

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 659 516**

51 Int. Cl.:

C07H 13/06 (2006.01)

A61K 31/7024 (2006.01)

A61P 31/06 (2006.01)

G01N 33/569 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.01.2008 PCT/IB2008/000053**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.07.2017 WO08090425**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.01.2008 E 08702217 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.11.2017 EP 2125849**

54 Título: **Antígenos sulfoglucolípidicos, su procedimiento de preparación y su uso contra la tuberculosis**

30 Prioridad:

24.01.2007 EP 07290097

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

16.03.2018

73 Titular/es:

**CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE (C.N.R.S.) (100.0%)
3, rue Michel-Ange
75016 Paris, FR**

72 Inventor/es:

**PUZO, GERMAIN;
PRANDI, JACQUES;
GILLERON, MARTINE;
DE LIBERO, GENNARO;
GUIARD, JULIE;
MORI, LUCIA y
PAOLETTI, SAMANTHA**

74 Agente/Representante:

SALVA FERRER, Joan

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 659 516 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).

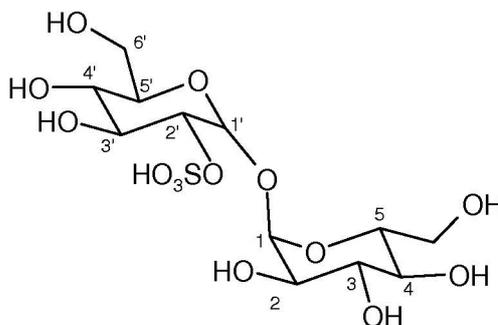
DESCRIPCIÓN

Antígenos sulfoglucolípidicos, su procedimiento de preparación y su uso contra la tuberculosis

5 **[0001]** La presente invención se refiere a nuevos antígenos sulfoglucolípidicos, su procedimiento de preparación y dichos compuestos para su uso en el tratamiento o la profilaxis de la tuberculosis.

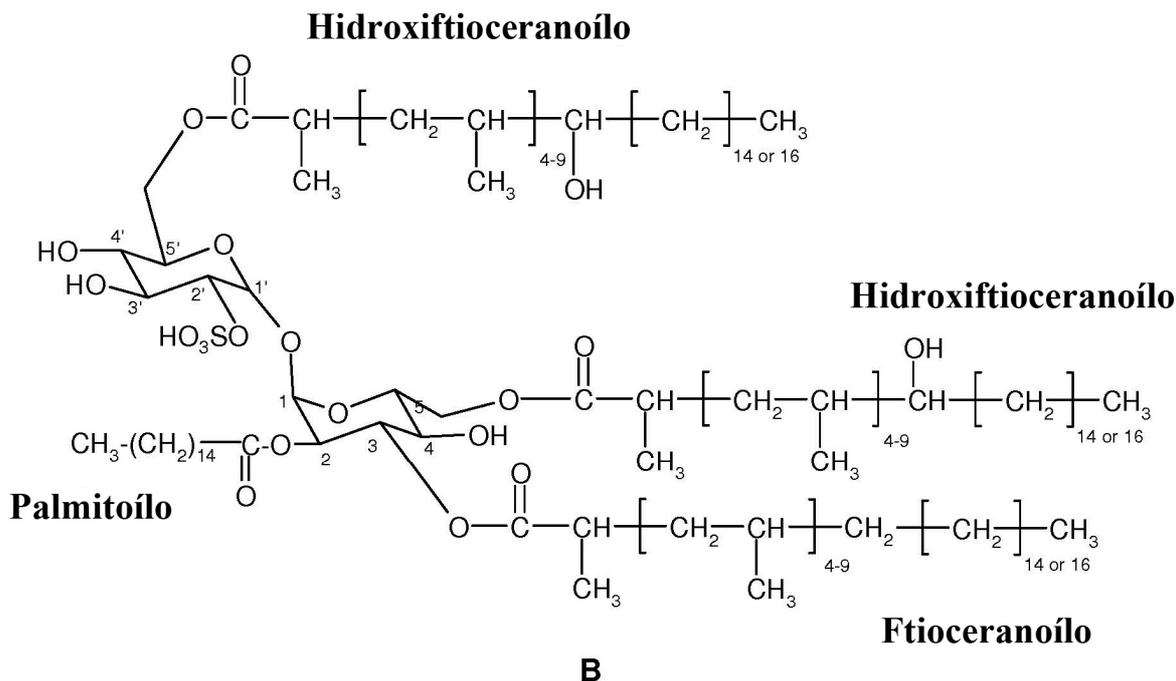
[0002] Se estima que, cada año, la tuberculosis es la causa de tres millones de muertes. El agente causante de esta enfermedad es una bacteria, *Mycobacterium tuberculosis*, que infecta a una de cada tres personas en todo el mundo. Se transmite a través del aire por los estornudos o la tos de las personas infectadas. La bacteria puede estar presente en estado inactivo en personas infectadas que nunca padecerán la enfermedad. Sin embargo, en ciertas condiciones, como por la edad o la depresión del sistema inmunitario, la bacteria puede volverse activa y causar la aparición de la tuberculosis.

15 **[0003]** Parece ser que la envoltura micobacteriana es responsable de una parte significativa de la virulencia de las bacterias del género *Mycobacterium*. De hecho, hasta el 40 % del peso seco de las micobacterias está constituido por lípidos. Entre estos lípidos, algunos parecen restringirse a *Mycobacterium tuberculosis* como, por ejemplo, sulfoglucolípidos (Vergne I. y Daffe M. *Frontiers in Bioscience* (1998) 3: 865-876). Esta familia de glucolípidos se caracteriza por un sulfato sustituyente en la posición 2' de una unidad de trehalosa (es decir, α -D-glucopiranosil-(1-1')- α -D-glucopiranosido) (A).



A

25 **[0004]** Los miembros de la familia difieren entre sí en el número, la posición y el tipo de ácidos grasos sustituidos en las unidades de trehalosa. Los ácidos grasos sustituyentes comprenden principalmente ácido palmítico, ácido esteárico, ácido ftioceranoico y ácido hidroxiftioceranoico. Los dos últimos ácidos grasos son característicos de los sulfoglucolípidos. El sulfoglucolípidos más abundante es SL-I (Goren y col. *Biochemistry* (1976) 15: 2728-2735) (B).



[0005] Se ha demostrado que SL-I es capaz de inhibir la actividad antimicrobiana de los macrófagos y bloquear los efectos de varios agentes inflamatorios como LPS, IFN- γ o TNF- α en los macrófagos (Vergne I. y Daffe M. *Frontiers in Bioscience* (1998) 3: 865-876).

[0006] En la actualidad, hay dos formas de combatir la tuberculosis: el tratamiento con antibióticos y la vacunación.

10 **[0007]** La vacuna usada para la profilaxis de la tuberculosis consta de una bacteria viva atenuada de la especie *Mycobacterium bovis*. Se la denomina BCG, bacilo de Calmette y Guerin, por los dos científicos que la concibieron en primer lugar, al comienzo del siglo XX. Además del problema de ser una vacuna viva, lo que descarta su uso en pacientes inmunodeprimidos, su protección contra la tuberculosis es controvertida. Así, la eficacia protectora del BCG en adultos varía del 0 % al 80 %, según diversos estudios y, además, no protege contra la tuberculosis pulmonar, la forma más prevalente de la enfermedad en adultos.

[0008] Adicionalmente, se han encontrado cepas de *M. tuberculosis* resistentes a los antibióticos en más de 35 países.

20 **[0009]** Por lo tanto, un objetivo de la presente invención es proporcionar una forma más eficaz de tratar y/o prevenir la tuberculosis.

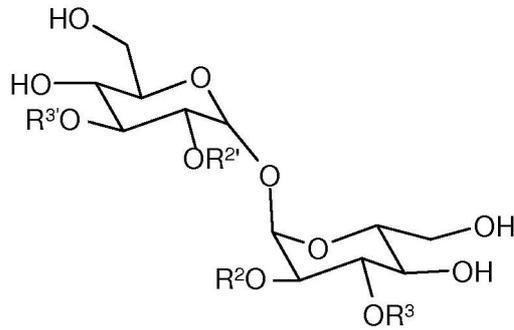
[0010] Wallace y col., O. *Chemical Society*, 3, 1994, 329-330 describen antígenos lipídicos de 2,3-di-O-ariltrehalosa acilados con una cadena de hidrocarburo insaturado y un grupo palmitato.

25 **[0011]** Otros glucolípidos inmunógenos extraídos de *Mycobacterium tuberculosis* se describen en el documento WO 2004/092192. Sin embargo, estos productos naturales pueden obtenerse en cantidad limitada; además, se obtienen de una cepa patógena y su preparación puede ser peligrosa y requiere instalaciones de seguridad específicas.

30 **[0012]** Por lo tanto, es muy deseable proporcionar otros glucolípidos inmunógenos sintéticos nuevos que puedan obtenerse a escala industrial y en condiciones factibles.

[0013] La invención proporciona principalmente nuevos antígenos sulfoglucolípidicos sintéticos, para los que se ha demostrado la estimulación de los linfocitos T restringidos a CD1 *in vitro*.

[0014] La invención se refiere a un compuesto de la fórmula general (I):



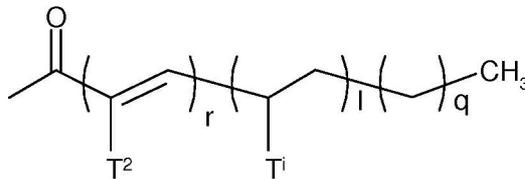
(I)

en el que:

5

$R^{2'}$ es SO_3H o SO_3/M^+ y $R^{3'}$ es H, o $R^{2'}$ es H y $R^{3'}$ es SO_3H o SO_3/M^+ ;
 M^+ es el catión de un metal, como Na^+ , K^+ ;
 R^2 y R^3 , idénticos o diferentes, se eligen independientemente de entre:

- 10 a) grupos acilo graso de la fórmula $-C=O-(CH_2)_k-CH_3$, en los que k es un número entero de 14 a 50;
 b)



(b-2)

15 en que r es 1;

l es un número entero elegido de 0 a 10;

q es un número entero elegido de 0 a 50;

siempre que $l + q \geq 1$;

T^2 es metilo;

20 cada T^1 es metilo;

en que al menos uno de R^2 y R^3 es b);

y sus enantiómeros, diastereoisómeros, mezclas de los mismos y sales farmacéuticamente aceptables.

25

[0015] El átomo de carbono al que está unido T^1 es asimétrico. Preferiblemente, dicho carbono presenta una configuración (S).

[0016] De acuerdo con otro aspecto preferido, R^2 es a) un grupo acilo graso y R^3 es (b-2) según se define anteriormente.

[0017] Los grupos acilo graso se derivan de grupos ácido graso que esterifican los grupos hidroxilo en las posiciones 2 o 3 de la unidad de trehalosa sulfatada en las posiciones 2' o 3'.

35 **[0018]** Los grupos ácido graso son ácidos carboxílicos alifáticos que pueden ser lineales o ramificados,

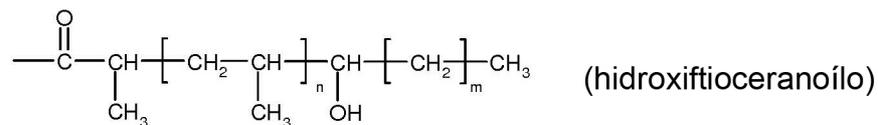
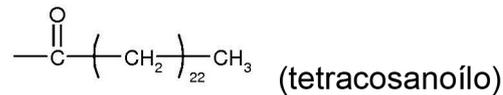
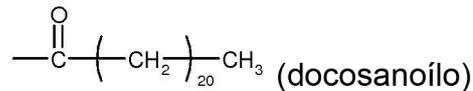
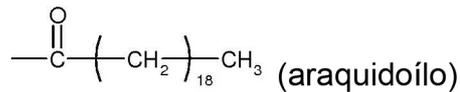
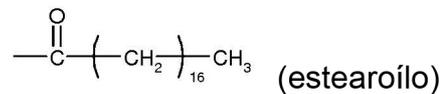
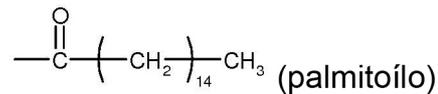
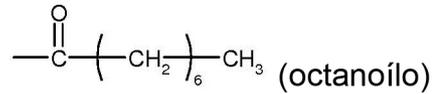
ES 2 659 516 T3

saturados o insaturados, sin sustituir o sustituidos con grupos como hidroxilo o cetona.

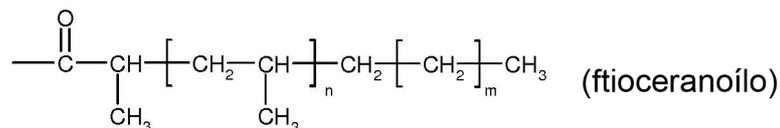
[0019] Los grupos acilo graso comprenden principalmente grupos acilo graso lineales y saturados. Los grupos acilo graso son de la fórmula $-C(=O)-(CH_2)_k-CH_3$, en los que k es un número entero de 14 a 50.

5

[0020] Preferiblemente, los grupos acilo graso se eligen del grupo que consta de:



10 en que m es 14 o 16 y n es un número entero de 2 a 10,



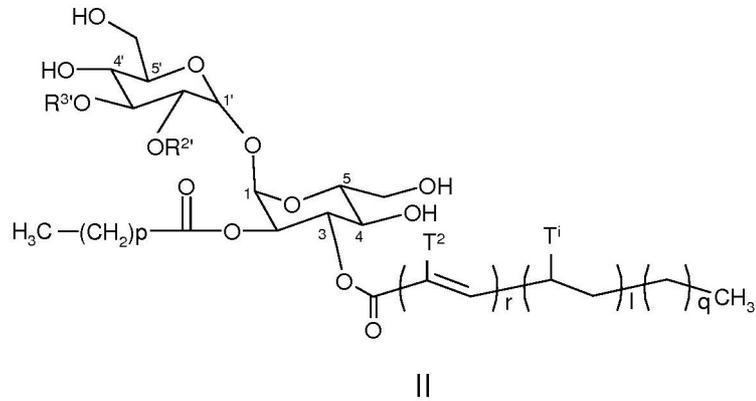
en que m es 14 o 16 y n es un número entero de 2 a 10.

15

[0021] Aún más preferiblemente, los grupos acilo graso se seleccionan del grupo que comprende acilo palmítico y acilo esteárico.

[0022] También se describen compuestos de la fórmula I, en los que R² representa un grupo acilo graso, preferiblemente un grupo acilo palmítico o un grupo acilo esteárico, y R³ representa una cadena (b-2), es decir, compuestos de la fórmula siguiente (II):

5



en los que R², R³, r, p, l, q, T² y T¹ se definen como anteriormente, o la correspondiente sal de los mismos, y sus enantiómeros, diastereoisómeros, mezclas de los mismos y sales o ésteres farmacéuticamente aceptables.

10

[0023] También se describen compuestos de la fórmula II, en los que:

- l = 1, q = 14 y r = 1;

- l = 2, q = 14 y r = 1;

15 - l = 3, q = 14 y r = 1;

- l = 4, q = 14 y r = 1;

- l = 1, q = 12 y r = 1;

- l = 2, q = 12 y r = 1;

- l = 3, q = 12 y r = 1;

20 - l = 4, q = 12 y r = 1;

- l = 1, q = 16 y r = 1;

- l = 2, q = 16 y r = 1;

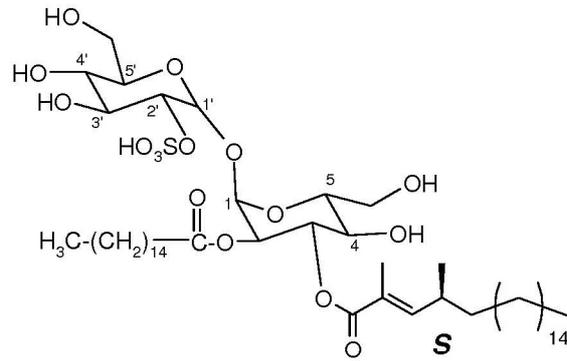
- l = 3, q = 16 y r = 1;

- l = 4, q = 16 y r = 1;

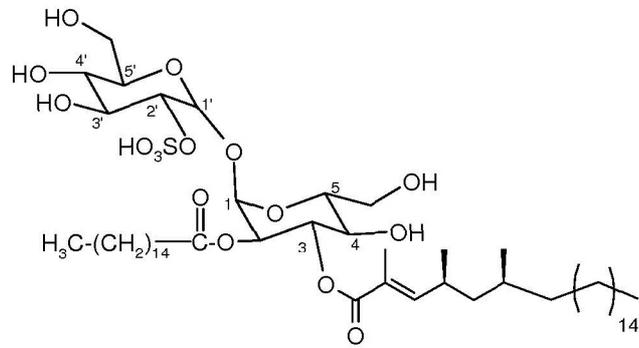
25

en que p es de 6 a 22 y T² y T¹ son metilo.

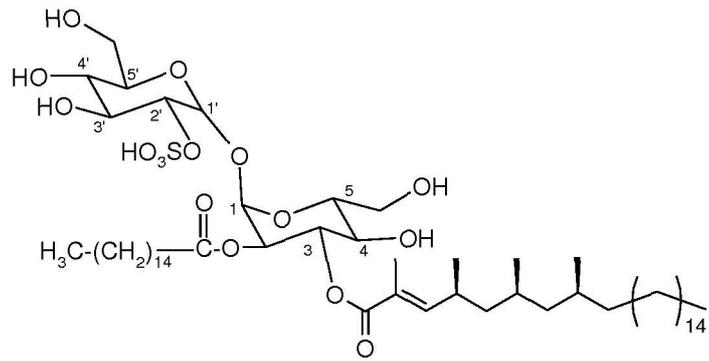
[0024] Más específicamente, la invención se refiere a compuestos de las fórmulas siguientes:



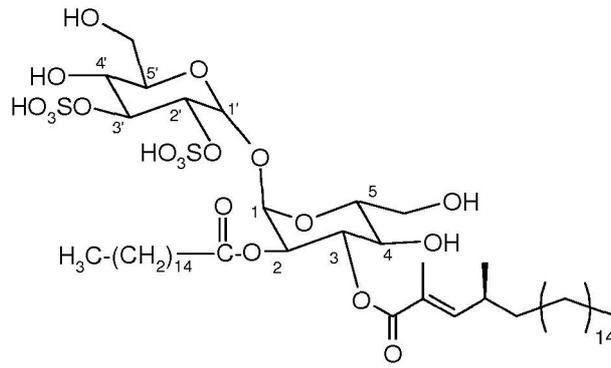
(II.1)



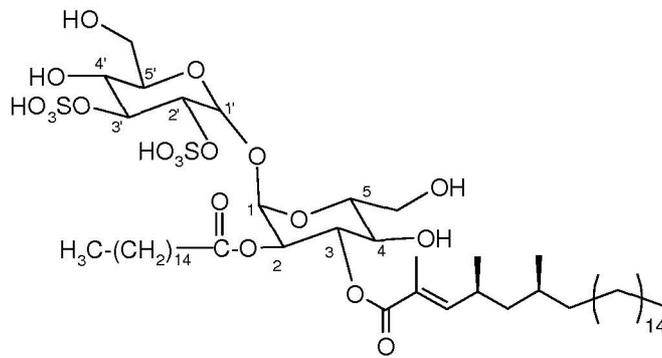
(II.2)



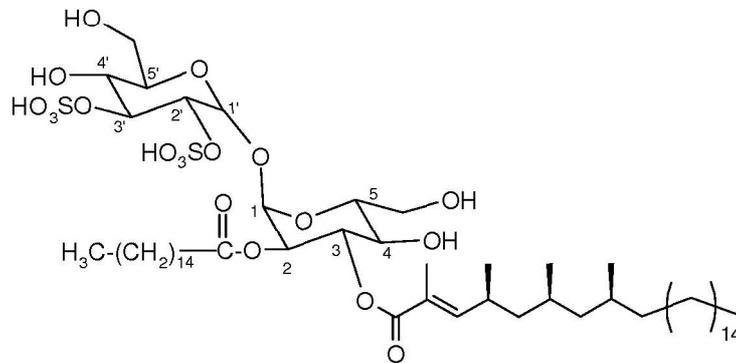
(II.3)



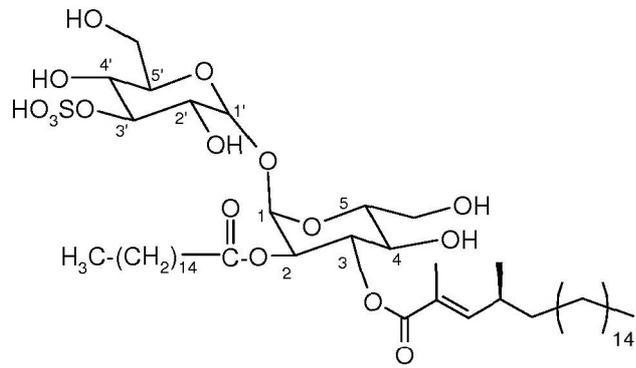
(II.4)



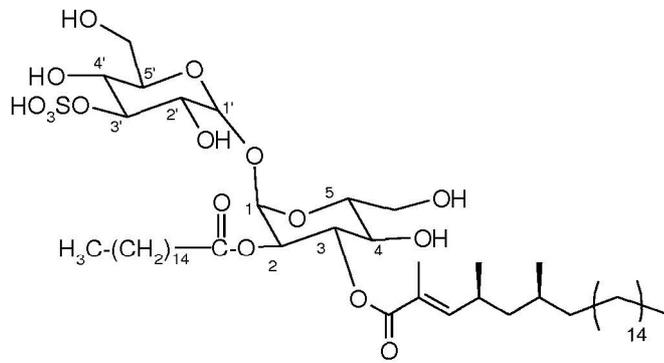
(II.5)



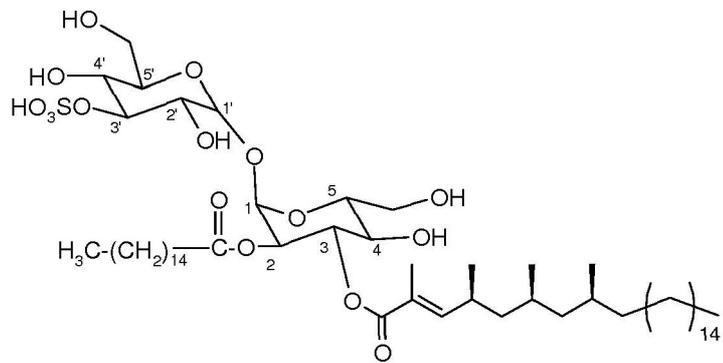
(II.6)



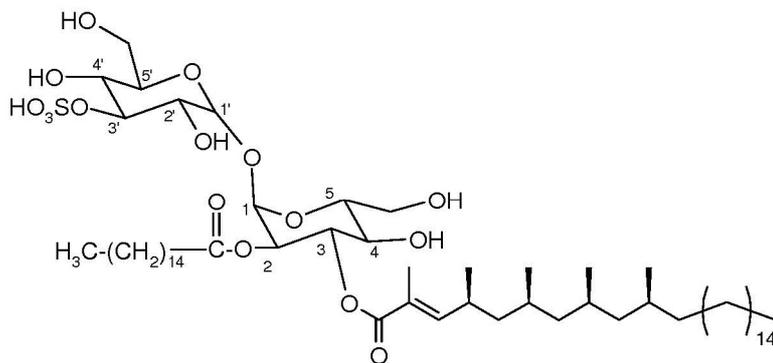
(II.7)



(II.8)



(II.9)



(II.10)

5 sus correspondientes sales, y sus enantiómeros, diastereoisómeros, mezclas de los mismos y sales o ésteres farmacéuticamente aceptables.

10 **[0025]** Según se usa en este documento, las "sales farmacéuticamente aceptables" se refieren a derivados de los compuestos descritos en los que el compuesto parental se modifica para obtener sales ácidas o básicas del mismo. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen las sales no tóxicas convencionales o las sales de amonio cuaternario del compuesto parental formadas, por ejemplo, a partir de ácidos inorgánicos u orgánicos no tóxicos. Por ejemplo, tales sales no tóxicas convencionales incluyen aquellas derivadas de ácidos inorgánicos como clorhídrico, sulfúrico, sulfámico, fosfórico, nítrico y similares; y las sales preparadas a partir de ácidos orgánicos como acético, propiónico, succínico, tartárico, cítrico, glutámico, benzoico, salicílico, toluenosulfónico, oxálico y similares.

15 **[0026]** Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención pueden sintetizarse a partir del compuesto parental que contiene una fracción básica o ácida por procedimientos químicos convencionales. Generalmente, tales sales pueden prepararse por reacción de las formas de ácido o base libre de estos compuestos con una cantidad estequiométrica de la base o el ácido apropiados en agua, en un disolvente orgánico o en una mezcla de ambos. Generalmente, se prefieren medios no acuosos como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol o acetonitrilo. En la publicación Remington's Pharmaceutical Sciences, 17.^a edición, Mack Publishing Company, 20 Easton, PA, EE. UU., 1985, p. 1418, se encuentran listas de las sales adecuadas.

[0027] De acuerdo con otra realización, la invención se refiere a una composición que comprende al menos dos compuestos diferentes de la fórmula I según se define anteriormente.

25 **[0028]** La invención también se refiere a una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto según se define anteriormente, o una composición según se define anteriormente, en asociación con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

30 **[0029]** Un vehículo farmacéuticamente aceptable comprende en particular liposomas.

[0030] La composición puede comprender también adyuvantes de vacunas. Los adyuvantes de vacunas para uso en individuos humanos o animales son bien conocidos por los expertos en la técnica y, por ejemplo, una lista de tales sales puede encontrarse en la publicación "A compendium of vaccine adjuvants and excipients" 2.^a edición, de Vogel y col. Algunos adyuvantes de vacunas especiales comprenden principalmente sales de aluminio o M59, por ejemplo.

[0031] La invención se refiere en particular a una composición farmacéutica según se define anteriormente, caracterizada porque se presenta en una forma destinada a la administración por vía oral o inyectable.

40 **[0032]** Más en particular, la invención se refiere a una composición farmacéutica según se define anteriormente, caracterizada porque comprende uno o más productos adicionales para el tratamiento o la profilaxis de la tuberculosis, como BCG o proteínas micobacterianas.

45 **[0033]** BCG significa bacilo de Calmette y Guerin y las diferentes cepas de BCG usadas actualmente para vacunación se describen principalmente en la publicación de Behr M. A. y col., Science (1999) 284: 1520-1523.

[0034] La expresión “proteínas micobacterianas” se refiere a proteínas, o fragmentos de las mismas, que están codificadas por el genoma de bacterias del género *Mycobacterium* y principalmente por el genoma de *Mycobacterium tuberculosis*, en que dichas proteínas pueden ser ventajosamente recombinantes. De acuerdo con una realización preferida, dichas proteínas micobacterianas son antígenos de *M. tuberculosis*.

[0035] Otros productos útiles para el tratamiento o la profilaxis de la tuberculosis comprenden principalmente inmunomoduladores, como citocinas, fragmentos de ADN que codifican antígenos de *M. tuberculosis*, mutantes delecionados de *M. tuberculosis* vivos, como mutantes en los que se han delecionado los genes de virulencia, o BCG recombinantes vivos, como BCG que expresan antígenos de *M. tuberculosis*.

[0036] Según se usa en este documento, la tuberculosis se refiere a la enfermedad causada en humanos por la bacteria *Mycobacterium tuberculosis*, pero también a la enfermedad correspondiente en animales.

[0037] De acuerdo con otra realización, la invención se refiere a productos que comprenden:

- al menos un compuesto según se define anteriormente,
- y al menos otro producto útil para el tratamiento o la profilaxis de la tuberculosis, como BCG o proteínas micobacterianas,

como una preparación combinada para uso simultáneo, separado o secuencial en el tratamiento o la profilaxis de la tuberculosis.

[0038] Se describe el uso de al menos un compuesto según se define anteriormente, o de una composición mencionada anteriormente, para la preparación de un medicamento, principalmente una vacuna, destinada al tratamiento o la profilaxis de la tuberculosis.

[0039] Opcionalmente, la vacuna puede comprender un adyuvante de vacunas según se describe anteriormente.

[0040] La invención se refiere al uso de al menos un compuesto según se define anteriormente, o de una composición según se define anteriormente, como activador de la reacción inmunitaria *in vitro* y, más en particular, como activador de la reacción inflamatoria.

[0041] Con “activador de la reacción inmunitaria” se indica un compuesto que tiene la capacidad de activar componentes o procesos de la reacción inmunitaria, *in vitro* o *in vivo*, en particular células del sistema inmunitario, como linfocitos T, linfocitos B, células presentadoras de antígenos (APC), como células dendríticas o macrófagos, monocitos o granulocitos.

[0042] Con “activador de la reacción inflamatoria” se indica un compuesto que tiene la capacidad de activar componentes o procesos de la reacción inflamatoria, *in vitro* o *in vivo*, como la diapedesis, la permeabilización capilar, la activación de macrófagos o la aparición de fiebre, por ejemplo.

[0043] La invención también se refiere al uso de al menos un compuesto según se define anteriormente, o de una composición según se define anteriormente, para inducir *in vitro* la activación de linfocitos T, principalmente de linfocitos T restringidos a CD1. La activación puede continuar *in vitro*.

[0044] La activación de los linfocitos T puede evaluarse por distintos procedimientos, como la medición de la multiplicación celular o la producción de citocinas como IFN- γ (interferón γ), IL-2 (interleucina 2), IL-4 (interleucina 4) o TNF- α (factor de necrosis tumoral α), por ejemplo.

[0045] Los linfocitos T restringidos a CD1 son linfocitos T que son activados por antígenos presentados por moléculas de CD1.

[0046] La invención también se refiere al uso de al menos un compuesto según se define anteriormente, o de una composición según se define anteriormente, para inducir la producción de IFN- γ , TNF- α , IL-4 o granulicina.

[0047] Esta inducción de la producción puede llevarse a cabo *in vitro* o *in vivo*. La producción de IFN- γ , TNF- α , IL-4 o granulicina puede medirse, por ejemplo, mediante inmunoensayos, como ELISA (ensayo de inmunoadsorción enzimática) o EIA (ensayo inmunoenzimático).

[0048] También se describe el uso de al menos un compuesto según se define anteriormente, o de una composición según se define anteriormente, para la preparación de una composición para el diagnóstico de la

infección por *Mycobacterium tuberculosis*.

5 **[0049]** El diagnóstico de la tuberculosis puede resultar difícil, ya que la prueba actual (tuberculina o prueba denominada "PPD") no puede diferenciar los individuos PPD⁺ que han recibido BCG de aquellos pacientes PPD⁺ realmente infectados con tuberculosis latente.

[0050] Por lo tanto, es muy deseable proporcionar una prueba específica para la infección por *Mycobacterium tuberculosis*.

10 **[0051]** Esto se ha hecho posible ahora con los compuestos de la invención.

[0052] Los compuestos de la invención son muy específicos para la especie *Mycobacterium tuberculosis*. Pueden usarse para discriminar los individuos PPD⁺ entre aquellos vacunados con BCG y aquellos realmente infectados con tuberculosis.

15

[0053] De acuerdo con otro aspecto, la presente invención proporciona por tanto un procedimiento *in vitro* para diagnosticar la infección por *Mycobacterium tuberculosis* que comprende las etapas siguientes:

- proporcionar una muestra biológica de un individuo PPD⁺;
- 20 - poner en contacto dicha muestra con un compuesto de la fórmula (I) según se define anteriormente;
- evaluar la activación de los linfocitos T; y
- comparar la activación de los linfocitos T después y antes de la administración del compuesto.

25 **[0054]** Aquellos individuos en los que los linfocitos T se hayan activado, por ejemplo, en los que aumente la liberación de IFN- γ después de la administración de un compuesto de la invención, están infectados con *Mycobacterium tuberculosis*.

30 **[0055]** La presente invención también proporciona un kit para el diagnóstico de la tuberculosis que comprende:

- un compuesto de la fórmula (I) según se define anteriormente;
- células dendríticas;
- medios para detectar la activación de los linfocitos T, por ejemplo, la liberación de IFN- γ .

35 **[0056]** En general, la activación por sulfoglucolípidos de los linfocitos T se detecta midiendo el IFN- γ liberado al sobrenadante 48 horas después de la estimulación con células dendríticas y sulfoglucolípidos, con el uso de cualquier kit de detección del INF- γ humano mediante ELISA (por ejemplo, adquirido de BD Pharmingen).

40 **[0057]** La presente invención también se refiere al uso de los compuestos (I) de la invención para evaluar *in vitro* la eficacia de las vacunas preparadas con *Mycobacterium tuberculosis* recombinante. Se han desarrollado vacunas que usan bacterias vivas recombinantes obtenidas a partir de *Mycobacterium tuberculosis* o *Mycobacterium bovis* BCG que, por ejemplo, pueden sobreexpresar una proteína. Es muy deseable evaluar si tales vacunas son eficaces y protegen al paciente al que se le han administrado. La evaluación se hace posible llevando a cabo el procedimiento de diagnóstico *in vitro* de la invención.

45

[0058] La presente invención también se refiere a ligandos específicos para los compuestos de la fórmula (X).

[0059] Según se pretende en este documento, un "ligando específico" se refiere a cualquier compuesto que puede prepararse o inducirse para unirse específicamente a un compuesto de acuerdo con la invención.

50

[0060] Los ligandos específicos abarcan principalmente anticuerpos y aptámeros.

55 **[0061]** El término "anticuerpos" se refiere a anticuerpos completos, en particular a anticuerpos monoclonales, pero también a fragmentos de anticuerpos que retienen la capacidad de unirse específicamente a los compuestos de la invención, como los fragmentos Fab, Fab', F(ab')₂, Fv o scFv.

60 **[0062]** La preparación de anticuerpos es bien conocida por los expertos en la técnica. Normalmente, se administra una preparación de un compuesto de acuerdo con la invención a un animal, como un ratón, una rata, un conejo o una cabra por vías diversas, como la vía intramuscular, intravascular o intraperitoneal. Con el fin de aumentar la producción de anticuerpos, puede llevarse a cabo una administración adicional después de la primera administración. Después, los anticuerpos se obtienen de la sangre extraída a los animales o de derivados sanguíneos como suero o plasma y opcionalmente se purifican, por ejemplo, mediante cromatografía de afinidad.

Los anticuerpos monoclonales pueden prepararse principalmente según describen Koller y Milstein (1975) Nature 256: 495-499.

5 **[0063]** Los "aptámeros" pueden ser del tipo péptido o del tipo nucleico (por ejemplo, desoxirribonucleico o ribonucleico). Los aptámeros nucleicos pueden prepararse principalmente mediante el procedimiento bien conocido SELEX o según describen Ellington y Szostak (1990) Nature 346: 818-22. Los aptámeros peptídicos pueden obtenerse según describen Cohen y col. (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95: 142723-7.

10 **[0064]** La fórmula general (X) incluye la fórmula (I), según se describe en el documento WO 2004/092192, así como compuestos de las fórmulas (I) y (II) de la presente invención. Preferiblemente, los compuestos de la fórmula (X) son aquellos de las fórmulas (I) y (II) y sus realizaciones preferidas según se describen anteriormente.

15 **[0065]** De acuerdo con otro objetivo más, la presente invención también se refiere al procedimiento de preparación de un compuesto de la fórmula (I) según se define anteriormente.

20 **[0066]** Los compuestos y el procedimiento de la presente invención pueden prepararse de formas diversas bien conocidas por los expertos en la técnica. Los compuestos pueden sintetizarse, por ejemplo, mediante la aplicación o adaptación de los procedimientos descritos más adelante o variaciones de los mismos, según aprecien los expertos en la técnica. Las modificaciones y sustituciones apropiadas resultan obvias y son bien conocidas o pueden ser obtenidas fácilmente de la bibliografía científica por los expertos en la técnica.

[0067] En particular, tales procedimientos pueden encontrarse en la publicación de R. C. Larock, Comprehensive Organic Transformations, VCH publishers, 1989.

25 **[0068]** Los reactivos y materiales de partida están disponibles comercialmente o pueden ser sintetizados fácilmente mediante técnicas bien conocidas por los expertos en la técnica.

30 **[0069]** En las reacciones descritas a continuación puede ser necesario proteger grupos funcionales reactivos, por ejemplo, grupos hidroxilo, amino, imino, tio o carboxilo, cuando estos se desean en el producto final, para evitar su participación no deseada en las reacciones. Pueden usarse grupos protectores convencionales de acuerdo con las prácticas estándar, como ejemplos, véanse las publicaciones de T. W. Green y P. G. M. Wuts en Protective Groups in Organic Chemistry, John Wiley and Sons, 1991; y J. F. W. McOmie en Protective Groups in Organic Chemistry, Plenum Press, 1973.

35 **[0070]** Normalmente, las reacciones se llevan a cabo en un disolvente adecuado. Pueden usarse diversos disolventes, siempre que no tengan un efecto adverso sobre la reacción o los agentes participantes. Algunos ejemplos de disolventes adecuados incluyen: hidrocarburos, que pueden ser hidrocarburos aromáticos, alifáticos o cicloalifáticos, como hexano, ciclohexano, benceno, tolueno y xileno; amidas, especialmente amidas de ácidos grasos, como dimetilformamida; y éteres, como éter dietílico y tetrahidrofurano.

40 **[0071]** Las reacciones pueden tener lugar en un amplio intervalo de temperaturas. En general, encontramos conveniente llevar a cabo la reacción a una temperatura de desde aproximadamente 0 °C hasta aproximadamente 150 °C (más preferiblemente desde aproximadamente la temperatura ambiente hasta aproximadamente 100 °C). El tiempo requerido para la reacción también puede variar ampliamente, dependiendo de numerosos factores, 45 principalmente la temperatura de la reacción y la naturaleza de los reactivos. Sin embargo, siempre que la reacción se realice en las condiciones preferidas resumidas anteriormente, normalmente será suficiente un periodo de desde aproximadamente 3 horas hasta aproximadamente 20 horas.

50 **[0072]** El compuesto así preparado puede recuperarse de la mezcla de reacción por medios convencionales. Por ejemplo, los compuestos pueden recuperarse eliminando el disolvente por destilación de la mezcla de reacción o, si es necesario, después de eliminar por destilación el disolvente de la mezcla de reacción, mediante el vertido del residuo en agua, seguido de la extracción con un disolvente orgánico inmiscible con agua y la eliminación por destilación del disolvente del extracto. Adicionalmente, si se desea, el producto puede purificarse posteriormente por 55 diversas técnicas bien conocidas, como recristalización, reprecipitación o las diversas técnicas cromatográficas, principalmente cromatografía en columna o cromatografía preparativa en capa fina.

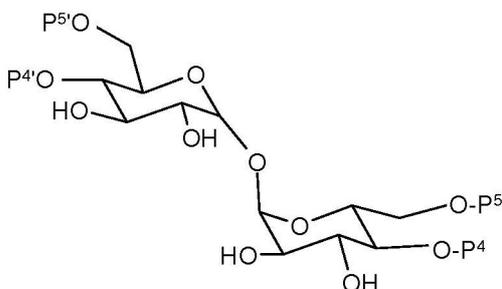
[0073] De acuerdo con otro objetivo más, la presente invención proporciona un procedimiento para la preparación de un compuesto de la fórmula (I) según se define anteriormente que comprende las etapas de:

- 60 - sulfonación; y
- acilación con los correspondientes compuestos de las fórmulas (IV) y (IV')

R²X (IV)

R³Y (IV')

5 en que R² y R³ se definen como en la fórmula (I) y X e Y representan independientemente un átomo halógeno o un grupo OH, de un compuesto de la fórmula (III):



10 en el que cada uno de P⁴, P⁵, P^{4'} y P^{5'}, idénticos o diferentes, representa H o un grupo protector de OH, o P⁴ y P⁵ y/o P^{4'} y P^{5'} forman conjuntamente un grupo cíclico protector de OH.

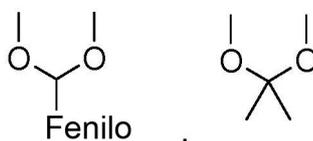
[0074] Pueden requerirse una o dos reacciones de sulfonación y acilación.

15 **[0075]** Las etapas de sulfonación y acilación pueden llevarse a cabo en cualquier orden, sucesivamente o alternativamente.

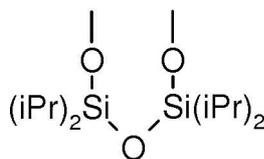
[0076] Pueden requerirse una o más etapas de protección y/o desprotección antes y/o después de las etapas de acilación y/o sulfonación, según sea apropiado.

20

[0077] Tales grupos de protección incluyen acetales o cetales, como



25 o grupos protectores bidentados como



30 **[0078]** El procedimiento de la invención comprende la etapa posterior de la hidrolización de dichos grupos protectores. Esta reacción se lleva a cabo normalmente en condiciones ácidas.

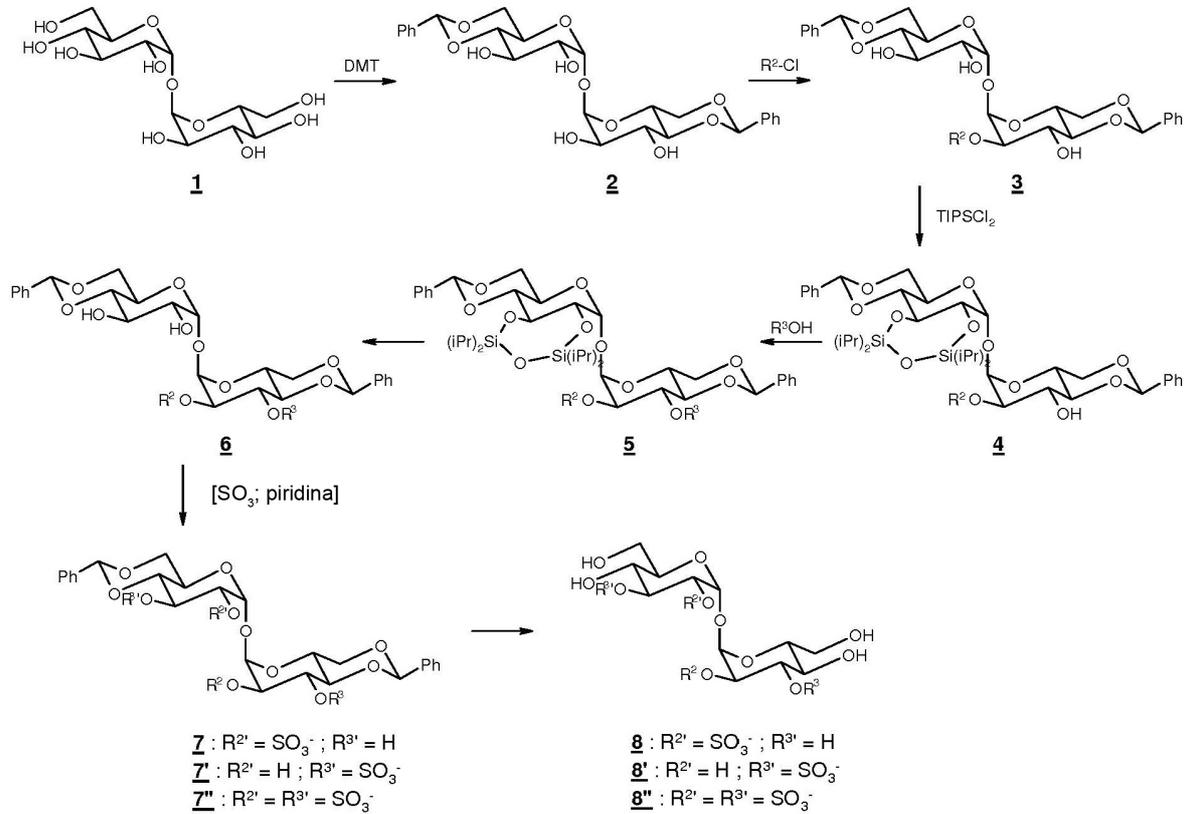
[0079] Generalmente, dicha reacción de sulfonación se lleva a cabo con cualquier reactivo de sulfonación adecuado, como el complejo piridina-trióxido de azufre o el complejo trimetilamina-trióxido de azufre.

35 **[0080]** Las dos acilaciones requeridas pueden llevarse a cabo en una o dos etapas. La etapa o etapas de acilación se realizan normalmente con agentes de acoplamiento como DMAP y/o DCC.

[0081] El procedimiento de la invención puede comprender también la etapa final de aislamiento del

compuesto deseado.

[0082] Un procedimiento representativo de la invención se ilustra en el esquema siguiente:



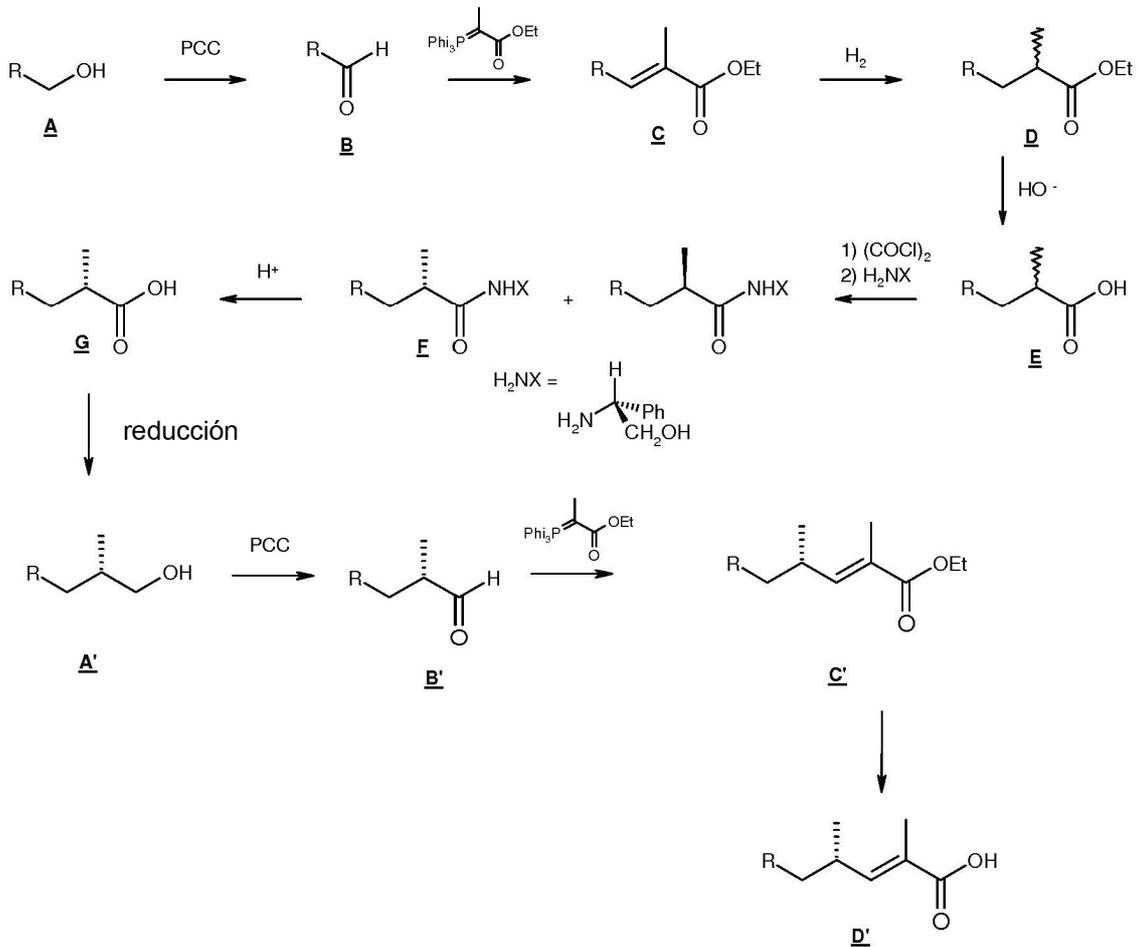
5

[0083] El compuesto bisulfonado en las posiciones 2' y 3' (**7''**) puede obtenerse usando un exceso del reactivo de sulfonación. El compuesto sulfonado en la posición 3' (**7'**) se obtiene como subproducto de la reacción de sulfonación; normalmente, la selectividad de la reacción de sulfonación es de 5/1. Los compuestos **7**, **7'** y **7''** se separan por cromatografía.

[0084] Normalmente, el compuesto de la fórmula (IV) está disponible comercialmente.

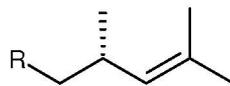
[0085] Preferiblemente, cuando R^3 representa la cadena b) según se define anteriormente, los compuestos de la fórmula (IV') pueden prepararse mediante la aplicación o adaptación del esquema ilustrativo siguiente:

15



en el que

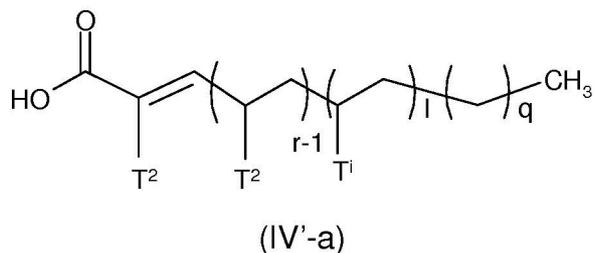
R representa la correspondiente cadena de hidrocarburo lineal o ramificada insaturada, opcionalmente sustituida, de
5 manera que



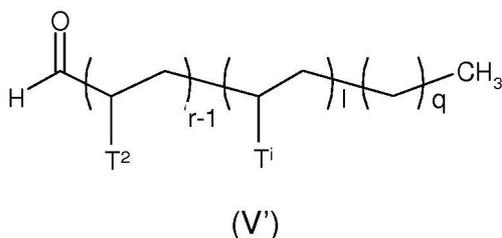
10 corresponde a X. Más precisamente, a partir de A, disponible comercialmente, se llevan a cabo las etapas hasta G, que entonces comprende un grupo metilo adicional con la estereoquímica requerida (S). Después, G se reduce hasta A', lo que conduce al deseado B', y después a C' que a su vez se saponifica para dar lugar al compuesto deseado de la fórmula (IV').

[0086] En particular, el compuesto de la fórmula R³Y (IV') con la fórmula siguiente (IV'-a):

15

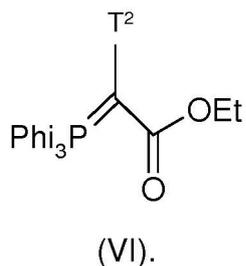


se obtiene a partir del compuesto correspondiente de la fórmula (V'):



5

por una reacción de Wittig, con el uso de un compuesto de la fórmula (VI), y una saponificación posterior:



10

[0087] El procedimiento anterior para la preparación de compuestos de la fórmula (IV') es especialmente ventajoso porque conduce a compuestos con la estereoquímica deseada.

[0088] El procedimiento puede llevarse a cabo mediante la aplicación o adaptación de las condiciones experimentales y/o productos de partida dados en los ejemplos.

BREVE DESCRIPCIÓN DEL DIBUJO

Figura 1 y figura 2

20

[0089] Las figuras 1 y 2 representan la cantidad de IFN- γ (en pg/ml, eje vertical) producida por el clon de linfocitos T Z4B27 en respuesta a la estimulación (eje horizontal) por los compuestos de la invención y compuestos comparativos.

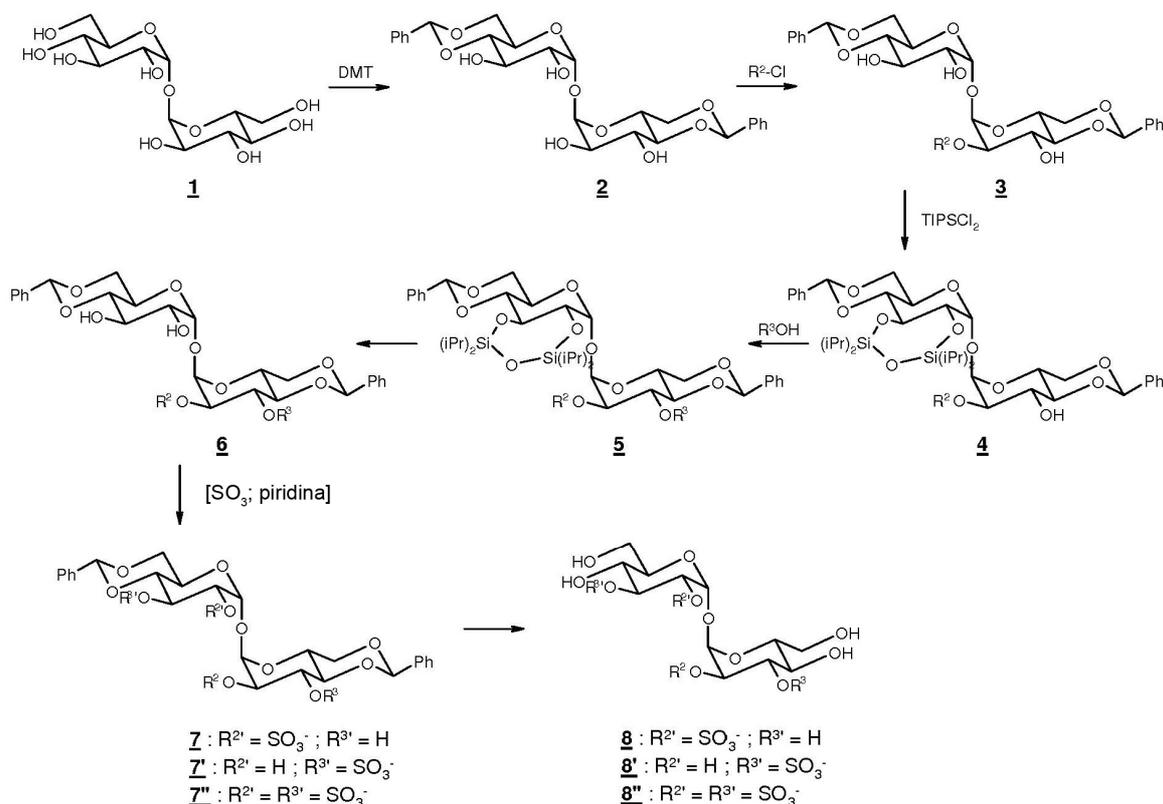
25 EJEMPLOS

Ejemplo 1: Síntesis de los compuestos de la invención

A. Síntesis de sulfolípidos

30

[0090]



1. Bencilidenación de α,α -trehalosa

- 5 **[0091]** Se deshidrató dihidrato de α,α -trehalosa (1 eq.) por ebullición a reflujo en etanol absoluto (0,4 M) durante 30 min. El residuo seco **1** se suspendió después en *N,N*-dimetilformamida seca (DMF, 0,4 M) y se le añadió α,α -dimetoxitolueno (DMT, 2 eq.), junto con ácido 10-canforsulfónico (CSA, 0,05 eq.). La mezcla se calentó (60 °C) durante 1 h en un rotavapor con ligero vacío para eliminar el metanol. A continuación se añadió más DMT (0,25 eq.) y CSA (0,01 eq.) y la mezcla se introdujo de nuevo en el rotavapor. Al final de la reacción se evaporó la DMF. La mezcla se agitó durante la noche en una disolución acuosa de hidrogenocarbonato de sodio (al 5 %) para dar el diacetal cristalino **2**. El producto se recrystalizó por disolución en etanol hirviendo, adición de agua caliente y enfriamiento lento. Finalmente, los cristales blancos de **2** se filtraron, se lavaron con agua y éter de petróleo y se secaron (84 %).

15 2. Acilación de la posición 2

[0092] Una suspensión del diacetal **2** (1 eq.), 4-dimetilaminopiridina (DMAP, 1 eq.) y cloruro de acilo (1,3 eq.) en piridina seca (0,6 M) se hirvió a reflujo durante 25 horas. Se obtuvo el producto monoacilado **3** con un rendimiento del 45 %.

20

3. Sililación de las posiciones 2' y 3'

- [0093]** A una disolución helada de **3** (1 eq.) en piridina (0,1 M) se le añadió 1,3-dicloro-1,1,3,3-tetraisopropildisiloxano (1,2 eq.). Después de agitar durante 2 días a temperatura ambiente, la mezcla se vertió sobre agua helada y el producto se extrajo con acetato de etilo. La purificación mediante cromatografía rápida dio el producto **4** como un jarabe con un rendimiento del 58 %.

4. Acilación de la posición 3

- 30 **[0094]** El compuesto **4** (1,5 eq.) se trató durante 15 min bajo la acción de microondas con el ácido $R^3\text{OH}$ (obtenido de la parte B) (1 eq.), DMAP (1 eq.) y DCC (1,5 eq.) en tolueno seco (0,1 M del ácido). Al final, el disolvente se evaporó y el producto diacilado **5** se purificó por cromatografía rápida. El rendimiento de la reacción

depende en gran medida de la estructura del ácido usado (25-60 %).

5. Dessililación

5 [0095] El compuesto 5 (1 eq.) se calentó a 40 °C con una disolución de Bu₄NF/THF (1 M, acidificada con ácido trifluoroacético para alcanzar un pH ≈ 6, 40 eq.) durante 24 h. Se obtuvo el producto cristalino 6 con un rendimiento del 90 %.

6. Sulfatación

10 [0096] A una disolución de 6 (1 eq.) en piridina (0,06 M) se le añadió una disolución del complejo piridina-trióxido de azufre en DMF (0,5 M, 3 eq.) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente. Después de 2 días, la mezcla se evaporó y el residuo se sometió a cromatografía en gel de sílice para dar 7 (62 %), su isómero con sulfato en la posición 3' 7' y el compuesto disulfatado en las posiciones 2' y 3' 7''.

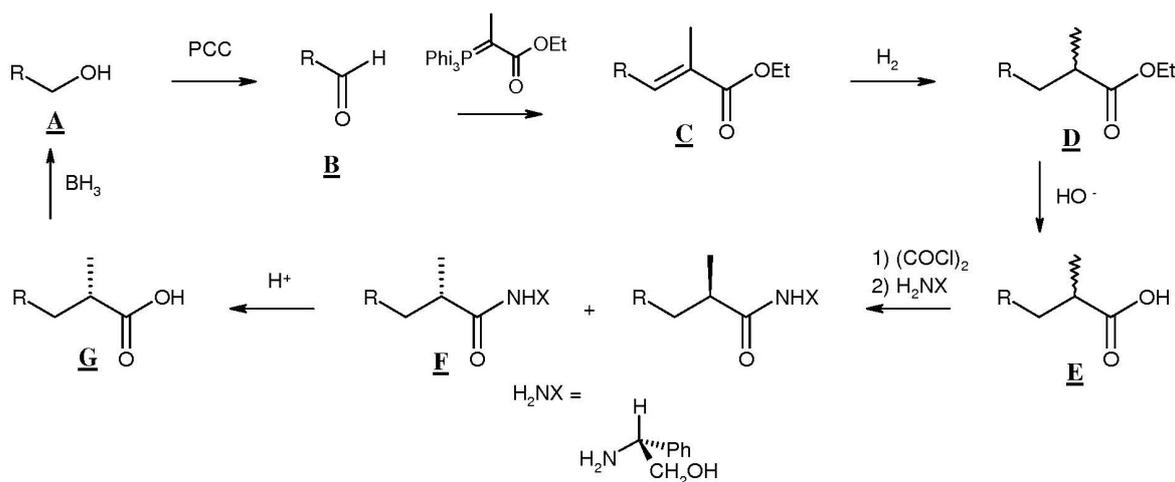
7. Hidrólisis de los acetales

[0097] El derivado dibencilidénico 7, 7' o 7'' se trató con una disolución de cloroformo/metanol/H₂SO₄ al 1,7 % (60/40/8) durante 2 días a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se neutralizó con una disolución de NaHCO₃. Esta desprotección produjo cuantitativamente el correspondiente sulfoglucolípidio diacilado 8, 8' o 8''.

B. Síntesis de ácidos

[0098]

25



1. Oxidación de alcohol

30 [0099] El alcohol A (1 eq.) se añadió a una suspensión agitada rápidamente de clorocromato de piridinio (2 eq.) y acetato de sodio (5 eq.) en diclorometano seco (0,4 M de A) en atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente. Después de agitar durante 1,5 h se añadió éter dietílico y la mezcla se filtró. El producto crudo B no se purificó adicionalmente.

35 2. Reacción de Wittig

[0100] A una disolución de B (1 eq.) en diclorometano seco (0,6 M) se le añadió 1-carboetoxietiliditridenilfosforano (1,2 eq.). A continuación, la mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente y dio lugar al éster C. El rendimiento de las dos etapas a partir de A fue del 87 %.

3. Hidrogenación

[0101] El éster conjugado C (1 eq.) se sometió a hidrogenolisis en acetato de etilo (0,4 M) con el uso de paladio al 10 % sobre carbón como catalizador. Se obtuvo el éster saturado D con un rendimiento del 77 % como una mezcla enantiomérica (diastereoisomérica) 1/1 en la posición C-2.

4. Saponificación

[0102] El éster **D** (1 eq.) se calentó durante la noche a 110 °C en una disolución de hidróxido de potasio (12 eq.) en agua/etanol 2/3 (0,2 M). Esta reacción produjo cuantitativamente el correspondiente ácido **E** como una mezcla racémica (diastereoisomérica 1/1) en la posición C-2.

4. Amidación

10 **[0103]** El ácido **E** (1 eq.) se calentó a reflujo con cloruro de oxalilo (10 eq.) durante 1 h. El exceso de reactivo se eliminó a presión reducida. Al cloruro de acilo crudo se le añadió diclorometano seco (0,4 M) y DMAP (1,2 eq.) y a continuación (*R*)-2-fenilglicinol (1,1 eq.) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Una cromatografía rápida permitió la separación de los diastereoisómeros. El diastereoisómero 2S **F** fue el compuesto menos polar y se aisló con el 36 % de rendimiento.

15

6. Hidrólisis ácida

[0104] La amida **F** (1 eq.) se calentó a reflujo durante la noche en una disolución de ácido sulfúrico (3 N) en una mezcla 1/1 de dioxano/agua (0,02 M) para liberar cuantitativamente el ácido 2S **G**.

20

7. Reducción

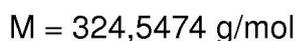
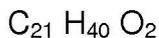
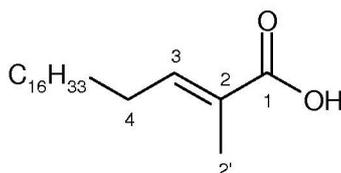
[0105] El ácido **G** (1 eq.) se disolvió en una disolución de BH₃ en THF (1 M, 1,7 eq.) y esta mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Se añadió etanol, después ácido acético acuoso al 80 % y la mezcla se neutralizó con NaHCO₃. El alcohol se obtuvo cuantitativamente en forma pura.

25

[0106] La secuencia de reacción completa se repitió para la introducción de otras ramificaciones metílicas en la cadena de ácido graso.

30 **[0107]** Los ácidos insaturados se obtuvieron mediante la saponificación según se indica anteriormente de los ésteres insaturados **C**.

[0108] Se obtuvieron los ácidos siguientes:



35

Ácido (2E)-2-metileicos-2-enoico

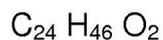
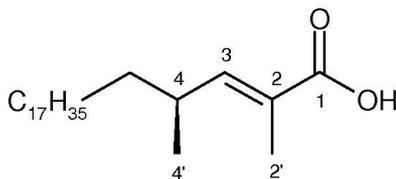
crisales blancos

40

RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃)

[0109] δ = 0,88 ppm (t, H-t, ³J = 6,5 Hz); δ = 1-1,7 ppm (m, H alifático); δ = 1,84 ppm (d, H-2', d, ⁴J_{2'-3} = 1,5 Hz); δ = 2,19 ppm (c, H-4, ³J₄₋₃ = ³J₄₋₅ = 7 Hz); δ = 6,9 ppm (tc, H-3, ³J₃₋₄ = 7 Hz y ⁴J_{3-2'} = 1,5 Hz).

45



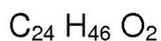
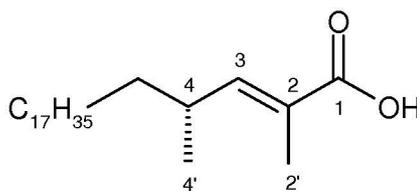
$$M = 366,628 \text{ g/mol}$$

Ácido (2E,4S)-2,4-dimetildocos-2-enoico

5 *crisales blancos*

RMN ^1H (250 MHz, CDCl_3)

[0110] $\delta = 0,87$ ppm (t, H-t, $^3J = 6,5$ Hz); $\delta = 1,0$ ppm (d, H-4', $^3J_{4'-4} = 6,5$ Hz); $\delta = 1,1-1,6$ ppm (m, H alifático);
 10 $\delta = 1,84$ ppm (d, H-2', d, $^4J_{2'-3} = 1,5$ Hz); $\delta = 2,5$ ppm (m, H-4); $\delta = 6,65$ ppm (dc, H-3, $^3J_{3-4} = 10$ Hz y $^4J_{3-2'} = 1,5$ Hz).



$$M = 366,628 \text{ g/mol}$$

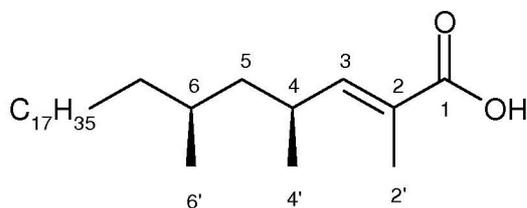
Ácido (2E,4R)-2,4-dimetildocos-2-enoico

15

crisales blancos

RMN ^1H (250 MHz, CDCl_3)

[0111] $\delta = 0,88$ ppm (t, H-t, $^3J = 6,5$ Hz); $\delta = 1,01$ ppm (d, H-4', $^3J_{4'-4} = 6,5$ Hz); $\delta = 1,1-1,5$ ppm (m, H alifático); $\delta = 1,85$ ppm (d, H-2', d, $^4J_{2'-3} = 1,5$ Hz); $\delta = 2,5$ ppm (m, H-4); $\delta = 6,65$ ppm (dc, H-3, $^3J_{3-4} = 10$ Hz y $^4J_{3-2'} = 1,5$ Hz).



$$M = 408,7087 \text{ g/mol}$$

Ácido (2E,4S,6S)-2,4,6-trimetiltetracos-2-enoico (ácido ftienoico)

5 *cristales blancos*

[0112] $[\alpha]_D^{25} = +13,8$ (cloroformo)

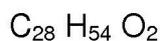
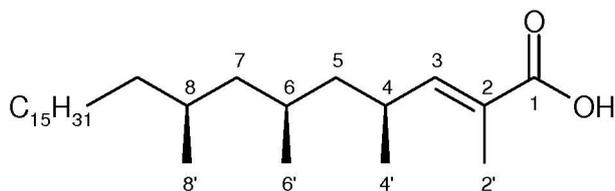
RMN 1H (250 MHz, $CDCl_3$)

10

[0113] $\delta = 0,82$ ppm (d, H-6', $^3J_{6'-6} = 6,5$ Hz); $\delta = 0,88$ (t, H-t, $^3J = 7$ Hz); $\delta = 0,99$ ppm (d, H-4', $^3J_{4'-4} = 6,5$ Hz); $\delta = 1,05-1,4$ ppm (m, H alifático); $\delta = 1,85$ ppm (d, H-2', d, $^4J_{2'-3} = 1,5$ Hz); $\delta = 2,6$ ppm (m, H-4); $\delta = 6,66$ ppm (d, H-3, $^3J_{3-4} = 10$ Hz y $^4J_{3-2'} = 1,5$ Hz).

15 RMN ^{13}C (250 MHz, $CDCl_3$)

[0114] $\delta = 12,1$ ppm, C-6'; $\delta = 14,1$ ppm, C-t; $\delta = 19-32$ ppm, C alifático; $\delta = 37,6$ ppm, C-2'; $\delta = 44,4$ ppm, C-5; $\delta = 125$ ppm, C-2; $\delta = 151,2$ ppm, C-3.



$$M = 422,7356 \text{ g/mol}$$

20

Ácido (4S,6S,8S)-2,4,6,8-tetrametiltetracos-2-enoico

aceite incoloro

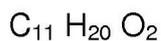
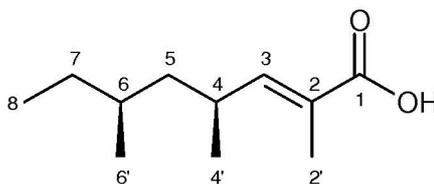
25

[0115] $[\alpha]_D^{25} = +15$ (cloroformo)

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$)

30

[0116] $\delta = 0,83$ ppm (d, H-8', $^3J_{8'-8} = 6,3$ Hz); $\delta = 0,85$ ppm (d, H-6', $^3J_{6'-6} = 6,3$ Hz); $\delta = 0,9$ ppm (t, H-t, $^3J = 6,6$ Hz); $\delta = 1,01$ ppm (d, H-4', $^3J_{4'-4} = 6,6$ Hz); $\delta = 1,1-1,5$ ppm (m, H alifático); $\delta = 1,88$ ppm (s, H-2'); $\delta = 2,67$ ppm (m, H-4); $\delta = 6,69$ ppm (d, H-3, $^3J_{3-4} = 10,2$ Hz).



$$M = 184,2786 \text{ g/mol}$$

Ácido (4S,6S)-2,4,6-trimetiloct-2-enoico

5 aceite incoloro

[0117] $[\alpha]_{\text{D}^{25}} = +53,2$ (cloroformo)

RMN ^1H (250 MHz, CDCl_3)

10

[0118] $\delta = 0,86$ ppm (d, H-6', $^3J_{6'-6} = 5,5$ Hz); $\delta = 0,88$ ppm (t, H-8, $^3J_{8-7} = 7$ Hz); $\delta = 1,03$ ppm (d, H-4', $^3J_{4'-4} = 6,6$ Hz); $\delta = 1,1-1,5$ ppm (m, H-5, H-6, H-7); $\delta = 1,89$ ppm (s, H-2'); $\delta = 2,67$ ppm (m, H-4); $\delta = 6,7$ ppm (d, H-3, $^3J_{3-4} = 10$ Hz).

15 RMN ^{13}C (300 MHz, CDCl_3)

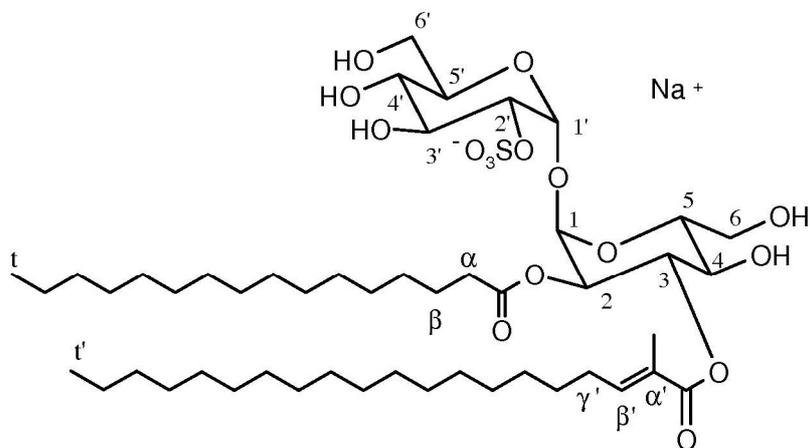
[0119] $\delta = 11,2$ ppm, C-8; $\delta = 12,1$ ppm, C-2'; $\delta = 19,0$ ppm, C-6'; $\delta = 20,4$ ppm, C-4'; $\delta = 30,0$ ppm, C-7; $\delta = 31,1$ ppm, C-4; $\delta = 32,3$ ppm, C-6; $\delta = 44,1$ ppm, C-5; $\delta = 125,5$ ppm, C-2; $\delta = 151,1$ ppm, C-3; $\delta = 174,1$ ppm, C-1.

20 **[0120]** Los compuestos de la invención siguientes se prepararon aplicando los procedimientos anteriores.

Compuesto a:

[0121]

25



$C_{49} H_{89} O_{16} S Na$

$M = 989,2911 \text{ g/mol}$

2-O-hexadecanoil-3-O-(2-metileicos-2-enoil)-2'-O-sulfo- α,α' -D-trehalosa

5 RMN 1H (250 MHz, $CDCl_3/MeOD$ 4/1)

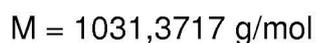
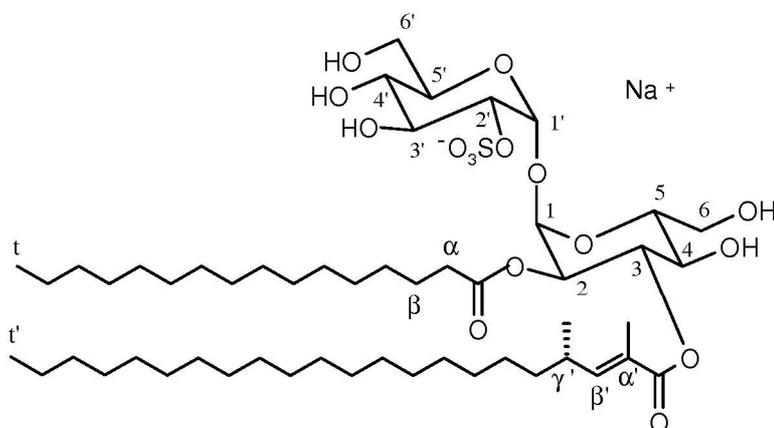
[0122] $\delta = 0,89 \text{ ppm}$ (t, 3H-t, 3H-t', $^3J = 7 \text{ Hz}$); $\delta = 1-1,6 \text{ ppm}$ (m, H alifático); $\delta = 1,81 \text{ ppm}$ (d, $(CH_3)_{\alpha'}$, $^4J = 1 \text{ Hz}$); $\delta = 2,2 \text{ ppm}$ (m, 2H- α , 2H- γ'); $\delta = 3,3-4,7 \text{ ppm}$ (m, H-2', H-3', H-4, H-4', H-5, H-5', H-6_{ax}, H-6'_{ax}, H-6_{eq}, H-6'_{eq}); $\delta = 4,95 \text{ ppm}$ (dd, H-2, $^3J_{2-1} = 4 \text{ Hz}$ y $^3J_{2-3} = 10 \text{ Hz}$); $\delta = 5,29 \text{ ppm}$ (d, H-1, $^3J_{1-2} = 4 \text{ Hz}$); $\delta = 5,45 \text{ ppm}$ (t, H-3, $^3J_{3-4} = ^3J_{3-2} = 10 \text{ Hz}$); $\delta = 5,52 \text{ ppm}$ (d, H-1', $^3J_{1'-2'} = 4 \text{ Hz}$); $\delta = 6,8 \text{ ppm}$ (tc, H- β' , $^2J_{\beta'-\gamma'} = 7,5 \text{ Hz}$, $^4J = 1 \text{ Hz}$).

MALDI-Tof (modo negativo): $M/Z = 965,75$

Compuesto b:

15

[0123]



3-O-(2,4S-dimethyldocos-2-enoil)-2-O-hexadecanoil-2'-O-sulfo- α,α' -D-trehalosa

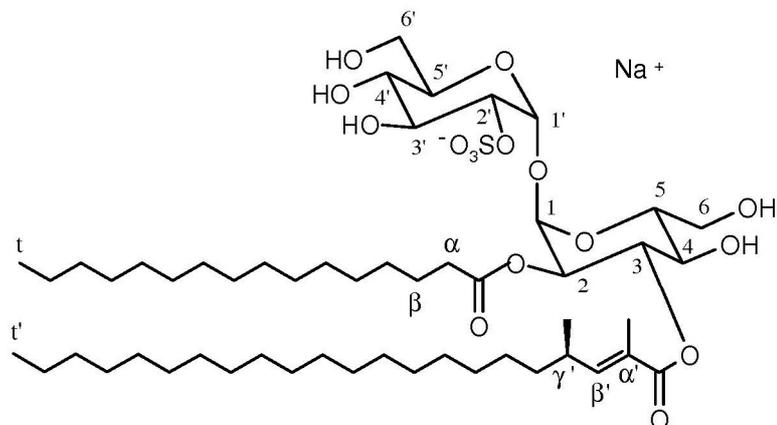
5 RMN ^1H (250 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{MeOD}$ 4/1)

[0124] $\delta = 0,9$ ppm (t, 3H-t, 3H-t', $^3J = 6,5$ Hz); $\delta = 0,99$ ppm (d, $(\text{CH}_3)_\gamma$, $^3J = 6,5$ Hz); $\delta = 1,1-1,6$ ppm (m, H alifático); $\delta = 1,82$ ppm (d, $(\text{CH}_3)_\alpha$, $^4J = 1$ Hz); $\delta = 2,22$ ppm (t, 2H- α , $^3J = 7$ Hz); $\delta = 2,46$ ppm (m, H- γ'); $\delta = 3,4-4,4$ ppm (m, H-2', H-3', H-4, H-4', H-5, H-5', H-6_{ax}, H-6'_{ax}, H-6_{eq}, H-6'_{eq}); $\delta = 4,87$ ppm (dd, H-2, $^3J_{2-1} = 4$ Hz y $^3J_{2-3} = 10$ Hz); $\delta = 5,29$ ppm (d, H-1, $^3J_{1-2} = 4$ Hz); $\delta = 5,44$ ppm (t, H-3, $^3J_{3-4} = ^3J_{3-2} = 10$ Hz); $\delta = 5,51$ ppm (d, H-1', $^3J_{1'-2'} = 4$ Hz); $\delta = 6,57$ ppm (dc, H- β' , $^3J_{\beta'-\gamma'} = 10$ Hz, $^4J = 1$ Hz).

MALDI-Tof (modo negativo): M/Z = 1.007,59

15 Compuesto c:

[0125]



$$\text{C}_{52} \text{H}_{95} \text{O}_{16} \text{S Na}$$

$$M = 1031,3717 \text{ g/mol}$$

3-O-(2,4S-dimetildocos-2-enoil)-2-O-hexadecanoil-2'-O-sulfo-α,α'-D-trehalosa

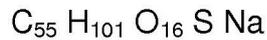
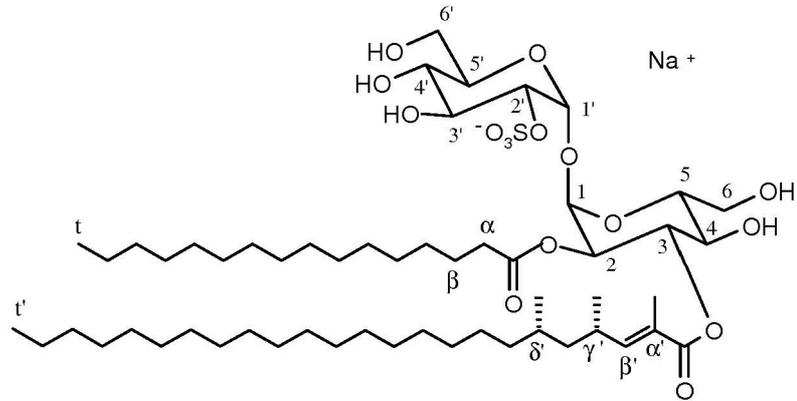
5 RMN ^1H (250 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{MeOD}$ 4/1)

[0126] $\delta = 0,89$ ppm (t, 3H-t, 3H-t', $^3J = 6,5$ Hz); $\delta = 0,99$ ppm (d, $(\text{CH}_3)_{\gamma'}$, $^3J = 6,5$ Hz); $\delta = 1-1,6$ ppm (m, H alifático); $\delta = 1,82$ ppm (d, $(\text{CH}_3)_{\alpha'}$, $^4J = 1$ Hz); $\delta = 2,21$ ppm (t, 2H- α , $^3J = 7,5$ Hz); $\delta = 2,5$ ppm (m, H- γ'); $\delta = 3,3-4,7$ ppm (m, H-2', H-3', H-4, H-4', H-5, H-5', H-6_{ax}, H-6'_{ax}, H-6_{eq}, H-6'_{eq}); $\delta = 4,95$ ppm (dd, H-2, $^3J_{2-1} = 4$ Hz y $^3J_{2-3} = 10$ Hz); $\delta = 5,29$ ppm (d, H-1, $^3J_{1-2} = 4$ Hz); $\delta = 5,45$ ppm (t, H-3, $^3J_{3-4} = ^3J_{3-2} = 10$ Hz); $\delta = 5,52$ ppm (d, H-1', $^3J_{1'-2'} = 4$ Hz); $\delta = 6,57$ ppm (dc, H- β' , $^3J_{\beta'-\gamma'} = 10$ Hz, $^4J = 1$ Hz).

MALDI-Tof (modo negativo): $M/Z = 1.007,49$

15 Compuesto d:

[0127]



2-O-hexadecanoil-2'-O-sulfo-3-O-[(E)-(4S,6S)-2,4,6-trimethyltetracos-2-enoil]-α,α'-D-trehalosa

5 RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3/MeOD$ 4/1)

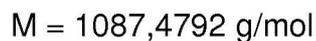
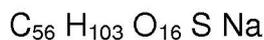
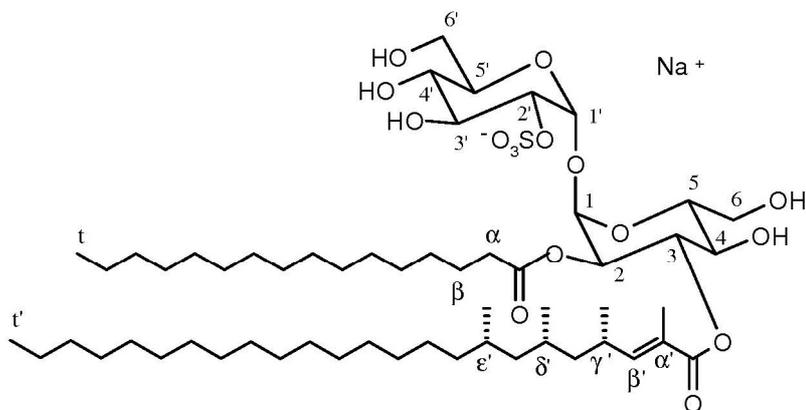
[0128] $\delta = 0,86 \text{ ppm}$ (d, $(CH_3)_\delta$, $^3J = 6,5 \text{ Hz}$); $\delta = 0,88 \text{ ppm}$ (t, 3H-t, 3H-t', $^3J = 7 \text{ Hz}$); $\delta = 0,97 \text{ ppm}$ (d, $(CH_3)_\gamma$, $^3J = 6,5 \text{ Hz}$); $\delta = 1-1,6 \text{ ppm}$ (m, H alifático); $\delta = 1,82 \text{ ppm}$ (d, $(CH_3)_\alpha$, $^4J = 1,5 \text{ Hz}$); $\delta = 2,22$ y $2,26 \text{ ppm}$ (2q, 2H- α , $^3J_{\alpha-\beta} = 8 \text{ Hz}$, $^2J = 16 \text{ Hz}$); $\delta = 2,62 \text{ ppm}$ (m, H- γ'); $\delta = 3,5-3,8 \text{ ppm}$ (m, H-4, H-4', H-5', H-6, 2H-6'); $\delta = 3,94 \text{ ppm}$ (t, H-3', $^3J_{3'-2'} = ^3J_{3'-4'} = 10 \text{ Hz}$); $\delta = 3,97 \text{ ppm}$ (dd, H-6, $^2J = 12 \text{ Hz}$, $^3J_{6-5} = 3 \text{ Hz}$); $\delta = 4,23 \text{ ppm}$ (m, H-2', H-5); $\delta = 4,97 \text{ ppm}$ (dd, H-2, $^3J_{2-1} = 3,6 \text{ Hz}$ y $^3J_{2-3} = 10 \text{ Hz}$); $\delta = 5,25 \text{ ppm}$ (d, H-1, $^3J_{1-2} = 3,6 \text{ Hz}$); $\delta = 5,43 \text{ ppm}$ (t, H-3, $^3J_{3-4} = ^3J_{3-2} = 10 \text{ Hz}$); $\delta = 5,46 \text{ ppm}$ (d, H-1', $^3J_{1'-2'} = 3,6 \text{ Hz}$); $\delta = 6,54 \text{ ppm}$ (dc, H- β' , $^3J_{\beta'-\gamma'} = 10 \text{ Hz}$, $^4J = 1,5 \text{ Hz}$).

MALDI-Tof (modo negativo): $M/Z = 1.049,47$

15

Compuesto e:

[0129]



2'-O-sulfo-2-O-hexadecanoil-3-O-[(4S,6S,8S)-2,4,6,8-tetramethyltetracos-2-enoil]-α,α'-D-trehalosa

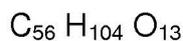
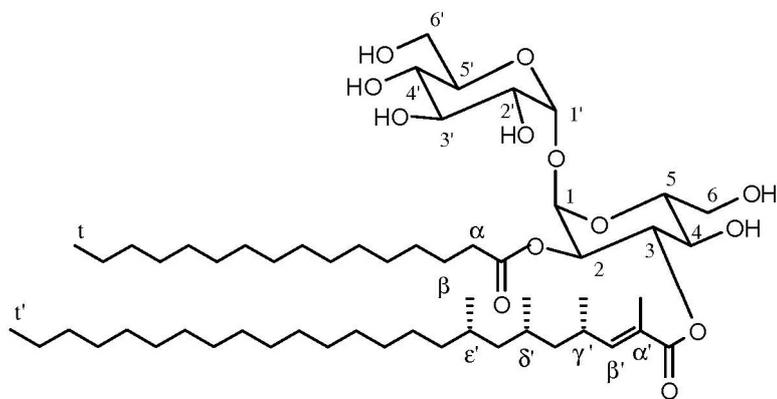
5 RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃/MeOD 4/1)

[0130] δ = 0,89 ppm (t, 3H-t, 3H-t', ³J = 6,5 Hz); δ = 0,82, 0,84 y 0,97 ppm (3d, (CH₃)_{γ'}, (CH₃)_{δ'}, (CH₃)_{ε'}); δ = 1-1,6 ppm (m, H alifático); δ = 1,84 ppm (d, (CH₃)_{α'}, ⁴J = 1 Hz); δ = 2,24 (m, 2H-α); δ = 2,6 ppm (m, H-γ'); δ = 3-4,5 ppm (m, H-2', H-3', H-4, H-4', H-5, H-5', 2H-6, 2H-6'); δ = 4,96 ppm (dd, H-2, ³J₂₋₁ = 4 Hz y ³J₂₋₃ = 10 Hz); δ = 5,27 ppm (d, H-1, ³J₁₋₂ = 4 Hz); δ = 5,43 ppm (t, H-3, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz); δ = 5,48 ppm (d, H-1', ³J_{1'-2'} = 4 Hz); δ = 6,54 ppm (dc, H-β', ³J_{β'-γ'} = 10,2 Hz, ⁴J = 1 Hz).

MALDI-Tof (modo negativo): M/Z = 1.063,66

15 Compuesto f:

[0131]



M = 985,3430 g/mol

2-O-hexadecanoil-3-O-[(4S,6S,8S)-2,4,6,8-tetramethyltetracos-2-enoil]-α,α'-D-trehalosa

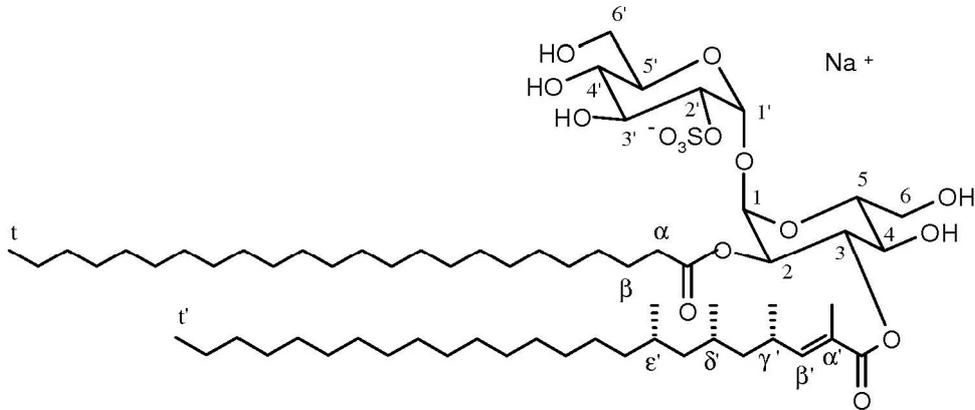
5 RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃/MeOD 4/1)

- [0132]** δ = 0,77 ppm (t, 3H-t, 3H-t', ³J = 6,5 Hz); δ = 0,7, 0,72 y 0,86 ppm (3d, (CH₃)_γ, (CH₃)_δ, (CH₃)_ε); δ = 1-1,5 ppm (m, H alifático); δ = 1,73 ppm (d, (CH₃)_α, ⁴J = 1,5 Hz); δ = 2,13 (m, 2H-α); δ = 2,5 ppm (m, H-γ'); δ = 3,2-3,9 ppm (m, H-2', H-3', H-4, H-4', H-5, H-5', 2H-6, 2H-6'); δ = 4,84 ppm (dd, H-2, ³J₂₋₁ = 4 Hz y ³J₂₋₃ = 10 Hz); δ = 5,0 ppm (d, H-1, ³J₁₋₂ = 4 Hz); δ = 5,16 ppm (d, H-1', ³J_{1'-2'} = 4 Hz); δ = 5,36 ppm (t, H-3, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz); δ = 6,43 ppm (dc, H-β', ³J_{β-γ} = 10,2 Hz, ⁴J = 1 Hz).

MALDI-Tof (modo positivo): M/Z = 1.007,61

15 Compuesto g:

[0133]



$C_{64} H_{119} O_{16} S Na$

$M = 1199,6943 \text{ g/mol}$

2'-O-sulfo-2-O-tetracosanoil-3-O-[(4S,6S,8S)-2,4,6,8-tetrametiltetracos-2-enoil]-α,α'-D-trehalosa

5 RMN 1H (250 MHz, $CDCl_3/MeOD$ 4/1)

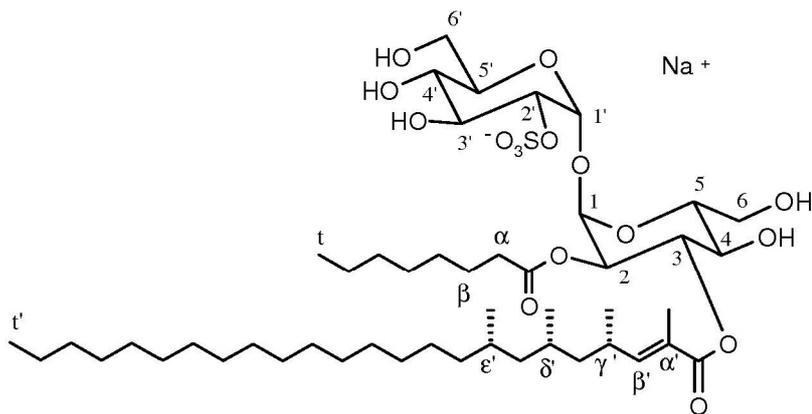
[0134] $\delta = 0,6-0,9 \text{ ppm}$ (m, 3H-t, 3H-t', $(CH_3)_\gamma$, $(CH_3)_\delta$, $(CH_3)_\epsilon$); $\delta = 1-1,5 \text{ ppm}$ (m, H alifático); $\delta = 1,73 \text{ ppm}$ (d, $(CH_3)_\alpha$, $^4J = 1 \text{ Hz}$); $\delta = 2,1 \text{ ppm}$ (m, 2H-α); $\delta = 2,5 \text{ ppm}$ (m, H-γ'); $\delta = 3,1-4,5 \text{ ppm}$ (m, H-2', H-3', H-4, H-4', H-5, H-5', 2H-6, 2H-6'); $\delta = 4,8 \text{ ppm}$ (dd, H-2, $^3J_{2-1} = 4 \text{ Hz}$ y $^3J_{2-3} = 10 \text{ Hz}$); $\delta = 5,16 \text{ ppm}$ (d, H-1, $^3J_{1-2} = 4 \text{ Hz}$); $\delta = 5,3 \text{ ppm}$ (t, H-10, $^3J_{3-4} = ^3J_{3-2} = 10 \text{ Hz}$); $\delta = 5,46 \text{ ppm}$ (d, H-1', $^3J_{1'-2'} = 4 \text{ Hz}$); $\delta = 6,43 \text{ ppm}$ (dc, H-β', $^3J_{\beta'-\gamma'} = 10,2 \text{ Hz}$, $^4J = 1 \text{ Hz}$).

MALDI-Tof (modo negativo): $M/Z = 1.175,57$

Compuesto h:

15

[0135]



$C_{48} H_{87} O_{16} S Na$

$M = 975,2642 \text{ g/mol}$

20 2-O-octanoil-2'-O-sulfo-3-O-[(4S,6S,8S)-2,4,6,8-tetrametiltetracos-2-enoil]-α,α'-D-trehalosa

RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃/MeOD 4/1)

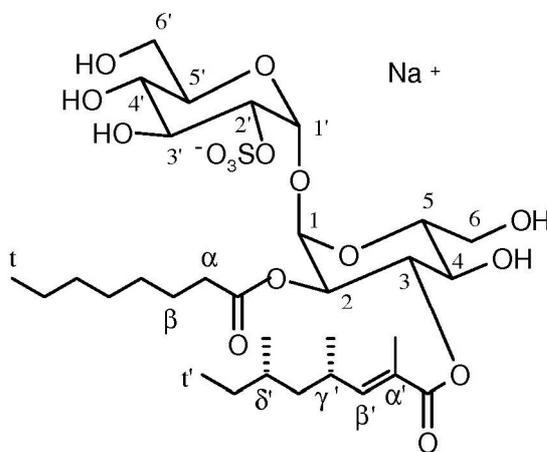
[0136] δ = 0,65 ppm (d, (CH₃)_δ, ³J = 7 Hz); 0,7 ppm (t, 3H-t, 3H-t', ³J = 7 Hz); δ = 0,8 ppm (d, (CH₃)_γ, ³J = 7 Hz); δ = 1,1-1,5 ppm (m, H alifático); δ = 1,7 ppm (s, (CH₃)_α); δ = 2,1 (t, 2H-α, ³J_{α-β} = 7 Hz); δ = 2,5 ppm (m, H-γ'); δ = 3,1-4,5 ppm (m, H-2', H-3', H-4, H-4', H-5, H-5', 2H-6, 2H-6'); δ = 4,8 ppm (dd, H-2, ³J₂₋₁ = 4 Hz y ³J₂₋₃ = 10 Hz); δ = 5,15 ppm (d, H-1, ³J₁₋₂ = 4 Hz); δ = 5,3 ppm (t, H-3, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz); δ = 5,4 ppm (d, H-1', ³J_{1'-2'} = 4 Hz); δ = 6,4 ppm (d, H-β', ³J_{β'-γ'} = 10,2 Hz).

10 MALDI-Tof (modo negativo): M/Z = 951,43

Compuesto i:

[0137]

15



C₃₁ H₅₃ O₁₆ S Na

M = 736,8072 g/mol

2-O-octanoil-2'-O-sulfo--3-O-[(4S,6S)-2,4,6-trimetiloct-2-enoil]-α,α'-D-trehalosa

20 RMN ¹H (600 MHz, criosonda, MeOD)

[0138] δ = 0,86 ppm (d, (CH₃)_δ, ³J = 6,6 Hz); δ = 0,88 ppm (t, 3H-t', ³J = 7,2 Hz); δ = 0,9 ppm (t, 3H-t, ³J = 7,2 Hz); δ = 0,99 ppm (d, (CH₃)_γ, ³J = 7,2 Hz); δ = 1,1-1,6 ppm (m, H alifático); δ = 1,85 ppm (d, (CH₃)_α, ⁴J = 1,5 Hz); δ = 2,27 y 2,3 ppm (2td, 2H-α, ³J_{α-β} = 7,2 Hz, ²J = 14,4 Hz); δ = 2,66 ppm (m, H-γ'); δ = 3,41 ppm (t, H-4', ³J_{4'-3'} = ³J_{4'-5'} = 9,3 Hz); δ = 3,66 ppm (dd, 1H-6', ³J_{6'-5'} = 5,7 y ²J = 11,7 Hz); δ = 3,68 ppm (t, H-4, ³J₄₋₅ = ³J₄₋₃ = 10 Hz); δ = 3,75 ppm (m, H-5', H-6, H-6'); δ = 3,91 ppm (dd, H-6, ²J = 12 Hz, ³J₆₋₅ = 2,4 Hz); δ = 3,92 ppm (t, H-3', ³J_{3'-2'} = ³J_{3'-4'} = 9,3 Hz); δ = 4,19 ppm (dd, H-2', ³J_{2'-1'} = 3,6 Hz, ³J_{2'-3'} = 9,3 Hz); δ = 4,24 ppm (ddd, H-5, ³J₅₋₆ = 2,4 Hz, ³J₅₋₆ = 4,2 Hz, ³J₅₋₄ = 10 Hz); δ = 4,98 ppm (dd, H-2, ³J₂₋₁ = 3,6 Hz, ³J₂₋₃ = 10 Hz); δ = 5,27 ppm (d, H-1, ³J₁₋₂ = 3,6 Hz); δ = 5,50 ppm (d, H-1', ³J_{1'-2'} = 3,6 Hz); δ = 5,51 ppm (t, H-3, ³J₃₋₄ = ³J₃₋₂ = 10 Hz); δ = 6,52 ppm (dc, H-β', ³J_{β'-γ'} = 10,2 Hz, ⁴J = 1,5 Hz).

30

RMN ¹³C (600 MHz, criosonda, MeOD)

[0139] δ = 11,6 ppm, C-t'; δ = 12,8 ppm, (CH₃)_α; δ = 14,4 ppm, C-t; δ = 19,5 ppm, (CH₃)_δ; δ = 20,8 ppm, (CH₃)_γ; δ = 23,7 ppm, C-(t-1); δ = 26,0 ppm, C-β; δ = 30, 30,1, 32,8 ppm, C ácido octanoico; δ = 31,1 ppm, C-(t-1)'; δ

= 32,1 ppm, C-γ'; δ = 33,6, C-δ'; δ = 35,0 ppm, C-α; δ = 45,3 ppm, C-ε'; δ = 61,8 ppm, C-6; δ = 62,5 ppm, C-6'; δ = 69,9 ppm, C-4; δ = 71,6 ppm, C-4'; δ = 72,0 ppm, C-2; δ = 72,8 ppm, C-3'; δ = 73,4, C-5; δ = 74,1 ppm, C-5'; δ = 74,4 ppm, C-3; δ = 78,4 ppm, C-2'; δ = 93,5 ppm, C-1; δ = 94,3 ppm, C-1'; δ = 127,2 ppm, C-α'; δ = 150,2 ppm, C-β'; δ = 169,3 ppm, (C=O)₃; δ = 174,3 ppm, (C=O)₂.

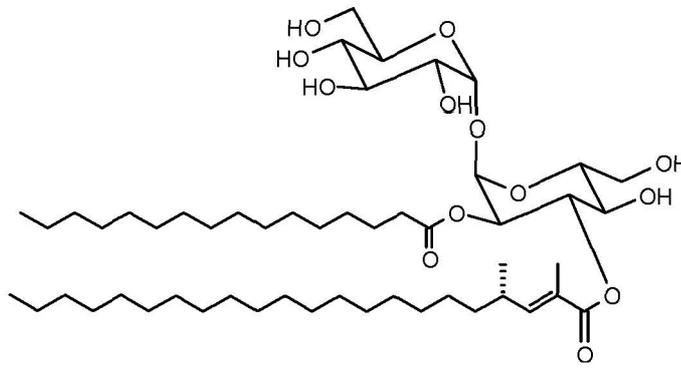
5

MALDI-Tof (modo negativo): M/Z = 713,15

[0140] Así como los compuestos siguientes:

10 Compuesto de referencia j:

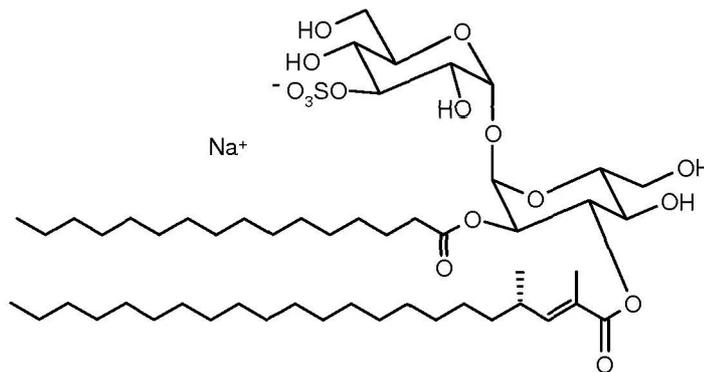
[0141]



15

Compuesto k:

[0142]

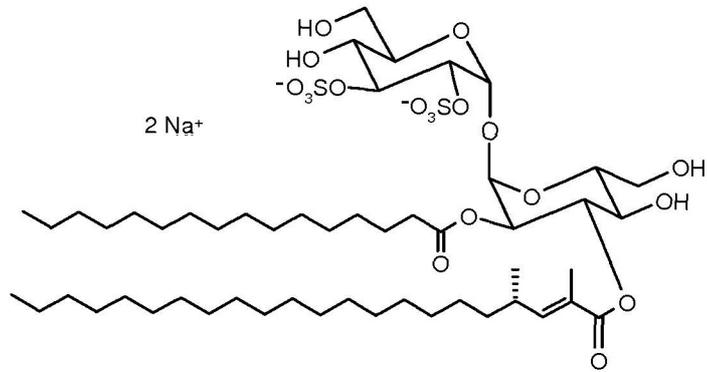


20

Compuesto de referencia l:

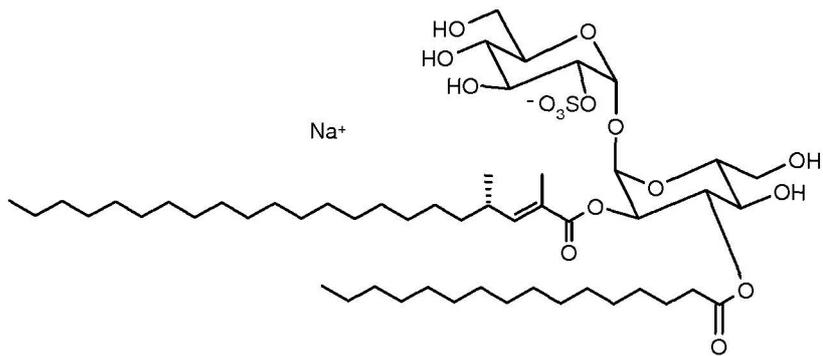
[0143]

25



Compuesto m:

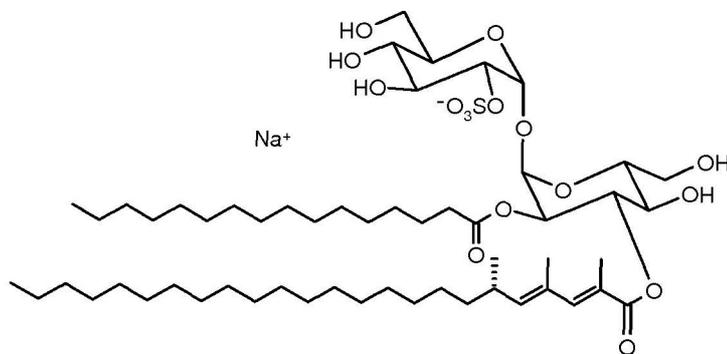
5 [0144]



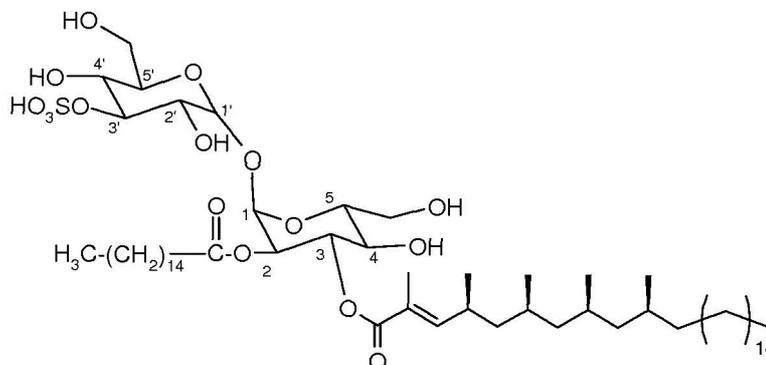
Compuesto de referencia n:

10

[0145]



15 Compuesto o:

[0146]

5 Ejemplo 2: Ensayo *ex vivo* con sulfoglucolípidos de *Mycobacterium tuberculosis*

[0147] Para definir la inmunogenicidad de los antígenos sulfoglucolípidicos, se mide la liberación de IFN- γ después de la estimulación con los sulfoglucolípidos purificados. Se incuban 2×10^5 células PBMC por pocillo durante 4 días en presencia de GM-CSF (500 U/ml) e IL-4 (5 ng/ml). Durante este tiempo, se incuban linfocitos T efectoros autólogos en suero humano al 10 %. Los sulfoglucolípidos (10 $\mu\text{g/ml}$) se añaden a las células presentadoras de antígenos que expresan CD1 (APC CD1+) irradiadas. Finalmente, se añaden las células efectoras (2×10^5 /pocillo) y la liberación de IFN- γ se mide mediante un ensayo ELISA en los sobrenadantes después de 18 horas. El ensayo ELISA para IFN- γ se lleva a cabo en placas de inmovilización de 96 pocillos, que se recubren con un anticuerpo de captura de IFN- γ (2 $\mu\text{g/ml}$) durante la noche. Los sitios de unión inespecífica se bloquean con un 1 % de albúmina de suero bovino. Los sobrenadantes se diluyen 1:1 y se añaden en un volumen final de 100 μl . Las placas se incuban a temperatura ambiente durante 2 h y se someten a un lavado intensivo (3-4 veces). Finalmente, se añade un anticuerpo contra IFN- γ biotinilado (2 $\mu\text{g/ml}$) durante 1 h. Para la detección del INF- γ inmunorreactivo, se añade peroxidasa de rábano durante 30 min. Por último, se añade un sustrato cromógeno (TMB, Endogen, MA, EE. UU.). Después de una incubación de 20 min, la reacción se detiene mediante la adición de ácido sulfúrico (2 %). La intensidad de la tinción se determina fotométricamente a una longitud de onda de 480 nm. Para estimar la concentración de citocina en los sobrenadantes, en todas las pruebas se incluye un estándar de INF- γ de concentración conocida.

Ejemplo 3: Estudio *in vivo*

[0148] Se seleccionan donantes PPD⁺ (positivos para la prueba de la tuberculina) y PPD⁻ (negativos para la prueba de la tuberculina), a los que se administra un compuesto de la invención. La respuesta a los sulfoglucolípidos se mide por evaluación de la producción de INF- γ mediante un ensayo ELISA (15 $\mu\text{g/ml}$) en cada paciente de cada grupo. Se comparan las respuestas en cada grupo.

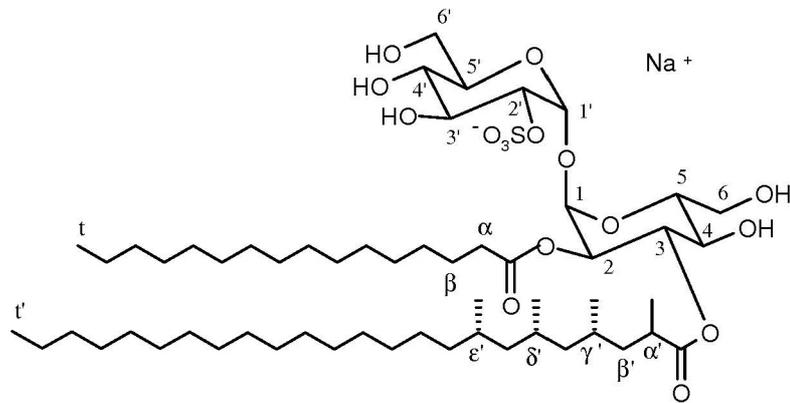
Ejemplo 4: Ensayo de presentación de antígenos

[0149] Se midió la liberación del IFN- γ producido por el clon de linfocitos T Z4B27, preparado de acuerdo con el procedimiento descrito en el documento WO 2004/092192, en respuesta a la estimulación por los compuestos de la invención.

[0150] Las células APC CD1+ se preincubaron a una densidad de 5×10^4 células/pocillo durante 2 h a 37 °C con el antígeno sometido a ultrasonidos (1-10 $\mu\text{l/ml}$) antes de la adición de los linfocitos T (5×10^4 /pocillo en triplicado). Después de 36 h se midieron el TNF- α y el INF- γ liberados mediante kits para ensayos ELISA de tipo sándwich (Instrumentation Laboratory). Los datos se expresan como media en ng/ml o pg/ml \pm DE de tres repeticiones. Todos los experimentos se repitieron al menos 2 veces.

[0151] Los resultados se ilustran en la figura 1 para el compuesto e (cpd e) de la invención. Se demuestra que los compuestos de la invención muestran mejor actividad que los correspondientes compuestos no sulfatados

(véase el compuesto f, "cpd f") y que los correspondientes compuestos saturados según se describen en el documento WO 2004/092192 en relación al compuesto comparativo (véase "comp.") de la fórmula:



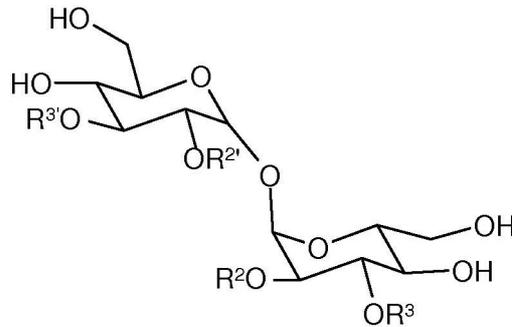
5

[0152]
d).

Otros resultados ilustrados en la figura 2 muestran la actividad de los compuestos b y c (cpd b y cpd

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula general (I):



(I)

5

en el que:

R^2 es SO_3H o SO_3^-/M^+ y R^3 es H, o R^2 es H y R^3 es SO_3H o SO_3^-/M^+ ;

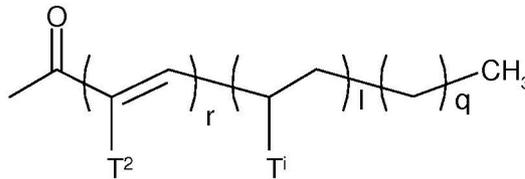
10 M^+ es el catión de un metal, como Na^+ , K^+ ;

R^2 y R^3 , idénticos o diferentes, se eligen independientemente de entre:

a) grupos acilo graso de la fórmula $-C=O-(CH_2)_k-CH_3$, en los que k es un número entero de 14 a 50;

b)

15



(b-2)

en que r es 1;

l es un número entero elegido de 0 a 10;

20 q es un número entero elegido de 0 a 50;

siempre que $l + q \geq 1$;

T^2 es metilo;

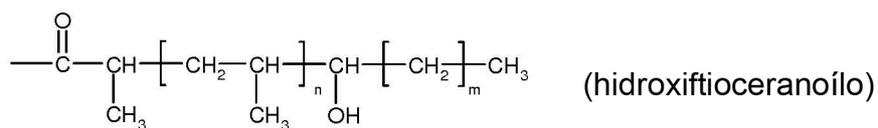
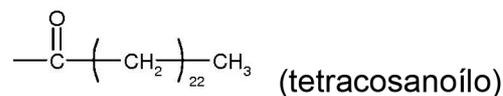
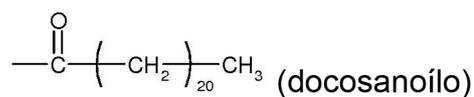
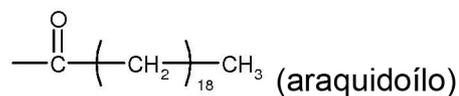
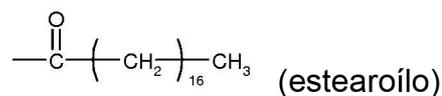
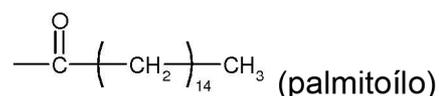
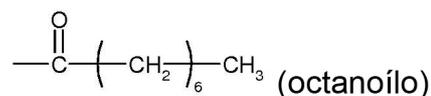
cada T^1 es metilo;

25 en que al menos uno de R^2 y R^3 es b);

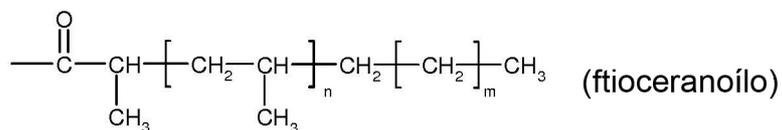
y sus enantiómeros, diastereoisómeros, mezclas de los mismos y sales farmacéuticamente aceptables.

2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en que los grupos acilo graso del grupo a) se eligen

30 del grupo consta de:



en que m es 14 o 16 y n es un número entero de 2 a 10,



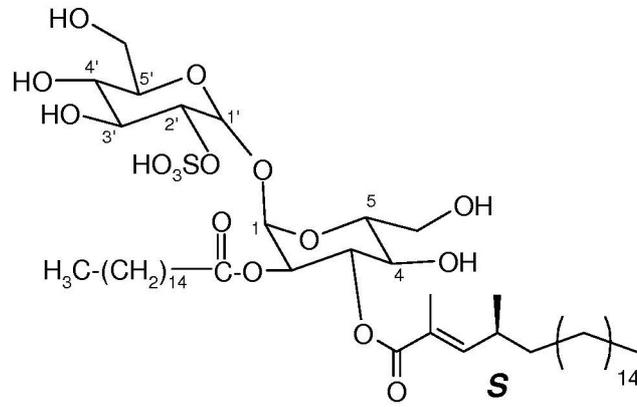
5

en que m es 14 o 16 y n es un número entero de 2 a 10.

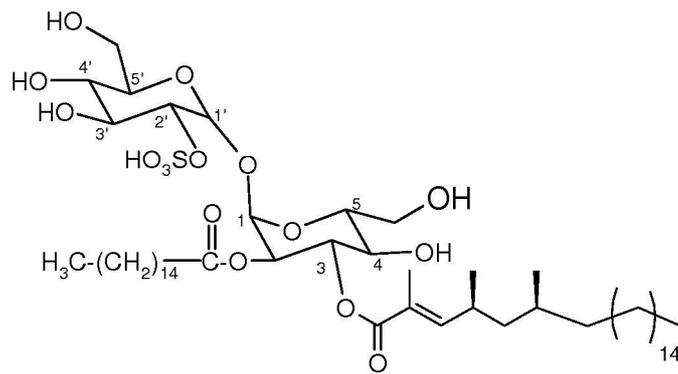
3. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en que r es 1; l es 10 1, 2 o 3; q es un número entero elegido de 10 a 20; y el átomo de carbono al que está unido T¹ presenta una configuración (S).

4. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, elegido del grupo

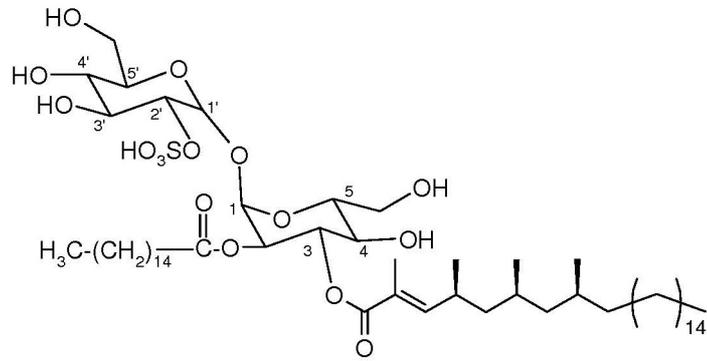
que consta de:



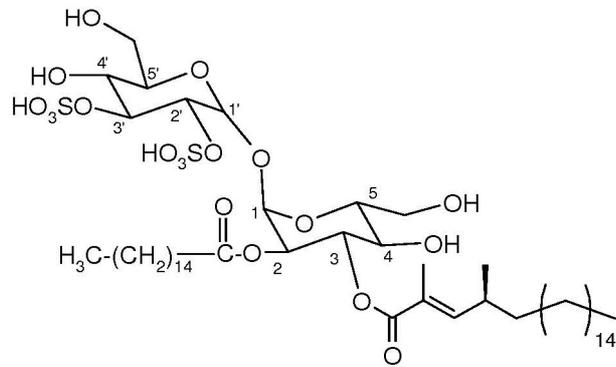
(II.1)



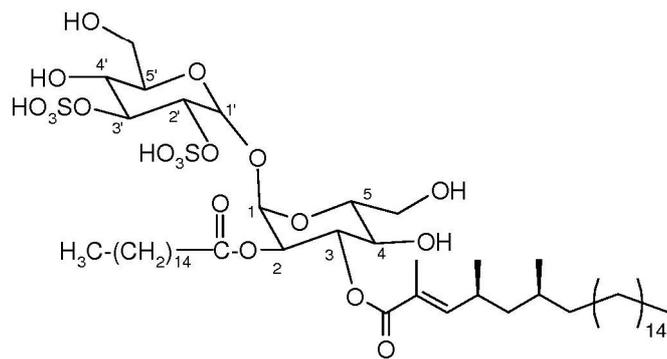
(II.2)



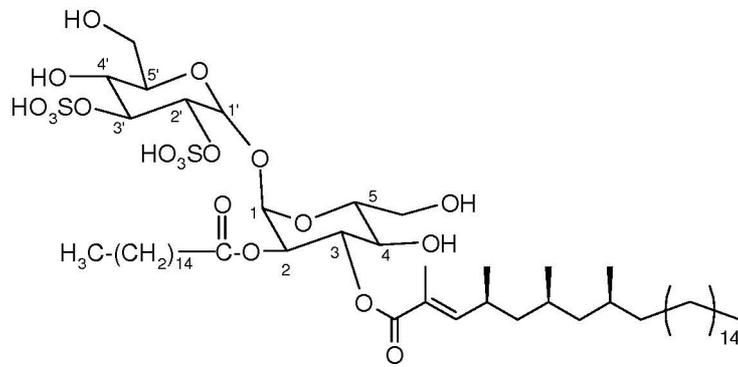
(II.3)



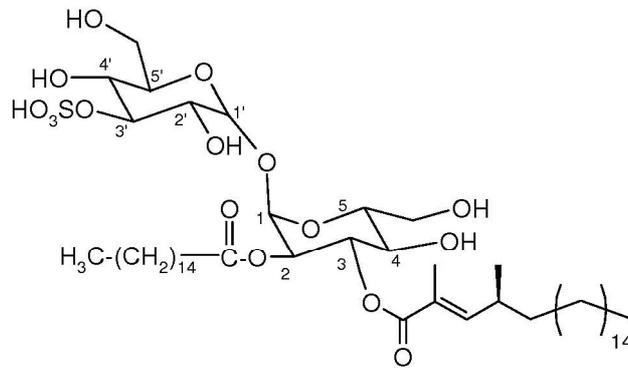
(II.4)



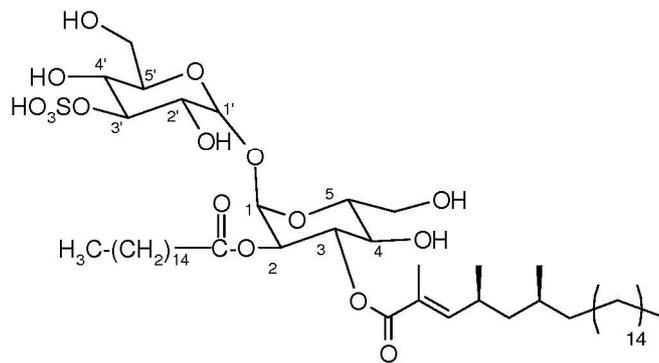
(II.5)



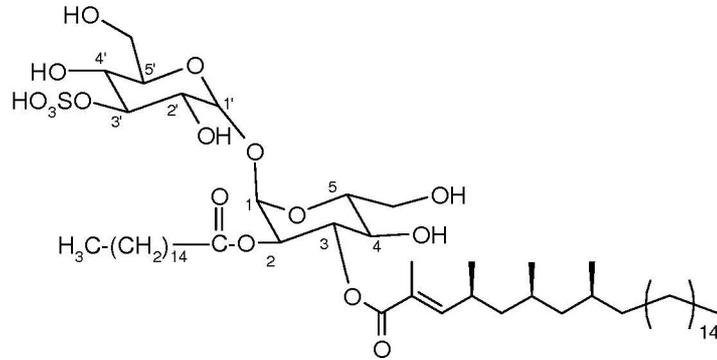
(II.6)



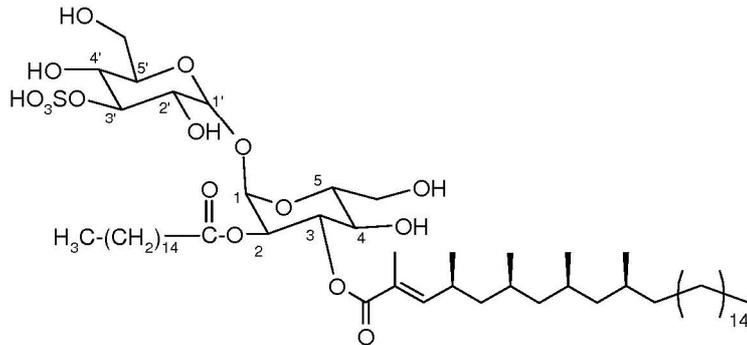
(II.7)



(II.8)



(II.9)



(II.10)

5 sus correspondientes sales, y sus enantiómeros, diastereoisómeros, mezclas de los mismos y sales farmacéuticamente aceptables.

5. Una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto según se define en una cualquiera de las reivindicaciones precedentes en asociación con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

6. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 5 en una forma destinada a la 10 administración por vía oral o inyectable.

7. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 5 o 6, **caracterizada porque** 15 comprende uno o más productos adicionales útiles para el tratamiento o la profilaxis de la tuberculosis, como BCG o proteínas micobacterianas.

8. Productos que comprenden:

- al menos un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4,
- y al menos un producto adicional útil para el tratamiento o la profilaxis de la tuberculosis, como BCG o proteínas 20 micobacterianas,

como una preparación combinada para uso simultáneo, separado o secuencial en el tratamiento o la profilaxis de la tuberculosis.

25 9. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 para uso en el tratamiento

o para uso en la profilaxis de la tuberculosis.

10. Uso de al menos un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 como activador de la reacción inmunitaria *in vitro* y, más en particular, como activador de la reacción inflamatoria.

5

11. Uso de al menos un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 para inducir *in vitro* la activación de los linfocitos T.

12. Uso de al menos un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 para inducir *in vitro* la producción de IFN- γ , TNF- α , IL-4 o granulisisina.

10

13. Un procedimiento *in vitro* para el diagnóstico de la tuberculosis que comprende las etapas siguientes:

- proporcionar una muestra biológica de un individuo positivo para PPD;

15 - poner en contacto dicha muestra con un compuesto de la fórmula (I) según se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4;

- evaluar la activación de los linfocitos T; y

- comparar la activación de los linfocitos T después y antes de la administración del compuesto.

20 14. Un kit para el diagnóstico de la tuberculosis que comprende:

- un compuesto de la fórmula (I) según se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4;

- células dendríticas; y

- medios para detectar la activación de los linfocitos T.

25

15. Uso de un compuesto de la fórmula (I) según se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 para evaluar *in vitro* la eficacia de una vacuna preparada con *Mycobacterium tuberculosis* recombinante.

16. Un procedimiento para la preparación de un compuesto de la fórmula (I) de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 que comprende las etapas de:

30

- sulfonación, y

- acilación con los correspondientes compuestos de las fórmulas (IV) y (IV'):

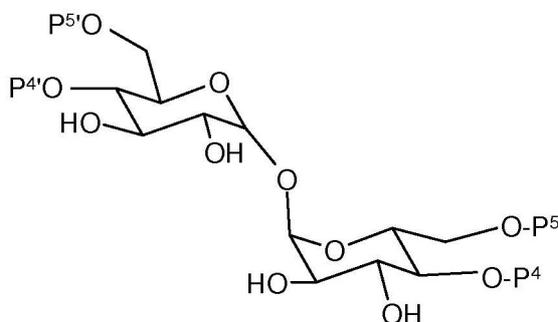
35



en que R^2 y R^3 se definen como en la fórmula (I) y X e Y representan independientemente un átomo halógeno o un grupo OH,

40

de un compuesto de la fórmula (III):



45

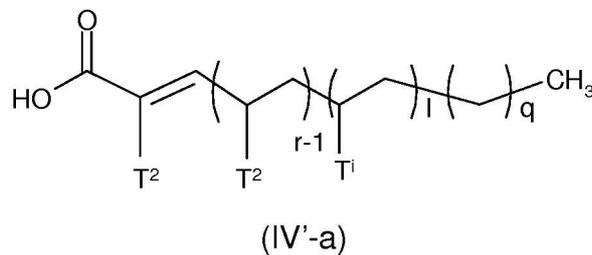
en el que cada uno de P⁴, P⁵, P^{4'} y P^{5'}, idénticos o diferentes, representa H o un grupo protector de OH, o P⁴ y P⁵ y/o P^{4'} y P^{5'} forman conjuntamente un grupo cíclico protector de OH; en que las reacciones de sulfonación y acilación se llevan a cabo en cualquier orden, sucesivamente o alternativamente.

5 17. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 16 que comprende además etapas de protección y/o desprotección.

18. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 16 o 17 que comprende además la etapa de aislamiento del compuesto obtenido.

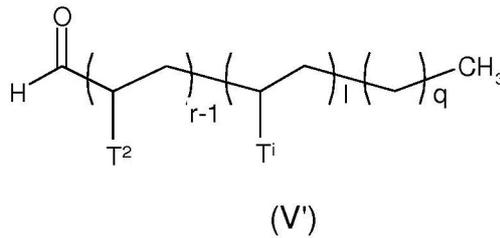
10

19. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 16, 17 o 18, en que el compuesto de la fórmula (IV') es de la fórmula (IV'-a):

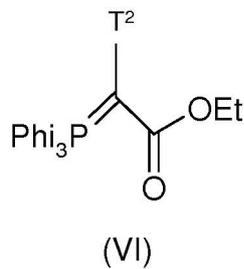


15

y dicho compuesto de la fórmula (IV'-a) se obtiene a partir del correspondiente compuesto de la fórmula (V'):



20 por una reacción de Wittig, con el uso de un compuesto de la fórmula (VI):



y una saponificación posterior.

25

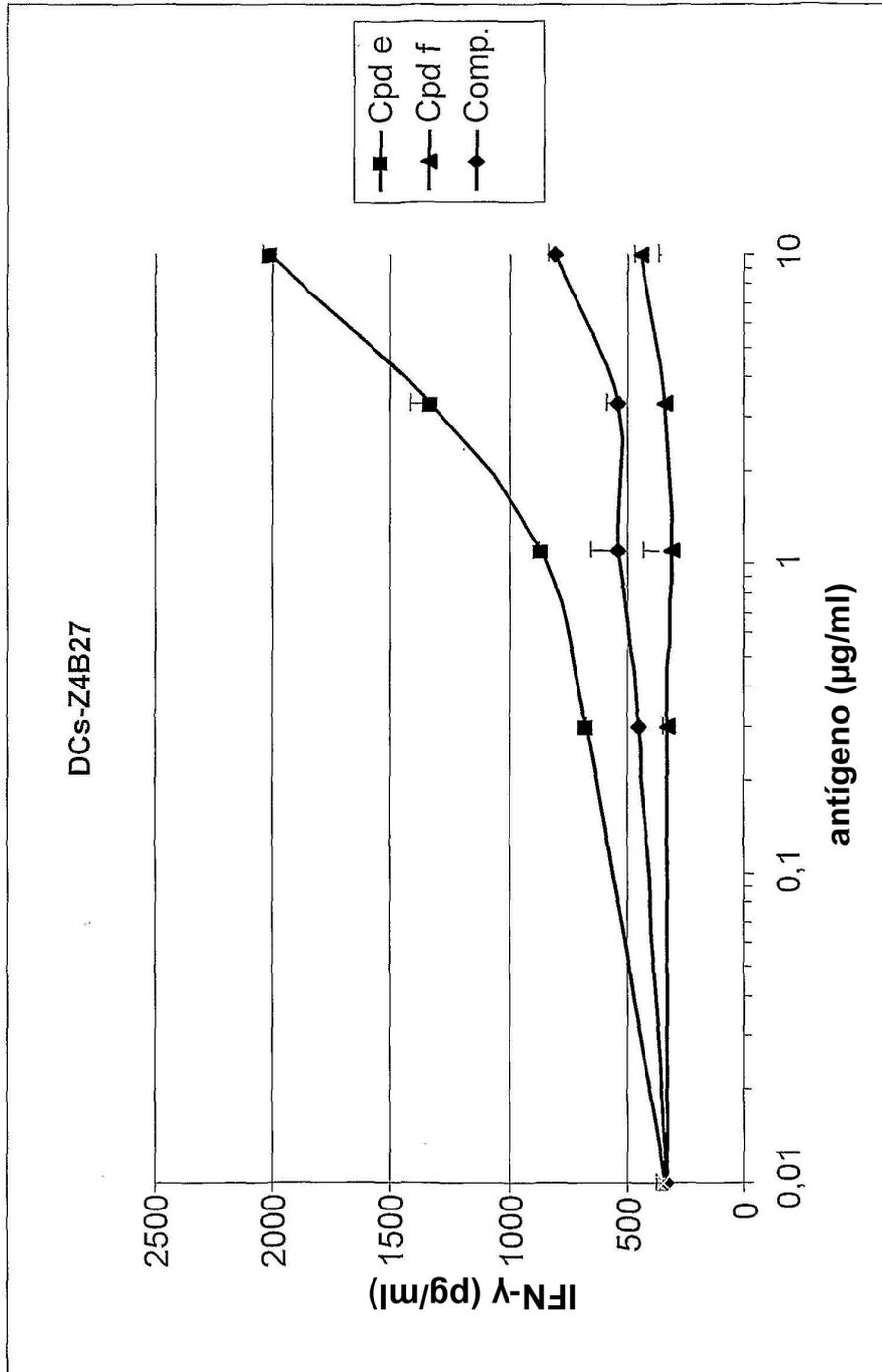


Fig.1

