

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 560 467**

51 Int. Cl.:

**C07H 11/00** (2006.01)

**A61P 7/02** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.06.2012** **E 12729530 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.11.2015** **EP 2721044**

54 Título: **Pentasacáridos sintéticos que tienen vida media corta y alta actividad**

30 Prioridad:

**17.06.2011 EP 11305765**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**19.02.2016**

73 Titular/es:

**CARBOMIMETICS (100.0%)**  
**86 rue de Paris, Orsay Parc**  
**91400 Orsay, FR**

72 Inventor/es:

**EL HADRI, AHMED y**  
**PETITOU, MAURICE**

74 Agente/Representante:

**UNGRÍA LÓPEZ, Javier**

ES 2 560 467 T3

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

## DESCRIPCIÓN

**Pentasacáridos sintéticos que tienen vida media corta y alta actividad****5 Campo técnico**

La presente invención se refiere a anticoagulantes (es decir, sustancias que impiden la coagulación de la sangre). Más específicamente, la presente invención se refiere a oligosacáridos antitrombóticos.

**10 Técnica anterior**

La heparina, un polisacárido sulfatado natural, es un anticoagulante que pertenece a la familia de los glicosaminoglicanos. La actividad anticoagulante de la heparina se debe a su capacidad de acelerar la inhibición de varias proteasas, en particular el factor Xa y la trombina, en la cascada de coagulación de la sangre.

15 La heparina y los fármacos derivados de heparina inhiben la actividad de factor Xa al unirse a un dominio de unión específica de la antitrombina (AT). Una vez que los fármacos de heparina o derivados de heparina se unen al dominio de unión específica de la antitrombina, inducen un cambio conformacional en la antitrombina (AT). Este cambio conformacional en la AT es responsable de la inhibición del factor Xa. Las investigaciones han demostrado que el menor elemento estructural capaz de unirse de manera significativa a la AT, y de inhibir el factor Xa, es un pentasacárido.

25 El prototipo de este tipo de productos que induce cambios conformacionales es el fondaparinux. El fondaparinux sódico (Arixtra<sup>™</sup> - GlaxoSmithKline) es el primero de una nueva clase de agentes antitrombóticos. Presenta una vida media en ratas de aproximadamente una hora y de 17 h en seres humanos. Se administra una vez al día a los pacientes que necesitan un tratamiento anticoagulante. Es un pentasacárido sintetizado químicamente que imita el sitio de unión a antitrombina de la heparina. Es un inhibidor selectivo del factor Xa y por lo tanto un inhibidor de la generación de trombina.

30 La síntesis de fondaparinux es larga y complicada. Así, con el objetivo de simplificar la química a la vez que se mantiene la misma actividad y el perfil farmacocinético, se han diseñado nuevas series de pentasacáridos descritos en el documento US 5.543.403, el documento WO 99/25720 o en el documento WO 99/36428.

35 Los documentos US 5.543.403 y WO 99/25720 describen pentasacáridos sintéticos en los que los grupos N-sulfato, N-acetato e hidroxilo se sustituyen por grupos alcoxi, y O-sulfato. El documento WO 99/36428 describe pentasacáridos sintéticos similares, cuya unidad L-idurónica está bloqueada en una conformación <sup>2</sup>S<sub>0</sub>, y cuya unidad D-glucurónica E tiene finalmente un grupo etilo en la posición 5.

40 Sin embargo, mientras que la presencia de grupos alquilo en estas unidades pentasacáridas simplifica considerablemente su modo de preparación, también aumenta la vida media haciendo problemático el uso clínico.

El documento EP 2 074 131 también intenta proporcionar pentasacáridos sintéticos. En esta solicitud, se consideró que la capacidad de los pentasacáridos para pasar a través de la barrera intestinal era importante para una aplicación como antitrombóticos.

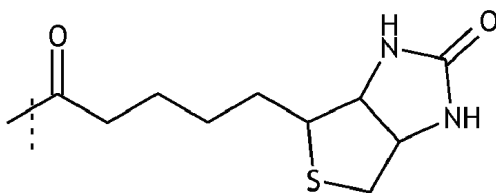
45 Sin embargo, parecía que muchos de los compuestos descritos por el documento EP 2 074 131 también tienen una vida media demasiado larga.

50 La vida media de los pentasacáridos anticoagulantes, el tiempo necesario para reducir a la mitad la concentración plasmática del fármaco, es un parámetro farmacocinético muy importante. De hecho, a veces es necesario, p. ej., en caso de una hemorragia, desconectar lo más rápidamente posible el efecto anticoagulante de modo que la hemorragia pueda ser detenida.

55 Las vidas medias adecuadas para un rango de anticoagulante de aproximadamente 5 a aproximadamente 20 horas en seres humanos, que corresponde a 0,5 horas a aproximadamente 3 horas en ratas.

La introducción de un radical de biotina en el pentasacárido permite la supresión rápida de la actividad anticoagulante a través de la inyección de avidina, una proteína que se une fuertemente a la biotina.

60 El grupo biotina (nombre IUPAC: ácido 5-[(3aS,4S,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il]pentanoico; también conocido como vitamina B<sub>7</sub>) representa el siguiente grupo:



(biotina) .

Tales pentasacáridos biotinilados se conocen del documento EP 1 322 673. La Avidina evita que los compuestos tengan su efecto sobre sus dianas y acelera su eliminación. La actividad anti-factor Xa de los compuestos biotinilados del documento EP322673 es equivalente a la actividad de sus contrapartes no biotiniladas.

Por lo tanto, es posible neutralizar la actividad anticoagulante de los compuestos biotinilados mediante la administración de avidina que finalmente permite el uso de pentasacáridos anticoagulantes de vida media larga.

Sin embargo, la enzima biotinidasa, que escinde el enlace amida en el extremo carboxilato de la biotina, está presente en el plasma sanguíneo y podría reaccionar con compuestos biotinilados para desbiotinizarlos. Como resultado, los compuestos desbiotinilados ya no son neutralizados por la avidina, manteniendo su actividad anticoagulante hasta que sean lavados fisiológicamente. Este es un problema real ya que los tratamientos anticoagulantes se pueden administrar durante un largo período de tiempo y el compuesto desbiotinilado puede acumularse en el plasma. Por lo tanto, sigue siendo altamente deseable tener compuestos biotinilados con una vida media corta para permitir su neutralización inmediata en caso de emergencia y para evitar su acumulación en el plasma si son desbiotinilados por la biotinidasa.

Los autores de la presente invención han encontrado sorprendentemente que la vida media de pentasacáridos alquilados/O-sulfatados se puede modular mediante la variación de los grupos sustituyentes de la unidad D.

La introducción de una función amino en la posición 2 reduce la vida media.

La biotinilación de esta función 2-amino aumenta la vida media.

La introducción de una función hidroxilo libre en la unidad D reduce la vida media.

Una combinación de estas diversas observaciones permitió a los autores identificar pentasacáridos biotinilados potentes inhibidores de factor Xa con una vida media corta.

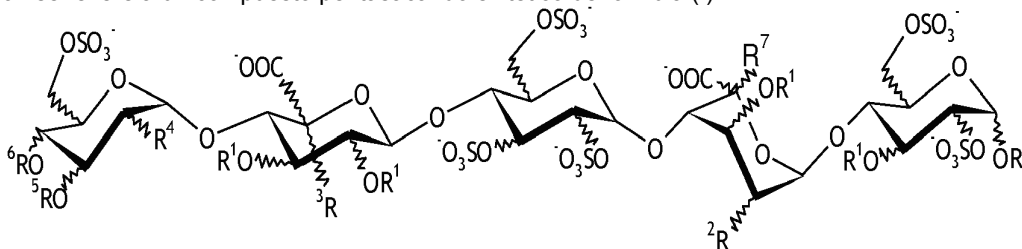
Por lo tanto, un objetivo de la invención es proporcionar pentasacáridos, que sean fáciles de sintetizar y con una vida media corta, y, en particular, pentasacáridos biotinilados.

Otro objetivo de la invención es proporcionar pentasacáridos biotinilados con alta actividad anti-factor Xa, es decir bajo valor de  $Cl_{50}$ .

Por lo tanto, todos los inconvenientes de la técnica anterior se superan con el uso de compuestos de acuerdo con la invención, y más en particular, de los biotinilados.

#### Compendio de la invención

La invención se refiere a un compuesto pentasacárido sintético de fórmula (I)



Fórmula (I)

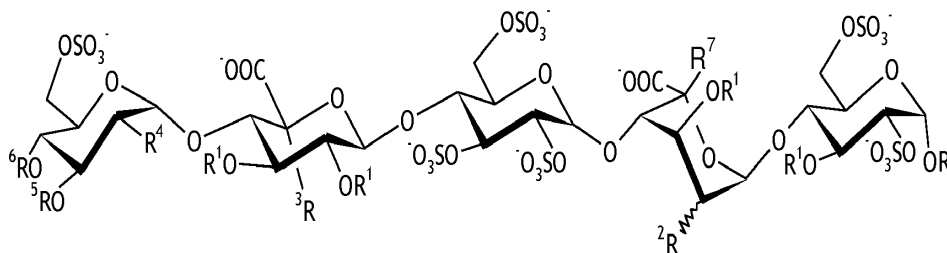
en donde:

- $R^1$  representa un grupo alquilo (C1-C3);

- $R^2$  representa un grupo alcoxi (C1-C3) y  $R^7$  representa un átomo de hidrógeno, o  $R^2$  y  $R^7$  forman un puente de  $-O-CH_2-$  o  $-O-CH_2-CH_2-$ , donde  $-O-$  está unido al átomo de carbono que porta el grupo  $R^2$  y  $-CH_2-$  está unido al átomo de carbono que porta el grupo  $R^7$ ;
- $R^3$  representa un átomo de hidrógeno o un grupo etilo;
- $R^4$  representa  $-OH$ ,  $-NH_2$  o  $-NH-LC$ -biotina, en donde LC representa un conector, ventajosamente de la fórmula  $-(C=O)-(CH_2)_4-NH-$ , con n de 1 a 10, y más ventajosamente de fórmula  $-(C=O)-(CH_2)_4-NH-$ ;
- cuando  $R^5$  y  $R^6$  son diferentes,  $R^5$  y  $R^6$  se eligen en medio de un átomo de hidrógeno, un grupo metilo, un grupo etilo, un propilo, un grupo butilo y un grupo pentilo;
- cuando  $R^5$  y  $R^6$  son idénticos,  $R^5$  y  $R^6$  se eligen en medio de un átomo de hidrógeno, un grupo metilo, un grupo etilo, un propilo y un grupo pentilo;

con la condición de que  $R^1$  difiere de al menos uno de  $R^5$  o  $R^6$ , y la sal del mismo.

Ventajosamente, el compuesto pentasacárido sintético de acuerdo con la presente invención tiene la siguiente fórmula (II)



(II)

en donde:

- $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^5$  y  $R^6$  se definen como antes.
- $R^4$  puede representar  $-NH_2$  o  $-NH-LC$ -biotina, definiéndose LC como antes.

En una realización,  $R^5$  y  $R^6$  representan el mismo grupo.

En otra realización, uno de  $R^5$  o  $R^6$  representa un átomo de hidrógeno, y el otro representa un grupo alquilo (C1-C5).

En una variante de todas las realizaciones descritas anteriormente,  $R^2$  y  $R^7$  forman un puente de  $-O-CH_2-$ , donde  $-O-$  está unido al átomo de carbono que porta el grupo  $R^2$ , y  $-CH_2-$  está unido al átomo de carbono que porta el grupo  $R^7$ , y  $R^3$  representa un grupo etilo.

En otra variante de todas las realizaciones descritas anteriormente,  $R^2$  representa un grupo alcoxi (C1-C3), y  $R^3$  y  $R^7$  representan átomos de hidrógeno.

La invención también se refiere a una composición farmacéutica que comprende el compuesto pentasacárido sintético y una sal del mismo descritos anteriormente y un diluyente o portador farmacéuticamente aceptables.

La invención se refiere adicionalmente al compuesto pentasacárido sintético y la sal del mismo para su uso como medicamento, por ejemplo destinado a la prevención y el tratamiento de trastornos de coagulación de la sangre.

Los trastornos de coagulación de la sangre son, en particular, uno de trombosis venosa o trombosis arterial, incluyendo trombosis venosa profunda, embolia pulmonar, síndrome coronario agudo, infarto de miocardio y accidente cerebrovascular. Los trastornos de coagulación de la sangre también pueden ser consecuencia de fibrilación auricular.

La invención también se refiere al compuesto pentasacárido sintético y sus sales para uso como un medicamento para la prevención de lesión por isquemia-reperfusión asociada con el trasplante de órganos sólidos.

La invención se refiere además a un método de prevención o de reducir el riesgo de coagulación de la sangre en un circuito sanguíneo extracorpóreo durante la cirugía cardíaca, o durante la oxigenación por membrana extracorpórea, o durante la asistencia circulatoria tal como corazón artificial, que comprende la administración del compuesto pentasacárido sintético descrito aquí más arriba y la sal del mismo.

La invención se refiere a un kit que comprende el compuesto pentasacárido sintético descrito anteriormente y la sal del mismo o la composición farmacéutica también descrita aquí más arriba y avidina.

## Definiciones

Los compuestos de la presente invención también pueden estar presentes en forma de sales farmacéuticamente aceptables. Para uso en medicina, las sales de los compuestos de esta invención se refieren a "sales no tóxicas farmacéuticamente aceptables". Las formas de sales farmacéuticamente aceptables aprobadas por la FDA incluyen sales ácidas/aniónicas o alcalinas/catiónicas farmacéuticamente aceptables (Gould, P. L., Internacional J. Pharm., 1984, 33, 201-271; Berge, S. M. et al., J. Pharm. Sci., 1977, 66 (1), 1-19).

Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos ácidos o alcalinos de la invención se pueden preparar por supuesto mediante procedimientos convencionales, por ejemplo haciendo reaccionar la base o ácido libres con al menos una cantidad estequiométrica del ácido o base formadores de sales deseados.

Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos ácidos de la invención incluyen sales con cationes inorgánicos tales como sodio, potasio, calcio, magnesio, zinc, amonio, y sales con bases orgánicas. Las bases orgánicas adecuadas incluyen N-metil-D-glucamina, arginina, benzatina, diolamina, olamina, procaína y trometamina.

Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos alcalinos de la invención incluyen sales derivadas de ácidos orgánicos o inorgánicos. Los aniones adecuados incluyen acetato, adipato, besilato, bromuro, camsilato, cloruro, citrato, edisilato, estolato, fumarato, gluceptato, gluconato, glucuronato, hipurato, hiclato, hidrobromuro, hidrocloreuro, yoduro, isetionato, lactato, lactiobionato, maleato, mesilato, metilbromuro, metilsulfato, napsilato, nitrato, oleato, pamoato, fosfato, poligalacturonato, estearato, succinato, sulfato, sulfosalicilato, tanato, tartrato, tereftalato, tosilato y trietyoduro. Las sales de sulfato son particularmente preferidas.

En los métodos de tratamiento de la presente invención, la palabra "administrar" abarcará el tratamiento de los diversos trastornos descritos con los compuestos descritos específicamente.

Se anticipa que los compuestos de la invención se pueden administrar por vía oral o parenteral, incluyendo intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, subcutánea, transdérmica, rectal y tópica, e inhalación.

Para la administración oral, los compuestos de la invención generalmente se proporcionarán en forma de comprimidos o cápsulas o como una solución o suspensión acuosa.

Los comprimidos para uso oral pueden incluir el ingrediente activo mezclado con excipientes farmacéuticamente aceptables tales como diluyentes inertes, agentes disgregantes, agentes aglutinantes, agentes lubricantes, agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes colorantes y conservantes. Los diluyentes inertes adecuados incluyen carbonato de sodio y calcio, sodio y fosfato de calcio y lactosa. El almidón de maíz y el ácido algínico son agentes disgregantes adecuados. Los agentes aglutinantes pueden incluir almidón y gelatina. El agente lubricante, si está presente, será generalmente estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Si se desea, los comprimidos pueden recubrirse con un material tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo, para retrasar la absorción en el tracto gastrointestinal.

Las cápsulas para uso oral incluyen cápsulas de gelatina dura en las que el ingrediente activo se mezcla con un diluyente sólido y cápsulas de gelatina blanda en las que el ingrediente activo se mezcla con agua o aceite, tal como aceite de cacahuete, parafina líquida o aceite de oliva.

Para uso parenteral, incluyendo intramuscular, intraperitoneal, subcutáneo e intravenoso, los compuestos de la invención se proporcionarán generalmente en soluciones o suspensiones acuosas estériles, tamponadas a un pH e isotonicidad apropiados. Los vehículos acuosos adecuados incluyen solución de Ringer y cloruro de sodio isotónico. Las suspensiones acuosas de acuerdo con la invención pueden incluir agentes de suspensión tales como derivados de celulosa, alginato de sodio, polivinil-pirrolidona y goma de tragacanto, y un agente humectante tal como lecitina. Los conservantes adecuados para suspensiones acuosas incluyen p-hidroxibenzoato de etilo y n-propilo.

### Modos de Administración

Los compuestos de la presente invención pueden ser suministrados directamente o en composiciones farmacéuticas que contienen excipientes (véase más arriba), como es bien conocido en la técnica. Los presentes métodos de tratamiento implican la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención a un sujeto.

El término "cantidad terapéuticamente eficaz" o "dosis terapéuticamente efectiva" tal como se utiliza en la presente memoria se refiere a una cantidad de un compuesto de acuerdo con la presente invención necesaria para: tratar; mejorar; evitar la afección de la enfermedad específica; exhibir un efecto terapéutico o preventivo detectable; prolongar la supervivencia de un paciente. La toxicidad y la eficacia terapéutica de tales moléculas pueden determinarse mediante procedimientos farmacéuticos convencionales en cultivos celulares o animales.

experimentales, p. ej., mediante la determinación de la DL50 (la dosis letal para 50% de la población) y la DE50 (la dosis terapéuticamente eficaz en 50% de la población). La razón de dosis de efectos tóxicos a terapéuticos es el índice terapéutico, que puede expresarse como la razón DL50/DE50. Se prefieren los agentes que muestran altos índices terapéuticos.

La cantidad terapéuticamente eficaz o la dosis terapéuticamente eficaz es la cantidad del compuesto o composición farmacéutica que provocará la respuesta biológica o médica de un tejido, sistema, animal o ser humano que está siendo buscada por el investigador, veterinario, médico, u otro profesional clínico. Por ejemplo, la actividad anticoagulante y el tratamiento de los trastornos de la coagulación de la sangre, p. ej., la tromboembolia venosa profunda incluyendo la trombosis venosa profunda y la embolia pulmonar, la trombosis venosa profunda postquirúrgica, el síndrome coronario, el infarto de miocardio, el accidente cerebrovascular, etc.

La formulación exacta, la ruta de administración, la dosis y el intervalo de dosificación deben ser elegidos de acuerdo con métodos conocidos en la técnica, en vista de las características específicas de la afección del paciente.

El nivel de dosificación específico requerido para cualquier paciente concreto dependerá de una serie de factores, incluyendo la gravedad de la afección que se vaya a tratar, la vía de administración, la salud general del paciente (es decir, la edad, el peso y la dieta), el género del paciente, el tiempo y frecuencia de administración, el criterio del médico prescriptor y la tolerancia/respuesta a la terapia. En general, sin embargo, la dosis diaria (tanto si se administra como una dosis única o como dosis divididas) estará en el intervalo de 0,01 a 500 mg por día, más usualmente de 0,1 a 50 mg por día, y lo más usualmente de 1 a 10 mg por día. Alternativamente, las dosificaciones se pueden administrar por unidad de peso corporal y, en este caso, una dosis típica estará comprendida entre 0,001 mg/kg y 3 mg/kg, especialmente entre 0,01 mg/kg y 0,2 mg/kg, entre 0,02 mg/kg y 0,1 mg/kg.

## Definiciones Químicas

En aras de la simplicidad, los términos que se utilizan normalmente para referirse a grupos monovalentes (tales como "alquilo") también se utilizan en la presente memoria para referirse a grupos de tipo puente divalentes, trivalentes o tetravalentes que se forman entre el grupo monovalente correspondiente por la pérdida de uno o más átomos de hidrógeno. Que tal término se refiera a un grupo monovalente o a un grupo polivalente quedará claro a partir del contexto. Cuando un grupo de tipo puente polivalente se forma a partir de un radical cíclico, los enlaces de unión pueden estar en cualquier átomo anular adecuado, de acuerdo con las reglas normales de valencia.

Según se utiliza en la presente memoria, el término "alquilo" se refiere a un radical hidrocarbonado monovalente saturado lineal o ramificado, que tiene el número de átomos de carbono indicado. Por ejemplo, el término "alquilo C1-C5" incluye grupos alquilo C1, C2, C3, C4 y C5. A modo de ejemplo no limitante, los grupos alquilo adecuados incluyen metilo (-Me), etilo (-Et), propilo (-Pr), iso-propilo, butilo (-Bu), iso-butilo, terc-butilo, pentilo (-Pent).

Alcoxi se refiere al grupo "alquil-O-", en donde alquilo se define como antes. A modo de ejemplo no limitante, los grupos alcoxi adecuados incluyen metoxi, etoxi, propoxi e isopropoxi.

Se entenderá que la invención comprende los diferentes diastereoisómeros aislados unos de otros, así como mezclas.

Los contra-iones, que compensan las formas cargadas de los compuestos de la presente invención, son contraiones farmacéuticamente aceptables, tales como hidrógeno, o más preferiblemente iones de metales alcalinos o alcalinotérreos, que incluyen sodio, calcio, magnesio y potasio.

Otras definiciones de grupos de 'compuestos' serán fácilmente comprensibles por el experto en la técnica basándose en las definiciones anteriores y las convenciones habituales de nomenclatura.

Se apreciará que cualquier característica opcional que se ha descrito anteriormente en relación con cualquier aspecto de la invención también puede ser aplicable a cualquier otro aspecto de la invención.

En la descripción de los compuestos ejemplificados, "Cl<sub>50</sub>" representa la actividad anti-factor Xa.

## Aplicaciones

Los compuestos descritos aquí anteriormente se pueden usar como medicamento. Más en particular, se pueden utilizar como medicamento destinado al tratamiento de un trastorno de la coagulación de la sangre.

Los trastornos de la coagulación de la sangre son, en particular, uno de trombosis venosa o trombosis arterial, incluyendo trombosis venosa profunda, embolia pulmonar, síndrome coronario agudo, infarto de miocardio y accidente cerebrovascular. Los trastornos de coagulación de la sangre también puede ser consecuencia de la

fibrilación auricular.

Los compuestos también se pueden utilizar durante el ECC (circuito extracorpóreo de sangre). Por lo tanto es importante que el efecto anticoagulante pueda ser inhibido o suprimido.

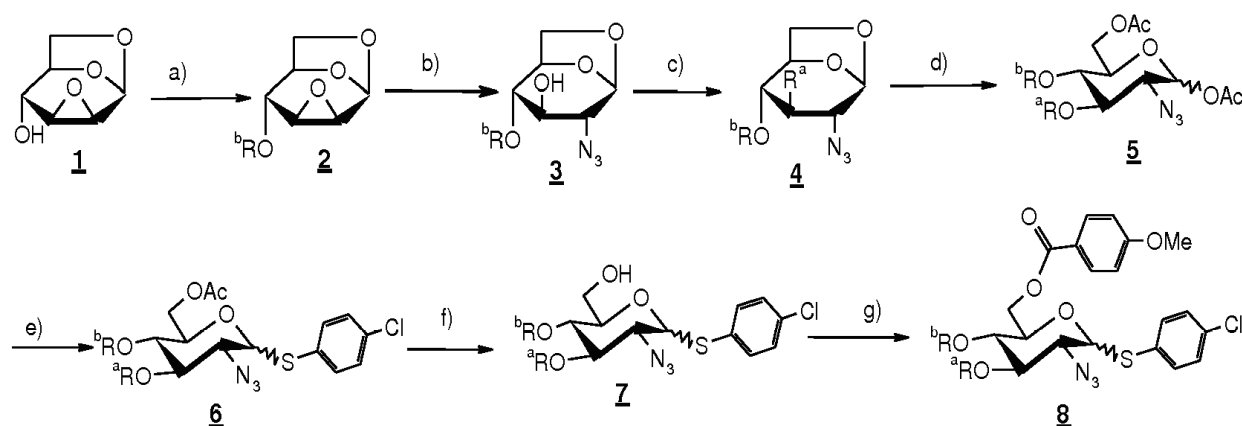
El compuesto todavía puede ser utilizado como un medicamento para prevenir la lesión por isquemia-reperfusión (suministro inadecuado de sangre debido a la obstrucción de los vasos sanguíneos) asociada con el trasplante de órganos sólidos.

La invención se ilustra adicionalmente mediante los siguientes ejemplos.

#### Abreviaturas utilizadas

- DMF: N, N-dimetilformamida;
- DCM: diclorometano;
- EtOAc: acetato de etilo;
- THF: tetrahidrofurano;
- MTBE: metil-terc-butil-eter;
- TFA: ácido trifluoroacético;
- TfOH: ácido tríflico;
- C.A<sub>2</sub>O: anhídrido acético;
- Bn: bencilo;
- Ph: fenilo;
- Bz: benzoilo;
- Me: metilo, Et: etilo, Pr: propilo, Bu: n-butilo, Pent: pentilo, Hex: hexilo; y
- Ac: acetato.

#### Sección 1: Síntesis de unidad monosacárida D



**Esquema 1.** a) R<sup>b</sup>-X, NaH, DMF; b) NaN<sub>3</sub>, NH<sub>4</sub>Cl, H<sub>2</sub>O/(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH-OH; c) R<sup>a</sup>-X, NaH, DMF; d) Ac<sub>2</sub>O, TFA; e) HSPhCl, BF<sub>3</sub>.OEt<sub>2</sub>, Tolueno; f) 1N NaOH, THF/CH<sub>3</sub>OH; g) *p*-CH<sub>3</sub>OBzCl, Piridina.

#### Preparación del compuesto 3

El compuesto de 1,6 y 2,3-dianhidro-4-OR<sup>b</sup>-[β]-D-manopiranososa **2** se sintetizó a partir Epóxido 1 Cerny de una manera similar a la descrita por Brill y Tirefort en Tetrahedron Lett. (1998), 39, págs. 787-790. El Compuesto **2** (17,5 mmoles) se disolvió en 130 mL de una mezcla de N,N-dimetilformamida/agua [4/1 (v/v)] y a continuación se añadió azida de sodio (22,8 g, 350 mmoles). El medio de reacción se calentó a 100°C durante 6 horas. Después de filtrar a través de Celite, el producto filtrado se diluyó con acetato de etilo y después se lavó con agua. La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y después se concentró a vacío. El residuo se recrystalizó a partir de una mezcla de acetato de etilo/ciclohexano (20 mL/7 mL) para proporcionar el compuesto **3** en forma de cristales.

## Preparación del compuesto 4

A una mezcla enfriada (0°C) del compuesto 3 (11 mmoles) y R<sup>a</sup>-X (33 mmoles) en N,N-dimetilformamida (80 mL) anhidra se le añadió hidruro de sodio en porciones (1,3 g, 33 mmoles) bajo una atmósfera de argón. La mezcla se agitó durante 20 horas a temperatura ambiente. El exceso de hidruro sódico se destruyó con metanol. La mezcla de reacción se concentró a vacío y el residuo se recogió en EtOAc. La fase orgánica se lavó con agua, se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y después se concentró a vacío. La sustancia bruta se purificó mediante cromatografía en una columna de gel de sílice (n-heptano/EtOAc) para proporcionar el compuesto 4 en forma de un sólido de color blanco.

## Preparación del compuesto 5: Método general para la acetólisis

En un matraz seco de fondo redondo, el compuesto 4 (11 mmoles) se disolvió en una mezcla de anhídrido acético (73 mL, 770 mmoles, 70 eq.) y ácido trifluoroacético (12,3 mL, 165 mmoles, 15 eq.) a 0°C. La mezcla de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente y los disolventes se separaron a presión reducida seguido de co-evaporación con tolueno. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida en columna de gel de sílice para proporcionar el compuesto deseado 5 o se utilizó directamente en la siguiente etapa sin ninguna purificación adicional después de lavar con una solución acuosa saturada de NaHCO<sub>3</sub>.

## Preparación del compuesto 6: Introducción del grupo p-clorotiofenol anomérico

Se añadió BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub> (4,19 mL, 33 mmoles) a una suspensión agitada del compuesto 5 (11 mmoles) y 4-*p*-clorotiofenol (4,8 g, 33 mmoles) en tolueno (55 mL) a 0°C y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 7 horas. Se añadió una solución saturada de NaHCO<sub>3</sub> hasta pH = 7 y la mezcla de reacción se enfrió a -20°C durante la noche. La capa orgánica se separó, se diluyó con EtOAc y se lavó con agua. La capa orgánica se secó sobre MgSO<sub>4</sub>, el disolvente se eliminó a vacío y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna (n-heptano/acetato de etilo) para proporcionar el compuesto 6.

Datos de RMN para dos compuestos 6f (R<sup>a</sup> = OEt, R<sup>b</sup> = OBn) y 6h (R<sup>a</sup> = OEt, R<sup>b</sup> = OEt) se describen a continuación.

**Compuesto 6f.** RMN H<sup>1</sup> (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm) δ 7,77-7,41 (m, 10H arom.), 5,73 (d, 1H, J = 5,46 Hz, H-1α), 5,14-5,02 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-Bn), 4,56 (d, 1H, J = 9,5 Hz, H-1β), 4,48-4,45 (m, 2H, H-6a/b), 4,08-3,82 (m, 2H, R-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 4,06-3,94 (m, 2H, H-2, H-3), 3,55-3,51 (m, 2H, H-4, H-5), 2,25 (s, 3H, CH<sub>3</sub>Ac), 1,42 (t, 3H, J = 7,1 Hz, R-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>).

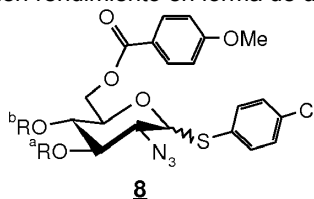
**Compuesto 6h.** RMN H<sup>1</sup> (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm) δ 7,45-7,40 (m, 2H arom.), 7,30-7,27 (m, 2H arom.), 5,48 (d, 1H, J = 5,2 Hz, H-1), 4,30-4,26 (m, 2H, H-6a/b), 3,81 (dd, 1H, J = 5,2 Hz, J = 10,3 Hz, H-2), 3,72, 3,57 (2s, 6H, 2 x OMe), 3,50 (t, 1H, J = 10,3 Hz, H-3), 2,08 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-Ac).

## Preparación del compuesto 7: Saponificación del grupo 6-OAc

Se añadió gota a gota hidróxido de sodio 1 N (120 mL) a una solución del compuesto 6 (120,9 mmoles) en 450 mL de THF/metanol (2/1) a 0°C bajo agitación. La mezcla de reacción se agitó durante 3 horas a temperatura ambiente y después se concentró a vacío. El residuo se disolvió en agua y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se secó sobre MgSO<sub>4</sub> y el disolvente se evaporó para proporcionar el compuesto 7 que se usó directamente en la siguiente etapa sin ninguna purificación adicional.

Preparación del compuesto 8: Introducción del grupo 6-(*p*-metoxibenzoilo)

Se añadió gota a gota Cloruro de *p*-anisilo (0,635 g, 3,72 mmoles) a una solución agitada del compuesto 7 (3,1 mmoles) en piridina (10 mL) a 0°C. La mezcla de reacción se agitó durante 3 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se diluyó con DCM (20 mL), se lavó con HCl 1 N (10 mL), se secó sobre MgSO<sub>4</sub> y se concentró a vacío para proporcionar material bruto 8. La purificación mediante cromatografía en columna (n-heptano/acetato de etilo) proporcionó el compuesto 8 puro con un buen rendimiento en forma de un sólido de color blanco.



compuesto	8a	8b	8c	8d	8e	8f
O <sup>a</sup>	OBn	OBn	OBn	OBn	OMe	OEt

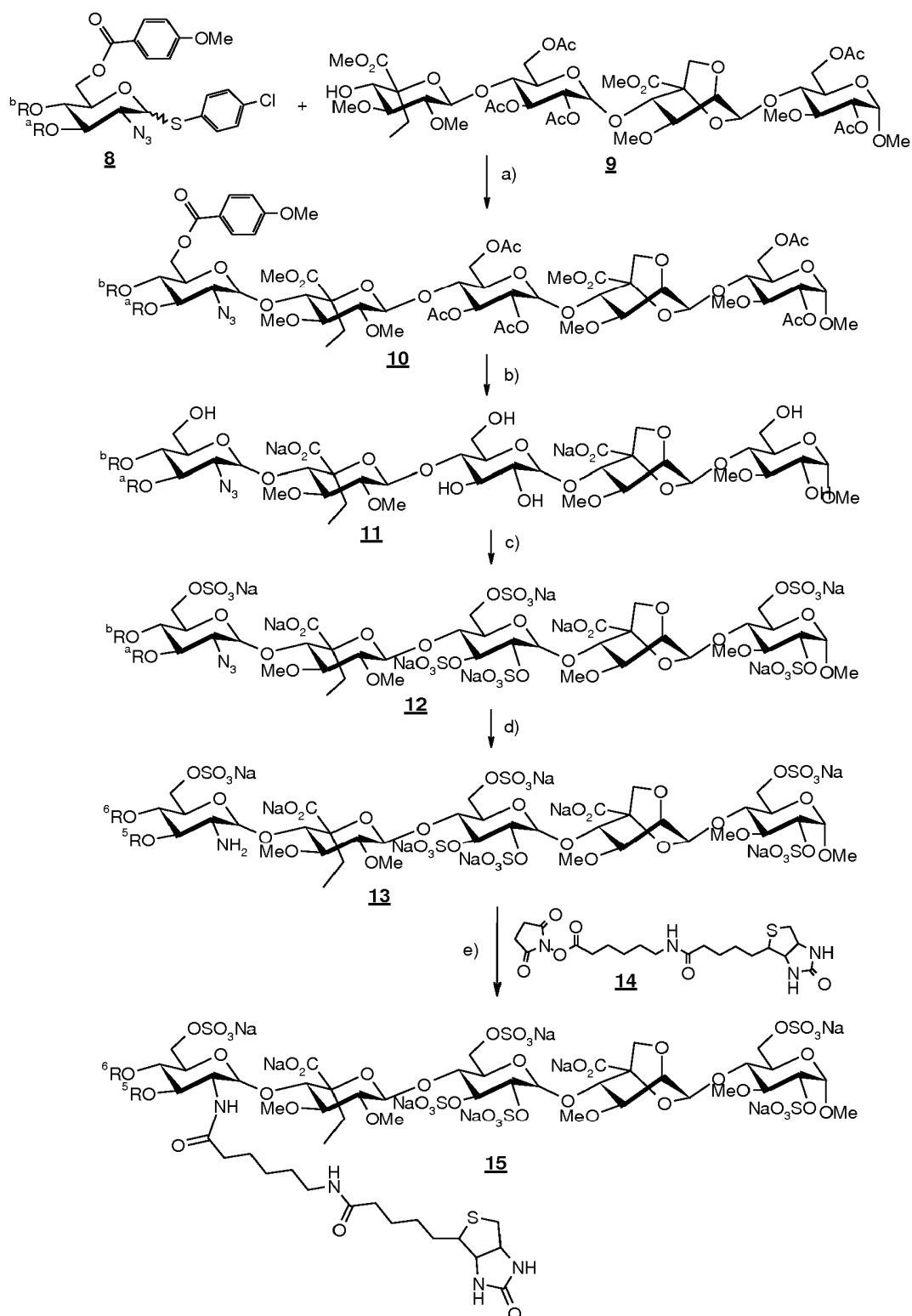


compuesto	8a	8b	8c	8d	8e	8f
O <sup>b</sup>	OBn	OMe	OEt	OPr	OBn	OBn
compuesto	8g	8h	8i	8j	8k	8l
O <sup>a</sup>	OMe	OEt	OPr	OBu	OPent	OPr
O <sup>b</sup>	OMe	OEt	OPr	OBu	OPent	OBn

Se han preparado doce compuestos (**8a a 8l**) y los datos de RMN de algunos ejemplos se describen a continuación.

- 5 **Compuesto 8a.** RMN H<sup>1</sup> (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm) δ 7,83-7,77 (m, 2H arom.), 7,36-7,16 (, m, 12H arom.), 7,09-7,03 (m, 2H arom.), 6,86-6,80 (m, 2H arom.), 5,51 (d, 1H, J = 5,3 Hz, H-1α), 4,92-4,74 (m, 4H, 2 x CH<sub>2</sub>-Bn), 4,31 (d, 1H, J = 9,8 Hz, H-1β), 3,93-3,85 (m, 1H, H-2), 3,84-3,70 (m, 3H, H-3, H-4, H-5) 3,79 (s, 3H, OMe).
- 10 **Compuesto 8f.** RMN H<sup>1</sup> (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm) δ 8,13-8,08 (m, 2H arom.) 7,69-7,51 (m, 7H arom.), 7,38-7,33 (m, 2H arom.), 7,15-7,9 (m, 2H arom.), 5,79 (d, 1H, J = 5,46 Hz, 0,79 H-1α), 5,15-5,05 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-Bn), 4,79-4,65 (m, 2H, H-6a/b), 4,58 (d, 1H, J = 9,5 Hz, 0,21 H-1β), 4,12-3,87 (m, 2H, R-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 4,11-4,01 (m, 3H, H-2, H-3, H-4), 4,08 (s, 3H, OMe), 3,64-3,58 (m, 1H, H-5), 1,45 (t, 3H, J = 7,1 Hz, R-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>).
- 15 **Compuesto 8g.** RMN H<sup>1</sup> (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm) δ 8,15-8,06 (m, 2H arom.) 7,70-7,50 (m, 7H arom.), 7,38-7,32 (m, 2H arom.), 7,15-7,9 (m, 2H arom.), 5,15-5,05 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-Bn), 5,80 (d, 1 H, J = 5,46 Hz, H-1α), 4,56 (m, 1 H, H-1β), 4,13-3,99 (m, 2H, H-2, H-3), 3,74-3,70 (m, 3H, H-5, H-4), 4,78-4,57 (m, 2H, H-6a/b), 4,03-3,71 (m, 2H, R-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 1,92-1,76 (m, 2H, R-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 1,12 (t, 3H, J = 7,1 Hz, R-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>).
- 20 **Compuesto 8h.** RMN H<sup>1</sup> (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm) δ 7,94-7,90 (m, 2H arom.), 7,41-7,38 (m, 2H arom.), 7,17-7,14 (m, 2H arom.), 6,96-6,91 (m, 2H arom.), 5,54 ( d, 1H, J = 5,2 Hz, H-1), 4,56 (m, 2H, H-6a/b), 4,44 (m, 2H, H-4, H-5), 3,84 (dd, 1 H, J = 5,2 Hz, J = 10,3 Hz, H-2), 3,79, 3,75, 3,61 (3s, 9H, 3 x OMe), 3,50 (t, 1 H, J = 10,3 Hz, H-3).

Sección 2: Síntesis de Pentasacáridos 13 y 15.



**Esquema 2.** a) TfOH, Bromodan, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MTBE; b) 2N KOH, CH<sub>3</sub>OH/THF; c) Py.SO<sub>3</sub>, piridina; d) H<sub>2</sub>, Pd/C, t-BuOH/H<sub>2</sub>O; e) iPr<sub>2</sub>NEt, DMF.

Preparación del compuesto 10: Etapa de glicosidación

- 5 El tetrasacárido **9** (9,59 mmoles), que fue descrito previamente en el documento WO2008/041131, y el monosacárido **8** (19,2 mmoles, 2 equiv.) preparado anteriormente se disolvieron en una mezcla de

diclorometano/metil-*tert*-butil éter 1/3 (v/v) (267 mL). Después de la adición de polvo de tamiz molecular 4 A (1 equivalente en peso /tetrasacárido **9**), La suspensión se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. La mezcla se enfrió a -50°C, se añadieron Bromodan (28,77 mmoles, 3 equiv.) seguido de ácido triflico (13,43 mmoles, 1,4 equiv.) y la mezcla de reacción se agitó durante 2 horas a -50°C. Se añadió una cantidad adicional de monosacárido **8** (1 equiv.) y la mezcla de reacción se agitó durante 1 hora a -50°C y se almacenó a -20°C durante la noche. Después, la mezcla de reacción se neutralizó mediante la adición de trietilamina a pH 7-8, se concentró a vacío y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (tolueno/acetona: 90/10 a 80/20) para proporcionar el pentasacárido **10** con un rendimiento de 60 a 84%.

#### 10 Preparación del compuesto 11: Desacetilación y saponificación

Una solución de hidróxido de potasio acuoso 2M (6,2 mL) se añadió a 0°C a una solución del compuesto **10** (0,14 mmoles) en una mezcla 2/1 (v/v) de tetrahidrofurano/metanol (15 mL) y la mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se neutralizó con resina ácida Dowex 50x8-100 hasta pH 4. La resina se separó por filtración y el producto filtrado se concentró a sequedad a vacío para proporcionar el compuesto **11** con un rendimiento cuantitativo.

#### Preparación del compuesto 12: Sulfatación

El complejo de trióxido de azufre piridina (4,2 mmoles, 30 equiv.) se añadió a una solución del compuesto **11** (0,14 mmoles) en piridina anhidra (3 mL). La mezcla se calentó a 80°C durante 16 h excluyendo la luz. Después de enfriar a 0°C, se añadió metanol (2 mL) y la solución se agitó durante 1 hora. A continuación se añadió una solución acuosa al 5% de NaHCO<sub>3</sub> hasta pH 7-8 y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche y se concentró hasta sequedad. El residuo se disolvió en agua y se desaló en una columna Sephadex G-25 se eluyó con agua para proporcionar el compuesto **12** con un rendimiento de 70 al 80%.

#### Preparación del compuesto 13: Hidrogenolisis

Una solución del compuesto **12** (0,16 mmoles) en una mezcla de *tert*-butanol (8 mL)/agua (8 mL) se trató bajo presión atmosférica de hidrógeno en presencia de paladio al 10% sobre carbón vegetal (1 equivalente en peso) durante 16 h. Después de la filtración (filtro Millipore (R) LSWP 5 [µm]), la solución se concentró hasta sequedad para proporcionar el compuesto **13** con un rendimiento cuantitativo.

**Compuesto 13a** (OR<sup>5</sup> = OH, OR<sup>6</sup> = OH): [α]<sub>D</sub> = +52.4 (c = 0,82, H<sub>2</sub>O); Masa (método de ESI, modo negativo); m/z 480,6 [M-3H]<sup>3-</sup>. RMN H<sup>1</sup> (400 MHz, D<sub>2</sub>O, ppm) δ 5,64 (d, 1 H, J = 3,7 Hz, H-1 Glc<sup>III</sup>), 5,43 (s, 1 H, H-1 GlcUA<sup>I</sup>), 5,21-5,19 (m, 2H, H-1 Glc<sup>I</sup>, H-1 Glc<sup>V</sup>), 5,07 (d, 1H, J = 7,8 Hz, H-1 GlcUA<sup>IV</sup>), 3,75-3,57 (5s, 15H, 5 x OMe), 2,26/1,87 (m, 2H, R-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 1,06 (t, 3H, J = 6,9 Hz, R-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>).

**Compuesto 13b** (OR<sup>5</sup> = OH, OR<sup>6</sup> = OMe): Masa (método de ESI, modo negativo); 922,8055 [M + 3dBA-5H]<sup>2-</sup>, 857,7206 [M + 2DBA-4H]<sup>2-</sup>, 793,1449 [M + DBA-3H]<sup>2-</sup>, 528,4258 [M + DBA-4H]<sup>3-</sup>, 485,3701 [M-3H]<sup>3-</sup>.

**Compuesto 13c** (OR<sup>5</sup> = OH, OR<sup>6</sup> = OEt): Masa (método de ESI, modo negativo); m/z 929,8 [M + 3DBA-5H]<sup>2-</sup>, 864,7 [M + 2DBA-4H]<sup>2-</sup>, 760,2 [M 2H]<sup>2-</sup>, 490,0 [M 3H]<sup>3-</sup>. RMN H<sup>1</sup> (400 MHz, D<sub>2</sub>O, ppm) δ 5,49 (d, 1H, J = 3,7 Hz, H-1 Glc<sup>III</sup>), 5,28 (d, 1 H, J = 1,4 Hz, H-1 ManUA<sup>II</sup>), 5,21 (d, 1 H, J = 3,4 Hz, H-1 Glc<sup>V</sup>), 5,07 (d, 1 H, J = 3,7 Hz, H-1 Glc<sup>I</sup>), 4,84 (d, 1 H, J = 7,4 Hz, H-1 Glc<sup>IV</sup>), 3,93-3,74 (m, 2H, R-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 3,60, 3,53, 3,45, 3,44, 3,42 (5s, 15H, 5 x OMe), 2,07/1,71 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 1,19 (t, 3H, J = 6,9 Hz, R-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 0,90 (t, 3H, J = 7,2 Hz, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>).

**Compuesto 13d** (OR<sup>5</sup> = OH, OR<sup>6</sup> = OPr): Masa (método de ESI, modo negativo); m/z 872,1984 [M + 2DBA-4H]<sup>2-</sup>, 807,6226 [M + 1DBA-3H]<sup>2-</sup>, 767,6424 [M-2H]<sup>2-</sup>.

**Compuesto 13e** (OR<sup>5</sup> = OMe, OR<sup>6</sup> = OH): Masa (método de ESI, modo negativo); m/z 857,66 [M + 2DBA-4H]<sup>2-</sup>, 793,09 [M + 1 DBA-3H]<sup>2-</sup>, 486,10 [M-3H]<sup>3-</sup>.

**Compuesto 13f** (OR<sup>5</sup> = OEt, OR<sup>6</sup> = OH): Masa (método de ESI, modo negativo); m/z 929,3 [M + 3dBA-5H]<sup>2-</sup>, 864,7 [M + 2DBA-4H]<sup>2-</sup>, 800,1 [M + DBA-3H]<sup>2-</sup>, 760,2 [M-2H]<sup>2-</sup>, 490,0 [M-3H]<sup>3-</sup>.

**Compuesto 13g** (OR<sup>5</sup> = OPr, OR<sup>6</sup> = OH): Masa (método de ESI, modo negativo); m/z 871,6919 [M + 2DBA-4H]<sup>2-</sup>, 807,1179 [M + DBA-3H]<sup>2-</sup>, 767,1397 [M-2H]<sup>2-</sup>.

**Compuesto 13h** (OR<sup>5</sup> = OMe, OR<sup>6</sup> = OMe): [α]<sub>D</sub> = 71,6 (c = 1, H<sub>2</sub>O); Masa (método de ESI, modo negativo); m/z 864,6 [M + 2DBA-4H]<sup>2-</sup>, 800,0 [M + DBA-3H]<sup>2-</sup>, 533,0 [M + DBA-4H]<sup>3-</sup>, 590,0 [M-3H]<sup>3-</sup>.

**Compuesto 13i** (OR<sup>5</sup> = OEt, OR<sup>6</sup> = OEt): [α]<sub>D</sub> = 79,3 (c = 1, H<sub>2</sub>O); Masa (método de ESI, modo negativo); m/z 943,3 [M + 3dBA-5H]<sup>2-</sup>, 878,7 [M + 2DBA-4H]<sup>2-</sup>, 814,2 [M + DBA + 3H]<sup>2-</sup>.

**Compuesto 13j** ( $OR^5 = OPr$ ,  $OR^6 = OPr$ ):  $[\alpha]_D = 64,5$  ( $c = 1$ ,  $H_2O$ ); Masa (método de ESI, modo negativo);  $m/z$  508,7  $[M-3H]^{3-}$ .

**Compuesto 13k** ( $OR^5 = OBu$ ,  $OR^6 = OBu$ ): Masa (método de ESI, modo negativo);  $m/z$  906,6991  $[M + 2DBA-4H]^{2-}$ , 561,0756  $[M + DBA-4H]^{3-}$ , 518,0267  $[M-3H]^{3-}$ .

**Compuesto 13l** ( $OR^5 = OPent$ ,  $OR^6 = OPent$ ):  $[\alpha]_D = 66,9$  ( $c = 1$ ,  $H_2O$ ); Masa (método de ESI, modo negativo);  $m/z$  985,3  $[M + 3dBA-5H]^{2-}$ , 920,8  $[M + 2DBA-4H]^{2-}$ , 570,4  $[M + DBA-4H]^{3-}$ , 527,4  $[M-3H]^{3-}$ .

Preparación del compuesto 15: biotilación LC

A una solución del compuesto **13** (0,086 mmoles) en DMF anhidra (8 mL), se le añadieron 6-(biotinamido)hexanoato de succinimido **14** (58,6 mg, 0,129 mmoles) y diisopropiletilamina (22,5  $\mu$ l, 0,129 mmoles) y la mezcla se agitó durante 20 h a temperatura ambiente. A continuación, se añadió una solución acuosa al 5% de  $NaHCO_3$  (3,6 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche y se concentró a sequedad. El residuo se disolvió en agua y se desaló en una columna Sephadex G-25 eluida con agua para proporcionar el compuesto **15** con un rendimiento de 68 al 87%.

**Compuesto 15a** ( $OR^5 = OH$ ,  $OR^6 = OH$ ):  $[\alpha]_D = 64,8$  ( $c = 1$ ,  $H_2O$ ); Masa (método de ESI, modo negativo);  $m/z$  1149,9  $[M + 4DBA-6H]^{2-}$ , 1,084,8  $[M + 3dBA-5H]^{2-}$ , 1,020,3  $[M + 2DBA-4H]^{2-}$ , 679,8  $[M + 2DBA-5H]^{3-}$ , 636,8  $[M + DBA-4H]^{3-}$ . RMN  $H^1$  (400 MHz,  $D_2O$ , ppm)  $\delta$  5,66 (d, 1H,  $J = 3,5$  Hz, H-1 Glc<sup>III</sup>), 5,42 (s, 1H, H-1 ManUA"), 5,32 (d, 1H,  $J = 3,6$  Hz, H-1 Glc<sup>V</sup>), 5,22 (d, 1H,  $J = 3,8$  Hz, H-1 Glc<sup>I</sup>), 5,17 (d, 1H,  $J = 7,4$  Hz, H-1 Glc<sup>IV</sup>), 4,54 (m, 1H, H-6 biotina), 4,42 (m, 1H, H-2 biotina), 3,75-3,54 (5s, 15H, 5 x OMe), 3,33 (m, 1H, H-1 biotina), 2,99 (dd, 1H,  $J = 5,0$  Hz,  $J = 13,2$  Hz, H-7a biotina), 2,76 (d, 1H,  $J = 13,2$  Hz, H-7b biotina), 2,28/1,93 (m, 2H, R-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 1,19 (t, 3H,  $J = 6,9$  Hz, R-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>).

**Compuesto 15b** ( $OR^5 = OH$ ,  $OR^6 = OMe$ ):  $[\alpha]_D = 59,2$  ( $c = 1$ ,  $H_2O$ ); Masa (método de ESI, modo negativo);  $m/z$  1156,9768  $[M + 4DBA-6H]^{2-}$ , 1092,9164  $[M + 3dBA-5H]^{2-}$ , 1027,3103  $[M + 2DBA-4H]^{2-}$ .

**Compuesto 15c** ( $OR^5 = OH$ ,  $OR^6 = OEt$ ): Masa (método de ESI, modo negativo);  $m/z$  1163,9  $[M + 4DBA-6H]^{2-}$ , 1,098,9  $[M + 3dBA-5H]^{2-}$ , 1,034,3  $[M + 2DBA-4H]^{2-}$ , 969,7  $[M + DBA-3H]^{2-}$ , 689,2  $[M + 2DBA-5H]^{3-}$ , 646,1  $[M + DBA-4H]^{3-}$ . RMN  $H^1$  (400 MHz,  $D_2O$ , ppm)  $\delta$  5,49 (d, 1H,  $J = 3,5$  Hz, H-1 Glc<sup>III</sup>), 5,26 (s, 1H, H-1 ManUA"), 5,16 (d, 1H,  $J = 3,6$  Hz, H-1 Glc<sup>V</sup>), 5,06 (d, 1H,  $J = 3,8$  Hz, H-1 Glc<sup>I</sup>), 5,01 (d, 1H,  $J = 7,4$  Hz, H-1 Glc<sup>IV</sup>), 4,54 (m, 1H, H-6 biotina), 4,42 (m, 1H, H-2 biotina), 3,98-3,73 (m, 2H, R-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 3,59, 3,47, 3,44, 3,43, 3,38 (5s, 15H, 5 x OMe), 3,33 (m, 1H, H-1 biotina), 2,99 (dd, 1H,  $J = 5,0$  Hz,  $J = 13,2$  Hz, H-7a biotina), 2,76 (d, 1H,  $J = 13,2$  Hz, H-7b biotina), 1,19 (t, 3H,  $J = 6,9$  Hz, R-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>).

**Compuesto 15e** ( $OR^5 = OMe$ ,  $OR^6 = OH$ ): Masa (método de ESI, modo negativo);  $m/z$  1156,9  $[M + 4DBA-6H]^{2-}$ , 1,091,9  $[M + 3dBA-5H]^{2-}$ , 1,027,3  $[M + 2DBA-4H]^{2-}$ , 962,7  $[M + DBA-3H]^{2-}$ . RMN  $H^1$  (400 MHz,  $D_2O$ , ppm)  $\delta$  7,9 (d, 1H,  $J = 9,1$  Hz, NH Glc<sup>V</sup>), 5,50 (d, 1H,  $J = 3,5$  Hz, H-1 Glc<sup>III</sup>), 5,27 (s, 1H, H-1 ManUA"), 5,12 (d, 1H,  $J = 3,6$  Hz, H-1 Glc<sup>V</sup>), 5,06 (d, 1H,  $J = 3,8$  Hz, H-1 Glc<sup>I</sup>), 5,01 (d, 1H,  $J = 7,4$  Hz, H-1 Glc<sup>IV</sup>), 4,59 (m, 1H, H-6 biotina), 4,41 (m, 1H, H-2 biotina), 3,59, 3,55, 3,47, 3,44, 3,43, 3,37 (6s, 18H, 6 x OMe), 3,33 (m, 1H, H-1 biotina), 2,99 (dd, 1H,  $J = 5,0$  Hz,  $J = 13,2$  Hz, H-7a biotina), 2,76 (d, 1H,  $J = 13,2$  Hz, H-7b biotina).

**Compuesto 15f** ( $OR^5 = OEt$ ,  $OR^6 = OH$ ): Masa (método de ESI, modo negativo);  $m/z$  1163,9  $[M + 4DBA-6H]^{2-}$ , 1,098,9  $[M + 3dBA-5H]^{2-}$ , 1,034,3  $[M + 2DBA-4H]^{2-}$ , 969,7  $[M + DBA-3H]^{2-}$ , 745,2  $[M + 3dBA-6H]^{3-}$ , 646,1  $[M + DBA-4H]^{3-}$ .

**Compuesto 15h** ( $OR^5 = OMe$ ,  $OR^6 = OMe$ ): Masa (método de ESI, modo negativo);  $m/z$  1164,5  $[M + 4DBA-6H]^{2-}$ .

**Compuesto 15i** ( $OR^5 = OEt$ ,  $OR^6 = OEt$ ): Masa (método de ESI, modo negativo);  $m/z$  1178,5  $[M + 4DBA-6H]^{2-}$ , 1,048,8  $[M + 2DBA-4H]^{2-}$ , 984,2  $[M + DBA-3H]^{2-}$ , 698,9  $[M + 2DBA-5H]^{3-}$ , 655,8  $[M + DBA-4H]^{3-}$ .

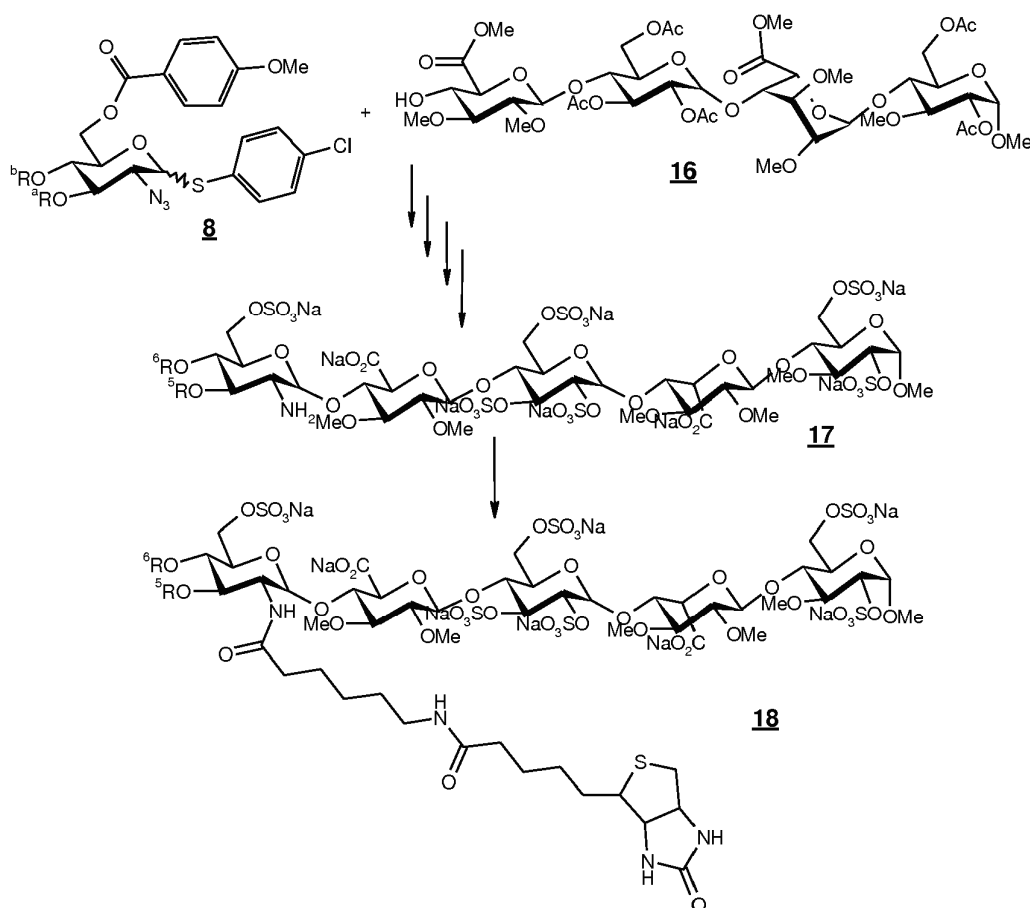
**Compuesto 15j** ( $OR^5 = OPr$ ,  $OR^6 = OPr$ ):  $[\alpha]_D = 47,4$  ( $c = 1,6$ ,  $H_2O$ ); Masa (método de ESI, modo negativo);  $m/z$  707,8  $[M + 2DBA-5H]^{3-}$ , 664,8  $[M + DBA-4H]^{3-}$ , 621,7  $[M-3H]^{3-}$ , 466,0  $[M-4H]^{4-}$ .

**Compuesto 15k** ( $OR^5 = OBu$ ,  $OR^6 = OBu$ ):  $[\alpha]_D = 56,1$  ( $c = 0,95$ ,  $H_2O$ ) Masa (método de ESI, modo negativo);  $m/z$  1206,4319  $[M + 4DBA-6H]^{2-}$ , 1141,9298  $[M + 3dBA-5H]^{2-}$ , 717,5716  $[M + 2DBA-5H]^{3-}$ , 674,5105  $[M + DBA-4H]^{3-}$ , 631,4722  $[M-3H]^{3-}$ .

**Compuesto 15l** ( $OR^5 = OPent$ ,  $OR^6 = OPent$ ):  $[\alpha]_D = 64,0$  ( $c = 1$ ,  $H_2O$ ); Masa (método de ESI, modo negativo);  $m/z$  1220,0267  $[M + 4DBA-6H]^{2-}$ , 1155,4486  $[M + 3dBA-5H]^{2-}$ , 1090,3690  $[M + 2DBA-4H]^{2-}$ , 726,5686  $[M + 2DBA-5H]^{3-}$ , 683,5173  $[M + DBA-4H]^{3-}$ , 640,4665  $[M-3H]^{3-}$ .

## Sección 3: Síntesis de pentasacáridos 17 y 18

Los compuestos **17** y **18** se prepararon de una manera similar a la descrita para los compuestos **13** y **15** (Esquema 2) a partir del tetrasacárido **16** descrito anteriormente en el documento WO2006/067173 y los monosacáridos **8** como se representa en el Esquema 3 a continuación.



**Esquema 3.** Ruta sintética de los compuestos **17** y **18** partiendo de los intermedios **8** y **16**

La preparación de compuestos **17** se llevó a cabo de una manera similar a la descrita para los compuestos **13**.

**Compuesto 17a** ( $OR^5 = OH$ ,  $OR^6 = OH$ ): Masa (método de ESI, modo negativo);  $m/z$  837,6353 [ $M + 2DBA-4H$ ] $^{2-}$ , 773,0602 [ $M + DBA-3H$ ] $^{2-}$ , 708,4929 [ $M-2H$ ] $^{2-}$ . RMN  $H^1$  (400 MHz,  $D_2O$ , ppm)  $\delta$  5,56 (d, 1 H,  $J = 3,4$  Hz, H-1 Glc $^V$ ), 5,51 (d, 1 H,  $J = 3,5$  Hz, H-1 Glc $^{III}$ ), 5,20 (d, 1 H,  $J = 3,6$  Hz, H-1 Glc $^I$ ), 4,99 (s, 1 H, H-1 GlcUA $^{II}$ ), 4,81 (d, 1 H,  $J = 7,8$  Hz, H-1 GlcUA $^{IV}$ ), 3,76-3,57 (6s, 18H, 6 x OMe).

**Compuesto 17b** ( $OR^5 = OH$ ,  $OR^6 = OMe$ ): Masa (método de ESI, modo negativo);  $m/z$  909,2 [ $M + 3dBA-5H$ ] $^{2-}$ , 844,7 [ $M + 2DBA-4H$ ] $^{2-}$ , 780,1 [ $M + DBA-3H$ ] $^{2-}$ , 715,5 [ $M-2H$ ] $^{2-}$ . RMN  $H^1$  (400 MHz,  $D_2O$ , ppm)  $\delta$  5,35 (d, 1 H,  $J = 3,6$  Hz, H-1 Glc $^{III}$ ), 5,31 (d, 1 H,  $J = 3,5$  Hz, H-1 Glc $^V$ ), 5,04 (d, 1 H,  $J = 3,7$  Hz, H-1 Glc $^I$ ), 4,98 (s, 1 H, H-1 GlcUA $^{II}$ ), 4,64 (d, 1 H,  $J = 7,8$  Hz, H-1 GlcUA $^{IV}$ ), 3,61 (s, 3H, OMe), 3,55 (2s, 6H, OMe), 3,50 (2s, 6H, OMe), 3,48 (s, 3H, OMe), 3,42 (s, 3H, OMe).

**Compuesto 17c** ( $OR^5 = OH$ ,  $OR^6 = OEt$ ): Masa (método de ESI, modo negativo);  $m/z$  851,6870 [ $M + 2DBA-4H$ ] $^{2-}$ , 787,1106 [ $M + DBA-3H$ ] $^{2-}$ , 722,5338 [ $M-2H$ ] $^{2-}$ , 481,3487 [ $M-3H$ ] $^{3-}$ . RMN  $H^1$  (400 MHz,  $D_2O$ , ppm)  $\delta$  5,50 (d, 1 H,  $J = 3,5$  Hz, H-1 Glc $^{III}$ ), 5,42 (d, 1 H,  $J = 3,5$  Hz, H-1 Glc $^V$ ), 5,19 (d, 1 H,  $J = 3,8$  Hz, H-1 Glc $^I$ ), 5,13 (s, 1 H, H-1 GlcUA $^{II}$ ), 4,79 (d, 1 H,  $J = 7,7$  Hz, H-1 GlcUA $^{IV}$ ), 3,98-3,91 (m, 2H, R-CH $_2$ -CH $_3$ ), 3,75-3,57 (6s, 18H, 6 x OMe), 1,32 (t, 3H,  $J = 6,9$  Hz, R-CH $_2$ -CH $_3$ ).

**Compuesto 17e** ( $OR^5 = OMe$ ,  $OR^6 = OH$ ): Masa (método de ESI, modo negativo);  $m/z$  844,6550 [ $M + 2DBA-4H$ ] $^{2-}$ , 780,0801 [ $M + DBA-3H$ ] $^{2-}$ , 715,5092 [ $M-2H$ ] $^{2-}$ , 476,6641 [ $M-3H$ ] $^{3-}$ .

**Compuesto 17f** ( $OR^5 = OEt$ ,  $OR^6 = OH$ ): Masa (método de ESI, modo negativo);  $m/z$  851,7  $[M + 2DBA-4H]^{2-}$ , 787,1  $[M + DBA-3H]^{2-}$ , 722,5  $[M-2H]^{2-}$ , 481,3  $[M-3H]^{3-}$ .

5 **Compuesto 17h** ( $OR^5 = OMe$ ,  $OR^6 = OMe$ ): Masa (método de ESI, modo negativo);  $m/z$  916,2817  $[M + 3dBA-5H]^{2-}$ , 851,7057  $[M + 2DBA + 2Na-4H]^{2-}$ , 787,1298  $[M + DBA-3H]^{2-}$ , 722,5541  $[M-2H]^{2-}$ , 481,3654  $[M-3H]^{3-}$ . RMN  $H^1$  (400 MHz,  $D_2O$ , ppm),  $\delta$  5,48 (d, 1 H,  $J = 3,5$  Hz, H-1 Glc<sup>V</sup>), 5,36 (d, 1 H,  $J = 3,4$  Hz, H-1 Glc<sup>III</sup>), 5,04 (m, 2H, H-1 GlcUA<sup>II</sup>, H-1 Glc<sup>I</sup>), 4,67 (d, 1H,  $J = 7,8$  Hz, H-1 GlcUA<sup>IV</sup>), 3,64-3,42 (8s, 24H, 8x OMe).

10 La preparación de los compuestos **18** se llevó a cabo de una manera similar a la descrita para los compuestos **15**.

**Compuesto 18a** ( $OR^5 = OH$ ,  $OR^6 = OH$ ): Masa (método de ESI, modo negativo);  $m/z$  718,215  $[M + 3dBA-6H]^{3-}$ , 671,528  $[M + 2DBA-5H]^{3-}$ , 628,142  $[M + DBA-4H]^{3-}$ , 585,090  $[M-3H]^{3-}$ . RMN  $H^1$  (400 MHz,  $D_2O$ , ppm)  $\delta$  5,35 (d, 1H,  $J = 3,6$  Hz, H-1 Glc<sup>III</sup>), 5,29 (d, 1H,  $J = 3,9$  Hz, H-1 Glc<sup>V</sup>), 5,04 (d, 1 H,  $J = 3,7$  Hz, H-1 Glc<sup>I</sup>), 4,99 (s, 1H, H-1 GlcUA<sup>II</sup>), 4,67 (d, 1H,  $J = 7,8$  Hz, H-1 GlcUA<sup>IV</sup>), 3,60-3,42 (6s, 18H, 6x OMe), 4,61 (m, 1H, H-6 biotina), 4,42 (m, 1H, H-2 biotina), 3,33 (m, 1H, H-1 biotina), 3,01 (dd, 1H,  $J = 4,9$  Hz,  $J = 13,1$  Hz, H-7a biotina), 2,77 (d, 1H,  $J = 13,1$  Hz, H-7b biotina).

20 **Compuesto 18c** ( $OR^5 = OH$ ,  $OR^6 = OEt$ ): Masa (método de ESI, modo negativo);  $m/z$  1150,8828  $[M + 4DBA-6H]^{2-}$ , 1086,3187  $[M + 3dBA-5H]^{2-}$ , 1021,2565  $[M + 2DBA-4H]^{2-}$ , 956,6723  $[M + DBA-3H]^{2-}$ , 892,1098  $[M-2H]^{2-}$ , 594,3942  $[M-3H]^{3-}$ .

25 **Compuesto 18e** ( $OR^5 = OMe$ ,  $OR^6 = OH$ ): Masa (método de ESI, modo negativo);  $m/z$  1143,8594  $[M + 4DBA-6H]^{2-}$ , 1078,7886  $[M + 3dBA-5H]^{2-}$ , 1014,2141  $[M + 2DBA-4H]^{2-}$ , 949,6444  $[M + DBA-3H]^{2-}$ , 632,7502  $[M + DBA-4H]^{3-}$ , 589,7020  $[M-3H]^{3-}$ .

30 **Compuesto 18f** ( $OR^5 = OEt$ ,  $OR^6 = OH$ ): Masa (método de ESI, modo negativo);  $m/z$  1151,4  $[M + 4DBA-6H]^{2-}$ , 1.085,8  $[M + 3dBA-5H]^{2-}$ , 1.021,2  $[M + 2DBA-4H]^{2-}$ , 957,2  $[M + DBA-3H]^{2-}$ , 637,4  $[M + DBA-4H]^{3-}$ , 594,4  $[M-3H]^{3-}$ .

35 **Compuesto 18h** ( $OR^5 = OMe$ ,  $OR^6 = OMe$ ): Masa (método de ESI, modo negativo);  $m/z$  637,4261  $[M + DBA-4H]^{3-}$ , 594,3792  $[M-3H]^{3-}$ , 445,0662  $[M-4H]^{4-}$ . RMN  $H^1$  (400 MHz,  $D_2O$ , ppm),  $\delta$  5,36 (d, 1H,  $J = 3,4$  Hz, H-1 Glc<sup>III</sup>), 5,24 (d, 1H,  $J = 3,9$  Hz, H-1 Glc<sup>V</sup>), 5,04 (m, 2H, H-1 Glc<sup>I</sup>, H-1 GlcUA<sup>II</sup>), 4,66 (d, 1H,  $J = 7,8$  Hz, H-1 GlcUA<sup>IV</sup>), 3,59-3,43 (8s, 24H, 8 x OMe), 4,59 (m, 1 H, H-6 biotina), 4,42 (m, 1 H, H-2 biotina), 3,33 (m, 1H, H-1 biotina), 2,99 (dd, 1H,  $J = 4,9$  Hz,  $J = 13,1$  Hz, H-7a biotina), 2,76 (d, 1 H,  $J = 13,1$  Hz, H-7b biotina).

#### Ensayo biológico

40 Se entenderá que una variedad de análisis son adecuados para someter a ensayo la actividad biológica de los compuestos de la presente invención. Sin embargo, los métodos adecuados para someter a ensayo la actividad biológica de los compuestos de la presente invención se enumeran a continuación.

#### Determinación de la actividad anti-factor Xa de los compuestos ( $CI_{50}$ )

45 Los compuestos de la presente invención inhiben el factor Xa de coagulación de la sangre a través de la activación de la antitrombina (AT). Los compuestos se compararon en cuanto a su capacidad de inhibir el factor Xa en presencia de AT bajo condiciones convencionales. Para cada compuesto se trazó una curva que representa el % de inhibición frente a la concentración. Se determinó la concentración que inhibe el 50% de la actividad del factor Xa ( $CI_{50}$ ). Para este fin se utilizó un sistema disponible en el mercado: kit Stachrom HP (Diagnostica Stago). Este análisis se llevó a cabo en un STA Compact (Diagnostica Stago).

#### Cuantificación de los compuestos en plasma

55 La concentración plasmática de los compuestos ( $\mu g$  de compuesto/mL de plasma) en rata se determinó utilizando un análisis biológico basado en su actividad anti-factor Xa (kit Stachrom HP, Diagnostica Stago como se describió anteriormente). Este análisis se llevó a cabo en un STA Compact (Diagnostica Stago). Se realizó una curva de calibración específica con cada compuesto para ser cuantificado en plasma de rata.

#### Estudio farmacocinético después de la administración intravenosa (vida media de eliminación, $T_{1/2}$ )

60 Las farmacocinéticas de los compuestos de la presente invención se investigaron en ratas hembra Wistar Han después de la administración intravenosa.

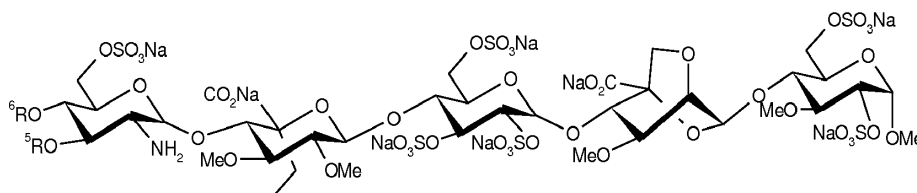
Se tomaron muestras de sangre en varios momentos y la sangre (9 volúmenes) se mezcló con citrato sódico (1

volumen) y se enfrió inmediatamente en hielo. La muestra se sometió a una centrifugación a 3000 xg durante 10 minutos a baja temperatura (el plasma es típicamente estable durante 24 h a temperatura inferior a 8°C) y se almacenó congelada a -20°C. La concentración del compuesto (por mL de plasma) se determinó mediante su actividad anti-factor Xa utilizando la actividad del factor Xa como se ha descrito anteriormente.

Para cada compuesto, la vida media de eliminación se calculó a partir de la concentración frente a la curva de tiempo obtenida de este modo.

## Resultados

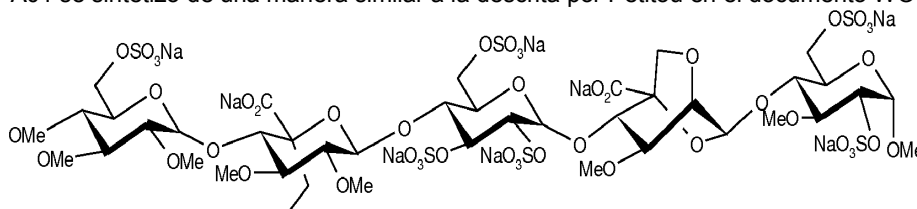
Familia 1 ( $R^2$  y  $R^7$  forman un puente,  $R^4 = -NH_2$  y  $R^5 = R^6$ )



compuesto	O <sup>a</sup> /O <sup>b</sup>	IC <sub>50</sub> (nM)	T <sub>1/2</sub> (h) (Rata)
<b>13h</b>	-OMe	99	1,2 ± 0,1
<b>13i</b>	-OEt	45	1,5 ± 0,1
<b>13j</b>	-OPr	47	1,8 ± 0,1
<b>13k</b>	-OBu	34	2,2 ± 0,1
<b>13l</b>	-OPent	34	3,2 ± 0,1

## Comparación 1

El compuesto PA01 se sintetizó de una manera similar a la descrita por Petitou en el documento WO 99/36428.



(PA01).

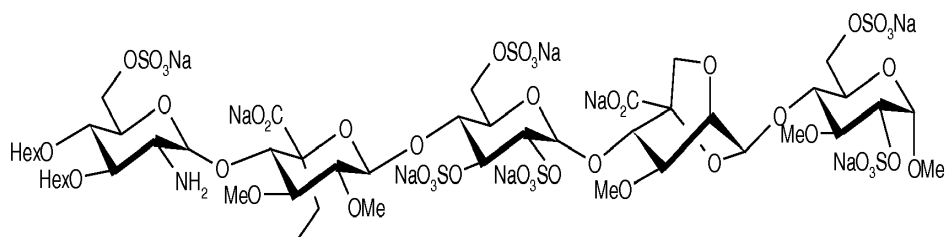
El compuesto PA01 tiene una vida media T<sub>1/2</sub> en rata de 3,5 ± 0,3 h y una actividad CI<sub>50</sub> de 34 nM.

El compuesto PA01 y el compuesto **13h** difieren en el grupo R<sup>4</sup>: el compuesto (PA01) que tiene un grupo -OMe y el compuesto **13h** que tiene un grupo -NH<sub>2</sub>. Cuando se comparan, se observa que la vida media del compuesto **13h** se reduce en aproximadamente 66% con respecto a la vida media del compuesto PA01.

También se puede realizar una comparación con los compuestos **13ia** **13l**. Cabe observar que estos compuestos tienen una vida media más corta que la del compuesto PA01 mientras se preserva su actividad inhibidora del factor Xa.

## Comparación 2

El compuesto PA02 se sintetizó de una manera similar a la descrita en el documento EP 2 074 131.



PA02

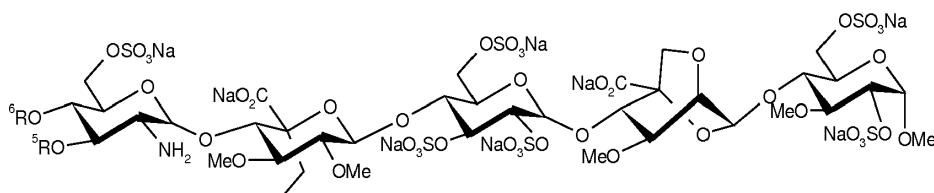
El compuesto PA02 tiene una vida media  $T_{1/2}$  en rata de  $4,8 \pm 0,5$  y una actividad  $CI_{50}$  de 108 nM.

- 5 Los compuestos **13h** a **13l** difieren del compuesto PA02 por tener un grupo alquilo en el  $R^5$  y  $R^6$  con un menor número de átomos de carbono. Las vidas medias en rata de los compuestos **13h** a **13k** son más cortas que las de los compuestos PA02, que van desde 1,2 h (-OMe) a 3,2 h (-OPent).

10 Además, la actividad anti-factor Xa de los compuestos **13h** a **13l** se incrementa en comparación con la del compuesto PA02, es decir la  $CI_{50}$  de los compuestos **13h** a **13k** disminuye. Los valores de  $CI_{50}$  de los compuestos **13h** a **13l** van de 99 nM (-OMe) a 34 nM (-OBu y -OPent).

Cabe señalar que esta selección restringida ha producido compuestos con vidas medias cortas en comparación con los compuestos de la técnica anterior.

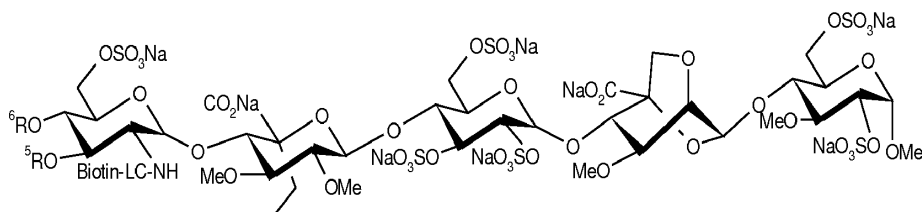
- 15 Familia 2 ( $R^2$  y  $R^7$  formar un puente,  $R^4 = -NH_2$  y  $R^5 \neq R^6$ )



compuesto	$OR^5/OR^6$	$CI_{50}$ (nM)	$T_{1/2}$ (h) (Rata)
<b>13c</b>	-OH/OEt	84	$1,4 \pm 0,1$
<b>13d</b>	-OH/OPr	94	$0,9 \pm 0,1$

20 Debe observarse de nuevo que esta selección restringida ha producido compuestos con vidas medias cortas en comparación con los compuestos de la técnica anterior.

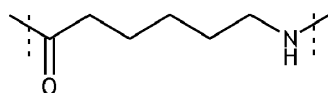
- 25 Familia 3 ( $R^2$  y  $R^7$  forman un puente,  $R^4 = -NH-LC-biotina$  y  $R^5 = R^6$ )



compuesto	$OR^5/OR^6$	$CI_{50}$ (nM)	$T_{1/2}$ (h) (Rata)
<b>15a</b>	-OH	56	$1,7 \pm 0,2$
<b>15h</b>	-OMe	32	$1,6 \pm 0,2$
<b>15i</b>	-OEt	21	$2,8 \pm 0,1$
<b>15k</b>	-OBu	32	$3,0 \pm 0,2$

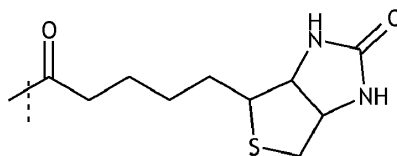
LC representa la siguiente fórmula:





(LC).

La biotina (o nombre IUPAC ácido 5-[(3aS,4S,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il]pentanoico, también conocido como vitamina B<sub>7</sub>) representa el siguiente grupo:



(biotina).

### Comparación 3

El compuesto PA01 y el compuesto **15h** difieren en el grupo R<sup>4</sup> teniendo el compuesto PA01 un grupo -OMe y teniendo el compuesto **15h** un grupo -NH-LC-biotina. Cuando se comparan, se observa que la vida media del compuesto **15h** se reduce en aproximadamente 54% con respecto a la vida media del compuesto PA01.

También se puede hacer una comparación con los compuestos **15a** y **15i**. Se debe observar que estos compuestos tienen una vida media más corta que la del compuesto PA01.

Adicionalmente, los compuestos **15h**, **15i** y **15k**, despliegan una actividad Cl<sub>50</sub> inferior y por lo tanto son mejores inhibidores del factor Xa que el compuesto PA01.

### Comparación 4

El compuesto PA02 y el compuesto **15a** difieren en los grupos R<sup>5</sup> y R<sup>6</sup>, teniendo el compuesto PA02 un grupo -OHex (hexoxi) mientras que el compuesto **15a** tiene un grupo -OH y en el grupo R<sup>4</sup> teniendo el compuesto PA02 un grupo -NH<sub>2</sub> mientras que el compuesto **15a** tiene un grupo -NH-LC-biotina. Cuando se comparan ambos, se observa que la vida media del compuesto **15a** se reduce en aproximadamente 73% con respecto al Compuesto PA02.

Los compuestos **15h** a **15k** difieren del compuesto PA02 por tener un grupo alquiloxi en R<sup>5</sup> y R<sup>6</sup> con un menor número de átomos de carbono. Las vidas medias de los compuestos **15h** a **15k** son más cortas que la de los compuestos PA02.

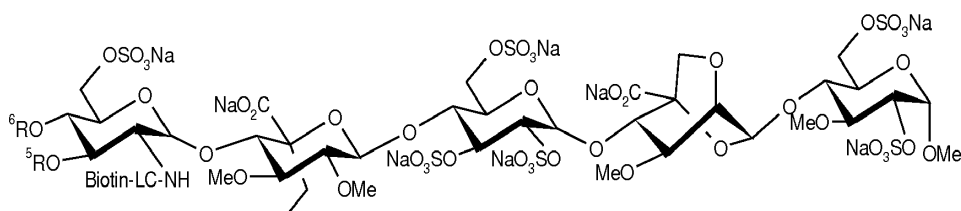
Además, la actividad de los compuestos **15h** a **15k** se incrementa en comparación con la del compuesto PA02. El valor de Cl<sub>50</sub> del compuesto **15a** es 56 nM, mientras que las de los compuestos **15h** a **15i** permanecen por debajo de 33 nM.

### Comparación 5

Los compuestos de la familia 1 y de la familia 3 difieren en el grupo R<sup>4</sup>, los compuestos de la Familia 1 que tienen un grupo -NH<sub>2</sub> mientras que los de la Familia 3 tienen un grupo -NH-LC-biotina. Los compuestos de la Familia de 3 tienen una actividad anti-factor Xa mayor (Cl<sub>50</sub> menor) que los compuestos de la Familia 1 sin dejar de tener valores de vida media aceptables.

Por lo tanto, el injerto de un grupo biotina en los compuestos de la Familia 1 aumenta sorprendentemente la actividad anti-factor Xa.

Familia 4 (R<sup>2</sup> y R<sup>7</sup> forman un puente, R<sup>4</sup> = -NH-LC-biotina y R<sup>5</sup> ≠ R<sup>6</sup>)



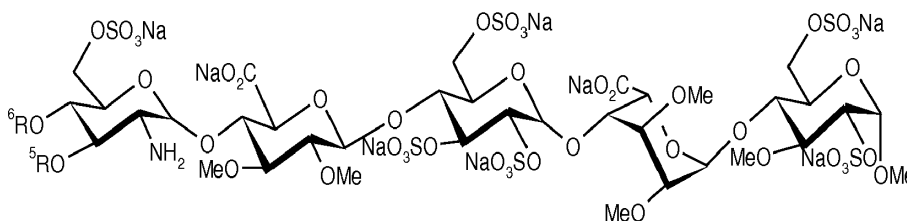
compuesto	OR <sup>5</sup> /OR <sup>6</sup>	Cl <sub>50</sub> (nM)	T <sub>1/2</sub> (h) (Rata)
<b>15b</b>	-OH/OMe	42	1,3 ± 0,1
<b>15e</b>	-OMe/OH	65	1,3 ± 0,1
<b>15c</b>	-OH/OEt	30	2,2 ± 0,2
<b>15f</b>	-OEt/OH	50	1,3 ± 0,0

## Comparación 6

5 Los compuestos de la Familia de 2 y de la Familia 4 difieren en el grupo R<sup>4</sup> teniendo los compuestos de la Familia 2 un grupo -NH<sub>2</sub> mientras que los de la Familia 4 tienen un grupo -NH-LC-biotina. Los compuestos de la Familia 4 tienen una actividad anti-factor Xa mayor (Cl<sub>50</sub> menor) que los compuestos de la Familia 2 sin dejar de tener valores de vida media aceptables.

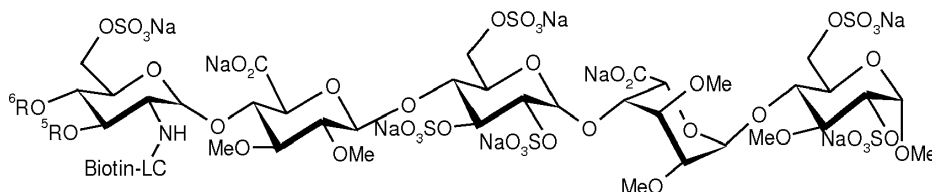
10 Por lo tanto, el injerto de un grupo biotina en los compuestos de la Familia 2 aumenta sorprendentemente la actividad anti-factor Xa.

Familia 5 (R<sup>2</sup> = alcoxi, R<sup>7</sup> = H, R<sup>4</sup> = -NH<sub>2</sub>)



compuesto	OR <sup>5</sup> /OR <sup>6</sup>	Cl <sub>50</sub> (nM)	T <sub>1/2</sub> (h) (Rata)
<b>17h</b>	-OMe/OMe	59	1,2 ± 0,1
<b>17c</b>	-OH/OEt	103	1,3 ± 0,1

Familia 6 (R<sup>2</sup> = alcoxi, R<sup>7</sup> = H, R<sup>4</sup> = -NH-LC-biotina)



compuesto	OR <sup>5</sup> /OR <sup>6</sup>	Cl <sub>50</sub> (nM)	T <sub>1/2</sub> (h) (Rata)
<b>18a</b>	-OH/OH	53	1,9 ± 0,1
<b>18b</b>	-OH/OMe	34	2,4 ± 0,1
<b>18e</b>	-OMe/OH	55	1,5 ± 0,1
<b>18f</b>	-OEt/OH	39	2,3 ± 0,2
<b>18c</b>	-OH/OEt	31	1,9 ± 0,2

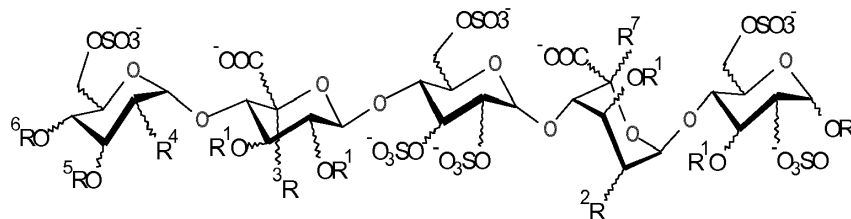
## Comparación 7

20 Al comparar los correspondientes compuestos de la Familia de 5 y de la Familia 6, que se diferencian en el grupo R<sup>4</sup>, la Familia 5 tiene un grupo -NH<sub>2</sub> mientras que los de la Familia 6 tienen un grupo -NH-LC-biotina, la actividad anti-factor Xa de los compuestos de la Familia de 6 tienen una actividad anti-factor Xa superior a la de los compuestos de la Familia de 5 mientras siguen teniendo valores de vida media aceptables.

25 Por lo tanto, el injerto de un grupo biotina en los compuestos de la Familia de 5 aumenta sorprendentemente la actividad anti-factor Xa.

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto pentasacárido sintético de fórmula (I):



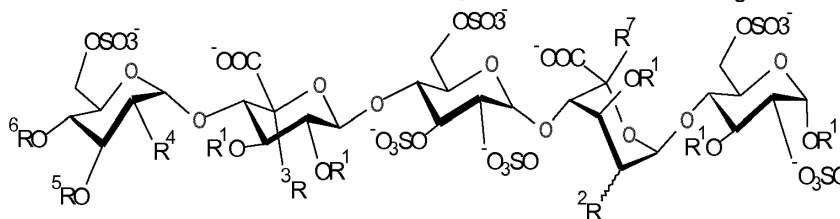
(I)

5 en donde:

- $R^1$  representa un grupo alquilo C1-C3;
- $R^2$  representa un grupo alcoxi C1-C3 y  $R^7$  representa un átomo de hidrógeno, o  $R^2$  y  $R^7$  forman un puente de  $-O-CH_2-$  ó de  $-O-CH_2-CH_2-$ , donde  $-O-$  está unido al átomo de carbono que porta el grupo  $R^2$  y  $-CH_2-$  está unido al átomo de carbono que porta el grupo  $R^7$ ;
- $R^3$  representa un átomo de hidrógeno o un grupo etilo;
- $R^4$  representa  $-OH$ ,  $-NH_2O-NH-LC$ -biotina, en donde LC representa un conector, ventajosamente de fórmula  $-(C=O)-(CH_2)_n-NH-$ , con n de 1 a 10, y más ventajosamente de fórmula  $-(C=O)-(CH_2)_4-NH-$ ;
- cuando  $R^5$  y  $R^6$  son diferentes,  $R^5$  y  $R^6$  se eligen en medio de un átomo de hidrógeno, un grupo metilo, un grupo etilo, un propilo, un grupo butilo y un grupo pentilo;
- cuando  $R^5$  y  $R^6$  son idénticos,  $R^5$  y  $R^6$  se eligen en medio de un átomo de hidrógeno, un grupo metilo, un grupo etilo, un propilo y un grupo pentilo;

en la condición de que  $R^1$  difiere de al menos uno de  $R^5$  o  $R^6$ ; y la sal del mismo.

20 2. El compuesto pentasacárido sintético de la reivindicación 1, en donde éste tiene la siguiente fórmula (II):



(II)

en donde:

- $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^5$  y  $R^6$  se definen como en la reivindicación 1 o la sal del mismo.

25 3. El compuesto pentasacárido sintético y la sal de la reivindicación 1 o 2, en donde  $R^4$  representa  $-NH_2$  o  $-NH-LC$ -biotina, en donde LC se define como en la reivindicación 1,  $R^4$  representa ventajosamente  $-NH-LC$ -biotina, en donde LC se define como en la reivindicación 1.

30 4. El compuesto pentasacárido sintético y la sal de la reivindicación 3, en donde  $R^4$  representa  $-NH_2$ .

5. El compuesto pentasacárido sintético y la sal de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde que  $R^5$  y  $R^6$  representan el mismo grupo.

35 6. El compuesto pentasacárido sintético y la sal de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde uno de  $R^5$  o  $R^6$  representa un átomo de hidrógeno, y el otro representa un grupo alquilo C1-C5.

40 7. El compuesto pentasacárido sintético y la sal de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde  $R^2$  y  $R^7$  forman un puente de  $-O-CH_2-$ , donde  $-O-$  está unido al átomo de carbono que porta el grupo  $R^2$  y  $-CH_2-$  está unido al átomo de carbono que porta el grupo  $R^7$ , y  $R^3$  representa un grupo etilo.

8. El compuesto pentasacárido sintético y la sal de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde  $R^2$  representa un grupo alcoxi C1-C3, y  $R^3$  y  $R^7$  representan un átomos de hidrógeno.

45 9. El compuesto pentasacárido sintético y la sal de la reivindicación 1 o 2 elegidos entre la lista que consiste en:

- los Compuestos 13a, 13b, 13c, 13d, 13e, 13f, 13g, 13h, 13i, 13j, 13l;
- los Compuestos 15a, 15b, 15c, 15d, 15e, 15f, 15g, 15h, 15i, 15j, 15l;
- los Compuestos 17a, 17b, 17c, 17d, 17e, 17f, 17g, 17h; y
- los Compuestos 18a, 18b, 18c, 18d, 18e, 18f, 18g, 18h.

- 5
10. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto pentasacárido sintético y la sal de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 y un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable.
- 10
11. El compuesto pentasacárido sintético y la sal de cualquiera las reivindicaciones 1 a 10 o la composición farmacéutica de la reivindicación 10 para su uso como medicamento.
- 15
12. El compuesto pentasacárido sintético y sal de cualquiera las reivindicaciones 1 a 9 o la composición farmacéutica de la reivindicación 10 para el uso de la reivindicación 11, en donde el medicamento se destina para el tratamiento de un trastorno de la coagulación de la sangre.
- 20
13. El compuesto pentasacárido sintético y sal de cualquiera las reivindicaciones 1 a 9 o la composición farmacéutica de la reivindicación 10 para el uso de la reivindicación 11, en donde el medicamento está destinado a la prevención de lesiones por isquemia-reperfusión asociadas con el trasplante de órganos sólidos.
- 25
14. Un método de prevención o de reducción del riesgo de coagulación de la sangre en un circuito sanguíneo extracorpóreo durante la cirugía cardíaca, o durante la oxigenación por membrana extracorpórea, o durante la asistencia circulatoria tal como el corazón artificial, que comprende la administración del compuesto pentasacárido sintético y la sal de la reivindicación 3, en donde R<sup>4</sup> representa -NH-LC-biotina, en donde LC se define como en la reivindicación 1 o el compuesto pentasacárido sintético y sal de cualquiera de las reivindicaciones 5 a 9 o la composición farmacéutica de la reivindicación 10.
- 30
15. Un kit que comprende el compuesto pentasacárido sintético y la sal de la reivindicación 3, en donde R<sup>4</sup> representa -NH-LC-biotina, en donde LC se define como en la reivindicación 1 o el compuesto pentasacárido sintético y sal de cualquiera de las reivindicaciones 5 a 9 o la composición farmacéutica de la reivindicación 11 y avidina.