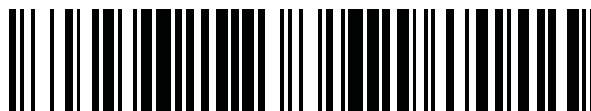


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 378 676**

21 Número de solicitud: 201031374

51 Int. Cl.:  
**C07B 45/02** (2006.01)  
**C07H 5/04** (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación: **15.09.2010**

43 Fecha de publicación de la solicitud: **17.04.2012**

43 Fecha de publicación del folleto de la solicitud:  
**17.04.2012**

71 Solicitante/s:  
**CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES  
CIENTÍFICAS (CSIC)  
SERRANO 117  
28006 MADRID, ES**

72 Inventor/es:  
**DE PAZ CARRERA, JOSÉ LUIS;  
NIETO MESA, PEDRO MANUEL y  
MAZA PÉREZ, SUSANA**

74 Agente/Representante:  
**Pons Ariño, Ángel**

54 Título: **PROCEDIMIENTO DE SULFATACIÓN DE OLIGOSACÁRIDOS POR CALENTAMIENTO CON MICROONDAS.**

57 Resumen:

Procedimiento de sulfatación de oligosacáridos por calentamiento con microondas.

La presente invención describe un procedimiento de O-sulfatación de oligosacáridos precursores de heparina sintética, en el que se realiza un calentamiento por microondas que reduce los tiempos de reacción.

ES 2 378 676 A1

## DESCRIPCIÓN

**PROCEDIMIENTO DE SULFATACIÓN DE OLIGOSACÁRIDOS POR CALENTAMIENTO CON MICROONDAS**

La presente invención describe un procedimiento de O-sulfatación de oligosacáridos precursores de heparina sintética, en el que se realiza un calentamiento por microondas que reduce los tiempos de reacción. Por tanto, la presente invención se engloba dentro del campo de la síntesis química.

**ESTADO DE LA TÉCNICA ANTERIOR**

10

La heparina es un polisacárido altamente sulfatado y heterogéneo que pertenece a la familia de los glicosaminoglicanos (GAGs) y participa en una amplia variedad de procesos biológicos. La estructura de la heparina está constituida por la repetición de unidades disacarídicas de d-glucosamina y ácido l-idurónico o d-glucurónico, unidas mediante enlaces 1→4. Este disacárido puede contener grupos O-sulfato en las posiciones 3 y 6 de la unidad de glucosamina y en la posición 2 del ácido urónico. Además, el nitrógeno de la unidad de glucosamina puede encontrarse sulfatado, acetilado o como grupo amino libre. Esta variedad estructural de la heparina, particularmente en el patrón de sulfatación, es la responsable de su interacción específica con una amplia gama de proteínas.

La síntesis química ha sido ampliamente utilizada para obtener oligosacáridos de heparina con estructura definida, etapa necesaria para determinar relaciones estructura-actividad para secuencias específicas de este polisacárido (Arungundram, S.; Al-Mafraji, K.; Asong, J.; Leach, F. E.; Amster, I. J.; Venot, A.; Turnbull, J. E.; Boons, G. J. *J. Am. Chem. Soc.* 2009, *131*, 17394-17405). Sin embargo, la síntesis de estos productos sigue siendo un proceso extremadamente complejo. El método tradicional consiste en la síntesis del oligosacárido protegido, seguida de desprotección de los grupos hidroxilos que van a ser sulfatados, sulfatación de los mismos y desprotección del resto de la molécula. En muchos casos, el tiempo empleado en estas etapas de

desprotección/sulfatación es mayor que el necesario para la síntesis del oligosacárido protegido. Además, suelen obtenerse rendimientos bajos o moderados para estas etapas finales, particularmente para la sulfatación, que se realizan sobre compuestos muy elaborados y, por tanto, muy valiosos.

5

La *O*-sulfatación de los grupos hidroxilos de precursores sintéticos de oligosacáridos de heparina, se realiza normalmente utilizando un complejo de trióxido de azufre, como  $\text{SO}_3 \cdot \text{NEt}_3$  o  $\text{SO}_3 \cdot \text{NMe}_3$ , DMF como disolvente y calentando a 50-60°C. De forma alternativa, se ha empleado el complejo

10  $\text{SO}_3 \cdot \text{Py}$  y piridina (Py) como disolvente. Para oligosacáridos con un gran número de grupos hidroxilo se requiere un gran exceso del complejo de trióxido de azufre y tiempos de reacción muy largos, incluso de varios días. En algunos casos, aún utilizando condiciones de reacción extremas, se obtienen rendimientos moderados debido a que la reacción no se completa y se

15 detectan numerosos productos de sulfataciones parciales (de Paz, J. L.; Martín-Lomas, M. *Eur. J. Org. Chem.* 2005, 1849-1858). Esto conlleva la realización de varios ciclos de reacción, utilizando excesos de complejo de sulfatación y purificando los crudos de productos parcialmente sulfatados en cada ciclo. Las diferencias de rendimientos y tiempos de reacción que se encuentran en la

20 bibliografía pueden atribuirse a la distinta distribución de grupos protectores y/o a la procedencia del agente sulfatante. Es de destacar que la inestabilidad de los oligosacáridos de heparina altamente sulfatados conlleva ciertas limitaciones en el uso de altas temperaturas durante prolongados tiempos de reacción.

25

Por lo tanto, son necesarios métodos más rápidos y eficientes para la preparación de oligosacáridos de heparina altamente sulfatados. En los últimos años, la radiación con microondas ha sido ampliamente utilizada en síntesis química (Kappe, C. O.; Dallinger, D. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2006, 5, 51-63).

30 Una de las principales ventajas que presenta la síntesis asistida por microondas es la reducción espectacular de los tiempos de reacción, que pasan de días y horas, a minutos y segundos. Estas mejoras inducidas por la

radiación microondas parece que se obtienen en reacciones donde estén involucradas moléculas cargadas y disolventes polares. Por tanto, la reacción de sulfatación es especialmente apropiada para utilizar radiación microondas. Sin embargo, sorprende que las sulfataciones asistidas por microondas hayan recibido muy poca atención en el sector. Hasta el momento, la radiación microondas no ha sido utilizada para la síntesis de GAGs sulfatados, incluidos los oligosacáridos de heparina.

### DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

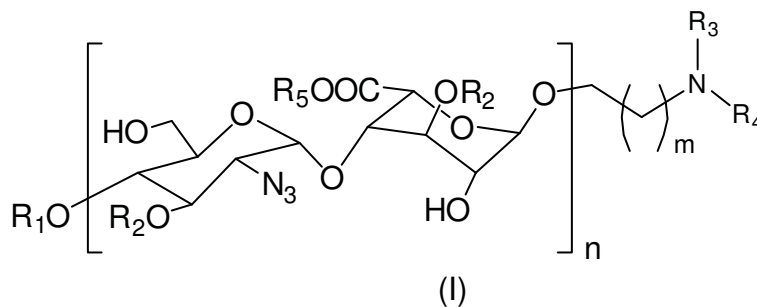
10

La presente invención describe un método rápido y de alto rendimiento para la O-sulfatación de precursores sintéticos de oligosacáridos de heparina utilizando radiación microondas. Este procedimiento facilita en gran medida la preparación de este tipo de carbohidratos altamente sulfatados, evitando problemas experimentales asociados al uso de complejos de trióxido de azufre en las condiciones tradicionales.

En un primer aspecto, la presente invención se refiere a un procedimiento de O-sulfatación de oligosacáridos que comprende una etapa de calentamiento mediante microondas de la mezcla de reacción.

En una realización preferida, el procedimiento de O-sulfatación de oligosacáridos comprende las siguientes etapas:

- a) mezclar el oligosacárido de fórmula (I)



25

donde

$R_1$  y  $R_2$  se seleccionan independientemente entre H o grupos protectores,

$R_3$  y  $R_4$  se selecciona independientemente entre H, alquilo  $C_1-C_6$  o  $-C(O)OR_6$ , donde  $R_6$  se selecciona entre H, arilo, alquilo  $C_1-C_4$ ,

5  $R_5$  se selecciona entre H, arilo o alquilo  $C_1-C_4$ ,

$m$  es un valor entre 1 y 8,

$n$  es un valor entre 1 y 5

con un complejo de coordinación  $SO_3 \cdot R_7$ , donde  $R_7$  es una amina primaria, secundaria o terciaria sustituida por alquilo  $C_1-C_6$  o una amina heterocíclica,

10 en un disolvente orgánico.

b) calentar la mezcla obtenida en (a) mediante microondas a una temperatura entre 50 y 150°C.

15 En la presente invención, el término "alquilo" se refiere a radicales de cadenas hidrocarbonadas, lineales o ramificadas, que tienen de 1 a 10 átomos de carbono, preferiblemente de 1 a 6, y más preferiblemente de 1 a 4 y que se unen al resto de la molécula mediante un enlace sencillo, por ejemplo, metilo, etilo, *n*-propilo, *i*-propilo, *n*-butilo, *terc*-butilo, *sec*-butilo, *n*-pentilo, *n*-hexilo etc.

20 Los grupos alquilo pueden estar opcionalmente sustituidos por uno o más sustituyentes tales como halógeno (denominándose haloalquilo), hidroxilo, alcoxilo, carboxilo, carbonilo, ciano, acilo, alcocarbonilo, amino, nitro, mercapto y alquiltio.

25 El término "arilo" se refiere en la presente invención a un radical fenilo, naftilo, indenilo, fenantrilo o antracilo. El radical arilo puede estar opcionalmente sustituido por uno o más sustituyentes tales como alquilo, haloalquilo, aminoalquilo, dialquilamino, hidroxilo, alcoxilo, fenilo, mercapto, halógeno, nitro, ciano y alcocarbonilo.

30

En la presente invención se entiende como amina primaria un grupo  $NH_2R$ , como amina secundaria un grupo  $NHRR'$  y como amina terciaria un grupo

NRR'R'', donde los grupos R, R' y R'' son grupos alquilo iguales o diferentes y preferiblemente grupos alquilo de entre 1 a 6 carbonos.

En la presente invención se entiende como grupo protector un grupo químico  
5 que reacciona con un grupo funcional de un reactivo con el objetivo de obtener  
quimioselectividad en una reacción química. Ejemplos no limitantes de grupos  
protectores son:

A. Grupos protectores de alcoholes:

- $\beta$ -Metoxietoximetil éter (MEM)
- 10 • Acetilo (Ac)
- Metoximetiléter (MOM)
- *p*-Metoxibenciléter (PMB)
- Metiltiometiléter
- Pivaloil (Piv)
- 15 • Tetrahidropirano (THP)
- Éter de sililo (trimetilsililo (TMS), *tert*-butildimetilsililo (TBDMS) y  
triisopropilsililo (TIPS)
- Éteres de metilo
- Éteres de etoxietilo (EE)

20 B. Grupos protectores de aminas:

- Carbobenciloxi (Cbz)
- *p*-metoxibencilcarbonilo (Moz o MeOZ) *tert*-butiloxicarbonilo  
(BOC),
- 9-Fluorenilmetiloxicarbonil (FMOC),
- 25 • Bencilo (Bn)
- *p*-metoxibencilo (MPM)
- 3,4-dimetoxibencilo (DMPM)
- *p*-metoxifenilo (PMP)
- Tosilo (Ts)
- 30 • Otras sulfonamidas (Nosilo y Nps)

C. Grupos protectores de carbonilo:

- Acetales y cetales

- Ditanos
- Acilales

D. Grupos protectores de ácidos carboxílicos:

5

- Ésteres de metilo
- Ésteres de bencilo
- Ésteres de tert-butilo
- Ésteres de sililo.

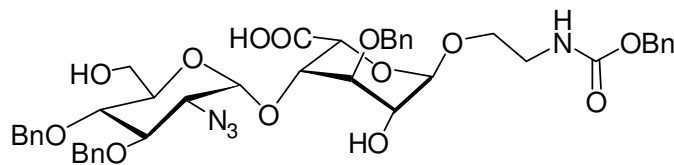
Preferiblemente,  $R_1$  y  $R_2$  son grupos protectores que se seleccionan independientemente de entre bencilo, p-metoxibencilo, acetato, benzoato, pivaloato, levulino, trialquilsililo o triarilsililo. Más preferiblemente,  $R_1$  y  $R_2$  son bencilo.

15

Preferiblemente,  $R_3$  es  $-C(O)OBencilo$  y  $R_4$  es H.

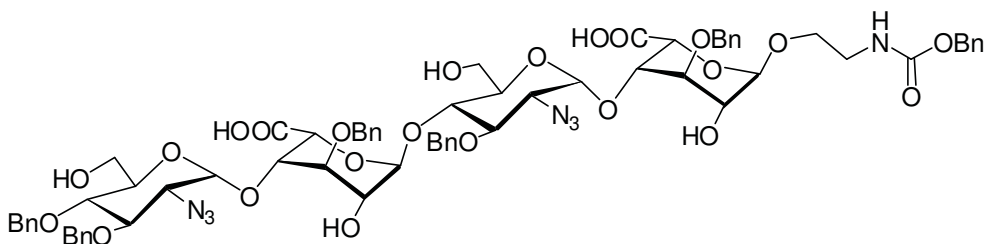
Preferiblemente, n es 1. y más preferiblemente, el oligosacárido empleado en el procedimiento es el compuesto de fórmula (II):

20



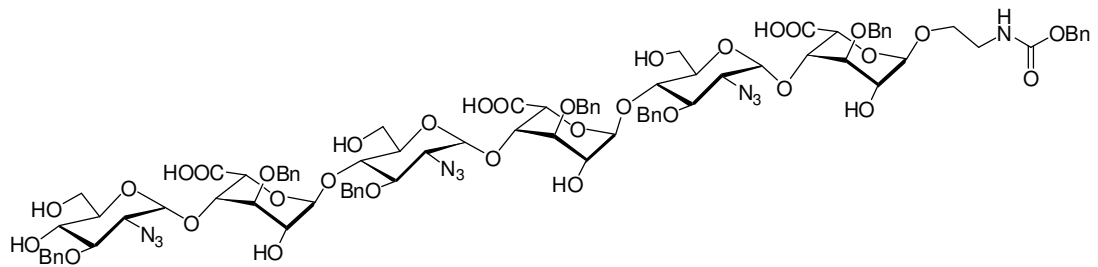
(II)

Preferiblemente, n es 2, y más preferiblemente el oligosacárido empleado en el procedimiento es el compuesto de fórmula (III):



(III)

Preferiblemente, n es 3 y más preferiblemente el oligosacárido empleado en el procedimiento es el compuesto de fórmula (IV):



(IV)

Preferiblemente, R<sub>7</sub> se selecciona entre -NMe<sub>3</sub> o -NEt<sub>3</sub>.

10 Preferiblemente, R<sub>7</sub> es piridina.

Preferiblemente, el disolvente orgánico empleado en el procedimiento de la presente invención se selecciona entre N,N'-dimetilformamida o piridina.

15 A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra "comprende" y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos y dibujos se  
 20 proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

## EJEMPLOS

25 A continuación se ilustrará la invención mediante unos ensayos realizados por los inventores, que pone de manifiesto la especificidad y efectividad del procedimiento.



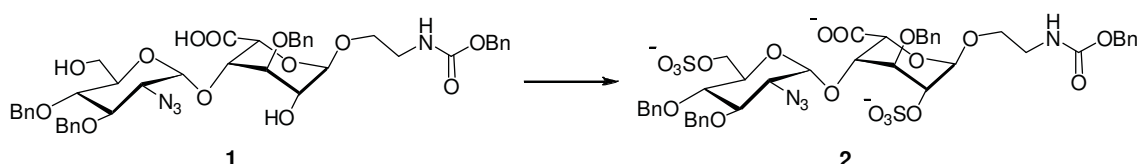
## 1. Procedimiento general para la per-O-sulfatación con microondas

Las reacciones de sulfatación con microondas se han llevado a cabo en recipientes sellados en un equipo "Biotage Initiator". El azúcar polihidroxilado (7-14  $\mu\text{mol}$ , 1.0 equiv.), el complejo de  $\text{SO}_3\cdot\text{NMe}_3$  (5 equiv. por grupo OH; Sigma-Aldrich; el complejo se lavó previamente con  $\text{H}_2\text{O}$ , MeOH, y  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y se secó a alto vacío) y un imán fueron introducidos en un vial para reacciones con microondas de 5 mL, que se selló con un septum. El septum se pinchó con una aguja que se conectó a alto vacío y la mezcla se dejó secar durante 12 h. A continuación se pasó argón, se añadió DMF seca (1.0 mL) y la mezcla de reacción fue sometida a radiación microondas durante 15-30 min a  $100^\circ\text{C}$  (potencia media de 80 W). La reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se paró con  $\text{Et}_3\text{N}$  (150  $\mu\text{L}$ ). Se añadió MeOH (1 mL) y  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1 mL), y la mezcla de reacción se pasó por una columna cromatográfica de Sephadex LH-20 que se eluyó con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  (1:1), obteniéndose la correspondiente sal de trietilamonio (rendimientos 90-99%). La elución de una columna Dowex 50WX4- $\text{Na}^+$  con MeOH/ $\text{H}_2\text{O}$  3:1 dio lugar a la correspondiente sal sódica.

## 2. Síntesis del disacárido sulfatado 2

Se procedió a la síntesis del disacárido sulfatado **2** a partir de **1** (tabla 1) usando el método tradicional de sulfatación con  $\text{SO}_3\cdot\text{NMe}_3$  a  $60^\circ\text{C}$  en DMF (calentamiento en baño de aceite, entrada 1). El seguimiento por cromatografía en capa fina (CCF) indicaba una velocidad de reacción muy baja. Para completar la reacción fue necesario utilizar un gran exceso de reactivo sulfatante (20 equivalentes por grupo OH) y un tiempo de reacción muy elevado (7 días). Previamente, se habían descrito problemas similares en la O-sulfatación de ciertos oligosacáridos de heparina parcialmente protegidos. El calentamiento con microondas reduce enormemente el tiempo de reacción, utilizando las mismas condiciones, con tan solo 5 equivalentes de complejo  $\text{SO}_3\cdot\text{NMe}_3$  por grupo OH (entrada 2). El disacárido **2** se obtiene puro y con un rendimiento excelente después de la purificación cromatográfica con Sephadex

LH-20. Estos resultados demuestran el efecto de la radiación microondas en la reacción de sulfatación. Para evaluar el efecto de la temperatura, se llevo a cabo la reacción a 100 °C (entradas 3 y 4). En tan solo 15 min se obtuvo el compuesto **2** con un rendimiento del 91%, mientras que el calentamiento con microondas durante 1 h conlleva un ligero aumento del rendimiento hasta un 98%. Resulta interesante que, bajo estas condiciones, no se ha detectado la *N*-sulfatación del carbamato. Se obtuvieron resultados similares utilizando el complejo SO<sub>3</sub>·Py en Py a 60°C (entrada 5).



10

**Tabla 1.** Sulfatación con microondas del disacárido **1**

Entrada	Reactivo sulfatante	Disolvente	Temperatura (°C)	Tiempo de reacción	Rendimiento(%)
1	SO <sub>3</sub> ·NMe <sub>3</sub> (20 equiv. por grupo OH)	DMF	60 <sup>a</sup>	7 d	cuantitativo <sup>b</sup>
2	SO <sub>3</sub> ·NMe <sub>3</sub> (5 equiv. por grupo OH)	DMF	60	7 h	94
3	SO <sub>3</sub> ·NMe <sub>3</sub> (5 equiv. por grupo OH)	DMF	100	1 h	98
4	SO <sub>3</sub> ·NMe <sub>3</sub> (5 equiv. por grupo OH)	DMF	100	15 min	91
5	SO <sub>3</sub> ·Py (5 equiv. por grupo OH)	Py	60	15 min	cuantitativo

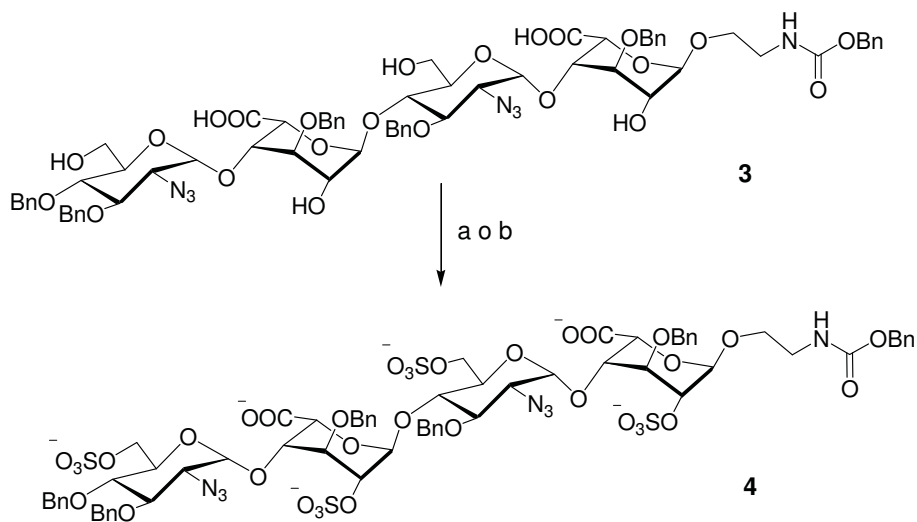
<sup>a</sup> Calentamiento convencional (baño de aceite)

<sup>b</sup> Estimado por CCF

15

### 3. Síntesis del tetrasacárido 3

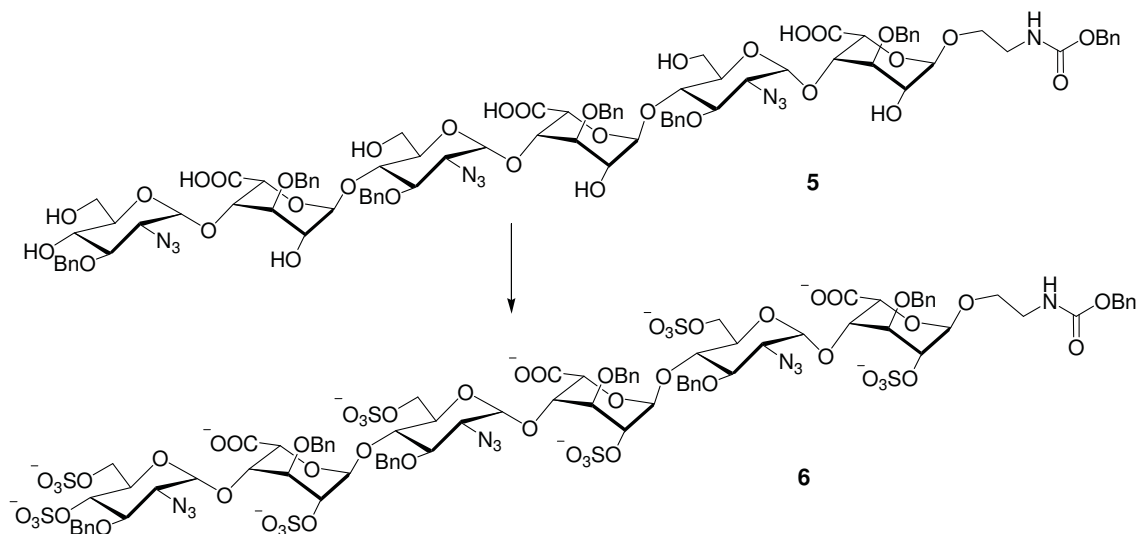
Una vez optimizada la *O*-sulfatación del disacárido modelo **1**, aplicamos el mismo procedimiento a oligosacáridos de heparina más complejos. Para la *O*-sulfatación del tetrasacárido **3**, el método tradicional de calentamiento en baño de aceite resultó bastante problemático (esquema 1). El tratamiento con  $\text{SO}_3\cdot\text{NMe}_3$  dio lugar a una mezcla de productos parcialmente sulfatados. Cuando se usó un gran exceso de complejo de sulfatación, durante un prolongado tiempo de reacción, no se observó ninguna mejora. Después de purificar por Sephadex LH-20, el crudo de reacción se trató con el complejo  $\text{SO}_3\cdot\text{Py}$ . Fue necesaria una purificación cromatográfica en fase reversa con relleno de C-18 para obtener el tetrasacárido **4** con un rendimiento moderado del 43%. Sin embargo, la misma reacción se completó sin problemas calentando con microondas, y se obtuvo **4** con un rendimiento excelente después de la filtración por Sephadex LH-20 (esquema 1).



**Esquema 1.** Sulfatación del tetrasacárido **3**. Reactivos y condiciones: a)  $\text{SO}_3\cdot\text{NMe}_3$  (>10 equiv. por grupo OH), DMF,  $60^\circ\text{C}$ ,  $\geq 3$  d; a continuación  $\text{SO}_3\cdot\text{Py}$  (10 equiv. por grupo OH), Py, temperatura ambiente, 48 h, 43%; b)  $\text{SO}_3\cdot\text{NMe}_3$  (5 equiv. por grupo OH), DMF,  $100^\circ\text{C}$ , microondas, 30 min, 95%.

#### 4. Síntesis del hexasacárido 6

El siguiente objetivo fue la preparación del hexasacárido **6** que contiene 7  
5 grupos sulfato en su estructura (tabla 2). La sulfatación con microondas se llevó  
a cabo con el complejo  $\text{SO}_3\cdot\text{NMe}_3$  a  $100^\circ\text{C}$  y para optimizar el tiempo de  
reacción necesario, éste se varió entre 5 y 30 min (entradas 1-3). Con 30 min  
de reacción se obtuvo el hexasacárido **6** con un rendimiento excelente del 90%.  
Es interesante indicar que cuando se realizó la reacción con el complejo  
10  $\text{SO}_3\cdot\text{Py}$ , se observó por CCF una mezcla de derivados parcialmente sulfatados  
(entrada 4). El análisis por CCF de esta mezcla de reacción no mostró  
progresión alguna después de aumentar la temperatura por encima de  $100^\circ\text{C}$  y  
aumentar el tiempo de reacción. En la bibliografía se han descrito resultados  
similares para la sulfatación de ciertos oligosacáridos de heparina usando el  
15 complejo  $\text{SO}_3\cdot\text{Py}$ .



**Tabla 2.** Sulfatación con microondas del hexasacárido **5**

Entrada	Reactivo sulfatante	Disolvente	Temperatura (°C)	Tiempo de reacción	Rendimiento (%)
1	SO <sub>3</sub> ·NMe <sub>3</sub> (5 equiv. por grupo OH)	DMF	100	5 min	20 <sup>a</sup>
2	SO <sub>3</sub> ·NMe <sub>3</sub> (5 equiv. por grupo OH)	DMF	100	20 min	80 <sup>a</sup>
3	SO <sub>3</sub> ·NMe <sub>3</sub> (5 equiv. por grupo OH)	DMF	100	30 min	90
4	SO <sub>3</sub> ·Piridina (5 equiv. por grupo OH)	Piridina	60→100	5 min→2 h	25 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Estimado por CCF

5

En conclusión, se describe un procedimiento para la per-*O*-sulfatación de precursores sintéticos de oligosacáridos de heparina. La aplicación de la radiación microondas ha reducido espectacularmente los tiempos de reacción, permitiendo que la sulfatación de productos desde di- hasta hexasacáridos transcurra rápidamente y con alto rendimiento. Cabe destacar que los cortos tiempos de reacción empleados en estas reacciones (15-30 min) permiten el uso de temperaturas más altas que en el caso del calentamiento convencional, sin que se produzca descomposición del azúcar. Se espera que este

10

procedimiento acelere la preparación de estos compuestos, superando así uno de las mayores dificultades de la síntesis de GAGs.

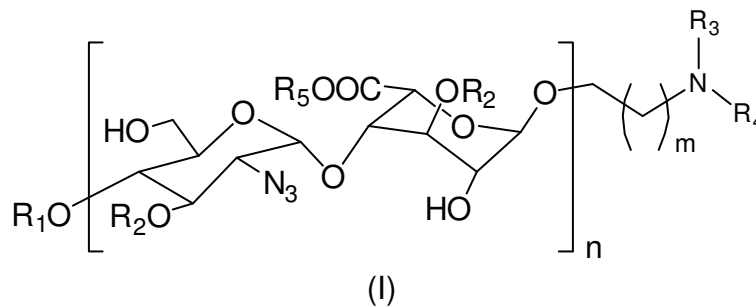
**REIVINDICACIONES**

1. Procedimiento de O-sulfatación de oligosacáridos que comprende una etapa de calentamiento mediante microondas de la mezcla de reacción.

5

2. Procedimiento de O-sulfatación de oligosacáridos según la reivindicación 1 que comprende:

- a. mezclar el oligosacárido de fórmula (I)



10

donde

$R_1$  y  $R_2$  se seleccionan independientemente entre H o grupos protectores,

$R_3$  y  $R_4$  se selecciona independientemente entre H, alquilo  $C_1-C_6$  o  $-C(O)OR_6$ , donde  $R_6$  se selecciona entre H, arilo, alquilo  $C_1-C_4$ ,

15

$R_5$  se selecciona entre H, arilo o alquilo  $C_1-C_4$ ,

$m$  es un valor entre 1 y 8,

$n$  es un valor entre 1 y 5

20

con un complejo de coordinación  $SO_3 \cdot R_7$ , donde  $R_7$  es una amina primaria, secundaria o terciaria sustituida por alquilo  $C_1-C_6$  o una amina heterocíclica, en un disolvente orgánico.

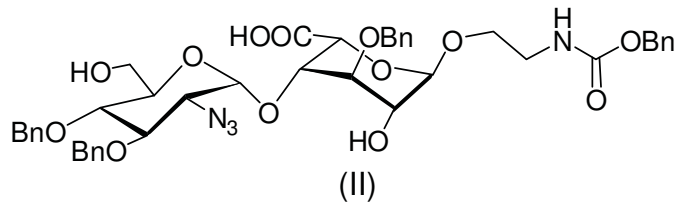
- b. calentar la mezcla obtenida en (a) mediante microondas a una temperatura entre 50 y 150°C.

25

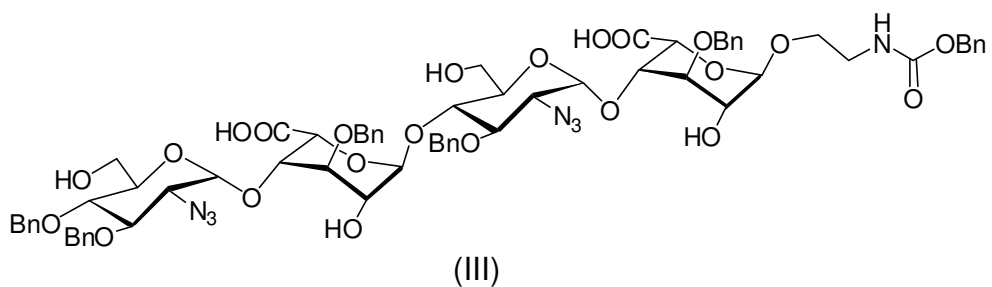
3. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2 donde  $R_1$  y  $R_2$  son grupos protectores que se seleccionan independientemente de entre

bencilo, p-metoxibencilo, acetato, benzoato, pivaloato, levulino, trialquilsililo o triarilsililo.

4. Procedimiento según la reivindicación 3 donde  $R_1$  y  $R_2$  son bencilo.
5. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 donde  $R_3$  es -C(O)Obencilo y  $R_4$  es H.
6. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 donde n es 1.
7. Procedimiento según la reivindicación 6 donde el oligosacárido es el compuesto de fórmula (II):

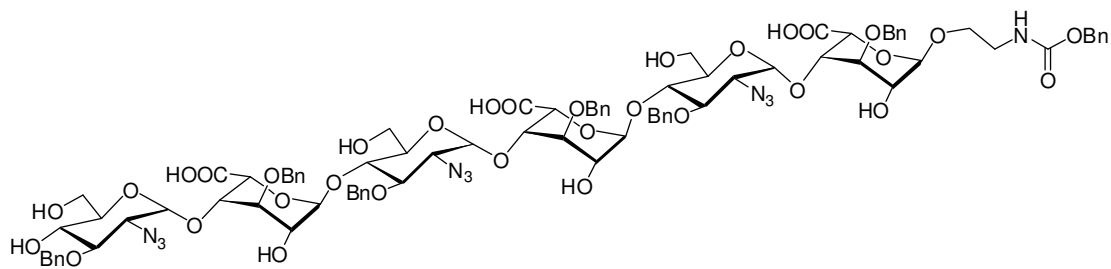


8. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 donde n es 2.
9. Procedimiento según la reivindicación 8 donde el oligosacárido es el compuesto de fórmula (III):



10. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 donde n es 3.
11. Procedimiento según la reivindicación 10 donde el oligosacárido es el compuesto de fórmula (IV):





(IV)

5 12. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 donde  $R_7$  se selecciona entre  $N(CH_3)_3$  o  $N(CH_2CH_3)_3$ .

13. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 donde  $R_7$  es piridina.

10

14. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13 donde el disolvente orgánico se selecciona entre  $N,N'$ -dimetilformamida o piridina.



OFICINA ESPAÑOLA  
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②<sup>1</sup> N.º solicitud: 201031374

②<sup>2</sup> Fecha de presentación de la solicitud: 15.09.2010

③<sup>2</sup> Fecha de prioridad:

## INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤<sup>1</sup> Int. Cl.: **C07B45/02** (2006.01)  
**C07H5/04** (2006.01)

### DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	XING, R. et al. "Preparation of low-molecular-weight and high-sulfate-content chitosan under microwave radiation and their potential antioxidant activity in vitro". Carbohydrate Research, 2004, Vol. 339, páginas 2515-2519. Ver página 2515, Resumen; página 2516, Apartado 2.4.	1,14
A	DE PAZ, J.L. et al. "Synthesis and Biological Evaluation of a Heparin-Like Hexasaccharide with the Structural Motifs for Binding to FGF and FGFR". European Journal of Organic Chemistry, 2005, páginas 1849-1858. Ver Resumen; página 1852, Esquema 3; página 1857, párrafos 2 y 3.	1-14
A	AL-HORANI, R. A. et al. "Chemical sulfation of small molecules-advances and challenges". Tetrahedron, 2010, Vol. 66, páginas 2907-2918. Ver apartado 2.3.	1-14
A	US 20040242801 (ORGANES, TISSUS: REGENERATION, REPARATION, REMPLACEMENT - OTR3) 02.12.2004, párrafos 25,26,54.	1-14

#### Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

#### El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe  
19.12.2011

Examinador  
N. Martín Laso

Página  
1/4

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

C07B, C07H

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

INVENES, EPODOC, WPI, XPESP, NPL, CAS.

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 19.12.2011

**Declaración**

<b>Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)</b>	Reivindicaciones 2-13	<b>SI</b>
	Reivindicaciones 1,14	<b>NO</b>
<b>Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)</b>	Reivindicaciones 2-13	<b>SI</b>
	Reivindicaciones 1,14	<b>NO</b>

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

**Base de la Opinión.-**

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

**1. Documentos considerados.-**

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

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	XING, R. et al. "Preparation of low-molecular-weight and high-sulfate-content chitosan under microwave radiation and their potential antioxidant activity in vitro". Carbohydrate Research, 2004, Vol. 339, páginas 2515-2519.	2004

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

La solicitud se refiere a un procedimiento de O-sulfatación de oligosacáridos que comprende una etapa de calentamiento mediante microondas de la mezcla de reacción.

El documento D01 divulga un procedimiento de O-sulfatación de chitosán (aminopolisacárido) mediante reacción de chitosán con un complejo de trióxido de azufre con dimetilformamida como reactivo sulfatante, utilizando una mezcla de DMF-ácido fórmico como disolvente y llevando a cabo el calentamiento mediante microondas.

La invención definida en las reivindicaciones 1 y 14 se encuentra recogida en el documento D01, careciendo por tanto de novedad (Art. 6.1 LP 11/1986).

Sin embargo, a la vista del documento D01 considerado el más cercano en el estado de la técnica, no resultaría evidente para un experto en la materia sin la necesaria experimentación realizar la O-sulfatación de los oligosacáridos de fórmula general I definidos en la reivindicación 2 de la solicitud, mediante calentamiento con microondas y utilizando como reactivo sulfatante un complejo de trióxido de azufre con una amina.

Por lo tanto, la invención definida en las reivindicaciones 2-13 de la solicitud es nueva y posee actividad inventiva (Art. 6.1 y 8.1 LP 11/1986).