemplazar el hidroxilo primario sobre el carbono 6 por un puente de tipo tiourea confirma la implicación de éste último en enlaces de hidrógeno con residuos del sitio de reconocimiento de la lectina.

La mayor afinidad de los conjugados monovalentes manosa— β -CD **38**, **40** y **42** en comparación con los pseudodisacáridos correspondientes **25**, **26** y **36** debe asociarse a una interacción estabilizante adicional entre la ciclodextrina y los residuos de la superficie de la proteína una vez formado el complejo. La comparación de los valores de IC_{50} permite estimar la contribución de la interacción Con A— β -CD en -0.35 Kcal mol⁻¹ en las condiciones experimentales de los ensayos ELLA [73a].

La pérdida de la afinidad por la lectina a pesar de la mayor concentración local de ligandos manosilados en el caso de los conjugados heptavalentes **43** y **44** es notable. En general, los derivados multivalentes de manosa presentan afinidades aparentes hacia la concanavalina A, en forma tetramérica, mayores que los que pueden racionalizarse en base exclusivamente a la valencia. La precipitación de complejos tridimensionales entrecruzados o la agregación de la lectina en disolución están en el origen de este “efecto multivalente” [78]. El hecho de que la Con A usada en los ensayos ELLA se encuentre marcada con la peroxidasa, lo que probablemente impide la formación de agregados ordenados durante la asociación, puede cancelar este efecto. En cualquier caso, asumiendo parámetros termodinámicos equivalentes a los de los análogos monovalentes, cabría esperar un aumento de siete veces en la afinidad de **43** y **44** en comparación con **25**, **26** ó **36**. La caída observada en la inhibición de la asociación Con A-manano probablemente se debe al impedimento estérico del cluster manosilado para acceder al sitio de unión [79] debido a su orientación convergente sobre el anillo menor de la β -CD. Estos resultados concuerdan con los datos publicados recientemente sobre cambios en la selectividad de asociación de carbohidratos para la lectina de *Bauhinia purpurea* a altas concentraciones superficiales [25b, 80], apoyando la hipótesis de que el nivel de

expresión de los carbohidratos de la superficie celular pueda modular procesos biológicos por mecanismos más complejos que los del modelo “desactivado-activado” (baja densidad-alta densidad) previamente considerado.

En resumen, estos resultados demuestran que la Con A no discrimina entre ligandos de tipo α - y β -manopiranosiltiourea, lo que descarta una disminución en la eficacia debido a posibles reacciones de anomerización. Los ligandos manosilados unidos por la posición primaria C-6 no son indicados para la vectorización dada su baja afinidad. Aunque la presencia del grupo tiourea disminuye ligeramente la eficacia de la asociación con la Con A en comparación con *O*-manopiranosidos, este efecto está compensado en los conjugados de la β -CD por interacciones estabilizantes adicionales. La persustitución de la β -CD en su cara primaria bloquea sin embargo el proceso de reconocimiento. Cabe esperar, de acuerdo con resultados nuestros* y de otros laboratorios [81] que la introducción de espaciadores suficientemente largos y flexibles redunde en un aumento de la capacidad de reconocimiento por la lectina. No obstante, la heptasustitución puede dificultar los procesos de inclusión y estabilización de moléculas huésped potenciales. Una solución a esta disyuntiva, que resulte en una mejora de las propiedades de estos sistemas para su uso como transportadores específicos de medicamentos, podría ser la monoconjugación del núcleo de β -CD con marcadores sacarídicos multivalentes. Nuestros resultados en este sentido, aprovechando la estrategia basada en la formación de uniones de tiourea, se comentan en el siguiente apartado.

* De acuerdo con nuestros resultados, la heptasustitución en la β -CD origina una disminución del 10-20% en la capacidad de solubilización de Taxotère®.

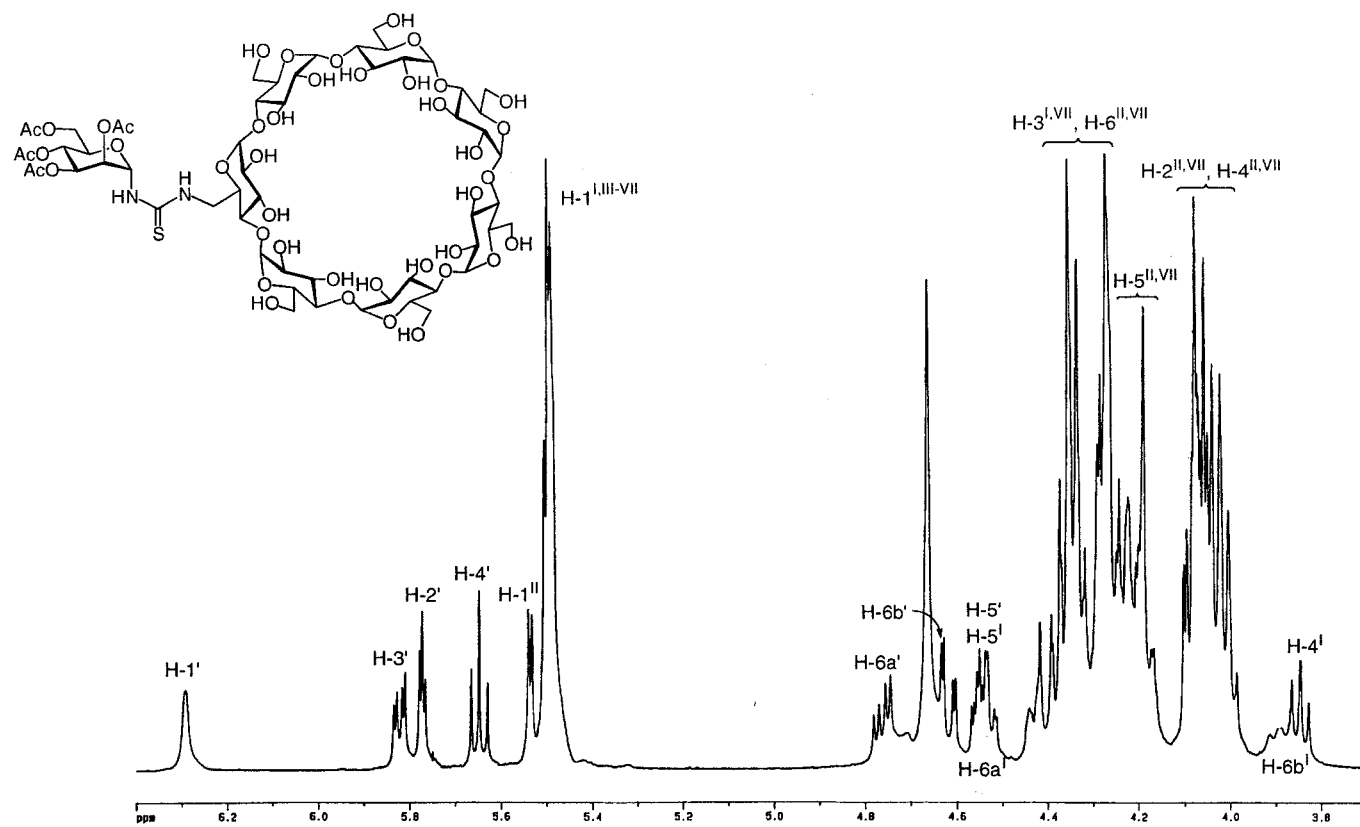


Figura 8. Espectro de ^1H RMN (500 MHz, D_2O , 343 K) del compuesto 37

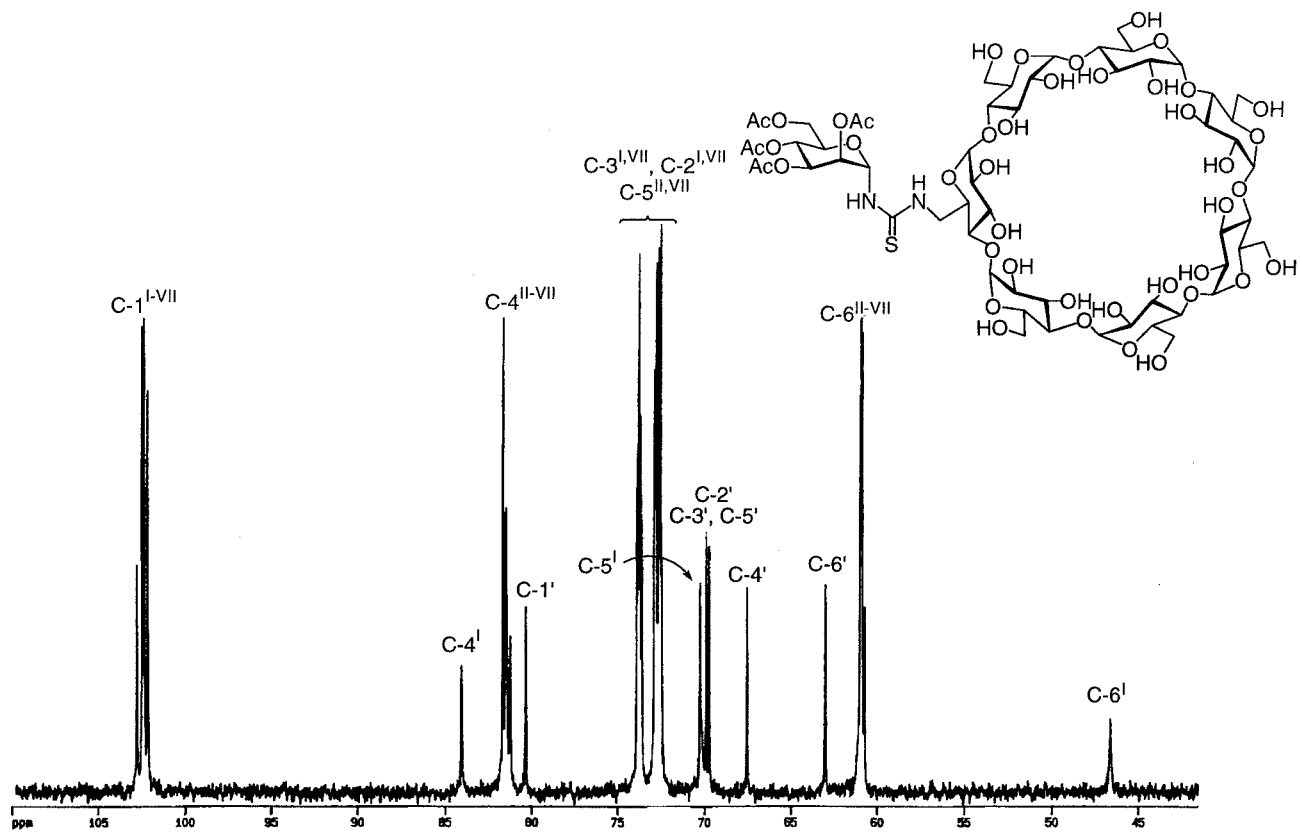


Figura 9. Espectro de ^{13}C RMN (125.7 MHz, D_2O , 343 K) del compuesto 37.

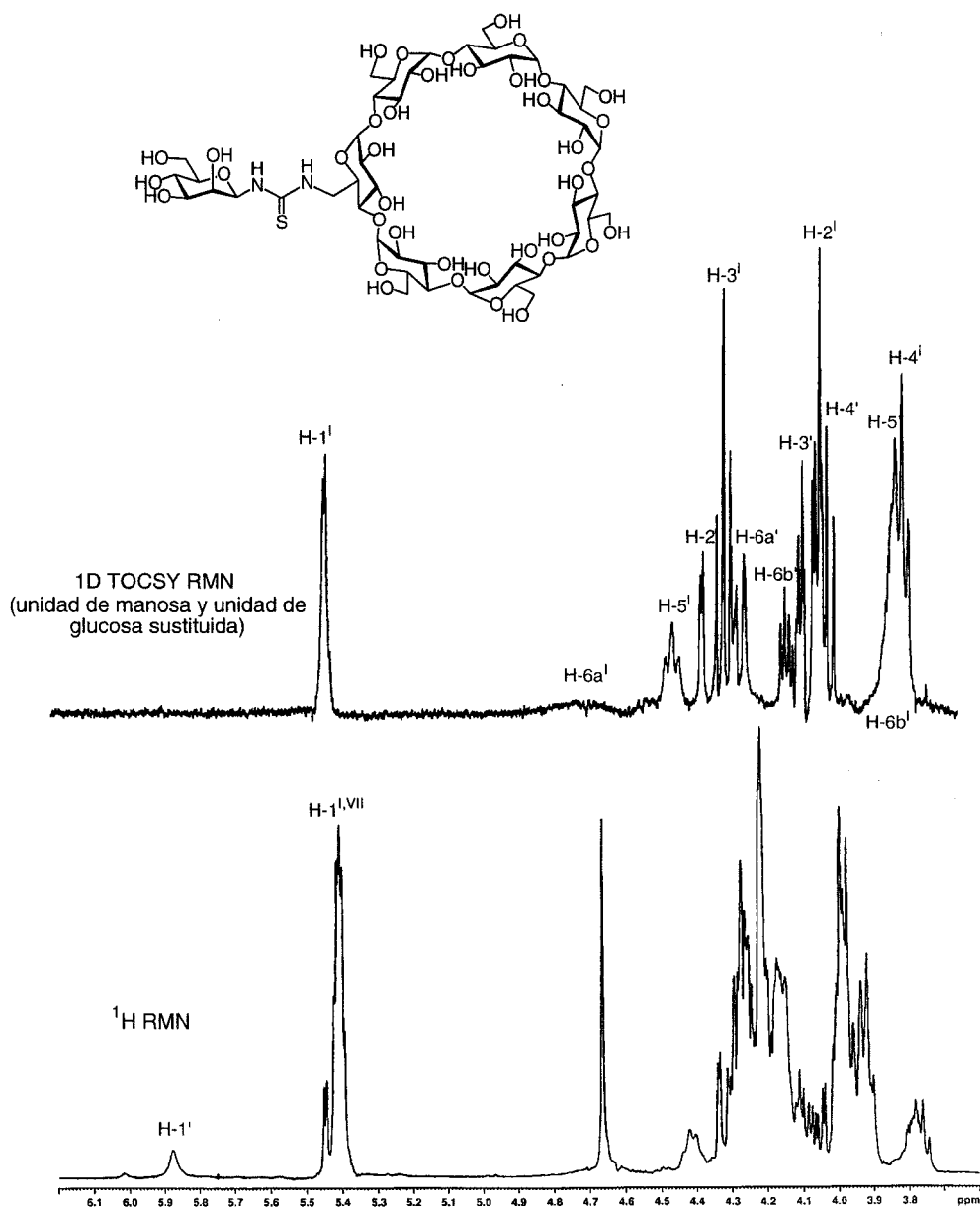


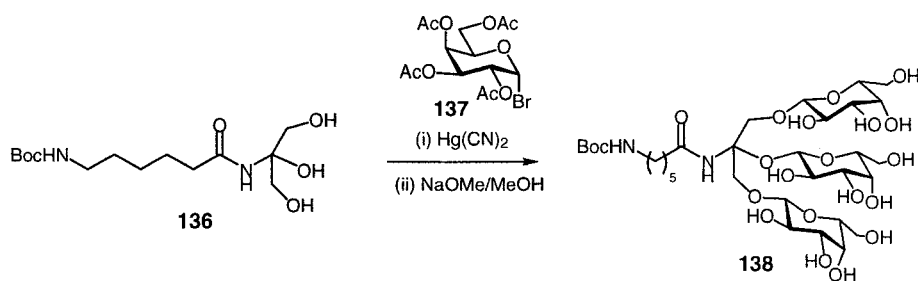
Figura 10. Espectros de ^1H RMN y 1D TOCSY (500 MHz, D_2O , 343 K) del compuesto 40

2.2.4. Ciclodextrinas dendríticas.¹

De los resultados expuestos en los apartados anteriores se deduce que la persustitución con marcadores sacarídicos en el anillo primario de las CDs presenta ventajas desde el punto de vista biológico respecto a los conjugados monovalentes, siempre que se empleen espaciadores de longitud suficiente que garanticen el acceso a la región de reconocimiento. Sin embargo, la heptasustitución dificulta el proceso de inclusión y la solubilización del fármaco.

Un diseño eficaz de sistemas transportadores de fármacos basados en CDs debe combinar las ventajas de la monosustitución y la multivalencia de modo que se conserve la capacidad de complejación de la CD nativa y se potencie la interacción de los motivos de reconocimiento con el receptor biológico (CRDs). La aproximación sintética ha de permitir, además, la modificación del número y la naturaleza del carbohidrato, del tipo de unión y de la longitud y la flexibilidad del espaciador [82]. Un análisis de las estrategias de síntesis más frecuentemente utilizadas para la preparación de glicoconjugados multivalentes con estructura definida (glicoclusters y glicodendrimeros) permite identificar, en principio, hasta cuatro aproximaciones susceptibles de satisfacer los requerimientos mencionados:

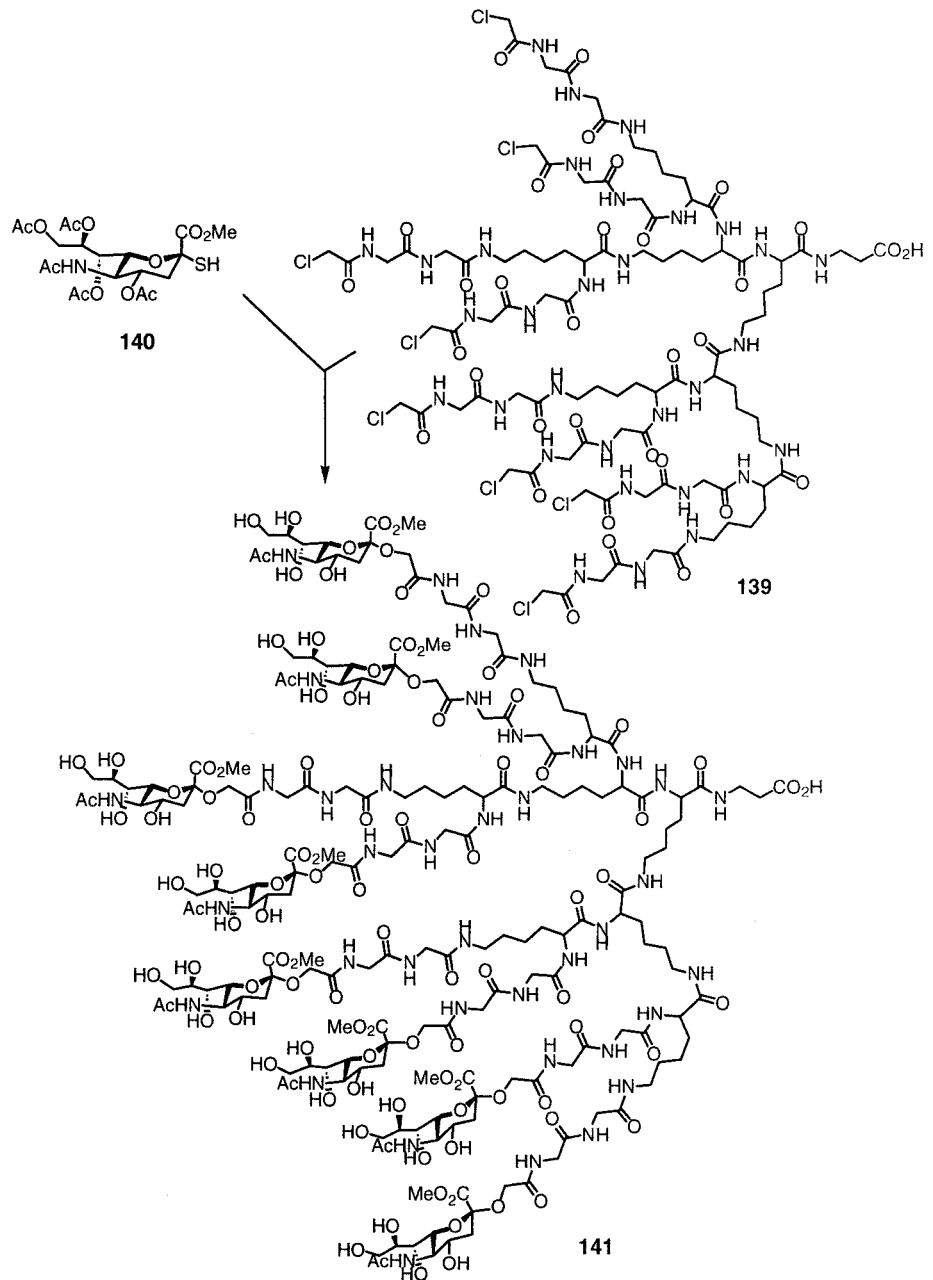
(i) Glicosilación de polioles ramificados [83] (Esquema 17).



Esquema 17. Síntesis de dendrones galactosilados por glicosilación de tris(hidroximetil)metilamina (TRIS).

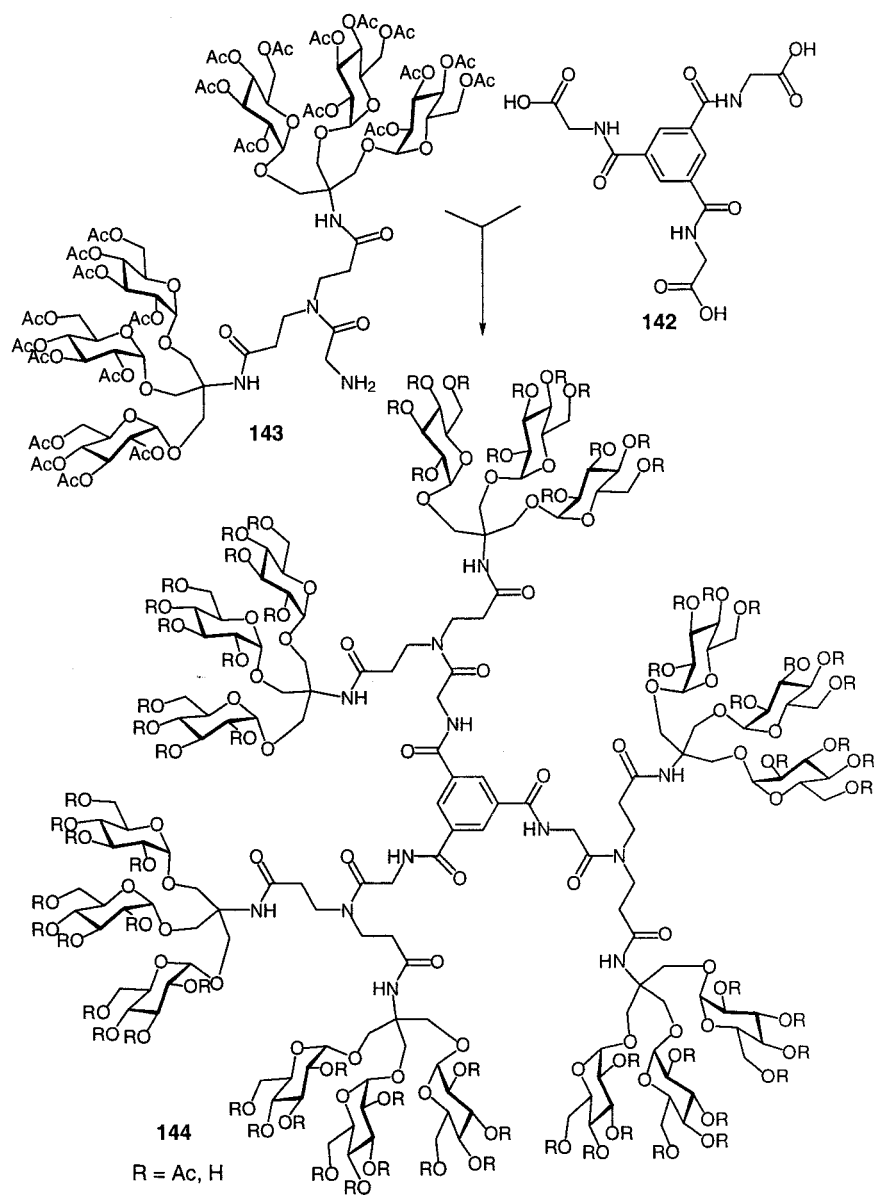
¹ *Chem. Commun.* **2000**, 1489-1490

(ii) Desplazamiento nucleofílico de moléculas cloroacetiladas [84] (Esquema 18).



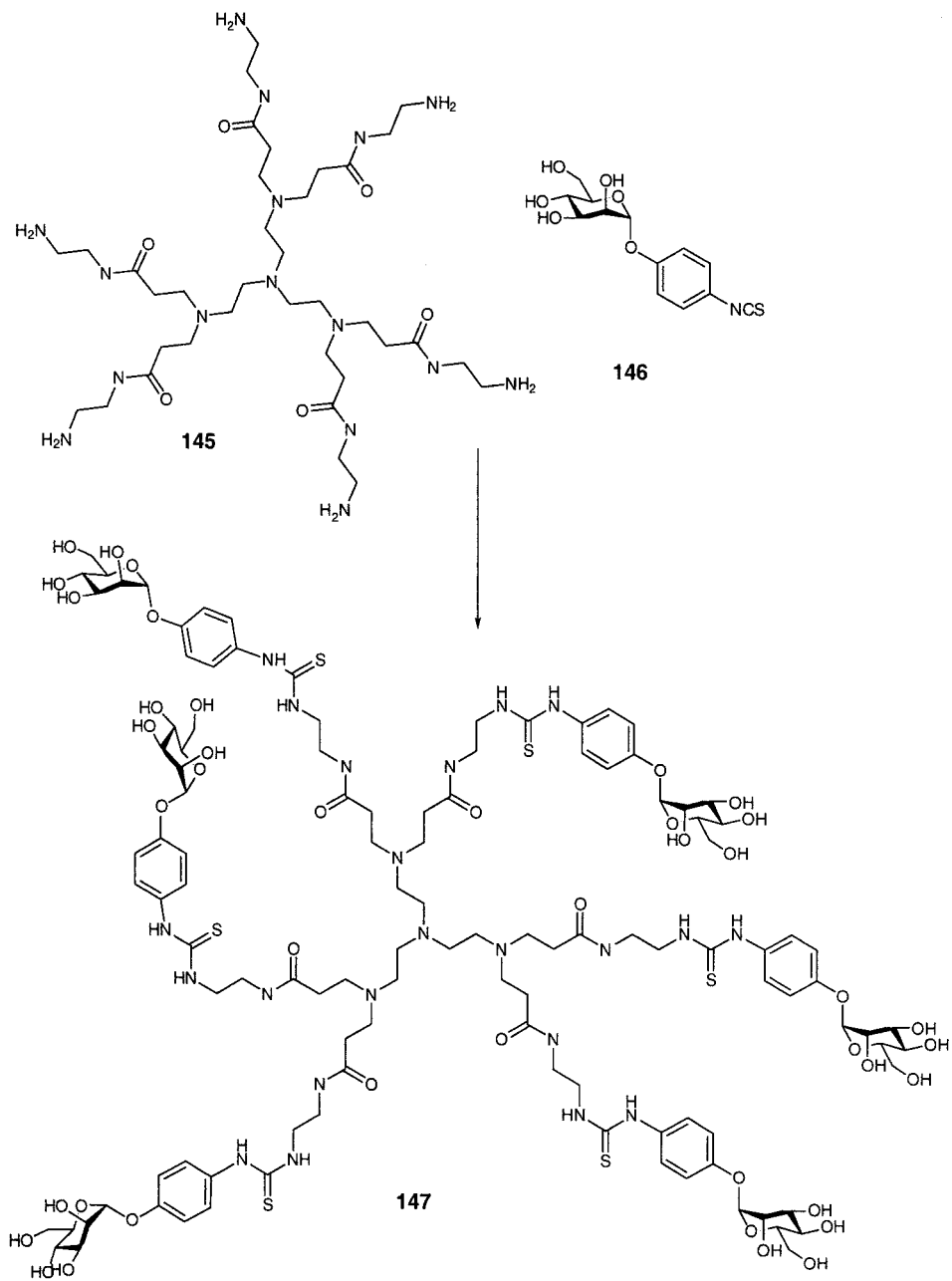
Esquema 18. Síntesis de glicodendrimeros con núcleo de poli-L-lisina por desplazamiento nucleofílico.

(iii) Formación de enlaces peptídicos [85] (Esquema 19).



Esquema 19. Síntesis de un dedrímtero 18-manosilado basado en el 1,3,5-tricarbonilbenceno por enlace peptídico.

(iv) Formación de derivados de tipo tiourea [86] (Esquema 20).



Esquema 20. Síntesis de dendrímeros manosilados basados en PAMAM con puentes de tiourea.

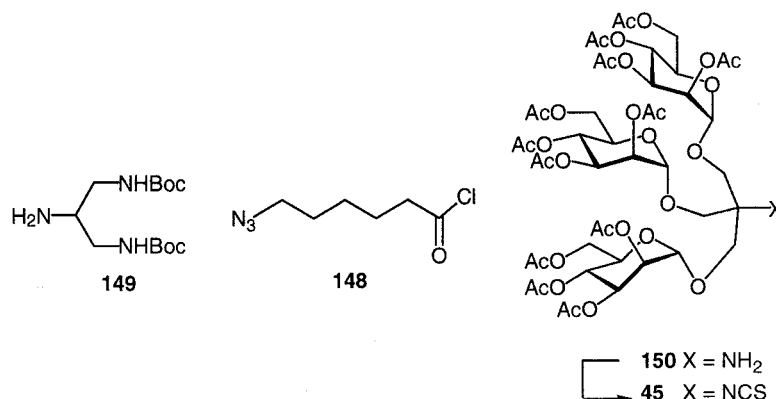
Esta última aproximación resulta especialmente atractiva en nuestro caso. Por una parte, los resultados comentados en los apartados anteriores demuestran la eficacia de la reacción de acoplamiento entre derivados aminados de la β -CD e isotiocianatos. La introducción de un elemento de ramificación derivado de una poliamina permitiría aumentar progresivamente el número de terminaciones dendríticas susceptibles de reaccionar con isotiocianatos sacarídicos. Alternativamente, pueden construirse dendrones glicosilados que posean un grupo isotiocianato terminal que permita su acoplamiento final a la ciclodextrina. Ambas aproximaciones, divergente y convergente, permitirían la incorporación de marcadores multivalentes (por ejemplo del tipo de **138**) y de elementos de ramificación (por ejemplo, mediante la reacción de formación de enlaces peptídicos). Basados en esta estrategia, nos hemos propuesto la preparación de glicodendrimeros manosilados con puentes de tiourea para su acoplamiento a CDs monosustituídas como un nuevo tipo de neoglicoconjugados multivalentes.

Resultados y discusión.

Para la preparación de las ciclodextrinas dendríticas empleadas en esta Tesis se han examinado las metodologías sintéticas convergente y divergente teniendo como etapa clave, en ambos casos, la formación de un grupo tiourea. Como en el caso de los trabajos comentados en apartados anteriores, junto a los conjugados de la β -CD se han preparado los análogos derivados del metil α -D-glucopiranosido con objeto de disponer de modelos adecuados para la puesta a punto de las reacciones, la asignación de los espectros de RMN, y el análisis comparativo de los estudios de reconocimiento por la Con A.

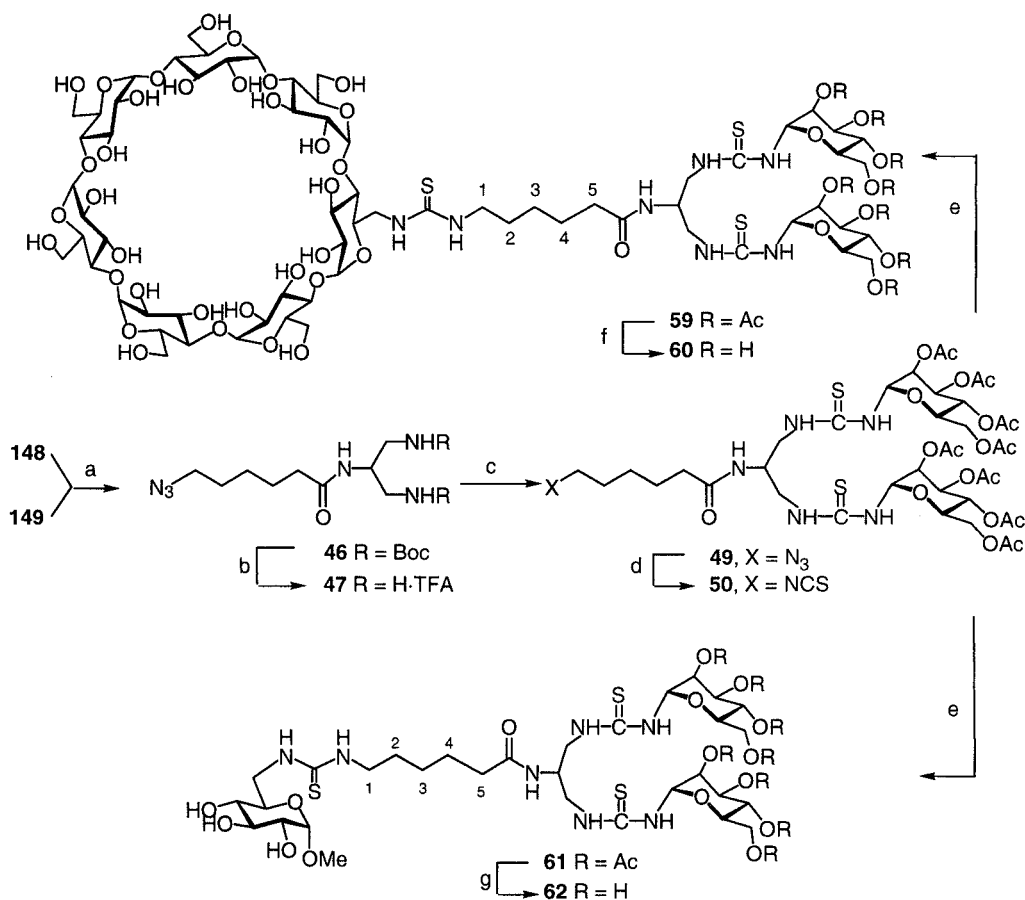
Los elementos de base que hemos utilizado para la preparación de los nuevos derivados de β -CD monosustituídos y multivalentes son la 6^l-amino-6^l-desoxi- β -CD **96**, el cloruro de 6-azidohexanoilo **148** como espaciador [87] y el 2-amino-1,3-di-*terc*-butoxicarbonilaminopropano **149** como elemento de ramificación [88]. Además del

2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-manopiranosil isotiocianato **133**, hemos preparado el marcador trivalente **45** (*Figura 11*) por isotiocianación de la correspondiente amina **150** [73d] con tiofosgeno. Con todas estas unidades de base hemos preparado una serie de neoglicoconjugados manosilados di, tri, tetra, y hexavalentes y hemos evaluado su afinidad por la Con A.



(a) Neoglicoconjugados divalentes.

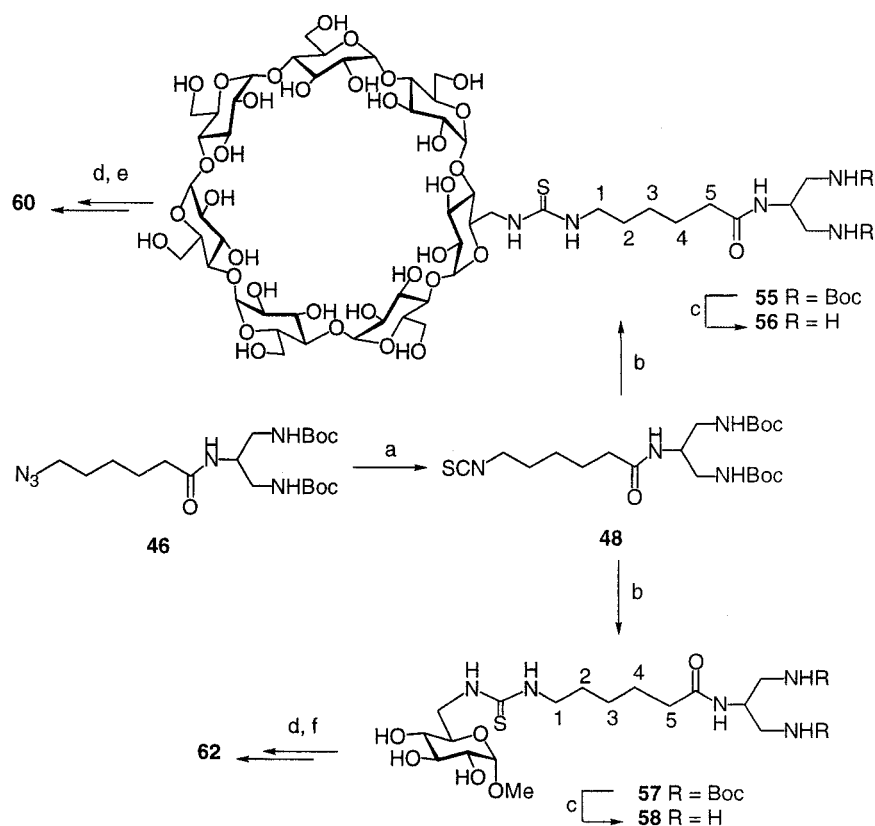
La preparación de neoglicoconjugados dimanosilados se describe en los Esquemas 21 y 22. La reacción de amidación entre **148** y **149** en DMF/colidina condujo al derivado **46** que, tras hidrólisis ácida de los grupos carbamato, conduce a la diamina **47** con rendimiento prácticamente cuantitativo. La posterior reacción de acoplamiento entre **47** y el manopiranosil isotiocianato **133** en piridina proporciona el aducto dimanosilado **49**, que se transformó en el isotiocianato **50** por reacción tipo aza-Wittig usando el sistema trifenilfosfina/disulfuro de carbono. Además de ser un precursor directo para la preparación de neoglicoconjugados divalentes, en una estrategia de tipo convergente, el isotiocianato **50** es también un intermedio clave para la síntesis de glicodendrimeros de generaciones sucesivas, como se describe más adelante.



Esquema 21. Ruta convergente de síntesis de **60** y **62**. Reactivos y condiciones: a, DMF/Colidina 1:1, -25 °C, 96%; b, TFA/H₂O 1:1, t.a., 1 h, cuant.; c, +**133**, piridina, t.a., 24 h, 82%; d, TPP, CS₂, dioxano, t.a., 2 d, 72%; e, + **96** o **132**, acetona/H₂O 1:1, pH 8 (NaHCO₃), 12-16 h, 45-80%; f, NaOMe/MeOH, 0 °C; H₂O; Amberlite IR-120 (H⁺); Duolite MB 6113 (H⁺, OH⁻), cuant.; g, NaOMe/MeOH, 0 °C; Amberlite IR-120 (H⁺), cuant.

La reacción de **50** con la monoamina de la β-CD **96** o con el derivado del metil α-D-glucopiranosido **132** en agua/acetona a pH 8 permite acceder a los correspondientes aductos parcialmente acetilados **59** y **61**, que por desacetilación a 0 °C siguiendo el procedimiento previamente comentado para manopiranosiltiureas conducen a los compuestos desprotegidos finales **60** y **62**, respectivamente (Figura 12, 13 y 14).

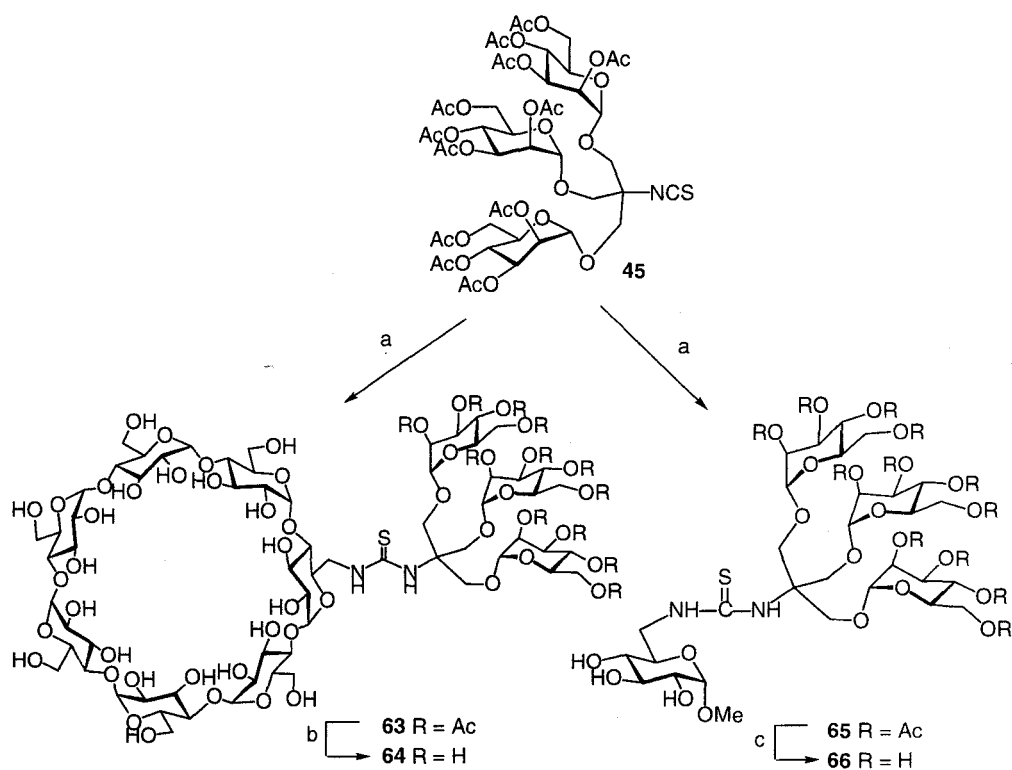
La preparación de **60** y **62** se ha realizado también siguiendo una aproximación divergente, llevando a cabo primero el acoplamiento del isotiocianato **48**, obtenido por reacción de aza-Wittig a partir de **46**, con las monoaminas **96** y **132** (\rightarrow **55** y **57**, respectivamente) seguido de hidrólisis de los grupos carbamato (\rightarrow **56** y **58**), incorporación de los marcadores manosilados y desacetilación (Esquema 22). Los rendimientos globales fueron comparables en uno y otro caso.



Esquema 22. Ruta divergente de síntesis de **60** y **62**. Reactivos y condiciones: a, TPP, CS_2 , t.a., 1 d, 79%; b, + **96** o **132**, piridina ; c, TFA/ H_2O 1:1, t.a., 2 h, cuant.; d, +**133**, H_2O /acetona 1:1, pH 8 (NaHCO_3), t.a., 64%; e, NaOMe/MeOH, 0 °C; H_2O ; Amberlite IR-120 (H^+); Duolite MB 6113 (H^+ , OH^-), cuant.; f, NaOMe/MeOH, 0 °C; Amberlite IR-120 (H^+), cuant.

(b) Neogliconjugados trivalentes.

La preparación de los conjugados trivalentes de β -CD y de metil α -D-glucopiranosido **64** y **66** se realizó por acoplamiento de las correspondientes aminas **96** y **132** con el isotiocianato **45** en piridina y posterior desacetilación (Esquema 23). En este caso, al no existir subunidades de manopiranosiltiurea en los aductos, esta última etapa puede efectuarse a temperatura ambiente sin riesgo de epimerización.



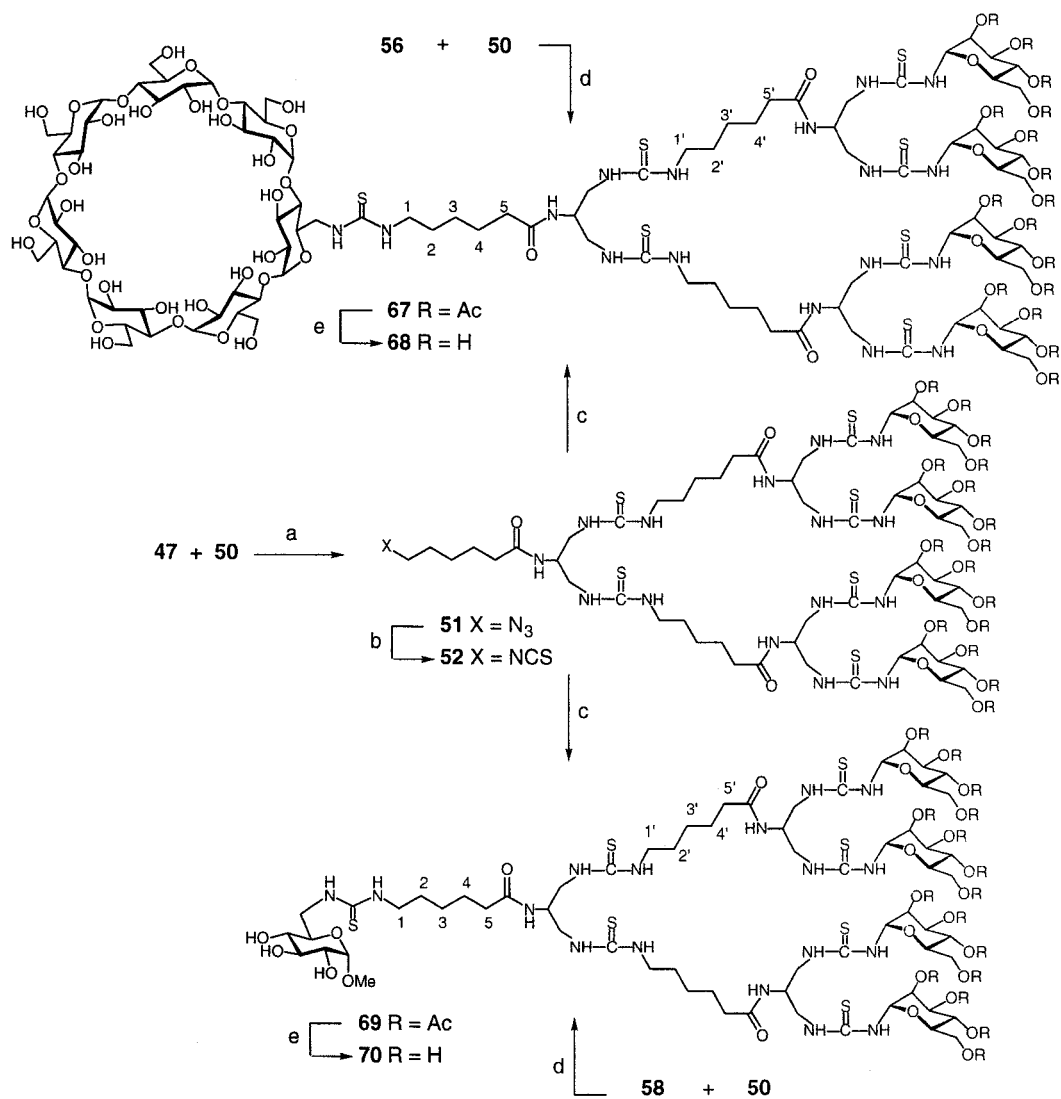
Esquema 23. Síntesis de los conjugados manosilados trivalentes **64** y **66**. Reactivos y condiciones: a, **96** ó **132**, piridina, t.a., 3 h, 65%; b, NaOMe, MeOH; H₂O; Amberlite IR-120 (H⁺); Duolite MB 6113 (H⁺, OH⁻), 93%; c, NaOMe, MeOH, 91%.

(c) Neogliconjugados tetravalentes.

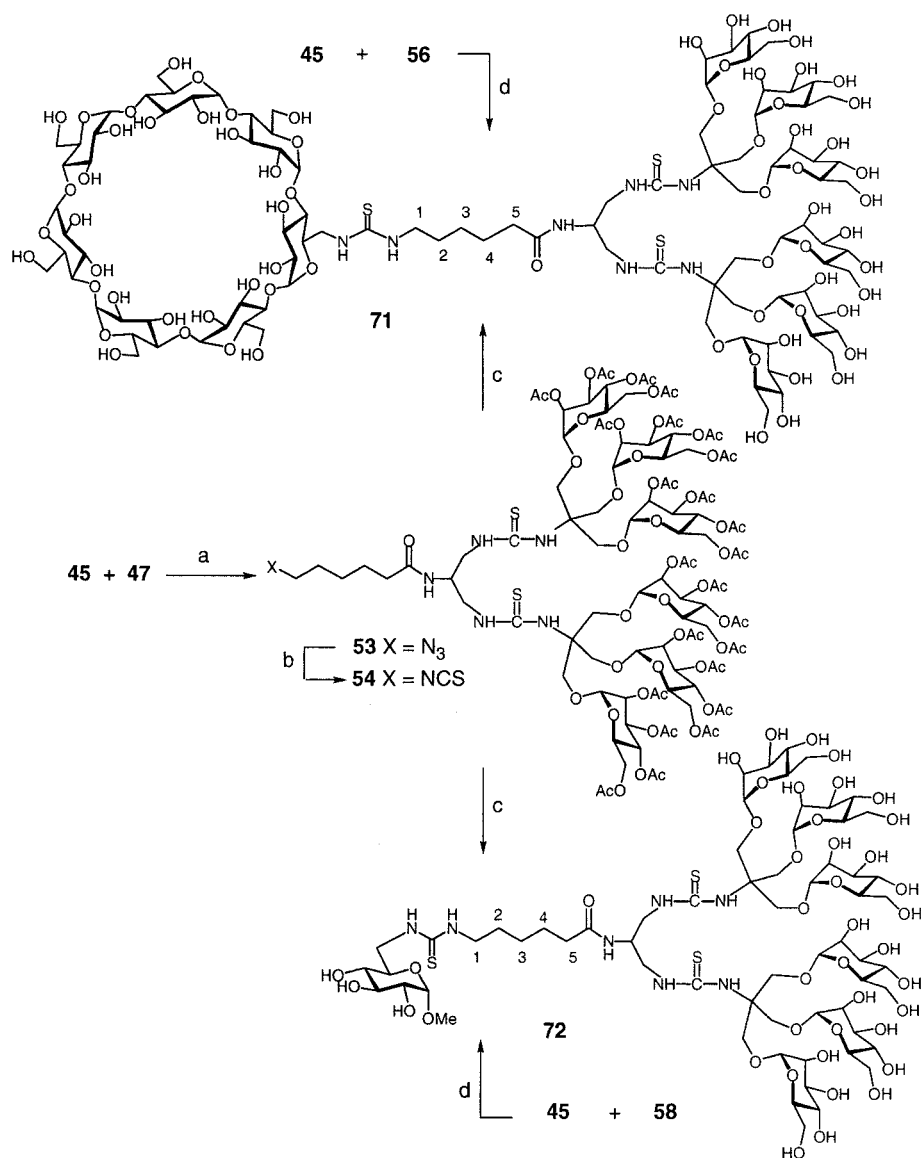
El acoplamiento entre la diamina **47** y el isotiocianato **50** en acetona/agua a pH 8 proporciona el dendrón de segunda generación **51** convenientemente funcionalizado con un grupo azida terminal. La transformación de éste en isotiocianato (\rightarrow **52**) y el posterior acoplamiento con las monoaminas **96** y **132** condujo a los aductos parcialmente acetilados **67** y **69** que se desacetilaron a 0 °C para dar los neogliconjugados tetravalentes desprotegidos **68** y **70**. Estos mismos compuestos se prepararon a partir de las diaminas **56** y **58** por reacción con el isotiocianato **50** en una aproximación semidivergente (Esquema 24).

(d) Neoglicoconjugados hexavalentes.

La síntesis de conjugados hexamanoilados derivados de la β -CD (**71**) y del metil α -D-glucopiranosido (**72**) sigue un esquema análogo al comentado anteriormente para la preparación de los neoglicoconjugados divalentes **60** y **62** utilizando el marcador trivalente **45** en lugar del manopiranosil isotiocianato **133**. En la aproximación convergente, se efectuó en primer lugar el acoplamiento entre la diamina **47** y el isotiocianato **45**. La reacción del correspondiente aducto **53** en TPP/CS₂ origina el dendrón hexavalente **54**, activado para el acoplamiento con las aminas **96** y **132**. En este caso, no fue posible aislar en forma pura los derivados parcialmente acetilados. Por lo que, tras la purificación en columna, se completó directamente la desacetilación. Un resultado parecido se obtuvo al realizar el acoplamiento entre las diaminas **56** y **58** y el isotiocianato **45** siguiendo una aproximación divergente (Esquema 25).



Esquema 24. Rutas convergente y divergente de síntesis de los derivados tetra-valentes **68** y **70**.
 Reactivos y condiciones: a, H₂O/acetona 1:1, pH 8 (NaHCO₃), t.a., 4 d, 55%; b, TPP, CS₂, t.a., 2 d, 90 %; c, **96** ó **132**, H₂O/acetona 1:1, pH 8 (NaHCO₃), t.a., 60%; d, H₂O/acetona 1:1, pH 8 (NaHCO₃), t.a., 41-60%; e, NaOMe, MeOH, 0 °C; H₂O; Amberlite IR-120 (H⁺); Duolite MB 6113 (H⁺, OH⁻), 88-99%.



Esquema 25. Rutas convergente y divergente de síntesis de los derivados hexavalentes 71 y 72. Reactivos y condiciones: a, H₂O/acetona 1:1, pH 8 (NaHCO₃), t.a., 1 d, 56%; b, TPP, CS₂, t.a., 2 d, 90 %; c, 96 ó 132, H₂O/acetona 1:1, pH 8 (NaHCO₃), t.a.; NaOMe, MeOH; H₂O; Amberlite IR-120 (H⁺); Duolite MB 6113 (H⁺, OH⁻), 55%; d, H₂O/acetona 1:1, pH 8 (NaHCO₃), t.a.; NaOMe, MeOH; H₂O; Amberlite IR-120 (H⁺); Duolite MB 6113 (H⁺, OH⁻), 41-52%.

La caracterización de las ciclodextrinas dendríticas **60**, **64**, **68** y **71** (*Figura 15*) por espectrometría de masas requirió el uso de la técnica MALDI-TOF para la obtención de los picos pseudomoleculares $[M + H]^+$, $[M + Na]^+$ o $[M + K]^+$. La asignación completa de los espectros de 1H y ^{13}C RMN se llevó a cabo mediante experimentos mono- y bidimensionales de correlación protón-protón (COSY y TOCSY) y de protón-carbono (HSQC). Debido a la rotación restringida alrededor de los enlaces pseudoamídicos NH-C(=S) a temperatura ambiente, fue necesario registrar los espectros a temperaturas superiores a 323 K (generalmente a 343 K) para obtenerlos con resolución adecuada.

- (e) Evaluación de la capacidad de asociación de ciclodextrinas dendríticas manosiladas frente a la Con A.

Las propiedades de reconocimiento biológico de los glicoconjugados multivalentes varían en función del número y la distancia entre las unidades de carbohidrato y de la longitud del espaciador. La capacidad relativa de interacción de las ciclodextrinas dendríticas preparadas por nosotros con la Con A se ha evaluado utilizando la técnica ELLA (Enzyme Linked Lectin Assay), midiendo la inhibición de la asociación de la Concanavalina A a un homopolisacárido de manosa, tal y como se comentó en el apartado anterior.

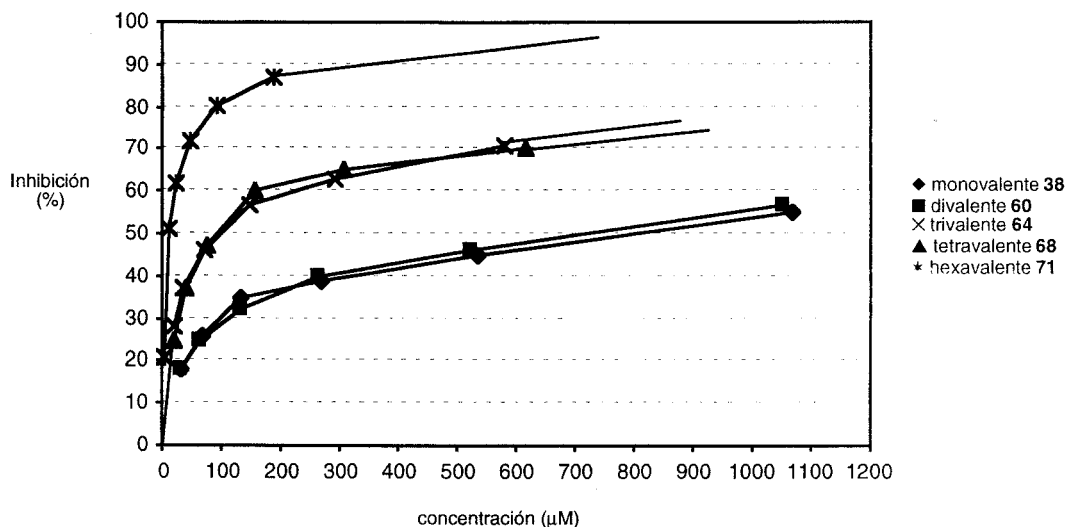


Figura 7. Resultados de la inhibición de la afinidad de la ConA marcada con peroxidasa de rábano picante hacia el manano de levadura por las β -CDs manosiladas monosustituídas **38**, **60**, **64**, **68** y **71**.

La Figura 7 muestra los resultados de los ensayos ELLA para las diferentes ciclodextrinas multivalentes preparadas en este trabajo. En la Tabla 2 se presentan los resultados para las dos series de conjugados manosilados expresados en términos de la concentración de inhibidor necesaria para reducir a la mitad la asociación de la lectina al polisacárido de referencia (IC_{50}) y de la potencia relativa tomando el pseudodisacárido metil 6-desoxi-6-(*N'*- α -D-manopiranosiltioureido)- α -D-glucopiranosido **25** como referencia. Se han incluido también en la tabla los datos para el correspondiente conjugado monovalente derivado de la β -CD **38**. Los valores entre paréntesis indican la potencia relativa por unidad de manopiranosilo.

Tabla 2: Valores de IC₅₀ (μM) para la inhibición de la unión de Con A.

Compuesto	Valencia	Espaciador	IC ₅₀ (μM)	Potencia relativa
38	1	no	800	1.6 (1.6)
25	1	no	1360	1 (1.0)
60	2	sí	780	1.7 (0.8)
62	2	sí	710	1.8 (0.9)
64	3	no	91	14.3 (4.8)
66	3	no	180	7.2 (2.4)
68	4	sí	95	12.4 (3.1)
70	4	sí	110	14.3 (3.6)
71	6	sí	8	170 (28.3)
72	6	sí	12	113 (18.8)

En todos los casos se observó que los nuevos glicoconjugados son reconocidos por la Con A con una afinidad mayor que la del pseudodisacárido de control **25**. El valor de IC₅₀ disminuye, en general, con la valencia, observándose los saltos más significativos al pasar de los aductos divalentes a los trivalentes (valores de IC₅₀ 780 y 91 μM para **60** y **64**, respectivamente) y de los tetravalentes a los hexavalentes (valores de IC₅₀ 95 y 8 μM para **68** y **71**, respectivamente). La presencia del anillo de ciclodextrina origina interacciones adicionales con la proteína que aumentan la afinidad por el inhibidor. Este efecto, ya comentado para el caso de conjugados monovalentes, se observa especialmente en el caso de los derivados trivalentes en los que el marcador está unido directamente a la ciclodextrina a través de un grupo tiourea (valores de IC₅₀ 91 y 180 μM para **64** y **66**, respectivamente).

Es notable que la afinidad de la asociación ligando manosilado-Con A parece depender, fundamentalmente, de la presencia de grupos de tres subunidades de manosa. Una posible explicación sería que la geometría de los marcadores utilizados permitiese

ocupar, al menos parcialmente, el sitio de reconocimiento que posee la lectina para su ligando óptimo, un trisacárido de manosa ramificado. Un análisis más a fondo de este punto requeriría la cristalización de un complejo entre la Con A y un ligando trivalente o bien su estudio por RMN y modelización.

Hemos comprobado que los nuevos conjugados de la β -CD monosustituídos y multivalentes conservan la capacidad de inclusión del anticanceroso Taxotere®. En el caso del aducto trimanosilado **64**, empleando una disolución 50 mM es posible solubilizar hasta 3.5 mg mL⁻¹ de Taxotere®, lo cual significa que se recupera la capacidad de solubilización característica de los derivados monosustituídos de la β -CD, como por ejemplo **38**, pero con un aumento del orden de 10 veces en su afinidad por una lectina específica como la Con A.

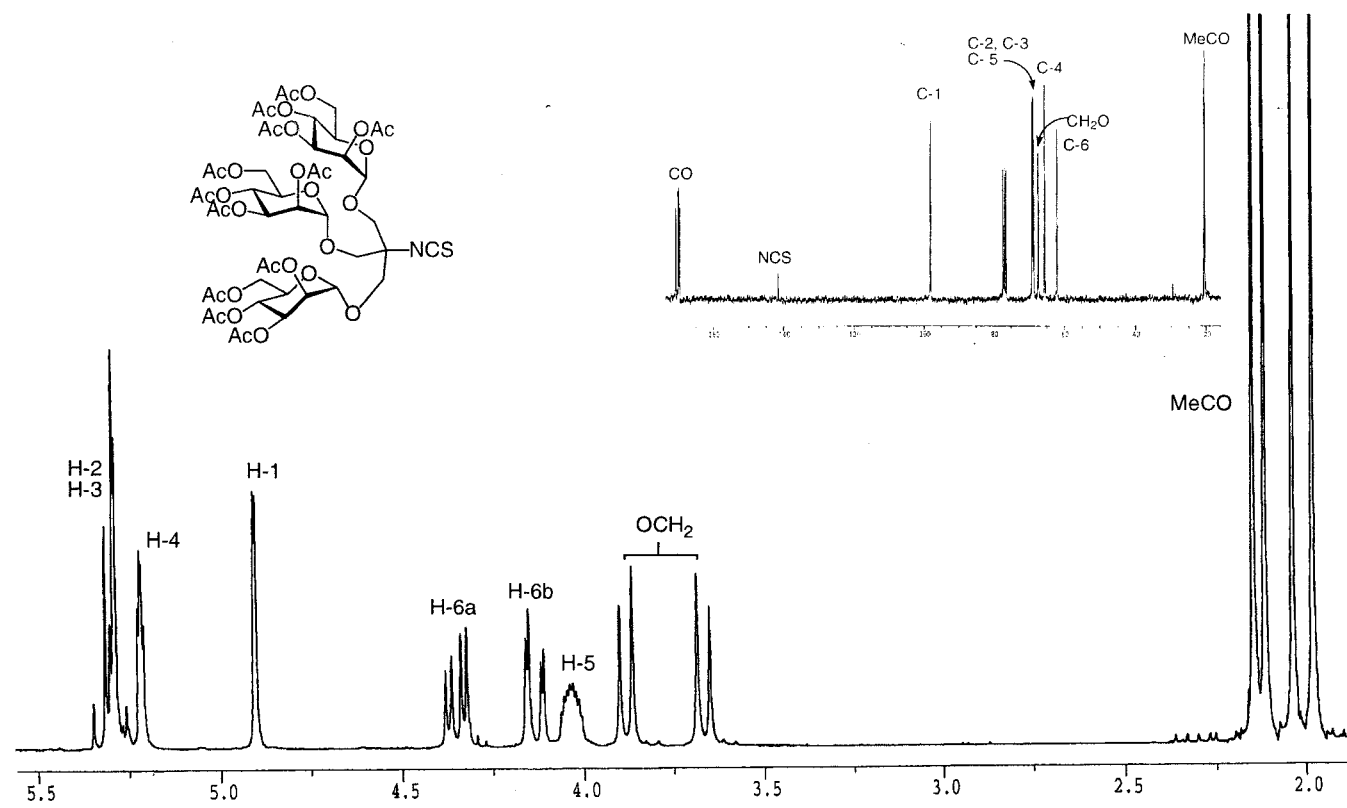


Figura 11. Espectros de ^1H (300 MHz, CDCl_3) y ^{13}C RMN (75.5 MHz, CDCl_3) del compuesto 45.

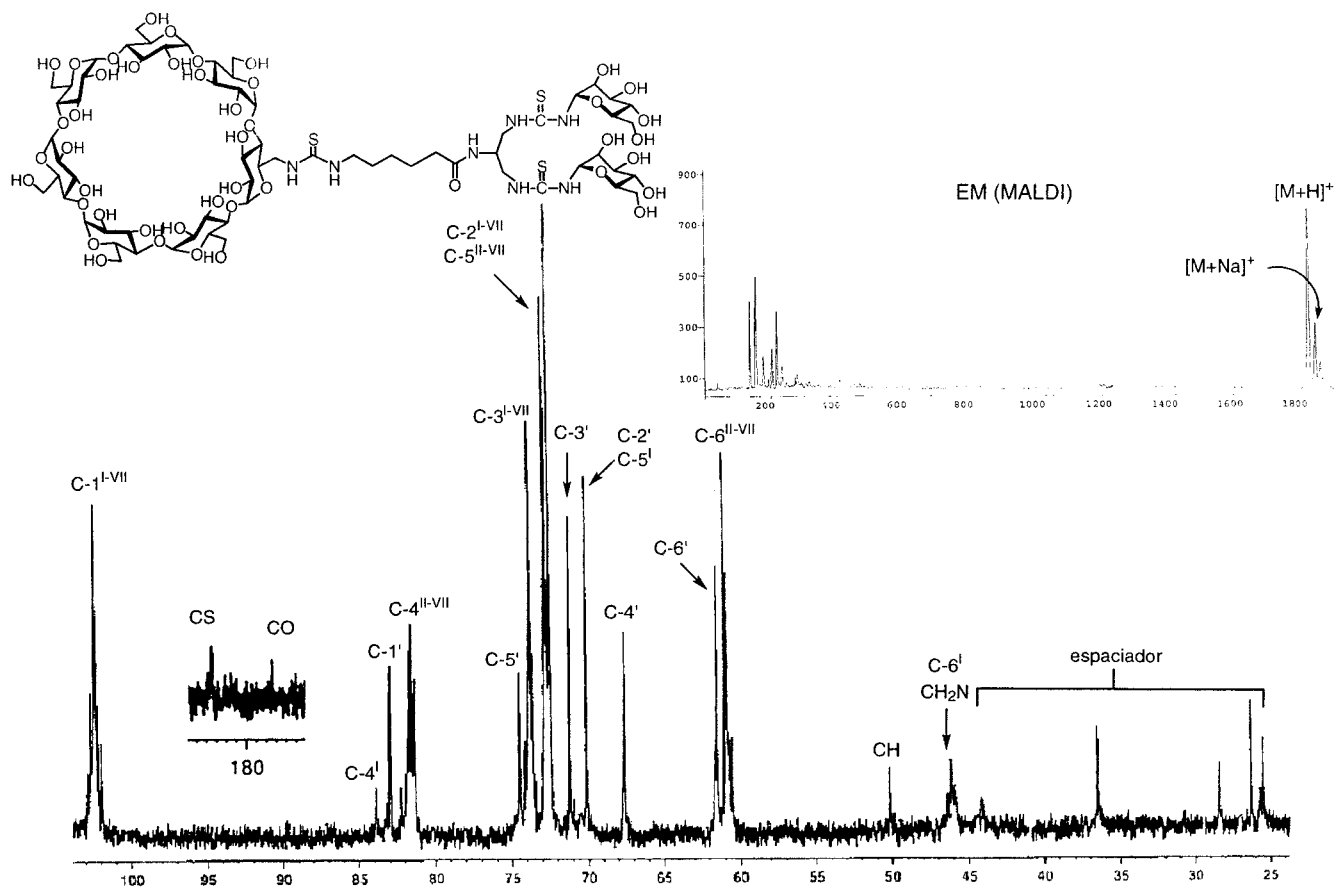


Figura 12. Espectros de ^{13}C RMN (125.7 MHz, D_2O , 333 K) y EM (MALDI) del compuesto 60.

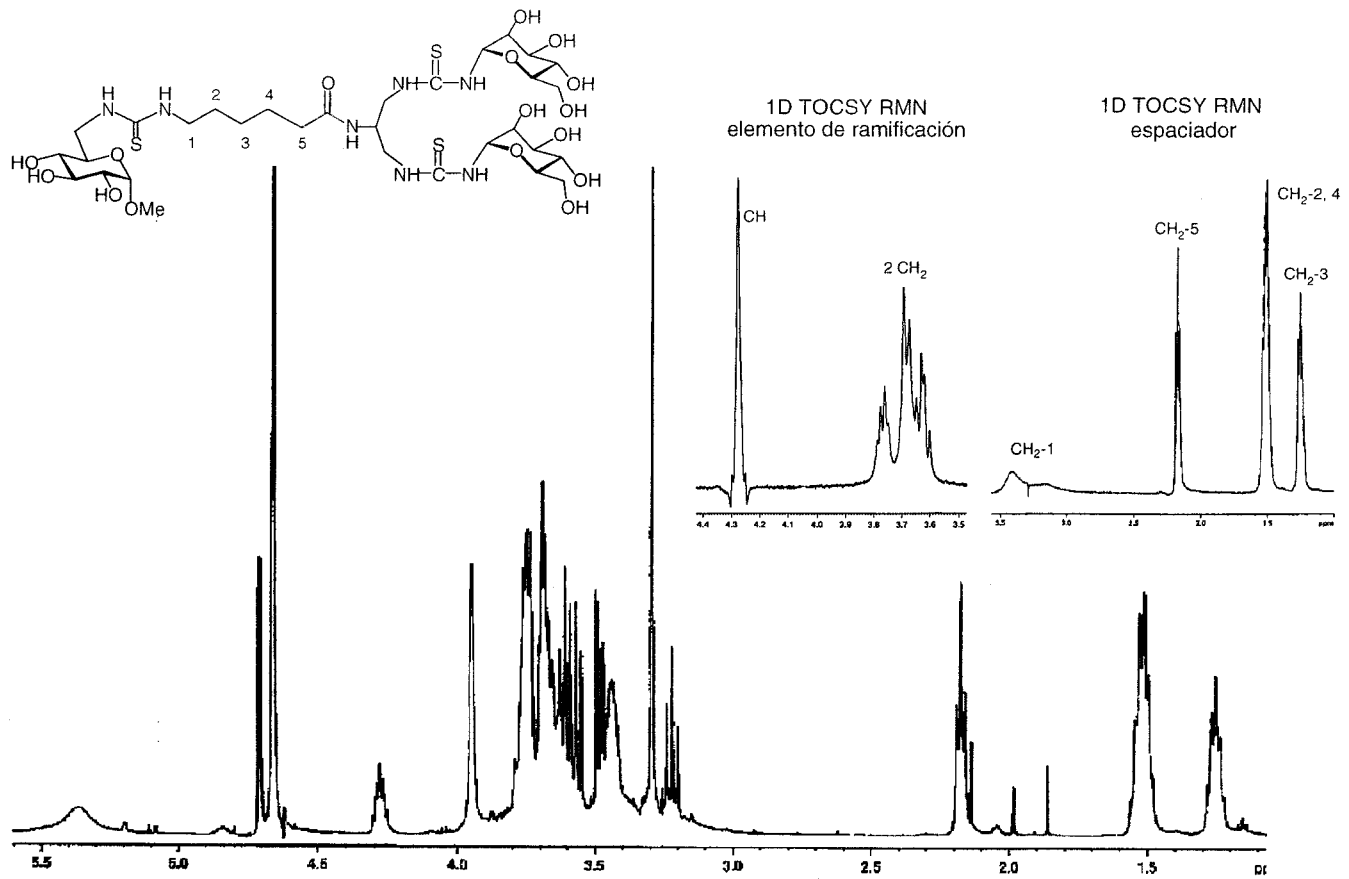


Figura 13. Espectros de ¹H RMN y 1D TOCSY (500 MHz, D₂O) del compuesto 62.

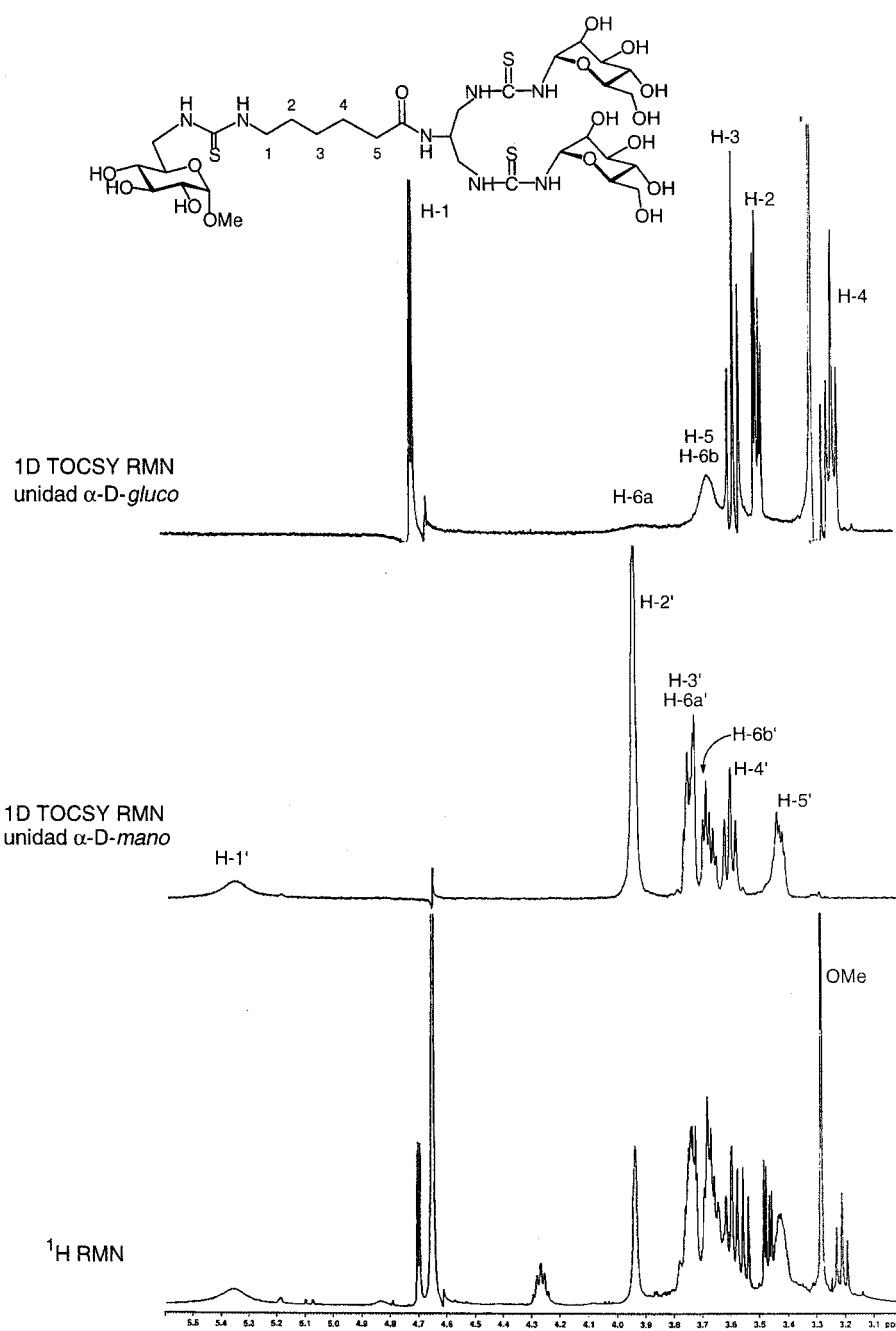


Figura 14. Espectros de ^1H RMN y 1D TOCSY (500 MHz, D_2O) del compuesto 62.

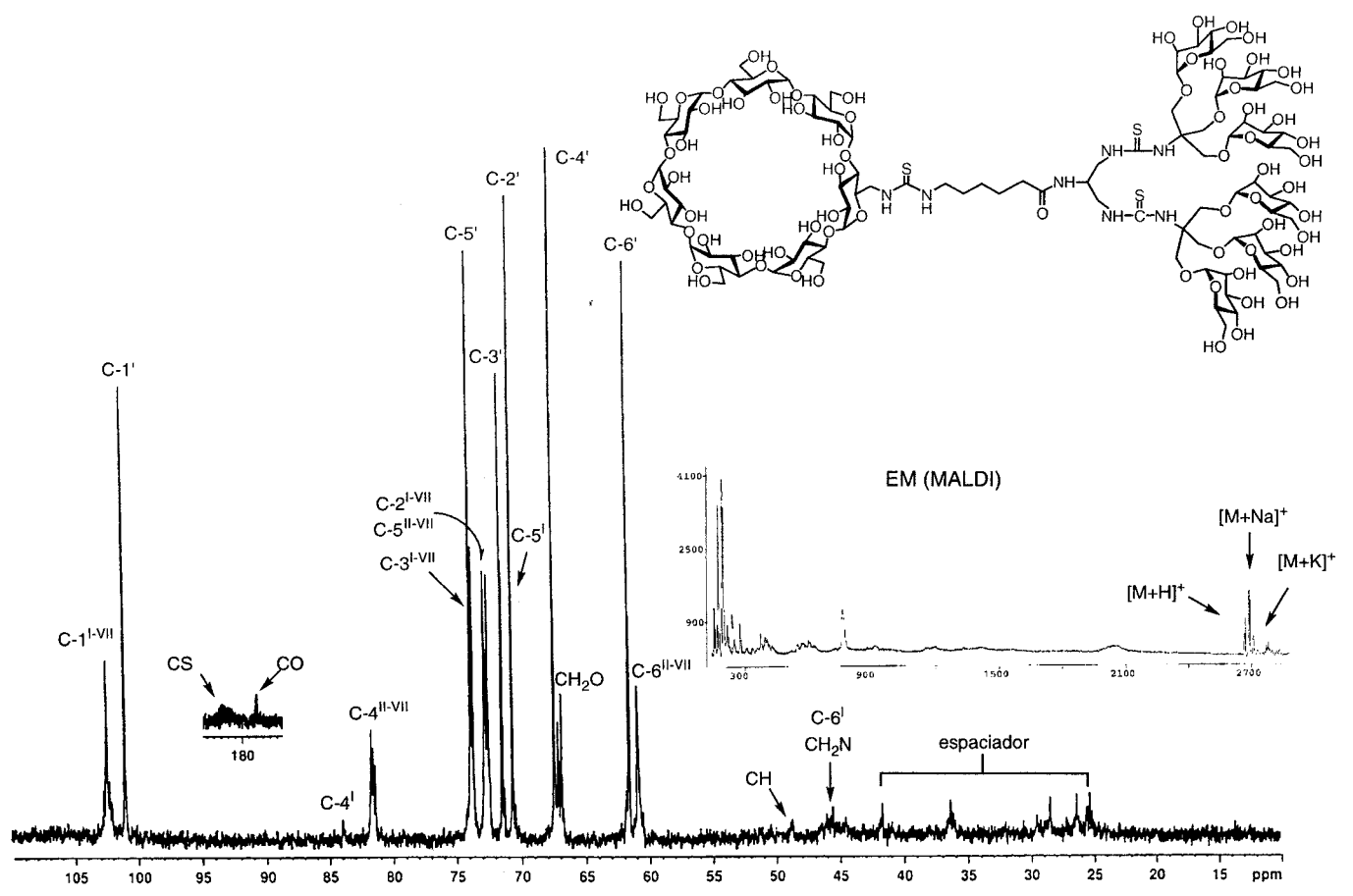


Figura 15. Espectros de ¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O, 343 K) y EM (MALDI) del compuesto 71

**3. RECEPTORES MIXTOS
CARBOHIDRATO-TIOUREA**

3. RECEPTORES MIXTOS CARBOHIDRATO-TIOUREA.

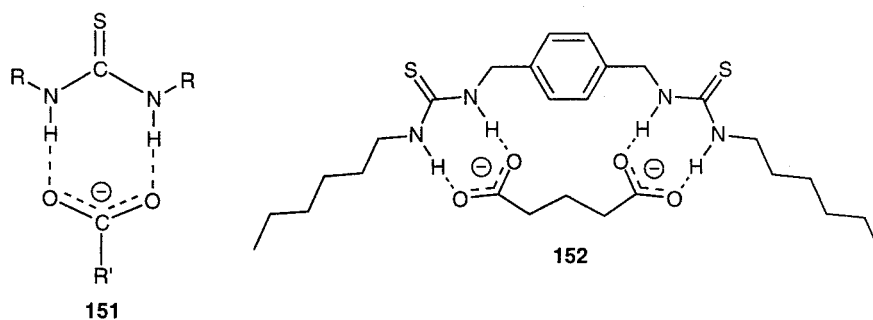
El estudio de los complejos de inclusión de las ciclodextrinas ha proporcionado información valiosa sobre los procesos de reconocimiento molecular en los que intervienen carbohidratos. No obstante, el reducido número de ciclodextrinas naturales disponibles supone una limitación seria para avanzar en este campo: sólo las α -, β - y γ -CDs son comercialmente asequibles, lo que impide realizar variaciones sistemáticas de las dimensiones y características del sitio de reconocimiento (la cavidad hidrófoba en el caso de las CDs). Aunque existen varios ejemplos descritos de síntesis de ciclooligosacáridos, la glicosidación no es una reacción que permita acceder cómodamente a nuevos receptores.

A la hora de diseñar receptores artificiales para el estudio de interacciones entre carbohidratos y otras moléculas caben dos aproximaciones: (a) receptores que incorporan carbohidratos en su estructura (como las CDs) o (b) receptores que reconocen carbohidratos. Todos los receptores preparados en esta Tesis responden al primer tipo. Unos, con estructura de podandos, han sido diseñados para el estudio de interacciones por enlaces de hidrógeno y otros (macrociclos) como una alternativa a las CDs para el estudio de interacciones hidrófobas en agua. Tanto los primeros como los segundos incorporan grupos tiourea en su estructura, lo que proporciona unos excelentes puntos de anclaje para el establecimiento de enlaces de hidrógeno y proporciona una movilidad restringida asociada al carácter parcial de doble enlace de las uniones N-C(=S). Además, la eficacia con que puede generarse este grupo funcional simplifica significativamente la síntesis, especialmente en el caso de estructuras macrocíclicas mixtas carbohidrato-tiourea. En el apartado siguiente se comentan los resultados más relevantes recogidos en la literatura sobre la utilización del grupo tiourea en la preparación de receptores para el estudio de interacciones dirigidas por enlaces de hidrógeno y en la síntesis de macrociclos.

3.1. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS.

(a) Receptores de tipo podando con segmentos de tiourea.

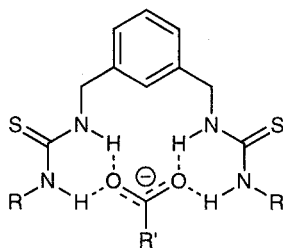
La efectividad del grupo tiourea como donador de enlace de hidrógeno bidentado fue puesta de manifiesto por Hamilton y colaboradores en 1993 [89]. En un trabajo pionero, estos autores estudiaron la eficacia de tioureas *N,N'*-disustituídas como receptores neutros de aniones carboxilatos, proponiendo una estructura con dos enlaces de hidrógeno y cuatro centros para el correspondiente complejo **151**. Asimismo, demostraron que el segmento de tiourea puede incorporarse como elemento de reconocimiento de grupos carboxilato en estructuras más elaboradas, diseñando el receptor **152** para el reconocimiento de dicarboxilatos. El complejo formado entre **152** y el dianión glutarato mostró una estabilidad sin precedentes para receptores neutros, con una constante de asociación K_{as} de 10^4 M^{-1} en un disolvente fuertemente competitivo como el dimetilsulfóxido.



Un análisis de la energía libre de activación para el giro alrededor de los enlaces N-C(=S) en tioureas en presencia y en ausencia de anión carboxilato indicó que la existencia de un equilibrio rápido degenerado entre complejos monodentados es también compatible con los datos experimentales [90]. En cualquier caso, la formación de

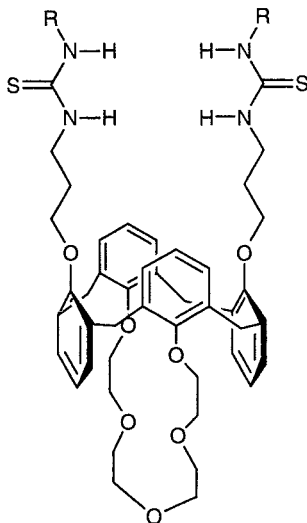
complejos estables requiere forzosamente la participación del rotámero *Z,Z* del grupo tiourea. La incorporación de subunidades de tiourea en el diseño de receptores de tipo podando para el reconocimiento de grupos aceptores complementarios como carboxilato, sulfonato o nitronato, compatibles con el modelo de enlaces de hidrógeno bidentados de cuatro centros, ha sido desarrollada posteriormente por los grupos de Hamilton [91] y Wilcox [92], y ha sido también aprovechada en el diseño de sistemas de detección (sensores) mediante la incorporación de grupos tiourea sobre soportes fluoróforos [93].

La utilización de un espaciador de *m*-xileno en la preparación de receptores de tipo bis(tiourea), en lugar del *p*-xileno introducido por Hamilton, origina un nuevo modelo de interacción con aniones carboxilato en el que los cuatro pares de electrones no compartidos de los átomos de oxígeno están involucrados (cuatro enlaces de hidrógeno, seis centros). Este diseño, desarrollado por Umezawa y colaboradores [94], resulta además particularmente eficaz para la complejación del anión bifosfato. Aunque en algunos casos pueden producirse fenómenos de autoasociación del receptor [95], a concentraciones suficientemente bajas este proceso no compite con la formación del complejo **153**.

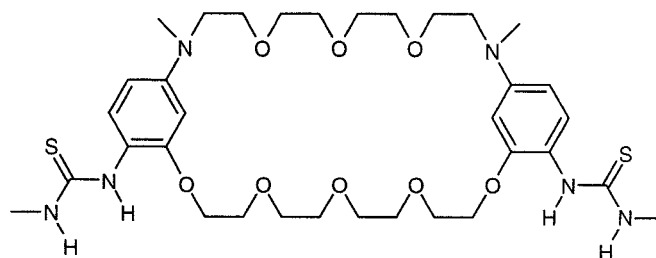
**153**

Reinhoudt y colaboradores han desarrollado una serie de receptores politioureidos para la complejación de aniones esféricos (dihidrogenofosfato y halogenuros) mediante enlaces de hidrógeno basados en la funcionalización de cavitandos (calix[4]arenos, resorcinarenos) con grupos tiourea [96]. El mismo grupo ha desarrollado receptores ditópicos que, utilizando un cavitando como plataforma, disponen de un sitio para el

reconocimiento de aniones formado por tioureas y otro para el reconocimiento de cationes consistente en un éter corona (por ejemplo, **154**) [97].

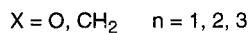
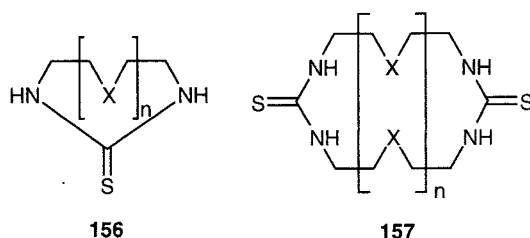
**154**

Recientemente, Kubo y colaboradores [98] han publicado la síntesis de un receptor (**155**) que, como en el caso anterior, incorpora un éter corona y grupos tiourea. En este caso la formación del complejo entre el éter corona y el catión potasio origina un cambio conformacional que dispone los grupos tiourea de manera adecuada para la complejación eficaz del anión $(\text{PhO})_2\text{P}(\text{O})^-$.

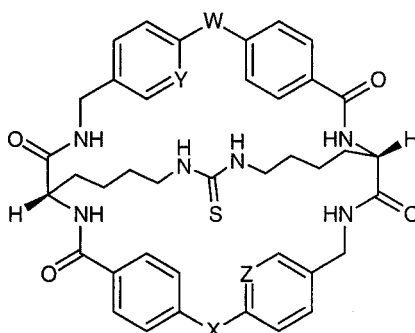
**155**

(b) Tioureas macrocíclicas.

La primera síntesis de macroheterociclos que incorporan en su estructura segmentos de tiourea se remonta al año 1980 [99]. A partir de α,ω -diaminas, Lukyanenko y colaboradores aislaron los correspondientes productos de macrociclización (**156**) y de dimerización-macrociclización (**157**). Estos últimos fueron utilizados como precursores de carbodiimidias macrocíclicas [100].



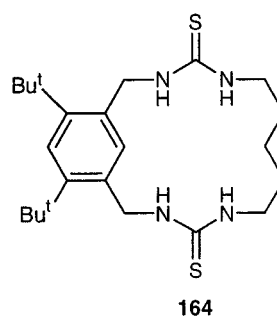
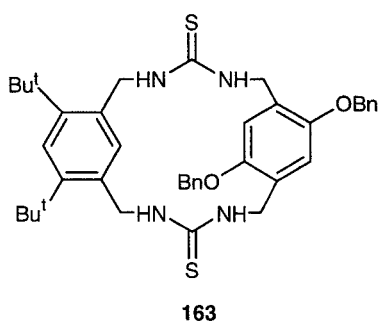
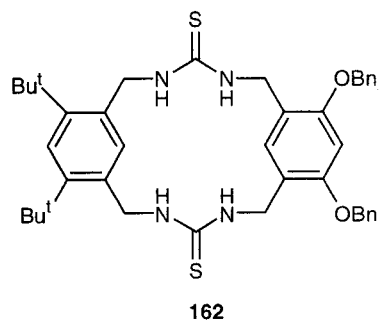
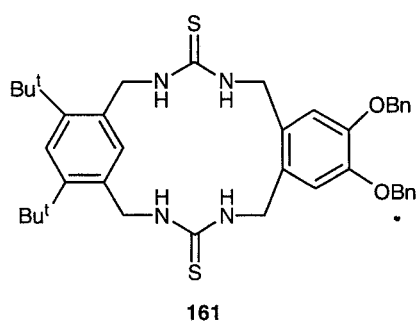
El interés de este tipo de compuestos en química supramolecular es muy posterior y ha estado ligado principalmente, como en el caso de los podandos, a la utilización del grupo tiourea como sitio de unión de aniones carboxilato. En 1995 Kilburn y colaboradores [101] publicaron la preparación del receptor quiral **158** que demostró ser un buen agente complejante de carboxilatos derivados de *N*-acetil aminoácidos. Aunque la asociación está dirigida fundamentalmente por la interacción tiourea-carboxilato, la presencia de los grupos amida en un entorno quiral determina que puedan existir interacciones adicionales. Estas interacciones dan lugar a estructuras diferentes para los complejos con aminoácidos de la serie L y de la serie D [102]. Recientemente estos autores han preparado dos nuevos receptores de este tipo, **159** y **160**, con anillos de piridina y uniones oxigenadas con la intención de proporcionar nuevos puntos de interacción [103].



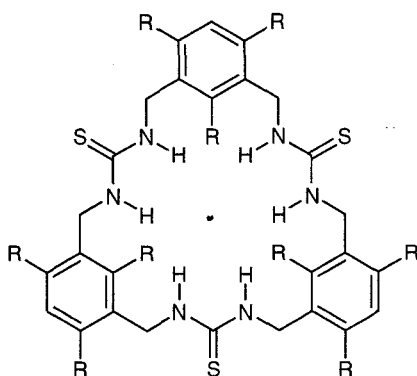
158-160

158	W = X = CH ₂	Y = Z = CH
159	W = X = O	Y = Z = N
160	W = CH ₂ , X = O	Y = CH, Z = N

Tobe y colaboradores [104] han preparado una serie de receptores macrocíclicos de tipo ciclofano que incorporan subunidades de *orto*-, *meta*- o *para*-xileno enlazadas por dos segmentos de tiourea (**161-164**), por reacción entre una diamina y un diisotiocianato. La evaluación de la capacidad de asociación con diferentes aniones (dihidrogenofosfato, acetato, cloruro, hidrogenosulfato, bromuro) en dimetilsulfóxido indicó una alta selectividad por el anión dihidrogenofosfato, con valores de K_{as} superiores en todos los casos a los de receptores análogos de tipo podando.

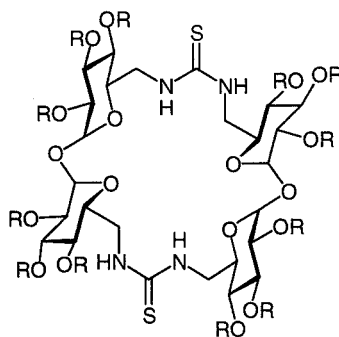


Utilizando el *m*-xileno como estructura de base, otros autores han preparado los receptores metaciclofánicos **165** [105] y **166** [106], que incorporan tres segmentos de tiourea. Mientras que **165** presenta selectividad por el anión dihidrogenofosfato, el receptor **166**, más rígido, reconoce preferentemente el anión acetato.



165 R = H
166 R = Et

A pesar de la amplia bibliografía existente sobre tioureas de azúcares lineales [39a,b], no existen antecedentes sobre su aplicación en química supramolecular. Los únicos ejemplos de derivados macrocíclicos mixtos carbohidrato-tiourea recogidos en la literatura fueron preparados en una Tesis anterior de este Departamento [107]. Por reacción entre derivados de α,α' -trehalosa portando grupos isotiocianato y amino en las posiciones primarias, se obtuvieron los correspondientes macrociclos **88** y **167**, que tras desprotección de los hidroxilos secundarios condujeron al correspondiente derivado pseudotetrasacarídico **168** [40b]. Experimentos de RMN dinámica en cloroformo-*d* pusieron de manifiesto la existencia de enlaces de hidrógeno intramoleculares en el caso de **88** y **167** que fijan la conformación del receptor.



88 R = Ac
167 R = TMS
168 R = H

A la vista de estos antecedentes, en esta Tesis nos hemos planteado investigar las propiedades de complejación de nuevos receptores basados en tioureas de azúcares con dos objetivos fundamentales: (i) determinar la influencia de factores estructurales y conformacionales, especialmente de los derivados de la presencia de numerosos centros aceptores de enlaces de hidrógeno en la molécula de carbohidrato, en la termodinámica de las interacciones supramoleculares de tioureas de azúcares con huéspedes de tipo carboxilato y monosacárido; y (ii) desarrollar una metodología de síntesis de análogos ciclooligosacáridicos con segmentos de tiourea homólogos de **168** y abordar el estudio de sus propiedades estructurales y de complejación en medio acuoso. Para la consecución de estos objetivos, hemos escogido la preparación de receptores simétricos que faciliten los estudios por RMN. En el marco de esta Tesis y en colaboración con el grupo de Santoyo-González hemos desarrollado también un nuevo método de síntesis de tioureas simétricas que facilita significativamente el acceso a estos derivados.

3.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

3.2.1. Receptores bidentados.^{1, 2, 3}

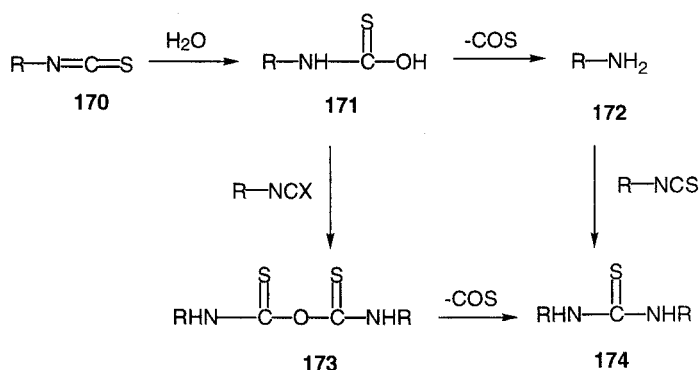
Los métodos convencionales descritos para la síntesis de tioureas se basan en la reacción de una amina y un isotiocianato o un agente tiocarbonilante [108]. Sin embargo, la presencia de un grupo amino libre en un sustrato complejo polifuncional puede dar lugar a reacciones secundarias que disminuyen drásticamente el rendimiento final del acoplamiento. En nuestro caso, la preparación de receptores mixtos tiourea-carbohidrato [40b, 109] con grupos protectores de tipo éster requeriría el empleo de los correspondientes aminoazúcares per-*O*-protegidos, los cuales pueden experimentar reacciones de migración intra- o intermolecular de grupos acilo. Con objeto de resolver estos inconvenientes hemos desarrollado una estrategia sintética para la preparación de tioureas simétricas *N,N'*-disustituídas en la que no intervienen reactivos con grupos amino libres [110].

La formación de tioureas simétricas (**174**) se ha observado frecuentemente en las reacciones en las que intervienen isotiocianatos, asociándose a la humedad del medio de reacción. La adición nucleofílica de una molécula de agua al carbono heterocumulénico del grupo isotiocianato constituye, de hecho, su principal ruta de descomposición [111]. Según el mecanismo generalmente aceptado, el aducto resultante **171**, que es una especie inestable, evoluciona por eliminación de COS para dar la correspondiente amina **172**, que reacciona con una segunda molécula de isotiocianato (Esquema 26).

¹ *Synthesis* **1999**, *11*, 1907-1914.

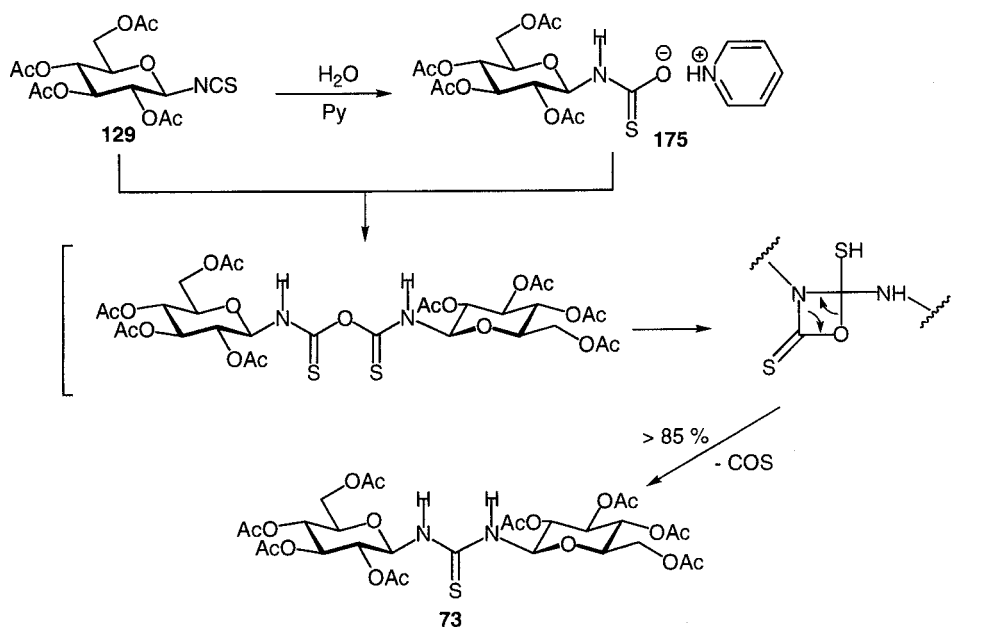
² *Org. Lett.* **1999**, *1*, 1217-1220.

³ *Carbohydr. Res.* **2000**, *323*, 218-225.



Esquema 26. Mecanismo propuesto para la hidrólisis de isotiocyanatos

Nuestra experiencia indicaba un aumento significativo en la proporción de estas tioureas cuando se lleva a cabo el acoplamiento de isotiocyanatos y nucleófilos poco reactivos en piridina húmeda [56, 112] como ya se observó durante los intentos de acoplamiento de glicosil isotiocyanatos con aminas derivadas de la β -CD en piridina (ver Apartado 2.2.1.). Es interesante destacar que, en estos casos, no se observó migración $O \rightarrow N$ de grupos acilo lo que sugiere un mecanismo de reacción alternativo en el que no intervienen aminas. En presencia de la base, la especie tiocarbámica **175** debe estar estabilizada y puede actuar como nucleófilo sin necesidad de formación previa del grupo amino. El anhídrido tiocarbámico así generado daría lugar a la correspondiente tiourea simétrica por eliminación de COS a través de un intermedio cíclico de cuatro miembros similar al descrito para la reacción de isotiocyanatos con ácidos carboxílicos para dar amidas [39a-c, 55, 113] (Esquema 27).



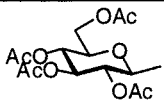
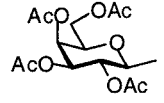
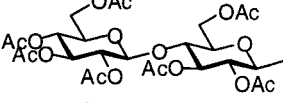
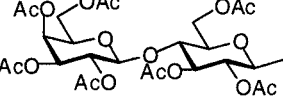
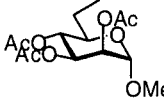
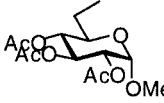
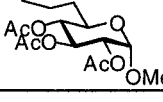
Esquema 27. Mecanismo propuesto para la dimerización de isotiocyanatos.

Resultados y discusión.

En esta Tesis Doctoral se ha optimizado la reacción de autocondensación de isotiocyanatos bajo esas condiciones y se ha aplicado a la preparación de receptores bidentados derivados de carbohidratos. La metodología desarrollada es compatible con la presencia de grupos ésteres y es independiente de la posición (primaria o secundaria) del grupo NCS.

Se ha investigado la influencia de factores como la naturaleza de la base, el disolvente, la concentración del sustrato, la temperatura y el tiempo de reacción sobre el curso de la reacción. Los mejores resultados se obtuvieron empleando disoluciones 0.2 M del sustrato de partida en mezclas de piridina/agua (10:1) a temperaturas entre 20 y 60 ° C durante 12-48 h. En la Tabla 3 se muestran los resultados obtenidos para una serie de isotiocyanatos derivados de mono- y disacáridos.

Tabla 3. Conversión de Isotiocianatos (R-NCS) en Tioureas *N,N'*-Disustituídas.

entrada	R	condiciones de reacción ^a	Comp (% Rend.)
1		A	73 (90) [110a]
2		A	74 (93)
3		A	75 (87)
4		A	76 (90)
5		B	77 (84)
6		B	78 (95)
7		B	79 (79)

^aCondiciones de reacción: concentración de reactivo 0.2 M en 10:1 piridina/agua. A, temperatura ambiente, 24 h; B, 60 °C, 12 h.

Los glicosil isotiocianatos mostraron mayor tendencia a dimerizar que los desoxiisotiocianatoazúcares, obteniéndose las correspondientes *N,N'*-bis(glicosil)tioureas con rendimientos superiores al 85% tras 24 h a temperatura ambiente. En el segundo caso, no se observó reacción a temperaturas inferiores a 50 °C después de 3 días. Sin embargo, se observó una transformación completa en las tioureas simétricas llevando a cabo la reacción a 60 °C durante 2 días. El empleo de temperaturas superiores no mejoró estos resultados ya que, aunque la reacción fue más rápida, se observó la formación de productos de desacetilación parcial. Los altos rendimientos obtenidos en la

autocondensación de metil 6-desoxi-6-isotiocianato- α -D-glicopiranosidos **135** y **177** son particularmente interesantes ya que las correspondientes aminas per-*O*-acetiladas son inestables debido a la rápida migración *O*-4 \rightarrow *N*-6 del grupo acetilo y los intentos previos para obtener las tioureas simétricas a partir de los correspondientes hidroclouros condujeron fundamentalmente a la formación de amidas [114].

Nuestro siguiente objetivo ha sido el estudio de la relación entre el comportamiento conformacional de algunas de las tioureas simétricas preparadas por este método y sus propiedades de complejación frente a aniones carboxilato en CDCl_3 . Para ello se han considerado estructuras con diferente grado de flexibilidad conformacional en los segmentos de tiourea, incluyendo los pseudodisacáridos lineales **73** [110a], **78**, **79** y el pseudotetrasacárido cíclico **88**, preparado por nosotros con anterioridad [40b] y para el que hemos desarrollado un nuevo método de síntesis que se describe en el siguiente apartado.

El macrociclo híbrido trehalosa—tiourea **88** existe exclusivamente en la conformación alternada *Z,E:E,Z*. Los protones NH de tiourea en disposición *anti* respecto a los átomos de azufre están dirigidos hacia el interior de la cavidad e implicados en enlaces de hidrógeno intramoleculares de siete miembros con los átomos de oxígeno del anillo de piranosa opuesto [40c, 115]. Aunque las rotaciones alrededor de los enlaces pseudoamídicos permiten un equilibrio dinámico degenerado (T_c 295 K), las características conformacionales de la estructura macrocíclica impiden una disposición *Z,Z* en los grupos tiourea. Por el contrario, el grupo tiourea en la bis(glicosil)tiourea **73** adopta la configuración *Z,Z* como única forma rotamérica en CDCl_3 con los protones NH, en disposición 1,3-paralela, dirigidos hacia la cara β del anillo de piranosa [116] (Figura 8).

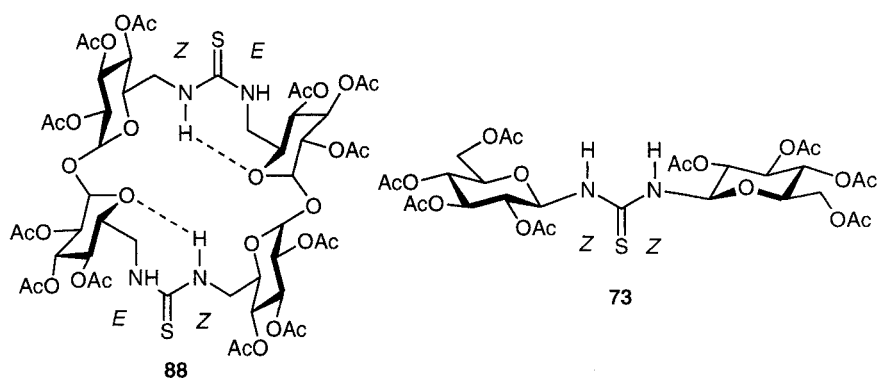


Figura 8. Confórmeros Z,E,E,Z y Z,Z de los compuestos **88** y **73**

Los receptores **78** y **79** presentan características conformacionales intermedias entre **73** y **88**. El receptor **78** puede verse como el análogo monomérico de **88**. Sus espectros de ^1H RMN registrados en CDCl_3 a baja temperatura mostraron una proporción relativa 1:4 entre los rotámeros Z,Z y E,Z , con una temperatura de coalescencia (T_c) de 285 K. A 323 K, los procesos de intercambio químico son rápidos y los espectros de RMN muestran señales para una única subunidad de metil α -D-glucopiranosido de acuerdo con la simetría C_{2v} esperada (Figura 16). El estudio de la variación de los desplazamientos químicos de las señales de los protones de tiourea a temperaturas inferiores a la de coalescencia indicó que el protón de NH en disposición *trans* respecto al átomo de azufre en el confórmero E,Z resuena a campo significativamente menor que el protón *cis*-NH y que los protones *trans*-NH en el confórmero Z,Z (Figura 9). Además, la independencia del valor de $\delta_{\text{trans-NH}}$ con la temperatura es acorde con el comportamiento generalmente observado para los protones de amida unidos por enlace de hidrógeno intramolecular [117]. La relación estructural entre los receptores **78** y **88**, unido a la discusión anterior, indican que el rotámero E,Z está estabilizado por la existencia de un enlace de hidrógeno intramolecular $\text{NH}\cdots\text{O}_{\text{endocíclico}}$ de siete miembros [40c, 115].

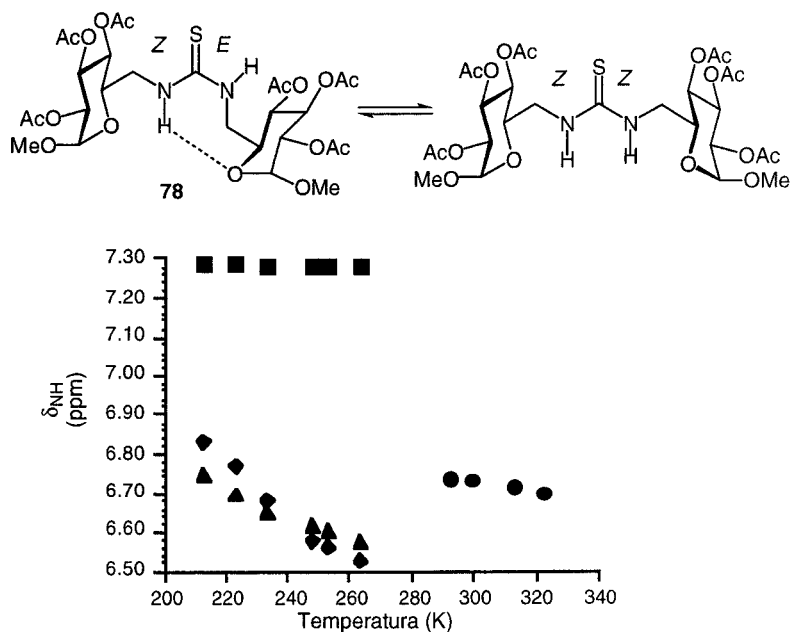


Figura 9. Desplazamiento químico de los protones de tiourea en función de la temperatura para el compuesto **78**. Datos obtenidos en CDCl_3 a concentración 5 mM. Por encima de la coalescencia: intercambio rápido de NH (\bullet). Rotámero (Z,E): trans-NH (\blacksquare) y cis-NH (\blacklozenge). Rotámero (Z,Z): trans-NH (\blacktriangle).

Los espectros de ^1H RMN en CDCl_3 a baja temperatura de la tiourea **79** indicaron también una rotación lenta alrededor de los enlaces pseudoamídicos. A temperaturas inferiores a 263 K se observó una proporción 9:1 de los rotámeros $E,Z:Z,Z$. Aunque en cualquiera de las conformaciones ambos protones NH tienen varias posibilidades para formar enlaces de hidrógeno, los valores de sus desplazamientos químicos y de los coeficientes de temperatura descartan su implicación en éstos (Figura 10).

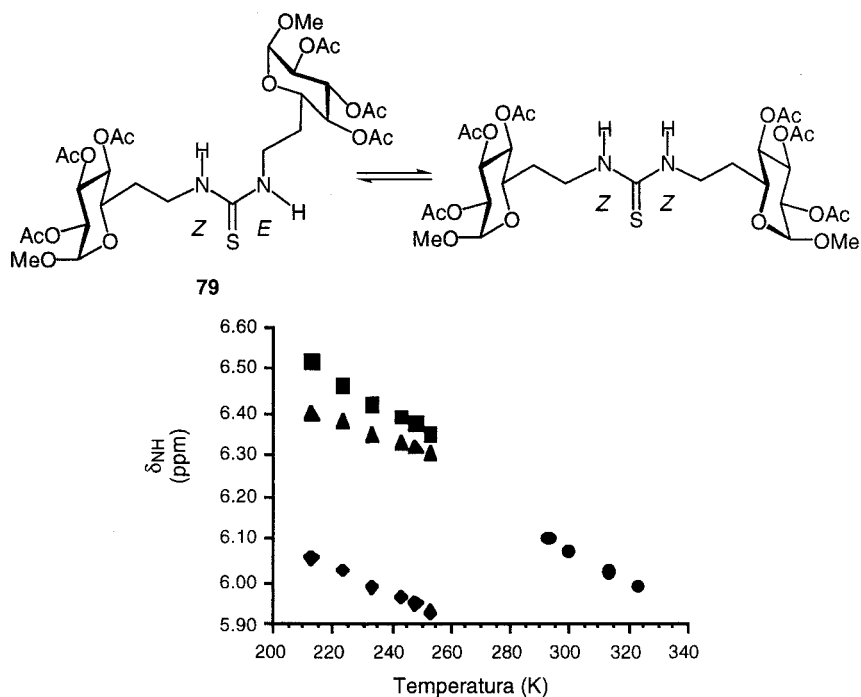


Figura 10. Desplazamiento químico de los protones de tiourea en función de la temperatura para el compuesto **79**. Datos obtenidos en CDCl_3 a concentración 5 mM. Por encima de la coalescencia: intercambio rápido de NH (●). Rotámero (Z,E): *trans*-NH (■) y *cis*-NH (◆). Rotámero (Z,Z): *trans*-NH (▲).

Como se comentó en el Apartado 3.1. la formación de complejos entre tioureas y carboxilatos con valores de constantes de asociación (K_{as}) altas implica necesariamente la forma rotamérica Z,Z del grupo tiourea. Una disposición geométrica que favorezca la configuración E,Z debe desfavorecer, por tanto, la asociación intermolecular.

De acuerdo con lo anterior, los datos experimentales de ^1H RMN y K_{as} (Tabla 4) evidenciaron que las interacciones entre los receptores **78** (Figura 11) y **79** y los aniones benzoato y acetato son más fuertes que las que presenta el macrociclo **88**, para el que una disposición 1,3-paralela de los protones de tiourea está impedida con los mismos aniones. Sin embargo, los valores de K_{as} medidos para la tiourea **79** son tres veces mayores que los del receptor **73** y hasta siete veces superiores a los de **78**, aunque la proporción relativa de la conformación activa Z,Z es dos veces menor. Este resultado sugiere que la capacidad

de reconocimiento y enlace entre el receptor y el ligando es, en gran medida, independiente de la proporción inicial del conformero activo. La discrepancia entre la afinidad por carboxilato entre **78** y **79** se debe, probablemente, a las diferencias existentes entre la estructura de los propios receptores en disolución clorofórmica. Así, la unión de **78** al anión carboxilato a través de enlaces de hidrógeno bidentados tiene un coste energético adicional, la rotura del enlace de hidrógeno intramolecular preexistente que fija la conformación *E,Z* en comparación con **79**. Este hecho es todavía más evidente cuando se comparan el comportamiento de **73** y **79**. A pesar de la mayor acidez de los protones pseudoamídicos anoméricos y de la preorganización favorable (*Z,Z*) de la bis(glucosil)tiourea **73**, la complejación con carboxilato es más efectiva en el caso del receptor flexible **79**. Las diferencias en los valores de K_{as} para **73** y **79** se debe posiblemente a la mayor lipofilia en la proximidad de los centros donadores de enlace de hidrógeno en el segundo, lo que debe facilitar los procesos de desolvatación del grupo carboxilato [118].

Tabla 4. Datos termodinámicos para **73**, **78**, **79** y **88**, y sus complejos con aniones benzoato y acetato.

Receptor	Proporción de rotámeros ^a	T _c (K)	K _{as} (OBz, M ⁻¹) ^b	K _{as} (OAc, M ⁻¹) ^b
73	100% (Z,Z)	---	210	197
78	4:1 (Z,E)/(Z,Z)	285	102	95
79	9:1 (Z,E)/(Z,Z)	268	590	630
88	100% (Z,E:E,Z)	295	13	n.d. ^c

^a Obtenida por integración de las señales de NH a temperaturas por debajo de la coalescencia. ^b A 300 K. Los errores estimados son de $\pm 10\%$. ^c No determinado.

Aunque las propiedades conformacionales de una molécula determinan, en principio, su capacidad para formar complejos supramoleculares estables, nuestros resultados indican que la simple cuantificación de la conformación activa en el equilibrio previo a la formación del complejo no es un dato fiable para predecir la eficiencia en la asociación. Esta situación también se ha encontrado en sistemas naturales [119]. La existencia de interacciones intramoleculares que compitan con la formación de enlaces de hidrógeno intermoleculares y la naturaleza de los sustituyentes en la vecindad del sitio de unión puede afectar drásticamente las propiedades de complejación. La identificación de la existencia de estructuras secundarias favorecidas y de interacciones intramoleculares en glicoconjugados es, por tanto, un aspecto importante a la hora de diseñar receptores artificiales basados en carbohidratos. La combinación adecuada de varios motivos de reconocimiento en un mismo receptor permitiría abordar el reconocimiento de moléculas más complejas. En el apartado siguiente se recogen nuestros resultados en este sentido.

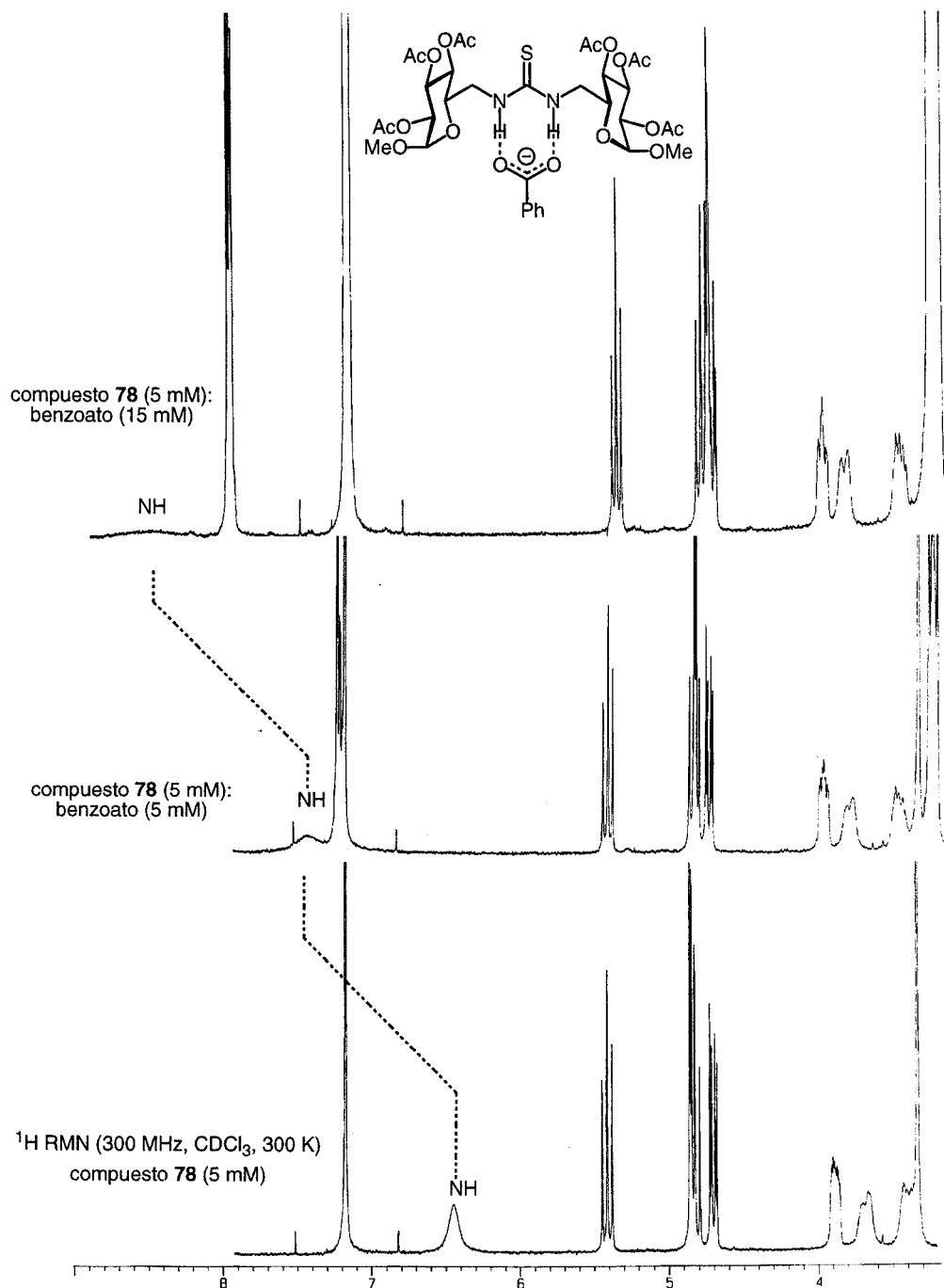


Figura 11. Variación de δ de las señales del compuesto **78** a concentraciones crecientes de $\text{BzO}^-\text{Bu}_4\text{N}^+$.

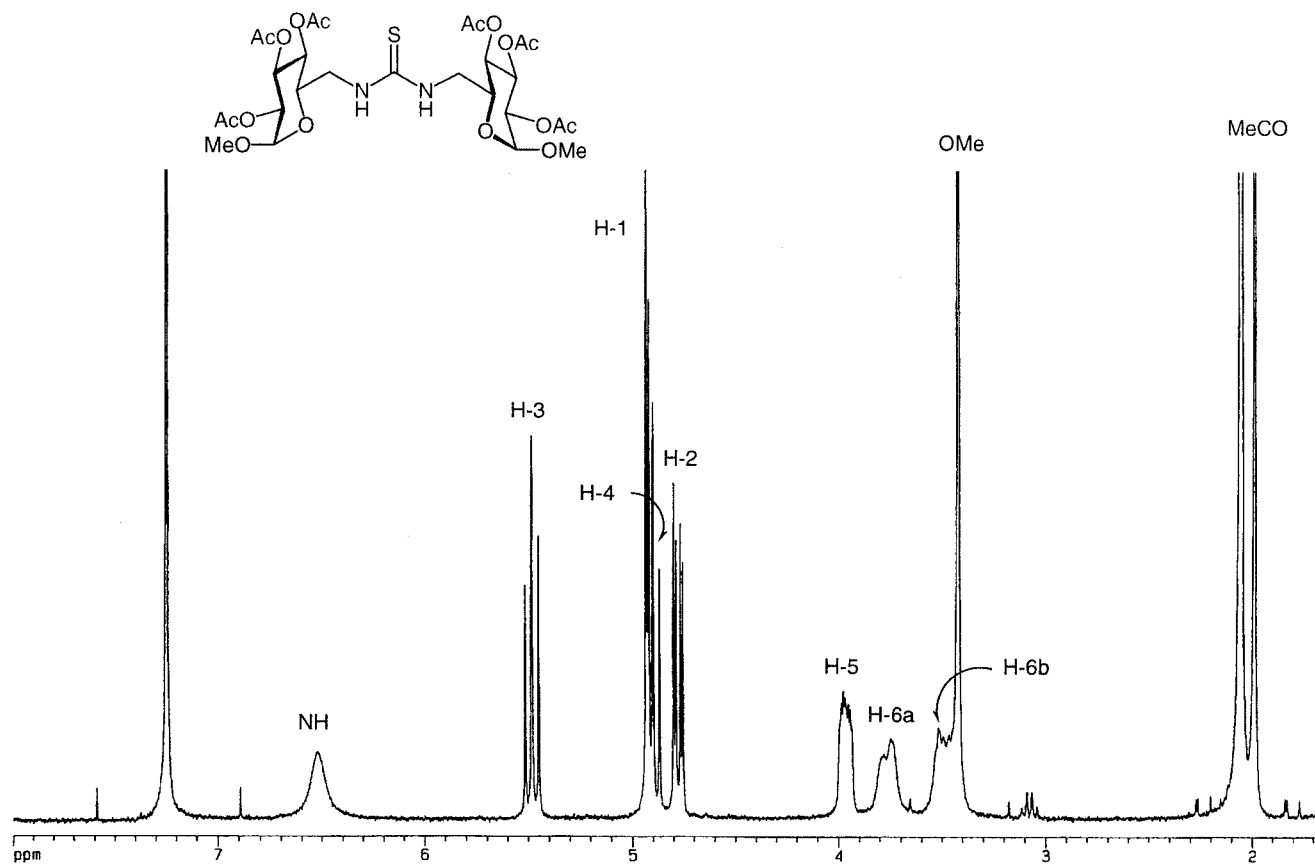


Figura 16. Espectro de ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3 , 323 K) del compuesto 78.

3.2.2. Receptores multitópicos.¹

El diseño y la síntesis de receptores modelo capaces de reconocer moléculas polares de significación biológica han cobrado un interés creciente en los últimos años [120]. Las interacciones intermoleculares implicadas en la formación de estos complejos tienen una incidencia directa en numerosos procesos vitales y, además, el desarrollo de receptores artificiales puede conducir a nuevos biosensores, medicamentos y sistemas de transporte moleculares. Un esfuerzo considerable en este sentido se ha dirigido a la preparación de receptores sintéticos capaces de reconocer derivados de ácidos carboxílicos [103, 121] o carbohidratos [9a,b, 122] mediante el establecimiento de redes de enlaces de hidrógeno. Los primeros son modelos sencillos de aminoácidos y proteínas. Si bien los enlaces de hidrógeno son, en general, más débiles que las interacciones electrostáticas cuando intervienen los correspondientes aniones carboxilato, pueden llegar a ser la fuerza dominante en la asociación si varios actúan de manera concertada. Un ejemplo paradigmático, que ha inspirado un gran número de trabajos sobre receptores artificiales y neutros para aniones carboxilato [123], es el caso del reconocimiento de carboxilato por los antibióticos de la familia de la vancomicina. Por su parte, el reconocimiento de carbohidratos por proteínas que constituye una etapa clave en procesos tales como la adhesión celular [1], también implica el establecimiento de redes extensas de enlaces de hidrógeno entre receptor y ligando [5c, 6, 124]. El diseño de receptores abióticos que reproduzcan estas estrategias debe proporcionar información sobre los principios que rigen el reconocimiento de carbohidratos por biomoléculas.

El uso del grupo funcional tiourea se ha mostrado especialmente adecuado en el diseño de receptores artificiales neutros basados en enlaces de hidrógeno [71, 91a, b, 94b, 96a, b, 125]. Los protones de NH, relativamente ácidos [62] y con carácter fuertemente donador de enlaces de hidrógeno pueden interactuar con aceptores complementarios de

¹ *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 1366-1372.

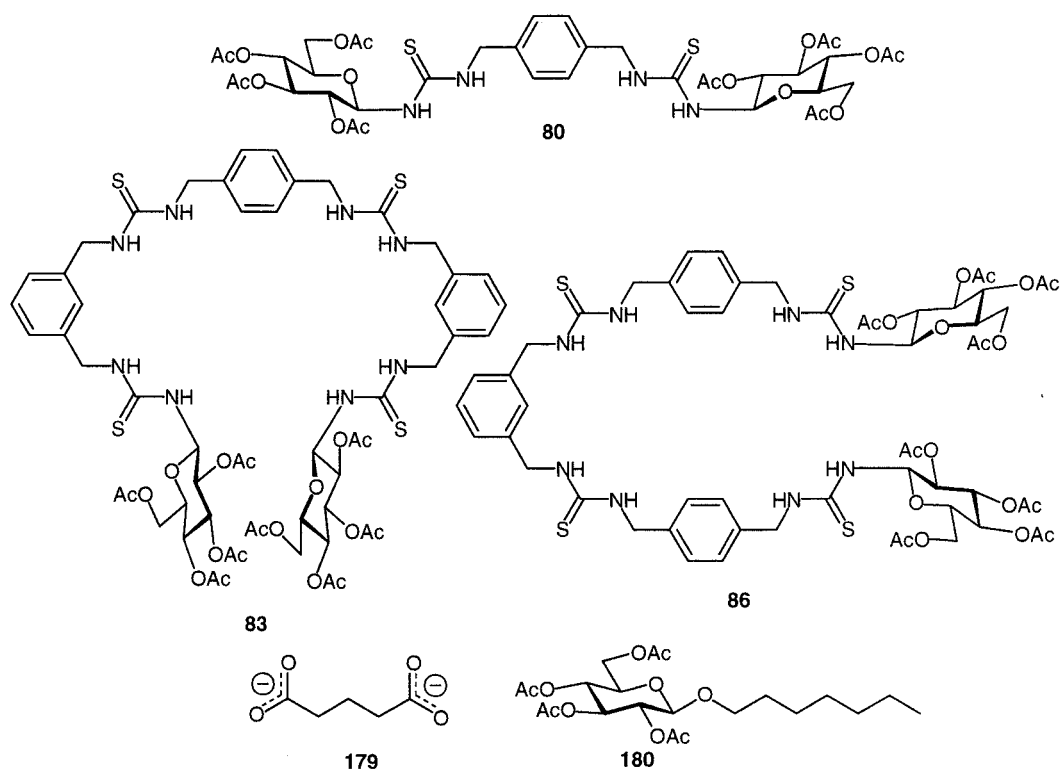
manera específica y predecible. Además, la dispersión de la densidad electrónica en el átomo de azufre hace que el grupo tiocarbonilo sea un aceptor de enlace de hidrógeno débil, por lo que no cabe esperar que interfiera en estudios conformacionales o de complejación cuando intervienen otros centros aceptores más fuertes [64, 126]. Nuestros propios resultados (ver Apartado 3.2.1.) indican que los grupos tiourea incorporados en estructuras pseudooligosacáridicas proporcionan puntos de anclaje eficaces para el reconocimiento de carbohidratos mediante enlaces de hidrógeno. La porción sacarídica permite el control de la conformación alrededor de los enlaces pseudoamida y, además, actúa como sonda intramolecular en los experimentos de valoración por RMN. En este capítulo se describe la extensión de estos trabajos al estudio de las propiedades de complejación del anión glutarato (**179**) y de octil β -D-glucopiranosido (**180**) por los receptores politioureidos **80**, **83** y **86** con el objetivo de determinar el efecto del número de puntos donadores de enlace de hidrógeno y su disposición relativa en la eficacia de la asociación.

Resultados y discusión.

(a) Criterios de diseño.

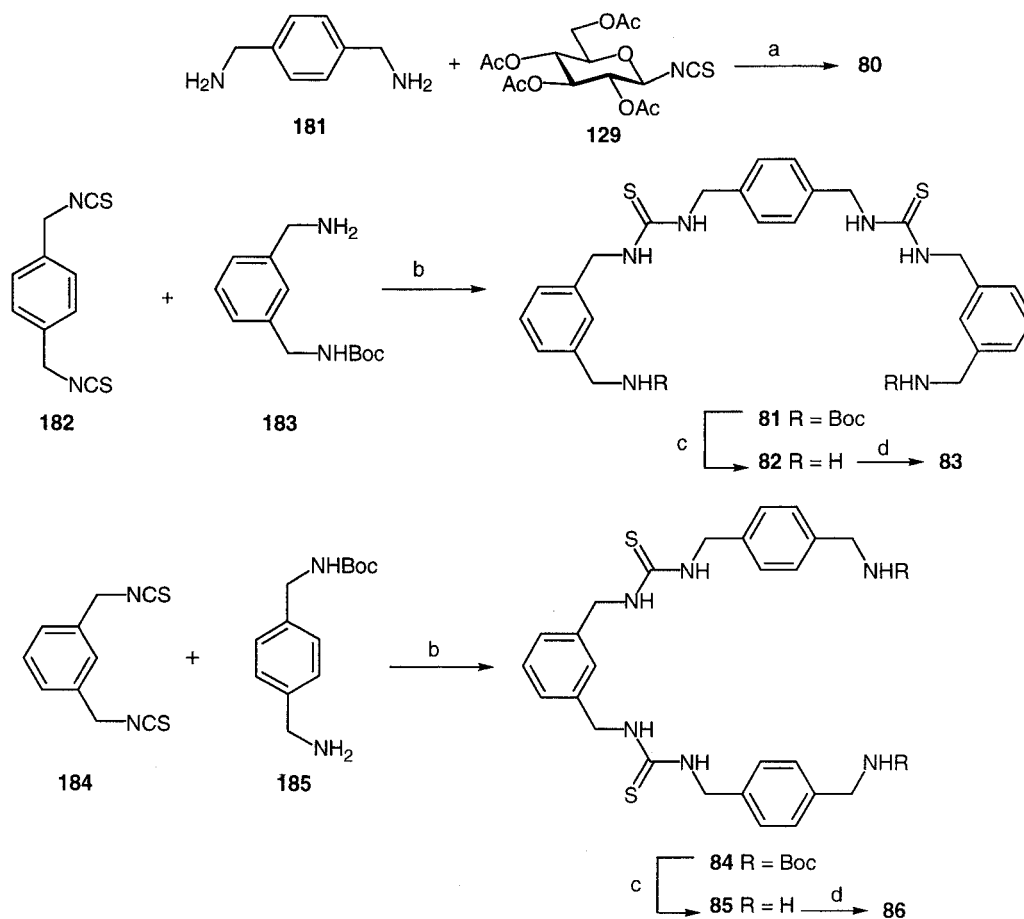
En el diseño de los receptores nos hemos centrado en sistemas con simetría C_{2v} con la finalidad de favorecer interacciones de tipo cooperativo en la formación de complejos y facilitar, al mismo tiempo, el análisis por RMN. Hemos seleccionado el fragmento de *p*-xilileno bis(tiourea) como motivo estructural básico debido a su complementariedad con el dicarboxilato **179** [71, 127]. Dado que la longitud de cadena del glutarato es similar a la de una hexosa, es de esperar que este fragmento pueda también extenderse adecuadamente sobre el anillo piranosídico del octil glucósido **180** [128]. La incorporación de grupos tioureido adicionales y de segmentos de *m*-xilileno pretende crear una cavidad más profunda que favorezca la desolvatación del ligando y

una interacción máxima por enlaces de hidrógeno [129]. La disposición relativa de los grupos tiourea se escogió de manera que permitiese un contacto óptimo entre centros donadores y aceptores sin necesidad de adoptar conformaciones tensionadas. A diferencia del receptor tetradentado **80**, los centros donadores de enlace de hidrógeno de **83** y **86** pueden complementar todos los centros aceptores del ligando **179**, en su conformación transoide más estable, por rotación alrededor de un número limitado de enlaces sencillos, como se comprobó por modelización molecular. Se han considerado las dos posibles combinaciones alternadas de espaciadores *p*- y *m*-xilileno con objeto de analizar los cambios en las propiedades de complejación al variar la disposición relativa de los elementos de reconocimiento manteniendo inalterada la estructura general del complejo de estequiometría 1:1. Las subunidades terminales de glucopiranosilo deben fijar la configuración *Z* alrededor del enlace pseudoamídico NH-C(=S), de acuerdo con lo descrito para otras glicosiltioureas, favoreciendo la disposición 1,3-paralela “activa” de los protones NH de tiourea [39a, b].



(b) Síntesis y estructura de los receptores **80**, **83** y **86**.

El receptor tetradentado **80** se preparó por acoplamiento del 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosil isotiocianato **129** [59a] y la *p*-xililendiamina **181**. Los receptores **83** y **86** se obtuvieron en tres etapas por reacción del 1,4- (**182**) [130] y 1,3-bis(isotiocyanatometil)benceno (**184**) [105] con las correspondientes diaminas monoprotectidas **183** [105, 131] y **185** [131], respectivamente, seguido de hidrólisis catalizada por ácido trifluoroacético de los grupos carbamato en los aductos (**81** y **84**) y, finalmente, acoplamiento de la diamina resultante (**82** y **85**) con el glucosil isotiocianato **129** (Esquema 28).



Esquema 28. Síntesis de receptores multitópicos. Reactivos y condiciones: a, CH_2Cl_2 , 30 min, 78%; b, CH_2Cl_2 , 3 h, 47-65%; c, TFA/ H_2O 1:1, 1 h, cuant.; d, + **129**, acetona/ H_2O 1:1, pH 8 (NaHCO_3), 2 h, 70-73%.

Los espectros de ^1H y ^{13}C RMN a 313 K en CDCl_3 y $\text{DMSO}-d_6$ de los receptores **80**, **83** y **86** mostraron un único juego de señales de acuerdo con la simetría C_{2v} esperada. En los experimentos ROESY se observaron señales de cruce intensas entre los protones de NH-azúcar y los protones H-2 del anillo de piranosa, confirmando la conformación *anti* alrededor del enlace anomérico (Figura 12). El desplazamiento a campo bajo de la señal de H-1 es acorde con una disposición 1,3-paralela respecto al átomo de azufre del

grupo tiocarbonilo, lo que implica la configuración *Z* del correspondiente enlace pseudoamídico [132]. La existencia de contactos ROE intensos entre los protones de NH localizados en el mismo grupo tioureido indican además una proporción significativa del conformero *Z,Z* en el equilibrio rotamérico. En cualquier caso, los espectros de ^1H RMN registrados en CDCl_3 a baja temperatura pusieron de manifiesto la presencia de varias formas rotaméricas en equilibrio en disolución. Las temperaturas de coalescencia relativamente bajas (255-260 K), los desplazamientos químicos de las señales de NH (7.2-6.5 ppm) y la complejidad de los espectros a temperatura ambiente descartaron la presencia de enlaces de hidrógeno intramoleculares capaces de estabilizar conformaciones de los receptores cuya ruptura suponga un coste energético adicional a la hora de la complejación de los ligandos.*

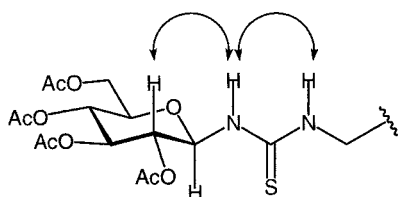


Figura 12. Disposición relativa de los protones H-2, H-1 y NH en la conformación anti-*Z,Z* de los segmentos de glicosiltioureido. Se indican los contactos ROE característicos.

La evaluación de la estequiometría de los complejos y de la fuerza de los enlaces se llevó a cabo haciendo uso del método de variaciones continuas (representaciones de Job) y de experimentos de valoración por ^1H RMN. La adición de alícuotas de glutarato

* Típicamente, la presencia de enlaces de hidrógeno intramoleculares en tioureas de azúcares da lugar a un incremento de las temperaturas de coalescencia (T_c 285-295 K), un desplazamiento a campo bajo de las resonancias de los protones de NH (δ 11-7.3 ppm) y una simplificación del equilibrio rotamérico. Ver ref. [40b, c] y [115].

de tetrabutilamonio **179** en CDCl_3 o $\text{DMSO-}d_6$ o de octil β -D-glucopiranosido **180** en CDCl_3 a disoluciones 5 mM de los receptores **80**, **83** y **86** provoca el desplazamiento de las señales de los protones de NH a campo bajo, debido a su implicación en la formación de enlaces de hidrógeno. En todos los casos, los desplazamientos químicos de las señales en los espectros de ^1H RMN a 303 K fueron independientes de la concentración del receptor en el rango de concentraciones empleado (1 mM a 10 mM), descartando la existencia de procesos de autoasociación significativos en las condiciones utilizadas para la medida de las constantes de asociación (K_{as}). En el caso del octil glicósido **180**, los experimentos de dilución en CDCl_3 mostraron un débil efecto de autoasociación a concentraciones superiores a 5 mM. Para confirmar que este efecto de autoasociación es despreciable frente a la formación de complejos ligando-receptor, se llevaron a cabo experimentos adicionales de valoración inversa en los que la concentración de **180** se mantuvo constante y se varió la de los receptores. Los valores de K_{as} obtenidos por este procedimiento fueron prácticamente idénticos a los observados por el método directo.

El receptor **80** mostró frente a **179** una isoterma de complejación en $\text{DMSO-}d_6$ compatible con el complejo de estequiometría 1:1 (Figura 13). La resolución de los espectros mejoró considerablemente en presencia del ligando, lo cual es consistente con la formación de enlaces de hidrógeno bidentados que fijan la configuración *Z,Z* en los segmentos de tiourea [133]. El análisis de la isoterma de complejación mediante un método de regresión no lineal [134] mostró una asociación relativamente débil (K_{as} 391 M^{-1})* en contraste con las constantes de asociación mucho mayores descritas para estructuras similares de bis(tiourea) con sustituyentes butilo sobre los átomos de nitrógeno [96a]. Posiblemente, el mayor carácter lipófilo de las cadenas de alquilo facilita el proceso de desolvatación del huésped dicarboxilato. En CDCl_3 , donde sólo son posibles

* Las constantes de asociación (K_{as}) son un promedio de experimentos por triplicado. Los errores están estimados en $\pm 10\%$ para los ajustes 1:1 y en $\pm 20\%$ para otras estequiometrías. Agradecemos al Dr. C. A. Hunter el habernos facilitado el programa de regresión.

interacciones por enlaces de hidrógeno, los datos obtenidos a partir del método de variaciones continuas y de valoración (Figura 14) indicaron un equilibrio entre el complejo **186** y un complejo de estequiometría 2:1 (receptor/huésped) probablemente con una estructura similar a **187** (Figura 15). Ya que el experimento de valoración comienza con el receptor **80** en exceso, el complejo de estequiometría 2:1 es el primero que se forma, siendo el mayoritario hasta concentraciones del ligando cercanas a 0.5 equivalentes. A medida que aumenta la concentración de ligando, el equilibrio se desplaza hacia la formación del complejo 1:1 **186**. El ajuste de la curva a un modelo con doble equilibrio [135] permitió obtener valores de constantes microscópicas de asociación (K_{as1} y K_{as2}) de 235 y 247 M^{-1} , respectivamente.

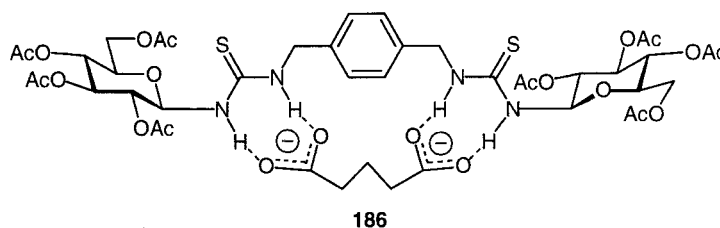


Figura 13. Modo probable de complejación del receptor **80** y el ligando **179** en DMSO- d_6 .

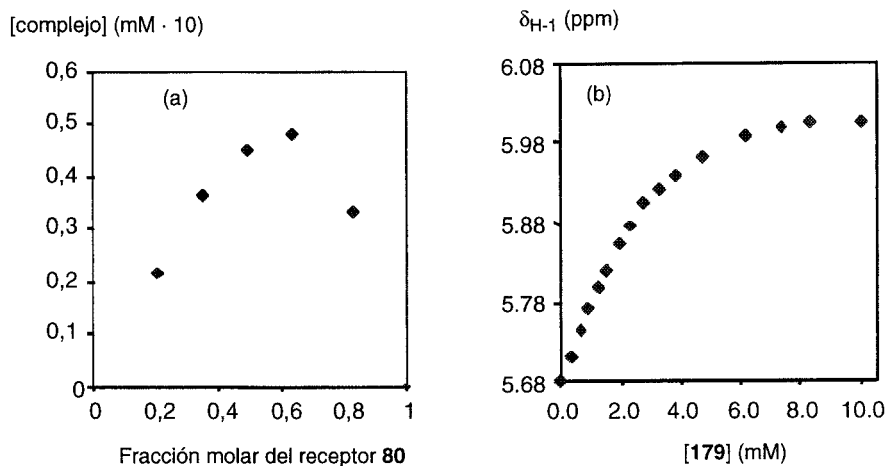


Figura 14. (a) Representación de Job para la complejación de **80** y **179** en $CDCl_3$ a una concentración total 5 mM. (b) Representación de la variación de δ (ppm) para la señal de H-1 del receptor **80** (5 mM) frente a la concentración de **179**.

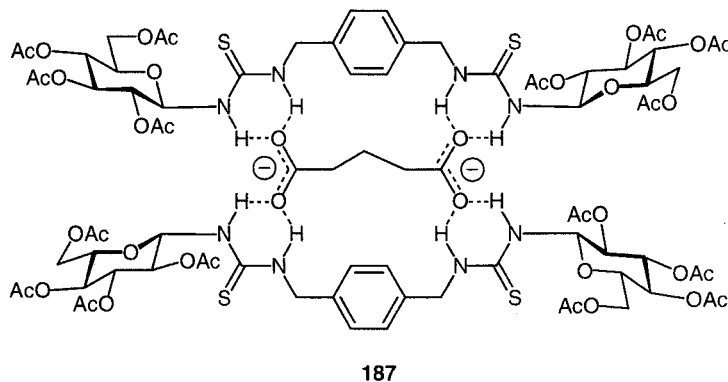


Figura 15. Posible estructura del complejo 2:1 receptor:huésped del receptor **80** y el ligando **179** en $CDCl_3$.

La estructura de los podandos **83** y **86** permite en ambos casos la formación de complejos bimoleculares octadentados con **179**. Sin embargo, su comportamiento frente al glutarato, de acuerdo con los datos de las isothermas de complejación y del método de variación continuas, mostró diferencias significativas. El receptor **83** formó el complejo esperado de estequiometría 1:1 **188** tanto en $CDCl_3$ (Figura 17) como en $DMSO-d_6$ (Figura 16), con valores de K_{as} superiores a los que pueden determinarse por

experimentos de valoración en RMN ($>10^6 \text{ M}^{-1}$). La asociación pudo observarse incluso en mezclas $\text{D}_2\text{O}/\text{DMSO-}d_6$ 1:9 ($K_{as} = 10^3 \text{ M}^{-1}$).

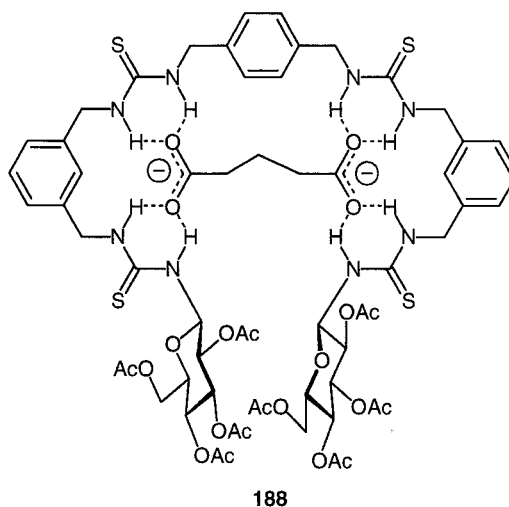


Figura 16. Estructura probable del complejo del receptor **83** y el ligando **179** en CDCl_3 y $\text{DMSO-}d_6$.

En el caso del receptor **86** los datos de RMN no se ajustaron a un complejo de estequiometría 1:1 (Figura 17). En CDCl_3 los datos de complejación sugirieron un equilibrio entre el complejo de estequiometría 1:1 **189** y un complejo receptor/huésped 2:1 con una estructura similar a **190** ($K_{as1} = 10^4 \text{ M}^{-1}$, $K_{as2} = 10^3 \text{ M}^{-1}$, respectivamente). Esta observación está de acuerdo con la tendencia de los fragmentos de *m*-xilileno bis(tiourea) a formar enlaces de hidrógeno tetradentados con carboxilatos [94b]. En $\text{DMSO-}d_6$ los datos del método de variaciones continuas y las isotermas de valoración fueron consistentes con la formación de un complejo de estequiometría 1:2 (receptor/huésped) **191** a concentraciones elevadas de glutarato, con valores de K_{as1} y K_{as2} de 10^5 y 10^2 M^{-1} , respectivamente (Figura 18).

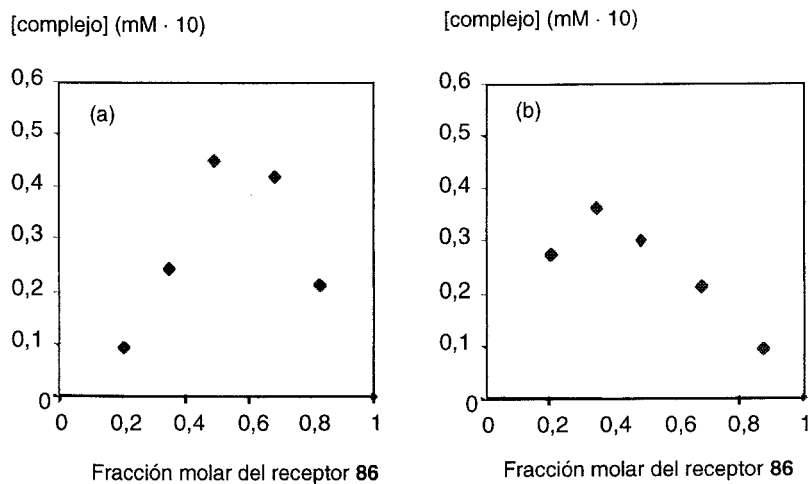


Figura 17. (a) Representación de Job para la complejación de **86** y **179** en CDCl₃ a una concentración total 5 mM. (b) Representación de Job para la complejación de **86** y **179** en DMSO-*d*₆ a una concentración total 5 mM.

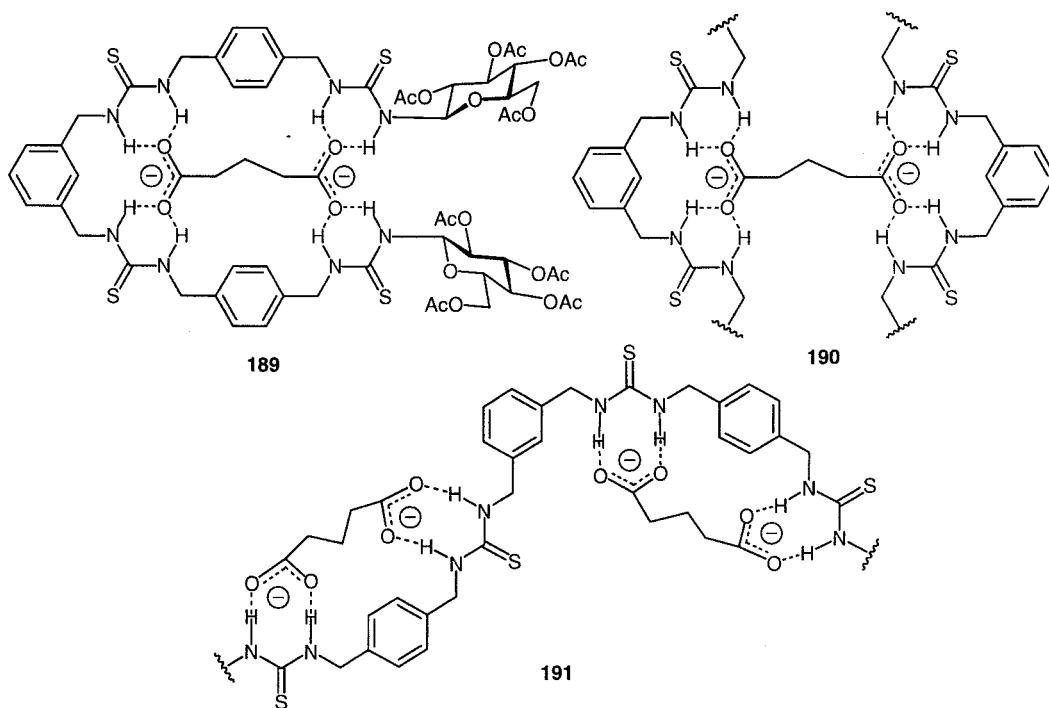


Figura 18. Posible estructura de los complejos 1:1 (**189**), 2:1 (**190**) y 1:2 (**191**) receptor:huésped entre el receptor **86** y el ligando **179** en CDCl₃ o DMSO-*d*₆.

El conjunto de datos anteriores ilustra la influencia que cambios sutiles en la disposición relativa de los elementos de reconocimiento pueden tener sobre las propiedades de complejación de receptores por enlaces de hidrógeno. Las estructuras de los complejos **187**, **188** y **189** representan disposiciones supramoleculares geoméricamente equivalentes, con el ligando glutarato **179**, en su conformación transoide más estable, totalmente solvatado por los cuatro grupos tiourea. Las notables diferencias observadas en la estabilidad relativa de los complejos (**188** > **189** >> **187**) ponen de manifiesto las ventajas de disponer los elementos donadores de enlaces de hidrógeno próximos en el espacio, de modo que sean solvatados de manera menos efectiva que cuando se encuentran separados. Además, la cooperatividad de las interacciones en ambos extremos del receptor facilita un ajuste óptimo entre el receptor y el dicarboxilato.

El comportamiento de los receptores **80**, **83** y **86** frente al glucósido **180** en CDCl_3 fue completamente diferente. En todos los casos las representaciones de Job fueron consistentes con una estequiometría 1:1. El valor de K_{as} para el complejo **80:180** (900 M^{-1}) resultó tres veces mayor que los valores para los complejos **83:180** (314 M^{-1}) y **86:180** (304 M^{-1}). Aparentemente, los receptores **83** y **86** actúan exclusivamente como donadores de enlaces de hidrógeno, mientras que en el caso del receptor **80** se observan interacciones adicionales de enlace de hidrógeno entre los grupos OH de **180** y las funciones éster de **80**. Esta hipótesis quedó apoyada por la observación de contactos ROE intermoleculares débiles entre las unidades de azúcar del receptor y del ligando que en el caso de los complejos con **83** y **86** no se observaron.

La mejora de la resolución espectral en el complejo **80:180** en comparación con la del receptor **80** en las mismas condiciones (*Figura 18*) sugiere la formación de una estructura supramolecular relativamente rígida que fija la conformación del receptor. El desplazamiento a campo alto de las señales correspondientes a los protones del ligando muestra claramente que, en el complejo, el anillo de piranosa se sitúa sobre el sistema π del anillo de benceno. Este efecto es mucho más acusado en el caso de los protones H-2 y

H-4, sugiriendo que la cara β de la piranosa es la más próxima al anillo aromático. Esta disposición relativa permite la formación de cuatro enlaces de hidrógeno NH...O implicando los átomos O-2, O-3, O-4 y O-6 del ligando, con los segmentos de tiourea en configuración *Z,Z* como se muestra en la Figura 19. Adicionalmente, al menos dos grupos acetilo del receptor (localizados en C-2 y C-6) pueden actuar como centros aceptores de enlaces de hidrógeno OH...O lo que contribuye al alto valor de K_{as} . Además, este modo de asociación no compite con la red intramolecular de enlaces de hidrógeno alrededor del sistema formado por OH-2/OH-3/OH-4 en el glucósido.*

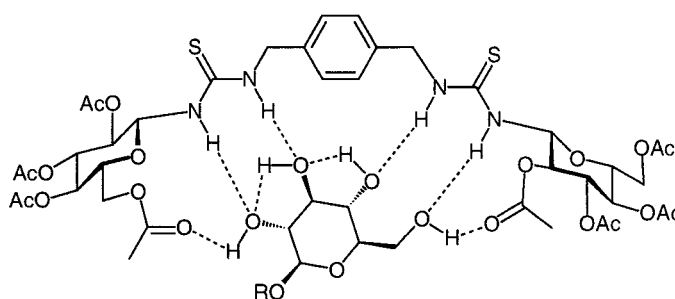


Figura 19. Modo posible de complejación del receptor **80** y el ligando **180** en $CDCl_3$.

En el caso de los complejos de **83** y **86** con **180**, las señales de 1H RMN del ligando también resultaron desplazadas a campo alto, sugiriendo su localización en una

* Para los estudios de la complejación por ordenador se ha empleado MACROMODEL v6.0 y el modelo de disolvente continuo GB/SA para cloroformo. Inicialmente el receptor se minimizó con el programa MM2* con los grupos tiourea en la configuración *Z,Z* y la conformación *anti* en los enlaces glicosídicos. El mínimo global se empleó para complejar al ligando con la cadena de octilo en la conformación transoide y orientada para satisfacer el efecto *exo*-anomérico (ángulo Φ H-1—C-1—O-1—octilo 60 °C). La geometría obtenida por minimizaciones sucesivas es acorde con los datos de RMN antes discutidos.

cavidad rodeada por anillos aromáticos. Sin embargo, a diferencia de lo que se observaba en el caso del complejo **80:180**, las variaciones en la anchura de las líneas y en los desplazamientos químicos del receptor fueron mucho menos acusadas. El ensanchamiento de las líneas espectrales fue evidente incluso en presencia de un gran exceso de ligando, indicando la existencia de procesos de intercambio químico lentos asociados, probablemente, a la rotación restringida alrededor de los enlaces pseudoamídicos NH-C(=S). Estas observaciones pueden racionalizarse asumiendo que el patrón principal de asociación en estos sistemas implica, por una parte, dos grupos tiourea unidos por un puente de xilileno y, por otra, cuatro átomos de oxígeno del azúcar. Aunque otras arquitecturas supramoleculares con mayor capacidad de solvatación del azúcar por enlaces de hidrógeno son posibles, estas interacciones adicionales se tendrían que formar a expensas de los enlaces de hidrógeno intramoleculares OH...OH [136] o bien serían interacciones NH...O de dos centros. Estas disposiciones contribuirían sólo ligeramente a la entalpía de complejación, mientras que el coste entrópico sería considerable. De los tres fragmentos de xilileno presentes en los receptores **83** y **86** sólo uno de ellos participa eficazmente en la complejación, manteniendo el resto de la molécula del receptor un alto grado de movilidad. El ligando se encuentra, probablemente, intercambiándose rápidamente entre estos fragmentos, con lo que la situación promedio es equivalente a la de una cavidad rodeada de anillos aromáticos (Figura 20).

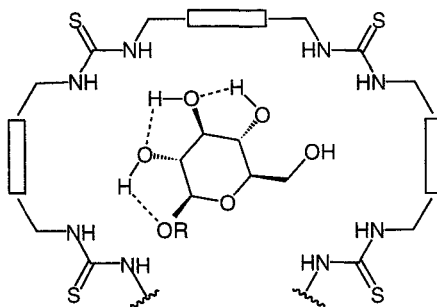


Figura 20. Representación esquemática de la complejación del receptor **83** y el ligando **180** en CDCl_3 .

Es interesante destacar que el ligando **180**, un aceptor de enlace de hidrógeno mucho más débil que **179**, muestra una mayor eficacia en la formación de complejos de estequiometría 1:1. Esto sugiere que los requerimientos para el reconocimiento y la complejación por enlaces de hidrógeno depende en gran medida de la naturaleza de las interacciones individuales entre elementos de reconocimiento complementarios en el receptor y el huésped. La preorganización de centros donadores de enlace de hidrógeno en un receptor flexible es crucial para alcanzar una organización supramolecular bien definida cuando las interacciones individuales que intervienen son fuertes (por ejemplo, la asociación tiourea-carboxilato). Por el contrario, en el caso de procesos de reconocimiento caracterizados por interacciones débiles (como las interacciones tiourea-hidroxilo), la necesidad de una superficie de contacto efectiva máxima en el complejo supera sobradamente las contribuciones a la energía de enlace debidas a disposiciones diferentes de los elementos de reconocimiento en receptor y huésped. Una situación similar se ha encontrado en sistemas naturales [137]. La identificación de elementos de reconocimiento y la cuantificación de interacciones individuales deben ser particularmente importantes a la hora de diseñar receptores basados en carbohidratos para el reconocimiento mediante interacciones por enlace de hidrógeno de moléculas que posean, simultáneamente, centros aceptores fuertes y débiles, tales como derivados de

carbohidrato con grupos carboxilato (ácidos urónicos y ulosónicos) o fosfato (nucleótidos y fosfatoazúcares). En este sentido se sigue trabajando en nuestro grupo de investigación.

Las conclusiones que pueden extraerse de estos datos presentan, a la hora de extrapolar los resultados a sistemas biológicos, la limitación importante de la ausencia de agua, el disolvente universal en el que se desarrollan los fenómenos de reconocimiento molecular en los seres vivos. Aunque se postula que el interior de una proteína presenta una constante dieléctrica similar a la del cloroformo, es evidente que los procesos de solvatación y desolvatación juegan un papel importante en la termodinámica de la asociación. Hemos intentado también esta Tesis diseñar otros receptores que sean apropiados para el estudio de interacciones entre carbohidratos y otras moléculas orgánicas en agua y que, al mismo tiempo, aporten informaciones nuevas respecto a las que puedan extraerse de los estudios con ciclodextrinas. Los resultados sobre estos nuevos derivados, las “ciclotrehalinas”, se describen en el siguiente Apartado.

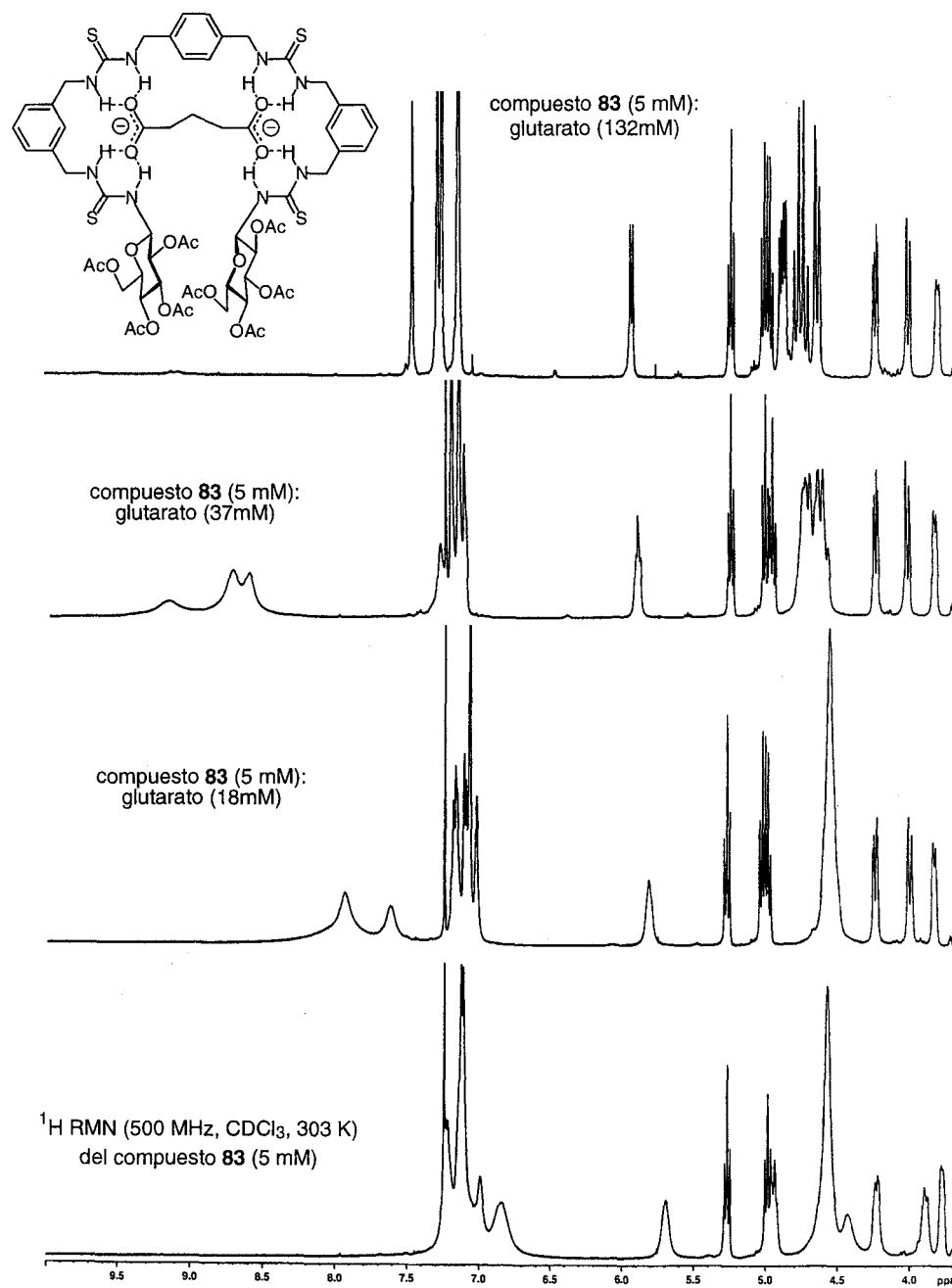


Figura 17. Complejación por ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3 , 303 K) de glutarato con el compuesto **83**.

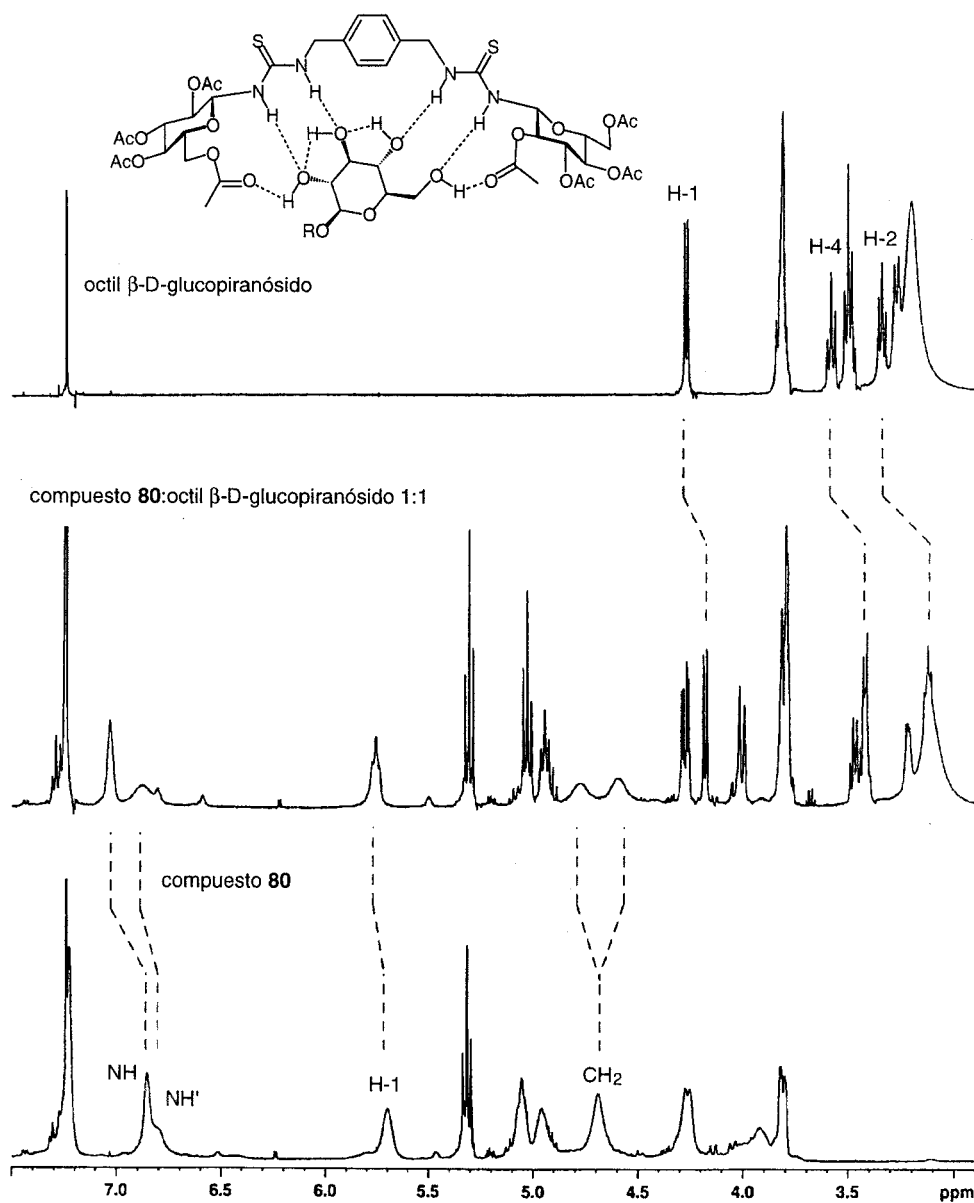
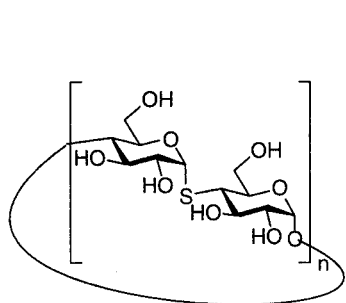


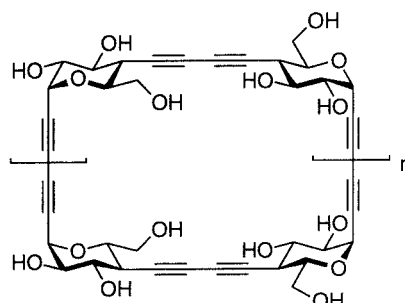
Figura 18. Complejación por ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3 , 300 K) del octil β -D-glucopiranosido con el compuesto 80.

3.2.3. Ciclotrehalinas.

El desarrollo de métodos de síntesis de análogos de ciclodextrinas que permitan diseñar la forma, la talla y el potencial electrostático de la cavidad es de gran interés para acceder a nuevos receptores específicos que aporten información sobre las interacciones en las que intervienen carbohidratos. La modificación de la cavidad de las CDs puede conseguirse, por ejemplo, cambiando la configuración y/o la conformación de la unidad de repetición, manteniendo las uniones *O*-glicosídicas [8, 138]. La sustitución de uno o varios de los motivos glucídicos por subunidades no sacarídicas también conduce a cambios profundos en las características de la cavidad. Ejemplos de estos receptores “mixtos” son los glicofanos [139], que incorporan fragmentos aromáticos, y otros en los que las subunidades de carbohidrato forman parte de estructuras macrocíclicas de tipo éter corona [140] o ciclopéptidos [141]. En cambio, los antecedentes sobre estructuras oligosacáridicas en los que la modificación afecte exclusivamente al grupo funcional de unión entre los motivos de repetición son muy escasos. Cabe destacar la preparación de tiooligosacáridos cíclicos (**192**) por el grupo de Driguez (“ciclotiomaltinas”) [142] y la de pseudocicooligosacáridos con uniones intersacarídicas de tipo butadiino (**193**) por el grupo de Vasella (“acetilenosacáridos cíclicos”) [143].



192 $n = 4, 5, 6$



193 $n = 4, 5, 6$

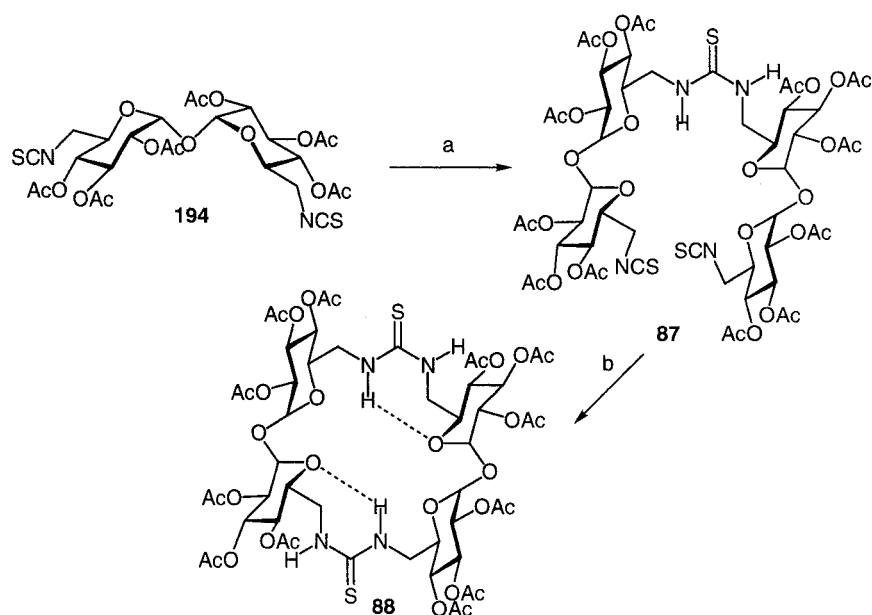
En general, los ejemplos de pseudooligosacáridos descritos presentan una distribución de grupos hidrófobos e hidrófilos análoga a la de las CDs. Para los derivados en los que la unidad de repetición está basado en la D-glucosa, esto implica una cavidad de tipo cóncava, con los protones H-3 y H-5 dirigidos hacia el interior (cara α) y los protones H-2 y H-4, junto al grupo metileno, hacia el exterior. Las interacciones con moléculas hidrófobas en el interior de la cavidad están limitadas, por tanto, a la cara α de los monosacáridos, sin que sea posible con estos receptores el estudio de interacciones que impliquen la cara β . En principio, puesto que esta última también tiene carácter hidrófobo, ciclooligosacáridos con cavidades convexas deberían exhibir un comportamiento análogo al de las CDs en lo que se refiere a la inclusión de moléculas apolares en medio acuoso. Para confirmar esta hipótesis, en esta Tesis nos hemos planteado desarrollar una metodología de síntesis de análogos de ciclooligosacáridos con cavidades convexas basadas en: (i) la utilización de subunidades de α,α' -trehalosa como motivos de repetición y (ii) la unión de los fragmentos anteriores mediante puentes de tiourea a través de las posiciones primarias.

La confluencia de los efectos *exo*-anoméricos en el disacárido de α,α' -trehalosa confiere una gran rigidez a la unión intersacarídica [65], haciendo imposibles las rotaciones que conducirían a cavidades cóncavas. Además, la funcionalización selectiva de las posiciones primarias es relativamente simple y la formación de uniones de tiourea se produce con elevado rendimiento. En un trabajo anterior a esta Tesis [40b] ya se demostró la validez de la aproximación sintética con la preparación del correspondiente dímero cíclico **88** (ver Apartado 3.2.1.) por la reacción de precursores 6,6'-diamino y 6,6'-diisotiocianato. Sin embargo, la cavidad en este compuesto está colapsada por la formación de dos enlaces de hidrógeno intramoleculares. Se describe ahora la preparación del trímero cíclico homólogo y el estudio preliminar de sus propiedades de inclusión.

Resultados y discusión.

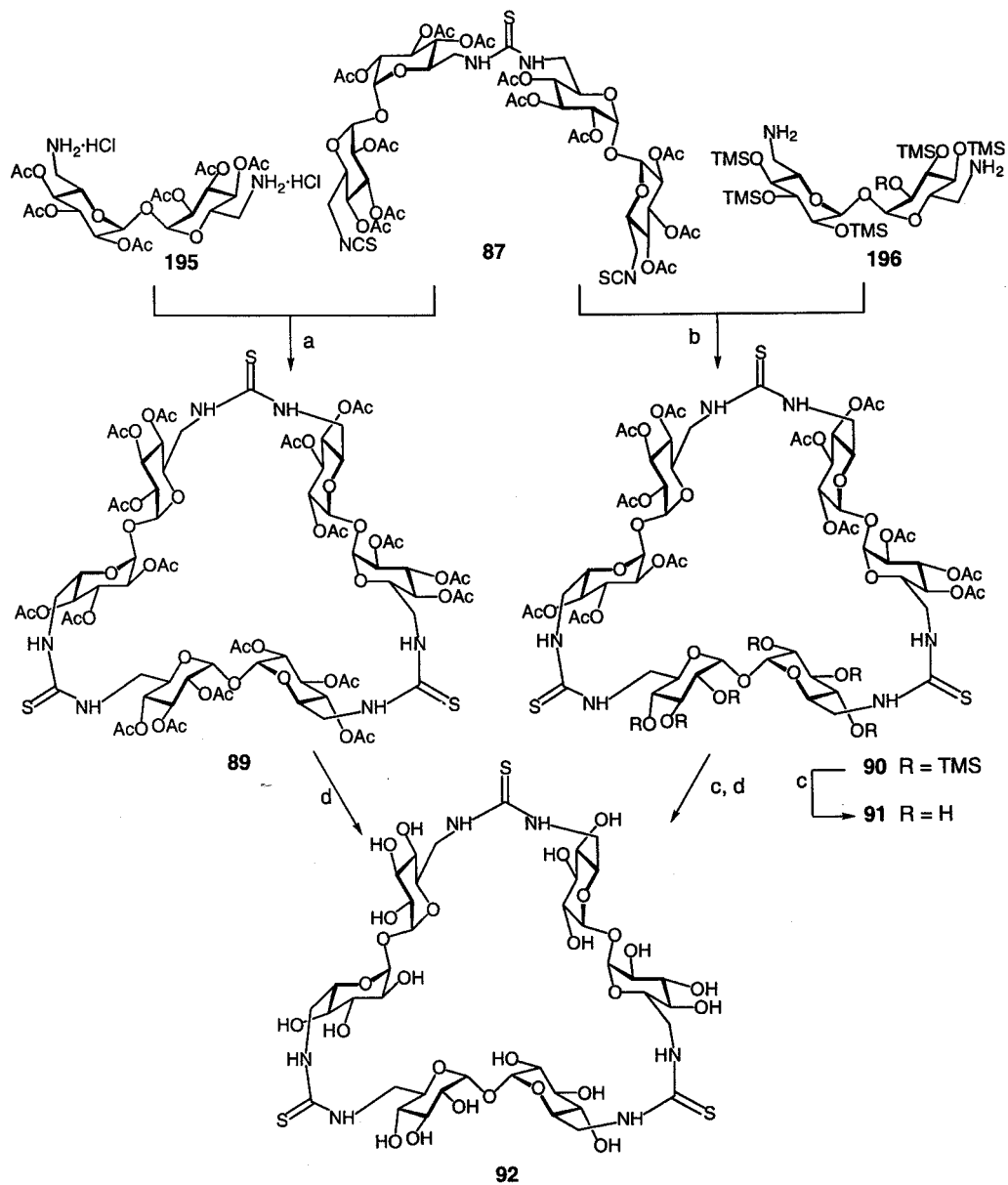
La preparación de un trímero de α,α' -trehalosa supone forzosamente la desimetrización del disacárido en alguna etapa de la síntesis. En un principio consideramos la posibilidad de preparar precursores con funcionalidad diferenciada en las posiciones primarias que permitiesen formar los grupos amino e isotiocianato reactivos, por ejemplo, mediante la monoprotección estadística del derivado 6,6'-diamino-6,6'-didesoxi- α,α' -trehalosa. Sin embargo esta aproximación presentó problemas sintéticos y bajos rendimientos, por lo que decidimos explorar una estrategia alternativa aprovechando la reacción de dimerización de isotiocianatos previamente desarrollada y descrita en el Apartado 3.2.1.

La aplicación de la metodología de síntesis de tioureas simétricas a partir de isotiocianatoazúcares al diisotiocianato de la trehalosa permitió, dependiendo de las condiciones, obtener en una sola etapa el macrociclo tetrasacarídico **88** o el tetrasacárido asimétrico lineal **87** funcionalizado con grupos NCS. La tiourea tetrasacarídica **87** se obtuvo a partir del diisotiocianato **194** con un 38% de rendimiento después de calentar en piridina durante 6 h a 40 °C y constituye un precursor sintético fundamental para la obtención de ciclooligosacáridos superiores. Cuando la reacción de dimerización del diisotiocianato disacarídico se llevó a cabo a 60 °C durante 48 horas se obtuvo en una sola etapa el macrociclo tetrasacarídico **88** con un 30% de rendimiento (Esquema 29).



Esquema 29. Reactivos y condiciones: a, piridina/H₂O 10:1, 40 °C, 6 h, 38%;
b, piridina/H₂O 10:1, 60 °C, 48 h, 30%

La condensación del diisotiocianato tetrasacarídico **87** y el hidrocloreuro de la diamina acetilada se llevó a cabo en piridina a 40 °C aislándose el macrociclo hexasacarídico **89** con un 20% de rendimiento. El bajo rendimiento se debe posiblemente a la migración de grupos acetilo desde los hidroxilos vecinos al grupo amino primario en la diamina **195** que no sólo disminuye la efectividad del acoplamiento sino que además dificulta la purificación. Los espectros de RMN del derivado **89** muestran un solo sistema de spin debido a su simetría D_{3h} (Esquema 30). Con objeto de aumentar el rendimiento y facilitar la purificación se empleó en la reacción de acoplamiento la diamina trimetilsililada derivada de la trehalosa **196**. La condensación, efectuada en diclorometano, permitió obtener el derivado asimétricamente protegido **90** con 70% de rendimiento, que posteriormente se sometió a hidrólisis ácida de los grupos trimetilsililo (\rightarrow **91**) y desacetilación para dar el derivado macrocíclico desprotegido **92**.



Esquema 30. Reactivos y condiciones: a, piridina, 40 °C, 24 h, 20%; b, CH₂Cl₂, t.a., 12 h, 70%; c, CHCl₃/MeOH/H₂O 4:3:1, AcOH, 60 °C, 15 h, 63%; d, NaOMe, MeOH; agua; Amberlite IR-120 (H⁺); Duolite MB 6113 (H⁺, OH⁻).

Los macrociclos asimétricamente sustituidos **90** y **91**, con simetría C_2 , presentan tres sistemas de spin diferentes en sus espectros de ^1H RMN, lo que ha permitido llevar a cabo un estudio estructural haciendo uso de experimentos NOE. En particular, las subunidades de D-glucosa en los fragmentos acetilados de α,α' -trehalosa ya no son magnéticamente equivalentes, observándose señales de cruce en el correspondiente espectro 2D-NOESY. El análisis de los contactos observados confirma que los fragmentos de α,α' -trehalosa conservan la estructura determinada por el efecto *exo-anomérico*, permitiendo concluir que estos ciclooligosacáridos efectivamente una presentan una cavidad convexa, con la cara β orientada hacia el interior. Los protones H-1, H-2 y H-4 están dirigidos hacia el posible huésped mientras que los protones H-3 y H-5 quedan expuestos hacia el disolvente, al contrario de lo que ocurre en las ciclodextrinas. El estudio de los modelos CPK puso de manifiesto que la existencia de una cierta flexibilidad conformacional podría proporcionar a estos receptores, a diferencia de las ciclodextrinas, la posibilidad de adaptarse a las propiedades geométricas del huésped. Estas características estructurales convierten a las ciclotrehalinas en herramientas complementarias a las ciclodextrinas para el estudio de procesos de reconocimiento molecular que impliquen carbohidratos. Los resultados de modelado molecular indican que los ciclooligosacáridos presentan una estructura troncocónica con las unidades de trehalosa en posición vertical en relación a la base de la cavidad (Figura 21). Las dimensiones de la cavidad, determinadas a partir de la modelización, son intermedias entre las correspondientes a la α - y la β -CD, por lo que cabe esperar una capacidad de inclusión semejante hacia ligandos apolares. Es destacable que, a pesar de que los grupos tiourea pueden adoptar todas las combinaciones de formas rotaméricas alrededor de los enlaces pseudoamídicos, esto no afecta prácticamente a la forma y tamaño de la cavidad.

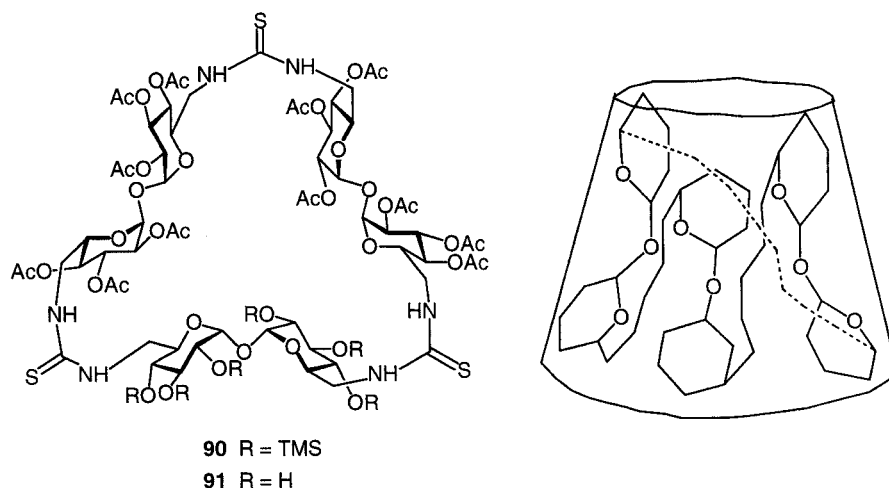


Figura 21. Disposición cóncava de las unidades de trehalosa y estructura troncocónica de los ciclologosacáridos cíclicos **90** y **91** en disolución.

Hemos realizado algunas experiencias preliminares de complejación con este receptor en agua deuterada usando el anión benzoato como huésped. La determinación de la constante de asociación se realizó haciendo uso de experimentos de valoración por ^1H RMN en D_2O . El estudio de los contactos NOE intermoleculares (Figura 22) confirman que los protones de la cara beta de las unidades de trehalosa interaccionan con el ligando, al contrario de lo que sucede en el caso de las CDs. En la figura se muestra la estructura del complejo de inclusión obtenida por modelización, para el que se determina una constante constante de asociación (K_{as}) de $5 \pm 1 \text{ M}^{-1}$ en D_2O por RMN. Aunque bajo, este valor es del mismo orden que los obtenidos para las α - o β -ciclodextrinas ($10\text{-}11 \text{ M}^{-1}$) [144, 145].

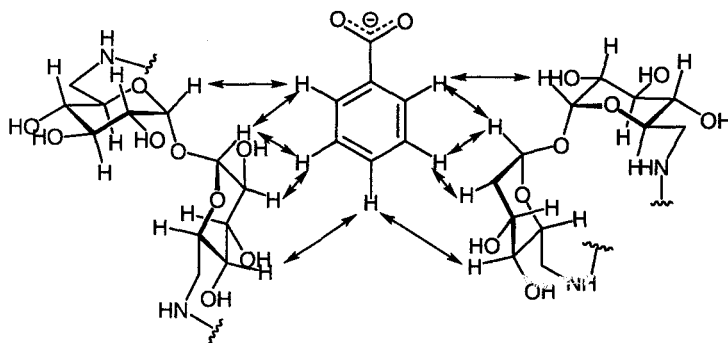


Figura 22. Posible estructura del complejo benzoato-macrociclo **92** en D₂O ($K_{as} = 5 \pm 1 \text{ M}^{-1}$). Se indican los contactos ROE intermoleculares observados.

En el modelo CPK del complejo se observa que la complementariedad geométrica entre el anillo aromático y el receptor **92** es efectivamente buena. El anillo aromático no se introduce mucho en la cavidad probablemente debido a que el grupo carboxilato solvatado tiende a quedar expuesto al medio acuoso y se dispone hacia la base mayor. Este modo de interacción difiere del observado para el caso de la α -CD y aniones benzoato, en los que los estudios de NOE y ROESY indican que las dos disposiciones, con el grupo carboxilato hacia el exterior y hacia el interior de la cavidad son posibles, sin que exista un modelo de asociación preferente [145].

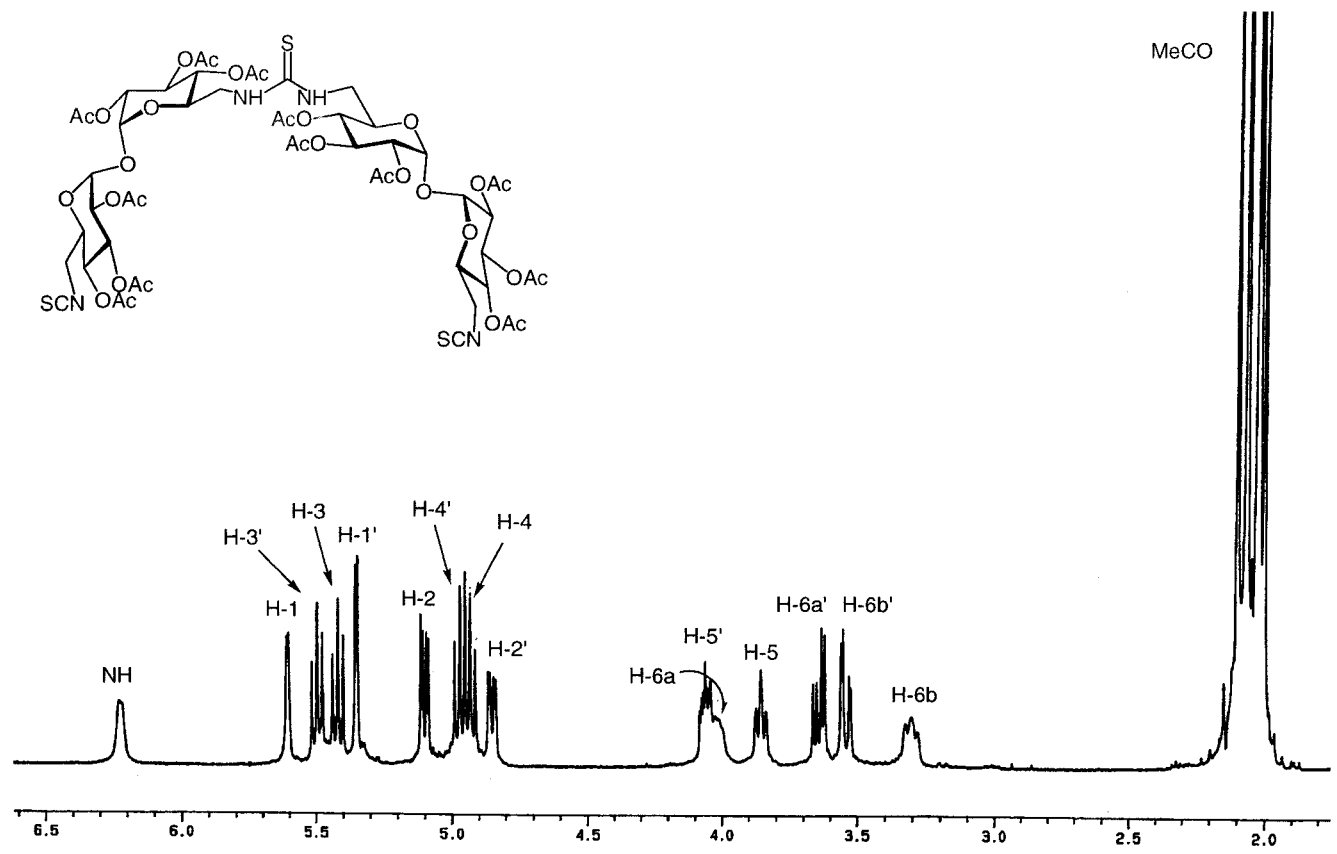


Figura 19. Espectro de ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) del compuesto 87.

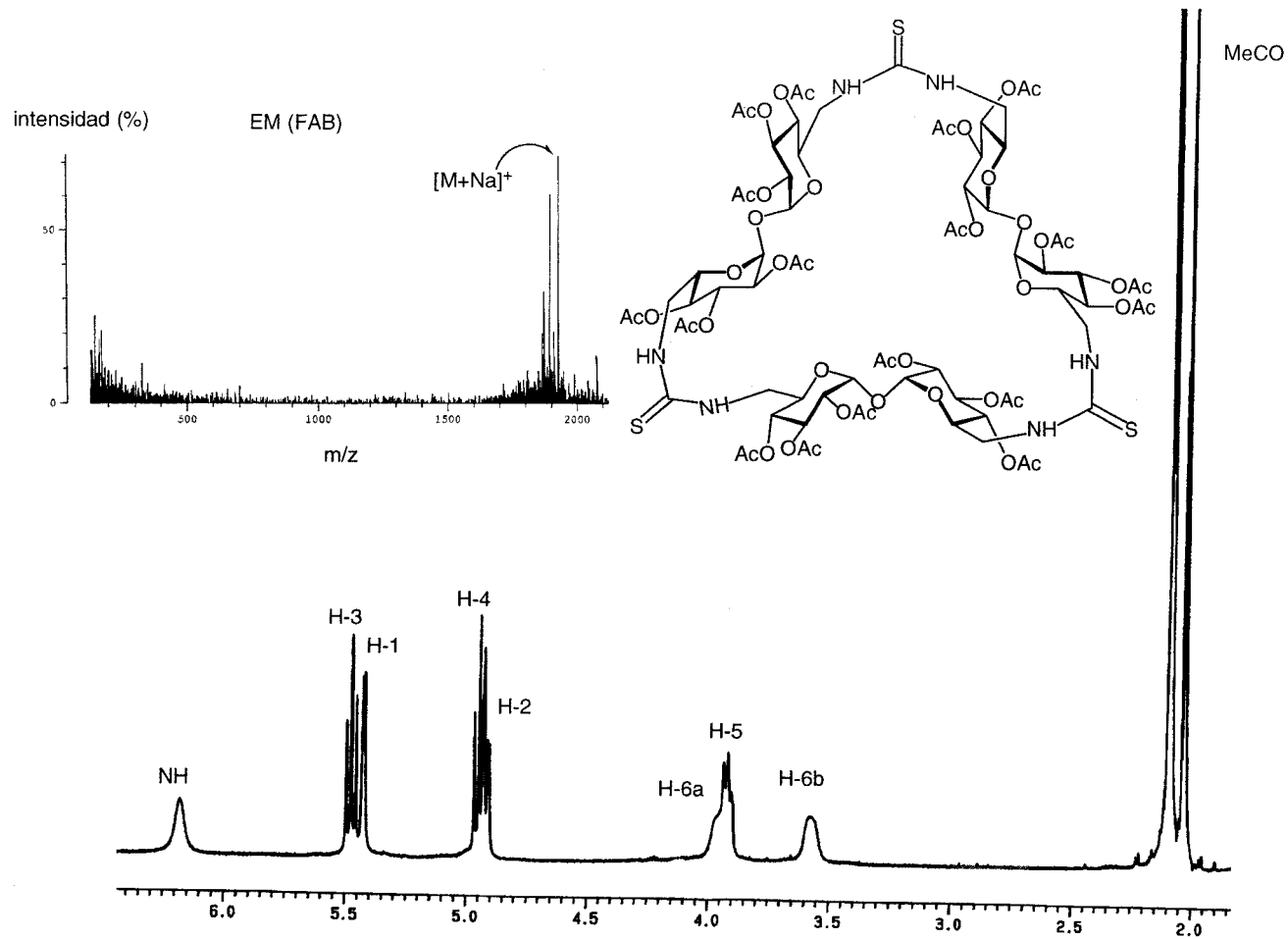


Figura 20. Espectros de ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3 , 313 K) y EM (FAB) del compuesto **88**.

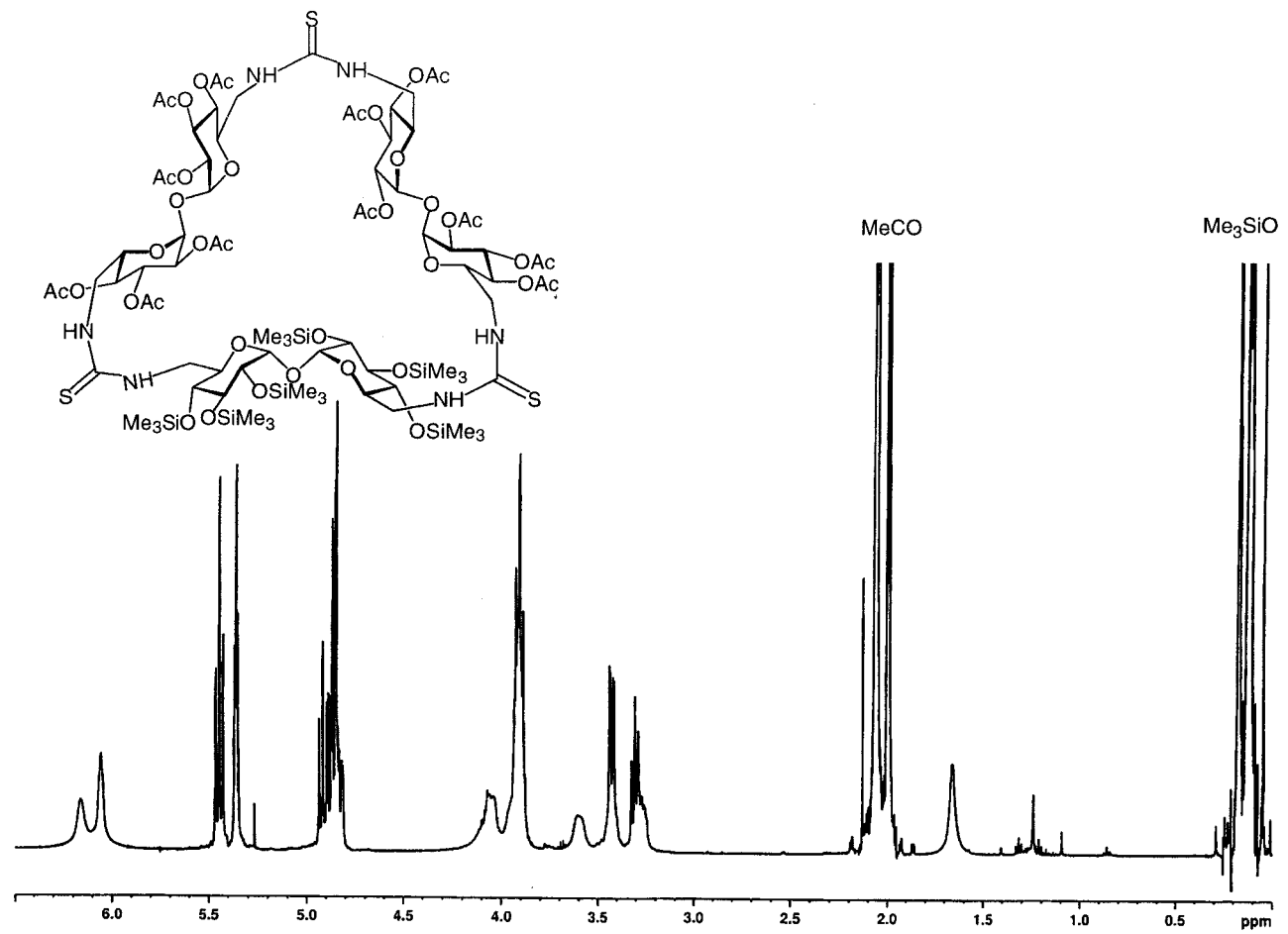


Figura 21. Espectro de ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3 , 313 K) del compuesto 89.

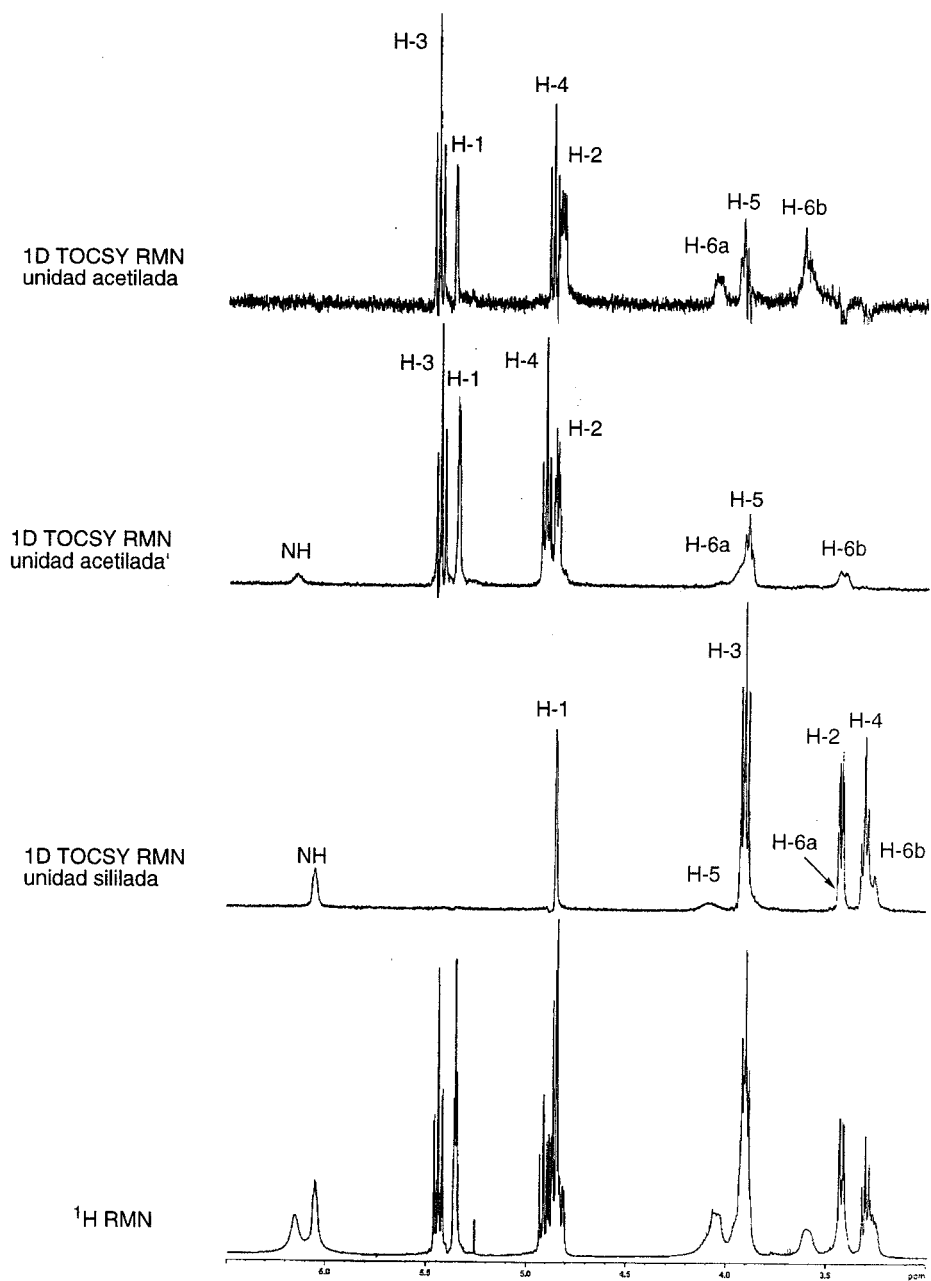


Figura 22. Espectros de ^1H RMN y 1D TOCSY (500 MHz, CDCl_3 , 323 K) del compuesto 89.

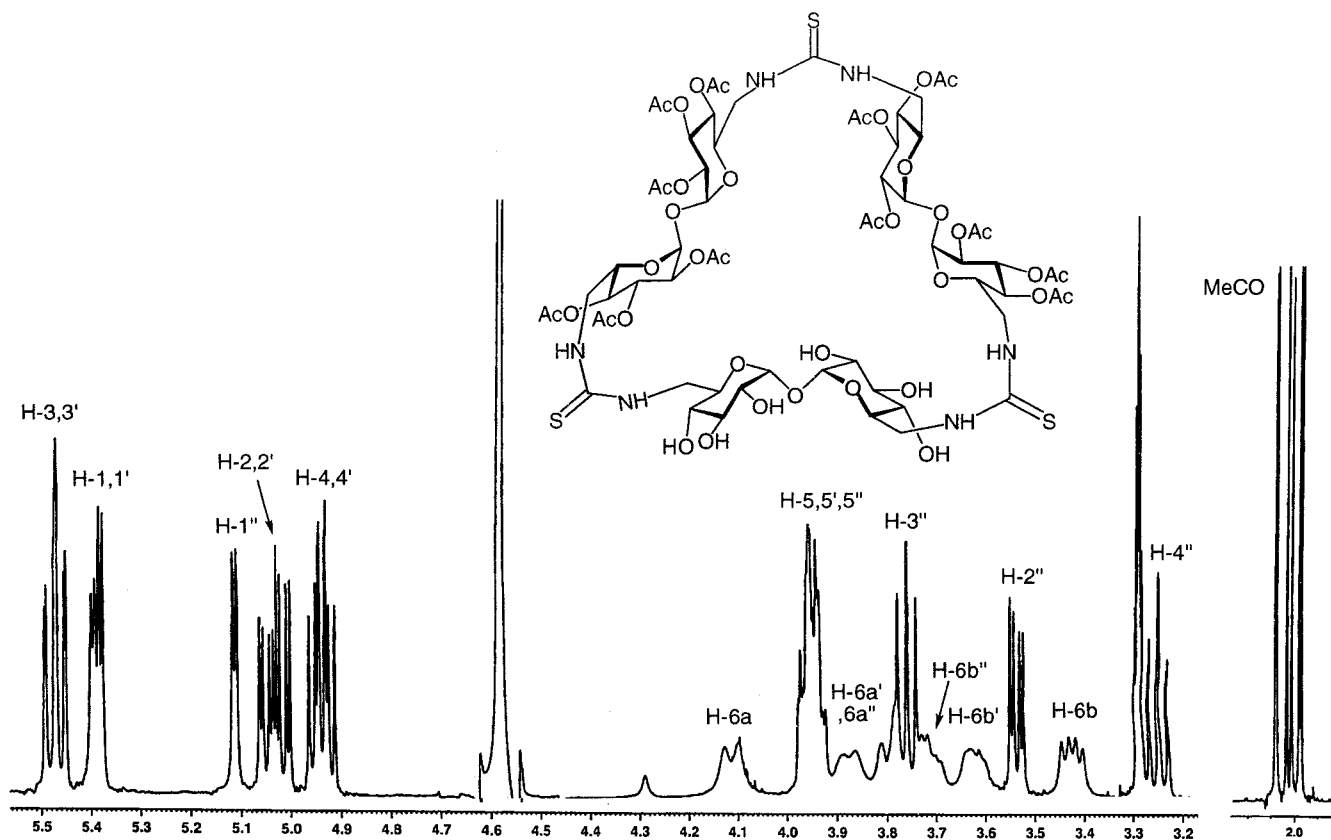


Figura 23. Espectro de ^1H RMN (500 MHz, MeOD, 323 K) del compuesto 90.

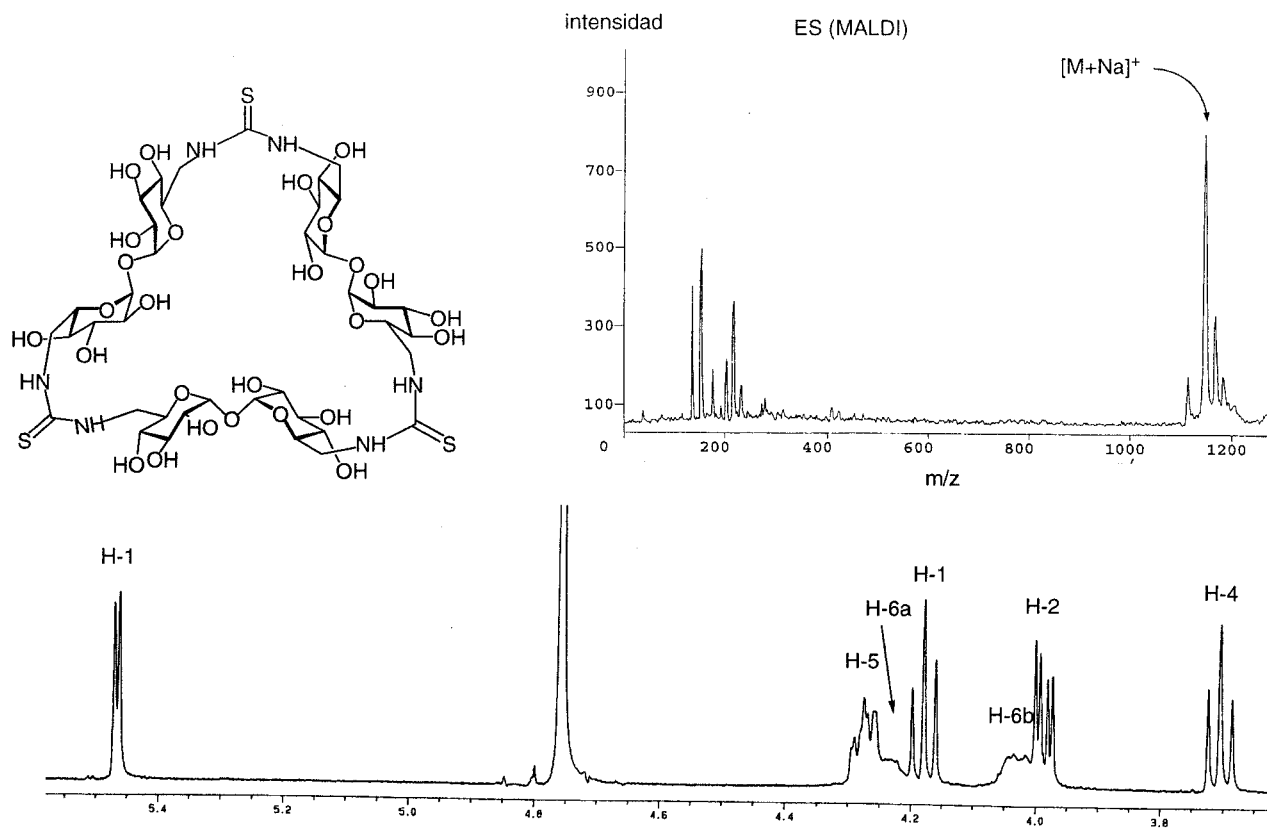


Figura 24. Espectros de ¹H RMN (500 MHz, D₂O, 313 K), ¹³C RMN (125.7 MHz.) y EM (FAB) del compuesto 91.

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1. MÉTODOS GENERALES.

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*.

La **cromatografía líquida de alta presión (HPLC)** se ha llevado a cabo en columnas *Bondapack C-18* de fase reversa (19 x 150 mm) acopladas a un sistema *Waters Separation Module 2690* empleando mezclas de metanol/agua como eluyente y un flujo de 0.5 mL min⁻¹. Las fracciones fueron analizadas mediante un detector *Photodiode Array detector Waters 996*.

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 absorción en el UV** se han registrado en espectrofotómetros *Philips PU 8710* y *Shimadzu Corporation UV-1203*, siendo en ambos casos el camino óptico de 1 cm. Las concentraciones empleadas están comprendidas entre 10^{-4} y 10^{-5} M.

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, junto con su intensidad relativa referida al pico más intenso.

-Ionización Química (CI), a 150 eV, usando como gas reactivo isobutano a una presión de 0.8 bar, corriente de ionización a 500 μA , 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 μL de la disolución resultante se depositó en el portamuestras del espectrómetro y se secó inmediatamente antes de la adquisición del espectro.

Los **cálculos computacionales** se realizaron en un ordenador *Silicon Graphics O2 R-10000* usando el campo de fuerzas MM2* integrado en MACROMODEL 6.0 [146]. Los cálculos se efectuaron utilizando el modelo continuo de disolvente GB/SA para cloroformo o

agua [147]. Las conformaciones se optimizaron usando iteraciones con gradientes conjugados (<0.01). Los correspondientes mínimos globales se usaron como estructuras iniciales en búsquedas conformacionales siguiendo el protocolo MONTECARLO (MC) integrado en MACROMODEL 6.0. Los resultados fueron idénticos a los obtenidos por el procedimiento de generación/minimización anterior. Para los estudios de modelización de complejos (*docking*) se utilizó el mismo campo de fuerzas.

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.

Para las **reacciones de desacetilación** se siguió el método de Zemplén, usando NaOMe M en MeOH seco y modificando en cada caso el número de equivalentes y la temperatura según se describe.

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 (*Saccharomices 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 marcadas 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} de PBS. Para cada inhibidor se prepararon una serie de seis 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 IC_{50} los valores de concentración de inhibidor necesarios para obtener un 50% de inhibición de la asociación entre el manano y la lectina.

La **medida de las constantes de asociación** de complejos receptor-ligando se llevó a cabo mediante experimentos de valoración por ^1H RMN. El CDCl_3 usado en los experimentos

de complejación se desacidificó por tratamiento con alúmina básica. El DMSO- d_6 , que contenía un 0.2% de agua, se conservó sobre tamiz molecular de 4 Å. Las constantes de asociación (K_{as} , M^{-1}) a 303 K se determinaron experimentalmente midiendo los cambios en el desplazamiento químico ($\Delta\delta$, ppm) de las señales de 1H RMN empleando disoluciones 5 mM de los receptores frente a concentraciones crecientes del ligando correspondiente. En un experimento de valoración típico, se preparó una disolución 5 mM del receptor en $CDCl_3$ (o DMSO- d_6), se trasvasó una alícuota de 500 μL al tubo de RMN y se registró el espectro inicial. Se preparó una disolución del ligando (20-75 mM) a partir de la disolución inicial de receptor. La nueva disolución conteniendo ligando-receptor se fue añadiendo en alícuotas de 10-100 μL al tubo de RMN de modo que la concentración de receptor se mantuviera constante. Las cantidades añadidas de ligando se fueron incrementando hasta la complejación total del receptor, registrándose los espectros de 1H RMN después de cada adición. Finalmente, el tratamiento matemático de las curvas de las variaciones de desplazamiento químico de los protones de azúcar ($\Delta\delta$) frente a los valores crecientes de concentración de ligando empleando un procedimiento de ajuste iterativo de mínimos cuadrados permitió determinar los valores de K_{as} .

Para la determinar la **estequiometría de los complejos** se ha empleado el método de variaciones continuas (representaciones de Job). Se prepararon dos disoluciones de concentración 5 mM de receptor y ligando, respectivamente, a partir de las cuales se tomaron alícuotas para preparar disoluciones conteniendo las siguientes relaciones receptor-ligando: 6:0, 5:1, 4:2, 3:3, 2:4, 1:5 y 0:6. Se registraron los espectros de 1H RMN de cada una de ellas determinándose la concentración de complejo de cada disolución a partir de la expresión:

$$[C] = [R]_0(\delta_{obs} - \delta_0) / (\delta_{max} - \delta_0)$$

donde $[R]_0$ es la concentración inicial del receptor, δ_{obs} es el desplazamiento químico observado, δ_0 el desplazamiento químico del receptor libre y δ_{max} el desplazamiento químico del complejo.

La estequiometría del complejo se obtuvo a partir de la representación convencional de $[C]_{\text{eq}}$ frente a $[R]_0 / ([R]_0 + [L]_0)$, donde $[L]_0$ es la concentración inicial de ligando.

4.2. SUSTANCIAS DE PARTIDA.

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

β -D-Glucopiranosilamina (**126**) [38].

Heptaquis(6-desoxi-6-isotiocianato)ciclomaltoheptaosa (**125**) [37b].

Metil 6-amino-6-desoxi- α -D-glucopiranosido (**132**) [148].

2,3,4,6-Tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosil isotiocianato (**129**) [39a, b, 59a].

2,3,6,2',3',4',6'-Hepta-*O*-acetil- β -celobiosil isotiocianato (**130**) [39a, b, 59a].

2,3,6,2',3',4',6'-Hepta-*O*-acetil- β -lactosil isotiocianato (**131**) [39a, b, d].

Heptaquis(6-amino-6-desoxi)ciclomaltoheptaosa (**109**) [37b].

β -D-Manopiranosilamina (**198**) [38].

2,3,4,6-Tetra-*O*-acetil- α -D-manopiranosil isotiocianato (**133**) [39a, b, 59a].

Metil 2,3,4-tri-*O*-acetil-6-desoxi-6-isotiocianato- α -D-manopiranosido (**135**) [60].

N-(Benciloxycarbonil)tris(hidroxiometil)metilamina (**202**) [85].

Etil 2,3,4,6-tetra-*O*-benzoil- α -D-tiomanopiranosido (**203**) [149].

Cloruro de 6-azidohexanoilo (**148**) [87].

N,N'-Bis(di-*tert*-butoxicarbonil)-2-amino-1,3-diaminopropano (**149**) [88].

2,3,4,6-Tetra-*O*-acetil- α -D-galactopiranosilisotiocianato (**176**) [39a, b, 59a].

Metil 2,3,4-tri-*O*-acetil-6-desoxi-6-isotiocianato- α -D-glucopiranosido (**177**) [60].

Metil 2,3,4-tri-*O*-acetil-6-desoxi-6-yodo- α -D-glucopiranosido (**207**) [153].

1,4-Bis(isotiocianatometil)benceno (**182**) [130].

1-Aminometil-3-(*tert*-butoxicarbonilaminometil)benceno (**183**) [105, 131].

1,3-Bis(isotiocianatometil)benceno (**184**) [105].

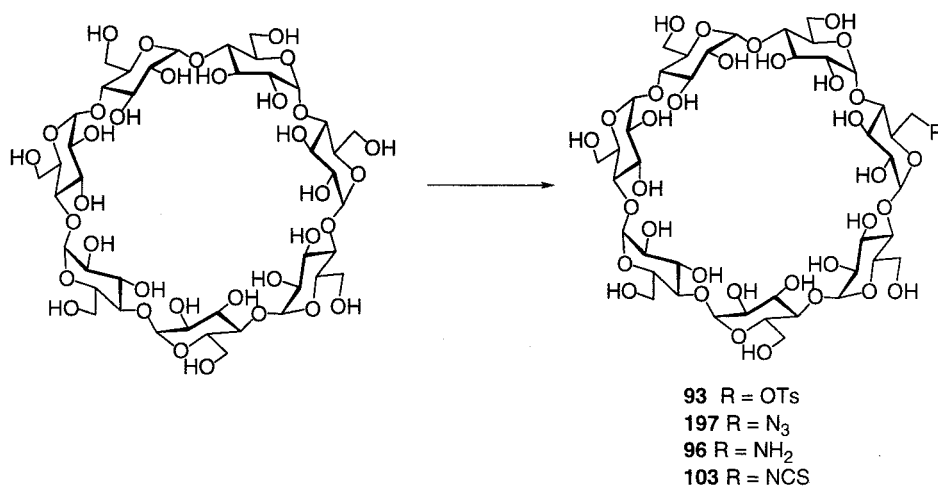
1-Aminometil-4-(*tert*-butoxicarbonilaminometil)benceno (**185**) [131].

2,3,4,2',3',4'-Hexa-*O*-acetil-6,6'-didesoxi-6,6'-diisotiocianato- α,α' -trehalosa (**194**) [37b].

Hidrocloreto de 2,3,4,2',3',4'-hexa-*O*-acetil-6,6'-diamino-6,6'-didesoxi- α,α' -trehalosa (**195**) [37b].

6,6'-Diamino-6,6'-didesoxi-2,3,4,2',3',4'-hexa-*O*-trimetilsilil- α,α' -trehalosa (**196**) [40b].

4.2.1. Preparación de 6^l-desoxi-6^l-isotiocianatociclomaltoheptaosa (**103**) [24]:



6^l-Desoxi-6^l-*p*-toluensulfonilciclomaltoheptaosa (**93**):

El compuesto se preparó siguiendo el procedimiento descrito recientemente por Defaye y colaboradores [151]:

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. Lit.[16] p.f. 199 °C; $[\alpha]_D = +50.7^\circ$ (c 4.0, Me₂SO).

6^l-Azido-6^l-desoxiciclomaltoheptaosa (197):

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; $[\alpha]_D = +106^\circ$ (c 1.0, Me₂SO). Lit.[16] p.f. 206 °C; $[\alpha]_D = +108.2^\circ$ (c 0.4, H₂O).

6^l-Amino-6^l-desoxiciclomaltoheptaosa (96):

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%). $[\alpha]_D = +86.5^\circ$ (c 0.4, H₂O). Lit [16] $[\alpha]_D = +89.0^\circ$ (c 0.4, H₂O).

6^l-Desoxi-6^l-isotiocianatociclomaltoheptaosa (103):

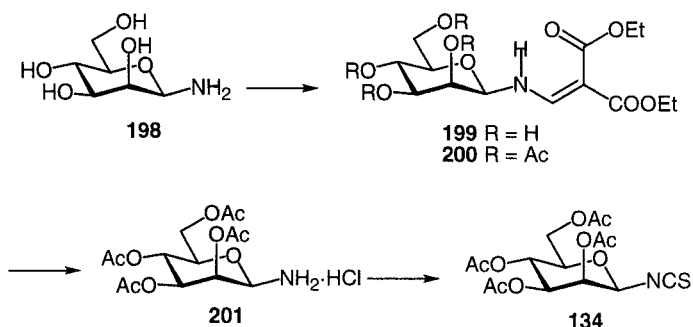
Una disolución de **96** (1 g, 1 mmol), CaCO₃ (300 mg, 3 equiv, 3 mmol) y CSCI₂ (115 µL, 1.5 equiv., 1.5 mmol) en acetona/H₂O (2:3, 30 mL) se agitó durante 16 h. La mezcla de reacción se concentró y el residuo se purificó por precipitación en acetona para dar **103**.

Rend.: 694 mg (65 %); $[\alpha]_D = +112.1^\circ$ (c 0.7, piridina).

¹³C RMN (75.5 MHz, D₂O): δ 131.6 (NCS), 82.2 (C-4^l), 70.1 (C-5^l), 46.2 (C-6^l).

4.2.2. Preparación de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-manopiranosil isotiocianato

(134) [59b]:



N-(2,2-Dietoxicarbonilvinil)- β -D-manopiranosilamina [150] (**199**):

El tratamiento de β -D-manopiranosilamina [38] (**198**, 0.496 g, 2.72 mmol) en MeOH seco (10 mL) con etoximetilenmalonato de dietilo (0.83 mL, 4.06 mmol) durante una noche, seguido de purificación en columna cromatográfica empleando como eluyente AcOEt /EtOH/H₂O 45:5:3 rindió **199**.

Rend.: 0.75 g (71%); $R_f = 0.46$ (AcOEt/EtOH/H₂O 45:5:3); $[\alpha]_D = + 81.1^\circ$ (*c* 1.0, piridina); p. f. 205-206 °C; lit. [150]: $[\alpha]_D = + 83^\circ$ (piridina); p. f. 207-209 °C.

¹³C RMN (75.5 MHz, CD₃OD): δ 169.0 (CO quelato), 167.8 (CO libre), 159.1 (=CH), 92.8 (C=), 87.2 (C-1), 79.9 (C-5), 75.3 (C-3), 71.9 (C-2), 67.9 (C-4), 62.8 (C-6), 61.0 (CH₂), 14.7 (CH₃).

2,3,4,6-Tetra-*O*-acetil-*N*-(2,2-dietoxicarbonilvinil)- β -D-manopiranosilamina

[150] (**200**):

La acetilación convencional de **199** (0.75 g, 2.1 mmol) con Ac₂O/piridina 1:1 (10 mL), seguido de purificación en columna cromatográfica (AcOEt/éter de petróleo 1:1) permitió obtener **200**.

Rend.: 0.67 g (60%); $R_f = 0.46$ (AcOEt/éter de petróleo 1:1); $[\alpha]_D = - 23.1^\circ$ (*c* 1.5, CH₂Cl₂); p. f. 57-58 °C; lit. [150]: $[\alpha]_D = - 47^\circ$ (CHCl₃); p. f. 54-58 °C.

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 9.53 (dd, 1 H, $J_{1,\text{NH}} = 9.2$ Hz, $J_{=\text{CH},\text{NH}} = 13.1$ Hz, NH), 7.99 (d, 1 H, =CH), 4.25, 4.17 (2 q, 4 H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.0$ Hz, CH_2CH_3), 5.45 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 1.4$ Hz, $J_{2,3} = 3.3$ Hz, H-2), 5.23 (t, 1 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 10.0$ Hz, H-4), 5.10 (dd, 1 H, H-3), 4.83 (dd, 1 H, H-1), 4.26 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 5.4$ Hz, $J_{6a,6b} = 12.4$ Hz, H-6a), 4.18 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 2.4$ Hz, H-6b), 3.76 (ddd, 1 H, H-5), 2.20, 2.09, 2.04, 1.99 (4 s, 12 H, 4 MeCO), 1.32, 1.29 (2 t, 6 H, 2 CH_2CH_3).

^{13}C RMN (75.5 MHz, CDCl_3): δ 170.5, 170.1, 169.9, 169.4 (MeCO), 168.1 (CO quelato), 165.2 (CO libre), 156.9 (=CH), 94.1 (=C), 84.3 (C-1), 73.9 (C-5), 70.9 (C-3), 69.0 (C-2), 64.8 (C-4), 62.1 (C-6), 20.7, 20.6, 20.5 (MeCO), 14.2, 14.1 (CH_2CH_3).

Hydrocloruro de 2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-manopiranosilamina (201) [59b]:

A través de una disolución de **200** (2.5 g, 4.83 mmol) en CH_2Cl_2 húmedo (20 mL) enfriada a 0 °C se burbujeó cloro hasta saturación. La mezcla de reacción se agitó durante 30 min, se evaporó a presión reducida y el residuo se lavó con Et_2O para dar con rendimiento cuantitativo. El compuesto **201** se empleó en la siguiente etapa sin posterior purificación.

^{13}C RMN (125.7 MHz, CDCl_3): δ 170.8, 170.7, 169.8, 169.4 (CO), 78.5 (C-1), 74.8 (C-5), 71.0 (C-3), 67.5 (C-2), 65.2 (C-4), 61.7 (C-6), 21.2, 20.6, 20.5, 20.4 (MeCO).

EM (FAB): m/z 371 $[\text{M} + \text{Na} - \text{HCl}]^+$.

2,3,4,6-Tetra-O-acetil- β -D-manopranosilisotiocianato (134) [59b]:

Una mezcla heterogénea del compuesto **201** (0.25 g, 0.65 mmol), CaCO_3 (195 mg, 3 equiv, 1.95 mmol) y CSCl_2 (77 μL , 1.5 equiv., 1 mmol) en $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{H}_2\text{O}$ (1:1, 40 mL) se agitó vigorosamente durante 2 h. La capa orgánica fue decantada, lavada con agua, secada con MgSO_4 , concentrada y el residuo se purificó por cromatografía en columna, empleando AcOEt/éter de petróleo 1:2 como eluyente, para dar **134**.

Rend.: 128 mg (50 %); $R_f = 0.55$ (AcOEt/éter de petróleo 1:1); $[\alpha]_D = -65.6^\circ$ (c 1.0, CH_2Cl_2).

IR: ν_{max} 2955, 2016, 1750, 1373, 1213, 1090 cm^{-1} .

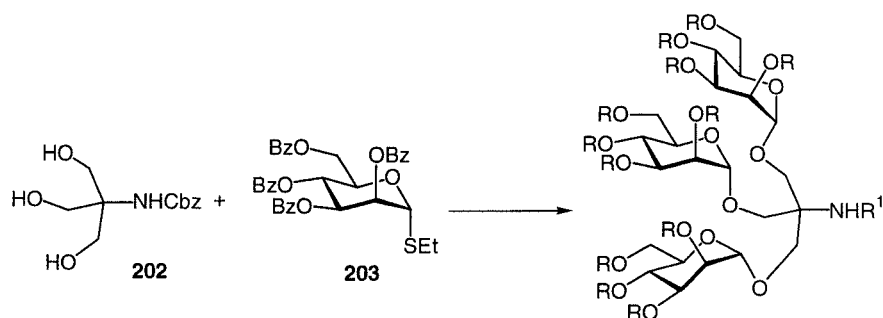
^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 5.49 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 1.4$ Hz, $J_{2,3} = 3.3$ Hz, H-2), 5.23 (t, 1 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 10.0$ Hz, H-4), 5.05 (dd, 1 H, H-3), 4.94 (d, 1 H, H-1), 4.25 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 5.6$ Hz, $J_{6a,6b} = 12.4$ Hz, H-6a), 4.18 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 2.7$ Hz, H-6b), 3.71 (ddd, 1 H, H-5).

^{13}C RMN (75.5 MHz, CDCl_3): δ 171.3, 170.5, 169.8 (CO), 146.7 (NCS), 82.5 (C-1), 74.5 (C-5), 70.5 (C-3), 69.0 (C-2), 65.0 (C-4), 62.1 (C-6), 20.7, 20.6, 20.5 (MeCO).

EM (FAB): m/z 412 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{NO}_9\text{S}$: C 46.27, H 4.92, N 3.60. Encontrado: C 46.45, H 4.83, N 3.64.

4.2.3. Preparación de tris(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-manopiranosiloximetil)-metilamina [73d] (150):



204 R = Bz, $\text{R}^1 = \text{Cbz}$

205 R = H, $\text{R}^1 = \text{Cbz}$

206 R = Ac, $\text{R}^1 = \text{Cbz}$

150 R = Ac, $\text{R}^1 = \text{H}$

N-(Benciloxicarbonil)tris(2,3,4,6-tetra-*O*-benzoil- α -*D*-manopiranosiloximetil)-metilamina [73d] (**204**):

Una suspensión de *N*-(benciloxicarbonil)tris(hidroximetil)metilamina **202** (300 mg, 1.18 mmol), etil 2,3,4,6-tetra-*O*-benzoil- α -*D*-tiomanopiranósido **203** [149] (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 **204** (1.983 g, 85%), cuyos datos espectroscópicos y analíticos resultaron idénticos a los descritos en la bibliografía.

N-(Benciloxicarbonil)tris(α -*D*-manopiranosiloximetil)metilamina [73d] (**205**):

El compuesto se preparó **205** a partir del compuesto **204** por desacetilación convencional por el método de Zemplén, siendo sus datos espectroscópicos y analíticos resultaron idénticos a los de la bibliografía.

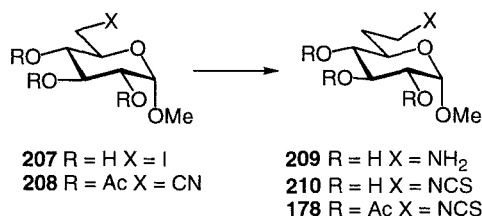
N-(Benciloxicarbonil)tris(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -*D*-manopiranosiloximetil)-metilamina [73d] (**206**):

El compuesto **206** se preparó a partir del compuesto por acetilación convencional, siendo sus datos espectroscópicos y analíticos resultaron idénticos a los de la bibliografía.

Tris(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -*D*-manopiranosiloximetil)metilamina [73d] (**150**):

El compuesto **150** se preparó a partir del compuesto **206** por hidrogenación con Pd/C 10%, siendo sus datos espectroscópicos y analíticos resultaron idénticos a los de la bibliografía.

4.2.4. Preparación de metil 2,3,4-tri-*O*-acetil-6,7-didesoxi-7-isotiocianato- α -*D*-gluco-heptopiranosido (**178**) [152]:



Metil 2,3,4-tri-*O*-acetil- α -*D*-gluco-heptopiranosiduronitrilo (**208**):

A una disolución de metil 6-desoxi-6-yodo- α -*D*-glucopiranosido **207** [153] (1.8 g, 4.18 mmol) en DMF (30 mL) se añadió NaCN (0.41 g, 8.36 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 70 °C durante una noche, se concentró, se acetiló por tratamiento con Ac₂O/piridina (1:1, 30 mL) durante 5 h y se purificó por cromatografía en columna (AcOEt/tolueno 1:1) para dar **208**.

Rend.: 1.00 g (73%); R_f = 0.62 (AcOEt/éter de petróleo 1:1); $[\alpha]_D^{20}$ = + 42.6° (*c* 1.8, CH₂Cl₂).

IR: ν_{\max} 2947, 2257 (CN), 1759, 1371, 1240, 1045 cm⁻¹.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 5.45 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.6$ Hz, H-3), 4.95 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.6$ Hz, H-1), 4.88 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.6$ Hz, H-4), 4.86 (dd, 1 H, H-2), 4.04 (ddd, 1 H, $J_{5,6b} = 4.0$ Hz, $J_{5,6a} = 2.0$ Hz, H-5), 3.43 (s, 3 H, OMe), 2.59-2.57 (m, 2 H, H-6a, H-6b), 2.06, 2.05, 2.00 (3 s, 9 H, 3 MeCO).

^{13}C RMN (75.5 MHz, CDCl_3): δ 169.9, 169.7, 169.6 (CO), 115.9 (C-7), 96.6 (C-1), 71.6 (C-2), 70.4 (C-4), 69.3 (C-3), 65.0 (C-5), 55.6 (OMe), 20.8 (C-6), 20.5 (MeCO).

EM (FAB): m/z 352 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Metil 7-amino-6,7-didesoxi- α -D-gluco-heptopiranosido (209):

A una disolución del nitrilo **208** (1.88 g, 5.7 mmol) en 1,2-dimetoxietano seco (60 mL), se añadió $\text{BH}_3\text{-Me}_2\text{S}$ (9.4 mL, 94 mmol) y la mezcla de reacción se agitó bajo argón a 40 °C durante 24 h. Se enfrió a 0 °C, se añadió MeOH (30 mL) y la disolución se agitó a temperatura ambiente durante 24 h más. La reacción se detuvo por adición de agua (20 mL), los disolventes se eliminaron a presión reducida y el residuo se coevaporó con MeOH (3 x 20 mL) para dar un sólido higroscópico, cuya homogeneidad se comprobó por ^{13}C RMN y EM (FAB) y que se empleó sin purificar en la siguiente etapa.

^{13}C RMN (75.5 MHz, D_2O): δ 99.3 (C-1), 73.0 (C-2), 72.9 (C-3), 71.3 (C-4), 69.3 (C-5), 55.2 (OMe), 36.9 (C-7), 28.4 (C-6).

EM (FAB): m/z 230 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Metil 2,3,4-tri-O-acetil-6,7-didesoxi-7-isotiocianato- α -D-gluco-heptopiranosido (178):

A una mezcla heterogénea de la amina **209** (5.75 mmol) en H_2O /acetona (1:1, 30 mL) se añadieron CaCO_3 (2.3 g, 3 equiv., 23 mmol) y CSCl_2 (1.32 g, 0.88 mL, 1.5 equiv., 11.5 mmol). La mezcla se agitó vigorosamente a temperatura ambiente durante 2 h, se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 20:1→9:1) para dar el isotiocianato **210**. La acetilación convencional de **210** (0.5 g, 2.0 mmol) con Ac_2O /piridina (1:1, 8 mL) a temperatura ambiente condujo al triacetato **178** con rendimiento cuantitativo.

Datos de **210**: Rend.: 1.14 g (80 %); $R_f = 0.41$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9:1); $[\alpha]_D = +208.0^\circ$ (c 0.7, CH_2Cl_2).

IR: ν_{\max} 3362, 3206, 2924, 2182 (NCS), 2120, 1352, 1138, 1045 cm^{-1} .

^1H RMN (300 MHz, CD_3OD): δ 4.65 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.7$ Hz, H-1), 3.76-3.68 (m, 2 H, H-7a, H-7b), 3.65 (td, 1 H, $J_{4,5} = J_{5,6b} = 9.5$ Hz, $J_{5,6a} = 2.2$ Hz, H-5), 3.59 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.5$ Hz, H-3), 3.42 (s, 3 H, OMe), 3.40 (dd, 1 H, H-2), 3.08 (t, 1 H, H-4), 2.26 (dddd, 1 H, $J_{6a,6b} = 14.6$ Hz, $J_{6a,7a} = 9.2$ Hz, $J_{6a,7b} = 6.7$ Hz, H-6a), 1.70 (ddt, 1 H, $J_{6b,7a} = J_{6b,7b} = 5.3$ Hz, H-6b).

^{13}C RMN (75.5 MHz, CD_3OD): δ 131.4 (NCS), 101.1 (C-1), 75.4 (C-4), 74.8 (C-3), 73.5 (C-2), 69.0 (C-5), 55.8 (OMe), 42.5 (C-7), 33.1 (C-6).

EM (FAB): m/z 272 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_9\text{H}_{15}\text{NO}_5\text{S}$: C 43.36, H 6.07, N 5.62, S 12.86. Encontrado: C 43.45, H 6.18, N 5.50, S, 12.63.

Datos de **178**: Rend.: 0.73 g (98%); $R_f = 0.61$ (AcOEt/éter de petróleo 1:2); $[\alpha]_D = +13.7^\circ$ (c 1.0, CH_2Cl_2).

IR: ν_{\max} 2938, 2845, 2182, 2110 (NCS), 1735, 1370, 1223, 1044 cm^{-1} .

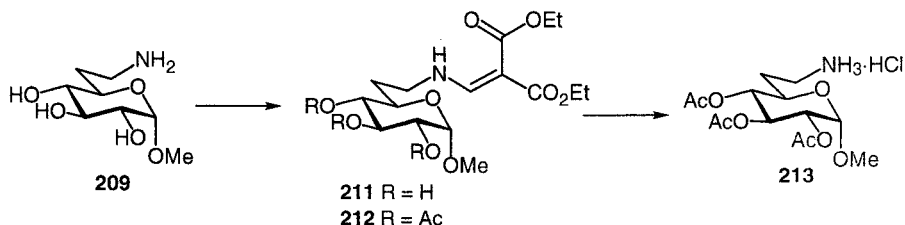
^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): δ 5.47 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.5$ Hz, H-3), 4.92 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.6$ Hz, H-1), 4.84 (m, 2 H, H-2, H-4), 3.93 (ddd, 1 H, $J_{5,6b} = 10.5$ Hz, $J_{4,5} = 9.8$ Hz, $J_{5,6a} = 2.5$ Hz, H-5), 3.74 (ddd, 1 H, $J_{7a,7b} = 14.3$ Hz, $J_{6a,7a} = 9.2$ Hz, $J_{6b,7a} = 6.5$ Hz, H-7a), 3.68 (ddd, $J_{6a,7b} = 5.4$ Hz, $J_{6b,7b} = 4.5$ Hz, 1 H, H-7b), 3.43 (s, 3 H, OMe), 1.96 (dddd, 1 H, $J_{6a,6b} = 14.2$ Hz, H-6a), 1.77 (dddd, 1 H, H-6b), 2.08, 2.07, 2.01 (3 s, 9 H, 3 MeCO).

^{13}C RMN (125.5 MHz, CDCl_3): δ 170.0, 169.8, 169.7 (CO), 130.9 (NCS), 96.4 (C-1), 71.8 (C-2), 70.8 (C-4), 69.7 (C-3), 65.1 (C-5), 55.4 (OMe), 40.8 (C-7), 31.3 (C-6), 20.5 (MeCO).

EM (FAB): m/z 398 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{NO}_8\text{S}$: C, 47.99; H, 5.64; N, 3.73; S, 8.54. Encontrado: C, 48.10; H, 5.72; N, 3.73; S, 8.29.

4.2.5. Preparación del hidrocloreto de metil 2,3,4-tri-*O*-acetil-7-amino-6,7-didesoxi- α -D-gluco-heptopiranosido (213) [152]:



Metil 6,7-didesoxi-7-(2',2'-dietoxicarbonilvinil)amino- α -D-gluco-heptopiranosido (211):

A una disolución de la amina **209** (0.31 g, 1.50 mmol) en metanol seco (10 mL) se añadió etoximetilenmalonato de dietilo (0.46 mL, 2.3 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 40°C durante 12 h. Se eliminó el disolvente a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna (CH₂Cl₂/MeOH 20:1) para dar **211**.

Rend.: 0.42 g (74%); $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +45.7^\circ$ (*c* 2.4, MeOH).

¹H RMN (300 MHz, CD₃OD): δ 8.05 (s, 1 H, =CH), 4.66 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.8$ Hz, H-1), 4.17, 4.11 (2 c, 4 H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.1$ Hz, OCH₂CH₃), 3.55 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 9.4$ Hz, $J_{2,3} = 8.5$ Hz, H-3), 3.54 (m, 1 H, H-5), 3.54 (m, 2 H, H-7a, H-7b), 3.38 (dd, 1 H, H-2), 3.38 (s, 3 H, OMe), 3.07 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.4$ Hz, H-4), 2.15 (dtd, 1 H, $J_{6a,6b} = 14.4$ Hz, $J_{6a,7a} = J_{6a,7b} = 6.9$ Hz, $J_{5,6a} = 2.7$ Hz, H-6a), 1.69 (ddt, 1 H, $J_{5,6b} = 9.4$ Hz, $J_{6b,7a} = J_{6b,7b} = 6.9$ Hz, H-6b), 1.26, 1.25 (2t, 6 H, OCH₂CH₃).

¹³C RMN (75.5 MHz, CD₃OD): δ 168.6 (CO quelato), 166.9 (CO libre), 159.7 (=CH), 100.0 (C-1), 88.2 (=C), 74.1 (C-4), 73.5 (C-3), 72.2 (C-2), 69.5 (C-5), 59.3, 59.2 (OCH₂CH₃), 54.7 (OMe), 46.8 (C-7), 32.0 (C-6), 13.4, 13.2 (OCH₂CH₃).

Análisis calculado para C₁₆H₂₇NO₉: C 50.92, H 7.21, N 3.71. Encontrado: C 50.80, H 7.08, N 3.60.

Metil 2,3,4-tri-O-acetil-6,7-didesoxi-7-(2',2'-dietoxicarbonilvinil)amino- α -D-glucopiranosido (212):

El compuesto **212** se preparó por acetilación convencional de **211** (0.36 g, 0.96 mmol) con Ac₂O/piridina (1:1, 6 mL) seguida de purificación por cromatografía en columna (AcOEt/éter de petróleo 1:1).

Rend.: 0.43 g (90%); $[\alpha]_D = +66.8^\circ$ (c 2.8, CH₂Cl₂).

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 9.25 (m, 1 H, NH), 7.92 (d, 1H, ³J_{H,H} = 14.1 Hz, =CH), 5.39 (t, 1 H, J_{2,3} = J_{3,4} = 9.5 Hz, H-3), 4.90 (d, 1 H, J_{1,2} = 3.6 Hz, H-1), 4.81 (dd, 1 H, H-2), 4.81 (t, 1 H, J_{4,5} = 9.5 Hz, H-4), 4.18, 4.12 (2 c, 4 H, ³J_{H,H} = 7.1 Hz, OCH₂CH₃), 3.81 (td, 1 H, J_{5,6b} = 9.5 Hz, J_{5,6a} = 3.3 Hz, H-5), 3.45 (m, 2 H, H-7a, H-7b), 3.35 (s, 3 H, OMe), 2.02, 1.99, 1.96 (3 s, 9 H, MeCO), 1.78 (m, 2 H, H-6a, H-6b), 1.26, 1.25 (2 t, 6 H, OCH₂CH₃).

¹³C RMN (125.7 MHz, CDCl₃): δ 170.4, 170.2, 170.1 (CO), 169.0 (CO quelato), 166.5 (CO libre), 160.1 (=CH), 97.0 (C-1), 90.2 (=C), 72.2 (C-4), 71.2 (C-2), 70.1 (C-3), 66.9 (C-5), 60.1, 59.8 (OCH₂CH₃), 56.0 (OMe), 46.5 (C-7), 32.1 (C-6), 20.9, 20.8 (MeCO), 14.7, 14.6 (OCH₂CH₃).

Análisis calculado para C₂₂H₃₃NO₁₂: C 52.48, H 6.61, N 2.78. Encontrado: C 52.30, H 6.63, N 2.69.

Hidrocloruro de metil 2,3,4-tri-O-acetil-7-amino-6,7-didesoxi- α -D-glucopiranosido (213):

El compuesto **213** se preparó burbujeando cloro a través de una disolución de **212** (0.32 g, 0.63 mmol) en CH₂Cl₂ húmedo (10 mL) durante 30 min. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo resultante se lavó con éter (2 x 10 mL).

Rend.: 0.23 g (95%); $[\alpha]_D = +105.7^\circ$ (c 0.8, CH₂Cl₂).

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃, 313 K): δ 6.60 (sa, 3 H, NH₃Cl), 5.41 (t, 1 H, J_{2,3} = J_{3,4} = 9.7 Hz, H-3), 4.96 (d, 1 H, J_{1,2} = 3.5 Hz, H-1), 4.90 (t, 1 H, J_{4,5} = 9.7 Hz, H-4), 4.86 (dd, 1 H, H-2), 3.90 (td, 1 H, J_{5,6a} = 9.7 Hz, J_{5,6b} = 2.8 Hz, H-5), 3.40 (s, 3 H, OMe), 3.15 (2 t, 2 H,

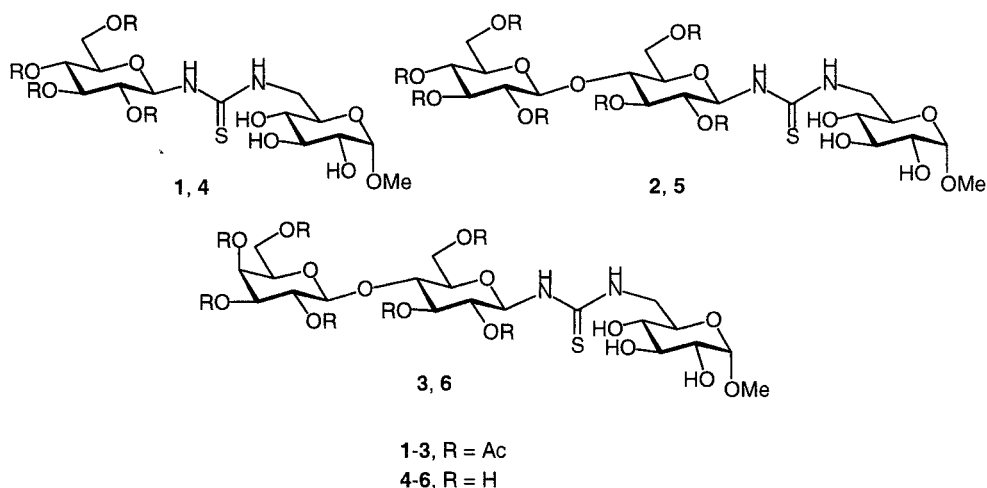
$J_{6a,7a} = J_{6a,7b} = J_{6b,7a} = J_{6b,7b} = 6.6$ Hz, H-7a, H-7b), 2.11 (m 1 H, H-6a), 2.05, 2.02, 1.98 (3 s, 9 H, MeCO), 1.96 (m, 1 H, H-6b).

^{13}C RMN (125.5 MHz, CDCl_3 , 313 K): δ 170.0 (CO), 96.7 (C-1), 71.4 (C-4), 70.9 (C-2), 69.8 (C-3), 67.6 (C-5), 55.8 (OMe), 36.9 (C-7), 28.4 (C-6), 20.7, 20.6, 20.5 (MeCO).

Análisis calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{24}\text{NO}_2\text{Cl}$: C 45.47, H 6.54, N 3.79. Encontrado: C 45.19, H 6.23, N 3.58.

4.3. NUEVOS PRODUCTOS.

4.3.1. Preparación de metil 6-desoxi-6-glicopiranosiltioureido- α -D-glucopiranosidos (1-6):



Una disolución de metil 6-amino-6-desoxi- α -D-glucopiranosido (**132**, 75 mg, 0.38 mmol) y el correspondiente per-*O*-acetilglicopiranosil isotiocianato (**129-131**, 0.38 mmol) en piridina (2 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El disolvente se evaporó a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna, usando AcOEt/EtOH/H₂O 45:5:3 como eluyente, para dar los aductos parcialmente protegidos **1-3**. La desacetilación convencional de **1-3** (0.2 mmol) en MeOH (10 mL) usando NaOMe (0.1 equiv. por mol de acetato) en MeOH a temperatura ambiente durante 3 h, permitió obtener los pseudooligosacáridos desprotegidos **4-6**.

Metil 6-desoxi-6-[3-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosil)tioureido]- α -D-glucopiranosido (**1**):

Rend.: 202 mg (90%); $R_f = 0.49$ (CH₂Cl₂/MeOH 9:1); $[\alpha]_D^{20} = +27.3^\circ$ (c 1.0, H₂O).

^1H RMN (500 MHz, D_2O , 323 K): δ 6.08 (d, 1 H, $J_{1',2'} = 6.5$ Hz, H-1'), 5.67 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.4$ Hz, H-3'), 5.38 (dd, 1 H, H-2'), 5.35 (t, 1 H, $J_{4',5'} = 9.4$ Hz, H-4'), 5.04 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.7$ Hz, H-1), 4.58 (dd, 1 H, $J_{6a',6b'} = 12.6$ Hz, $J_{5',6a'} = 4.3$ Hz, H-6a'), 4.46 (dd, 1 H, $J_{5',6b'} = 2.2$ Hz, H-6b'), 4.35 (ddd, 1 H, H-5'), 4.25 (m, 1 H, H-6a), 4.03 (m, 2 H, H-5, H-6b), 3.89 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.5$ Hz, H-3), 3.80 (dd, 1 H, H-2), 3.63 (s, 3 H, OMe), 3.54 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.5$ Hz, H-4), 2.36, 2.35, 2.34, 2.32 (4 s, 12 H, 4 MeCO); ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3 , 313 K): δ 7.28 (sa, 2 H, NH, N'H), 5.68 (sa, 1 H, H-1'), 5.31 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.4$ Hz, H-3'), 5.04 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.7$ Hz, H-1), 5.04 (t, 1 H, H-2'), 4.98 (t, 1 H, $J_{4',5'} = 9.4$ Hz, H-4'), 4.28 (dd, 1 H, $J_{6a',6b'} = 12.4$ Hz, $J_{5',6a'} = 4.9$ Hz, H-6a'), 4.09 (dd, 1 H, $J_{5',6b'} = 2.4$ Hz, H-6b'), 3.83 (ddd, 1 H, H-5'), 3.72 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.3$ Hz, H-3), 3.64 (dt, 1 H, $J_{4,5} = J_{5,6b} = 9.3$ Hz, $J_{5,6a} = 3.3$ Hz, H-5), 3.48 (m, 2 H, H-6a, H-6b), 3.48 (dd, 1 H, H-2), 3.40 (s, 3 H, OMe), 3.24 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.5$ Hz, H-4), 2.04, 2.03, 2.00, 1.98 (4 s, 12 H, 4 MeCO).

^{13}C RMN (125.7 MHz, D_2O , 323 K): δ 183.5 (CS), 172.4, 172.3 (4 CO), 99.6 (C-1), 82.9 (C-1'), 74.2 (C-3'), 73.6 (C-3), 73.3 (C-5'), 71.9 (C-2, C-4), 71.5 (C-5), 71.3 (C-2'), 69.0 (C-4'), 62.7 (C-6'), 55.7 (OMe), 46.0 (C-6), 20.6, 20.5 (4 MeCO); ^{13}C RMN (125.7 MHz, CDCl_3 , 313 K): δ 184.7 (CS), 171.2, 170.8, 169.8, 169.6 (CO), 99.6 (C-1), 82.9 (C-1'), 73.9 (C-3), 73.5 (C-5'), 73.0 (C-3'), 72.1 (C-2'), 71.0 (C-4), 70.6 (C-5), 70.5 (C-3), 68.5 (C-4'), 62.0 (C-6'), 55.5 (OMe), 45.0 (C-6), 20.7 (MeCO).

Análisis calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_{14}\text{S}$: C 45.36, H 5.88, N 4.81. Encontrado: C 45.25, H 5.98, N 4.72.

Metil 6-desoxi-6-[3-(2,3,6,2',3',4',6'-hepta-O-acetil- β -celobiosil)tioureido]- α -D-glucopiranosido (2):

Rend.: 300 mg (89%); $R_f = 0.34$ (AcOEt/EtOH/ H_2O 45:5:3); $[\alpha]_D = -183.0^\circ$ (c 1.1, CH_2Cl_2).

^1H RMN (500 MHz, D_2O , 323 K): δ 6.28 (d, 1 H, $J_{1,2'} = 9.1$ Hz, H-1'), 5.78 (t, 1 H, $J_{2',3''} = J_{3'',4''} = 9.2$ Hz, H-3''), 5.60 (t, 1 H, $J_{4'',5''} = 9.2$ Hz, H-4''), 5.84 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.1$ Hz, H-3'), 5.58 (dd, 1 H, H-2'), 5.43 (dd, 1 H, $J_{1'',2''} = 7.9$ Hz, H-2''), 5.32 (d, 1 H, H-1''), 5.30 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.9$ Hz, H-1), 5.01 (dd, 1 H, $J_{6a',6b'} = 12.1$ Hz, $J_{5',6a'} = 1.6$ Hz, H-6a'), 4.88 (dd, 1 H, $J_{6a',6b''} = 12.6$ Hz, $J_{5'',6a''} = 2.0$ Hz, H-6a''), 4.74 (m, 1 H, H-6b'), 4.73 (m, 1 H, H-6a), 4.72 (m, 1 H, H-6b), 4.70 (m, 1 H, H-6b''), 4.55 (t, 1 H, $J_{4',5'} = 9.1$ Hz, H-4'), 4.51 (m, 1 H, H-5''), 4.48 (m, 1 H, H-5'), 4.27 (m, 1 H, H-5), 4.18 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.4$ Hz, H-3), 4.08 (dd, 1 H, H-2), 3.91 (s, 3 H, OMe), 3.81 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.4$ Hz, H-4), 2.69, 2.68, 2.64, 2.63, 2.61, y 2.58 (7 s, 21 H, 7 MeCO); ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3 , 313 K): δ 6.95 (sa, 2 H, NH, N'H), 5.55 (m, 1 H, H-1'), 5.26 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.4$ Hz, H-3'), 5.15 (t, 1 H, $J_{2'',3''} = J_{3'',4''} = 9.3$ Hz, H-3''), 5.06 (t, 1 H, $J_{4'',5''} = 9.3$ Hz, H-4''), 4.94 (t, 1 H, $J_{1',2'} = 9.4$ Hz, H-2'), 4.91 (dd, 1 H, $J_{1'',2''} = 7.9$ Hz, H-2''), 4.72 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.8$ Hz, H-1), 4.55 (d, 1 H, H-1''), 4.43 (dd, 1 H, $J_{6a',6b'} = 12.1$ Hz, $J_{5',6a'} = 1.8$ Hz, H-6a'), 4.34 (dd, 1 H, $J_{6a',6b''} = 12.4$ Hz, $J_{5'',6a''} = 4.4$ Hz, H-6a''), 4.23 (dd, 1 H, $J_{5',6b'} = 5.4$ Hz, H-6b'), 4.07 (dd, 1 H, $J_{5'',6b''} = 2.4$ Hz, H-6b''), 3.85 (t, 1 H, $J_{4',5'} = 9.4$ Hz, H-4'), 3.74 (ddd, 1 H, H-5'), 3.72 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.4$ Hz, H-3), 3.68 (ddd, 1 H, H-5''), 3.67 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 12.4$ Hz, $J_{5,6a} = 3.2$ Hz, H-6a), 3.64 (ddd, 1 H, $J_{4,5} = 9.6$ Hz, $J_{5,6b} = 4.5$ Hz, H-5), 3.47 (dd, 1 H, H-2), 3.45 (dd, 1 H, H-6b), 3.41 (s, 3 H, OMe), 3.22 (t, 1 H, H-4), 2.11, 2.08, 2.06, 2.03, 2.02, 1.97 (7 s, 21 H, 7 MeCO).

^{13}C RMN (125.7 MHz, D_2O , 343 K): δ 184.5 (CS), 174.1, 174.0, 173.4, 174.3, 173.2, 173.0, 172.8 (CO), 100.5 (C-1''), 99.9 (C-1), 82.5 (C-1'), 76.4 (C-4'), 74.5 (C-3'), 74.2 (C-3''), 73.8 (C-3), 73.5 (C-5'), 72.5 (C-2''), 72.0 (C-2'), 71.9 (C-2, C-4), 71.8 (C-5''), 71.5 (C-5), 68.0 (C-4''), 63.0 (C-6'), 62.6 (C-6''), 55.6 (OMe), 45.6 (C-6), 20.8, 20.7, 20.6, 20.5, 20.4 (MeCO); ^{13}C NMR (125.7 MHz, CDCl_3 , 313 K): δ 184.7 (CS), 171.2, 170.8, 169.8, 169.6 (CO), 100.4 (C-1''), 99.6 (C-1), 82.7 (C-1'), 76.0 (C-4'), 74.8 (C-5'), 72.9 (C-3', C-3''), 72.7 (C-2), 72.2 (C-3), 71.9 (C-4), 71.6 (C-5''), 71.0 (C-2''), 70.6 (C-2'), 70.0 (C-5), 68.0 (C-4''), 61.8 (C-6'), 61.6 (C-6''), 55.5 (OMe), 44.9 (C-6), 20.7 (MeCO).

EM (FAB): m/z 893 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $C_{34}H_{50}N_2O_{22}S$: C 46.89, H 5.78, N 3.22. Encontrado: C 46.89, H 5.75, N 3.22.

Metil 6-desoxi-6-[3-(2,3,6,2',3',4',6'-hepta-O-acetil- β -lactosil)tioureido]- α -D-glucopiranosido (3):

Rend.: 287 mg (85%); $R_f = 0.50$ (AcOEt/EtOH/H₂O 45:5:3); $[\alpha]_D = -120.3^\circ$ (c 1.1, CH₂Cl₂).

¹H RMN (500 MHz, D₂O, 343 K): δ 6.28 (d, 1 H, $J_{1',2'} = 9.4$ Hz, H-1'), 5.94 (d, 1 H, $J_{3'',4''} = 3.3$ Hz, $J_{4'',5''} = 0$ Hz, H-4''), 5.83 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.4$ Hz, H-3'), 5.69 (dd, 1 H, $J_{2'',3''} = 10.3$ Hz, H-3''), 5.57 (t, 1 H, H-2'), 5.53 (dd, 1 H, $J_{1'',2''} = 7.9$ Hz, H-2''), 5.27 (d, 1 H, H-1''), 5.31 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.7$ Hz, H-1), 5.01 (dd, 1 H, $J_{6a',6b'} = 10.8$ Hz, $J_{5',6a'} = 2.2$ Hz, H-6a'), 4.80 (m, 6 H, H-5'', H-6a'', H-6b'', H-6b', H-6a, H-6b), 4.56 (t, 1 H, $J_{4',5'} = 9.4$ Hz, H-4'), 4.48 (ddd, 1 H, H-5'), 4.27 (m, 1 H, H-5), 4.18 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.8$ Hz, H-3), 4.07 (dd, 1 H, H-2), 3.91 (s, 3 H, OMe), 3.71 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.8$ Hz, H-4), 2.73, 2.68, 2.66, 2.65, 2.64, 2.62, 2.54 (7 s, 21 H, 7 MeCO); ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃, 313 K): δ 7.06 (sa, 2 H, NH, N'H), 5.55 (m, 1 H, H-1'), 5.35 (dd, 1 H, $J_{4'',5''} = 0.9$ Hz, H-4''), 5.27 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.4$ Hz, H-3'), 5.10 (dd, 1 H, $J_{1'',2''} = 7.9$ Hz, H-2''), 4.98 (dd, 1 H, $J_{2'',3''} = 10.3$ Hz, $J_{3'',4''} = 3.4$ Hz, H-3''), 4.94 (t, 1 H, $J_{1',2'} = 9.4$ Hz, H-2'), 4.73 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.7$ Hz, H-1), 4.52 (d, 1 H, H-1''), 4.40 (da, 1 H, $J_{6a',6b'} = 10.8$ Hz, H-6a'), 4.15 (dd, 1 H, $J_{6a'',6b''} = 11.1$ Hz, $J_{5'',6a''} = 6.2$ Hz, H-6a''), 4.27 (dd, 1 H, $J_{5',6b'} = 5.6$ Hz, H-6b'), 4.08 (dd, 1 H, $J_{5'',6b''} = 7.5$ Hz, H-6b''), 3.89 (ddd, 1 H, H-5''), 3.88 (t, 1 H, $J_{4',5'} = 9.4$ Hz, H-4'), 3.77 (ddd, 1 H, $J_{5',6a'} = 2.0$ Hz, H-5'), 3.71 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.4$ Hz, H-3), 3.71 (m, 1 H, H-6a), 3.63 (ddd, 1 H, $J_{4,5} = 9.4$ Hz, $J_{5,6b} = 4.5$ Hz, $J_{5,6a} = 3.2$ Hz, H-5), 3.47 (dd, 1 H, H-2), 3.45 (dd, 1 H, H-6b), 3.41 (s, 3 H, OMe), 3.22 (t, 1 H, H-4), 2.11, 2.08, 2.06, 2.03, 2.02, 1.97 (7 s, 21 H, 7 MeCO).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O, 343 K): δ 184.5 (CS), 174.1, 174.0, 173.4, 174.3, 173.2, 173.0, 172.8 (CO), 100.3 (C-1''), 99.8 (C-1), 82.3 (C-1'), 75.8 (C-4'), 74.5 (C-5'), 74.2 (C-

3'), 73.6 (C-3), 73.2 (C-2'), 71.9 (C-5''), 71.8 (C-2, C-4), 71.5 (C-3''), 71.1 (C-2''), 70.5 (C-5), 68.6 (C-4''), 63.0 (C-6'), 60.7 (C-6''), 55.6 (OMe), 45.7 (C-6), 20.8, 20.7, 20.6, 20.5, 20.4 (MeCO); ^{13}C RMN(125.7 MHz, CDCl_3 , 313 K): δ 184.7 (CS), 170.9, 170.7, 170.3, 170.0, 169.3, 169.1, 168.8 (CO), 100.7 (C-1''), 99.6 (C-1), 82.8 (C-1'), 75.8 (C-4'), 74.5 (C-5'), 74.2 (C-3'), 72.9 (C-3), 72.3 (C-2), 71.5 (C-3''), 71.2 (C-2'), 70.7 (C-4, C-5''), 70.0 (C-5), 69.2 (C-2''), 66.7 (C-4''), 61.8 (C-6'), 60.7 (C-6''), 55.4 (OMe), 45.7 (C-6), 20.7, 20.6, 20.4, 20.3 (MeCO).

EM (FAB): m/z 893 [M + Na] $^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{34}\text{H}_{50}\text{N}_2\text{O}_{22}\text{S}$: C 46.89, H 5.78, N 3.22. Encontrado: C 46.72, H 5.45, N 3.22.

Metil 6-desoxi-6-[3-(β -D-glucopiranosil)tioureido]- α -D-glucopiranosido (4):

Rend.: 80 mg (96%); $[\alpha]_{\text{D}} = +42.5^\circ$ (c 0.7, H_2O); Lit [35] $[\alpha]_{\text{D}} = +42.8^\circ$ (c 0.6, H_2O). Los datos de ^1H y ^{13}C RMN están de acuerdo con los descritos en la bibliografía.

Metil 6-desoxi-6-[3-(β -celobiosil)tioureido]- α -D-glucopiranosido (5):

Rend.: 112 mg (98%); $R_f = 0.47$ (BuOH/AcOH/ H_2O 2:1:1); $[\alpha]_{\text{D}} = +22.0^\circ$ (c 0.7, H_2O).

^1H RMN (500 MHz, D_2O , 343 K): δ 5.75 (d, 1 H, $J_{1',2'} = 9.1$ Hz, H-1'), 5.21 (d, 1 H, $J_{1,2} = 4.0$ Hz, H-1), 4.94 (d, 1 H, $J_{1'',2''} = 8.0$ Hz, H-1''), 4.35 (m, 1 H, H-6a), 4.35 (dd, 1 H, $J_{6a',6b'} = 12.7$ Hz, $J_{5',6a'} = 0.8$ Hz, H-6a'), 4.33 (dd, 1 H, $J_{6a'',6b''} = 12.4$ Hz, $J_{5'',6a''} = 2.2$ Hz, H-6a''), 4.23 (dd, 1 H, $J_{5',6b'} = 2.0$ Hz, H-6b'), 4.20 (m, 2 H, H-5, H-6b), 4.15 (dd, 1 H, $J_{5'',6b''} = 5.5$ Hz, H-6b''), 4.15-4.07 (m, 3 H, H-3', H-4', H-5'), 4.08 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.9$ Hz, H-3), 3.97 (dd, 1 H, H-2), 3.93 (t, 1 H, $J_{2',3'} = J_{3',4'} = 9.4$ Hz, H-3''), 3.92 (t, 1 H, $J_{2',3'} = 9.1$ Hz, H-2'), 3.84 (t, 1 H, $J_{4'',5''} = 9.4$ Hz, H-4''), 3.82 (s, 3 H, OMe), 3.82 (ddd, 1 H, H-5''), 3.75 (dd, 1 H, H-2''), 3.74 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.9$ Hz, H-4).

^{13}C RMN (125.7 MHz, D_2O , 343 K): δ 184.2 (CS), 103.1 (C-1''), 99.9 (C-1), 84.0 (C-1'), 79.2 (C-4'), 76.7 (C-3'), 76.6 (C-5''), 76.3 (C-3''), 75.1 (C-5'), 73.9 (C-2''), 73.6 (C-3), 72.6

(C-2'), 72.0 (C-4), 71.9 (C-2), 70.4 (C-5), 70.3 (C-4''), 61.4 (C-6''), 60.4 (C-6'), 55.7 (OMe), 45.9 (C-6).

EM (FAB): m/z 599 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para C₂₀H₃₆N₂O₁₅S: C 41.66, H 6.29, N 4.86. Encontrado: C 41.45, H 6.32, N 4.70.

Metil 6-desoxi-6-[3-(β-lactosil)tioureido]-α-D-glucopiranosido (6):

Rend.: 110 mg (95%); $R_f = 0.42$ (BuOH/AcOH/H₂O 2:1:1); $[\alpha]_D = +34.0^\circ$ (c 1.1, H₂O).

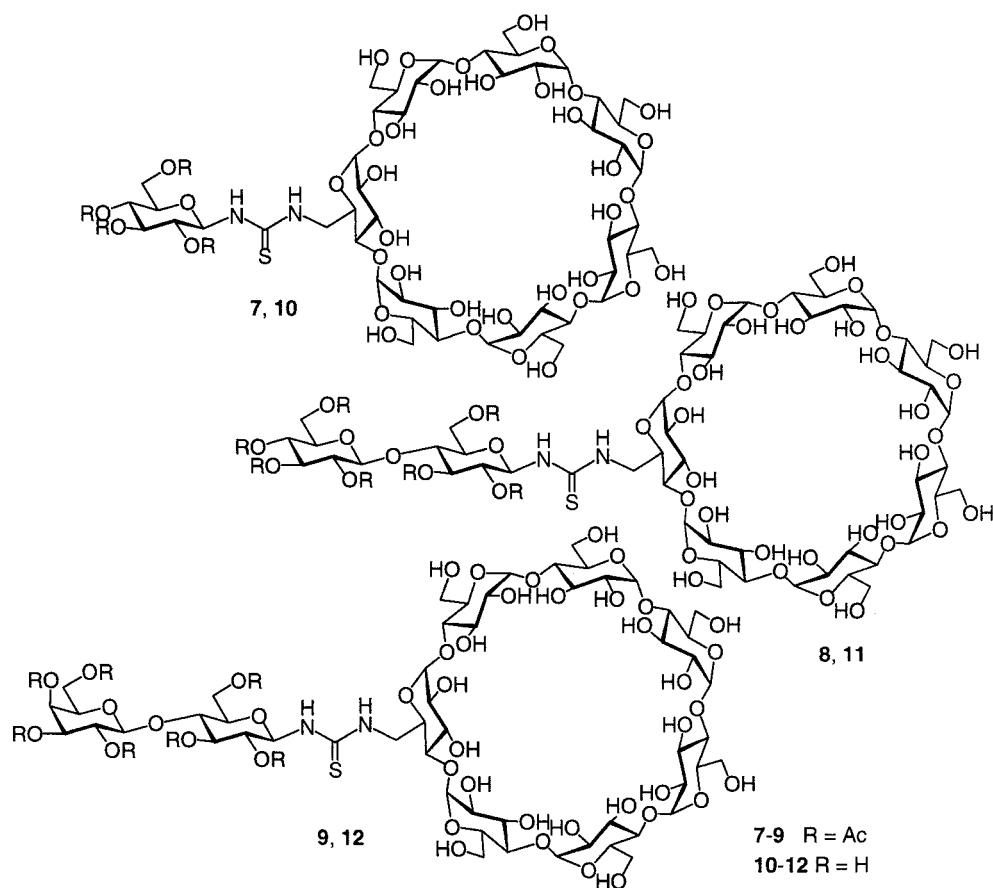
¹H RMN (500 MHz, D₂O, 343 K): δ 5.72 (da, 1 H, $J_{1,2} = 9.0$ Hz, H-1'), 5.19 (d, 1 H, $J_{1,2} = 4.0$ Hz, H-1), 4.86 (d, 1 H, $J_{1'',2''} = 7.8$ Hz, H-1''), 4.35 (m, 1 H, H-6a), 4.34 (d, 1 H, $J_{4'',5''} = 0$ Hz, H-4''), 4.22 (dd, 1 H, $J_{6a',6b'} = 11.8$ Hz, $J_{5',6a'} = 1.2$ Hz, H-6a'), 4.20 (dd, 1 H, $J_{5',6b'} = 2.0$ Hz, H-6b'), 4.19 (m, 2 H, H-5, H-6b), 4.18 (m, 2 H, H-6a'', H-6b''), 4.12 (m, 1 H, H-5''), 4.10 (m, 1 H, H-5'), 4.07 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.9$ Hz, H-3), 4.06 (m, 2 H, H-3', H-4'), 4.06 (dd, 1 H, $J_{2'',3''} = 7.8$ Hz, $J_{3'',4''} = 3.6$ Hz, H-3''), 3.96 (dd, 1 H, H-2), 3.95 (dd, 1 H, H-2''), 3.90 (t, 1 H, $J_{2',3'} = 9.0$ Hz, H-2'), 3.79 (s, 3 H, OMe), 3.72 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.9$ Hz, H-4).

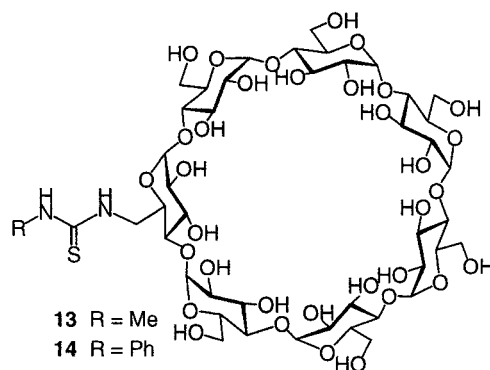
¹³C RMN (75.5 MHz, D₂O, 313 K): δ 184.8 (CS), 103.2 (C-1''), 99.6 (C-1), 83.6 (C-1'), 78.4 (C-4'), 75.7 (C-3'), 75.5 (C-5''), 72.9 (C-3''), 76.4 (C-5'), 73.2 (C-3), 72.1 (C-2'), 71.6 (C-2, C-4), 71.3 (C-2''), 70.0 (C-5), 68.9 (C-4''), 61.4 (C-6''), 60.4 (C-6'), 55.5 (OMe), 44.9 (C-6).

EM (FAB): m/z 599 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para C₂₀H₃₆N₂O₁₅S: C 41.66, H 6.29, N 4.86. Encontrado: C 41.64, H 6.17, N 4.87.

4.3.2. Preparación de 6¹-desoxi-6¹-[3-[glicopiranosil(metil)(fenil)]tioureido]-ciclomaltoheptaosas 7-14:





Una disolución de la monoamina de la β -CD **96** (160 mg, 0.142 mmol) y el correspondiente isotiocianato (**129-131**, metil o fenilisotiocianato, 0.156 mmol) en piridina (2 mL) se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. Se eliminó el disolvente a presión reducida y el residuo resultante se coevaporó con tolueno y se purificó por columna cromatográfica. Tras liofilización, los correspondientes aductos **7-9**, **13** y **14** se obtuvieron como sólidos blancos con rendimientos entre 70-75%. A continuación, los compuestos **7-9** (0.1 mmol) se disolvieron en MeOH (20 mL), se ajustó el pH de la disolución hasta 8-9 por adición de una disolución de NaOMe 1 N en MeOH. Después de 5 min, apareció un precipitado blanco y la suspensión resultante se agitó durante 5 h a temperatura ambiente. Se añadió agua (2 mL), se agitó la disolución durante 2 h y posteriormente se neutralizó con resina de intercambio iónico Amberlite IR-120 (H⁺) y se desmineralizó con resina mixta Duolite MB 6113 (H⁺,OH⁻). Los compuestos monoantennados desprotegidos **10**, **11** y **12** se obtuvieron, tras liofilización de disoluciones acuosas, como sólidos blancos con rendimientos entre 85-95%. La homogeneidad de las muestras se confirmó por HPLC.

6¹-Desoxi-6¹-[3-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosil)tioureido]ciclo-maltoheptaosa (7):

Rend.: 162 mg (75%); $R_f = 0.67$ (MeCN/H₂O/NH₄OH, 6:3:1); $[\alpha]_D^{20} = +96.4^\circ$ (c 0.4, H₂O).

^1H RMN (500 MHz, D_2O , 343 K): δ 6.16 (da, 1 H, $J_{1,2} = 8.8$ Hz, H-1'), 5.80 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.3$ Hz, H-3'), 5.52 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.3$ Hz, H-4'), 5.50-5.40 (m, 8 H, H-2', H-1^{I-VII}), 4.76 (dd, 1 H, $J_{6a',6b'} = 12.3$ Hz, $J_{5',6a'} = 5.6$ Hz, H-6a'), 4.63 (m, 2 H, H-6a^I, H-6b'), 4.47 (m, 2 H, H-5^{II}, H-5'), 4.43 (td, 1 H, $J_{4,5} = J_{5,6a} = 9.2$ Hz, $J_{5,6b} = 2.0$ Hz, H-5^I), 4.35-4.25 (m, 19 H, H-3^{I-VII}, H-6a^{II-VII}, H-6b^{II-VII}), 4.25-4.10 (m, 5 H, H-5^{III-VII}), 4.08-3.95 (m, 13 H, H-2^{I-VII}, H-4^{II-VII}), 3.78 (t, 1 H, $J_{3,4} = 9.2$ Hz, H-4^I), 3.76 (sa, 1 H, H-6b^I), 2.51, 2.50, 2.49, 2.48 (4s, 12 H, 4 MeCO).

^{13}C RMN (125.7 MHz, D_2O , 343 K): δ 184.0 (C=S), 173.4, 173.3, 173.2, 173.1 (C=O), 102.7-101.7 (C-1^{I-VII}), 84.0 (C-4^I), 82.6 (C-1'), 81.8-81.0 (C-4^{II-VII}), 74.3 (C-3'), 73.8-73.4 (C-3^{I-VII}, C-5'), 72.9-72.2 (C-2^{I-VII}, C-5^{II-VII}), 71.3 (C-2'), 70.2 (C-5^I), 69.5 (C-4'), 62.7 (C-6'), 60.9-60.5 (C-6^{II-VII}), 46.3 (C-6^I), 20.7, 20.6, 20.5, 20.4 (4 MeCO).

EM (FAB): m/z 1545 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{57}\text{H}_{90}\text{N}_2\text{O}_{43}\text{S}$: C 44.93, 5.95, N 1.84. Encontrado: C 44.66, H 5.98, N 1.80.

6^I-Desoxi-6^I-[3-(2,3,6,2',3',4',6'-hepta-O-acetil- β -celobiosil)tioureido]ciclo-maltoheptaosa (8):

Rend.: 180 mg (70%); $R_f = 0.67$ (MeCN/ H_2O / NH_4OH , 6:3:1); $[\alpha]_D = +71.0^\circ$ (c 3.0, H_2O).

^1H RMN (500 MHz, D_2O , 343 K): δ 6.12 (d, 1 H, $J_{1,2} = 7.9$ Hz, H-1'), 5.70 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.2$ Hz, H-3'), 5.66 (t, 1 H, $J_{2',3''} = J_{3'',4''} = 9.3$ Hz, H-3''), 5.50-5.45 (m, 7 H, H-1^{I-VII}), 5.46 (t, 1 H, $J_{4'',5''} = 9.3$ Hz, H-4''), 5.42 (dd, 1 H, H-2'), 5.28 (dd, 1 H, $J_{1'',2''} = 7.9$ Hz, H-2''), 5.17 (d, 1 H, H-1''), 4.84 (dd, 1 H, $J_{6a',6b'} = 11.0$ Hz, $J_{5',6a'} = 1.8$ Hz, H-6a'), 4.77 (d, 1 H, $J_{6a'',6b''} = 12.6$ Hz, H-6a''), 4.72 (sa, 1 H, H-6a^I), 4.60 (m, 1 H, H-6b'), 4.59 (dd, 1 H, $J_{5'',6b''} = 2.3$ Hz, H-6b''), 4.48 (m, 2 H, H-5^I, H-5^{II}), 4.41 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.2$ Hz, H-4'), 4.39 (m, 1 H, H-5''), 4.35-4.10 (m, 25 H, H-3^{I-VII}, H-6a^{II-VII}, H-6b^{II-VII}, H-5', H-5^{III-VII}), 4.08-3.98 (m, 13 H, H-2^{II-VII}, H-4^{I-VII}), 3.78 (t, 1 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.3$ Hz, H-4^I), 3.76 (m, 1 H, H-6b^I), 2.57, 2.53, 2.51, 2.49, 2.47 (5 s, 21 H, 7 MeCO).

^{13}C RMN (125.7 MHz, D_2O , 343 K): δ 184.5 (CS), 170.8-170.5 (CO), 102.8-102.1 (C-1^{I-VII}), 100.6 (C-1^{''}), 84.0 (C-4), 82.3 (C-1'), 81.7-81.0 (C-4^{II-VII}), 76.6 (C-4'), 74.6 (C-3'), 74.4 (C-3''), 73.8-73.5 (C-3^{I-VII}), 73.6 (C-5'), 72.9-72.3 (C-2^{I-VII}, C-5^{II-VII}), 72.6 (C-2''), 71.9 (C-2'), 71.7 (C-5''), 70.0 (C-5), 69.0 (C-4''), 63.2 (C-6'), 62.8 (C-6''), 61.0-60.6 (C-6^{II-VII}), 46.5 (C-6), 20.3-20.1 (MeCO).

EM (FAB): m/z 1834 [M+Na]⁺.

Análisis calculado para: $\text{C}_{69}\text{H}_{106}\text{N}_2\text{O}_{51}\text{S}$: C 45.74, H 5.90, N 1.55. Encontrado: C 45.55, H 6.08, N 1.58.

6^I-Desoxi-6^I-[3-(2,3,6,2',3',4',6'-hepta-O-acetil- β -lactosil)tioureido]ciclomaltoheptaosa (9):

Rend.: 182 mg (71%); $R_f = 0.74$ (MeCN/ H_2O / NH_4OH , 6:3:1); $[\alpha]_{\text{D}} = +67.1^\circ$ (c 0.35, H_2O).

^1H RMN (500 MHz, D_2O , 343 K): δ 6.11 (da, 1 H, $J_{1,2'} = 7.6$ Hz, H-1'), 5.81 (d, 1 H, $J_{1'',2''} = 3.5$ Hz, H-1''), 5.69 (t, $J_{2,3'} = J_{3',4'} = 9.2$ Hz, H-3'), 5.56 (dd, 1 H, $J_{2'',3''} = 10.2$ Hz, H-2''), 5.48-5.46 (m, 6 H, H-1^{II-VII}), 5.45 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.6$ Hz, H-1), 5.44 (m, 1 H, H-2'), 5.40 (dd, 1 H, $J_{3'',4''} = 7.9$ Hz, H-3''), 5.13 (d, 1 H, $J_{4'',5''} = 0$ Hz, H-4''), 4.82 (dd, 1 H, $J_{6a',6b'} = 12.8$ Hz, $J_{5',6a'} = 1.7$ Hz, H-6a'), 4.72 (sa, 1 H, H-6a^I), 4.65 (dd, 1 H, $J_{5',6b'} = 5.0$ Hz, H-6b'), 4.60 (m, 2 H, H-6a'', H-6b''), 4.58 (m, 1 H, H-5''), 4.48 (m, 2 H, H-5^I, H-5^{II}), 4.43 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.2$ Hz, H-4'), 4.35 (m, 1 H, H-5'), 4.35-4.10 (m, 24 H, H-3^{I-VII}, H-6a^{II-VII}, H-6b^{II-VII}, H-5^{III-VII}), 4.06-3.98 (m, 13 H, H-2^{I-VII}, H-4^{II-VII}), 3.76 (t, 1 H, $J_{4,5} = 10.0$ Hz, H-4^I), 3.74 (m, 1 H, H-6b^I), 2.61, 2.53, 2.52, 2.48, 2.41 (5 s, 21 H, 7 MeCO).

^{13}C RMN (125.7 MHz, D_2O , 343 K): δ 184.0 (CS), 174.0-173.1 (CO), 102.8-101.9 (C-1^{I-VII}), 100.6 (C-1^{''}), 84.2 (C-4^I), 81.6-81.0 (C-4^{II-VII}), 81.5 (C-1'), 75.9 (C-4'), 74.5 (C-5'), 74.3 (C-3'), 73.8-73.4 (C-3^{I-VII}), 72.8-72.3 (C-2^{I-VII}, C-5^{II-VII}), 71.8 (C-5''), 71.6 (C-2'), 71.1 (C-3''), 70.6 (C-2''), 70.0 (C-5), 68.6 (C-4''), 63.1 (C-6'), 62.6 (C-6''), 60.9-60.5 (C-6^{II-VII}), 46.3 (C-6^I), 20.9-20.4 (MeCO).

EM (FAB): m/z 1834 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para $C_{69}H_{106}N_2O_{51}S$: C 45.74, H 5.90, N 1.55. Encontrado: C 45.53, H 5.78, N 1.58.

6^I-Desoxi-6^I-[3-(β-D-glucopiranosil)tioureido]ciclomaltoheptaosa (10):

Rend.: 137 mg (95%); $R_f = 0.13$ (MeCN/H₂O/NH₄OH, 6:3:1); $[\alpha]_D = +18.8^\circ$ (c 1.4, H₂O).

¹H RMN (500 MHz, D₂O, 343 K): δ 5.69 (sa, 1 H, H-1^I), 5.49 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.7$ Hz, H-1^{II}), 5.46-5.44 (m, 5 H, H-1^{III-VII}), 5.43 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.7$ Hz, H-1^I), 4.72 (sa, 1 H, H-6a^I), 4.48 (m, 2 H, H-5^I, H-5^{II}), 4.37 (dd, 1 H, $J_{6a',6b'} = 12.4$ Hz, $J_{5',6a'} = 2.3$ Hz, H-6a'), 4.35-4.25 (m, 19 H, H-3^{I-VII}, H-6a^{II-VII}, H-6b^{II-VII}), 4.25-4.15 (m, 5 H, H-5^{III-VII}), 4.11 (dd, 1 H, $J_{5',6b'} = 5.2$ Hz, H-6b'), 4.08-4.00 (m, 7 H, H-2^{I-VII}), 4.00-3.92 (m, 7 H, H-4^{II-VII}, H-3'), 3.90 (ddd, 1 H, $J_{4,5'} = 9.1$ Hz, H-5'), 3.84 (t, 1 H, $J_{2,3'} = 9.1$ Hz, H-2'), 3.82 (t, 1 H, $J_{3',4'} = 9.1$ Hz, H-4'), 3.80 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.2$ Hz, H-4^I).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O, 343 K): δ 183.8 (CS), 102.6-101.9 (C-1^{I-VII}), 83.9 (C-4^I, C-1^I), 81.7-81.4 (C-4^{II-VII}), 77.9 (C-3'), 73.7-73.5 (C-3^{I-VII}), 77.2 (C-5'), 72.9-72.2 (C-2^{I-VII}, C-5^{II-VII}, C-2'), 70.1 (C-4', C-5^I), 61.5 (C-6'), 61.0-60.6 (C-6^{II-VII}), 45.7 (C-6^I).

EM (ES): m/z 1355 [M]⁺.

Análisis calculado para $C_{49}H_{82}N_2O_{39}S$: C 43.42, H 6.10, N 2.07. Encontrado: C 43.46, H 6.09, N 2.08.

6^I-Desoxi-6^I-[3-(β-celobiosil)tioureido]ciclomaltoheptaosa (11):

Rend.: 153 mg (85%); $R_f = 0.14$ (MeCN/H₂O/NH₄O, 10:1:1); $[\alpha]_D = +89.0^\circ$ (c 1.0, H₂O).

¹H RMN (500 MHz, D₂O, 343 K): δ 5.75 (sa, 1 H, H-1^I), 5.48 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.2$ Hz, H-1^{II}), 5.47-5.42 (m, 6 H, H-1^{III-VII}, H-1^I), 4.90 (d, 1 H, $J_{1'',2''} = 8.2$ Hz, H-1^{II}), 4.72 (sa, 1 H, H-6a^I), 4.48 (m, 1 H, H-5^{II}), 4.47 (ta, 1 H, H-5^I), 4.37 (da, 1 H, $J_{6a,6b} = 12.6$ Hz, H-6a^{II}), 4.33 (t, 1 H, $J_{2,3} = 9.2$ Hz, H-3^I), 4.35-4.10 (m, 25 H, H-3^{II-VII}, H-6a^{II}, H-6a^{III-VII}, H-6b^{II-VII}, H-5^{III-VII}, H-6a', H-6b'), 4.12 (dd, 1 H, $J_{5',6b''} = 5.3$ Hz, H-6b^{II}), 4.05-3.85 (m, 20 H, H-2^{I-VII},

H-4^{I-VII}, H-2', H-3', H-4', H-5', H-3'', H-5''), 3.84 (m, 1 H, H-6b^I), 3.81 (t, $J_{4',5''} = 9.2$ Hz, H-4''), 3.71 (dd, 1 H, H-2'').

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O, 343 K): δ 183.9 (CS), 103.1 (C-1''), 102.6-101.9 (C-1^{I-VII}), 83.9 (C-4^I, C-1'), 81.7-81.4 (C-4^{II-VII}), 79.1 (C-4'), 76.8 (C-3'), 76.6 (C-5''), 76.3 (C-3''), 75.7 (C-5'), 73.9 (C-2''), 73.8-73.5 (C-3^{I-VII}), 72.7-72.2 (C-2^{I-VII}, C-5^{II-VII}, C-2'), 70.2 (C-4''), 70.0 (C-5^I), 61.4 (C-6''), 61.0-60.6 (C-6^{II-VII}, C-6'), 46.3 (C-6^I).

EM (ES): m/z 1517 [M]⁺.

Análisis calculado para C₅₅H₉₂N₂O₄₄S: C 43.53, H 6.11, N 1.85. Encontrado: C 43.46, H 5.79, N 1.86.

6^I-Desoxi-6^I-[3-(β -lactosil)tioureido]ciclomaltoheptaosa (12):

Rend.: 157 mg (87%): $R_f = 0.07$ (MeCN/H₂O/NH₄OH, 6:3:1); $[\alpha]_D = +63.6^\circ$ (c 1.1, H₂O).

¹H RMN (500 MHz, D₂O, 343 K): δ 5.75 (sa, 1 H, H-1'), 5.46 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.6$ Hz, H-1^{II}), 5.44-5.42 (m, 5 H, H-1^{III-VII}), 4.84 (d, 1 H, $J_{1'',2''} = 7.8$ Hz, H-1''), 4.72 (s, 1 H, H-6a^I), 4.50 (m, 1 H, H-5^{II}), 4.47 (td, 1 H, $J_{4,5} = J_{5,6b} = 9.2$ Hz, $J_{5,6a} = 1.5$ Hz, H-5^I), 4.35 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 12.6$ Hz, $J_{5,6a} = 2.0$ Hz, H-6a^{II}), 4.34-4.13 (m, 24 H, H-3^{II-VII}, H-6a^{III-VII}, H-6b^{II-VII}, H-5^{III-VII}, H-6a', H-4''), 4.10 (m, 2 H, H-5', H-5''), 4.08-3.98 (m, 15 H, H-2^{I-VII}, H-4^{II-VII}, H-3', H-4'), 3.94 (dd, 1 H, $J_{2',3''} = 9.6$ Hz, H-2''), 3.87 (t, 1 H, $J_{1',2'} = J_{2',3'} = 9.0$ Hz, H-2'), 3.72 (sa, 1 H, H-6b^I), 3.71 (t, 1 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.3$ Hz, H-4).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O, 343 K): δ 183.9 (CS), 103.6 (C-1''), 102.7-101.8 (C-1^{I-VII}), 84.0, 83.9 (C-4^I, C-1'), 81.7-81.1 (C-4^{II-VII}), 78.9 (C-4'), 76.7 (C-5'), 75.9, 75.7 (C-3', C-5''), 73.7-73.5 (C-3^{I-VII}), 73.3 (C-3''), 72.8-72.7 (C-2^{I-VII}, C-5^{II-VII}), 72.6 (C-2'), 71.6 (C-2''), 70.0 (C-5^I), 69.2 (C-4''), 61.6 (C-6''), 60.9-60.6 (C-6^{II-VII}, C-6'), 46.3 (C-6^I).

EM (ES): m/z 1517 [M]⁺.

Análisis calculado para C₅₅H₉₂N₂O₄₄S: C 43.53, H 6.11, N 1.85. Encontrado: C 43.37, H 5.93, N 1.86.

6^I-Desoxi-6^I-(3-metiltioureido)ciclomaltoheptaosa (13):

Rend.: 111 mg (65%); $[\alpha]_D = +108.7^\circ$ (c 1.0, H₂O).

¹H RMN (500 MHz, D₂O, 343 K): δ 5.50 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.8$ Hz, H-1^{II}), 5.46-5.43 (m, 5 H, H-1^{III-VII}), 5.43 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.4$ Hz, H-1^I), 4.67 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 14.6$ Hz, $J_{5,6b} = 9.3$ Hz, H-6a^I), 4.54 (ddd, 1 H, H-5^{II}), 4.48 (td, 1 H, $J_{4,5} = 9.8$ Hz, H-5^I), 4.35-4.25 (m, 19 H, H-3^{I-VII}, H-6a^{II-VII}, H-6b^{II-VII}), 4.25-4.15 (m, 5 H, H-5^{III-VII}), 4.08-4.00 (m, 8 H, H-4^{II}, H-2^{I-VII}), 4.00-3.92 (m, 5 H, H-4^{III-VII}), 3.78 (t, 1 H, H-4^I), 3.70 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 0.8$ Hz, H-6b^I), 3.31 (s, 3 H, Me).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O, 343 K): δ 102.1-101.7 (C-1^{I-VII}), 83.4 (C-4^I), 81.4-80.8 (C-4^{II-VII}), 73.4-73.3 (C-3^{I-VII}), 72.4-72.3 (C-2^{I-VII}), 72.1-72.0 (C-5^{II-VII}), 70.1 (C-5^I), 60.6-60.5 (C-6^{II-VII}), 45.7 (C-6^I), 25.8 (Me).

EM (FAB): m/z 1229 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para C₄₄H₇₄N₂O₃₄S: C 43.78, H 6.18, N 2.32. Encontrado: C 43.40, H 5.86, N 2.49.

6^I-Desoxi-6^I-(3-feniltioureido)ciclomaltoheptaosa (14):

Rend.: 108 mg (60%); $R_f = 0.45$ (MeCN/H₂O/NH₄OH, 6:3:1); $[\alpha]_D = +71.7^\circ$ (c 0.6, piridina).

¹H RMN (500 MHz, D₂O, 343 K): δ 7.87 (t, 2 H, $^3J_{H,H} = 7.8$ Hz, H-3, H-5 Ph), 7.76 (t, 1 H, $^3J_{H,H} = 7.8$ Hz, H-4 Ph), 7.73 (d, 2 H, $^3J_{H,H} = 7.8$ Hz, H-2, H-6 Ph), 5.51 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.7$ Hz, H-1^{II}), 5.32 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.6$ Hz, H-1^I), 4.67 (m, 1 H, H-6a^I), 4.47 (m, 1 H, H-5^{II}), 4.40 (td, 1 H, $J_{4,5} = 9.3$ Hz, $J_{5,6b} = 3.8$ Hz, H-5^I), 4.38 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 12.5$ Hz, $J_{5,6a} = 1.8$ Hz, H-6a^{II}), 4.35-4.25 (m, 17 H, H-3^{II-VII}, H-6a^{III-VII}, H-6b^{II-VII}), 4.25-4.15 (m, 6 H, H-3^I, H-5^{III-VII}), 4.08-3.98 (m, 7 H, H-4^{II}, H-2^{II-VII}), 3.98-3.92 (m, 6 H, H-2^I, H-4^{III-VII}), 3.71 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 9.3$ Hz, $J_{5,6a} = 0.8$ Hz, H-6b^I), 3.68 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.3$ Hz, H-4^I).

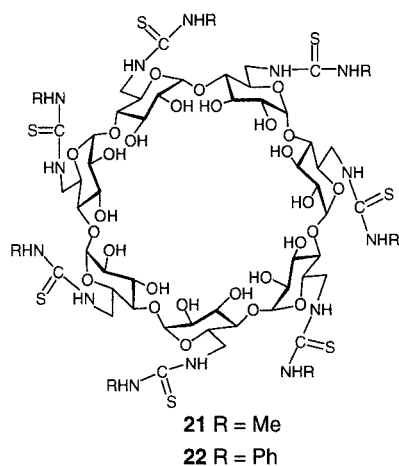
¹³C RMN (75.5 MHz, D₂O, 333 K): δ 181.2 (CS), 135.5 (C-1 Ph), 130.0 (C-3, C-5 Ph), 127.3 (C-4 Ph), 125.7 (C-2, C-6 Ph), 102.6-101.5 (C-1^{I-VII}), 83.8 (C-4^I), 81.7-80.9 (C-4^{II}

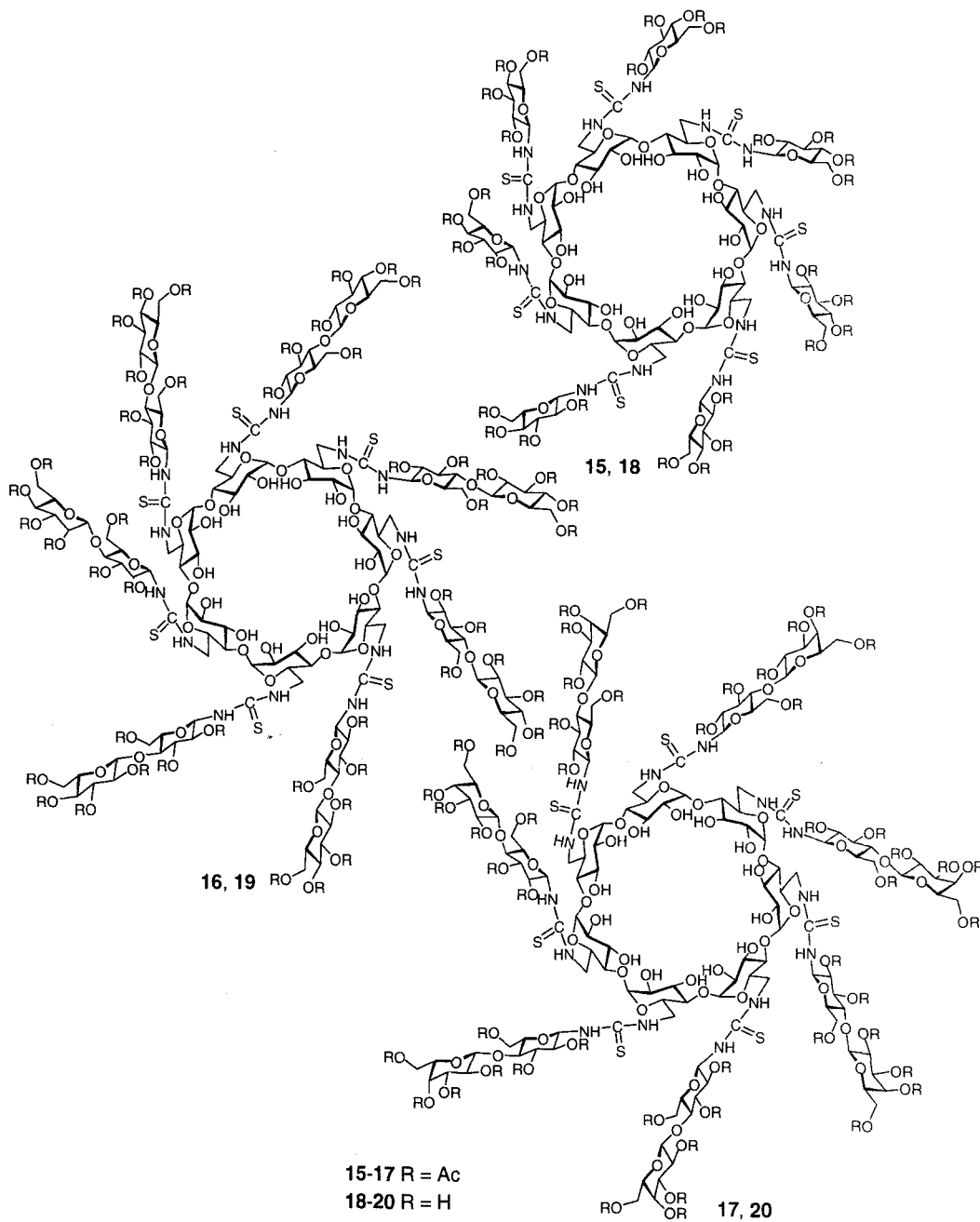
^{VII}), 73.7-73.5 (C-3^{I-VII}), 72.7-72.6 (C-2^{I-VII}), 72.4-72.3 (C-5^{II-VII}), 70.2 (C-5^I), 60.9-60.4 (C-6^{II-VII}), 45.6 (C-6^I).

EM (FAB): m/z 1291 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para C₄₉H₇₆N₂O₇₄S: C 46.37, H 6.04, N 2.21. Encontrado: C 46.11, H 5.67, N 2.21.

4.3.3. Preparación de heptaquis[6-desoxi-6-[3-[glicopiranosil(metil)-(fenil)]tioureido]ciclomaltoheptaosas 15-22:





Una disolución del hidrocloreto de la heptaamina **109** (50 mg, 0.036 mmol) en agua (6 mL) se ajustó a pH 8 mediante la adición de una disolución acuosa de NaHCO₃ saturado. Se añadió el correspondiente isotiocianato (**129-131**, metil o fenilisotiocianato, 0.276 mmol) en acetona (6 mL) y la mezcla de reacción se agitó durante 2 h. La disolución se concentró a vacío y el residuo se sometió a purificación en columna cromatográfica (MeCN/H₂O 10:1). Los compuestos **21** y **22** se obtuvieron así como sólidos blancos. Los productos de reacción procedentes del acoplamiento con glicosil isotiocianatos (\rightarrow **15-17**) contenían aductos parcialmente desacetilados, como se pudo observar en los espectros de ¹H y ¹³C RMN. Después de desacetilación y desmineralización siguiendo el procedimiento descrito anteriormente para la preparación de **10**, **11** y **12**, los aductos heptaantenados desprotegidos **18-20** se aislaron con rendimientos globales entre 65-80%. La homogeneidad de las muestras se confirmó por HPLC.

Heptaquis[6-desoxi-6-[3-(β-D-glucopiranosil)tioureido]]ciclomaltoheptaosa

(18):

Rend.: 80 mg (80%); $R_f = 0.22$ (MeCN/H₂O/NH₄OH, 5:3:5); $[\alpha]_D = +256.2^\circ$ (*c* 0.6, H₂O).

¹H RMN (500 MHz, D₂O, 343 K): δ 5.73 (sa, 7 H, H-1'), 5.52 (d, 7 H, $J_{1,2} = 3.3$ Hz, H-1), 4.57 (ta, 7 H, H-5), 4.45 (m, 7 H, H-6a), 4.34 (t, 7 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.2$ Hz, H-3), 4.28 (dd, 7 H, $J_{6a',6b'} = 12.4$ Hz, $J_{5',6a'} = 2.2$ Hz, H-6a'), 4.14 (dd, 7 H, $J_{5',6b'} = 5.2$ Hz, H-6b'), 4.05 (dd, 7 H, H-2), 4.03 (m, 7 H, H-6b), 3.98 (t, 7 H, $J_{3',4'} = J_{4',5'} = 9.0$ Hz, H-3'), 3.94 (ddd, 7 H, H-5'), 3.88 (t, 7 H, $J_{4,5} = 9.2$ Hz, H-4), 3.86 (t, 7 H, H-4'), 3.84 (t, 7 H, H-2').

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O, 333 K): δ 183.9 (CS), 102.2 (C-1), 84.1 (C-1'), 83.1 (C-4), 77.9 (C-3'), 77.3 (C-5'), 73.3 (C-3), 72.9 (C-2'), 72.6 (C-2), 70.2 (C-5), 70.1 (C-4'), 61.5 (C-6'), 45.5 (C-6).

EM (ES): m/z 1338 [M]²⁺.

Análisis calculado para C₉₁H₁₅₄N₁₄O₆₃S₇: C 40.83, H 5.80, N 7.33. Encontrado: C 40.52, H 5.90, N 6.91.

Heptaquis[6-[3-(β -celobiosil)tioureido]-6-desoxi]ciclomaltoheptaosa (19):

Rend.: 89 mg (65%); $R_f = 0.12$ (MeCN/H₂O/NH₄OH, 5:3:5); $[\alpha]_D = +33.4^\circ$ (c 0.6, H₂O).

¹H RMN (500 MHz, D₂O, 343 K): δ 5.74 (sa, 7 H, H-1'), 5.50 (sa, 7 H, H-1), 4.90 (d, 7 H, $J_{1'',2''} = 7.9$ Hz, H-1''), 4.52 (m, 7 H, H-5), 4.44 (m, 7 H, H-6a), 4.31 (m, 21 H, H-3, H-6a', H-6a''), 4.22 (dd, 7 H, $J_{6a',6b'} = 12.2$ Hz, $J_{5',6b'} = 3.6$ Hz, H-6b'), 4.11 (dd, 7 H, $J_{6a'',6b''} = 12.6$ Hz, $J_{5'',6b''} = 5.2$ Hz, H-6b''), 4.10 (t, 7 H, $J_{2',3'} = J_{3',4'} = 9.0$ Hz, H-3'), 4.04 (m, 28 H, H-2, H-4', H-5', H-6b), 3.92 (t, 7 H, H-2'), 3.89 (t, 7 H, $J_{2'',3''} = J_{3'',4''} = 9.0$ Hz, H-3''), 3.87 (m, 14 H, H-4, H-5''), 3.82 (t, 7 H, $J_{4'',5''} = 9.0$ Hz, H-4''), 3.72 (dd, 7 H, H-2'').

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O, 343 K): δ 183.8 (CS), 103.1 (C-1''), 102.2 (C-1), 83.9 (C-1'), 83.1 (C-4), 79.2 (C-4'), 76.7 (C-3'), 76.5 (C-5''), 76.2 (C-3''), 75.8 (C-5'), 73.8 (C-2''), 73.2 (C-3), 72.5 (C-2, C-2'), 70.1 (C-5, C-4''), 61.3 (C-6''), 60.8 (C-6'), 45.3 (C-6).

EM (ES): m/z 1905 [M]²⁺.

Análisis calculado para C₁₃₃H₂₂₄N₁₄O₉₈S₇: C 41.91, H 5.95, N 5.14. Encontrado: C 41.91, H 5.82, N 5.09.

Heptaquis[6-desoxi-6-[3-(β -lactosil)tioureido]]ciclomaltoheptaosa (20):

Rend.: 92 mg (67%); $R_f = 0.11$ (MeCN/H₂O/NH₄OH, 5:3:5); $[\alpha]_D = +17.6^\circ$ (c 0.7, H₂O).

¹H RMN (500 MHz, D₂O, 343 K): δ 5.77 (sa, 7 H, H-1'), 5.50 (sa, 7 H, H-1), 4.85 (d, 7 H, $J_{1'',2''} = 7.7$ Hz, H-1''), 4.32 (m, 7 H, H-5), 4.44 (m, 7 H, H-6a), 4.32 (m, 21 H, H-3, H-6a', H-4''), 4.22 (dd, 7 H, $J_{6a',6b'} = 11.8$ Hz, $J_{5',6b'} = 2.0$ Hz, H-6b'), 4.15 (m, 14 H, H-6a'', H-6b''), 4.11 (m, 14 H, H-5', H-5''), 4.07 (m, 21 H, H-3', H-4', H-6b), 4.05 (dd, 7 H, $J_{2,3} = 9.3$ Hz, $J_{1,2} = 3.1$ Hz, H-2), 3.96 (dd, 7 H, $J_{2'',3''} = 9.6$ Hz, H-2''), 3.92 (t, 7 H, $J_{1',2'} = J_{2',3'} = 9.0$ Hz, H-2'), 3.87 (t, 7 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.3$ Hz, H-4).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O, 343 K): δ 184.0 (CS), 103.6 (C-1''), 102.3 (C-1), 84.1 (C-1'), 83.2 (C-4), 79.2 (C-4'), 76.8 (C-5'), 75.9 (C-3', C-5''), 73.4 (C-3, C-3''), 72.7 (C-2, C-2'), 71.7 (C-2''), 70.2 (C-5), 69.2 (C-4''), 61.6 (C-6''), 61.1 (C-6'), 45.5 (C-6).

EM (ESI): m/z 1905 [M]²⁺.

Análisis calculado para $C_{133}H_{224}N_{14}O_{98}S_7$: C 41.91, H 5.92, N 5.14. Encontrado: C 41.63, H 5.70, N 4.89.

Heptaquis[6-desoxi-6-(3-metiltioureido)]ciclomaltoheptaosa (21):

Rend.: 129 mg (70%); $R_f = 0.81$ (MeCN/H₂O/NH₄OH 6:3:1); $[\alpha]_D = +76.9^\circ$ (c 0.5, MeOH).

¹H RMN (500 MHz, D₂O, 343 K): δ 5.51 (d, 7 H, $J_{1,2} = 3.3$ Hz, H-1), 4.60 (t, 7 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.4$ Hz, H-3), 4.54 (ta, 7 H, $J_{4,5} = J_{5,6b} = 9.4$ Hz, H-5), 4.42 (da, 7 H, $J_{6a,6b} = 12.6$ Hz, H-6a), 4.05 (dd, 7 H, H-2), 4.03 (m, 7 H, H-6b), 3.85 (t, 7 H, H-4), 3.33 (s, 21 H, Me).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O, 343 K): δ 182.0 (CS), 101.9 (C-1), 83.1 (C-4), 73.4 (C-3), 72.6 (C-2), 70.8 (C-5), 45.5 (C-6), 32.0 (Me).

EM (FAB): m/z 1662 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para $C_{56}H_{98}N_{14}O_{28}S_7$: C 41.01, H 6.02, N 11.96. Encontrado: C 40.57, H 5.66, N 11.69.

Heptaquis[6-desoxi-6-(3-feniltioureido)]ciclomaltoheptaosa (22):

Rend.: 151 mg (65%); $R_f = 0.90$ (MeCN/H₂O/NH₄OH 6:3:1); $[\alpha]_D = +73.9^\circ$ (c 0.3, MeOH).

¹H RMN (500 MHz, CD₃OD, 323 K): δ 7.28 (d, 2 H, $^3J_{H,H} = 7.6$ Hz, H-2 Ph, H-6 Ph), 7.21 (t, 2 H, $^3J_{H,H} = 7.6$ Hz, H-3 Ph, H-5 Ph), 7.06 (t, 1 H, H-4 Ph), 5.00 (d, 7 H, $J_{1,2} = 3.4$ Hz, H-1), 4.16 (m, 7 H, H-6a), 4.15 (m, 7 H, H-5), 3.87 (t, 7 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.2$ Hz, H-3), 3.73 (m, 7 H, H-6b), 3.47 (dd, 7 H, H-2), 3.28 (t, 7 H, $J_{4,5} = 9.2$ Hz, H-4).

¹³C RMN (125.7 MHz, CD₃OD): δ 180.8 (CS), 138.5 (C-1 Ph), 128.6 (C-2, C-6 Ph), 125.2, 124.5 (C-3, C-4, C-5 Ph), 102.2 (C-1), 83.7 (C-4), 73.0 (C-3), 72.7 (C-2), 70.0 (C-5), 45.2 (C-6).

EM (FAB): m/z 2097 [M + Na]⁺.

^1H RMN (500 MHz, D_2O , 343 K): δ 6.27 (m, 1 H, H-1'), 5.74 (m, 2 H, H-2', H-3'), 5.62 (t, 1 H, $J_{3',4'} = J_{4',5'} = 8.7$ Hz, H-4'), 5.18 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.8$ Hz, H-1), 4.79 (dd, 1 H, $J_{6a',6b'} = 12.5$ Hz, $J_{5',6a'} = 5.1$ Hz, H-6a'), 4.58 (dd, 1 H, $J_{6a',6b'} = 5.1$ Hz, H-6b'), 4.48 (m, 1 H, H-5'), 4.34 (m 1 H, H-6a), 4.20 (ddd, 1 H, $J_{4,5} = 9.4$ Hz, $J_{5,6b} = 6.5$ Hz, $J_{5,6a} = 2.8$ Hz, H-5), 4.12 (m, 1 H, H-6b), 4.04 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.4$ Hz, H-3), 3.93 (dd, 1 H, H-2), 3.76 (s, 3 H, OMe), 3.70 (t, 1 H, H-4), 2.58, 2.51, 2.50, 2.45 (4 s, 12 H, 4 MeCO).

^{13}C RMN (125.7 MHz, D_2O , 343 K) δ 183.9 (CS), 174.1, 173.2, 173.1, 173.0 (CO), 100.0 (C-1), 80.3 (C-1'), 73.6 (C-3), 71.9 (C-2), 71.8 (C-4), 70.3 (C-5), 70.2 (C-5'), 69.8 (C-2'), 69.5 (C-3'), 67.2 (C-4'), 62.7 (C-6'), 55.7 (OMe), 45.8 (C-6), 20.7, 20.6, 20.5, 20.4 (MeCO).

EM (FAB): m/z 605 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_{14}\text{S}$: C 45.36, H 5.88, N 4.81. Encontrado: C 45.14, H 5.71, N 4.80.

Metil 6-desoxi-6-[3-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-manopiranosil)tioureido]- α -D-glucopiranosido (24):

Rend.: 191 mg (85%); $R_f = 0.41$ (AcOEt/EtOH/ H_2O 45:5:3); $[\alpha]_D = -11.0^\circ$ (c 0.5, CH_2Cl_2).

^1H RMN (500 MHz, D_2O , 333 K): δ 6.46 (m, 1 H, H-1'), 5.96 (dd, 1 H, $J_{2',3'} = 3.2$ Hz, $J_{1',2'} = 1.0$ Hz, H-2'), 5.77 (dd, 1 H, $J_{3',4'} = 10.0$ Hz, H-3'), 5.64 (t, 1 H, $J_{4',5'} = 10.0$ Hz, H-4'), 5.21 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.8$ Hz, H-1), 4.97 (dd, 1 H, $J_{6a',6b'} = 12.6$ Hz, $J_{5',6a'} = 4.2$ Hz, H-6a'), 4.63 (dd, 1 H, $J_{5',6b'} = 2.3$ Hz, H-6b'), 4.50 (ddd, 1 H, H-5'), 4.42 (m 1 H, H-6a), 4.20 (m, 2 H, H-5, H-6b), 4.08 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.3$ Hz, H-3), 3.97 (dd, 1 H, H-2), 3.76 (s, 3 H, OMe), 3.72 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.3$ Hz, H-4), 2.71, 2.56, 2.54, 2.46 (4 s, 12 H, 4 MeCO).

^{13}C RMN (125.7 MHz, D_2O , 333 K): δ 184.2 (CS), 174.0, 173.5, 173.3, 172.9 (CO), 99.7 (C-1), 81.1 (C-1'), 73.4 (C-3), 73.3 (C-5'), 72.3 (C-3'), 71.8 (C-2), 71.6 (C-4), 70.5 (C-2'), 70.1 (C-5), 66.2 (C-4'), 62.7 (C-6'), 55.6 (OMe), 45.7 (C-6), 20.6, 20.5, 20.4 (MeCO).

EM (FAB): m/z 605 $[M + Na]^+$.

Análisis calculado para $C_{22}H_{34}N_2O_{14}S$: C 45.36, H 5.88, N 4.81. Encontrado: C 45.27, H 5.66, N 4.80.

Metil 6-desoxi-6-[3-(α -D-manopiranosil)tioureido]- α -D-glucopiranosido (25):

Rend.: 80 mg (96%); $R_f = 0.51$ (BuOH/AcOH/H₂O 2:1:1); $[\alpha]_D = +116.4^\circ$ (c 2.2, MeOH).

¹H RMN (500 MHz, D₂O, 333 K): δ 6.18 (m, 1 H, H-1'), 5.37 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.3$ Hz, H-1), 4.55 (dd, 1 H, $J_{2,3'} = 3.3$ Hz, $J_{1',2'} = 2.3$ Hz, H-2'), 4.45 (m, 1 H, H-6a), 4.41 (dd, 1 H, $J_{6a',6b'} = 12.3$ Hz, $J_{5',6a'} = 2.5$ Hz, H-6a'), 4.32 (m, 3 H, H-5, H-6b, H-6b'), 4.24 (dd, 1 H, $J_{3',4'} = 9.5$ Hz, H-3'), 4.19 (t, 2 H, $J_{2,3} = 9.7$ Hz, $J_{4',5'} = 9.5$ Hz, H-3, H-4'), 4.08 (dd, 1 H, H-2), 3.98 (ddd, 1 H, $J_{5',6b'} = 4.8$ Hz, H-5'), 3.92 (s, 3 H, OMe), 3.84 (t, 1 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.7$ Hz, H-4).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O, 313 K): δ 184.6 (CS), 101.8 (C-1), 85.1 (C-1', $J_{C-1',H-1'} = 164.7$ Hz), 76.2 (C-5'), 75.4 (C-3), 73.9 (C-3'), 73.8 (C-4), 73.0 (C-2), 72.0 (C-2'), 71.9 (C-5), 69.2 (C-4'), 63.2 (C-6'), 56.9 (OMe), 48.1 (C-6).

EM (FAB): m/z 415 $[M + H]^+$.

Análisis calculado para $C_{14}H_{26}N_2O_{10}S$: C 40.57, H 6.32, N 6.76. Encontrado: C 40.35, H 6.19, N 6.42.

Metil 6-desoxi-6-[3-(β -D-manopiranosil)tioureido]- α -D-glucopiranosido (26):

Rend.: 82 mg (99%); $R_f = 0.53$ (BuOH/AcOH/H₂O 2:1:1); $[\alpha]_D = +40.7^\circ$ (c 1.1, MeOH).

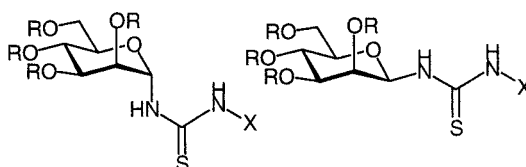
¹H RMN (500 MHz, D₂O, 333 K): δ 6.11 (m, 1 H, H-1'), 5.36 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.7$ Hz, H-1), 4.56 (dd, 1 H, $J_{2,3'} = 3.1$ Hz, $J_{1',2'} = 1.3$ Hz, H-2'), 4.47 (m 1 H, H-6a), 4.47 (dd, 1 H, $J_{6a',6b'} = 12.2$ Hz, $J_{5',6a'} = 2.0$ Hz, H-6a'), 4.30 (m, 3 H, H-5, H-6b, H-6b'), 4.27 (dd, 1 H, $J_{3',4'} = 9.6$ Hz, H-3'), 4.20 (t, 1 H, $J_{3,4} = 9.2$ Hz, H-3), 4.18 (t, 1 H, $J_{4',5'} = 9.6$ Hz, H-4'), 4.11 (dd, 1 H, H-2), 4.01 (ddd, 1 H, $J_{5',6b'} = 5.6$ Hz, H-5'), 3.96 (s, 3 H, OMe), 3.87 (t, 1 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.2$ Hz, H-4).

^{13}C RMN (125.7 MHz, D_2O , 333 K): δ 185.6 (CS), 102.4 (C-1), 85.0 (C-1', $J_{\text{C-1'-H-1'}} = 152.1$ Hz), 80.6 (C-5'), 76.6 (C-3'), 76.0 (C-3), 74.2 (C-4), 74.4 (C-2), 73.1 (C-2'), 72.5 (C-5), 69.7 (C-4'), 64.2 (C-6'), 58.2 (OMe), 48.3 (C-6).

EM (FAB): m/z 415 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_{10}\text{S}$: C 40.57, H 6.32, N 6.76. Encontrado: C 40.34, H 6.10, N 6.41.

4.3.5. Preparación de etil y bencil α - y β -D-manopiranosiltiureas (27-34):



27 X = Et, R = Ac	28 X = Et, R = Ac
29 X = Et, R = H	30 X = Et, R = H
31 X = Bn, R = Ac	32 X = Bn, R = Ac
33 X = Bn, R = H	34 X = Bn, R = H

A una disolución del correspondiente 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α (β)-D-manopiranosil isotiocianato (**133** ó **134**, 116 mg, 0.30 mmol) en CH_2Cl_2 (5 mL) se añadió: (i) una disolución de hidrocloreto de etilamina (27 mg, 0.33 mmol, \rightarrow **27** y **28**) en agua (5 mL) a pH 10 (NaHCO_3) o (ii) bencilamina (33 μL , 0.30 mmol, \rightarrow **31** y **32**). La mezcla de reacción se agitó vigorosamente durante 30 min. La fase orgánica en el primer caso o la disolución resultante en el segundo se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna usando AcOEt/éter de petróleo 1:1 como eluyente para dar las tiureas acetiladas **27**, **28** y **31**, **32**, respectivamente. La desacetilación con metilato sódico en metanol a 0 °C permitió aislar los productos libres **29**, **30** y **33**, **34** con rendimiento cuantitativo.

***N*-Etil-*N'*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-manopiranosil)tiourea (27):**

Rend.: 115 mg (89%); $R_f = 0.23$ (AcOEt/éter de petróleo 1:1); $[\alpha]_D = +124.5^\circ$ (*c* 1.1 CH₂Cl₂).

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃, 313 K): δ 6.81 (sa, 1 H, NH), 6.72 (sa, 1 H, N'H), 5.30 (m, 2 H, H-1, H-2), 5.25 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 8.8$ Hz, $J_{2,3} = 3.0$ Hz, H-3), 5.20 (t, 1 H, $J_{4,5} = 8.8$ Hz, H-4), 4.26 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 12.3$ Hz, $J_{5,6a} = 6.2$ Hz, H-6a), 4.15 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 2.5$ Hz, H-6b), 4.08 (ddd, 1 H, H-5), 3.60 (m, 2 H, CH₂CH₃), 2.13, 2.05, 2.03, 2.00 (4 s, 12 H, 4 MeCO), 1.22 (t, 3 H, $^3J_{H,H} = 7.3$ Hz, CH₂CH₃).

¹³C RMN (125.7 MHz, CDCl₃, 313 K): δ 183.8 (CS), 170.2, 169.8, 169.5 (CO), 80.7 (C-1), 70.0 (C-5), 68.7 (C-2), 68.4 (C-3), 66.2 (C-4), 62.2 (C-6), 40.5 (CH₂CH₃), 20.6, 20.4, 20.3, 20.2 (MeCO), 14.1 (CH₂CH₃).

EM (FAB): *m/z* 457 [M + Na]⁺, 435 [M + H]⁺.

Análisis calculado para C₁₇H₂₆N₂O₉S: C 35.05, H 4.50, N 4.81. Encontrado: C 34.93, H 4.31, N 4.77.

***N*-Etil-*N'*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-manopiranosil)tiourea (28):**

Rend.: 110 mg (85%); $R_f = 0.17$ (AcOEt/éter de petróleo 1:1); $[\alpha]_D = -16.0^\circ$ (*c* 0.9, CH₂Cl₂).

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃, 313 K): δ 6.40 (sa, 1 H, NH), 5.90 (sa, 1 H, N'H), 5.90 (m, 1 H, H-1), 5.43 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 3.2$ Hz, $J_{1,2} = 1.0$ Hz, H-2), 5.22 (t, 1 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 10.0$ Hz, H-4), 5.14 (dd, 1 H, H-3), 4.28 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 12.3$ Hz, $J_{5,6a} = 5.4$ Hz, H-6a), 4.12 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 2.3$ Hz, H-6b), 3.82 (ddd, 1 H, H-5), 3.47 (sa, 2 H, CH₂CH₃), 2.22, 2.09, 2.05, 1.98 (4 s, 12 H, 4 MeCO), 1.22 (t, 3 H, $^3J_{H,H} = 7.5$ Hz, CH₂CH₃).

¹³C RMN (125.7 MHz, CDCl₃, 313 K): δ 182.3 (CS), 170.7, 170.6, 169.6 (CO), 81.0 (C-1), 74.0 (C-5), 71.4 (C-3), 70.2 (C-2), 65.5 (C-4), 62.3 (C-6), 39.4 (CH₂CH₃), 20.8, 20.7, 20.6, 20.4 (MeCO), 13.8 (CH₂CH₃).

EM (FAB): m/z 457 $[M + Na]^+$.

Análisis calculado para $C_{17}H_{26}N_2O_9S$: C 35.05, H 4.50, N 4.81. Encontrado: C 35.05, H 4.48, N 4.61.

***N*-Etil-*N'*-(α -D-manopiranosil)tiourea (29):**

$R_f = 0.65$ (BuOH/AcOH/H₂O 2:1:1); $[\alpha]_D = +78.9^\circ$ (c 1.0, MeOH).

¹H RMN (500 MHz, D₂O, 333 K): δ 5.44 (sa, 1 H, H-1), 4.04 (m, 1 H, H-2), 3.86 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 12.3$ Hz, $J_{5,6a} = 2.1$ Hz, H-6a), 3.83 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 9.3$ Hz, $J_{2,3} = 3.2$ Hz, H-3), 3.74 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 6.6$ Hz, H-6b), 3.65 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.6$ Hz, H-4), 3.53 (m, 1 H, H-5), 3.90 (m, 2 H, CH₂CH₃), 1.53 (t, 3 H, $^3J_{H,H} = 7.0$ Hz, CH₂CH₃).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O, 333 K): δ 182.3 (CS), 82.6 (C-1, $J_{C-1,H-1} = 166.0$ Hz), 74.3 (C-5), 71.1 (C-3), 70.0 (C-2), 67.7 (C-4), 61.4 (C-6), 40.5 (CH₂CH₃), 13.8 (CH₂CH₃).

EM (FAB): m/z 267 $[M + H]^+$.

Análisis calculado para $C_9H_{18}N_2O_5S$: C 40.59, H 6.81, N 10.52. Encontrado: C 49.49, H 6.69, N 10.43.

***N*-Etil-*N'*-(β -D-manopiranosil)tiourea (30):**

$R_f = 0.72$ (BuOH/AcOH/H₂O 2:1:1); $[\alpha]_D = -3.1^\circ$ (c 0.8, MeOH).

¹H RMN (500 MHz, D₂O, 333 K): δ 5.75 (m, 1 H, H-1), 4.18 (m, 1 H, H-2), 4.09 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 12.3$ Hz, $J_{5,6a} = 2.2$ Hz, H-6a), 3.83 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 9.3$ Hz, $J_{2,3} = 3.2$ Hz, H-3), 3.92 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 5.8$ Hz, H-6b), 3.80 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.3$ Hz, H-4), 3.66 (ddd, 1 H, H-5), 3.72 (m, 2 H, CH₂CH₃), 1.37 (t, 3 H, $^3J_{H,H} = 7.2$ Hz, CH₂CH₃).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O, 333 K): δ 183.8 (CS), 84.0 (C-1, $J_{C-1,H-1} = 153.0$ Hz), 80.1 (C-5), 76.1 (C-3), 73.1 (C-2), 69.3 (C-4), 63.7 (C-6), 39.8 (CH₂CH₃), 15.9 (CH₂CH₃).

EM (FAB): m/z 289 $[M + Na]^+$, 267 $[M + H]^+$.

Análisis calculado para $C_9H_{18}N_2O_5S$: C 40.59, H 6.81, N 10.52. Encontrado: C 40.37, H 6.75, N 10.33.

***N*-Bencil-*N'*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-manopiranosil)tiourea (31):**

Rend.: 184 mg (97%); $R_f = 0.26$ (AcOEt/éter de petróleo 1:1); $[\alpha]_D = +70.9^\circ$ (c 1.0, CH₂Cl₂).

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 7.36-7.17 (m, 7 H, Ph, NH, N'H), 5.38 (m, 2 H, H-1, H-2), 5.35 (m, 1 H, H-3), 5.23 (t, 1 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.2$ Hz, H-4), 4.25 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 12.2$ Hz, $J_{5,6a} = 6.0$ Hz, H-6a), 4.10 (ddd, 1 H, H-5), 3.99 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 2.0$ Hz, H-6b), 4.76 (d, 2 H, $^3J_{H,H} = 4.7$ Hz, CH₂Ph), 2.15, 2.05, 2.02, 1.88 (4 s, 12 H, 4 MeCO).

¹³C RMN (75.5 MHz, CDCl₃): δ 184.3 (CS), 170.4, 170.1, 169.5 (CO), 136.0, 128.7, 127.7, 127.5 (Ph), 80.7 (C-1), 69.4 (C-5), 68.4 (C-2), 68.3 (C-3), 65.8 (C-4), 61.9 (C-6), 49.4 (CH₂Ph), 20.6, 20.5, 20.3 (MeCO).

EM (FAB): m/z 519 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para C₂₂H₂₈N₂O₉S: C 53.21, H 5.68, N 5.64. Encontrado: C 53.18, H 5.55, N 5.53.

***N*-Bencil-*N'*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-manopiranosil)tiourea (32):**

Rend.: 170 mg (91%); $R_f = 0.31$ (AcOEt/éter de petróleo 1:1); $[\alpha]_D = -16.5^\circ$ (c 1.0, CH₂Cl₂).

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃, 313 K): δ 7.36-7.26 (m, 5 H, Ph), 6.53 (sa, 1 H, NH), 6.35 (d, 1 H, $J_{1,NH} = 8.1$ Hz, N'H), 5.86 (da, 1 H, $J_{1,2} = 1.0$ Hz, H-1), 5.42 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 3.1$ Hz, H-2), 5.18 (t, 1 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.9$ Hz, H-4), 5.13 (dd, 1 H, H-3), 4.23 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 12.3$ Hz, $J_{5,6a} = 5.7$ Hz, H-6a), 4.10 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 2.5$ Hz, H-6b), 3.78 (ddd, 1 H, H-5), 4.65 (sa, 2 H, CH₂Ph), 2.12, 2.02, 1.99, 1.96 (4 s, 12 H, 4 MeCO).

¹³C RMN (125.7 MHz, CDCl₃, 313 K): δ 182.9 (CS), 170.4, 170.3, 169.5 (CO), 136.0, 128.9, 127.9, 127.5 (Ph), 81.0 (C-1), 74.0 (C-5), 71.4 (C-3), 69.9 (C-2), 65.6 (C-4), 62.3 (C-6), 48.6 (CH₂Ph), 20.6, 20.4, 20.3, 20.2 (MeCO).

EM (FAB): m/z 519 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para $C_{22}H_{28}N_2O_9S$: C 53.21, H 5.68, N 5.64. Encontrado: C 53.25, H 5.58, N 5.64.

***N*-Bencil-*N'*-(α -D-manopiranosil)tiourea (33):**

$R_f = 0.75$ (BuOH/AcOH/H₂O 2:1:1); $[\alpha]_D = +37.0^\circ$ (*c* 0.9, MeOH).

¹H RMN (500 MHz, D₂O, 333 K): δ 7.85-7.75 (m, 5 H, Ph), 5.97 (m, 1 H, H-1), 5.25, 5.14 (2 d, 2 H, ² $J_{H,H} = 15.0$ Hz, CH₂Ph), 4.45 (m, 1 H, H-2), 4.17 (m, 2 H, H-6a, H-6b), 4.12 (t, 1 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.5$ Hz, H-4), 3.94 (m, 1 H, H-5), 4.24 (m, 1 H, H-3).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O, 313 K): δ 182.5 (CS), 138.1, 129.2, 127.9, 127.6 (Ph), 82.7 (C-1, $J_{C-1,H-1} = 165.6$ Hz), 74.2 (C-5), 71.0 (C-3), 70.0 (C-2), 67.4 (C-4), 61.2 (C-6), 48.5 (CH₂Ph).

EM (FAB): *m/z* 351 [M + Na]⁺, 329 [M + H]⁺.

Análisis calculado para $C_{14}H_{20}N_2O_5S$: C 51.20, H 6.14, N 8.53. Encontrado: C 51.00, H 6.05, N 8.34.

***N*-Bencil-*N'*-(β -D-manopiranosil)tiourea (34):**

$R_f = 0.80$ (BuOH/AcOH/H₂O 2:1:1); $[\alpha]_D = -8.0^\circ$ (*c* 1.0, MeOH).

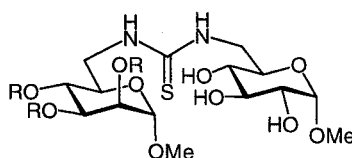
¹H RMN (500 MHz, D₂O, 313 K): δ 7.66-7.53 (m, 5 H, Ph), 5.77 (m, 1 H, H-1), 4.20 (m, 1 H, H-2), 4.11 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 12.2$ Hz, $J_{5,6a} = 1.9$ Hz, H-6a), 3.95 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 5.8$ Hz, H-6b), 3.92 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 9.7$ Hz, $J_{2,3} = 2.8$ Hz, H-3), 3.83 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.7$ Hz, H-4), 4.99 (m, 2 H, CH₂Ph), 3.68 (ddd, 1 H, H-5).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O, 313 K): δ 183.7 (CS), 139.0, 130.2, 129.0, 128.6 (Ph), 82.9 (C-1, $J_{C-1,H-1} = 155.2$ Hz), 78.8 (C-5), 74.9 (C-3), 71.7 (C-2), 68.0 (C-4), 62.4 (C-6), 49.2 (CH₂Ph).

EM (FAB): *m/z* 351 [M + Na]⁺, 329 [M + H]⁺.

Análisis calculado para $C_{14}H_{20}N_2O_5S$: C 51.20, H 6.14, N 8.53. Encontrado: C 51.03, H 6.21, N 8.30.

4.3.6. Preparación de pseudodisacáridos de tipo manosa—(6→6)—glucosa con puentes de tiourea (35, 36).



35 R = Ac

36 R = H

Metil 6-desoxi-6-[3-(metil 2,3,4-tri-*O*-acetil-6-desoxi- α -D-manopiranosid-6-il)tioureido]- α -D-glucopiranosido (35):

El compuesto **35** se obtuvo por reacción de acoplamiento entre el metil 6-amino-6-desoxi- α -D-glucopiranosido **132** y el metil 2,3,4-tri-*O*-acetil-6-desoxi-6-isotiocianato- α -D-manopiranosido **135** en piridina como se ha descrito para la preparación de **23** y **24**.

Rend.: 184 mg, (96%); $R_f = 0.45$ (AcOEt/EtOH/H₂O 45:5:3); $[\alpha]_D = +37.8^\circ$ (c 1.0, CH₂Cl₂).

¹H RMN (500 MHz, D₂O, 343 K): δ 5.74 (t, 1 H, $J_{3',4'} = J_{4',5'} = 9.8$ Hz, H-4'), 5.63 (m, 2 H, H-2', H-3'), 5.21 (sa, 1 H, H-1'), 5.15 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.8$ Hz, H-1), 4.48 (ddd, 1 H, $J_{5',6b'} = 5.9$ Hz, $J_{5',6a'} = 2.8$ Hz, H-5'), 4.23 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 13.3$ Hz, $J_{5,6a} = 3.2$ Hz, H-6a), 4.16 (dd, 1 H, $J_{6a',6b'} = 14.9$ Hz, $J_{5',6a'} = 2.8$ Hz, H-6a'), 4.08 (dd, 1 H, $J_{5',6b'} = 5.9$ Hz, H-6b'), 4.06

(dd, 1 H, $J_{5,6b} = 7.2$ Hz, H-6b), 4.05 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.8$ Hz, H-3), 3.82 (dd, 1 H, H-2), 3.80, 3.78 (2 s, 6 H, 2 OMe), 3.67 (t, 1 H, H-4), 2.58, 2.49, 2.39 (3 s, 9 H, 3 MeCO).

^{13}C RMN (125.7 MHz, D_2O , 343 K): δ 183.4 (CS), 174.6, 174.4 (CO), 99.9 (C-1), 98.7 (C-1'), 73.5 (C-3), 71.9 (C-2), 71.6 (C-4), 70.8 (C-5), 70.3, 70.1 (C-2', C-3'), 69.4 (C-5'), 67.9 (C-4'), 55.7, 55.6 (OMe), 45.5 (C-6), 45.1 (C-6'), 20.8, 20.6, 20.5 (MeCO).

EM (FAB): m/z 555 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_{13}\text{S}$: C 45.48, H 6.18, N 5.05. Encontrado: C 45.24, H 6.15, N 5.07.

Metil 6-desoxi-6-[3-(metil 6-desoxi- α -D-manopiranosid-6-il)tioureido]- α -D-glucopiranosido (36):

La desacetilación convencional de **35** (111 mg, 0.2 mmol) con NaOMe en metanol condujo a **36**.

Rend.: 85 mg (98%); $R_f = 0.85$ (BuOH-AcOH- H_2O 2:1:1); $[\alpha]_D = +51.0^\circ$ (c 1.0, H_2O).

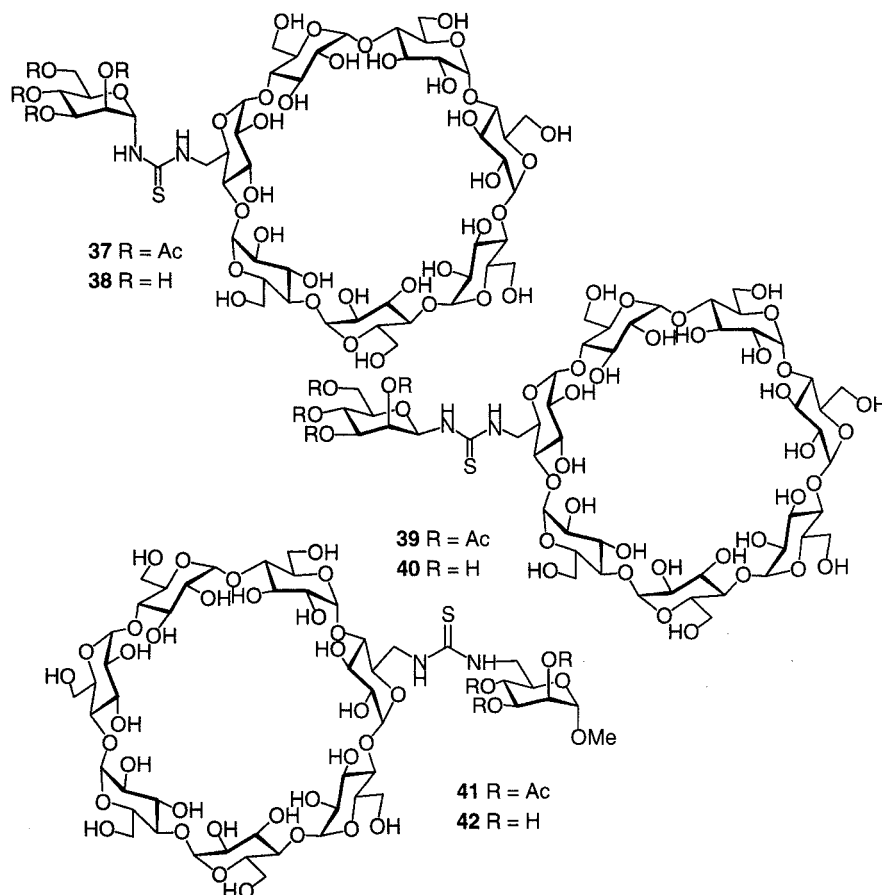
^1H RMN (500 MHz, D_2O , 343 K): δ 5.16 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.8$ Hz, H-1), 5.11 (d, 1 H, $J_{1',2'} = 3.8$ Hz, H-1'), 4.29 (dd, 1 H, $J_{2,3'} = 2.4$ Hz, H-2'), 4.25 (m, 1 H, H-6a'), 4.23 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 13.3$ Hz, $J_{5,6a} = 3.0$ Hz, H-6a), 4.10 (dd, 1 H, $J_{3',4'} = 9.6$ Hz, H-3'), 4.09 (ddd, 1 H, $J_{4,5} = 9.8$ Hz, $J_{5,6b} = 7.6$ Hz, H-5), 4.05 (dd, 1 H, H-6b), 4.04 (m, 2 H, H-5', H-6b'), 4.01 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.8$ Hz, H-3), 3.94 (t, 1 H, $J_{4',5'} = 9.6$ Hz, H-4'), 3.89 (dd, 1 H, H-2), 3.77, 3.75 (2 s, 6 H, 2 OMe), 3.66 (t, 1 H, H-4).

^{13}C RMN (125.7 MHz, D_2O , 343 K): δ 182.1 (CS), 101.5 (C-1'), 99.8 (C-1), 73.5 (C-3), 71.9 (C-2), 71.6 (C-4), 71.6 (C-5'), 71.0 (C-5), 70.7 (C-3'), 70.4 (C-2'), 67.7 (C-4'), 55.6, 55.3 (OMe), 45.7 (C-6), 45.5 (C-6')

EM (FAB): m/z 429 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_{10}\text{S}$: C 42.05, H 8.60, N 8.54. Encontrado: C 41.87, H 8.52, N 8.53.

4.3.7. Preparación de conjugados monovalentes de tipo manosa—(tiourea)— β -CD (37-42):



Una disolución de la β -CD monoamina **96** (160 mg, 0.14 mmol) y el correspondiente isotiocianato de manosa (**133-135**, 0.16 mmol, 1.1 equiv.) en agua/acetona (1:1, 2 mL) a pH 8 (NaHCO_3) se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna (MeCN/ H_2O 3:1) obteniéndose así los aductos parcialmente acetilados **37**, **39** y **41**. La desacetilación de éstos (26 μmol) en MeOH (4 mL) se realizó

cromatografía en columna (MeCN/H₂O 3:1) obteniéndose así los aductos parcialmente acetilados **37**, **39** y **41**. La desacetilación de éstos (26 µmol) en MeOH (4 mL) se realizó por tratamiento con metilato sódico (1 M, 52 µL) a 0 °C. Después de 5 min se observó la aparición de un precipitado blanco. La suspensión se agitó durante 10 min, se añadió agua (1 mL) y la disolución resultante se continuó agitando a 0 °C durante 10 min. La mezcla de reacción se neutralizó con resina de intercambio iónico Amberlite IR 120 (H⁺) y se desmineralizó con resina mixta Duolite MB 6113 (H⁺, OH⁻). Los conjugados desprotegidos se aislaron como sólidos por liofilización de disoluciones acuosas.

6^l-Desoxi-6^l-[3-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-manopiranosil)tioureido]ciclo-maltoheptaosa (37**):**

Rend.: 168 mg (78%); $R_f = 0.73$ (MeCN/H₂O/NH₄OH 6:3:1); $[\alpha]_D = +104.6^\circ$ (c 0.5, H₂O).

¹H RMN (500 MHz, D₂O, 343 K): δ 6.29 (sa, 1 H, H-1^l), 5.82 (dd, 1 H, $J_{3',4'} = 8.8$ Hz, $J_{2',3'} = 3.4$ Hz, H-3^l), 5.77 (t, 1 H, $J_{1',2'} = 3.4$ Hz, H-2^l), 5.65 (t, 1 H, $J_{4',5'} = 8.8$ Hz, H-4^l), 5.53 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.7$ Hz, H-1^{II}), 5.50-5.48 (m, 6 H, H-1^{I,III-VII}), 4.66 (dd, 1 H, $J_{5',6a'} = 5.6$ Hz, $J_{6a',6b'} = 12.3$ Hz, H-6a^l), 4.63 (dd, 1 H, $J_{5',6b'} = 2.8$ Hz, H-6b^l), 4.55 (ddd, 1 H, H-5^l), 4.54 (td, 1 H, $J_{5,6a} = 2.3$ Hz, H-5^l), 4.52 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 13.8$ Hz, H-6a^l), 4.42 (m, 1 H, H-5^{II}), 4.41-4.34 (m, 7 H, H-3^{I-VII}), 4.30-4.17 (m, 17 H, H-6a^{II-VII}, H-6b^{II-VII}, H-5^{III-VII}), 4.09 (dd, 1 H, H-2^l), 4.07-4.02 (m, 12 H, H-2^{II-VII}, H-4^{II-VII}), 3.90 (m, 1 H, H-6b^l), 3.84 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.2$ Hz, H-4^l), 2.65, 2.54, 2.53, 2.51 (4 s, 12 H, 4 MeCO).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O, 333 K): δ 184.2 (CS), 173.8, 173.1, 173.0, 172.9 (CO), 102.7 (C-1^{II}), 102.4-102.1 (C-1^{I,III-VII}), 84.0 (C-4^l), 81.6-81.2 (C-4^{II-VII}), 80.3 (C-1^l), 73.8-73.6 (C-3^{I-VII}), 72.9-72.5 (C-2^{I-VII}, C-5^{II-VII}), 70.3 (C-5^l), 70.2 (C-5^l), 69.9, 69.7 (C-2^l, C-3^l), 67.5 (C-4^l), 63.0 (C-6^l), 61.0-60.7 (C-6^{II-VII}), 46.6 (C-6^l), 20.7, 20.6, 20.5 (MeCO).

EM (FAB): m/z 1545 [M + Na]⁺.

6^I-Desoxi-6^I-[3-(α -D-manopiranosil)tioureido]ciclomaltoheptaosa (38):

Rend.: 35 mg (100%); $R_f = 0.22$ (MeCN/H₂O/NH₄OH 6:3:1); $[\alpha]_D = +107.1^\circ$ (*c* 0.7, H₂O).

¹H RMN (500 MHz, D₂O, 343 K): δ 6.03 (sa, 1 H, H-1'), 5.47 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.1$ Hz, H-1^{II}), 5.44-5.42 (m, 6 H, H-1^{III-VII}), 4.64 (m, 1 H, H-6a^I), 4.52 (td, 1 H, $J_{5,6b} = 9.8$ Hz, $J_{5,6a} = 2.3$ Hz, H-5^I), 4.42 (m, 1 H, H-5^{II}), 4.36 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 2.8$ Hz, $J_{1,2} = 2.0$ Hz, H-2'), 4.33-4.27 (m, 9 H, H-3^{I-VII}, H-6a^{II}, H-6b^{II}), 4.27-4.20 (m, 10 H, H-6a^{III-VII}, H-6b^{III-VII}), 4.20-4.16 (m, 8 H, H-5^{III-VII}, H-3', H-6a', H-6b'), 4.09 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.7$ Hz, H-4'), 4.03-4.00 (m, 8 H, H-2^{I-VII}, H-4^{II}), 3.97-3.92 (m, 6 H, H-4^{II-VII}, H-5'), 3.86 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 14.8$ Hz, H-6b^I), 3.78 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.8$ Hz, H-4^I).

1D TOCSY (500 MHz, D₂O, 343 K): δ 6.03 (sa, 1 H, H-1'), 5.47 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.1$ Hz, H-1^{II}), 5.42 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.6$ Hz, H-1^I), 4.64 (m, 1 H, H-6a^I), 4.52 (td, 1 H, $J_{5,6b} = 9.8$ Hz, $J_{5,6a} = 2.3$ Hz, H-5^I), 4.42 (m, 1 H, H-5^{II}), 4.36 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 2.8$ Hz, $J_{1,2} = 2.0$ Hz, H-2'), 4.33 (m, 2 H, H-6a^{II}, H-6b^{II}), 4.29 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.8$ Hz, H-3^I), 4.28 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 9.8$ Hz, $J_{3,4} = 6.6$ Hz, H-3^{II}), 4.18 (dd, 1 H, $J_{3',4'} = 9.7$ Hz, H-3'), 4.17 (m, 2 H, H-6a', H-6b'), 4.09 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.7$ Hz, H-4'), 4.02 (dd, 2 H, H-2^I, H-2^{II}), 4.00 (t, 1 H, $J_{4,5} = 6.6$ Hz, H-4^{II}), 3.93 (m, 1 H, H-5'), 3.86 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 14.8$ Hz, H-6b^I), 3.78 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.8$ Hz, H-4^I).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O, 333 K): δ 182.8 (CS), 102.5-101.9 (C-1^{I-VII}), 83.8 (C-4^I), 81.7-81.2 (C-1', C-4^{II-VII}), 78.2 (C-3'), 74.7 (C-5'), 73.8-73.5 (C-3^{I-VII}), 72.8-72.0 (C-2^{I-VII}, C-5^{II-VII}), 71.4 (C-4'), 70.2 (C-5^I), 67.7 (C-2'), 61.5 (C-6'), 61.0-60.6 (C-6^{II-VII}), 46.3 (C-6^I).

EM (FAB): m/z 1376 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para C₄₉H₈₂N₂O₃₉S: C 43.42, H 6.10, N 2.07. Encontrado: C 43.24, H 5.99, N 2.10.

6^I-Desoxi-6^I-[3-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-manopiranosil)tioureido]ciclomaltoheptaosa (39):

6^l-Desoxi-6^l-[3-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-manopiranosil)tioureido]ciclo-maltoheptaosa (39):

Rend.: 154 mg (72%); $R_f = 0.54$ (MeCN/H₂O/NH₄OH 6:3:1); $[\alpha]_D = +150.0^\circ$ (c 1.1, H₂O).

¹H RMN (500 MHz, D₂O, 343 K): δ 6.21 (sa, 1 H, H-1^l), 5.86 (d, 1 H, $J_{2,3^l} = 1.5$ Hz, H-2^l), 5.65 (dd, 1 H, $J_{3,4^l} = 10.2$ Hz, H-3^l), 5.46 (t, 1 H, $J_{4,5^l} = 10.2$ Hz, H-4^l), 5.43-5.38 (m, 7 H, H-1^{l-VII}), 4.79 (da, 1 H, $J_{6a,6b} = 13.6$ Hz, H-6a^l), 4.74 (dd, 1 H, $J_{6a',6b'} = 12.9$ Hz, $J_{5',6a'} = 6.7$ Hz, H-6a'), 4.34 (m, 2 H, H-5', H-6b'), 4.29 (ta, 1 H, $J_{4,5} = J_{5,6b} = 9.6$ Hz, H-5^l), 4.27-4.20 (m, 19 H, H-6a^{II-VII}, H-6b^{II-VII}, H-3^{l-VII}), 4.20-4.16 (m, 6 H, H-5^{II-VII}), 4.05-3.96 (m, 13 H, H-2^{l-VII}, H-4^{II-VII}), 3.71 (t, 1 H, H-4^l), 3.67 (dd, 1 H, H-6b^l), 2.61, 2.47, 2.44, 2.37 (4 s, 12 H, 4 MeCO).

1D TOCSY (500 MHz, D₂O, 343 K): δ 6.21 (sa, 1 H, H-1^l), 5.86 (d, 1 H, $J_{2,3^l} = 1.5$ Hz, H-2^l), 5.65 (dd, 1 H, $J_{3,4^l} = 10.2$ Hz, H-3^l), 5.46 (t, 1 H, $J_{4,5^l} = 10.2$ Hz, H-4^l), 5.43 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.2$ Hz, H-1^{II}), 5.41 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.2$ Hz, H-1^l), 4.79 (da, 1 H, $J_{6a,6b} = 13.6$ Hz, H-6a^l), 4.74 (dd, 1 H, $J_{6a',6b'} = 12.9$ Hz, $J_{5',6a'} = 6.7$ Hz, H-6a'), 4.34 (m, 2 H, H-5', H-6b'), 4.29 (ta, 1 H, $J_{4,5} = J_{5,6b} = 9.6$ Hz, H-5^l), 4.26 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.9$ Hz, H-3^{II}), 4.24 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.6$ Hz, H-3^l), 4.01 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.9$ Hz, H-4^{II}), 3.99 (dd, 1 H, H-2^l), 3.98 (dd, 1 H, H-2^{II}), 3.71 (t, 1 H, H-4^l), 3.67 (dd, 1 H, H-6b^l).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O, 343 K): δ 183.5 (CS), 173.7, 173.4, 173.0 (CO), 102.6-101.8 (C-1^{l-VII}), 83.9 (C-4^l), 82.6 (C-1^l), 81.8-81.2 (C-4^{II-VII}), 73.9 (C-5^l), 73.8-73.2 (C-3^{l-VII}), 73.0-72.2 (C-2^{l-VII}, C-5^{II-VII}), 72.3 (C-3^l), 70.6 (C-5^l, C-2^l), 67.1 (C-4^l), 63.0 (C-6^l), 61.0-60.5 (C-6^{II-VII}), 46.4 (C-6^l), 20.7, 20.5 (MeCO).

EM (FAB): m/z 1544 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para C₅₇H₉₀N₂O₄₃S: C 44.94, H 5.95, N 1.84. Encontrado: C 44.81, H 5.91, N 1.76.

^1H RMN (500 MHz, D_2O , 343 K): δ 5.88 (sa, 1 H, H-1'), 5.44 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1^{II}), 5.42-5.39 (m, 6 H, H-1^{I,III-VII}), 4.69 (m, 1 H, H-6a^I), 4.42 (ta, 1 H, $J_{5,6b} = J_{4,5} = 9.0$ Hz, H-5^I), 4.34 (dd, 1 H, $J_{2,3'} = 2.5$ Hz, H-2'), 4.31-4.20 (m, 20 H, H-3^{I-VII}, H-6a', H-6a^{II-VII}, H-6b^{II-VII}), 4.20-4.15 (m, 6 H, H-5^{II-VII}), 4.08 (dd, 1 H, $J_{5',6b'} = 5.4$ Hz, H-6b'), 4.06 (dd, 1 H, $J_{3',4'} = 8.5$ Hz, H-3'), 4.02-3.98 (m, 8 H, H-4', H-2^{I-VII}), 3.96-3.90 (m, 6 H, H-4^{II-VII}), 3.80 (ddd, 1 H, H-5'), 3.76 (t, 1 H, H-4^I), 3.62 (m, 1 H, H-6b^I).

1D TOCSY (500 MHz, D_2O , 343 K): δ 5.88 (sa, 1 H, H-1'), 5.42 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.2$ Hz, H-1^I), 4.69 (m, 1 H, H-6a^I), 4.42 (ta, 1 H, $J_{5,6b} = J_{4,5} = 9.0$ Hz, H-5^I), 4.34 (dd, 1 H, $J_{2,3'} = 2.5$ Hz, H-2'), 4.27 (t, 1 H, $J_{3,4} = J_{2,3} = 9.0$ Hz, H-3'), 4.23 (dd, 1 H, $J_{6a',6b'} = 11.9$ Hz, $J_{5',6a'} = 1.0$ Hz, H-6a'), 4.08 (dd, 1 H, $J_{5',6b'} = 5.4$ Hz, H-6b'), 4.06 (dd, 1 H, $J_{3',4'} = 8.5$ Hz, H-3'), 4.01 (dd, 1 H, H-2^I), 3.98 (t, 1 H, $J_{4',5'} = 8.5$ Hz, H-4'), 3.80 (ddd, 1 H, H-5'), 3.76 (t, 1 H, H-4^I), 3.62 (m, 1 H, H-6b^I).

^{13}C RMN (125.7 MHz, D_2O): δ 183.0 (CS), 102.2-101.6 (C-1^{I-VII}), 83.4 (C-4^I), 82.1 (C-1'), 81.1-80.3 (C-4^{II-VII}), 73.5 (C-5'), 73.5-72.9 (C-3^{I-VII}), 72.2-71.7 (C-2^{I-VII}, C-5^{II-VII}), 72.1 (C-3'), 70.7 (C-2'), 70.6 (C-5^I), 66.4 (C-4'), 61.0 (C-6'), 60.9-59.9 (C-6^{II-VII}), 45.8 (C-6^I).

EM (FAB): m/z 1377 [$\text{M} + \text{Na}$]⁺.

Análisis calculado para $\text{C}_{49}\text{H}_{82}\text{N}_2\text{O}_{39}\text{S}$: C 43.42, H 6.10, N 2.07. Encontrado: C 43.08, H 6.00, N 2.01.

6^I-Desoxi-6^I-[3-(metil 2,3,4-tri-*O*-acetil-6-desoxi- α -D-manopiranosid-6-il)tio-ureido]ciclomaltoheptaosa (41):

Rend.: 155 mg (74%); $R_f = 0.73$ (MeCN/ H_2O / NH_4OH 6:3:1); $[\alpha]_D = +121.4^\circ$ (c 1.4, H_2O).

^1H RMN (500 MHz, D_2O , 343 K): δ 5.61 (m, 2 H, H-3', H-2'), 5.45 (t, 1 H, $J_{3',4'} = J_{4',5'} = 9.5$ Hz, H-4'), 5.43 (d, 1 H, $J_{1,2} = 4.0$ Hz, H-1^{II}), 5.41-5.39 (m, 6 H, H-1^{I,III-VII}), 5.19 (sa, 1 H, H-1'), 4.62 (m, 1 H, H-6a^I), 4.45 (m, 1 H, H-5^{II}), 4.44 (ddd, 1 H, $J_{5',6b'} = 7.0$ Hz, $J_{5',6a'} = 2.0$ Hz, H-5'), 4.42 (ta, 1 H, $J_{4,5} = J_{5,6b} = 9.5$ Hz, H-5^I), 4.29-4.23 (m, 8 H, H-6a', H-3^{I-VII}),

4.21-4.19 (m, 12 H, H-6a^{II-VII}, H-6b^{II-VII}), 4.16-4.10 (m, 5 H, H-5^{III-VII}), 4.00-3.97 (m, 13 H, H-2^{I-VII}, H-4^{II-VII}), 3.86 (dd, 1 H, H-6b'), 3.77 (s, 3 H, OMe), 3.73 (t, 1 H, H-4^I), 3.71 (m, 1 H, H-6b^I), 2.54, 2.47, 2.37 (3 s, 12 H, 4 MeCO).

1D TOCSY (500 MHz, D₂O, 343 K): δ 5.61 (m, 2 H, H-3', H-2'), 5.45 (t, 1 H, $J_{3,4'} = J_{4,5'} = 9.5$ Hz, H-4'), 5.39 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1^I), 5.19 (sa, 1 H, H-1'), 4.62 (m, 1 H, H-6a^I), 4.45 (m, 1 H, H-5^{II}), 4.44 (ddd, 1 H, $J_{5,6b'} = 7.0$ Hz, $J_{5,6a'} = 2.0$ Hz, H-5'), 4.42 (ta, 1 H, $J_{4,5} = J_{5,6b} = 9.5$ Hz, H-5^I), 4.27 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.5$ Hz, H-3^I), 4.25 (dd, 1 H, $J_{6a',6b'} = 15.0$ Hz, $J_{5,6a'} = 2.5$ Hz, H-6a'), 3.98 (dd, 1 H, H-2^I), 3.86 (dd, 1 H, H-6b'), 3.73 (t, 1 H, H-4^I), 3.71 (m, 1 H, H-6b^I).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O, 343 K): δ 182.9 (CS), 173.3, 173.2, 173.1 (CO), 102.6 (C-1^{II}), 102.3-101.9 (C-1^{I,III-VII}), 98.7 (C-1'), 83.7 (C-4'), 81.8-81.1 (C-4^{II-VII}), 73.7-73.5 (C-3^{I-VII}), 72.8-72.3 (C-2^{I-VII}, C-5^{II-VII}), 70.4 (C-2'), 70.3 (C-5^I, C-3'), 69.4 (C-5'), 68.4 (C-4'), 60.9-60.5 (C-6^{II-VII}), 55.7 (OMe), 46.0 (C-6^I), 45.2 (C-6'), 20.8, 20.6, 20.5 (MeCO).

EM (FAB): m/z 1517 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para C₅₆H₉₀N₂O₄₂S: C 44.98, H 6.07, N 1.87. Encontrado: C 44.76, H 5.97, N 1.80.

6^I-Desoxi-6^I-[3-(metil-6-desoxi- α -D-manopiranosid-6-il)tioureido]ciclomalto

heptaosa (42):

Rend.: 30 mg (84%); $R_f = 0.24$ (BuOH/AcOH/H₂O 2:1:1); $[\alpha]_D = +98.0^\circ$ (c 1.0, H₂O).

¹H RMN (500 MHz, D₂O, 343 K): δ 5.45 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.7$ Hz, H-1^{II}), 5.43-5.41 (m, 6 H, H-1^{I,III-VII}), 5.08 (d, 1 H, $J_{1,2'} = 1.6$ Hz, H-1'), 4.61 (m, 1 H, H-6a^I), 4.42 (ta, 1 H, $J_{5,6b} = J_{4,5} = 9.5$ Hz, H-5'), 4.32 (dd, 1 H, $J_{6a',6b'} = 14.4$ Hz, $J_{5,6a'} = 2.5$ Hz, H-6a'), 4.30-4.26 (m, 8 H, H-2', H-3^{I-VII}), 4.22-4.20 (m, 12 H, H-6a^{II-VII}, H-6b^{II-VII}), 4.19-4.14 (m, 6 H, H-5^{II-VII}), 4.09 (dd, 1 H, $J_{3,4'} = 9.3$ Hz, H-3'), 4.06 (ddd, 1 H, H-5'), 4.00-3.97 (m, 13 H, H-2^{I-VII}, H-4^{II-VII}), 3.93 (t, 1 H, $J_{4,5'} = 9.3$ Hz, H-4'), 3.88 (dd, 1 H, $J_{5,6b'} = 7.2$ Hz, H-6b'), 3.78 (m, 1 H, H-6b^I), 3.75 (t, 1 H, H-4^I), 3.73 (s, 3 H, OMe).

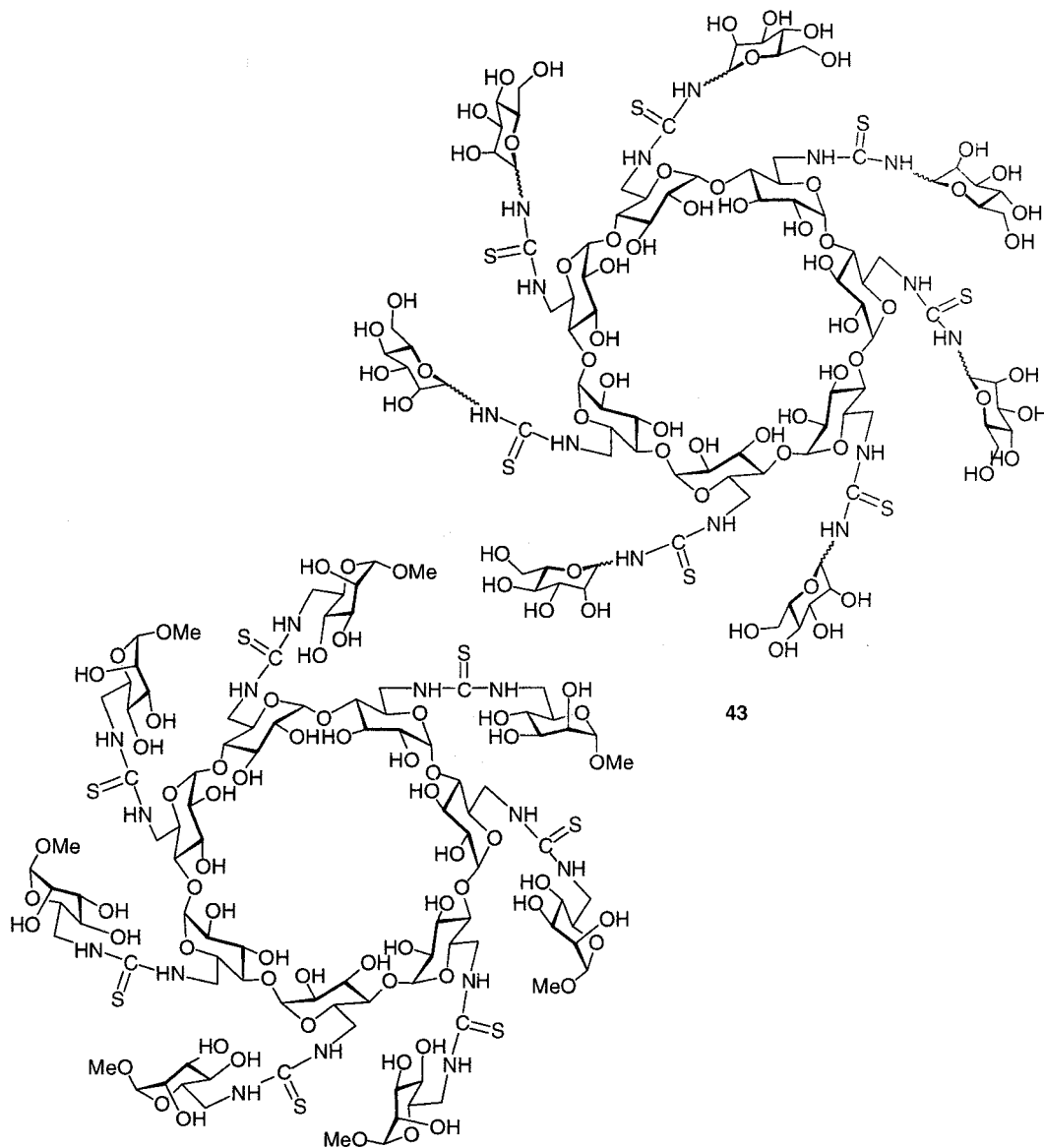
1D TOCSY (500 MHz, D₂O, 343 K): δ 5.41 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1^I), 5.08 (d, 1 H, $J_{1,2} = 1.6$ Hz, H-1'), 4.61 (m, 1 H, H-6a^I), 4.42 (ta, 1 H, $J_{5,6b} = J_{4,5} = 9.5$ Hz, H-5^I), 4.32 (dd, 1 H, $J_{6a',6b'} = 14.4$ Hz, $J_{5',6a'} = 2.5$ Hz, H-6a'), 4.27 (dd, 1 H, $J_{2,3'} = 3.2$ Hz, H-2'), 4.26 (t, 1 H, $J_{3,4} = J_{2,3} = 9.4$ Hz, H-3^I), 4.09 (dd, 1 H, $J_{3',4'} = 9.3$ Hz, H-3'), 4.06 (ddd, 1 H, H-5'), 4.00 (dd, 1 H, H-2^I), 3.93 (t, 1 H, $J_{4',5'} = 9.3$ Hz, H-4'), 3.88 (dd, 1 H, $J_{5',6b'} = 7.2$ Hz, H-6b'), 3.78 (m, 1 H, H-6b^I), 3.75 (t, 1 H, H-4^I).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O): δ 182.2 (CS), 102.5 (C-1^{II}), 102.3-101.6 (C-1^{I,III-VII}), 101.6 (C-1'), 83.7 (C-4^I), 81.7-81.3 (C-4^{II-VII}), 73.7-73.5 (C-3^{I-VII}), 72.8-72.3 (C-2^{I-VII}, C-5^{II-VII}), 71.1 (C-3'), 70.6 (C-5'), 70.5 (C-2'), 70.3 (C-5^I), 69.0 (C-4'), 61.2-60.8 (C-6^{II-VII}), 55.4 (OMe), 45.9 (C-6^I), 45.7 (C-6').

EM (FAB): m/z 1369 [M + H]⁺.

Análisis calculado para C₅₀H₈₄N₂O₃₉S: C 43.86, H 6.18, N 2.05. Encontrado: C 43.52, H 6.34, N 1.90.

4.3.8. Preparación de conjugados heptavalentes de tipo manosa—(tiourea)— β -CD (43, 44):



44

Una disolución del heptahidrocloruro de la amina **109** (32.5 mg, 29 μ mol) en agua (1 mL) se ajustó a pH 8 mediante la adición de una disolución acuosa saturada de NaHCO_3 . Se añadió una disolución del correspondiente isotiocianato de manosa (**133** ó **135**, 0.20 mmol) en acetona (1 mL) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 6 h. Se eliminó el disolvente a presión reducida y el residuo se purificó por columna cromatográfica (MeCN/ H_2O 5:1). La mezcla de reacción, que contenía aductos parcialmente desacetilados, fue desacetilada por tratamiento con $\text{NaMeO/MeOH/H}_2\text{O}$ a temperatura ambiente durante 16 h. Tras neutralización y desmineralización tal como se ha descrito para los derivados monovalentes, se obtuvieron los conjugados heptavalentes **43** y **44**.

Heptaquis[6-desoxi-6-[3-(D-manopiranosil)tioureido]]ciclomaltoheptaosa (43):

Rend.: 30 mg (40%). Se obtuvo como mezcla de derivados heptavalentes con una distribución estadística de sustituyentes α - y β -D-manopiranosiltioureidos en proporción relativa 1:1 (integración de $\text{H-1}'$).

^{13}C RMN (125.7 MHz, D_2O , 353 K): δ 183.6 (CS), 103.0-101.5 (C-1), 84.2-82.0 (C-1'), 83.5-83.0 (C-4), 74.6-74.0 (C-5'), 73.9-73.2 (C-3), 72.0-71.2 (C-2, C-5), 70.9-70.2 (C-2', C-3'), 67.5-67.1 (C-4'), 61.6-61.4 (C-6'), 46.5-45.0 (C-6).

EM (MALDI-TOF): m/z 2676 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 2698 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 2724 $[\text{M} + \text{K}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{91}\text{H}_{154}\text{N}_{14}\text{O}_{63}\text{S}_7$: C 40.83, H 5.80, N 7.33. Encontrado: C 40.50, H 5.62, N 7.12.

Heptaquis[6-desoxi-6-[3-(metil 6-desoxi- α -D-manopiranosid-6-il)tioureido]]-ciclomaltoheptaosa (44):

Rend.: 25 mg (50%); $R_f = 0.74$ (MeCN/ $\text{H}_2\text{O}/\text{NH}_4\text{OH}$ 5:3:5); $[\alpha]_D = +49.9^\circ$ (c 1.0, H_2O).

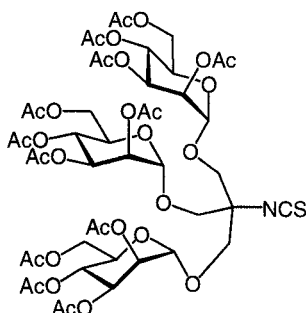
6a'), 4.27 (t, 7 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 10.0$ Hz, H-3), 4.26 (dd, 7 H, $J_{2,3} = 3.5$ Hz, H-2'), 4.09 (dd, 7 H, $J_{3,4'} = 10.5$ Hz, H-3'), 4.05 (m, 7 H, H-5'), 3.97 (dd, 7 H, H-2), 3.96 (m, 7 H, H-6b'), 3.93 (t, 7 H, $J_{4,5'} = 10.5$ Hz, H-4'), 3.80 (dd, 7 H, $J_{5,6b} = 3.5$ Hz, H-6b), 3.80 (t, 7 H, $J_{4,5} = 10.0$ Hz, H-4), 3.71 (s, 21 H, OMe).

^{13}C RMN (125.7 MHz, D_2O , 343 K): δ 182.7 (CS), 102.2 (C-1), 101.6 (C-1'), 83.2 (C-4), 73.3 (C-3), 72.6 (C-2), 71.6 (C-5'), 71.1 (C-3'), 70.9 (C-5), 70.5 (C-2'), 69.0 (C-4'), 55.4 (OMe), 46.1 (C-6), 45.5 (C-6').

EM (MALDI-TOF): m/z 2775 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 2797 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 2813 $[\text{M} + \text{K}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{98}\text{H}_{168}\text{N}_{14}\text{O}_{56}\text{S}_7$: C 42.42, H 6.10, N 7.67. Encontrado: C 42.24, H 6.03, N 7.54.

4.3.9. Tris(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-manopiranosiloximetil)metilisotiocianato (45):



45

A una disolución de **150** [73d] (165 mg, 0.15 mmol) en CH_2Cl_2 (5 mL) se añadió una suspensión de CaCO_3 (44.5 mg, 3 equiv., 0.44 mmol) en agua (5 mL) y tiofosgeno (17 μL , 1.5 equiv., 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 **45**.

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

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

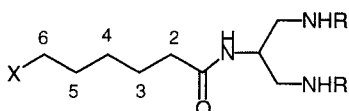
^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 5.28 (m, 6 H, H-3, H-4), 5.21 (dd, 3 H, $J_{2,3} = 3.0$ Hz, $J_{1,2} = 1.5$ Hz, H-2), 4.89 (d, 3 H, H-1), 4.34 (dd, 3 H, $J_{6a,6b} = 12.4$ Hz, $J_{5,6a} = 4.9$ Hz, H-6a), 4.12 (dd, 3 H, $J_{5,6b} = 2.3$ Hz, H-6b), 4.07 (ddd, 3 H, $J_{4,5} = 9.4$ Hz, H-5), 3.87, 3.66 (2 d, 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 $[M + Na]^+$.

Análisis calculado para $C_{47}H_{63}NO_{30}S$: C 48.91, H 5.50, N 1.21. Encontrado: C 48.93, H 5.64, N 1.21.

4.3.10. Preparación de espaciadores y elementos de ramificación (46-48):



- 46** X = N_3 , R = Boc
47 X = N_3 , R = H·TFA
48 X = NCS, R = Boc

6-Azido-*N*-bis(*tert*-butoxicarbonilaminometil)metilhexanamida (46):

A una disolución de la amina **149** [88] (0.83 g, 2.86 mmol) en una mezcla de DMF y colidina (10 mL, 1:1) a -25 °C se añadió cloruro de 6-azidohexanoilo **148** [87] (0.75 g, 1.5 equiv., 4.29 mmol) y se agitó durante 30 minutos. Se dejó alcanzar la temperatura ambiente y se continuó la agitación durante 3 h más. Los disolventes se evaporaron a presión reducida y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna (AcOEt/éter de petróleo 2:1) para dar **46**.

Rend.: 1.18 g (96%); $R_f = 0.35$ (AcOEt/éter de petróleo 1:1).

IR: ν_{\max} 3357, 2991, 2101 (N_3), 1696, 1546 cm^{-1} .

1H RMN (300 MHz, $CDCl_3$): δ 7.09 (d, 1 H, $^3J_{H,H} = 6.4$ Hz, NH amida), 5.56 (t, 2 H, $^3J_{H,H} = 5.8$ Hz, NH carbamato), 3.73 (m, 1 H, CH), 3.27, 3.14 (m, 4 H, 2 CH_2NH), 3.23 (t, 2 H, $^3J_{H,H} = 7.4$ Hz, CH_2-6), 2.14 (t, 2 H, $^3J_{H,H} = 7.4$ Hz, CH_2-2), 1.60 (m, 2 H, CH_2-3), 1.58 (m, 2 H, CH_2-5), 1.40 (s, 18 H, 2 CMe_3), 1.37 (m, 2 H, CH_2-4).

^{13}C RMN (125.7 MHz, $CDCl_3$): δ 173.3 (CO amida), 157.4 (CO carbamato), 79.6 (CMe_3), 52.4 (CH), 51.1 (CH_2-6), 40.9 (CH_2NH), 36.4 (CH_2-2), 28.4 (CH_2-5), 28.2 (CMe_3), 26.2 (CH_2-4), 24.9 (CH_2-3).

EM (FAB): m/z 451 $[M + Na]^+$.

Análisis calculado para $C_{19}H_{36}N_6O_5S$: C 53.25, H 8.47, N 19.61. Encontrado: C 53.20, H 8.83, N 19.49.

Ditrifluoroacetato de 6-azido-*N*-bis(aminometil)metilhexanamida (47):

El tratamiento del carbamato **46** (500 mg, 1.17 mmol) con una mezcla de TFA/H₂O (5 mL, 1:1) durante 1 h, seguido de evaporación del disolvente y liofilización del residuo rindió **47** como un sólido higroscópico que fue empleado directamente en la siguiente etapa de síntesis.

Rend.: 530 mg (100%).

¹H RMN (500 MHz, CD₃OD): δ 4.42 (tt, 1 H, ³*J*_{H,H} = 9.6 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.1 Hz, CH), 3.28 (t, 2 H, ³*J*_{H,H} = 7.4 Hz, CH₂-6), 3.21, 3.08 (2 dd, 4 H, ²*J*_{H,H} = 13.2 Hz, 2 CH₂NH), 2.30 (t, 2 H, ³*J*_{H,H} = 7.4 Hz, CH₂-2), 1.65 (q, 2 H, ³*J*_{H,H} = 7.4 Hz, CH₂-3), 1.61 (q, 2 H, ³*J*_{H,H} = 7.4 Hz, CH₂-5), 1.41 (q, 2 H, ³*J*_{H,H} = 7.4 Hz, CH₂-4).

¹³C RMN (125.7 MHz, CD₃OD): δ 177.6 (CO), 52.3 (CH₂-6), 47.6 (CH), 42.0 (CH₂NH), 36.7 (CH₂-2), 29.5 (CH₂-5), 27.4 (CH₂-4), 25.9 (CH₂-3).

EM (FAB): m/z 229 $[M + H - 2 TFA]^+$.

***N*-Bis(*tert*-butoxicarbonilaminometil)metil-6-isotiocianatohexanamida (48):**

A una disolución de la azida **46** (1 g, 2.3 mmol) en dioxano (15 mL) se le añadió sucesivamente TPP (0.67 g, 1.1 equiv., 2.5 mmol) y CS₂ (1.40 mL, 10 equiv., 23 mmol). La disolución se agitó durante 24 h, se evaporó el disolvente y el residuo se purificó por cromatografía en columna (AcOEt/éter de petróleo 1:1) para obtener el isotiocianato **48**.

Rend.: 0.80 g (79%); *R_f* = 0.46 (AcOEt/éter de petróleo 2:1).

IR: ν_{\max} 3364, 2943, 2117 (NCS), 1688, 1290, 1188 cm⁻¹.

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 7.06 (sa, 1 H, NH amida), 5.50 (sa, NH carbamato), 3.74 (sa, 1 H, CH), 3.49 (t, 2 H, ³*J*_{H,H} = 7.4 Hz, CH₂-6), 3.31, 3.13 (2 m, 4 H, 2 CH₂NH), 2.15 (t, ³*J*_{H,H} = 7.4 Hz, CH₂-2), 1.68 (q, 2 H, ³*J*_{H,H} = 7.4 Hz, CH₂-3), 1.62 (q, 2 H, ³*J*_{H,H} = 7.4 Hz,

CH₂-5), 1.46 (m, 2 H, CH₂-4), 1.43 (s, 18 H, 2 CMe₃).

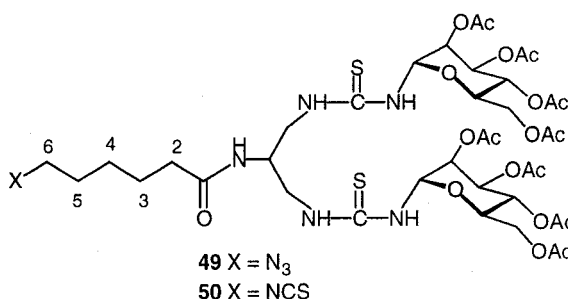
¹³C RMN (125.7 MHz, CDCl₃): δ 173.1 (CO amida), 157.4 (CO carbamato), 130.3 (NCS), 79.7 (CMe₃), 52.5 (CH), 44.8 (CH₂-6), 40.9 (CH₂NH), 36.2 (CH₂-2), 29.5 (CH₂-5), 28.3 (CMe₃), 26.0 (CH₂-4), 24.5 (CH₂-3).

EM (FAB): *m/z* 467 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para C₂₀H₃₆N₄O₅S: C 54.03, H 8.16, N, 12.60. Encontrado: C 54.12, H 7.94, N 12.57.

4.3.11. Preparación de estructuras dendríticas manosiladas (49-54).

Marcadores divalentes (49, 50).



6-Azido-*N*-bis[3-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-manopiranosil)tioureidometil]-metilhexanamida (49):

Una disolución de la diamina **47** (100 mg, 0.22 mmol) y el isotiocianato **133** (194 mg, 0.50 mmol) en piridina (4 mL) se agitó durante una noche a temperatura ambiente. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna (AcOEt/éter de petróleo 3:1) para dar **49**.

Rend.: 182 mg (82%); R_f = 0.30 (AcOEt/éter de petróleo 3:1); [α]_D = +40.9° (*c* 1.1, CH₂Cl₂).

^1H RMN (500 MHz, CD_3OD , 313 K): δ 5.93 (da, 2 H, $J_{1,2} = 2.6$ Hz, H-1), 5.40 (dd, 2 H, $J_{3,4} = 8.9$ Hz, $J_{2,3} = 2.6$ Hz, H-3), 5.34 (t, 2 H, H-2), 5.26 (t, 2 H, $J_{4,5} = 8.9$ Hz, H-4), 4.35 (dd, 2 H, $J_{6a,6b} = 12.2$ Hz, $J_{5,6a} = 5.0$ Hz, H-6a), 4.25 (m, 1 H, CH), 4.17 (dd, 2 H, $J_{5,6b} = 3.0$ Hz, H-6b), 4.02 (m, 2 H, H-5), 3.81 (m, 4 H, 2 CH_2NH), 3.34 (t, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.6$ Hz, CH_2 -6), 2.26 (t, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.6$ Hz, CH_2 -2), 1.69 (q, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.6$ Hz, CH_2 -3), 1.64 (q, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.6$ Hz, CH_2 -5), 1.45 (q, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.6$ Hz, CH_2 -4), 2.17, 2.09, 2.08, 2.03 (4 s, 24 H, 8 MeCO).

^{13}C RMN (75.5 MHz, CDCl_3 , 313 K): δ 184.4 (CS), 174.4 (CO amida), 170.7, 170.6, 170.0, 169.3 (CO éster), 80.1 (C-1), 70.0 (C-3), 68.6 (C-2, C-4), 66.3 (C-5), 62.1 (C-6), 52.1 (CH), 51.0 (CH_2 -6), 45.6 (CH_2NH), 36.1 (CH_2 -2), 28.3 (CH_2 -5), 26.0 (CH_2 -4), 24.6 (CH_2 -3), 20.6, 20.5, 20.4 (MeCO).

EM (FAB): m/z 1029 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{39}\text{H}_{58}\text{N}_8\text{O}_{19}\text{S}_2$: C 46.51, H, 5.80, N, 11.13. Encontrado: C 46.77, H, 5.89, N 10.88.

***N*-Bis[3-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-manopiranosil)tioureidometil]metil-6-isotiocianatohexanamida (50):**

El compuesto **50** se obtuvo a partir de **49** (197 mg, 0.19 mmol) siguiendo el procedimiento descrito para la preparación del isotiocianato **48**.

Rend.: 144 mg (72%); $R_f = 0.28$ (AcOEt/éter de petróleo 3:1); $[\alpha]_D = +39.1^\circ$ (c 1.0, CH_2Cl_2).

IR: ν_{max} 2967, 2864, 2189, 2117 (NCS), 1752, 1379, 1236, 1061 cm^{-1} .

^1H RMN (500 MHz, CD_3OD , 313 K): δ 5.93 (sa, 2 H, H-1), 5.39 (da, 2 H, $J_{3,4} = 9.1$ Hz, H-3), 5.34 (sa, 2 H, H-2), 5.27 (t, 2 H, $J_{4,5} = 9.1$ Hz, H-4), 4.36 (dd, 2 H, $J_{6a,6b} = 12.2$ Hz, $J_{5,6a} = 5.0$ Hz, H-6a), 4.26 (m, 1 H, CH), 4.17 (dd, 2 H, $J_{5,6b} = 2.9$ Hz, H-6b), 4.02 (m, 2 H, H-5), 3.87, 3.81 (2 m, 4 H, 2 CH_2NH), 3.60 (t, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 6.6$ Hz, CH_2 -6), 2.27 (t, $^3J_{\text{H,H}} =$

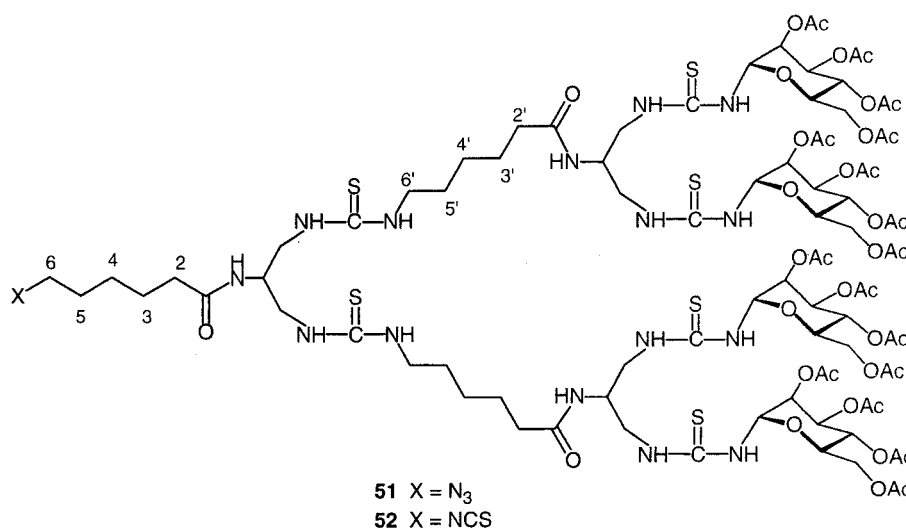
6.6 Hz, CH₂-2), 2.18, 2.09, 2.08, 2.04 (4 s, 24 H, 8 MeCO), 1.75 (q, 2 H, ³J_{H,H} = 6.6 Hz, CH₂-3), 1.69 (q, 2 H, ³J_{H,H} = 6.6 Hz, CH₂-5), 1.49 (q, 2 H, ³J_{H,H} = 6.6 Hz, CH₂-4).

¹³C RMN (75.5 MHz, CDCl₃): δ 184.2 (CS), 174.3 (CO amida), 170.7, 170.0, 169.3 (CO éster), 129.5 (NCS), 79.9 (C-1), 69.7 (C-3), 69.7, 69.5 (C-2, C-4), 66.8 (C-5), 62.1 (C-6), 52.0 (CH), 45.5 (CH₂NH), 44.6 (CH₂-6), 35.4 (CH₂-2), 29.3 (CH₂-5), 25.8 (CH₂-4), 24.4 (CH₂-3), 20.9, 20.7, 20.5 (MeCO).

EM (FAB): *m/z* 1044 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para C₄₀H₅₈N₆O₁₉S₃: C 46.96, H 5.71, N 8.21. Encontrado: C 46.66, H 5.66, N 8.09.

Marcadores tetraivalentes (51, 52).



Azida tetraivalente (51):

Una disolución del trifluoroacetato de la diamina **47** (49 mg, 0.17 mmol) en agua (3 mL) se ajustó a pH 8 añadiendo una disolución saturada de NaHCO₃. Se añadió una disolución del isotiocianato **50** (348 mg, 0.34 mmol) en acetona (3 mL) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 d. Se concentró el disolvente y el residuo se purificó por cromatografía en columna (CH₂Cl₂/MeOH 50:1) para dar **51**.

Rend.: 214 mg (55 %); $R_f = 0.47$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9:1); $[\alpha]_D = +32.8^\circ$ (c 1.0, CH_2Cl_2).

IR: ν_{max} 3452, 2936, 2872, 2109 (N_3), 1760, 1371, 1236, 1108 cm^{-1} .

^1H RMN (500 MHz, CDCl_3 , 323 K): δ 7.61 (m, 12 H, NHCS), 7.23 (m, 3 H, NHCO), 5.75 (sa, 4 H, H-1), 5.34 (m, 8 H, H-2, H-3), 5.24 (t, 4 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 10.0$ Hz, H-4), 4.29 (m, 4 H, H-6a), 4.26 (m, 3 H, CH), 4.15 (m, 4 H, H-6b), 4.02 (m, 4 H, H-5), 3.80 (m, 12 H, 6 CH_2NH), 3.42 (m, 4 H, 2 CH_2 -6'), 3.24 (t, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.0$ Hz, CH_2 -6), 2.22 (t, 6 H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.0$ Hz, CH_2 -2, CH_2 -2'), 2.13, 2.08, 2.05, 1.99 (4 s, 48 H, 16 MeCO). 1.62 (q, 6 H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.0$ Hz, CH_2 -3, CH_2 -3'), 1.59 (q, 6 H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.0$ Hz, CH_2 -5, CH_2 -5'), 1.38 (q, 6 H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.0$ Hz, CH_2 -4, CH_2 -4').

^{13}C RMN (125.7 MHz, CDCl_3 , 323 K): δ 184.5 (CS), 174.9 (CO amida), 170.7, 170.1, 169.4 (CO éster), 80.3 (C-1), 70.2 (C-3), 69.8 (C-2, C-4), 66.6 (C-5), 62.3 (C-6), 52.3 (CH), 51.2 (CH_2 -6), 45.5 (CH_2NH), 44.0 (CH_2 -6'), 36.2 (CH_2 -2, CH_2 -2'), 28.3, 28.1 (CH_2 -5, CH_2 -5'), 26.0, 25.7 (CH_2 -4, CH_2 -4'), 24.9, 24.5 (CH_2 -3, CH_2 -3'), 20.7, 20.6 (MeCO).

EM (FAB): m/z 2296 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{89}\text{H}_{136}\text{N}_{18}\text{O}_{39}\text{S}_6$: C 47.00, H 6.02, N 11.08. Encontrado: C 46.64, H 5.99, N 10.76.

Isotiocianato tetravalente (52):

El compuesto **52** se obtuvo a partir de **51** (187 mg, 82 μmol) siguiendo el procedimiento descrito para la preparación del isotiocianato **48**, seguido de purificación por cromatografía en columna ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 50:1).

Rend.: 169 mg (90%); $R_f = 0.58$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9:1); $[\alpha]_D = +27.0^\circ$ (c 1.0, CH_2Cl_2).

IR: ν_{max} 2936, 2864, 2117 (NCS), 1752, 1379, 1228, 1108 cm^{-1} .

^1H RMN (500 MHz, CDCl_3 , 323 K): δ 7.62 (m, 12 H, NHCS), 7.24 (m, 3 H, NHCO), 5.90 (sa, 4 H, H-1), 5.45 (m, 8 H, H-2, H-3), 5.23 (t, 4 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.5$ Hz, H-4), 4.27 (da, 4 H, $J_{6a,6b} = 14.5$ Hz, H-6a), 4.26 (m, 1 H, CH), 4.14 (m, 4 H, H-6b), 4.03 (m, 4 H, H-5), 3.83 (m, 12 H, 6 CH_2NH), 3.50 (t, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.0$ Hz, CH_2 -6), 3.40 (m, 4 H, 2 CH_2 -6'),

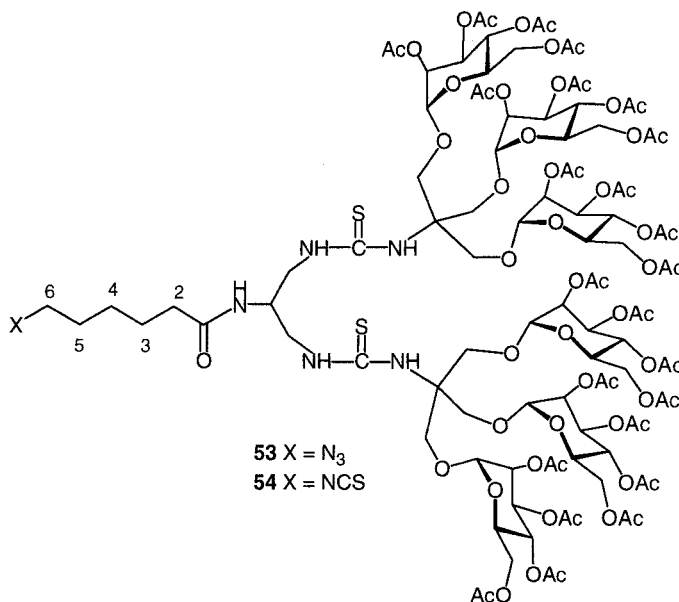
2.23 (t, 6 H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.0$ Hz, CH₂-2, CH₂-2'), 2.12, 2.05, 2.02, 2.00 (4 s, 48 H, 16 MeCO), 1.71 (q, 6 H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.0$ Hz, CH₂-3, CH₂-3'), 1.65 (q, 6 H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.0$ Hz, CH₂-5, CH₂-5'), 1.43 (q, 6 H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.0$ Hz, CH₂-4, CH₂-4').

¹³C RMN (125.7 MHz, CDCl₃, 323K): δ 184.7 (CS), 175.0 (CO amida), 170.1, 169.8, 169.5 (CO éster), 130.5 (NCS), 80.3 (C-1), 70.2 (C-3), 69.1, 68.9 (C-2, C-4), 66.6 (C-5), 62.3 (C-6), 52.4 (CH), 45.5 (CH₂NH), 44.9 (CH₂-6), 44.0 (CH₂-6'), 36.1 (CH₂-2, CH₂-2'), 28.3, 28.1 (CH₂-5, CH₂-5'), 26.2, 26.0 (CH₂-4, CH₂-4'), 25.1, 24.7 (CH₂-3, CH₂-3'), 20.7, 20.6, 20.4 (MeCO).

EM (FAB): m/z 2313 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para C₉₀H₁₃₆N₁₆O₃₉S₇: C 47.19, H 5.98, N 9.78. Encontrado: C 47.09, H 5.93, N 9.77.

Marcadores hexavalentes (53, 54).



Azida hexavalente (53):

Una disolución del trifluoroacetato de la diamina **47** (11 mg, 39 μmol) en agua (0.5 mL) se ajustó a pH 8 por adición de NaHCO_3 sólido. Se añadió una disolución del isotiocianato **45** (100 mg, 2.2 equiv., 87 μmol) en acetona (1 mL) y la mezcla de reacción se agitó durante 5 h. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 50:1) para dar **53**.

Rend.: 56.8 mg (56%); $R_f = 0.50$ (AcOEt/éter de petróleo 2:1); $[\alpha]_D = +44.0^\circ$ (c 1.0, CH_2Cl_2).

IR: ν_{max} 2936, 2856, 2109 (N_3), 1760, 1379, 1236, 1069 cm^{-1} .

^1H RMN (500 MHz, CDCl_3 , 313 K): δ 5.27 (m, 6 H, H-3), 5.21 (m, 6 H, H-2), 5.16 (m, 6 H, H-4), 4.96 (sa, 6 H, H-1), 4.32 (dd, 6 H, $J_{6a,6b} = 12.3$ Hz, $J_{5,6a} = 6.4$ Hz, H-6a), 4.20 (m, 1 H, CH), 4.13 (dd, 6 H, $J_{5,6b} = 2.6$ Hz, H-6b), 4.02 (m, 6 H, H-5), 3.95 (m, 4 H, 2 CH_2NH), 3.87, 3.65 (2 d, 12 H, $^2J_{\text{H,H}} = 10.9$ Hz, 6 OCH_2), 3.24 (t, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.0$ Hz, CH_2 -6), 2.18 (m, 2 H, CH_2 -2), 2.11, 2.08, 2.02, 1.96 (4 s, 72 H, 24 MeCO), 1.59 (m, 2 H, CH_2 -3), 1.56 (m, 2 H, CH_2 -5), 1.37 (m, 2 H, CH_2 -4).

^{13}C RMN (125.7 MHz, CDCl_3 , 313 K): δ 182.0 (CS), 170.6, 170.5, 169.7, 169.4 (CO), 98.3 (C-1), 69.8-68.9 (C-2, C-3, C-5), 67.4 (OCH_2), 65.9 (C-4), 65.8 (C_q), 62.1 (C-6), 53.2 (CH), 51.1 (CH_2 -6), 44.5 (CH_2NH), 36.0 (CH_2 -2), 28.4 (CH_2 -5), 26.2 (CH_2 -4), 24.6 (CH_2 -3), 20.7, 20.6, 20.5, 20.4 (MeCO).

EM (MALDI-TOF): m/z 2533 $[\text{M}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{103}\text{H}_{146}\text{N}_8\text{O}_{61}\text{S}_2$: C 48.77, H 5.80, N 4.42. Encontrado: C 48.46, H 5.59, N 4.20.

Isotiocianato hexavalente (54):

El compuesto **54** se obtuvo a partir de **53** (43.6 mg, 17.2 μmol) siguiendo el procedimiento descrito para la preparación del isotiocianato **48**, seguido de purificación por cromatografía en columna (AcOEt/éter de petróleo 2:1).

Rend.: 22 mg (50%); $R_f = 0.54$ (AcOEt/éter de petróleo 2:1); $[\alpha]_D = +52.2^\circ$ (c 1.0, CH_2Cl_2).

IR: ν_{max} 3341, 2959, 2133, 2109 (NCS), 1760, 1379, 1236, 1053 cm^{-1} .

^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): δ 5.30 (m, 6 H, H-3), 5.23 (m, 6 H, H-2), 5.18 (m, 6 H, H-4), 4.99 (sa, 6 H, H-1), 4.33 (m, 6 H, H-6a), 4.20 (m 1 H, CH), 4.12 (dd, 6 H, $J_{6a,6b} = 12.6$ Hz, $J_{5,6b} = 2.3$ Hz, H-6b), 4.05 (m, 6 H, H-5), 3.98 (m, 4 H, 2 CH_2NH), 3.88, 3.67 (2 d, 12 H, $^2J_{\text{H,H}} = 10.3$ Hz, 6 OCH_2), 3.53 (t, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 6.6$ Hz, CH_2 -6), 2.20 (m, 2 H, CH_2 -2), 2.13, 2.10, 2.04, 1.98 (4 s, 72 H, 24 MeCO), 1.71 (q, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 6.6$ Hz, CH_2 -3), 1.61 (m, 2 H, CH_2 -5), 1.43 (m, 2 H, CH_2 -4).

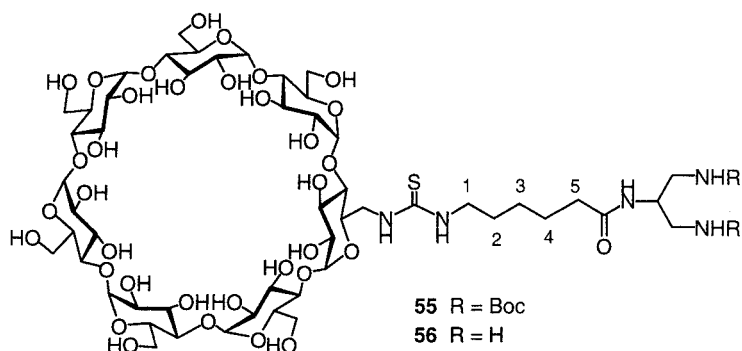
^{13}C RMN (75.5 MHz, CDCl_3): δ 182.0 (CS), 170.7, 170.6, 170.0, 169.8 (CO), 141.7 (NCS), 98.3 (C-1), 69.2-68.7 (C-2, C-3, C-5), 67.4 (OCH_2), 65.7 (C-4), 65.6 (C_q), 62.1 (C-6), 59.6 (CH), 44.8 (CH_2 -6), 44.0 (CH_2), 36.4 (CH_2 -2), 29.6 (CH_2 -5), 26.1 (CH_2 -4), 24.3 (CH_2 -3), 20.8, 20.7, 20.6 (MeCO).

EM (MALDI-TOF): m/z 2550 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{104}\text{H}_{146}\text{N}_6\text{O}_{61}\text{S}_3$: C 48.93, H 5.76, N 3.29. Encontrado: C 48.82, H 5.56, N 3.96.

4.3.12. Preparación de conjugados de tipo β -CD—espaciador—elemento de ramificación y modelos (55-58).

Derivados de β -CD (55, 56):



6^I-Desoxi-6^I-[3-[5-[*N*-bis(*terc*-butoxicarbonilaminometil)metilcarbamoil]-pentil]tioureido]ciclomaltoheptaosa (55):

Una disolución de la monoamina **96** (100 mg, 88 μ mol) y del isotiocianato **48** (59 mg, 1.5 equiv., 0.13 mmol) en piridina (2 mL) se agitó durante una noche a 60 °C. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se lavó con CH₂Cl₂ (5 mL) y se purificó por cromatografía en columna (MeCN/H₂O 3:1) para obtener **55**.

Rend.: 97 mg (70%); $R_f = 0.47$ (MeCN/H₂O/NH₄OH 6:3:1); $[\alpha]_D = +74.6^\circ$ (c 0.5, MeOH).

¹H RMN (500 MHz, D₂O, 333 K): δ 5.36-5.28 (m, 7 H, H-1^{I-VII}), 4.37 (m, 1 H, CH), 4.29 (ta, 1 H, $J_{4,5} = J_{5,6b} = 9.0$ Hz, H-5^I), 4.26 (m, 1 H, H-6a^I), 4.15-4.08 (m, 19 H, H-3^{I-VII}, H-6a^{II-VII}, H-6b^{II-VII}), 4.08-3.95 (m, 7 H, H-5^{II-VII}, H-2^I), 3.91-3.87 (m, 6 H, H-2^{II-VII}), 3.87-3.81 (m, 6 H, H-4^{II-VII}), 3.64 (t, 1 H, $J_{3,4} = 9.0$ Hz, H-4^I), 3.63 (m, 1 H, H-6b^I), 3.61 (sa, 2 H, CH₂-1), 3.44 (m, 4 H, 2 CH₂NH), 2.51 (t, 2 H, $^3J_{H,H} = 7.0$ Hz, CH₂-5), 1.89 (m, 2 H, CH₂-4), 1.88 (m, 4 H, CH₂-2), 1.71 (s, 18 H, 2 CMe₃), 1.61 (q, 2 H, $^3J_{H,H} = 7.0$ Hz, CH₂-3).

1D-TOCSY (500 MHz, D₂O, 333 K): δ 5.30 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1^I), 4.29 (ta, 1 H, $J_{4,5} = J_{5,6b} = 9.0$ Hz, H-5^I), 4.26 (m, 1 H, H-6a^I), 4.10 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.0$ Hz, H-3^I), 3.96 (da, 1 H, H-2^I), 3.64 (t, 1 H, $J_{3,4} = 9.0$ Hz, H-4^I), 3.63 (m, 1 H, H-6b^I).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O, 333 K): δ 182.0 (CS), 176.9 (CO amida), 157.9 (CO carbamato), 102.8-102.3 (C-1^{I-VII}), 84.3 (C-4^I), 81.8-81.4 (C-4^{II-VII}), 81.2 (CMe₃), 73.8-73.4 (C-3^{I-VII}), 72.7-72.3 (C-2^{I-VII}, C-5^{II-VII}), 70.4 (C-5^I), 60.7-60.3 (C-6^{II-VII}), 50.2 (CH₂-1), 45.8 (C-6^I), 44.3 (CH), 42.0 (CH₂NH), 36.0 (CH₂-5), 28.7 (CMe₃), 27.9 (CH₂-2), 25.4 (CH₂-3), 25.1 (CH₂-4).

EM (FAB): m/z 1600 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para C₆₂H₁₀₇N₅O₃₈S: C 47.17, H 6.83, N 4.44. Encontrado: C 46.86, H 7.43, N 4.43.

Ditrifluoroacetato de 6^I-desoxi-6^I-[3-[5-[N-bis(aminometil)metilcarbamoil]-pentil]tioureido]ciclomaltoheptaosa (56):

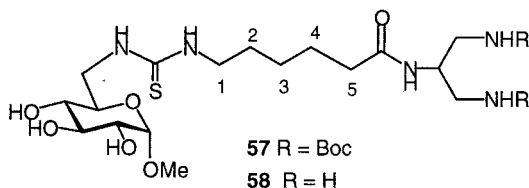
El compuesto **56** se obtuvo a partir del carbamato **55** (97 mg, 62 μ mol) siguiendo el procedimiento descrito para la preparación de **47**.

Rend.: 99 mg (100%); $R_f = 0.07$ (MeCN/H₂O/NH₄OH 6:3:1).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O): δ 180.6 (CS), 179.9 (CO), 104.8-104.2 (C-1^{I-VII}), 86.1 (C-4^I), 83.6-83.3 (C-4^{II-VII}), 75.9-75.7 (C-3^{I-VII}), 74.8-74.3 (C-2^{I-VII}, C-5^{II-VII}), 72.6 (C-5^I), 62.8-62.2 (C-6^{II-VII}), 48.5 (CH), 48.4 (CH₂-1), 47.4 (C-6^I), 43.2 (CH₂NH), 38.0 (CH₂-5), 31.6 (CH₂-2), 28.5 (CH₂-3), 26.8 (CH₂-4).

EM (FAB): m/z 1379 [M - 2 TFA]⁺.

Derivados de metil α -D-glucopiranosido (57, 58):



Metil 6-desoxi-6-[3-[5-[N-bis(*tert*-butoxicarbonilaminometil)metilcarbamoil]pentil]tioureido]- α -D-glucopiranosido (57):

Una disolución de la amina **132** (43 mg, 0.22 mmol) y del isotiocianato **48** (100 mg, 0.22 mmol) en piridina (5 mL) se agitó durante 4 h a temperatura ambiente. Se concentró y se purificó el residuo por cromatografía en columna (AcOEt \rightarrow AcOEt/EtOH/H₂O 45:5:3) para obtener **57**.

Rend.: 134 mg (95%); $R_f = 0.34$ (AcOEt/EtOH/H₂O 45:5:3); $[\alpha]_D = +25.3^\circ$ (c 1.0, MeOH).

^1H (500 MHz, CD_3OD , 318K): δ 4.64 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1), 3.89 (sa, 1 H, CH), 3.82 (sa, 1 H, H-6a), 3.70 (da, 1 H, $J_{6a,6b} = 11.5$ Hz, H-6b), 3.60 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.5$ Hz, H-3), 3.58 (ddd, 1 H, $J_{4,5} = 9.5$ Hz, $J_{5,6a} = 6.0$ Hz, $J_{5,6b} = 3.0$ Hz, H-5), 3.43 (sa, 2 H, CH_2 -1), 3.36 (dd, 1 H, H-2), 3.34 (s, 3 H, OMe), 3.16 (t, 1 H, H-4), 3.13, 3.06 (2 m, 4 H, 2 CH_2NH), 2.15 (t, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.5$ Hz, CH_2 -5), 1.59 (q, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.5$ Hz, CH_2 -4), 1.55 (q, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.5$ Hz, CH_2 -2), 1.38 (s, 18 H, 2 CMe_3), 1.35 (q, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.5$ Hz, CH_2 -3).

^{13}C RMN (125.7 MHz, CD_3OD , 318K): δ 182.7 (CS), 174.7 (CO amida), 157.3 (CO carbamato), 100.1 (C-1), 79.0 (CMe_3), 73.2 (C-3), 72.3 (C-2), 71.3 (C-4), 70.6 (C-5), 56.9 (OMe), 50.2 (CH), 44.7 (C-6), 43.8 (CH_2NH), 41.1 (CH_2 -1), 35.8 (CH_2 -5), 28.5 (CH_2 -2), 27.4 (CMe_3), 26.1 (CH_2 -3), 25.1 (CH_2 -4).

EM (FAB): m/z : 660 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{27}\text{H}_{51}\text{N}_5\text{O}_{10}\text{S}$: C 50.84, H 8.06, N, 10.98. Encontrado: C 50.73, H 8.36, N 10.88.

Metil 6-desoxi-6-[3-[5-[*N*-bis(aminometil)metilcarbamoil]pentil]tioureido]- α -D-glucopiranosido (58):

El compuesto **58** se obtuvo a partir de **57** (80 mg, 0.12 mmol) siguiendo el procedimiento descrito para la obtención de **47**.

Rend.: 55 mg (100%); $R_f = 0.12$ (BuOH/AcOH/ H_2O 2:1:1); $[\alpha]_{\text{D}} = +20.5^\circ$ (c 1.0, MeOH).

^1H RMN (500 MHz, D_2O , 323 K): δ 5.08 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.7$ Hz, H-1), 4.83 (tt, 1 H, $^3J_{\text{H,H}} = 9.8$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 3.7$ Hz, CH), 4.21 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 14.1$ Hz, $J_{5,6a} = 2.4$ Hz, H-6a), 4.09 (ddd, 1 H, $J_{4,5} = 9.8$ Hz, $J_{5,6b} = 6.7$ Hz, H-5), 4.02 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.8$ Hz, H-3), 3.97 (dd, 1 H, H-6b), 3.91 (dd, 1 H, H-2), 3.78 (t, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.8$ Hz, CH_2 -1), 3.74 (s, 3 H, OMe), 3.66 (t, 1 H, H-4), 3.68, 3.55 (2 dd, 4 H, $^2J_{\text{H,H}} = 13.2$ Hz, 2 CH_2NH), 2.71 (t, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.8$ Hz, CH_2 -5), 1.98 (q, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.8$ Hz, CH_2 -4), 1.95 (q, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.8$ Hz, CH_2 -2), 1.72 (q, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.8$ Hz, CH_2 -3).

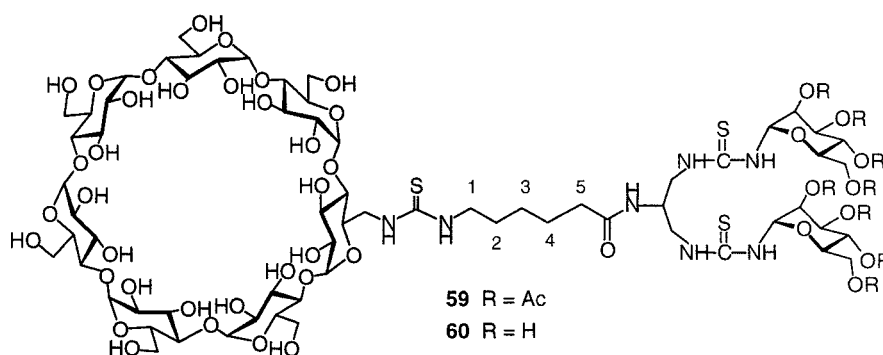
^{13}C RMN (125.7 MHz, D_2O): δ 182.9 (CS), 180.7 (CO), 101.6 (C-1), 75.4 (C-3), 73.8 (C-

2), 73.5 (C-4), 72.7 (C-5), 57.4 (OMe), 48.2 (CH₂-1), 47.1 (C-6), 46.3 (CH), 43.1 (CH₂NH), 37.9 (CH₂-5), 30.3 (CH₂-2), 28.2 (CH₂-3), 26.7 (CH₂-4).

EM (FAB): m/z 460 [M + Na - 2 TFA]⁺.

4.3.13. Preparación de conjugados manosilados divalentes (59-62):

Derivados de β -CD (59, 60):



6'-Desoxi-6'-[3-[5-[N-bis[3-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- α -D-manopiranosil)-tioureidometil]metilcarbamoil]pentil]tioureido]ciclomaltoheptaosa (59):

Una disolución de la monoamina **96** (50 mg, 44 μ mol) y **50** (45 mg, 44 μ mol) en piridina (2 mL) se agitó durante 12 h a 45 °C. El disolvente se concentró a presión reducida, el residuo se coevaporó con tolueno y se purificó por cromatografía en columna (MeCN/H₂O 4:1) para dar **59**.

Rend.: 43 mg (45%); R_f = 0.30 (MeCN/H₂O 4:1); $[\alpha]_D^{20}$ = +51.0° (c 1.0, H₂O).

¹H RMN (500 MHz, D₂O, 333 K): δ 6.10 (sa, 2 H, H-1'), 5.70 (dd, 2 H, $J_{3',4'} = 10.0$ Hz, $J_{2',3'} = 3.0$ Hz, H-3'), 5.63 (da, 2 H, H-2'), 5.49 (t, 2 H, $J_{4',5'} = 10.0$ Hz, H-4'), 5.40-5.25 (m, 7 H, H-1^{I-VII}), 4.66 (m, 2 H, H-6a'), 4.55 (m, 1 H, H-6a^I), 4.42 (m, 3 H, H-5', CH), 4.39 (m, 2 H, H-6b'), 4.31 (ta, 1 H, $J_{4,5} = J_{5,6b} = 4.5$ Hz, H-5^I), 4.21-4.15 (m, 7 H, H-3^{I-VII}), 4.15-

4.10 (m, 12 H, H-6a^{II-VII}, H-6b^{II-VII}), 4.10-3.97 (m, 6 H, H-5^{II-VII}), 3.93-3.89 (m, 7 H, H-2^{I-VII}), 3.89-3.81 (m, 6 H, H-4^{II-VII}), 3.71 (m, 1 H, H-6b^I), 3.64 (t, 1 H, H-4^I), 3.61 (m, 4 H, 2 CH₂NH), 3.59 (sa, 2 H, CH₂-1), 2.50 (t, 2 H, ³J_{H,H} = 6.5 Hz, CH₂-5), 2.47, 2.39, 2.38, 2.34 (4 s, 24 H, 8 MeCO), 1.85 (m, 4 H, CH₂-2, CH₂-4), 1.60 (q, 2 H, ³J_{H,H} = 6.5 Hz, CH₂-3).

1D TOCSY (500 MHz, D₂O, 333 K): δ 6.10 (sa, 2 H, H-1'), 5.70 (dd, 2 H, J_{3',4'} = 10.0 Hz, J_{2,3} = 3.0 Hz, H-3'), 5.63 (da, 2 H, H-2'), 5.49 (t, 2 H, J_{4',5'} = 10.0 Hz, H-4'), 5.30 (d, 1 H, J_{1,2} = 3.5 Hz, H-1^I), 4.66 (m, 2 H, H-6a'), 4.55 (m, 1 H, H-6a^I), 4.42 (m, 3 H, H-5', CH), 4.39 (m, 2 H, H-6b'), 4.31 (ta, 1 H, J_{4,5} = J_{5,6b} = 4.5 Hz, H-5^I), 4.17 (t, 1 H, J_{2,3} = J_{3,4} = 9.5 Hz, H-3^I), 3.90 (dd 1 H, H-2^I), 3.71 (m, 1 H, H-6b^I), 3.64 (t, 1 H, H-4^I).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O, 333 K): δ 183.8, 183.7 (CS), 177.1 (CO amida), 173.9, 173.1, 172.9 (CO éster), 102.7-101.8 (C-1^{II-VII}), 100.0 (C-1^I), 83.7 (C-4^I), 81.9-81.1 (C-4^{II-VII}), 80.0 (C-1'), 73.7-73.3 (C-3^{I-VII}), 72.7-72.2 (C-2^{I-VII}, C-5^{II-VII}), 70.1 (C-5^I), 70.2 (C-5'), 69.7 (C-3'), 69.5 (C-2'), 67.2 (C-4'), 63.1 (C-6'), 61.4-60.4 (C-6^{II-VII}), 48.9 (CH₂-1), 45.8 (C-6^I), 45.2 (CH₂), 36.3 (CH₂-5), 27.0 (CH₂-2), 26.1 (CH₂-3), 25.3 (CH₂-4), 20.6, 20.5, 20.4 (MeCO).

EM (FAB): *m/z* 2180 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para C₈₂H₁₂₉N₇O₅₃S₃: C 45.66, H, 6.03, N 4.55. Encontrado: C 45.37, H 5.92, N 4.41.

6^I-Desoxi-6^I-[3-[5-[N-bis[3-(α-D-manopiranosil)tioureidometil]metilcarbamoi]pentil]tioureido]ciclomaltoheptaosa (60):

El compuesto **60** se obtuvo a partir de **59** (30 mg, 14 μmol) siguiendo el procedimiento descrito para la preparación de **38**.

Rend.: 25 mg (100%); R_f = 0.12 (BuOH/AcOH/H₂O 2:1:1); [α]_D = +105.2° (c 1.0, H₂O).

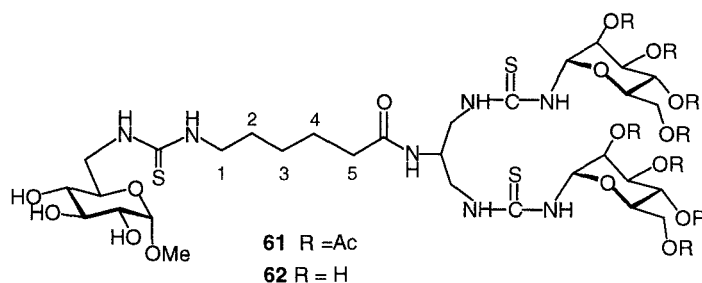
¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O, 333 K): δ 183.4, 183.3 (CS), 177.3 (CO), 102.3-101.8 (C-1^{II-VII}), 100.1 (C-1^I), 83.7 (C-4^I), 83.0 (C-1'), 81.7-81.2 (C-4^{II-VII}), 74.3 (C-5'), 73.9-73.3 (C-3^{I-VII}), 72.7-71.8 (C-2^{I-VII}, C-5^{II-VII}), 71.0 (C-4'), 70.0 (C-5^I), 67.4 (C-2'), 61.3 (C-6'), 60.8-

60.5 (C-6^{II-VII}), 50.0 (CH₂-1), 46.0 (C-6'), 45.7 (CH₂NH), 36.4 (CH₂-5), 28.3 (CH₂-2), 26.2 (CH₂-3), 25.4 (CH₂-4).

EM (MALDI-TOF): m/z 1821 [M + H]⁺.

Análisis calculado para C₆₆H₁₁₃N₇O₄₅S₃: C 43.53, H 6.25, N 5.38. Encontrado: C 43.53, H 6.04, N 5.20.

Derivados de metil α -D-glucopiranosido (61, 62):



Metil 6-desoxi-6-[3-[5-[N-bis[3-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-manopiranosil)]-tioureidometil]metilcarbamoil]pentil]tioureido]- α -D-glucopiranosido (61):

A partir de **58**: Una disolución del trifluoroacetato de la diamina **58** (48.5 mg, 73 μ mol) en agua (1 mL) se ajustó a pH 8 por adición de NaHCO₃ sólido. Se añadió una disolución del isotiocianato **133** (57 mg, 0.15 mmol) en acetona (1 mL) y la mezcla de reacción se agitó durante 5 h. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna (AcOEt \rightarrow AcOEt/EtOH/H₂O 45:5:3) para dar **61**. Rend.: 57.7 mg (64%).

A partir de **132**: A una disolución de la amina **132** (10 mg, 52 μ mol) en piridina (2 mL) se le añadió el isotiocianato **50** (53 mg, 59 μ mol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Se evaporó a vacío el disolvente y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna (AcOEt \rightarrow AcOEt/EtOH/H₂O 45:5:3) para dar **61**.

Rend.: 50 mg (80%); $R_f = 0.45$ (AcOEt/EtOH/H₂O 45:5:3); $[\alpha]_D = +50.7^\circ$ (c 1.0, MeOH).

¹H RMN (500 MHz, CD₃OD, 313K): δ 5.89 (sa, 2 H, H-1'), 5.33 (da, 2 H, $J_{3',4'} = 9.2$ Hz, H-3') 5.27 (sa, 2 H, H-2'), 5.19 (t, 2 H, $J_{4',5'} = 9.2$ Hz, H-4'), 4.64 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.8$ Hz, H-1), 4.28 (dd, 2 H, $J_{6a',6b'} = 12.2$ Hz, $J_{5',6a'} = 5.0$ Hz, H-6a'), 4.22 (m, 1 H, CH), 4.10 (dd, 2 H, $J_{5',6b'} = 3.3$ Hz, H-6b'), 3.96 (m, 2 H, H-5'), 3.86 (m, 1 H, H-6a), 3.76 (m, 4 H, 2 CH₂NH), 3.66 (da, 1 H, $J_{6a,6b} = 12.3$ Hz, H-6b), 3.60 (m, 1 H, H-5), 3.59 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.6$ Hz, H-3), 3.43 (sa, 2 H, CH₂-1), 3.39 (s, 3 H, OMe), 3.36 (dd, 1 H, H-2), 3.16 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.6$ Hz, H-4), 2.19 (t, 2 H, $^3J_{H,H} = 7.6$ Hz, CH₂-5), 2.14, 2.05, 2.04, 1.99 (4 s, 24 H, 8 MeCO), 1.62 (q, 2 H, $^3J_{H,H} = 7.6$ Hz, CH₂-4), 1.56 (q, 2 H, $^3J_{H,H} = 7.6$ Hz, CH₂-2), 1.36 (q, 2 H, $^3J_{H,H} = 7.6$ Hz, CH₂-3).

¹³C RMN (125.7 MHz, CD₃OD, 313K): δ 182.2 (CS), 175.2 (CO amida), 172.5, 171.5, 171.4 (CO éster), 101.1 (C-1), 80.0 (C-1'), 73.2 (C-3), 72.4 (C-2), 71.3 (C-4), 70.7 (C-5, C-3'), 70.0 (C-2', C-4'), 66.6 (C-5'), 62.1 (C-6'), 54.4 (OMe), 50.4 (CH), 45.3 (C-6), 44.7 (CH₂NH), 43.9 (CH₂-1), 35.8 (CH₂-5), 28.4 (CH₂-2), 26.0 (CH₂-3), 24.9 (CH₂-4), 20.7, 20.6, 20.5 (MeCO).

EM (FAB): m/z 1216 [M + H]⁺.

Análisis calculado para C₄₇H₇₃N₇O₂₄S: C 46.41, H 6.05, N 8.06. Encontrado: C 46.30, H 5.96, N 7.89.

Metil 6-desoxi-6-[3-[5-[N-bis[3-(α -D-manopiranosil)tioureidometil]metil-carbamoil]pentil]tioureido]- α -D-glucopiranosido (62):

El compuesto **62** se obtuvo a partir de **61** (54.5 mg, 45 μ mol) siguiendo el procedimiento descrito para la preparación de **38**.

Rend.: 38.2 mg (97%); $R_f = 0.44$ (BuOH/AcOH/H₂O 2:1:1); $[\alpha]_D = +65.9^\circ$ (c 1.0, H₂O).

¹H RMN (500 MHz, D₂O): δ 5.35 (sa, 2 H, H-1'), 4.71 (d, 1 H, $J_{1,2} = 4.0$ Hz, H-1), 4.27 (q, 1 H, $^3J_{H,H} = 8.5$ Hz, CH), 3.94 (da, 2 H, $J_{2,3} = 2.5$ Hz, H-2'), 3.89 (m, 1 H, H-6a), 3.75 (m, 2 H, H-6a'), 3.74 (dd, 2 H, $J_{3',4'} = 9.5$ Hz, H-3'), 3.67 (dd, 2 H, $J_{6a',6b'} = 12.5$ Hz, $J_{5',6b'} =$

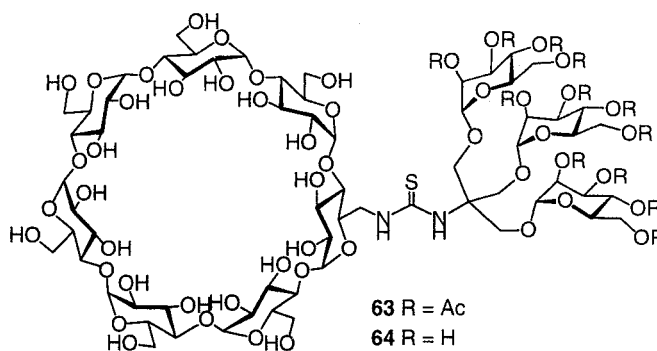
6.5 Hz, H-6b'), 3.67 (m, 4 H, 2 CH₂NH), 3.66 (m, 2 H, H-5, H-6b), 3.60 (t, 2 H, $J_{4,5'} = 9.5$ Hz, H-4'), 3.56 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 10.0$ Hz, H-3), 3.48 (dd, 1 H, H-2), 3.44 (ddd, 2 H, $J_{5',6a'} = 4.0$ Hz H-5'), 3.42 (sa, 2 H, CH₂-1), 3.29 (s, 3 H, OMe), 3.22 (t, 1 H, $J_{4,5} = 10.0$ Hz, H-4), 2.17 (t, 2 H, $^3J_{H,H} = 7.5$ Hz, CH₂-5), 1.53 (q, 2 H, $^3J_{H,H} = 7.6$ Hz, CH₂-4), 1.49 (q, 2 H, $^3J_{H,H} = 7.5$ Hz, CH₂-2), 1.25 (q, 2 H, $^3J_{H,H} = 7.5$ Hz, CH₂-3).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O): δ 182.7 (CS), 177.0 (CO), 99.2 (C-1), 82.4 (C-1'), 73.6 (C-5'), 72.9 (C-3), 71.3 (C-2), 71.1 (C-4), 70.5 (C-3'), 70.3 (C-5), 69.5 (C-2'), 66.4 (C-4'), 60.9 (C-6'), 55.0 (OMe), 49.6 (CH), 44.4 (C-6), 44.7 (CH₂NH), 44.0 (CH₂-1), 35.9 (CH₂-5), 28.1 (CH₂-2), 25.6 (CH₂-3), 25.0 (CH₂-4).

Análisis calculado para C₃₁H₅₇N₇O₁₆S₃: C 42.31, H 6.53, N 11.14. Encontrado: C 42.31, H 6.49, N 10.81.

4.3.14. Preparación de conjugados manosilados trivalentes (63-66):

Derivados de β-CD (63, 64):



6¹-Desoxi-6¹-[3-tris(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-α-*D*-manopiranosiloximetil)metil-tioureido]ciclomaltoheptaosa (63):

Una disolución de la monoamina **96** (50 mg, 44 μmol) y del isotiocianato **45**

(51mg, 44 μ mol) en piridina (5 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. El disolvente se evaporó a presión reducida, el residuo se coevaporó con tolueno y se purificó por cromatografía en columna (MeCN/H₂O 5:1) para dar **63**.

Rend.: 65 mg (65%); $R_f = 0.67$ (MeCN/H₂O/NH₄OH 6:3:1); $[\alpha]_D = +51.3^\circ$ (c 1.0, H₂O).

¹H RMN (500 MHz, D₂O, 333 K): δ 5.57 (m, 3 H, H-3'), 5.53 (m, 3 H, H-2'), 5.52 (t, 3 H, $J_{3,4'} = J_{4,5'} = 10.0$ Hz, H-4'), 5.35-5.30 (m, 6 H, H-1^{I,III-VII}), 5.29 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1^{II}), 5.28 (d, 3 H, $J_{1,2'} = 2.0$ Hz, H-1'), 4.87, 4.14 (2 d, 6 H, $^2J_{H,H} = 10.0$ Hz, 3 OCH₂), 4.60 (dd, 3 H, $J_{6a',6b'} = 12.2$ Hz, $J_{5',6a'} = 4.5$ Hz, H-6a'), 4.49 (m, 3 H, H-5'), 4.45 (dd, 3 H, $J_{5',6b'} = 2.0$ Hz, H-6b'), 4.29-4.19 (m, 8H, H-3^{II-VII}, H-5^{I,II}), 4.19-4.12 (m, 14 H, H-6a^{I-VII}, H-6b^{II-VII}, H-3^I), 4.09-4.02 (m, 5 H, H-5^{III-VII}), 3.93-3.88 (m, 12 H, H-2^{II-VII}, H-4^{II-VII}), 3.85 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 9.6$ Hz, $J_{1,2} = 2.9$ Hz, H-2^I), 3.60 (t, 1 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.6$ Hz, H-4^I), 3.50 (m, 1 H, H-6b^I), 2.47, 2.40, 2.37, 2.31 (4 s, 36 H, 12 MeCO).

1D TOCSY (500 MHz, D₂O, 333 K): δ 5.57 (m, 3 H, H-3'), 5.53 (m, 3 H, H-2'), 5.52 (t, 3 H, $J_{3,4'} = J_{4,5'} = 10.0$ Hz, H-4'), 5.33 (d, 1 H, $J_{1,2} = 2.9$ Hz, H-1^I), 5.28 (d, 3 H, $J_{1,2'} = 2.0$ Hz, H-1'), 4.60 (dd, 3 H, $J_{6a',6b'} = 12.2$ Hz, $J_{5',6a'} = 4.5$ Hz, H-6a'), 4.49 (m, 3 H, H-5'), 4.45 (dd, 3 H, $J_{5',6b'} = 2.0$ Hz, H-6b'), 4.28 (td, 1 H, $J_{4,5} = J_{5,6a} = 9.5$ Hz, $J_{5,6b} = 2.0$ Hz, H-5^I), 4.26 (m, 1 H, H-5^{II}), 4.20 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.6$ Hz, H-3^{II}), 4.15 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.6$ Hz, H-3^I), 3.89 (dd, 1 H, H-2^{II}), 3.85 (dd, 1 H, H-2^I), 3.60 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.6$ Hz, H-4^I), 3.50 (m, 1 H, H-6b^I).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O): δ 183.2 (CS), 174.6, 174.0, 173.9, 173.8 (CO), 103.6-102.8 (C-1^{II-VII}), 98.8 (C-1^I), 98.5 (C-1'), 85.2 (C-4^I), 82.5-81.0 (C-4^{III-VII}), 81.1 (C-4^{II}), 74.6 (C-3^I), 74.3-74.1 (C-3^{II-VII}), 73.6-72.9 (C-2^{I-VII}, C-5^{II-VII}), 70.9 (C-2'), 70.5 (C-3'), 70.3 (C-5^I), 69.8 (C-5'), 67.2 (C-4'), 68.8 (OCH₂), 61.2 (C_q), 63.6 (C-6'), 61.5-60.5 (C-6^{II-VII}), 46.3 (C-6^I) 21.4, 21.3 (MeCO).

EM (FAB): m/z 2311 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para C₈₉H₁₃₄N₂O₆₄S: C 46.72, H 5.90, N 1.22. Encontrado: C 46.61, H 5.72, N 1.18.

6^I-Desoxi-6^I-[3-tris(α -D-manopiranosiloximetil)metiltioureido]ciclomaltoheptaosa (64):

El compuesto **64** se obtuvo a partir de **63** (11 mg, 4.7 μ mol) siguiendo el procedimiento descrito para la preparación **38**.

Rend.: 8 mg (93 %); $R_f = 0.18$ (BuOH/AcOH/H₂O 2:1:1); $[\alpha]_D = +74.0^\circ$ (*c* 1.1, H₂O).

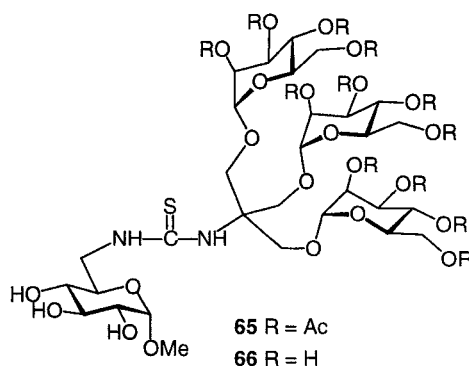
¹H RMN (500 MHz, D₂O, 333 K): δ 5.37-5.30 (m, 7 H, H-1^{I-VII}), 5.13 (sa, 3 H, H-1^I), 4.73 (ta, 3 H, $J_{4,5} = J_{5,6b} = 9.5$ Hz, H-5^I), 4.61 (m, 3 H, H-6a^I), 4.29, 4.10 (2 m, 6 H, 3 OCH₂), 4.27 (dd, 3 H, $J_{2,3'} = 3.5$ Hz, $J_{1,2'} = 2.0$ Hz, H-2^I), 4.22-4.17 (m, 7 H, H-3^{I-VII}), 4.14 (dd, 3 H, $J_{3,4'} = 9.5$ Hz, H-3^I), 4.16-4.08 (m, 15 H, H-6a^{II-VII}, H-6b^{II-VII}, H-6a^I), 4.07-4.01 (m, 9 H, H-5^{II-VII}, H-6b^I), 3.98-3.88 (m, 10 H, H-2^{I-VII}, H-4^I), 3.87-3.81 (m, 9 H, H-4^{II-VII}, H-5^I), 3.67 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.5$ Hz, H-4^I), 3.63 (m, 1 H, H-6b^I).

1D TOCSY (500 MHz, D₂O, 333 K): δ 5.33 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.0$ Hz, H-1^I), 5.13 (sa, 3 H, H-1^I), 4.73 (ta, 1 H, $J_{5,6b} = 9.5$ Hz, H-5^I), 4.61 (m, 1 H, H-6a^I), 4.27 (dd, 3 H, $J_{2,3'} = 3.5$ Hz, $J_{1,2'} = 2.0$ Hz, H-2^I), 4.20 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.5$ Hz, H-3^I), 4.14 (dd, 3 H, $J_{3,4'} = 9.5$ Hz, H-3^I), 4.11 (m, 3 H, H-6a^I), 4.02 (da, 3 H, $J_{6a',6b'} = 12.0$ Hz, H-6b^I), 3.94 (dd, 1 H, H-2^I), 3.93 (t, 3 H, $J_{4,5'} = 9.5$ Hz, H-4^I), 3.85 (ta, 3 H, $J_{5',6a'} = 9.5$ Hz, H-5^I), 3.67 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.5$ Hz, H-4^I), 3.63 (m, 1 H, H-6b^I).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O, 333 K): δ 182.2 (CS), 102.2-102.0 (C-1^{III-VII}), 102.7 (C-1^I), 102.1 (C-1^{II}), 100.8 (C-1^I), 84.4 (C-4^I), 81.5-81.4 (C-4^{III-VII}), 81.0 (C-4^{II}), 73.8 (C-3^I), 73.6-73.3 (C-3^{I-VII}), 72.6-72.1 (C-2^{I-VII}, C-5^{I-VII}), 71.2 (C-5^I), 70.4 (C-2^I), 67.3 (C-4^I), 67.8 (OCH₂), 62.1 (C_q), 61.4 (C-6^I), 60.8-60.6 (C-6^{II-VII}), 46.8 (C-6^I).

EM (MALDI-TOF): m/z 1785 [M + H]⁺.

Análisis calculado para C₆₅H₁₁₀N₂O₅₂S: C 43.77, H 6.21, N 1.57. Encontrado: C 43.86, H 6.43, N 1.51.

Derivados de metil α -D-glucopiranosido (65, 66):**Metil 6-desoxi-6-[3-tris(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-manopiranosiloximetil)-metiltioureido]- α -D-glucopiranosido (65):**

A una disolución de la amina **132** (17 mg, 87 μ mol) en piridina (5 mL) se añadió el isotiocianato **45** (100 mg, 87 μ mol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Se evaporó el disolvente y el residuo se purificó por cromatografía en columna (AcOEt/EtOH 20:1) para dar **65**.

Rend.: 85 mg (73%); $R_f = 0.72$ (AcOEt/EtOH/H₂O 45:5:3); $[\alpha]_D = +81.1^\circ$ (*c* 1.0, MeOH).

¹H RMN (300 MHz, CD₃OD): δ 5.23 (m, 9 H, H-2', H-3', H-4'), 4.92 (sa, 3 H, H-1'), 4.68 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.8$ Hz, H-1), 4.37, 4.04 (2 d, 6 H, $^2J_{H,H} = 10.0$ Hz, 3 OCH₂), 4.31 (dd, 3 H, $J_{6a,6b} = 12.3$ Hz, $J_{5',6a'} = 4.8$ Hz, H-6a'), 4.13 (dd, 3 H, $J_{5',6b'} = 2.1$ Hz, H-6b'), 4.10 (m, 3 H, H-5'), 3.63 (m, 1 H, H-6a), 3.59 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.3$ Hz, H-3), 3.58 (dd, 1 H, $J_{6a,6b} = 10.8$ Hz, $J_{5,6b} = 1.5$ Hz, H-6b), 3.51 (m, 1 H, H-5), 3.40 (s, 3 H, OMe), 3.38 (dd, 1 H, H-2), 3.15 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.3$ Hz, H-4), 2.13, 2.07, 2.03, 1.96 (4 s, 36 H, 12 MeCO).

¹³C RMN (75.5 MHz, CD₃OD): δ 184.1 (CS), 172.5, 171.6, 171.4 (CO), 101.3 (C-1), 99.4 (C-1'), 74.6 (C-3), 73.5 (C-2, C-4, C-5), 70.8, 70.5 (C-3', C-2'), 70.3 (C-5'), 67.4 (C-4'), 66.8 (OCH₂), 63.4 (C-6'), 62.2 (C_q), 55.8 (OMe), 20.8, 20.6, 20.4 (MeCO).

EM (FAB): m/z 1370 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para C₅₄H₇₈N₂O₃₅S: C 48.14, H 5.83, N 2.08. Encontrado C 47.94, H 5.69, N 1.91.

Metil 6-desoxi-6-[3-tris(α -D-manopiranosiloximetil)metiltioureido]- α -D-glucopiranosido (66):

El compuesto **66** se obtuvo a partir de **65** (84 mg, 62 μ mol) siguiendo el método convencional de desacetilación de Zemplén.

Rend.: 47 mg (91%); R_f = 0.37 (BuOH/AcOH/H₂O 2:1:1); [α]_D = +65.6° (c 1.0, H₂O).

¹H RMN (500 MHz, D₂O, 313K): δ 5.10 (sa, 3 H, H-1'), 5.07 (d, 1 H, J_{1,2} = 3.8 Hz, H-1), 4.29, 4.00 (2 m, 6 H, 3 OCH₂), 4.23 (sa, 3 H, H-2'), 4.15 (m, 1 H, H-6a), 4.11 (dd, 3 H, J_{6a',6b'} = 12.0 Hz, J_{5',6a'} = 1.7 Hz, H-6a'), 4.00 (m, 6 H, H-5', H-6b'), 3.93 (m, 1 H, H-6b), 3.90 (m, 1 H, H-5), 3.90 (t, 3 H, J_{3',4'} = J_{4',5'} = 9.4 Hz, H-4'), 3.89 (t, 1 H, J_{2,3} = J_{3,4} = 9.2 Hz, H-3), 3.82 (m, 3 H, H-3'), 3.75 (dd, 1 H, H-2), 3.65 (s, 3 H, OMe), 3.50 (t, 1 H, J_{4,5} = 9.2 Hz, H-4).

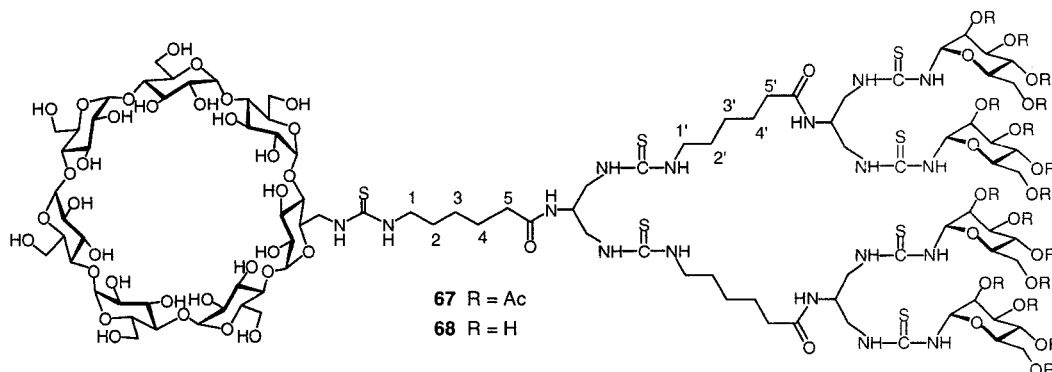
¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O, 313K): δ 183.7 (CS), 103.2 (C-1), 102.1 (C-1'), 76.0 (C-3'), 75.7 (C-3), 74.2 (C-2), 74.0 (C-4), 73.5 (C-5'), 72.7 (C-2'), 69.6 (C-4', OCH₂), 64.0 (C-5), 63.7 (C-6'), 57.9 (OMe), 51.8 (C_q), 48.5 (C-6).

EM (FAB): *m/z* 865 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para C₃₀H₅₄N₂O₂₃S: C 42.75, H 6.46, N 3.32. Encontrado: C 42.45, H 6.31, N 3.10.

4.3.15. Preparación de conjugados manosilados tetravalentes (67-70):

Derivados de β -CD (67, 68):



6¹-Desoxi-6¹-[3-[5-[N-bis[3-[5-[N-bis[3-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-manopiranosil)tioureidometil]metilcarbamoil]pentil]tioureidometil]metilcarbamoil]pentil]tioureido]ciclomaltoheptaosa (**67**):

A partir de 56: Una disolución de la diamina **56** (75 mg, 54 μ mol) en agua (1 mL) se ajustó a pH 8 por adición de NaHCO₃ sólido. Se añadió una disolución del isotiocianato **50** (111 mg, 108 μ mol) en acetona (1 mL) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 24 h. El disolvente se evaporó a presión reducida, el residuo se disolvió en agua, se filtró sobre celita, se liofilizó, se disolvió de nuevo en acetona y se volvió a filtrar sobre celita y liofilizar para dar **67**.

Rend.: 75.6 mg (41%).

A partir de 96: Alternativamente, una disolución de la monoamina **96** (9.6 mg, 8.4 μ mol) y el isotiocianato **52** (19.3 mg, 8.4 μ mol) en piridina (2 mL) se agitó durante 3 d a 50 °C. El disolvente se eliminó a vacío, el residuo se coevaporó con tolueno y se purificó por cromatografía de permeación sobre gel (G-25, H₂O) para dar **67**.

Rend.: 17 mg (60%); $R_f = 0.79$ (MeCN/H₂O/NH₄OH 6:3:1); $[\alpha]_D = +25.0^\circ$ (c 1.1, MeOH).

^1H RMN (500 MHz, CD_3OD): δ 5.90 (sa, 4 H, H-1'), 5.42 (m, 4 H, H-3'), 5.20 (sa, 4 H, H-2'), 5.19 (t, 4 H, $J_{3,4'} = J_{4,5'} = 9.5$ Hz, H-4'), 5.00-4.95 (m, 7 H, H-1^{I-VII}), 4.52 (m, 3 H, CH), 4.35 (m, 4 H, H-6a'), 4.30 (m, 8 H, H-5', H-6b'), 4.10-4.05 (m, 7 H, H-3^{I-VII}), 3.97-3.84 (m, 14 H, H-6a^{I-VII}, H-6b^{I-VII}), 3.83-3.72 (m, 7 H, H-5^{I-VII}), 3.60 (m, 6 H, CH_2 -1, CH_2 -1'), 3.58-3.48 (m, 14 H, H-2^{I-VII}, H-4^{I-VII}), 3.30 (m, 12 H, 6 CH_2NH), 2.15 (m, 6 H, CH_2 -5, CH_2 -5'), 2.20, 2.10, 2.06, 2.04 (4 s, 48 H, 16 MeCO), 1.61 (m, 12 H, CH_2 -2, CH_2 -2', CH_2 -4, CH_2 -4'), 1.40 (m, 6 H, CH_2 -3, CH_2 -3').

1D TOCSY (500 MHz, D_2O , 333 K): δ 5.90 (sa, 4 H, H-1'), 5.42 (m, 4 H, H-3'), 5.20 (sa, 4 H, H-2'), 5.19 (t, 4 H, $J_{3,4'} = J_{4,5'} = 9.5$ Hz, H-4'), 4.35 (m, 4 H, H-6a'), 4.30 (m, 8 H, H-5', H-6b').

^{13}C RMN (125.7 MHz, CD_3OD): δ 184.4 (CS), 175.2 (CO amida), 171.2, 170.2, 170.1 (CO éster), 102.4-102.1 (C-1^{II-VII}), 100.3 (C-1^I), 85.2 (C-4^I), 81.7-81.4 (C-4^{II-VII}), 79.9 (C-1'), 73.6-73.3 (C-3^{I-VII}), 72.9-72.2 (C-2^{I-VII}, C-5^{II-VII}), 70.0 (C-5^I), 69.8 (C-5'), 69.1 (C-2', C-3'), 66.4 (C-4'), 62.1 (C-6'), 60.5-60.2 (C-6^{II-VII}), 50.1 (CH_2 -1, CH_2 -1'), 45.2 (C-6^I, CH_2NH), 35.8 (CH_2 -5, CH_2 -5'), 26.9, 26.1 (CH_2 -2, CH_2 -2'), 25.1, 25.0 (CH_2 -3, CH_2 -3'), 24.9, 24.5 (CH_2 -4, CH_2 -4'), 19.5, 19.3, 19.2 (MeCO).

Análisis calculado para $\text{C}_{132}\text{H}_{207}\text{N}_{17}\text{O}_{73}\text{S}$: C 46.29, H 6.09, N 6.95, S 6.55. Encontrado C 46.00, H 6.48, N 6.96, S 6.56.

6^I-Desoxi-6^I-[3-[5-[N-bis[3-[5-[N-bis[3-(α -D-manopiranosil)tioureido-metil]metilcarbamoil]pentil]tioureidometil]metilcarbamoil]pentil]tioureido]ciclo-maltoheptaosa (68):

El compuesto **68** se obtuvo a partir de **67** siguiendo el procedimiento descrito para la preparación de **38**.

Rend.: (88%); $R_f = 0.63$ (BuOH/AcOH/ H_2O 2:1:1); $[\alpha]_D = +54.6^\circ$ (c 1.4, H_2O).

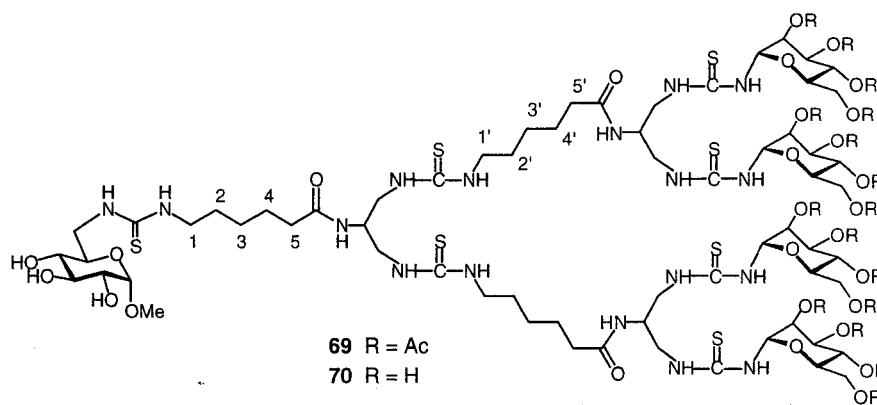
^{13}C RMN (125.7 MHz, D_2O): δ 182.6 (CS), 177.0, 176.8 (CO amida), 102.0-101.7 (C-1^{I-VII}), 85.0 (C-4^I), 82.4 (C-1'), 81.5-81.0 (C-4^{II-VII}), 73.6 (C-5'), 73.6-73.2 (C-3^{I-VII}), 72.1-

71.8 (C-2^{I-VII}, C-5^{II-VII}), 70.7 (C-3'), 69.5 (C-2', C-5^I), 66.4 (C-4'), 60.9-60.1 (C-6^{II-VII}), 60.8 (C-6'), 49.5 (CH, CH₂-1, CH₂-1'), 45.6 (C-6'), 45.4 (CH₂NH), 35.9 (CH₂-5, CH₂-5'), 27.7 (CH₂-2, CH₂-2'), 25.4 (CH₂-3, CH₂-3'), 24.9 (CH₂-4, CH₂-4').

EM(MALDI-TOF): m/z 2755 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para C₁₀₀H₁₇₅N₁₇O₅₇S₇: C 43.64, H 6.41, N 8.65. Encontrado: C 43.41, H 6.39, N 8.50.

Derivados de metil α -D-glucopiranosido (69, 70):



Metil 6-desoxi-6-[3-[5-[N-bis[3-[5-[N-bis[3-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-manopiranosil)tioureidometil]metilcarbamoil]pentil]tioureidometil]metilcarbamoil]pentil]tiureido]- α -D-glucopiranosido (69):

Una disolución del trifluoroacetato de la diamina **58** (31 mg, 47 μ mol) en agua (1 mL) se ajustó a pH 8 por adición de NaHCO₃ sólido. Se añadió una disolución del isotiocianato **50** (102 mg, 100 μ mol) en acetona (2 mL) y la mezcla de reacción se agitó durante 3 d. El disolvente se eliminó a vacío y el residuo se purificó por cromatografía en columna (AcOEt \rightarrow AcOEt/EtOH/H₂O 45:5:3) para obtener **69**.

Rend.: 70 mg (60%); R_f = 0.37 (AcOEt/EtOH/H₂O 45:5:3); $[\alpha]_D^{20}$ = +26.8° (c 1.0, MeOH).

¹H RMN (500 MHz, CD₃OD, 313K): δ 5.88 (sa, 4 H, H-1'), 5.35 (m, 4 H, H-3'), 5.30 (da, 4 H, $J_{2,3'} = 2.5$ Hz, H-2'), 5.21 (t, 4 H, $J_{3,4'} = J_{4,5'} = 9.5$ Hz, H-4'), 4.67 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.5$

Hz, H-1), 4.30 (dd, 4 H, $J_{6a',6b'} = 12.0$ Hz, $J_{5',6a'} = 2.5$ Hz, H-6a'), 4.24 (m, 3 H, CH), 4.11 (dd, 4 H, $J_{5',6b'} = 2.5$ Hz, H-6b'), 3.98 (m, 4 H, H-5'), 3.87 (m, 1 H, H-6a), 3.72 (m, 12 H, 6 CH_2NH), 3.71 (da, 1 H, $J_{6a,6b} = 12.0$ Hz, H-6b), 3.63 (m, 1 H, H-5), 3.61 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.0$ Hz, H-3), 3.48 (m, 6 H, CH_2-1 , CH_2-1'), 3.40 (dd, 1 H, H-2), 3.38 (s, 3 H, OMe), 3.20 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.0$ Hz, H-4), 2.22 (t, 6 H, $^3J_{H,H} = 7.0$ Hz, CH_2-5 , CH_2-5'), 2.13, 2.04, 2.03, 1.99 (4 s, 48 H, 16 MeCO), 1.64 (q, 6 H, $^3J_{H,H} = 7.0$ Hz, CH_2-4 , CH_2-4'), 1.59 (q, 6 H, $^3J_{H,H} = 7.0$ Hz, CH_2-2 , CH_2-2'), 1.37 (q, 6 H, $^3J_{H,H} = 7.0$ Hz, CH_2-3 , CH_2-3').

^{13}C RMN (125.7 MHz, CD_3OD , 313K): δ 184.3 (CS), 175.3 (CO amida), 171.2, 170.2, 170.1, (CO éster), 100.0 (C-1), 80.0 (C-1'), 73.2 (C-3), 72.3 (C-2), 71.2 (C-4), 70.7 (C-5), 69.9 (C-3'), 69.2 (C-2', C-4'), 66.6 (C-5'), 62.1 (C-6'), 54.5 (OMe), 50.8, 50.3 (CH), 45.5 (C-6), 44.9 (CH_2), 43.9 (CH_2-1 , CH_2-1'), 35.9, 35.8 (CH_2-5 , CH_2-5'), 28.5, 28.4 (CH_2-2 , CH_2-2'), 26.1 (CH_2-3 , CH_2-3'), 25.1, 25.0 (CH_2-4 , CH_2-4'), 19.5, 19.4, 19.3 (MeCO).

Análisis calculado para $C_{97}H_{151}N_{17}O_{44}S_7$: C 46.90, H 6.13, N 9.59. Encontrado C 46.84, H, 6.32, N 9.61.

Metil 6-desoxi-6-[3-[5-[N-bis[3-[5-[N-bis[3-(α -D-manopiranosil)-tioureido-metil]metilcarbamoil]pentil]tioureidometil]metilcarbamoil]pentil]tioureido]- α -D-glucopiranosido (70):

El compuesto **70** se obtuvo a partir de **69** siguiendo el procedimiento descrito para la preparación de **38**.

Rend.: (99%); $R_f = 0.17$ (BuOH/AcOH/ H_2O 2:1:1); $[\alpha]_D = +7.6^\circ$ (c 1.2, H_2O).

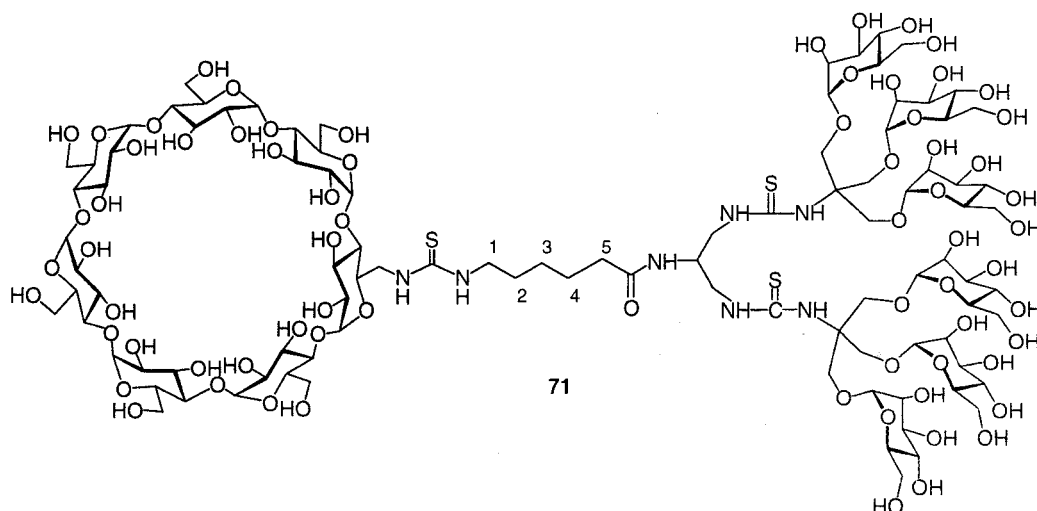
1H RMN (500 MHz, D_2O , 313K): δ 5.67 (sa, 4 H, H-1'), 4.99 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1), 4.56, 4.51 (2 q, 3 H, $^3J_{H,H} = 6.9$ Hz, CH), 4.23 (sa, 4 H, H-2'), 4.19 (m, 1 H, H-6a), 4.05 (m, 4 H, H-6a'), 4.03 (dd, 4 H, $J_{3,4} = 9.4$ Hz, $J_{2,3'} = 6.5$ Hz, H-3'), 3.96 (dd, 4 H, $J_{6a',6b'} = 12.4$ Hz, $J_{5',6b'} = 5.5$ Hz, H-6b'), 3.90, 3.67 (m, 12 H, 6 CH_2NH), 4.09 (m, 1 H, H-6b), 3.89 (m, 1 H, H-5), 3.83 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.5$ Hz, H-3), 3.73 (dd, 1 H, H-2), 3.91 (t, 2 H, $J_{4,5} = 9.4$ Hz, H-4'), 3.58 (s, 3 H, OMe), 3.49 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.5$ Hz, H-4), 3.73 (m, 4 H,

H-5'), 3.60 (m, 6 H, CH₂-1, CH₂-1'), 2.46 (t, 6 H, ³J_{H,H} = 7.2 Hz, CH₂-5, CH₂-5'), 1.80 (m, 12 H, CH₂-2, CH₂-2', CH₂-4, CH₂-4'), 1.54 (q, 6 H, ³J_{H,H} = 7.2 Hz, CH₂-3, CH₂-3').

Análisis calculado para C₆₅H₁₁₉N₁₇O₂₈S₇: C 43.10, H 6.62, N 13.15. Encontrado C 43.38, H 6.61, N 13.27.

4.3.16. Preparación de conjugados manosilados hexavalentes (71, 72):

6¹-Desoxi-6-[3-[5-[N-bis[3-[tris(α-D-manopiranosiloxymetil)metil]tioureido-metil]metilcarbamoil]pentil]tioureido]ciclomaltoheptaosa (71):



Una disolución de la diamina **56** (9 mg, 6.5 μmol) en agua (0.5 mL) se ajustó a pH 8 por adición de NaHCO₃ sólido. Se añadió una disolución del isotiocianato **45** (15 mg, 13 μmol) en acetona (1 mL) y se agitó durante 3 d. El disolvente se evaporó a vacío, el residuo se lavó con CH₂Cl₂ (5 mL) y el aducto acetilado se extrajo con MeOH (5 mL). La desacetilación de éste siguiendo el procedimiento descrito para la preparación de **38** permitió obtener **71**.

Rend.: 7.1 mg (41% a partir de **56**); R_f = 0.30 (MeCN/H₂O/NH₄OH 5:3:5); [α]_D = +32.0° (c 1.1, H₂O).

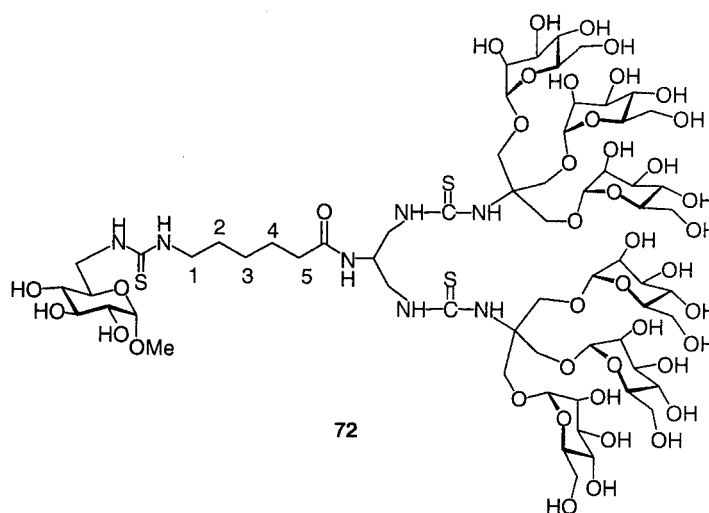
^1H RMN (500 MHz, D_2O , 343 K): δ 5.52-5.46 (m, 7 H, $\text{H-1}^{\text{I-VII}}$), 5.27 (sa, 6 H, $\text{H-1}'$), 4.72 (m, 12 H, H-5^{I} , H-6a^{I}), 4.49 (m, 13 H, OCH_2 , CH), 4.36 (sa, 6 H, $\text{H-2}'$), 4.32-4.25 (m, 7 H, $\text{H-3}^{\text{I-VII}}$), 4.19-4.10 (m, 24 H, $\text{H-6a}^{\text{II-VII}}$, $\text{H-6b}^{\text{II-VII}}$, $\text{H-6a}'$, $\text{H-3}'$), 4.10-3.96 (m, 40 H, $\text{H-5}^{\text{I-VII}}$, $\text{H-6b}'$, $\text{H-2}^{\text{I-VII}}$, $\text{H-4}'$, H-6b^{I} , $\text{H-4}^{\text{I-VII}}$, $\text{H-5}'$), 3.80 (m, 4 H, CH_2NH), 2.61 (t, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 8.0$ Hz, CH_2-5), 2.04 (q, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 8.0$ Hz, CH_2-4), 2.01 (q, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 8.0$ Hz, CH_2-2), 1.79 (q, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 8.0$ Hz, CH_2-3).

^{13}C RMN (125.7 MHz, D_2O , 343 K): δ 184.0 (CS), 177.1 (CO), 102.6-102.0 ($\text{C-1}^{\text{II-VII}}$), 100.9 ($\text{C-1}'$), 100.8 (C-1^{I}), 83.8 (C-4^{I}), 81.6-81.2 ($\text{C-4}^{\text{II-VII}}$), 73.7 ($\text{C-3}'$), 73.7-73.5 ($\text{C-3}^{\text{I-VII}}$), 72.7-72.2 ($\text{C-2}^{\text{I-VII}}$, $\text{C-5}^{\text{II-VII}}$), 71.3 ($\text{C-5}'$), 70.5 ($\text{C-2}'$), 70.3 (C-5^{I}), 67.3 ($\text{C-4}'$), 66.7 (OCH_2), 61.7 (C_q), 61.4 ($\text{C-6}'$), 61.2-60.5 ($\text{C-6}^{\text{II-VII}}$), 49.0 (CH_2-1), 45.4 (C-6^{I} , CH_2NH), 44.5 (CH), 36.2 (CH_2-5), 26.3 (CH_2-2), 25.4 (CH_2-3), 25.2 (CH_2-4).

EM (MALDI-TOF): m/z 2700 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{98}\text{H}_{169}\text{N}_7\text{O}_{71}\text{S}_3$: C 43.96, H 6.36, N 3.66, S 3.59. Encontrado: C 43.72, H 6.09, N 3.61, S 3.51.

Metil 6-desoxi-6-[3-[5-[N-bis[3-[tris(α -D-manopiranosiloximetil)metil]-tioureidometil]metilcarbamoil]pentil]tioureido]- α -D-glucopiranosido (72):



Una disolución del trifluoroacetato de la diamina **58** (18 mg, 26 μmol) en agua (1 mL) se ajustó a pH 8 por adición de NaHCO_3 sólido. Se añadió una disolución del isotiocianato **45** (60 mg, 52 μmol) en acetona (2 mL) y se agitó durante una noche. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna ($\text{MeCN}/\text{H}_2\text{O}$ 10:1) para dar el aducto parcialmente acetilado. La desacetilación de éste en las condiciones descritas para la preparación de **38** y posterior liofilización permitió obtener el compuesto **72**.

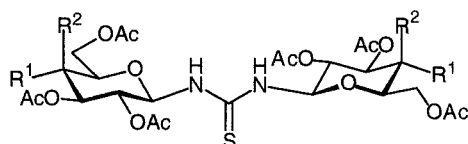
Rend.: 17 mg (52% a partir de **58**); $R_f = 0.31$ ($\text{BuOH}/\text{AcOH}/\text{H}_2\text{O}$ 2:1:1); $[\alpha]_D = +44.5^\circ$ (c 1.0, H_2O).

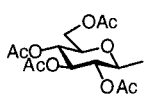
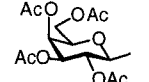
^1H RMN (500 MHz, D_2O , 333 K): δ 5.13 (sa, 6 H, H-1'), 5.06 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1), 4.68 (m, 1 H, H-6a), 4.42 (m, 1 H, CH), 4.35 (m, 12 H, 6 OCH_2), 4.23 (dd, 6 H, $J_{2,3} = 5.0$ Hz, $J_{1,2} = 1.2$ Hz, H-2'), 4.13 (dd, 6 H, $J_{6a,6b} = 12.0$ Hz, $J_{5,6a} = 2.0$ Hz, H-6a'), 4.13 (m, 1 H, H-6b), 4.03 (dd, 6 H, $J_{3,4} = 10.0$ Hz, H-3'), 4.01 (dd, 6 H, $J_{5,6b} = 5.5$ Hz, H-6b'), 3.97 (m, 1 H, H-5), 3.94 (t, 6 H, $J_{4,5} = 10.0$ Hz, H-4'), 3.92 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 10.0$ Hz, H-3), 3.86 (m, 4 H, CH_2NH), 3.86 (ddd, 6 H, H-5'), 3.82 (dd, 1 H, H-2), 3.66 (s, 3 H, OMe), 3.57 (t, 1 H, $J_{4,5} = 10.0$ Hz, H-4), 3.50 (m, 2 H, CH_2 -1), 2.19 (t, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.5$ Hz, CH_2 -5), 1.51 (q, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.5$ Hz, CH_2 -4), 1.49 (q, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.5$ Hz, CH_2 -2), 1.24 (q, 6 H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.5$ Hz, CH_2 -3).

^{13}C RMN (125.7 MHz, D_2O , 313K): δ 182.0 (CS), 178.2 (CO), 100.3 (C-1'), 99.1 (C-1), 72.8 (C-3), 71.3 (C-4, C-2), 73.1 (C-3'), 70.7 (C-5'), 69.9 (C-2'), 66.7 (C-4', OCH_2), 66.1 (C-5), 60.8 (C-6'), 54.9 (OMe), 51.8 (C_q), 44.5 (C-6), 40.8 (CH_2NH , CH_2 -1), 35.8 (CH_2 -5), 25.5 (CH_2 -2), 25.0 (CH_2 -3), 24.7 (CH_2 -4).

4.3.17. Preparación de receptores bidentados a partir de glicosilisotiocianatos (73-78):

N, N'-Bis(glicosil)tioureas (73-76):



73	<i>gluco</i>	$R^1 = \text{OAc}$ $R^2 = \text{H}$
74	<i>galacto</i>	$R^1 = \text{H}$ $R^2 = \text{OAc}$
75	<i>celobiosa</i>	$R^1 = $  $; R^2 = \text{H}$
76	<i>lactosa</i>	$R^1 = $  $; R^2 = \text{H}$

Una disolución 0.2 M del correspondiente glicosilisotiocianato (**129**, **130**, **131** y **176**, 0.2-11.4 mmol) en piridina/H₂O (1-110 mL, 10:1) se agitó a T °C durante t h. Se eliminaron los disolventes a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna usando AcOEt/éter de petróleo 1:1 como eluyente.

N, N'-Bis(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-β-D-glucopiranosil)tiourea (**73**):

Se obtuvo a partir de **129** (0.2 g, 0.51 mmol). Temperatura: 20 °C. Tiempo de reacción: 24 h. La tiourea **73** se identificó de manera inequívoca por comparación de sus datos espectroscópicos (IR, RMN) con los de la literatura.

Rend.: 0.17 g (90%); p.f. 215-216 °C; $[\alpha]_D = +4.0^\circ$ (*c* 0.6, CHCl₃). Lit. [110a] p.f. 205-206 °C; $[\alpha]_D = +5.0^\circ$ (*c* 0.6, CHCl₃).

***N,N'*-Bis(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-galactopiranosil)tiourea (74):**

Se obtuvo a partir de **176** (0.31 g, 0.79 mmol). Temperatura: 20 °C. Tiempo de reacción: 24 h.

Rend.: 0.27 g (93%); p. f. 210-212 °C; $[\alpha]_D = +29.0^\circ$ (c 0.5, CHCl₃).

¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8.34 (d, 1 H, $J_{\text{NH},1} = 8.1$ Hz, NH), 5.79 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 9.1$ Hz, H-1), 5.32-5.25 (m, 2 H, H-3, H-4), 5.00 (t, 1 H, $J_{2,3} = 9.1$ Hz, H-2), 4.26 (t, 1 H, $J_{5,6a} = J_{5,6b} = 6.3$ Hz, $J_{4,5} = 0.0$ Hz, H-5), 3.98 (m, 2 H, H6a, H-6b), 1.98, 1.97, 1.95, 1.93 (4 s, 12 H, 4 MeCO).

¹³C RMN (75.5 MHz, DMSO-*d*₆): δ 189.0 (CS), 169.8, 169.6, 169.3 (CO), 81.6 (C-1), 71.4 (C-5), 70.6 (C-3), 68.2 (C-2), 67.6 (C-4), 61.3 (C-6), 20.5, 20.4, 20.3, 20.2 (MeCO).

EM (FAB): *m/z* 759 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para C₂₉H₄₀N₂O₁₈S: C, 47.27; H, 5.48; N, 3.80; S, 4.34. Encontrado: C, 47.29; H, 5.62; N, 3.90; S, 4.28.

***N,N'*-Bis(2,3,6,2',3',4',6'-hepta-*O*-acetil- β -celobiosil)tiourea (75):**

Se obtuvo a partir de **130** (0.14 g, 0.2 mmol). Temperatura: 20 °C. Tiempo de reacción: 24 h.

Rend.: 0.1 g (87%); $[\alpha]_D = -28.7^\circ$ (c 1.0, CH₂Cl₂).

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃, 313 K): δ 7.0 (sa, 2 H, NH), 5.35 (sa, 2 H, H-1), 5.25 (t, 2 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 8.6$ Hz, H-3), 5.10 (t, 2 H, $J_{2,3'} = J_{3',4'} = 9.3$ Hz, H-3'), 5.03 (t, 2 H, $J_{4,5} = 9.3$ Hz, H-4'), 4.89 (dd, 2 H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, H-2'), 4.81 (t, 2 H, H-2), 4.48 (m, 2 H, H-6a), 4.46 (d, 2 H, H-1'), 4.33 (dd, 2 H, $J_{6a',6b'} = 12.5$ Hz, $J_{5',6a'} = 4.4$ Hz, H-6a'), 4.09 (dd, 2 H, $J_{6a,6b} = 12.5$ Hz, $J_{5,6b} = 4.1$ Hz, H-6b), 4.01 (dd, 2 H, $J_{5',6b'} = 2.1$, H-6b'), 3.75 (m, 2 H, H-5), 3.73 (t, 2 H, $J_{4,5} = 8.6$ Hz, H-4), 3.62 (ddd, 2 H, $J_{5',6a'} = 4.4$ Hz, H-5'), 2.09, 2.05, 2.04, 2.01, 2.00, 1.97, 1.84 (7 s, 42 H, 14 MeCO).

¹³C RMN (125.7 MHz, CDCl₃): δ 183.2 (CS), 171.9, 170.5, 170.3, 169.4, 169.3, 169.0 (CO), 100.7 (C-1'), 82.5 (C-1), 76.3 (C-4), 74.1 (C-5), 72.9 (C-3'), 72.0 (C-5'), 71.5 (C-2'), 71.1 (C-2), 67.8 (C-4'), 61.8 (C-6), 61.6 (C-6'), 20.9, 20.8, 20.7 (MeCO).

EM (FAB): *m/z* 1335 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para C₅₃H₇₂N₂O₃₄S: C 48.47, H 5.52, N 2.13. Encontrado: C 48.35, H 5.43, N 2.11.

***N,N'*-Bis(2,3,6,2',3',4',6'-hepta-*O*-acetil- β -lactosil)tiourea (76):**

Se obtuvo a partir de **131** (0.30 g, 0.44 mmol). Temperatura: 60 °C. Tiempo de reacción: 12 h

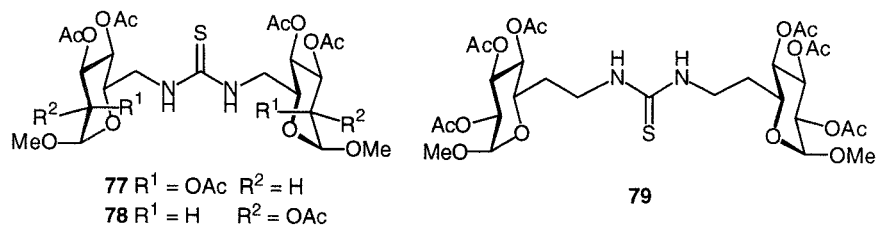
Rend.: 0.26 g (90%); p. f. 143-145°C; $[\alpha]_D = -11.2^\circ$ (*c* 0.6, CHCl₃).

¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8.22 (d, 2 H, $J_{\text{NH},1} = 9.0$, NH), 5.48 (t, 2 H, $J_{1,2} = 9.0$ Hz, H-1), 5.20 (m, 4 H, H-3, H-4'), 5.13 (dd, 2 H, $J_{2,3} = 10.5$ Hz, $J_{3,4'} = 3.0$ Hz, H-3'), 4.87 (m, 4 H, H-2, H-2'), 4.80 (d, 2 H, $J_{1,2'} = 8.2$ Hz, H-1'), 4.29 (m, 2 H, H-5), 4.21 (m, 2 H, H-6a), 3.97 (m, 6 H, H-6b, H-6a', H-6b'), 3.81 (m, 4 H, H-4, H-5'), 2.09, 2.02, 2.00, 1.98, 1.96, 1.93, 1.88 (7 s, 42 H, 14 MeCO).

¹³C RMN (75.5 MHz, DMSO-*d*₆): δ 186.5 (CS), 170.4, 170.3, 170.2, 169.8, 169.7, 169.3 (CO), 101.1 (C-1'), 82.5 (C-1), 76.8 (C-4), 74.8 (C-5), 73.3 (C-2), 71.6, 71.5, 71.1, 69.6 (C-3, C-2', C-3', C-5'), 67.7 (C-4'), 62.7 (C-6), 61.5 (C-6'), 20.6, 20.5, 20.3, 20.2, 20.1 (MeCO).

EM (FAB): *m/z* 1335 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para C₅₃H₇₂N₂O₃₄S: C 48.47, H 5.52, N 2.13, S 2.44. Encontrado: C 48.47, H 5.73, N 2.19, S 2.17.

4.3.18. Preparación de receptores bidentados a partir de desoxiisotiocianato azúcares (77-79):

Una disolución del correspondiente desoxiisotiocianato peracetilado (**135**, **177** ó **178**, 0.55 mmol) en piridina/H₂O (10:1, 3 mL) se agitó a 60 °C durante 48 h. Se eliminaron los disolventes a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna usando AcOEt/éter de petróleo como eluyente.

N,N'*-Bis(metil 2,3,4-tri-*O*-acetil-6-desoxi- α -D-manopiranosid-6-il)tiourea*(77):**

Rend. 0.16 g (84%); $R_f = 0.11$ (AcOEt/éter de petróleo 1:1); $[\alpha]_D = +58.7^\circ$ (c 1.0, CH₂Cl₂).

IR: ν_{\max} 3436, 1760, 1640, 1236 cm⁻¹.

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃, 313 K): δ 6.56 (sa, 1 H, NH), 5.29 (dd, 2 H, $J_{3,4} = 10.0$ Hz, $J_{2,3} = 3.5$ Hz, H-3), 5.20 (dd, 2 H, $J_{1,2} = 1.4$ Hz, H-2), 5.09 (t, 2 H, $J_{4,5} = 10.0$ Hz, H-4), 4.64 (d, 2 H, H-1), 3.91 (ddd, 2 H, $J_{5,6a} = 7.6$ Hz, $J_{5,6b} = 2.2$ Hz, H-5), 3.87 (m, 2 H, H-6a), 3.42 (m, 2 H, H-6b), 3.36 (s, 6 H, OMe), 2.10, 2.04, 1.95 (3s, 18 H, 6 MeCO).

¹³C RMN (125.7 MHz, CDCl₃, 313 K): δ 184.1 (CS), 171.0, 170.1, 169.7, (CO), 98.5 (C-1), 69.4 (C-2, C-5), 68.7 (C-3), 67.1 (C-4), 55.3 (OMe), 45.2 (C-6), 20.9, 20.7, 20.6 (MeCO).

EM (FAB): m/z 702 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para C₂₈H₄₀N₂O₁₆S: C 47.64, H 5.82, N 4.04. Encontrado: C 47.82, H 5.82, N, 4.09.

N,N'*-Bis(metil 2,3,4-tri-*O*-acetil-6-desoxi- α -D-glucopiranosid-6-il)tiourea*(78):**

Rend. 0.18 g (95%); $R_f = 0.22$ (AcOEt/éter de petróleo 1:1); $[\alpha]_D = +136.0^\circ$ (c 0.9, CH₂Cl₂); UV(CH₂Cl₂) 252 nm (ϵ_{mM} 12.8).

IR: ν_{\max} 3476, 3380, 1753, 1547, 1227 cm⁻¹.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 323 K): δ 6.76 (t, 2 H, $J_{\text{NH},6} = 5.8$ Hz, NH), 5.47 (d, 2 H, $J_{2,3} = J_{2,3} = 9.7$ Hz, H-3), 4.94 (d, 2 H, $J_{1,2} = 3.6$ Hz, H-1), 4.84 (t, 2 H, $J_{4,5} = 9.7$ Hz, H-4), 4.79 (dd, 2 H, H-2), 4.00 (ddd, 2 H, $J_{5,6a} = 5.8$ Hz, $J_{5,6b} = 2.7$ Hz, H-5), 3.78 (ddd, 2 H, $J_{6a,6b} = 14.8$ Hz, H-6a), 3.50 (dt, 2 H, H-6b), 3.43 (s, 6 H, OMe), 2.04, 2.03, 1.97 (3 s, 18 H, 6 MeCO).

¹³C RMN (75.5 MHz, CDCl₃, 313 K): δ 184.5 (CS), 170.0, 169.7, 169.6 (CO), 96.6 (C-1), 70.8 (C-2), 69.7 (C-4), 69.4 (C-3), 68.0 (C-5), 55.4 (OMe), 44.7 (C-6), 20.4, 20.3 (MeCO).

EM (FAB): m/z 703 [M + Na]⁺, 681 [M + H]⁺.

Análisis calculado para $C_{27}H_{40}N_2O_{16}S$: C 47.64, H 5.92, N 4.11, S 4.71. Encontrado: C 47.58, H 6.00, N 4.30, S 4.78.

***N,N'*-Bis(metil 2,3,4-tri-*O*-acetil-6,7-didesoxi- α -D-*gluco*-heptopiranosid-7-il)-tiourea (79):**

Rend.: 154 mg (79%); $R_f = 0.42$ (AcOEt/éter de petróleo 2:1); $[\alpha]_D = +121.9^\circ$ (*c* 0.9, CH_2Cl_2).

1H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, 323 K) δ 6.02 (t, 2 H, $J_{NH,7a} = J_{NH,7b} = 4.9$ Hz, 2 NH), 5.43 (t, 2 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 10.2$ Hz, H-3), 4.91 (d, 2 H, $J_{1,2} = 3.6$ Hz, H-1), 4.84 (t, 2 H, $J_{4,5} = 10.2$ Hz, H-4), 4.81 (dd, 2 H, H-2), 3.54 (ddd, 2 H, $J_{5,6b} = 10.2$ Hz, $J_{5,6a} = 2.7$ Hz, H-5), 3.66 (m, 2 H, H-7a), 3.46 (m, 2 H, H-7b), 3.39 (s, 6 H, 2 OMe), 1.89 (m, 2 H, H-6a), 1.72 (dq, 2 H, $J_{6b,7a} = J_{6b,7b} = 10.2$ Hz, $J_{6a,6b} = 14.7$ Hz, H-5), 2.04, 2.02, 1.97 (3 s, 18 H, 6 MeCO).

^{13}C RMN (75.5 MHz, $CDCl_3$, 313 K) δ 181.7 (CS), 170.0, 169.9, 169.8 (CO), 96.7 (C-1), 71.5 (C-4), 70.9 (C-2), 69.9 (C-3), 67.6 (C-5), 55.5 (OMe), 41.1 (C-7), 29.8 (C-6), 20.6, 20.5, 20.4 (MeCO).

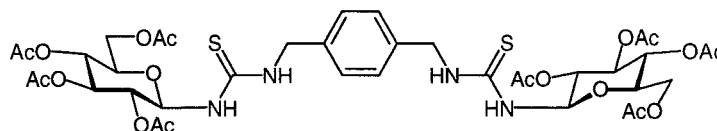
Análisis calculado para $C_{29}H_{44}N_2O_{16}S$: C 49.14, H 6.26, N 3.95, S 4.52. Encontrado: C 48.98, H 6.10, N 3.79, S 4.33.

Alternativamente, una disolución del hidrocloreuro de metil 2,3,4-tri-*O*-acetil-7-amino-6,7-didesoxi- α -D-*gluco*-heptopiranosido (**213**, 0.29 g, 1 mmol) en piridina (5 mL) se añadió metil 2,3,4-tri-*O*-acetil-6,7-didesoxi-7-isotiocianato- α -D-*gluco*-heptopiranosido (**178**, 0.41 g, 1 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna empleando AcOEt/éter de petróleo 1:1 como eluyente para dar **79**.

Rend.: 0.50 g (65%).

4.3.19. Preparación de podandos multitópicos de tipo glicosiltiourea—xileno (80-86):

Receptor tetradentado (80):



80

1,4-Bis[3-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosil)tiou Reidometil]benceno

(80):

A una disolución de 1,4-bis(aminometil)benceno (68 mg, 0.5 mmol) en CH_2Cl_2 (5 mL) se añadió 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosil isotiocianato (**129**, 389 mg, 1 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 30 min, se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 20:1) para dar **80**.

Rend.: 355 mg (78%); $R_f = 0.56$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9:1); $[\alpha]_D = +1.0^\circ$ (c 1.0, CH_2Cl_2).

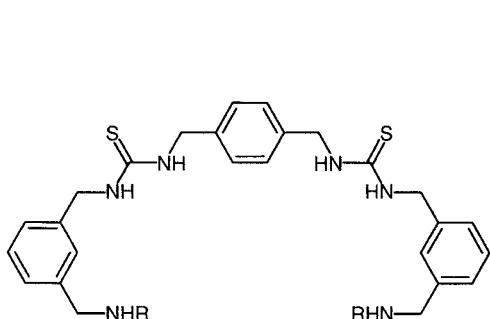
^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): δ 7.26 (s, 4 H, Ph), 6.62, 6.56 (2 sa, 4 H, 4 NH), 5.68 (ta, 2 H, $J_{1,\text{NH}} = J_{1,2} = 9.7$ Hz, H-1), 5.34 (t, 2 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.7$ Hz, H-3), 5.06 (t, 2 H, $J_{4,5} = 9.7$ Hz, H-4), 4.94 (t, 2 H, H-2), 4.67 (sa, 4 H, CH_2), 4.27 (dd, 2 H, $J_{6a,6b} = 12.6$ Hz, $J_{5,6a} = 4.7$ Hz, H-6a), 4.00 (da, 2 H, $J_{5,6b} = 2.2$ Hz, H-6b), 3.82 (ddd, 2 H, H-5), 2.09, 2.06, 2.03, 2.01 (4 s, 24 H, 8 MeCO).

^{13}C RMN (125.7 MHz, CDCl_3 , 313 K): δ 183.6 (CS), 171.2-169.1 (CO), 128.4, 136.9 (Ph), 82.7 (C-1), 69.5 (C-2), 73.4 (C-3), 72.8 (C-5), 68.3 (C-4), 61.7 (C-6), 48.6 (CH_2NH), 20.7, 20.6, 20.5 (MeCO).

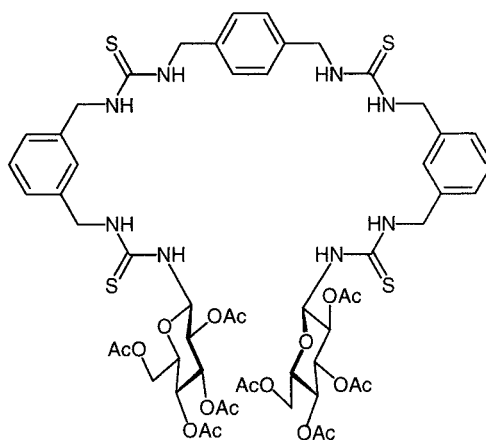
EM (FAB): m/z 937 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{38}\text{H}_{50}\text{N}_4\text{O}_{18}\text{S}_2$: C 49.88, H 5.51, N 6.12. Encontrado: C 49.88, H 5.55, N 6.13.

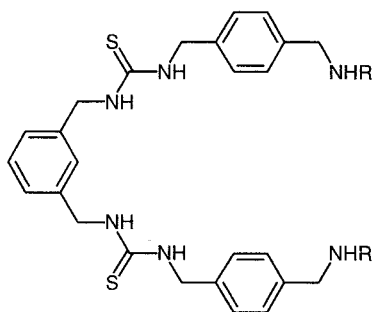
Receptores octadentados (81-86):



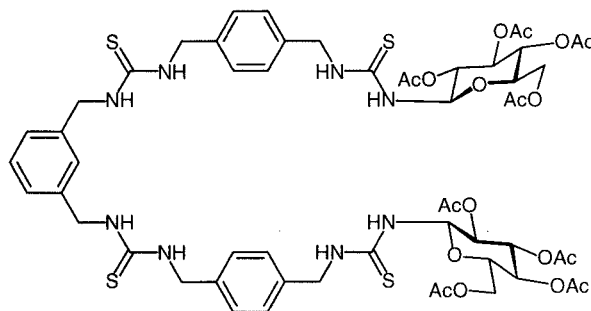
81 R = Boc
82 R = H



83



84 R = Boc
85 R = H



86

**1,4-Bis[3-[3-(*tert*-butoxicarbonilaminometil)fenilmetil]tioureidometil]-
benceno (81):**

A una disolución de 1,4-bis(isotiocianatometil)benceno (**182**, 125 mg, 0.57 mmol) en CH_2Cl_2 (5 mL) se añadió una disolución de 1-aminometil-3-(*tert*-butoxicarbonilaminometil)benceno (**183**, 280 mg, 1.2 mmol) en CH_2Cl_2 (5 mL). La mezcla de

reacción se agitó durante 3 h, se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna eluyendo primero con AcOEt/éter de petróleo 1:1 y luego con MeOH para dar **81**.

Rend.: 181 mg (47%); $R_f = 0.15$ (AcOEt/éter de petróleo 1:1).

^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6): δ 7.91 (sa, 4 H, NHCS), 7.36 (t, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 6.2$ Hz, NHCO), 7.09-7.28 (m, 12 H, Ph), 4.64 (sa, 8 H, CH_2NHCS), 4.09 (d, 4 H, CH_2NHCO), 1.38 (s, 18 H, 2 CMe_3).

^{13}C RMN (75.5 MHz, DMSO- d_6): δ 182.9 (CS), 155.1 (CO), 125.4-140.2 (Ph), 77.8 (CMe_3), 46.8 (CH_2NHCS), 43.4 (CH_2NHCO), 28.3 (CMe_3).

EM (FAB): m/z 715 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{36}\text{H}_{48}\text{N}_6\text{O}_4\text{S}_2$: C 62.40, H 6.98, N 12.13. Encontrado: C 62.40, H 6.90, N 12.12.

1,4-Bis[3-[3-(aminometil)fenilmetil]tioureidometil]benceno (82):

El compuesto **82** se obtuvo a partir del compuesto **81** (205 mg, 0.30 mmol) por tratamiento con TFA/ CH_2Cl_2 (5 mL, 1:1) durante 1 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida obteniéndose **82** como un sólido higroscópico con rendimiento cuantitativo. El compuesto **82**, cuya homogeneidad se confirmó por espectroscopía de ^{13}C RMN y EM (FAB), se usó en la etapa siguiente sin purificación posterior.

Rend.: 146 mg (100%).

^1H RMN (500 MHz, CD_3OD , 313 K): δ 7.24-7.37 (m, 12 H, Ph), 4.69, 4.76 (2 s, 8 H, CH_2NHCS), 4.06 (s, 4 H, CH_2NH_2).

^{13}C RMN (125.7 MHz, CD_3OD , 313 K): δ 183.1 (CS), 127.2-140.0 (Ph), 47.2 (CH_2NHCS), 43.0 (CH_2NH_2).

EM (FAB): m/z 493 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

1,4-Bis[3-[3-[3-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosil)tioureidometil]-bencil]tioureidometil]benceno (83):

Una disolución de la diamina **82** (73 mg, 0.15 mmol) en acetona/agua (3 mL, 1:1) se ajustó a pH 8 añadiendo una disolución acuosa saturada de NaHCO₃. Se añadió una disolución de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosilisotiocianato (**129**, 129 mg, 0.33 mmol) en acetona (1.5 mL), la mezcla de reacción se agitó durante 2 h, se eliminaron los disolventes a presión reducida, se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 10 mL), se concentró y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna (AcOEt/éter de petróleo 5:1) para dar **83**.

Rend.: 134 mg (70%); R_f = 0.52 (AcOEt/éter de petróleo 5:1); [α]_D = 0.0° (c 1.0, CH₂Cl₂).

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 7.16-7.18 (m, 12 H, 3 Ph), 6.77, 7.01 (2 sa, 8 H, NH), 5.70 (ta, 2 H, $J_{1,NH}$ = 9.1 Hz, H-1), 5.29 (t, 2 H, $J_{2,3}$ = $J_{3,4}$ = 9.1 Hz, H-3), 5.01 (t, 2 H, $J_{4,5}$ = 9.1 Hz, H-4), 4.95 (t, 2 H, $J_{1,2}$ = 9.1 Hz, H-2), 4.62 (sa, 12 H, 6CH₂), 4.27 (dd, 2 H, $J_{6a,6b}$ = 12.2 Hz, $J_{5,6a}$ = 4.0 Hz, H-6a), 3.89 (da, 2 H, H-6b), 3.79 (m, 2 H, H-5), 2.02, 2.01, 2.00, 1.99 (4 s, 24 H, 8 MeCO); ¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8.00 (da, 2 H, NHCH₂), 7.88, 8.21 (2 sa, 6 H, 6 NH), 7.12-7.28 (m, 12 H, 3 Ph), 5.82 (ta, 2 H, $J_{1,NH}$ = $J_{1,2}$ = 9.5 Hz, H-1), 5.31 (t, 2 H, $J_{2,3}$ = $J_{3,4}$ = 9.5 Hz, H-3), 4.93 (t, 2 H, $J_{4,5}$ = 9.5 Hz, H-4), 4.89 (ta, 2 H, H-2), 4.64 (sa, 12 H, 6 CH₂), 4.16 (dd, 2 H, $J_{6a,6b}$ = 12.6 Hz, $J_{5,6a}$ = 4.7 Hz, H-6a), 3.98 (m, 4 H, 2 H-5, 2 H-6b), 1.98, 1.95, 1.93 (3 s, 24 H, 8 MeCO).

¹³C RMN (75.5 MHz, CDCl₃, 313 K): δ 183.5, 181.9 (CS), 169.5-170.8 (CO), 125.1-138.0 (Ph), 82.6 (C-1), 73.3 (C-3), 72.8 (C-5), 70.6 (C-2), 68.3 (C-4), 60.1 (C-6), 47.9, 47.7 (CH₂NH), 21.2, 20.8, 20.5, 20.3 (MeCO).

EM (FAB): m/z 1293 [M + Na]⁺.

Análisis calculado para C₅₆H₇₀N₈O₁₈S₄: C 52.90, H 5.55, N 8.81. Encontrado: C 52.89, H 5.53, N 8.80.

**1,3-Bis[3-[4-(*tert*-butoxicarbonilaminometil)fenilmetiltioureido]metil]-
benceno (84):**

El compuesto **84** se obtuvo por reacción de condensación entre 1,3-bis(isotiocianatometil)benceno (**184**, 125 mg, 0.3 mmol) y 1-amino-4-(*tert*-butoxicarbonilaminometil)benceno (**185**, 280 mg, 1.2 mmol) siguiendo el procedimiento descrito para la obtención de **81**.

Rend.: 250 mg (65%); $R_f = 0.15$ (AcOEt/éter de petróleo 1:1).

^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6): δ 7.92 (sa, 4 H, NHCS), 7.36 (t, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 6.1$ Hz, NHCO), 7.15-7.28 (m, 12 H, Ph), 4.64 (sa, 8 H, CH_2NHCS), 4.07 (d, 4 H, CH_2NHCO), 1.38 (s, 18 H, 2 CMe_3).

^{13}C RMN (75.5 MHz, DMSO- d_6): δ 183.0 (CS), 155.8 (CO), 125.8-139.3 (Ph), 77.8 (CMe_3), 46.9 (CH_2NHCS), 43.1 (CH_2NHCO), 28.6 (CMe_3).

EM (FAB): m/z 715 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{36}\text{H}_{48}\text{N}_6\text{O}_4\text{S}_2$: C 62.40, H 6.98, N 12.13. Encontrado: C 62.41, H 6.87, N 11.96.

1,3-Bis[3-[4-(aminometil)fenilmetil]tioureidometil]benceno (85):

El compuesto **85** se obtuvo a partir de **84** siguiendo el procedimiento descrito para la obtención de **82**.

Rend.: 146 mg (100%).

^1H RMN (500 MHz, CD_3OD): δ 7.20-7.40 (m, 12 H, Ph), 4.77, 4.70 (2s, 8 H, CH_2NHCS), 4.08 (s, 4 H, CH_2NH_2).

^{13}C RMN (125.7 MHz, CD_3OD): δ 126.9-135.5 (Ph), 183.1 (CS), 48.5 (CH_2NHCS), 43.8 (CH_2NH_2).

EM (FAB): m/z 515 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

1,3-Bis[3-[4-[3-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosil)tioureidometil]-bencil]tioureidometil]benceno (86):

El compuesto **86** se obtuvo a partir de **85** (73 mg, 0.15 mmol) y **129** (129 mg, 0.33 mmol) siguiendo el procedimiento descrito para la preparación de **83**.

Rend.: 140 mg (73%); $R_f = 0.25$ (AcOEt/éter de petróleo 3:1); $[\alpha]_D^{20} = + 84.0^\circ$ (c 1.0, CH_2Cl_2).

^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): δ 7.10-7.28 (m, 12 H, Ph), 6.75, 6.88 (2 sa, 8 H, NH), 5.75 (ta, 2 H, $J_{1,\text{NH}} = J_{1,2} = 9.4$ Hz, H-1), 5.28 (t, 2 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.4$ Hz, H-3), 4.98 (t, 2 H, $J_{4,5} = 9.4$ Hz, H-4), 4.48 (sa, 12 H, 6 CH_2), 4.17 (da, 2 H, $J_{6a,6b} = 12.0$ Hz, H-6a), 3.95 (da, 2 H, H-6b), 3.78 (m, 2 H, H-5), 2.02, 1.99, 1.98, 1.97 (4s, 24 H, 8 MeCO); ^1H RMN (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 8.26, 7.94 (2 sa, 6 H, NH), 8.07 (d, 2 H, 2 NHCH), 7.13-7.29 (m, 12 H, Ph), 5.81 (ta, 2 H, $J_{1,\text{NH}} = J_{1,2} = 9.6$ Hz, H-1), 5.31 (t, 2 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.6$ Hz, H-3), 4.91 (t, 2 H, $J_{4,5} = 9.6$ Hz, H-4), 4.89 (ta, 2 H, H-2), 4.64 (sa, 12 H, 6 CH_2), 4.16 (dd, 2 H, $J_{6a,6b} = 12.1$ Hz, $J_{5,6a} = 4.3$ Hz, H-6a), 3.96 (m, 4 H, 2 H-5, H-6b), 1.98, 1.93 (2s, 24 H, 8 MeCO).

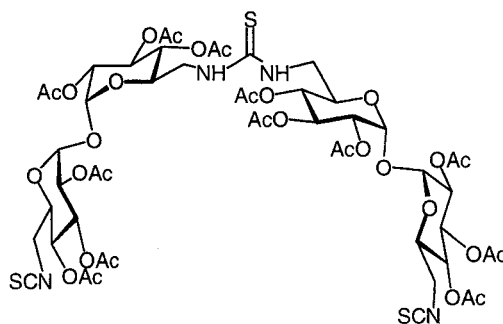
^{13}C RMN (75.5 MHz, CDCl_3 , 313 K): δ 181.5, 183.0 (CS), 170.7-169.6 (CO), 125.1-137.8 (Ph), 82.5 (C-1), 73.2 (C-3), 72.9 (C-5), 70.6 (C-2), 68.3 (C-4), 61.7 (C-6), 48.0, 47.9 (CH_2NH), 20.6, 20.4 (MeCO).

EM (FAB): m/z 1293 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Análisis calculado para $\text{C}_{56}\text{H}_{70}\text{N}_8\text{O}_{18}\text{S}_4$: C 52.90, H 5.55, N 8.81. Encontrado: C 52.65, H 5.43, N 8.75.

4.3.20. Preparación de receptores cíclicos mixtos trehalosa—tiourea (ciclotrehalinas).

N,N'-Bis(2,3,4,2',3',4'-hexa-*O*-acetil-6,6'-didesoxi-6'-isotiocianato- α,α' -trehalos-6-il)tiourea (87):



87

Una disolución de 2,3,4,2',3',4'-hexa-*O*-acetil-6,6'-didesoxi-6,6'-diisotiocianato- α,α' -trehalosa (**195**, 400 mg, 0.6 mmol) en piridina/H₂O (15 mL, 10:1) se agitó a 40 °C durante 6 h. Se eliminaron los disolventes a presión reducida y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna usando CH₂Cl₂/MeOH 30:1 como eluyente.

Rend.: 146 mg (38%); $R_f = 0.14$ (CH₂Cl₂/MeOH 30:1); $[\alpha]_D^{25} = +97.3^\circ$ (c 0.7, CH₂Cl₂).

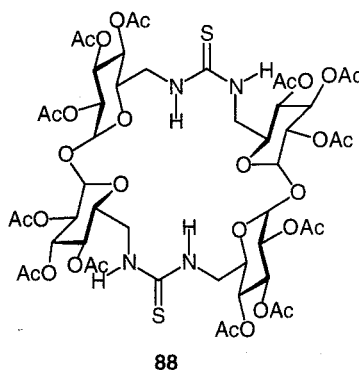
IR: ν_{\max} 2925, 2853, 2100 (NCS), 1754, 1646, 1370, 1220, 1040 cm⁻¹.

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 6.32 (ta, 2 H, $J_{\text{NH},6} = 6.9$ Hz, NH), 5.61 (d, 2 H, $J_{1,2} = 3.6$ Hz, H-1), 5.49 (t, 2 H, $J_{2,3'} = J_{3',4'} = 9.4$ Hz, H-3'), 5.42 (t, 2 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.4$ Hz, H-3), 5.35 (d, 2 H, $J_{1',2'} = 4.0$ Hz, H-1'), 5.10 (dd, 2 H, H-2), 4.97 (t, 2 H, $J_{4',5'} = 9.3$ Hz, H-4'), 4.93 (t, 2 H, $J_{4,5} = 9.3$ Hz, H-4), 4.84 (dd, 2 H, H-2'), 4.06 (m, 2 H, H-5'), 4.02 (m, 2 H, H-6a), 3.85 (ta, 2 H, $J_{5,6b} = 9.3$ Hz, H-5), 3.64 (dd, 2 H, $J_{6a',6b'} = 14.8$ Hz, $J_{5',6a'} = 6.6$ Hz, H-6a'), 3.54 (dd, 2 H, $J_{5',6b'} = 3.4$ Hz, H-6b'), 3.31 (m, 2 H, H-6b), 2.10, 2.07, 2.03, 2.00 (4 s, 36 H, 12 MeCO).

^{13}C RMN (125.7 MHz, CDCl_3): δ 184.4 (CS), 169.9, 169.7, 169.6, 169.3 (CO), 136.2 (NCS), 92.8 (C-1), 92.2 (C-1'), 70.8 (C-2'), 70.0 (C-3), 69.9 (C-4'), 69.6 (C-5), 69.5 (C-2, C-4), 69.2 (C-3'), 68.5 (C-5'), 46.0 (C-6'), 45.1 (C-6), 20.7, 20.6, 20.5 (MeCO).

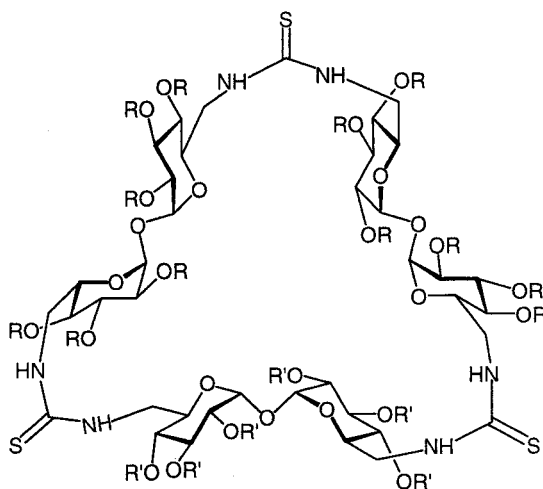
EM (FAB): m/z 1333 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Bis-[*N,N'*-bis(2,3,4,2',3',4'-hexa-*O*-acetil-6,6'-didesoxi- α,α' -trehalos-6,6'-diil)]tiourea (88):



Una disolución de **195** (400 mg, 0.6 mmol) en piridina/ H_2O (15 mL, 10:1) se agitó a 60 °C durante 48 h. Se eliminaron los disolventes a presión reducida y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna usando $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 30:1 como eluyente. Rend.: 113 mg (30%). Las constantes físicas y espectroscópicas coinciden con las descritas en la literatura [40b].

Preparación de trímeros cíclicos de tipo tiourea—trehalosa (89-92):



- 89** R = R' = Ac
90 R = Ac, R' = TMS
91 R = Ac, R' = H
92 R = R' = H

Tris-[*N,N'*-bis(2,3,4,2',3',4'-hexa-*O*-acetil-6,6'-didesoxi- α,α' -trehalos-6,6'-diil)]tiourea (89):

Una disolución de *N,N'*-bis(2,3,4,2',3',4'-hexa-*O*-acetil-6,6'-didesoxi-6'-isotiocianato- α,α' -trehalos-6-il)tiourea **87** (25 mg, 19 μ mol) y de hidrocloreuro de 2,3,4,2',3',4'-hexa-*O*-acetil-6,6'-diamino-6,6'-didesoxi- α,α' -trehalosa (**194**, 13 mg, 19 μ mol) en piridina (1 mL) se agitó a 40 °C durante 24 h. Se eliminaron los disolventes a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna usando CH₂Cl₂/MeOH 15:1 como eluyente.

Rend.: 8 mg (20%); $R_f = 0.23$ (CH₂Cl₂/MeOH 20:1); $[\alpha]_D = +131.0^\circ$ (*c* 0.3, CH₂Cl₂).

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃, 313K): δ 6.11 (sa, 6 H, NH), 5.48 (t, 6 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.6$ Hz, H-3), 5.43 (d, 6 H, $J_{1,2} = 3.6$ Hz, H-1), 4.95 (t, 6 H, $J_{4,5} = 9.6$ Hz, H-4), 4.92 (dd, 6 H,

H-2), 3.97 (m, 6 H, H-6a), 3.92 (m, 6 H, H-5), 3.56 (m, 6 H, H-6b), 2.10, 2.09, 2.08, 2.03 (4 s, 54 H, 18 MeCO).

^{13}C RMN (125.7 MHz, CDCl_3): δ 184.1 (CS), 171.1, 169.9 (CO), 92.2 (C-1), 70.4 (C-2), 69.5 (C-3), 69.3 (C-4), 69.2 (C-5), 44.6 (C-6), 20.8, 20.7 (MeCO).

EM (FAB): m/z 1926 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Análisis calculado para: $\text{C}_{75}\text{H}_{102}\text{N}_6\text{O}_{45}\text{S}_3$: C 47.31, H 5.40, N 4.41, S 5.05. Encontrado: C 47.35, H 5.27, N 4.30, S 4.97.

Macrociclo mixto acetilado-sililado (90):

Una disolución de *N,N'*-bis(2,3,4,2',3',4'-hexa-*O*-acetil-6,6'-didesoxi-6'-diisotiocianato- α,α' -trehalos-6-il)tiourea **87** (50 mg, 38 μmol) y de 2,3,4,2',3',4'-hexa-*O*-trimetilsilil-6,6'-diamino-6,6'-didesoxi- α,α' -trehalosa (**196**, 29 mg, 38 μmol) en CH_2Cl_2 (5 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 12 h. Se eliminaron los disolventes a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna usando $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 100:1 como eluyente.

Rend.: 55 mg (70%); $R_f = 0.30$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 20:1); $[\alpha]_D^{20} = +113.0^\circ$ (c 1.0, CH_2Cl_2).

^1H RMN (500 MHz, CDCl_3 , 323 K): δ 6.15 (sa, 4 H, NH, NH'), 6.05 (sa, 2 H, NH''), 5.44 (t, 2 H, $J_{2,3'} = J_{3',4'} = 9.5$ Hz, H-3'), 5.42 (t, 2 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 10.0$ Hz, H-3), 5.36 (d, 2 H, $J_{1,2'} = 2.5$ Hz Hz, H-1'), 5.35 (d, 2 H, $J_{1,2} = 4.0$ Hz Hz, H-1), 4.92 (t, 2 H, $J_{4,5} = 10.0$ Hz Hz, H-4), 4.87 (t, 2 H, $J_{4',5'} = 9.5$ Hz Hz, H-4'), 4.86 (dd, 2 H, H-2), 4.85 (d, 2 H, $J_{1'',2''} = 2.5$ Hz, H-1''), 4.83 (dd, 2 H, H-2'), 4.10 (m, 2 H, H-5''), 4.06 (m, 2 H, H-6a'), 3.92 (ta, 2 H, $J_{5',6a'} = 9.5$ Hz, H-5'), 3.92 (m, 2 H, H-6a), 3.90 (ta, 2 H, $J_{5,6a} = 10.0$ Hz, H-5), 3.90 (t, 2 H, $J_{2'',3''} = J_{3'',4''} = 9.0$ Hz, H-3''), 3.60 (m, 2 H, H-6b'), 3.42 (dd, 2 H, H-2''), 3.42 (m, 2 H, H-6a''), 3.42 (da, 2 H, $J_{6a,6b} = 12.0$ Hz, H-6b), 3.30 (t, 2 H, $J_{4'',5''} = 9.0$ Hz, H-4''), 3.26 (m, 2 H, H-6b''), 2.07, 2.06, 2.05, 2.00, 1.99 (5 s, 36 H, 12 MeCO), 0.17, 0.13, 0.11 (3 s, 54 H, 6 SiMe_3).

^{13}C RMN (125.7 MHz, CDCl_3 , 323 K): δ 184.5, 184.3 (CS), 171.0, 170.8, 169.7, 169.6, 169.5 (CO), 94.2 (C-1"), 93.0 (C-1, C-1'), 73.7 (C-4"), 72.9 (C-3"), 72.6 (C-2"), 72.0 (C-5"), 70.8 (C-2'), 70.7 (C-2), 69.6 (C-3, C-3', C-5, C-5'), 69.2 (C-4, C-4'), 46.4 (C-6"), 44.7 (C-6, C-6'), 20.7, 20.6, 20.5, 20.4 (MeCO), 1.1 (Me₃Si).

Análisis calculado para: $\text{C}_{81}\text{H}_{144}\text{N}_6\text{O}_{39}\text{S}_3\text{Si}_6$: C 46.65, H 6.67, N 4.04. Encontrado: C 46.54, H 6.47, N 3.93.

Macrociclo mixto acetilado (91):

El compuesto **90** (100 mg, 48 μmol) se trató con $\text{H}_2\text{O}/\text{AcOH}$ (10:1, 0.2 mL por mmol de grupo trimeteilsililo, 57 μL) en $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ 4:3:1 (5 mL) a 60 °C durante 15 h. Los disolventes se eliminaron a presión reducida, las trazas de AcOH se eliminaron por coevaporación con tolueno y el residuo se purificó por cromatografía en columna usando $\text{AcOEt}/\text{EtOH}/\text{H}_2\text{O}$ 45:5:3 como eluyente.

Rend.: 51 mg (63%); $R_f = 0.34$ ($\text{AcOEt}/\text{EtOH}/\text{H}_2\text{O}$ 45:5:3); $[\alpha]_D = +117.3^\circ$ (c 1.0, MeOH).

^1H RMN (500 MHz, MeOD, 323 K): δ 5.47 (t, 2 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 10.6$ Hz Hz, H-3), 5.46 (t, 2 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 10.1$ Hz Hz, H-3'), 5.39 (d, 2 H, $J_{1,2} = 3.6$ Hz Hz, H-1), 5.38 (d, 2 H, $J_{1,2} = 3.7$ Hz Hz, H-1'), 5.11 (d, 2 H, $J_{1'',2''} = 3.7$ Hz, H-1''), 5.05 (dd, 2 H, H-2'), 5.01 (dd, 2 H, H-2), 4.94 (t, 2 H, $J_{4,5} = 10.1$ Hz Hz, H-4'), 4.93 (t, 2 H, $J_{4,5} = 10.6$ Hz Hz, H-4), 4.11 (da, 2 H, $J_{6a,6b} = 15.1$ Hz, H-6a), 3.95 (ddd, 2 H, $J_{5,6b} = 6.6$ Hz, $J_{5,6a} = 2.5$ Hz, H-5), 3.95 (ddd, 2 H, $J_{5'',6b''} = 6.5$ Hz, $J_{5'',6a''} = 3.0$ Hz, H-5''), 3.93 (ddd, 2 H, $J_{5',6a'} = 7.0$ Hz, $J_{5',6b'} = 3.8$ Hz, H-5'), 3.88 (da, 2 H, $J_{6a',6b'} = 12.6$ Hz, H-6a'), 3.81 (m, 2 H, H-6a''), 3.76 (t, 2 H, $J_{2'',3''} = J_{3'',4''} = 9.9$ Hz, H-3''), 3.69 (m, 2 H, H-6b''), 3.61 (da, 2 H, H-6b'), 3.53 (dd, 2 H, H-2''), 3.42 (dd, 2 H, H-6b), 3.26 (t, 2 H, $J_{4'',5''} = 9.9$ Hz, H-4''), 2.10, 2.09, 2.04, 2.02, 2.00, 1.98 (6 s, 36 H, 12 MeCO).

^{13}C RMN (125.7 MHz, MeOD, 323 K): δ 184.1, 184.0 (CS), 170.5, 169.7, 169.6, 169.5 (CO), 95.0 (C-1"), 91.3 (C-1, C-1'), 72.8 (C-3"), 71.9 (C-2"), 71.6 (C-4"), 71.1 (C-5"),

70.1 (C-2, C-2'), 70.0 (C-3, C-3'), 69.7(C-4), 69.6 (C-4'), 69.4 (C-5, C-5'), 45.6 (C-6''), 44.6 (C-6), 44.1 (C-6'), 20.7, 20.6, 20.5, 20.4 (MeCO).

Análisis calculado para: C₆₃H₉₀N₆O₃₉S₃: C 45.81, H 5.49, N 5.09. Encontrado: C 45.65, H 5.42, N 4.96.

Tris-[N,N'-bis(6,6'-didesoxi- α,α' -trehalos-6,6'-diil)]tiourea (92):

Una disolución del compuesto **91** (51 mg, 30 μ mol) en MeOH (10 mL) se ajustó a pH 9 con disolución metanólica de MeONa M y se agitó a temperatura ambiente durante 2.5 h. Se añadió H₂O (0.5 mL) y se agitó durante 30 minutos. Se neutralizó con resina de intercambio iónico ácida Amberlite IR-120 (H⁺), se desmineralizó con resina de intercambio iónico mixta Duolite MB-6113 (H⁺,OH⁻), se filtró y se concentró.

Rend.: 29 mg (82%); R_f = 0.39 (BuOH/AcOH/H₂O 2:1:1); [α]_D = +60.0° (c 1.0, H₂O).

¹H RMN (500 MHz, D₂O, 313 K): δ 5.47 (d, 6 H, J_{1,2} = 3.8 Hz Hz, H-1), 4.27 (ddd, 6 H, J_{4,5} = 9.8 Hz, J_{5,6b} = 7.0 Hz, J_{5,6a} = 2.9 Hz, H-5), 4.24 (m, 6 H, H-6a), 4.18 (t, 6 H, J_{2,3} = J_{3,4} = 9.8 Hz, H-3), 4.03 (m, 6 H, H-6b), 3.99 (dd, 6 H, H-2), 3.71 (t, 6 H, H-4).

¹³C RMN (125.7 MHz, D₂O, 323 K): δ 183.7 (CS), 95.5 (C-1), 74.2 (C-2), 72.9 (C-3, C-4, C-5), 46.8 (C-6).

Análisis calculado para: C₃₉H₆₆N₆O₂₇S₃: C 40.83, H 5.80, N 7.32. Encontrado: C 40.51, H 5.88, N 7.25.

5. CONCLUSIONES

5. CONCLUSIONES.

PRIMERA- La adición nucleófila de derivados de β -CD incorporando uno o siete grupos amino en posición primaria a glicosil isotiocianatos peracetilados proporciona una metodología eficiente de acceso a conjugados mono- y heptaantenados, respectivamente. La reacción de acoplamiento se completa, en general, en pocos minutos en piridina (conjugados monovalentes) o en acetona/agua a pH 8 (conjugados heptavalentes) y la purificación del aducto puede efectuarse mediante cromatografía en columna de gel de sílice incluso para el caso de estructuras 21-sacarídicas. La etapa subsiguiente de desacetilación transcurre con rendimiento cuantitativo. Además, el procedimiento es compatible con isotiocianatos unidos a grupos alquilo o arilo. Todos los neoglicoconjugados preparados mostraron una solubilidad en agua entre 25 y 40 veces superior a la de la β -ciclodextrina canónica, incrementan la solubilidad en agua del Taxotère, un potente antimitótico derivado del taxol y mostraron una significativa disminución (en torno al 75%) en su carácter hemolítico en comparación con la β -ciclodextrina comercial lo que los hace buenos candidatos como sistemas de transporte específico de medicamentos.

SEGUNDA- La anomerización parcial observada para las α - y β -D-manopiranosiltiureas bajo las condiciones básicas de desacetilación de Zemplén puede evitarse efectuando la desprotección a 0 °C, lo que permite obtener compuestos desprotegidos configuracionalmente estables en ausencia de base. La aplicación de esta metodología a derivados aminados de β -ciclodextrina permite obtener los correspondientes conjugados manosa—(tiourea)— β -CD, adecuados para estudios de asociación con la lectina Concanavalina A.

TERCERA- Los estudios de afinidad de los conjugados manosa—(tiourea)— β -CD mono y heptavalentes hacia la Concanavalina A, siguiendo el protocolo ELLA, indican que la lectina no muestra selectividad anomérica entre ligandos de α - o β -D-manopiranosiltioureas lo que excluye una disminución en la afinidad debida a posibles procesos de anomerización. En cambio, los derivados con ligandos de manosa unidos a través de la posición primaria (C-6) presentan una afinidad mucho menor y no son adecuados para la vectorización de fármacos. Aunque la presencia del puente intersacarídico de tiourea origina una ligera pérdida de afinidad por la lectina en comparación con los enlaces *O*-glicosídicos, este efecto queda compensado en los conjugados monovalentes por la existencia de interacciones estabilizantes debidas a la presencia del anillo de ciclodextrina. En el caso de los aductos persustituidos, a pesar del aumento de la densidad de ligando manosilado, se observa una pérdida de afinidad por la lectina debido, probablemente a un acceso más impedido al sitio activo.

CUARTA- Para la preparación de conjugados ciclodextrina-glicodendrimeros se han examinado las metodologías sintéticas convergente y divergente teniendo como etapa clave en ambos casos la formación de un grupo tiourea. Se han empleado como elementos de base la monoamina de β -CD, el cloruro de 6-azidohexanoilo como espaciador y el 2-amino-1,3-di-*terc*-butoxicarbonilaminopropano como elemento de ramificación. Como motivos de reconocimiento se han utilizado el 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-manopiranosil isotiocianato y un marcador manosilado trivalente. Con estas unidades de base hemos preparado una serie de neoglicoconjugados manosilados di, tri, tetra, y hexavalentes y hemos evaluado su afinidad por la Con A utilizando el protocolo ELLA. La afinidad por la lectina aumenta, en general, con la valencia. La presencia del anillo de ciclodextrina origina interacciones adicionales con la proteína que aumentan la afinidad. Es notable que la afinidad de la asociación ligando manosilado-Con A aumenta fuertemente con la presencia de grupos de tres subunidades de manosa.

QUINTA- Se ha optimizado la autocondensación de isotiocianatos para obtener tioureas simétricas y se ha empleado esta metodología para la preparación de receptores bidentados por enlace de hidrógeno derivados de azúcar. El análisis de la capacidad de complejación de estos receptores frente a carboxilatos indica que esta es relativamente independiente de las propiedades conformacionales del receptor, es decir, de la proporción de conformero activo, y parece depender más de la naturaleza de los sustituyentes en el sitio de unión y de las interacciones intramoleculares que puedan competir con la formación de enlaces de hidrógeno intermoleculares.

SEXTA- Se han estudiado las propiedades de complejación de receptores politioureidos derivados de carbohidrato frente a huéspedes aniónicos y neutros, tomando como modelos el anión glutarato y el octil β -D-glucopiranosido. Hemos escogido sistemas con simetría C_{2v} , para promover interacciones de tipo cooperativo y facilitar el análisis estructural. En el diseño se han empleado segmentos complementarios de ambos huéspedes (*p*-xililen bis(tiourea)) y se han incorporado otros segmentos (*m*-xililen bis(tiourea)) que favorezcan la creación de una cavidad más profunda. En el caso de ligandos aniónicos, donde las interacciones por enlace de hidrógeno son fuertes, la estequiometría y las K_{as} de los complejos resultaron fuertemente dependientes de la disposición de los motivos de reconocimiento en el receptor. Sin embargo, en el caso de ligandos glicosídicos, donde las interacciones son débiles, la contribución a la energía de complejación debida a una superficie de contacto máxima es muy superior a la asociada al cambio de conformación entre los estados libre y enlazado del receptor.

SÉPTIMA- La autocondensación de diisotiocianatos, en combinación con el acoplamiento de diisotiocianatos y diaminas derivadas de la trehalosa, constituye una estrategia muy conveniente de síntesis de macrociclos híbridos de trehalosa y tiourea (ciclotrehalinas) de diferentes tamaños. Esta familia de pseudooligosacáridos conservan las características esenciales de las CDs (alta simetría, solubilidad en agua y una cavidad

relativamente hidrófoba). Se ha comprobado que la capacidad de inclusión de moléculas apolares dentro de la cavidad se conserva, midiendo K_{as} del orden de las descritas para las CDs. Sin embargo, al contrario que en estas, es la cara β del azúcar la dispuesta hacia el interior de la cavidad por lo que constituyen herramientas complementarias para el estudio de eventos de reconocimiento molecular que impliquen carbohidratos.

6. BIBLIOGRAFÍA

6. BIBLIOGRAFÍA.

[1] (a) H.-C. Siebert, C.-W. von der Lieth, M. Gilleron, G. Reuter, J. Wittmann, J. F. G. Vliegthart y H.-J. Gabius, en *Glycosciences, Status and Perspectives* (Eds. H.-J. Gabius y S. Gabius), Chapman & Hall, Weinheim, **1997**, pp. 291-310; (b) R. Dwek, *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 683-720; (c) M. Fukuda, *Bioorg. Med. Chem.* **1995**, *3*, 207-215; (d) A. Varki, *Glycobiology* **1993**, *3*, 97-130.

[2] (a) R. T. Lee y Y. C. Lee in *Glycosciences, Status and Perspectives* (Eds. H.-J. Gabius y S. Gabius), Chapman & Hall, Weinheim, **1997**, pp. 55-77; (b) Y. C. Lee, R. T. Lee, *Acc. Chem. Res.* **1995**, *28*, 321-327; (c) R. T. Lee y Y. C. Lee en *Neoglycoconjugates: Preparations and Applications* (Eds.: Y. C. Lee y R. T. Lee), Academic Press, San Diego, **1994**, pp. 23-50.

[3] (a) R. Roy, *Top. Curr. Chem.* **1997**, *187*, 241-274; (b) N. Nayaraman, S. A. Nepogodiev y J. F. Stoddart, *Chem. Eur. J.* **1997**, *4*, 97-104; (c) S.-K. Choi, M. Mammen y G. M. Whitesides, *Chem. Biol.* **1996**, *3*, 97-104; (d) L. L. Kiessling y N. L. Pohl, *Chem. Biol.* **1996**, *3*, 71-77; (e) R. Roy, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1996**, *6*, 692-702; (f) N. V. Bovin y H.-J. Gabius, *Chem. Soc. Rev.* **1995**, 413-421; (g) R. Roy, en *Carbohydrate Chemistry* (Ed.: G.-J. Boons), Blackie Academic & Professional, London, **1998**, pp. 243-321; (h) T. K. Lindhorst, en *Bioorganic Chemistry. Highlights and new Aspects* (Eds.: U. Diederichsen, T. K. Lindhorst, B. Westermann y L. A. Wessjohann), Wiley-VCH, Weinheim, **1999**, pp.133-159; (i) M. Mammen, S.-K. Choi y G. M. Whitesides, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1998**, *37*, 2754-2794; (j) S. L. Flitsch, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2000**, *4*, 619-625.

[4] (a) R. A. Laine, *Pure Appl. Chem.* **1997**, *69*, 1867-1873; (b) R. A. Laine, *Glycobiology* **1994**, *4*, 759-767.

[5] (a) C. A. Lingwood, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1998**, *2*, 695-700; (b) W. I. Weis y K. Driekramer, *Annu. Rev. Biochem.* **1996**, *65*, 441-473; (c) N. K. Vyas, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1991**, *1*, 732-740; (d) H. Lis y N. Sharon, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1991**, *1*, 741-

- 749; (e) F. A. Quijochó, *Pure Appl. Chem.* **1989**, *61*, 1293-1306; (f) F. A. Quijochó, *Annu. Rev. Biochem.* **1986**, *55*, 287-315.
- [6] A. Poveda y J. Jiménez-Barbero, *Chem. Soc. Rev.* **1998**, *27*, 133-143.
- [7] (a) S. A. Nepogodiev y J. F. Stoddart, en *Carbohydrate Chemistry* (Ed.: G.-J. Boons), Blackie Academic & Professional, London, **1998**, pp. 322-383; (b) K. A. Connors, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 1325-1357; (c) G. Wenz, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 851; *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 803-822; (d) J. Szejtli, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1743-1753.
- [8] G. Gattuso, S. A. Nepogodiev y J. F. Stoddart, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1919-1958.
- [9] (a) A. P. Davis, y R. S. Wareham *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1999**, *38*, 2978-2996; (b) J. Haseltine y T. J. Doyle, en *Organic Synthesis: Theory and Applications* (Ed.: T. Hudlicky), JAI Press, Greenwich, **1996**, Vol. 3, pp. 85-107.
- [10] (a) K.-H. Frömming, en *Comprehensive Supramolecular Chemistry* (Eds.: J. L. Atwood, J. E. D. Davies, D. C. MacNicol y F. Vögtle), Pergamon, Oxford, **1996**, Vol. 3, pp. 57-188; (b) K. Uekama, F. Hirayama y T. Irie, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 2045-2076; (c) T. Loftsson y M. E. Brewster, *J. Pharm. Sci.* **1996**, *85*, 1017-1025; (d) J. Szejtli, *Med. Res. Rev.* **1994**, *14*, 353-386.
- [11] L. Jicsinsky, E. Fenyvesi, H. Hashimoto y A. Ueno, *Cyclodextrin Derivatives en Comprehensive Supramolecular Chemistry* (Eds.: J. Szejtli y T. Osa), Pergamon, Oxford, **1996**, Vol. 3, pp. 57-.
- [12] (a) S. Kitahata, K. Fujita, Y. Takagi, K. Hara, H. Hashimoto, T. Tanimoto y K. Koizumi, *Biosci. Biotech. Biochem.* **1992**, *56*, 242-245; (b) S. Kitahata, K. Hara, N. Kuwahara y K. Koizumi, *Biosci. Biotech. Biochem.* **1992**, *56*, 1518; (c) K. Koizumi, T. Tanimoto, K. Fujita, K. Hara, N. Kuwahara y S. Kitahata, *Carbohydr. Res.* **1993**, *238*, 75-91; (d) T. Shinoda, A. Maeda, S. Kagatani, Y. Konno, T. Sonobe, M. Fukui, H. Hashimoto, K. Hara y K. Fujita, *Int. J. Pharm.* **1998**, *167*, 147-154.
- [13] K. Hara, K. Fujita, H. Nakano, N. Kuwahara, T. Tanimoto, H. Hashimoto, K. Koizumi y S. Kitahata, *Biosci. Biotech. Biochem.* **1994**, *58*, 60.
- [14] P. Fügedi, P. Nánási y J. Szejtli, *Carbohydr. Res.* **1988**, *175*, 173-181.

- [15] A. R. Khan, P. Forgo, K. J. Stine y V. T. D'Souza, *Chem. Rev.* **1998**, 98, 1977-1996.
- [16] R. C. Petter, J. S. Salek, C. T. Sikorski, G. Kumaravel y F. T. Lin, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 3860-3868.
- [17] (a) J. Defaye, A. Gadelle, A. Guiller, R. Darcy y T. O'Sullivan, *Carbohydr. Res.* **1989**, 192, 251-258; (b) V. Lainé, A. Coste-Sarguet, A. Gadelle, J. Defaye, B. Perly y F. Djedaini-Pillard, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **1995**, 1479-1487.
- [18] (a) S. Cottaz y H. Driguez, *Synthesis* **1989**, 755-758; (b) H. Driguez y C. Lancelon-Pin, *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 3125.
- [19] N. Yasuda, N. Aoki, H. Abe y K. Hattori, *Chem. Lett.* **2000**, 706-707.
- [20] (a) H. Parrot-Lopez, H. Galons, A. W. Coleman, J. Mahuteau y M. Miocque, *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 209; (b) H. Parrot-Lopez, E. Leray y A. W. Coleman, *Supramol. Chem.* **1993**, 3, 37; (c) R. Kasab, C. Félix, H. Parrot-Lopez y R. Bonaly, *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 7555.
- [21] E. Leray, H. Parrot-Lopez, C. Augé, A. W. Coleman, C. Finance y R. Bonaly, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1995**, 1019.
- [22] K. Matsuda, T. Inazu, K. Haneda, M. Mizuno, T. Yamanoi, K. Hattori y K. Yamamoto, H. Kumagai, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, 18, 2353.
- [23] H. Imata, K. Kubota, K. Hattori, M. Aoyagi y C. Jindoh, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, 7, 109.
- [24] J. M. García Fernández, C. Ortiz Mellet, S. Maciejewski y J. Defaye, *Chem. Commun.* **1996**, 2741-2742.
- [25] (a) L. De Robertis, C. Lancelon-Pin, H. Driguez, F. Attioni, R. Bonaly y A. Marsura, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1994**, 4, 1127-1130; (b) J. J. García-López, F. Hernández-Mateo, J. Isac-García, J. M. Kim, R. Roy, F. Santoyo-González y A. Vargas-Berenguel, *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 522-531; (c) T. Furuike, S. Aiba y S. -I. Nishimura, *Tetrahedron* **2000**, 56, 9909-9915.
- [26] J. J. García-López, F. Santoyo-González, A. Vargas-Berenguel y J. J. Giménez Martínez, *Chem. Eur. J.* **1999**, 5, 1775-1784.

- [27] F. G. Calvo-Flores, J. Isac-García, F. Hernández-Mateo, F. Pérez-Balderas, J. A. Calvo-Asín, E. Sánchez-Vaquero y F. Santoyo-González, *Org. Lett.* **2000**, *2*, 2499-2502.
- [28] D. A. Fulton y J. F. Stoddart, *Org. Lett.* **2000**, *2*, 1113-1116.
- [29] M. Ichikawa, A. S. Woods, H. Mo, I. J. Golstein y Y. Ichikawa, *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, *11*, 389-392.
- [30] F. Attioni, A. Al-Omar, E. Leray, H. Parrot-Lopez, C. Finance y R. Bonaly, *Biol. Cell* **1994**, *82*, 161-167.
- [31] (a) S. Hakomori y Y. Zhang, *Chem. Biol.* **1997**, *4*, 97-104; (b) N. V. Bovin en *Glycosciences, Status and Perspectives* (Eds. H.-J. Gabius, S. Gabius), Chapman & Hall, Weinheim, **1997**, pp. 277-289; (c) D. Spillmann y M. Burger, *J. Cell. Biochem.* **1996**, *61*, 562-568; (d) U. Dammer, O. Popescu, P. Wagner, D. Anselmetti, H.-J. Güntherodt y G. Misevic, *Science* **1995**, *267*, 1173-1175; (e) D. Spillmann, *Glycoconjugate J.* **1994**, *11*, 169-171.
- [32] (a) R. T. Lee y Y. C. Lee, *Bioconjugate Chem.* **1997**, *8*, 762-765, y referencias contenidas; (b) U. Sprengard, M. Schudok, W. Schmidt, G. Kretzschmar y H. Kunz, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 359-362; *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 321-324.
- [33] (a) C. M. Reichert, C. E. Hayes y I. J. Goldstein, *Methods Enzymol.* **1994**, *242*, 108-116; (b) E. Kallin, *Methods Enzymol.* **1994**, *242*, 119-123; (c) C. R. McBroom, C. H. Samanen y I. J. Goldstein, *Methods Enzymol.* **1972**, *28B*, 212-219.
- [34] (a) T. K. Lindhorst y C. Kieburg, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 2083-2086; *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 1953-1956; (b) C. Kieburg y T. K. Lindhorst, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 3885-3888; (c) C. Kieburg, M. Dubber y T. K. Lindhorst, *Synlett* **1997**, 1447-1449; (d) D. Pagé, S. Aravind y R. Roy, *Chem. Commun.* **1996**, 1913-1914; (e) D. Pagé y R. Roy, *Glycoconjugate J.* **1997**, *14*, 345-356; (f) D. Pagé y R. Roy, *Bioconjugate Chem.* **1997**, *8*, 714-723.
- [35] J. M. García Fernández, C. Ortiz Mellet, V. M. Díaz Pérez, J. L. Jiménez Blanco y J. Fuentes, *Tetrahedron*, **1996**, *52*, 12947-12970.

- [36] M. Bost, V. Lainé, F. Pilard, A. Gadelle, J. Defaye y B. Perly, *J. Incl. Phenom.* **1997**, 29, 57-63.
- [37] (a) K. Chmusrki y J. Defaye, *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 7365-7368; (b) J. M. García Fernández, C. Ortiz Mellet, J. L. Jiménez Blanco, J. Fuentes, A. Gadelle, A. Coste-Sarguet y J. Defaye, *Carbohydr. Res.* **1995**, 268, 57-71; (c) A. Gadelle y J. Defaye, *Angew. Chem.* **1991**, 103, 94; *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1991**, 30, 78-80.
- [38] A. Lubineau, J. Augé y B. Drouillet, *Carbohydr. Res.* **1995**, 266, 211-219.
- [39] (a) J. M. García Fernández y C. Ortiz Mellet, *Sulfur Reports* **1996**, 19, 61-169; (b) J. M. García Fernández y C. Ortiz Mellet, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **2000**, 55, 35-135; (c) T. K. Lindhorst y C. Kieburg, *Synthesis* **1995**, 1228-1230; (d) C. Ortiz Mellet, J. L. Jiménez Blanco, J. M. García Fernández y J. Fuentes, *J. Carbohydr. Chem.* **1993**, 12, 487-505.
- [40] (a) J. M. García Fernández, C. Ortiz Mellet, V. M. Díaz Pérez, J. L. Jiménez Blanco y J. Fuentes, *Tetrahedron* **1996**, 52, 12947-12970; (b) J. M. García Fernández, J. L. Jiménez Blanco, C. Ortiz Mellet y J. Fuentes, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1995**, 57-58; (c) C. Ortiz Mellet, A. Moreno Marín, J. L. Jiménez Blanco, J. M. García Fernández y J. Fuentes, *Tetrahedron: Asymmetry* **1994**, 5, 2325-2334.
- [41] K. Bock, C. Pedersen y H. Pedersen, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1984**, 42, 193-225.
- [42] K. Bock y J. Ø. Duus, *J. Carbohydr. Chem.* **1994**, 13, 513-543.
- [43] A. Matsushita, T. Kuwabara, A. Nakamura, H. Ikeda y A. Ueno, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1997**, 1705-1710.
- [44] P. Potier, *Chem. Soc. Rev.* **1992**, 21, 113-119.
- [45] J. Defaye, B. Perly, V. Descamps, A. Coste-Sarguet y A. Gadelle, (CEA/CNRS), FR 94 00778, **1994**; *Chem. Abstr.* **1995**, 123, 260255s.
- [46] (a) E.-F. Fuchs y J. Lehmann, *Chem. Ber.* **1975**, 108, 2254-2260; (b) E.-F. Fuchs y J. Lehmann, *Carbohydr. Res.* **1975**, 45, 135-141; (c) E.-F. Fuchs y J. Lehmann,

- Carbohydr. Res.* **1976**, *49*, 267-273; (d) J. Yoshimura, H. Ando, T. Sato, S. Tsuchida y H. Hashimoto, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1976**, *49*, 2511-2514.
- [47] (a) C. Müller, E. Kitas y H. P. Wessel, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1995**, 2425-2426; (b) H. P. Wessel, C. M. Mitchell, C. M. Lobato y G. Schmid, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 2712-2713; (c) Y. Suhara, J. E. K. Hildreth y Y. Ichikawa, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 1575-1578.
- [48] (a) J. Gervay, T. M. Flaherty y C. Nguyen, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 1493-1496. (b) P. S. Ramamoorthy y J. Gervay, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 7801-7805; (c) S. Sabesan, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 3127-3130; (d) R. A. Goodnow Jr., S. Tam, D. L. Pruess y W. W. McComas, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 3199-3202. (e) R. A. Goodnow Jr., A.-R. Richou y S. Tam, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 3195-3198.
- [49] S.-I. Nishimura, S. Nomura y K. Yamada, *Chem. Commun.*, **1998**, 617-618.
- [50] (a) G. Baish y R. Örhlein, *Bioorg. Med. Chem.* **1998**, *6*, 1673-1682; (b) G. Baish y R. Örhlein, *Carbohydr. Res.* **1998**, *312*, 61-72.
- [51] (a) D. D. Long, M. D. Smith, D. G. Marquess, T. D. W. Claridge y G. W. J. Fleet, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 9293-9296; (b) M. D. Smith, D. D. Long, D. G. Marquess, T. D. W. Claridge y G. W. J. Fleet, *Chem. Commun.* **1998**, 2039-2040; (c) M. D. Smith, T. D. W. Claridge, G. E. Tranter, M. S. P. Sansom y G. W. J. Fleet, *Chem. Commun.* **1998**, 2041-2042; (d) D. D. Long, N. L. Hungerford, M. D. Smith, D. E. A. Brittain, D. G. Marquess, T. D. W. Claridge y G. W. J. Fleet, *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 2195-2198; (e) T. D. W. Claridge, D. D. Long, N. L. Hungerford, R. T. Aplin, M. D. Smith, D. G. Marquess y G. W. J. Fleet, *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 2199-2202.
- [52] I. McCort, A. Duréault y J.-C. Depezay, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 4463-4466.
- [53] C. M. Timmers, J. J. Turner, C. M. Ward, G. A. van der Marel, M. L. C. E. Kouwijzer, P. D. J. Grootenhuis y J. H. van Boom, *Chem. Eur. J.* **1997**, *3*, 920-929.
- [54] K. C. Nicolaou, H. Flörke, M. G. Egan, T. Barth y V. A. Estevez, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 1775-1778.
- [55] Z. J. Witczak, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1986**, *44*, 91-145.

- [56] C. Ortiz Mellet, J. M. Benito, J. M. García Fernández, H. Law, K. Chmurski, J. Defaye, M. L. O'Sullivan y H. N. Caro, *Chem. Eur. J.* **1998**, *4*, 2523-2531.
- [57] J. Defaye, C. Ortiz Mellet y J. M. García Fernández, WO Pat. 9733919, FR 96-3221, **1996**; *Chem. Abstr.* **1997**, *127*, 264489.
- [58] (a) T. K. Lindhorst y C. Kieburg, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1997**, *127*, 1953-1956; (b) C. Kieburg, M. Dubber y T. K. Lindhorst, *Synlett* **1997**, 1447-1449; (c) K. Bezouska, V. Kren, C. Kieburg y T. K. Lindhorst, *FEBS Lett.*, **1998**, *426*, 243-247; (d) B. König, T. Fricke, A. Wassmann, U. Krallmann-Wenzel y T. K. Lindhorst, *Tetrahedron Lett.*, **1998**, *39*, 2307-2310.
- [59] (a) M. J. Camarasa, P. Fernández-Resa, M. T. García-López, F. G. de las Heras, P. P. Méndez-Castrillón y A. San Felix, *Synthesis* **1984**, 509-510; (b) J. M. Benito, C. Ortiz Mellet, K. Sadalapure, T. K. Lindhorst, J. Defaye y J. M. García Fernández, *Carbohydr. Res.* **1999**, *320*, 37-48.
- [60] J. M. García Fernández, C. Ortiz Mellet y J. Fuentes, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 5192-5199.
- [61] I. Tvaroska y F. R. Tavel, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1995**, *51*, 15-61.
- [62] F. G. Bordwell, D. J. Algrim y J. A. Harrelson, Jr., *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, *110*, 5903-5904.
- [63] (a) H. S. Isbell y H. L. Frush, *J. Org. Chem.*, *23* (1958) 1309-1319; (b) H. Paulsen y K.-W. Pflughaupt, en *The Carbohydrates, Chemistry and Biochemistry* (Eds.: W. Pigman y D. Horton), vol. 1B, pp. 881-927; (c) K. Linek, J. Alföldi y J. Defaye, *Carbohydr. Res.*, *164* (1987) 195-205.
- [64] M. T. Molina, M. Yáñez, O. Mó, R. Notario y J.- L. M. Abboud, *The Thiocarbonyl Group, in Supplement A3, The Chemistry of the Double-Bonded Functional Groups, Part 2*, (Ed.: S. Patai), John Wiley & Sons, Chichester, **1997**, pp. 1355-1496.
- [65] I. Tvaroska y T. Bleha, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1989**, *47*, 45-124.
- [66] (a) H. Lis y N. Sharon, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 637-674; (b) R. Loris, T. Hamelryck, J. Bouckaert y L. Wyns, *Biochim. Biophys. Acta* **1998**, *1383*, 9-36; (c) J. Bouckaert, T.

Hamelryck, L. Wyns y R. Loris, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1999**, *9*, 572-577; (d) M. E. Etzler, en *Carbohydrates in Chemical Biology* (Eds.: B. Ernst, G. W. Hart y P. Sinaÿ), Weinheim, **2000**, Part II, vol. 4, pp. 535-548; (e) O. Ramström y J.-M. Lehn, *CHEMBIOCHEM* **2000**, *1*, 41-48.

[67] (a) K. G. Rice, en *Glycosciences, Status and Perspectives* (Eds.: H.-J. Gabius y S. Gabius), Chapman & Hall, Weinheim, **1997**, pp. 471-483; (b) C. A. Lingwood, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1998**, *2*, 695-700; (c) T. Ouchi y Y. Ohya, en *Neoglycoconjugates: Preparation and Applications* (Eds.: Y. C. Lee y R. T. Lee), Academic Press, San Diego, **1994**, pp. 465-499; (d) B. G. Davies, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1999**, 3215-3237; (e) J. M. Rini y Y. D. Lobsanov, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1999**, *9*, 578-584; (f) K. Drickamer y M. E. Taylor, *Annu. Rev. Cell Biol.* **1993**, *9*, 237-264; (g) H. D. Ward, en *Glycosciences, Status and Perspectives* (Eds.: H. J. Gabius y S. Gabius), Chapman & Hall, Weinheim, **1997**, pp. 399-413.

[68] (a) I. J. Goldstein y R. D. Poretz en *The Lectins: Properties, Functions and Applications in Biology and Medicine* (Eds.: N. Sharon y I. J. Goldstein), Academic Press, Orlando, **1986** pp. 33-247; (b) R. D. Poretz y I. J. Goldstein, *Biochemistry* **1970**, *9*, 2890-2896.

[69] (a) T. K. Lindhorst, en *Bioorganic Chemistry. Highlights and Perspectives* (Eds.: U. Diederichsen, T. K. Lindhorst, B. Westermann y L. A. Wessjohann), Wiley-VCH, Weinheim, **1999**, pp.133-150; (b) Y. Kim y S. Zimmerman, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1998**, *2*, 733-742; (c) C. Saitz-Barría, A. Torres-Pinedo y F. Santoyo-González, *Synlett* **1999**, 1891-1894.

[70] (a) N. Sharon y H. Lis, *FASEB J.* **1990**, *4*, 3198-3208; (b) F. G. Loontjens, J. P. Van Wauwe, R. De Gussem y C. K. De Bruyne, *Carbohydr. Res.* **1973**, *30*, 51-62; (c) R. D. Poretz y I. J. Goldstein, *Biochem. Pharmacol.* **1971**, *20*, 2727-2739.

[71] S. Kötter, U. Krallmann-Wenzel, S. Ehlers y T. K. Lindhorst, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1998**, 2193-2200.

[72] I. Ofek, *Methods Enzymol.* **1995**, *253*, 528-537.

- [73] (a) R. Roy, D. Pagé, S. Figueroa Pérez y V. Vérez-Bencomo, *Glycoconjugate J.* **1998**, *15*, 251-263; (b) D. Pagé, D. Zanini y R. Roy, *Bioorg. Med. Chem.* **1996**, *4*, 1949-1961; (c) D. Pagé y R. Roy, *Bioconjugate Chem.* **1997**, *8*, 714-723; (d) P. R. Ashton, E. F. Hounsell, N. Jayaraman, T. M. Nilsen, N. Spencer, J. F. Stoddart y M. Young, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 3429-3437.
- [74] J. B. Corbell, J. J. Lundquist y E. Toone, *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, *11*, 95-111.
- [75] H. Kaku, I. J. Goldstein y S. Oscarson, *Carbohydr. Res.* **1991**, *213*, 109-116.
- [76] C. P. Swaminathan, N. Surolia y A. Surolia, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 5153-5159.
- [77] (a) Z. Derewenda, J. Yariv, J. R. Helliwell, A. J. Kalb (Gilboa), E. Dodson, M. Paiz, T. Wan y J. W. Campbell, *EMBO J.* **1989**, *8*, 2189-2193; (b) J. H. Naismith, C. Emmerich, J. Habash, S. J. Harrop, J. R. Helliwell, W. N. Hunter, J. Raferty, A. J. Kalb (Gilboa) y J. Yariv, *Acta Crystallogr. Sect. D* **1994**, *50*, 847-858; (c) J. H. Naismith y R. A. Field, *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 972-976; (d) R. Loris, D. Maes, F. Poortmans, L. Wyns y J. Bouckaert, *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 30614-30618.
- [78] B. T. Houseman y M. Mrksich, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1999**, *38*, 782-785.
- [79] a) J. D. Baldeschwieler, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1985**, *446*, 349-367; b) K. Tagawa, N. Sendai, K. Ohno, T. Kawaguchi, H. Kitano, *Bioconjugate Chem.* **1999**, *10*, 354-360.
- [80] N. Yasuda, N. Aoki, H. Abe, K. Hattori, *Chem. Lett.* **2000**, 706-707.
- [81] I. Baussanne, J. M. Benito, C. Ortiz Mellet, J. M. García Fernández, H. Law, J. Defaye, *Chem. Commun.* **2000**, 1489-1490.
- [82] T. K. Lindhorst, en *Carbohydrate Chemistry and Glycobiology* (Eds.:) pp. 132-150.
- [83] (a) Y. C. Lee, *Carbohydr. Res.* **1978**, *67*, 509-514; (b) R. T. Lee y Y. C. Lee, *Methods Enzymol.* **1987**, *138*, 424-429.
- [84] R. Roy, D. Zanini, J. Meunier, A. Romanowska, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1993**, 1869-1890.
- [85] P. R. Ashton, S. E. Boyd, C. L. Brown, N. Jayaraman, S. A. Nepogodiev y J. F. Stoddart, *Chem. Eur. J.* **1996**, *2*, 1115-1128.

- [86] C. Kieburg y T. K. Lindhorst, *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 3885-3888.
- [87] D. Charon, M. Mondange, J. -F. Pons, K. Le Blay y R. Chaby, *Bioorg. Med. Chem.* **1998**, 6, 755-765.
- [88] E. Benoist, A. Loussouarn, P. Remaud, J. -F Chatal y J. -F. Gestin, *Synthesis* **1998**, 1113-1118.
- [89] E. Fan, S. A. Van Arman, S. Kincaid y A. D. Hamilton, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 369-370.
- [90] J. A. Haushalter, J. Lau y J. D. Roberts, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 8891-8896.
- [91] (a) M. S. Goodman, V. Jubian, B. Linton y A. D. Hamilton, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 11610-11611; (b) B. R. Linton, M. S. Goodman y A. D. Hamilton, *Chem. Eur. J.* **2000**, 6, 2449-2455.
- [92] C. S. Wilcox, E. Kim, D. Romano, L. H. Kuo, A. L. Burt y D. P. Curran, *Tetrahedron.* **1995**, 51, 621-634.
- [93] (a) S. Ameniya, P. Bühlmann y Y. Umezawa, *Chem. Commun.* **1987**, 1027-1028; (b) S. Nishizawa, H. Kaneda, T. Uchida y N. Teramae, *J. Chem. Soc., Perkin Trans 2* **1998**, 2325-2327.
- [94] (a) P. Bühlmann, S. Nishizawa, K. P. Xiao y Y. Umezawa, *Tetrahedron* **1997**, 53, 1647-1654; (b) S. Nishizawa, P. Bühlmann, M. Iwao y Y. Umezawa, *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 6483-6486.
- [95] (a) Y. Tobe, S. Sasaki, M. Mizuno, K. Hirose y K. Noemura, *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 7481-7489; (b) Y. Tobe, S. Sasaki, K. Hirose y K. Noemura, *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 4791-4794.
- [96] (a) J. Scheerder, M. Fochi, J. F. J. Engbersen y D. N. Reinhoudt, *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 7815-7820; (b) J. Scheerder, R. V. Vreekamp, J. F. J. Engbersen, W. Verboom, J. P. M. Van Duynhoven y D. N. Reinhoudt, *J. Org. Chem.* **1996**, 61, 3476-3481; (c) J. W. M. Nissink, H. Boerrigter, W. Verboom, D. N. Reinhoudt y J. H. Van der Maas, *J. Chem. Soc., Perkin Trans 2* **1998**, 1671-1675; (d) J. W. M. Nissink, H. Boerrigter, W. Verboom, D. N. Reinhoudt y J. H. Van der Maas, *J. Chem. Soc., Perkin Trans 2* **1998**,

- 2623-2630; (e) H. Boerrigter, L. Grave, J. W. M. Nissink, L. A. J. Chrisstoffels, J. H. Van der Maas, W. Verboom, F. De Jong y D. N. Reinhoudt, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 4174-4180; (f) M. M. G. Antonisse, J. F. J. Engbersen, P. Timmerman y D. N. Reinhoudt, *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 165-170.
- [97] L. A. J. Chrisstoffels, F. De Jong, D. N. Reinhoudt, S. Sivelli, L. Gazzola, A. Cainati y R. Ungaro, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 10142-10151.
- [98] T. Tozawa, Y. Misawa, S. Tokita y Y. Kubo, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 5219-5223.
- [99] A. V. Bogatsky, N. G. Lukyanenko y T. I. Kirichenko, *Zh. Org. Khim.* **1980**, *16*, 1301-1307.
- [100] N. G. Lukyanenko, T. I. Kirichenko y V. V. Limich *Synthesis* **1986**, 928-930.
- [101] G. J. Pernía, J. D. Kilburn y M. Rowley, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1995**, 305-306.
- [102] G. J. Pernía, J. D. Kilburn, J. W. Essex, R. J. Mortishire-Smith y M. Rowley, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 10220-10227.
- [103] V. Jullian, E. Shepherd, T. Gelbrich, N. B. Hursthouse y J. D. Kilburn, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 3963-3966.
- [104] (a) Y. Tobe, S. Sasaki, M. Mizumo y K. Naemura, *Chem. Lett.* **1998**, 835-836; (b) S. Sasaki, M. Mizumo, K. Naemura, Y. Tobe, *J. Org. Chem.* **2000**, 275-283.
- [105] R. Gross, G. Dürner y M. W. Göbel, *Liebigs Ann. Chem.* **1994**, 49-58.
- [106] K. Lee y J. Hong, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 6083-6087.
- [107] J. L. Jiménez Blanco. Tesis Doctoral, Universidad de Sevilla, **1996**.
- [108] (a) A. F. Hegarty y L. J. Drennan, en *Comprehensive Organic Functional Group Transformations* (Eds.: A. R. Katritzky, O. Meth-Cohn y T. L. Gilchrist), Pergamon, Cambridge (UK), vol. 6, **1995**, pp. 499; (b) J. Barluenga, E. Rubio M. Tomás, en *Comprehensive Organic Functional Group Transformations* (Eds.: A. R. Katritzky, O. Meth-Cohn y T. L. Gilchrist), Pergamon, Cambridge (UK), vol. 6, **1995**, pp. 569-585; (c) F. Bigi, R. Maggi, G. Sartori y E. Zambonin, *Chem. Commun.* **1998**, 513-514; (d) M.

- Ballabeni, R. Ballini, F. Bigi, R. Maggi, M. Parrini, G. Predieri y G. Sartori, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 1029-1032.
- [109] J. M. García Fernández, C. Ortiz Mellet, J. L. Jiménez Blanco, J. Fuentes M. Martín-Pastor y J. Jiménez-Barbero, en *Molecular Recognition and Inclusion* (Ed.: A. Coleman), Kluwer; Dordrecht (Holanda) **1998**, pp. 103.
- [110] (a) R. Babiano Caballero, J. Fuentes Mota y J. Galbis Pérez, *Carbohydr. Res.* **1986**, *154*, 250-; (b) M. Avalos, R. Babiano, P. Cintas, J. L. Jiménez, J. C. Palacios y J. Fuentes, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1990**, 495-; (c) J. Fuentes Mota, T. Cuevas, M. A. Pradera, *Carbohydr. Res.* **1994**, *260*, 137-144.
- [111] G. Tennant, en *Comprehensive Organic Chemistry* (Eds.: D. Barton, W. D. Ollis y I. O. Sutherland), Pergamon, Exeter (UK), vol. 2, **1979**, pp. 385.
- [112] C. Saitz Barría y F. Santoyo González, *9th International Symposium on Cyclodextrins*, Santiago de Compostela (España), **1998**, Abstract 2-P-35.
- [113] C. Marino, O. Varela y R. M. de Lederkremer, *Carbohydr. Res.* **1997**, *304*, 257-260.
- [114] C. Ortiz Mellet, J. L. Jiménez Blanco, J. M. García Fernández y J. Fuentes, *J. Carbohydr. Chem.* **1995**, *14*, 1133.
- [115] J. M. García Fernández, C. Ortiz Mellet, J. L. Jiménez Blanco, J. Fuentes, M. J. Diáñez, M. D. Estrada, A. López-Castro y S. Pérez-Garrido, *Carbohydr. Res.* **1996**, *296*, 55-65.
- [116] M. Avalos, R. Babiano, P. Cintas, J. L. Jiménez, J. C. Palacios y J. Fuentes, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1990**, 495-501.
- [117] (a) J. A. Smith y L. G. Pease, *CRC Crit. Rev. Biochem.* **1980**, *8*, 315-399; (b) H. Kessler, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1982**, *21*, 512-523; (c) S. B. Levery, *Glycoconjugate J.* **1991**, *8*, 484-492; (d) A. F. Spatola, M. K. Anwer, A. L. Rochwell y L. M.; Gierash, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 825-831; (e) H. Morita, T. Kayashita, K. Takeya y H. Itokawa, *Tetrahedron* **1994**, *50*, 12599-12608.

- [118] J. P. Sheridan, D. E. Martire, Y. B. Tewari, *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 3294-3298.
- [119] D. R. Bundle, R. Alibés, S. Nilar, A. Otter, M. Warwas y P. Zhang, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 5317-5318.
- [120] (a) J.-M. Lehn, *Supramolecular Chemistry. Concepts and Perspectives* (Eds.), VCH, Weinheim, **1995**; (b) H. Dugas, *Bioorganic Chemistry* (Eds.), Springer-Verlag, New York, **1996**; (c) Y. Aoyama, en *Comprehensive Supramolecular Chemistry*; (Eds.: J. L. Atwood, J. E. D. Davies, D. D. MacNicol y F. Vögtle), Pergamon, Oxford, **1996**, vol. 2, pp. 279-307; (d) C. Seel y J. de Mendoza, en *Comprehensive Supramolecular Chemistry* (Eds.: J. L. Atwood, J. E. D. Davies, D. D. MacNicol y F. Vögtle), Pergamon, Oxford, **1996**, vol. 2, pp. 519-552; (e) H. Chen, W. S. Weiner y A. D. Hamilton, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1997**, *1*, 458-466; (f) P. D. Beer y P. Schmitt, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1997**, *1*, 475-482.
- [121] (a) S. Sasaki, M. Mizuno, K. Naemura e Y. Tobe, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *65*, 275-283; (b) Y. Kubo, M. Tsukahara, S. Ishihara y S. Tokita, *Chem. Commun.* **2000**, 653-654; (c) B. H. M. Snellink-Ruël, M. M. G. Antonisse, J. F. J. Engbersen, P. Timmermann y D. N. Reinhoudt, *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 165-170; (d) M. H. Al-Sayah y N. R. Branda, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **2000**, *39*, 945-947.
- [122] (a) J. Budka, M. Tkadleková, P. Lhotáh y I. Stibor, *Tetrahedron* **2000**, *56*, 1883-1887; (b) M. Inouye, K. Takahashi y H. Nakazumi, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 341-345; (c) M. Inouye, J. Chiba y H. Nakazumi, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 8170-8176; (d) O. Rusin y V. Král, *Chem. Commun.* **1999**, 2367-2368; (e) A. P. Davis y R. S. Wareham, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1998**, *37*, 2270-2273.
- [123] (a) P. J. Loll, B. D. Bevivino, B. D. Korty y P. H. Axelsen, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 1516-1522; (b) G. J. Sharman y D. H. Williams, *Chem. Commun.* **1997**, 723-724; (c) B. Bardsley y D. H. Williams, *Chem. Commun.* **1997**, 1049-1050; (d) J. S. Albert y A. D. Hamilton, *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 7363-7366.

- [124] (a) P. Sears y C.-H. Wong, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1999**, *38*, 2300-2334; (b) W. I. Weiss y K. Drickamer, *Annu. Rev. Biochem.* **1996**, *65*, 441-473; (c) E. J. Toone, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1994**, *4*, 719-728; (d) G. A. Jeffrey, *Adv. Enzymol.* **1992**, *65*, 217-254.
- [125] (a) G. J. Pernía, J. D. Kilburn y M. Rowley, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1995**, 305-306; (b) J. Scheerder, J. F. J. Engbersen y D. N. Reinhoudt, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1996**, *115*, 307-320; (c) G. J. Pernía, J. D. Kilburn, J. W. Essex, R. J. Mortishire-Smith y M. Rowley, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 10220-10227; (d) P. Bühlmann, S. Nishizawa, K. P. Xiao e Y. Umezawa, *Tetrahedron* **1997**, *53*, 1647-1654; (e) Y. Tobe, S. Sasaki, M. Mizuno y K. Naemura, *Chem. Lett.* **1998**, 835-836;
- [126] C. M. Rienäcker, T. Klapötke, en *Supplement A3, The Chemistry of Double-Bonded Functional Groups, Part 1* (Ed.: S. Patai), John Wiley & Sons: Chichester, **1997**, pp. 309-365.
- [127] (a) S. Goswami, K. Ghosh y S. Dasgupta, *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 1907-1914; (b) J. J. Lavigne y E. V. Anslyn, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1999**, *38*, 3666-3669; (c) R. Prohens, S. Tomàs, J. Morey, P. M. Deyà, P. Ballester y A. Costa, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 1063-1066; (d) M. Takehuchi, T. Imada y S. Shinkai, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1998**, *37*, 2096-2099; (e) F. Eblinger y H. -J. Schneider, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1998**, *37*, 826-829.
- [128] J. Cuntze, L. Owens, V. Alcázar, P. Seiler y F. Diederich, *Helv. Chim. Acta* **1995**, *78*, 367-390.
- [129] (a) G. Das y A. D. Hamilton, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 11139-11140; (b) U. Neidlein, F. Diederich, *Chem. Commun.* **1996**, 1493-1494.
- [130] (a) T. Shibanuma, M. Shiono y T. Mukaiyama, *Chem. Lett.* **1977**, 573-574; (b) P. Kritián, M. Sprinzl y K. Antos, *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1965**, 3658-3663.
- [131] J. Smith, J. L. Lira, S. E. Schneider y E. V. Anslyn *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 8811-8818.

- [132] V. M. Díaz Pérez, C. Ortiz Mellet, J. Fuentes, J. M. García Fernández, *Carbohydr. Res.* **2000**, *326*, 161-175.
- [133] K. A. Haushalter, J. Lau y J. D. Roberts, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 8891-8896.
- [134] C. S. Wilcox, en *Frontiers in Supramolecular Chemistry and Photochemistry* (Ed.: H. J. Schneider y H. Durr), VCH, Weinheim, **1991**, pp. 123.
- [135] D. M. Kneeland, K. Ariga, V. M. Linch, C. -Y. Huang y E. V. Anslyn, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 10042-10055.
- [136] C. -Y. Huang, L. A. Cabell y E. V. Anslyn, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 2778-2792.
- [137] (a) N. Navarre, N. Amiot, A. Van Oijen, A. Imberty, A. Poveda, J. Jiménez-Barbero, A. Cooper, M. A. Nutley y G. -J. Boons, *Chem. Eur. J.* **1999**, *5*, 2281-2294; (b) Wacowich-Sgarbi y D. R. Bundle, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 9080-9089; (c) R. Alibés y D. R. Bundle, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 6288-6301.
- [138] (a) P. R. Ashton, C. L. Brown, S. Menzer, S. A. Nepogodiev, J. F. Stoddart, y J. D. Williams, *Chem. Eur. J.* **1996**, *2*, 580-591; (b) M. C. Kasuya y K. Hatanaka, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 9719-9722; (c) P. Cescutti, J.-P. Utille y R. Rizzo, *Carbohydr. Res.* **2000**, *329*, 647-653; (d) G. M. Bradbrook, K. Gessler, C. L. Côté, F. Momany, P. Biely, P. Bordet, S. Pérez y A. Imberty, *Carbohydr. Res.* **2000**, *329*, 655-665; (e) A. Dondoni, A. Marra, M.-C. Scherrmann y V. Bertolasi, *Chem. Eur. J.* **2001**, *7*, 1371-1382.
- [139] (a) R. R. Bukownik y C. Wilcox, *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 463-471; (b) J. Jiménez-Barbero, E. Junquera, M. Martín-Pastor, S. Sharma, C. Vicent y S. Penadés, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 11198-11204; (c) P. B. Savage, W. D. Thomas y N. K. Dalley, *J. Incl. Phenom. Mol. Recognit. Chem.* **1997**, *29*, 335-343; (d) J. C. Morales y S. Penadés, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1998**, *37*, 654-657; (e) J. C. Morales, D. Zurita y S. Penadés, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 9212-9222; (f) P. Y. Chong y P. A. Petillo, *Org. Lett.* **2000**, *2*, 1093-1096.
- [140] (a) F. Faltin, V. Fehring, R. Kadirov, A. Arrieta, T. Schareina, R. Selke y R. Mietchen, *Synthesis* **2001**, 638-646; (b) B. Dumont-Hornebeck, P.-J. Joly, J. Coulon y Y.

- Chapleur, *Carbohydr. Res.* **1999**, 320, 147-160; (c) B. Dumont, J.-P. Joly e Y. Chapleur, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1994**, 4, 1123-1126; (d) D. A. H. van Maarschalkerwaart, N. P. Willard y U. K. Pandit, *Tetrahedron*, **1992**, 48, 8825-8840; (e) M. Alonso-López, J. Jiménez-Barbero, M. Martín-Lomas y S. Penadés, *Tetrahedron*, **1988**, 44, 1535-1543.
- [141] E. G. Van Roedern, E. Lohof, G. Hessler, M. Hoffmann y H. Kessler, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 10156-10167.
- [142] L. Bornaghi, J.-P. Utille, D. Penninga, A. K. Schmidt, L. Dijkhuizen, G. E. Schulz y H. Driguez, *Chem. Commun.* **1996**, 2541-2542.
- [143] (a) R. Bürli y A. Vasella, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, 36, 1852-1853; (b) R. Bürli y A. Vasella, *Helv. Chim. Acta* **1997**, 80, 1027-1052; (c) R. Bürli y A. Vasella, *Helv. Chim. Acta* **1997**, 80, 2215-2237.
- [144] F. Peri, L. Cipolla, B. L. Perla y F. Nicotra, *Chem. Commun.* **2000** 2303-2304.
- [145] S. Simova y H. J. Schneider, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **2000**, 1717-1722.
- [146] F. Mohamadi, N. G. J. Richards, W. C. Guida, R. Liskamp, M. Lipton, C. Caufield, G. Chang, T. Hendrickson y W. C. Still, *J. Comput. Chem.* **1990**, 11, 440-467.
- [147] W. C. Still, A. Tempczyk, C. Hawley y T. Hendrickson, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 6127-6129.
- [148] (a) B. Castro, Y. Chapleur, B. Gross y C. Selve, *Tetrahedron Lett.*, 49 (1972) 5004; (b) F. D. Cramer, en *Methods in Carbohydrate Chemistry* (Eds.: R. L. Whistler y M. L. Wolfrom), Academic Press, London, **1962**, vol. 1, pp. 242.
- [149] F. Dasgupta y P. J. Garegg, *Acta Chemica Scandinava* **1989**, 43, 471-475.
- [150] A. Gómez Sánchez, M. Gómez Guillén y A. Cert Ventulá, *An. Quím.* **1968**, 579-590.
- [151] J. Defaye, S. Crouzy, N. Evrad y H. Law, Patente FR (98) 06,605; PCT/FR (98) 01,1217.
- [152] J. M. Benito, C. Ortiz Mellet y J. M. García Fernández, *Carbohydr. Res.* **2000**, 323, 218-225.
- [153] P. J. Garegg y B. Samuelsson, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1979**, 978-979.



UNIVERSIDAD DE SEVILLA



600108605