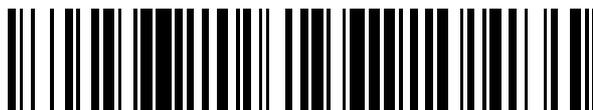


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 564 518**

51 Int. Cl.:

**C07H 5/02** (2006.01)

**C07H 3/04** (2006.01)

**C07H 3/06** (2006.01)

**C07H 13/06** (2006.01)

**A61K 31/7016** (2006.01)

**A61K 31/702** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.09.2007 E 07838298 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.02.2016 EP 2077847**

54 Título: **Monolaurato de sucralosa y monomiristato de sucralosa, formulaciones farmacéuticas, estuches de diagnóstico y métodos de tratamiento**

30 Prioridad:

**14.09.2006 US 844913 P**

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

**23.03.2016**

73 Titular/es:

**MEMARZADEH, BAHRAM (100.0%)  
12 TORINO LANE  
SAN CARLOS, CA 94070, US**

72 Inventor/es:

**MEMARZADEH, BAHRAM**

74 Agente/Representante:

**LAZCANO GAINZA, Jesús**

**ES 2 564 518 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**

Monolaurato de sucralosa y monomiristato de sucralosa, formulaciones farmacéuticas, estuches de diagnóstico y métodos de tratamiento

La invención se refiere a monolaurato de sucralosa y monomiristato de sucralosa usados como mejoradores de la permeación de la membrana biológica, agentes y surfactantes antimicrobianos, y agentes anticancerígenos.

Antecedentes

El documento US 2004/131590 A1 describe los métodos y reactivos para mejorar la transducción de los virus en el epitelio de la vejiga en donde el agente mejorador de la transducción puede ser un éster alcanoil de sacarosa, preferentemente, monolaurato de sacarosa.

EP 0031191A1 describe un proceso para la preparación de surfactantes de éster de sacarosa, en particular monoésteres y diésteres de sacarosa con ácidos grasos.

EP 0103479A1 describe derivados 6-alcoxi o 6-arilalcoxi de sucralosa.

Compuestos

La presente invención se refiere a los compuestos monolaurato de sucralosa y monomiristato de sucralosa.

La sucralosa es el nombre común para 1,6-dicloro-1,6-didesoxi-β-D-fructofuranosil-4-cloro-4-desoxi-α-D-galactopiranosido. La sucralosa se vende como Splenda® por Johnson & Johnson.

Métodos de uso

Los compuestos de la presente invención pueden usarse como mejoradores de la permeación de las membranas biológicas, agentes antifúngicos, agentes anticancerígenos, y agentes antimicrobianos como se describe más abajo.

Mejoradores de la Permeación

Se ha establecido bien que el suministro transmembrana de varios agentes terapéuticos puede mejorarse mediante la aplicación secuencial o simultánea de un mejorador de la permeación junto con un agente terapéutico. Las membranas típicas que se han usado para el suministro de agentes terapéuticos son la dérmica, la mucosal y la epitelial. Las membranas mucosales incluyen pero sin limitarse a membranas gastrointestinales, sublinguales, nasales, pulmonares, vaginales, orales, de vejiga, de córnea y oculares.

Las formas de dosificación para la aplicación y/o suministro del mejorador de la permeación y/o del agente terapéutico incluyen pastillas, tabletas, cápsulas, supositorios, ungüentos, geles, geles biodegradables, geles bioerosionables, bombas osmóticas, parches activos y pasivos, en las configuraciones de liberación inmediata y de tiempo. Tales formas de dosificación incluyen varios amortiguadores, estabilizadores, adyuvantes, rellenos, aglutinantes y otros componentes farmacéuticamente aceptables.

El tejido mucosal es un sitio preferido para el suministro de agentes terapéuticos mejorados, donde los tejidos orales y de la vejiga son los más preferidos.

Varios ejemplos del método de suministro de agentes terapéuticos mejorados a través del tejido oral se describen más abajo.

1. Enjuague oral de dos etapas

En este primer método, un primer enjuague oral se prepara para que tenga una concentración terapéuticamente eficaz de uno de los compuestos mejoradores de la permeación de la presente invención. La concentración será eficaz para mejorar la permeación del agente activo en y a través de las membranas biológicas de la cavidad oral, como se describe más abajo. Este primer enjuague oral se introduce en la cavidad oral y permite hacer contacto con tantos tejidos de la cavidad oral como sea posible. Esto puede lograrse haciendo turbulencias, borbotos y/o gárgaras con el enjuague oral. Después se escupe el enjuague de la cavidad oral. Como una alternativa, el primer enjuague oral puede tragarse si se demuestra que es seguro hacerlo.

Después se introduce un segundo enjuague oral de un agente activo en la cavidad oral y se permite hacer contacto tanto como sea posible con las membranas biológicas de la cavidad oral. Esto puede lograrse haciendo turbulencias, borbotos y/o gárgaras con el segundo enjuague oral. Como una alternativa, el segundo enjuague oral puede tragarse si se demuestra que es seguro hacerlo.

Este método puede requerir que cada enjuague necesite repetirse una o más veces, con cierto periodo de espera necesario entre cada enjuague y un periodo de espera entre los tratamientos con el primer y el segundo enjuague oral.

5 Mediante la exposición de los tejidos de la cavidad oral a los compuestos de la presente invención, debería mejorarse la eficacia terapéutica del agente activo.

#### 2. Formulaciones en gel de dos etapas

10 Una variación del método anterior de dos etapas podría ser formular el primer enjuague oral como un gel pasivo, bioerosionable y/o biodegradable para la aplicación a las membranas biológicas de la cavidad oral. La forma física del gel ayuda a mantenerlo en contacto con las superficies de las membranas biológicas de la cavidad oral de manera que el compuesto mejorador de la permeación de la presente invención esté en contacto directo con la cavidad oral que aumentará su eficiencia de mejoramiento de la permeación. El gel se deja permanecer en la cavidad oral por un periodo de tiempo determinado y después se retira o se deja permanecer hasta que el gel se erosione o se degrade completamente.

15 El segundo enjuague oral puede formularse, además, como un gel y se usa de la misma manera como se describe anteriormente para el primer enjuague oral.

#### 20 3. Enjuague oral combinado

Aún otra variación podría ser combinar un compuesto mejorador de la permeación de la presente invención con un agente terapéuticamente activo en un único enjuague oral. De una manera similar a la descrita anteriormente, una concentración terapéuticamente eficaz del mejorador de la permeación y un agente terapéutico podría formularse en un único enjuague oral e introducirse después en la cavidad oral.

#### 25 4. Formulación de gel combinada

30 Una variación del enjuague oral combinado descrito en el párrafo 3 anterior, podría ser formular el enjuague oral combinado como un gel pasivo, bioerosionable y/o biodegradable para la aplicación a las membranas biológicas de la cavidad oral. La forma física del gel ayuda a mantenerlo en contacto con las superficies de las membranas biológicas de la cavidad oral de manera que el compuesto mejorador de la permeación de la presente invención esté en contacto directo con la cavidad oral que aumentará su eficiencia de mejoramiento de la permeación. El gel combinado se deja permanecer en la cavidad oral por un periodo de tiempo predeterminado y después se retira o se deja permanecer hasta que el gel se erosione o se degrade completamente. Debido a que el mejorador de la permeación y el agente terapéutico se incorporan en la formulación de gel combinada única, solamente es necesaria una aplicación del gel combinado para efectuar el suministro del agente terapéutico.

35 40 Debe notarse que todas las formulaciones pueden incluir agentes secundarios además del mejorador de la permeación y el agente activo. Tales agentes secundarios pudieran incluir pero sin limitarse a formulaciones antimicrobianas, antimicrobianas tóxicas, antifúngicas, anestésicos locales, analgésicos, aliviadoras del dolor, y antipiréticos, y amortiguadoras.

#### 45 Indicaciones

Estos métodos descritos anteriormente son para el tratamiento tópico de enfermedades localizadas en la cavidad oral y los tejidos relacionados, que incluyen pero sin limitarse a labios, dientes, encías, faringe, lengua, y otros tejidos que están en proximidad suficiente a estos tejidos que pueden tratarse con las formulaciones de la presente invención.

50 Tales enfermedades incluyen pero sin limitarse a mucositis oral y cáncer oral. La mucositis oral es una complicación debilitante de la terapia del cáncer oral. Esta resulta en la inflamación de la mucosa de la cavidad oral que puede estar en el intervalo desde enrojecimiento e irritación simples hasta ulceraciones severas. A veces esta puede ser tan severa que el paciente no puede tolerar alimento o fluidos y se interrumpe la terapia del cáncer. Las ulceraciones severas y la debilitación de los sistemas inmunes resultan, frecuentemente, en infecciones oportunistas que complican el tratamiento de la mucositis y del cáncer oral.

55 Los procedimientos y métodos similares a los procedimientos orales anteriores pueden adaptarse para el uso en el suministro de agentes quimioterapéuticos a través de la mucosa de la vejiga.

#### 60 Terapia génica/Vectores virales oncolíticos

Los virus juegan un papel importante en los tratamientos terapéuticos modernos. Los virus pueden usarse para introducir material genético en las células para tratar indicaciones causadas por la pérdida o mal funcionamiento de los genes. Adicionalmente, se conoce que varias clases de virus son eficaces en la destrucción de células cancerígenas.

65

Se ha demostrado que el maltósido de dodecilo y el monolaurato de sacarosa han sido eficaces en aumentar la eficacia de la terapia viral génica y oncolítica. (Identification of Pretreatment Agents to Enhance Adenovirus Infection of Bladder Epithelium, Ramesh y otros, Molecular Therapy, 2004, Oct; 10 (4):697-705).

Como se describe previamente, se espera que la adición de átomos de halógeno a los disacáridos alquilo, que rinde los disacáridos alquilo clorados de la presente invención, podrían aumentar las cualidades de mejoramiento de la permeación de estos compuestos.

Usos para el diagnóstico

Adicionalmente, el método anterior puede usarse para mejorar la eficiencia de los reactivos de tinción oral de diagnóstico, tales como azul de toluidina, así como también mejorar la eficiencia de reactivos marcados radioactivos de diagnóstico. Ver "Toluidine Blue Staining Identifies High-Risk Primary Oral Premalignant Lesions with Poor Outcome", Zhang y otros, Cancer Research 2005, 65: (17), Septiembre 1,2005.

Para facilitar el uso para el diagnóstico de los disacáridos alquilo halogenados, la presente invención incluye estuches, preferentemente estuches de diagnóstico, que podrían incluir uno o más de los siguientes componentes:

- el mejorador de permeación empaquetado previamente en un recipiente que permite la dispensación fácil de una alícuota predeterminada o una o más alícuotas medidas previamente en un único empaque de uso;
- otros agentes necesarios para llevar a cabo el método de diagnóstico que podría incluir, típicamente, pero sin limitarse a agentes de tinción y/o agentes radioactivos de diagnóstico. Igualmente, estos otros agentes pueden empaquetarse en recipientes que permiten la dispensación fácil de una alícuota predeterminada o una o más alícuotas medidas previamente en un único empaque de uso;
- instrucción escrita detallada con respecto al propio método de llevar a cabo el procedimiento de diagnóstico; y
- empaque que podría contener todos los componentes del estuche.

Actividad antimicrobiana

Se ha demostrado que el monolaurato de sacarosa puede ser un antimicrobiano eficaz contra *Listeria Monocytogenes* cuando de usa junto con ciertos ácidos orgánicos. "Inhibitory effects of sucrose monolaurate, alone and in combination with organic acids, on *Listeria Monocytogenes* and *Staphylococcus aureus*, J. Applied Bacteriol. 1996; 81 (1):7-18.

Se espera que este mismo efecto puede mejorarse para el monolaurato de sucralosa, otras sucralosas alquiladas, así como también otros disacáridos alquilados halogenados.

Prueba antimicrobiana

La modalidad preferida se probó para la actividad antimicrobiana mediante el uso del siguiente procedimiento.

Una solución al 1% del Compuesto 3 se preparó en DPBS (solución salina regulada con fosfato de Dulbecco). Se prepararon 25 ml de una mezcla del Compuesto 3 al 1% y PBS (solución salina regulada con fosfato, pH 7,2 mediante la mezcla de 5ml de la solución del Compuesto 3 al 1% y 20 ml del PBS.

Se colocó una alícuota de 10ml de la mezcla anterior en cada uno de los tubos de prueba estériles. Uno de los tubos de prueba se inoculó con 0,1 ml de *S. aureus* y el otro con 0,1 ml de *P. aeruginosa*, de manera que hubo una concentración final de  $10^6$  unidades formadoras de colonias (ufc)/0,1 mls.

En varios puntos de tiempo, se retiró 1,0 ml de cada muestra de prueba inoculada, se diluyó 10x con salina al 0,45% y se sembró en placas de agar tripticosa soya (TSA).

Las muestras de PBS se trataron de la misma manera. En los puntos de tiempo de 5 minutos y 60 minutos, se tomaron muestras de 1ml y se diluyeron 10x y una se enriqueció con una alícuota de 0,1 ml del *S. aureus* y la otra se enriqueció con 0,1 ml de la *P. aeruginosa*. Estas muestras fueron el desafío de PBS y los datos se muestran más abajo.

Las placas se incubaron a 30-35° C por no menos de 24 horas. La concentración de ufc en las muestras tomadas en cada punto de tiempo se enumeró mediante métodos estándar. La reducción logarítmica se calculó para cada periodo de tiempo y organismo. La reducción logarítmica se calculó mediante el uso de la fórmula: Reducción logarítmica = Log de verificación de inóculos - log de recuperación de la muestra.

En material se consideró antimicrobiano si muestra un valor de reducción logarítmica mayor que 5 de cada organismo de desafío comparado con el inóculo teórico del mismo organismo.

Estos datos demuestran que el compuesto 3 tiene efecto antimicrobiano contra *S. aureus* pero no contra *P. aeruginosa*

Resultados de las pruebas

Compuesto 3

5

Organismo	Tiempo (minutos)	Concentración (ufc/mL)	Reducción logarítmica
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	$6,9 \times 10^5$	4
	15	$4,3 \times 10^4$	5,2
	30	$1,41 \times 10^4$	5,7
	60	$2,9 \times 10^3$	6,3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5	$1,53 \times 10^6$	3,5
	15	$1,1 \times 10^6$	3,7
	30	$1,21 \times 10^6$	3,6
	60	TNTC*	TNTC*
*TNTC = muy numeroso para el recuento o no consistente. La reducción logarítmica no puede calcularse			

10

15

20

25

Desafío de PBS

Organismo	Tiempo (minutos)	Concentración (ufc/mL)	Reducción logarítmica
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	TNTC	TNTC**
	60	$8,4 \times 10^6$	2,9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5	$2,46 \times 10^6$	3,3
	60	$1,87 \times 10^6$	3,4
** Muy numeroso para el recuento de todas las diluciones. La reducción logarítmica no puede calcularse.			

30

35

40

Verificación del inóculo

Organismo	Concentración (ufc/mL)	Log
<i>Staphylococcus aureus</i>	$6,0 \times 10^9$	9,8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	$5,0 \times 10^9$	9,7

45

50

Surfactantes

Como se describe en el reporte "The Potential Sucrose Esters in Detergent Compositions" por Mary An Godshall del Sugar Processing Research Institute, Inc., los ésteres de sacarosa son surfactantes no iónicos. Los surfactantes iónicos forman complejos con varios iones lo que puede ser problemático y afectar adversamente el desempeño. Por lo tanto se prefieren los surfactantes no iónicos.

55

Los ésteres de sacarosa se han aprobado por la FDA para el uso en varias aplicaciones tópicas tales como cosméticos y champú así como también artículos de consumo tales como refrescos y aderezos de ensaladas.

60

Se espera que los ésteres de sacarosa halogenados, así como también otros disacáridos alquilo halogenados funcionen al menos tan eficazmente como los ésteres de sacarosa. Mediante la variación del tamaño de los grupos alquilo, pueden alterarse la solubilidad y el punto de fusión.

65

Método de Síntesis -Síntesis 1

Los compuestos de esta invención pueden sintetizarse de manera similar mediante el método descrito en "Chemical

versus enzymatic catalysis for the regioselective synthesis of sucrose esters of fatty acids", Ferrer y otros, Studies in Surface Science and Catalysis, 130, 509-514 (2000) Elsevier. Como se describe, un grupo laurilo se añade al grupo 2-OH y 3-OH de la sacarosa mediante la reacción del vinil laurato con sacarosa en una mezcla de reacción de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, Celite, y Eupegit C mediante el uso de DMSO como un solvente a 40°C. Se espera que este mismo tipo de reacción podría ser exitosa mediante el uso de varios disacáridos halogenados como un material de partida para producir los disacáridos clorados alquilados de la presente invención. No se espera que la adición de los átomos de halógeno a los disacáridos altere significativamente la reactividad de los grupos -OH.

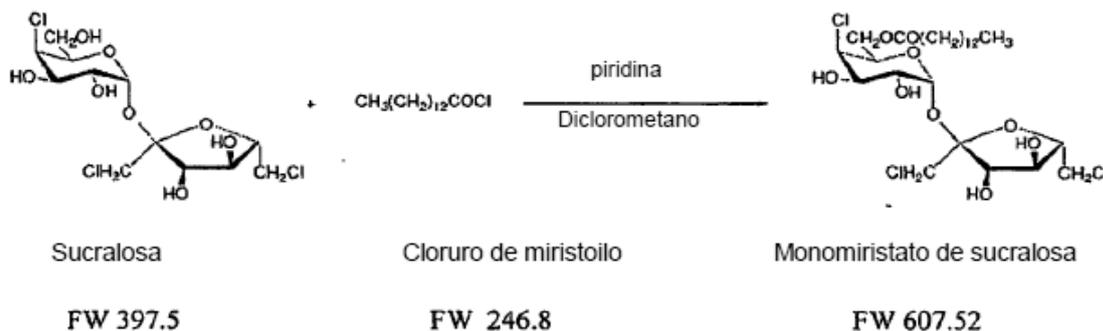
El reemplazo de varios grupos -OH en anillos aromáticos por un halógeno es una técnica de reacción bien establecida y los disacáridos halogenados podrían usarse como el material de partida en la reacción de alquilación descrita anteriormente.

Adicionalmente a la reacción de alquilación proporcionada anteriormente, se proporcionan más abajo otras dos reacciones de alquilación. Aunque se muestra que cada uno usa un procedimiento de reacción diferente que resulta en una porción alquilo diferente, se espera que cada una de las técnicas proporcionadas más abajo puedan usarse para modificar varios disacáridos halogenados con varios grupos alquilo.

Los procedimientos detallados para los dos métodos de síntesis específicos para la producción de disacáridos alquilados halogenados se proporcionan más abajo.

Síntesis de monomiristato de sucralosa

1',6'-Dicloro-1',6'-didesoxi-β-D-fructofuranosil-4-cloro-4-desoxi-6-Omonotetradecanoato-α-D-galactopiranósido.



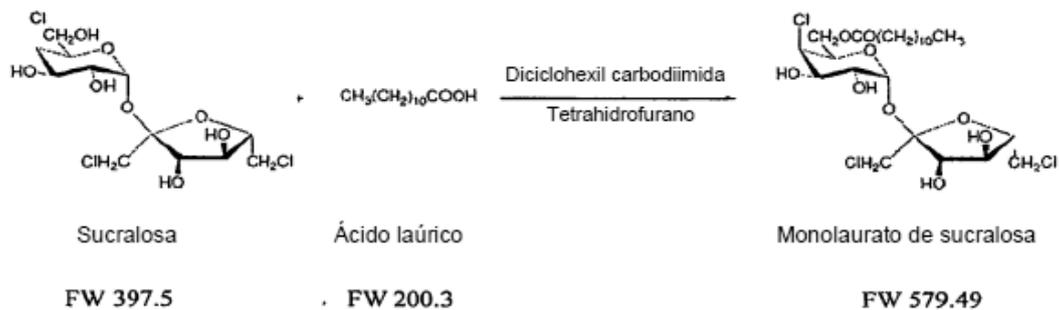
Materias prima	FW	Cantidad usada (mmol)
sucralosa	397,5	3 g (7,54 mmol)
cloruro de miristoilo	246,8	1,5 mL (1,2 eq. molar)
Piridina	79,1	3 mL
diclorometano	84,93	5 mL

El Proceso:

Se añadió gota a gota a la sucralosa (3 g, 7,54 mmol) en 3 mL de piridina y 5 mL de diclorometano a -25°C, cloruro de miristoilo (1,5 mL, 1,2 eq. molar). La solución se dejó calentar a temperatura ambiente durante un periodo de 1,5 h. La cromatografía de capa fina (metanol al 3% en cloroformo) muestra una nueva mancha (producto) y trazas del material de partida restante. El metanol se añadió para retirar el exceso de cloruro de miristoilo, y la mezcla se evaporó hasta la sequedad bajo presión reducida. Al residuo se le realizó cromatografía en una columna de gel de sílice que eluye con el mismo solvente (metanol al 3% en cloroformo), para rendir el promedio de rendimiento del 70% del monomiristato de sucralosa como un sólido amorfo blanco.

Síntesis de monolaurato de sucralosa

1',6'-Dicloro-1',6'-didesoxi-β-D-fructofuranosil-4-cloro-4-desoxi-6-O-monododecanoato-α-D-galactopiranósido.



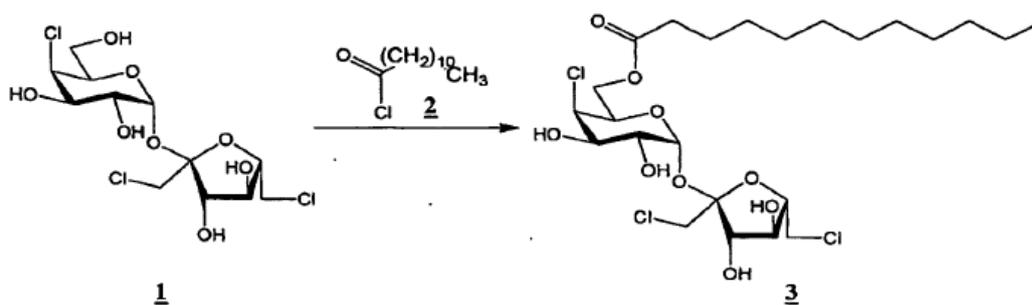
Materias prima	FW	Cantidad usada (mmol)
sucralosa	397,5	2 g (5,03 mmol)
ácido láurico	200,3	1 g (4,99 mmol)
diciclohexil carbodiimida	206,3	1 g (4,84 mmol)
tetrahidrofurano	72,1	5 mL

El Proceso:

El ácido láurico (1 g, 4,99 mmol) en 2 mL de tetrahidrofurano se agitó con diciclohexil carbodiimida (1 g, 4,84 mmol) a temperatura ambiente por 5 minutos. Se añadió sucralosa (2 g, 5,03 mmol) en 3 mL de tetrahidrofurano y la mezcla se agitó durante toda la noche a temperatura ambiente. La cromatografía de capa fina (metanol al 3% en cloroformo) muestra una nueva mancha (producto) y trazas del material de partida restante. La mezcla se evaporó y al residuo se le realizó cromatografía en una columna de gel de sílice que eluye con el mismo solvente (metanol al 3% en cloroformo), para rendir el promedio de rendimiento del 60% del monolaurato de sucralosa como un sólido amorfo blanco.

Método de Síntesis -Síntesis 2

Preparación de monolaurato de sucralosa (3)



Compuesto	Peso fórmula	Cantidad	mmoles
Sucralosa (1)	379,5	10,01 gramos	25,2 mmoles
Cloruro de lauroilo (2)	218,77 (d = 0,922)	5,6 mL	25,2 mmoles
Piridina		10 mL	
Tetrahidrofurano		100 ml	

1.La sucralosa(1) (10,01 g, 25,2 mmoles) se disolvió en tetrahidrofurano anhidro (100 mL) y se añadió piridina (10 mL). La mezcla se enfrió a -25 grados C bajo nitrógeno.

2. Se añadió gota a gota el cloruro de lauroilo (2) (5,6 mL, 25,2 mmoles) durante 20 minutos. Después de la adición del cloruro de lauroilo, la mezcla de reacción se dejó calentar de -25 grados C a temperatura ambiente durante 1,5 horas.

3. La mezcla resultante se diluyó con acetato de etilo (300 mL) y los orgánicos se lavaron secuencialmente con:

- a. agua (2 X 50 mL),
- b. HCl 1M (en agua, 3 X 50 mL),
- c. bicarbonato sódico (saturado acuoso, 3 X 50 mL),
- d. agua (2 X 50 mL),
- e. sulfato de cobre (saturado acuoso, 3 X 25 mL) y
- f. cloruro sódico (saturado acuoso, 2 X 50 mL).

4. Las placas de TLC se mancharon con la fase orgánica lavada y después se les aplicó cromatografía con metanol al 10% en cloruro de metileno). Las placas se secaron y después se atomizaron con una solución de ácido fosfomolibdídico al 5% y después se calentaron hasta que las manchas fueron visibles. En el análisis por TLC la fase orgánica lavada reveló la presencia de una gran mancha ( $R_f = 0,3$ ) acompañada por cantidades menores de material de partida y subproductos.

5. La fase orgánica lavada se secó en sulfato sódico anhidro, se filtró y se concentró hasta la sequedad. El residuo se purificó mediante cromatografía flash en gel de sílice. La columna se eluyó con metanol al 8% en cloruro de metileno que rindió tres conjuntos de fracciones (carriles 1-3, Figura 1).

6. El conjunto de fracciones 1 (1,6 gramos) contenía principalmente material puro como se determina mediante el análisis por TLC (metanol al 10% en cloruro de metileno). Los conjuntos de fracciones 2 y 3 contenía impurezas significativas y requirieron una purificación adicional. Un análisis completo de TLC se muestra en la Figura 1.

El material de Síntesis 1 se coeluyó con el material del conjunto de fracciones 1 (Carril 7, Figura 1).

Mediante el uso de 10,01 gramos de sucralosa, el rendimiento aislado teórico del compuesto 3 fue 15,3 gramos. Mientras que el material aislado del Conjunto de fracciones 1 (1,6 gramos) representa sólo un rendimiento del 10,5%, podría esperarse que la purificación de los conjuntos de fracciones 2 y 3 rinda significativamente más material.

Figura 1. Análisis por TLC (metanol al 10% en cloruro de metileno) de la conversión de compuesto 1 a compuesto 3.

El carril 1 es el Conjunto de fracciones 1 (pureza más alta) de la cromatografía en gel de sílice.

El carril 2 es el Conjunto de fracciones 2 (pureza intermedia) de la cromatografía en gel de sílice.

El carril 3 es el Conjunto de fracciones 3 (pureza muy baja) de la cromatografía en gel de sílice.

El carril 4 es el producto crudo de la fase orgánica lavada de la mezcla de reacción.

El carril 5 se co-manchó con el material crudo de la fase orgánica lavada de la mezcla de reacción y el Conjunto de fracciones 1 de la cromatografía en gel de sílice. El carril 6 es el Conjunto de fracciones 1 de la cromatografía en gel de sílice.

El carril 7 se co-manchó con el Conjunto de fracciones 1 de la cromatografía en gel de sílice y una muestra de la mezcla de reacción de la Síntesis 1.

El carril 8 es una muestra del compuesto 3 obtenido mediante la Síntesis 1

El carril 9 se co-manchó con material crudo aislado a partir de la mezcla de reacción, el Conjunto de fracciones 1 de la cromatografía en gel de sílice de la Síntesis 2 y una muestra de la mezcla de reacción obtenida mediante la Síntesis 1.

Análisis de HPLC/Masa del Conjunto de fracciones 1 (Carril 1, Figura 1)

Una solución del Conjunto de fracciones 1- Síntesis 2 (el conjunto de fracciones más puro) se preparó a una concentración de 10 mg/mL en DMSO. Para preparar el análisis por LC-MS la solución se diluyó a 0,1 mg/mL en metanol al 5% que contenía ácido fórmico al 0,2%. Las muestras se analizaron mediante el uso de las siguientes condiciones de LC/MS/MS:

## ES 2 564 518 T3

HPLC:	Sistema Shimadzu VP
Fase móvil:	A-ácido fórmico al 0,2% en agua
	B-ácido fórmico al 0,18% en metanol
Columna:	1 x 50 mm BetaBasic C18
Volumen de inyección:	5 µl
Gradiente:	5-95% B en 5 minutos
Régimen de flujo:	100 µl/min
Espectrómetro de Masa:	Applied Biosystems/MDS SCIEX Q-STAR
Interfase:	Separación de iones por atomización a ~1/10
Barrido de iones progenitores:	TOF Negativo de 300-1200 amu

Hubo un único pico que eluyó de la columna de fase reversa a 6,66 minutos. La detección de masas de los componentes de este pico mostró 5 componentes que tienen masas de:

Masa	Intensidad de los recuentos
577,1655	38
578,1696	13
579,1622	40
579,2698	14
581,1613	15

Estas determinaciones de masas son consistentes con el peso molecular teórico del monolaurato de sucralosa, que tienen en cuenta las variaciones de la masa debido a la existencia de los isótopos <sup>35</sup>Cl y <sup>37</sup>Cl del cloro y la fragmentación aleatoria menor.

Reivindicaciones

- 5
1. Un compuesto que es 1',6-Dicloro-1',6'-didesoxi- $\beta$ -D-fructofuranosil-4-cloro-4-desoxi-6-O-monododecanoato- $\alpha$ -D-galactopiranosido.
2. Un compuesto que es 1',6'-Dicloro-1',6'-didesoxi- $\beta$ -D-fructofuranosil-4-cloro-4-desoxi-6-O-monotetradecanoato- $\alpha$ -D-galactopiranosido.
- 10
3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2 para usar como un mejorador de la permeación de las membranas biológicas, un agente antifúngico, un agente anticancerígeno o un agente antimicrobiano.
- 15
4. El uso de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2 en la fabricación de un medicamento para usar como un mejorador de la permeación de las membranas biológicas, un agente antifúngico, un agente anticancerígeno o un agente antimicrobiano.
- 20
5. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 para usar en el mejoramiento de la eficacia de un virus oncolítico en el epitelio de la vejiga en la terapia génica y de virus oncolíticos.
6. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 para usar como un agente antimicrobiano para el tratamiento de infecciones causadas por *Listeria Monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*.
- 25
7. Una formulación farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2.
- 30
8. Una formulación farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 7 en donde dicha formulación está contenida en una forma de dosificación seleccionada del grupo que consiste en pastillas, tabletas, cápsulas, supositorios, ungüentos geles, geles biodegradables geles bioerosionables, supositorios, parches transdérmicos activos y pasivos, bombas osmóticas, y soluciones IV en las configuraciones de liberación inmediata o de tiempo.

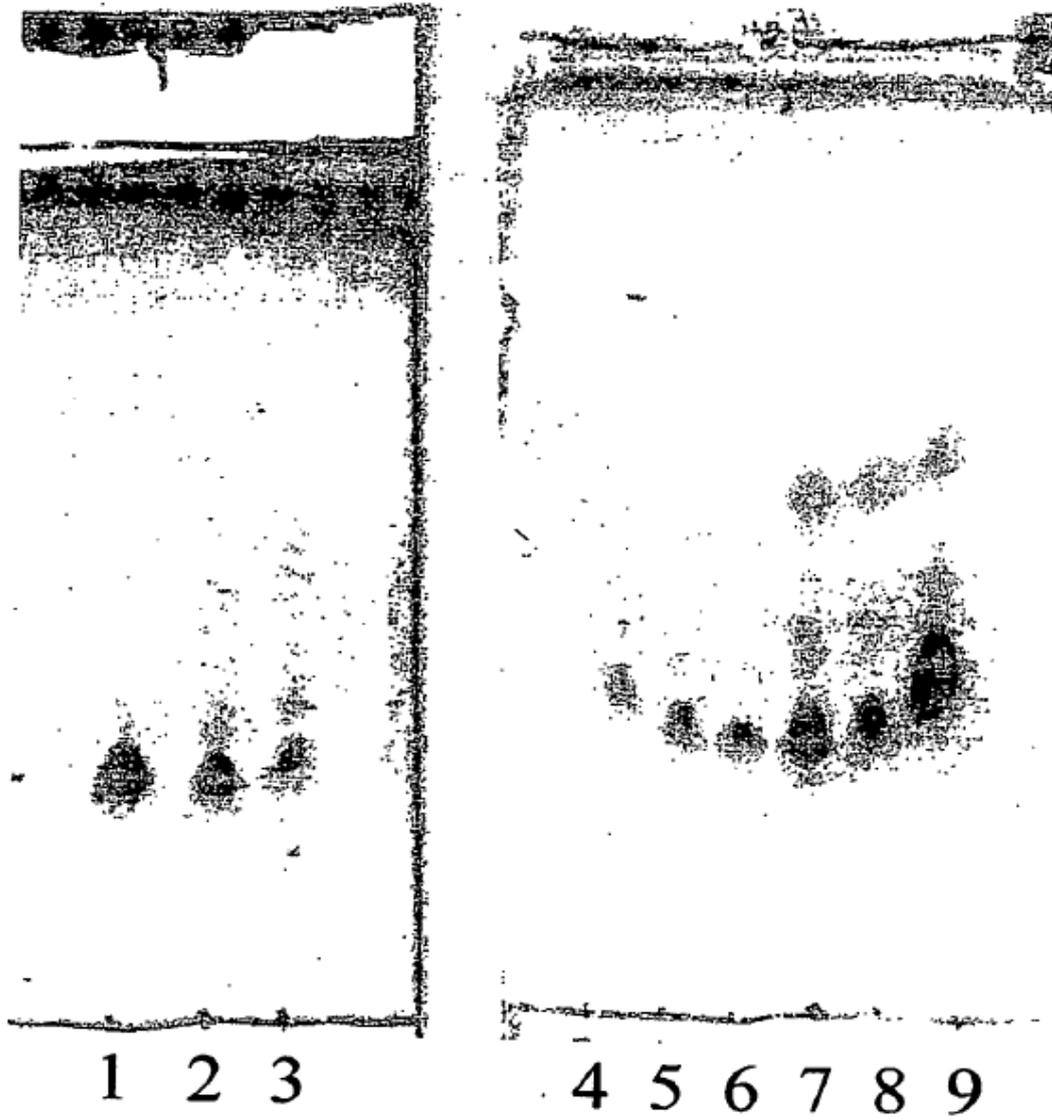


Figura 1